



Application Note AN-M-015

Misurazione di tracce di acidi aloacetici, dalapon e bromati nell'acqua potabile

Analisi robusta con IC-MS/MS secondo US EPA 557

La clorazione dell'acqua potabile aiuta a ridurre gli agenti patogeni, ma può anche formare sottoprodotti potenzialmente cancerogeni, ad esempio acidi aloacetici (HAA), dalapon e bromato [1,2]. L'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente degli Stati Uniti (EPA) e l'UE stabiliscono un limite massimo di contaminazione per la somma di cinque HAA (HAA5: MCAA, MBAA, DCAA, DBAA, TCAA) di 60 parti per miliardo (60 µg/L) [3]. Il metodo EPA 557 descrive la loro quantificazione nell'intervallo µg/L in un'ampia varietà di tipi di acqua [4]. In questo caso, l'analisi viene eseguita con un cromatografo ionico (IC) Metrohm accoppiato a uno spettrometro di massa

(MS) Agilent a triplo quadrupolo. Questo metodo sensibile non richiede l'estrazione del campione e il modulo soppressore Metrohm elimina qualsiasi interferenza dell'eluente. Gli analiti vengono ben risolti dai componenti della matrice con la colonna Metrosep A Supp 19. I recuperi dei picchi della matrice per 1 µg/L di tutti gli analiti erano compresi tra il 65 e il 115% anche in campioni di acqua fortemente caricati. I livelli minimi di segnalazione (MRL) erano 0,025-0,25 µg/L. Il metodo IC-MS/MS presentato soddisfa tutti i requisiti del metodo EPA 557.

CAMPIONE E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni di acqua includevano acqua di rubinetto (dalla Svizzera orientale) e acqua minerale (Evian contenente $c(\text{idrogenocarbonato}) = 360 \text{ mg/L}$, $c(\text{solfato}) = 14 \text{ mg/L}$, $c(\text{cloruro}) = 10 \text{ mg/L}$ e $c(\text{nitrato}) = 3,8 \text{ mg/L}$). Inoltre, la matrice del campione sintetico da laboratorio (LSSM) secondo EPA 557 ($c(\text{cloruro di ammonio}) = 100 \text{ mg/L}$, $c(\text{nitrato}) = 20 \text{ mg/L}$,

$c(\text{carbonato di idrogeno}) = 150 \text{ mg/L}$, $c(\text{cloruro}) = 250 \text{ mg/L}$ e $c(\text{solato}) = 250 \text{ mg/L}$). I campioni sono stati stabilizzati con metanolo allo 0,1% (v/v) e raffreddati a 4 °C. Sono stati aggiunti standard interni a una concentrazione di 4 µg/L (qui: MCAA- ^{13}C e MBA- ^{13}C).

ANALISI

La sillabazione dell'HPLC con la spettrometria di massa si è comunemente concentrata sullo studio delle molecole organiche. La cromatografia ionica (IC) con sillabazione con la spettrometria di massa (MS) apre il campo all'analisi altamente sensibile di sostanze ioniche e più polari in soluzioni acquose o matrici contenenti sali. L'utilizzo dell'889 IC Sample Center – cool garantisce un'elaborazione dei campioni stabile e riproducibile a 4 °C (Figura 1) prevenendo il decadimento degli HAA sensibili alla degradazione.



Figure 1. Configurazione strumentale per misurare acidi aloacetici, dalapon e bromato, incluso un 889 IC Sample Center – cool (Metrohm), 940 Professional IC Vario (Metrohm) e 6475 Triple Quadrupole LC/MS con sorgente ionica con tecnologia Jet Stream (Agilent). È stato utilizzato un Dosino per l'infusione diretta nel sistema MS durante l'ottimizzazione del metodo.

Il cromatografo ionico microbore senza metalli 940 Professional IC Vario con una colonna Metrosep A Supp 19, soppressione sequenziale e un rilevatore di conduttività IC MB ha ottenuto la separazione cromatografica senza interferenze e con un volume vuoto ridotto. Il rilevamento sensibile e selettivo degli acidi aloacetici è stato effettuato con un sistema LC/MS Agilent 6475 triplo quadrupolo dotato di una sorgente ionica con tecnologia Jet Stream Agilent, gestito in modalità di acquisizione di monitoraggio dinamico delle reazioni multiple (dMRM). Il rilevamento della conduttività può essere utilizzato per quantificare in parallelo anioni comuni come fluoruro, cloruro, nitrato o solfato. Un Dosino aggiuntivo consente l'infusione diretta di soluzioni standard nel sistema MS per l'ottimizzazione del metodo, ovvero l'individuazione dei migliori parametri MS per rilevare gli analiti di interesse. Il modulo IC continuo 948, CEP produce esattamente un eluente di idrossido di potassio in concentrazioni comprese tra 15 e 100 mmol/L di idrossido di potassio (KOH) (**Figura 2**). L'IC è stato gestito con il software MagIC Net e l'MS con il software MassHunter. La sincronizzazione di entrambi gli strumenti era controllata tramite un cavo remoto. La **tabella 1** elenca le impostazioni più importanti dello strumento.



Figure 2. Il modulo IC continuo 948, CEP produce automaticamente l'eluente KOH da acqua ultrapura e un concentrato KOH. La produzione dell'eluente elettrochimico avviene in una membrana nella cartuccia del produttore dell'eluente.

Tabella 1. Questa tabella elenca i parametri del metodo più importanti per la determinazione dell'acido aloacetico con IC-MS/MS.

IC Column	Metrosep A Supp 19 - 150/4.0
Eluent/gradient	15–100 mmol/L KOH + 10% methanol
Flow rate	0.5 mL/min
Column temperature	15 °C
Injection volume	100 µL
Suppression	sequential
Ion polarity	negative
Gas flow	12 L/min
Sheath gas flow	12 L/min
Gas temperature	150 °C
Sheath gas temperature	245 °C
Detection	dMRM (dynamic Multiple Reaction Monitoring)

RISULTATO

Il metodo presentato è in grado di determinare tutti gli acidi aloacetici, bromato e dalapon rilevanti nell'acqua potabile secondo EPA 557 (**Tabella 2**). La separazione sulla colonna Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 con un eluente idrossido è risultata robusta e riproducibile. Questa combinazione ha consentito una risoluzione sufficiente tra i picchi della matrice altamente concentrata (ovvero cloruro, nitrato, bicarbonato e solfato) e gli analiti (**Figura 3**). La matrice è stata deviata nei rifiuti per evitare la soppressione ionica nella MS. Un ulteriore vantaggio di questa configurazione è il soppressore stabile ai solventi. L'utilizzo del 10% di metanolo nell'eluente facilita il trasferimento dalla fase acquosa a quella

gassosa e non ha alcun impatto sul soppressore. Pertanto, non è stata necessaria alcuna ulteriore aggiunta post-colonna di solventi organici con una pompa secondaria per migliorare l'evaporazione degli analiti nella MS.

La calibrazione da 0,1–40 µg/L con adattamenti quadratici ha prodotto valori R^2 nell'intervallo 0,996–0,999. La determinazione dei livelli minimi di segnalazione della concentrazione più bassa (LCMRL) è stata effettuata secondo EPA 557, capitolo 9.2.4 (**Tabella 2**). Sette repliche sono state analizzate con successo per il limite superiore e inferiore del PIR (intervallo di previsione dei risultati) (intervallo accettabile 50–150%).

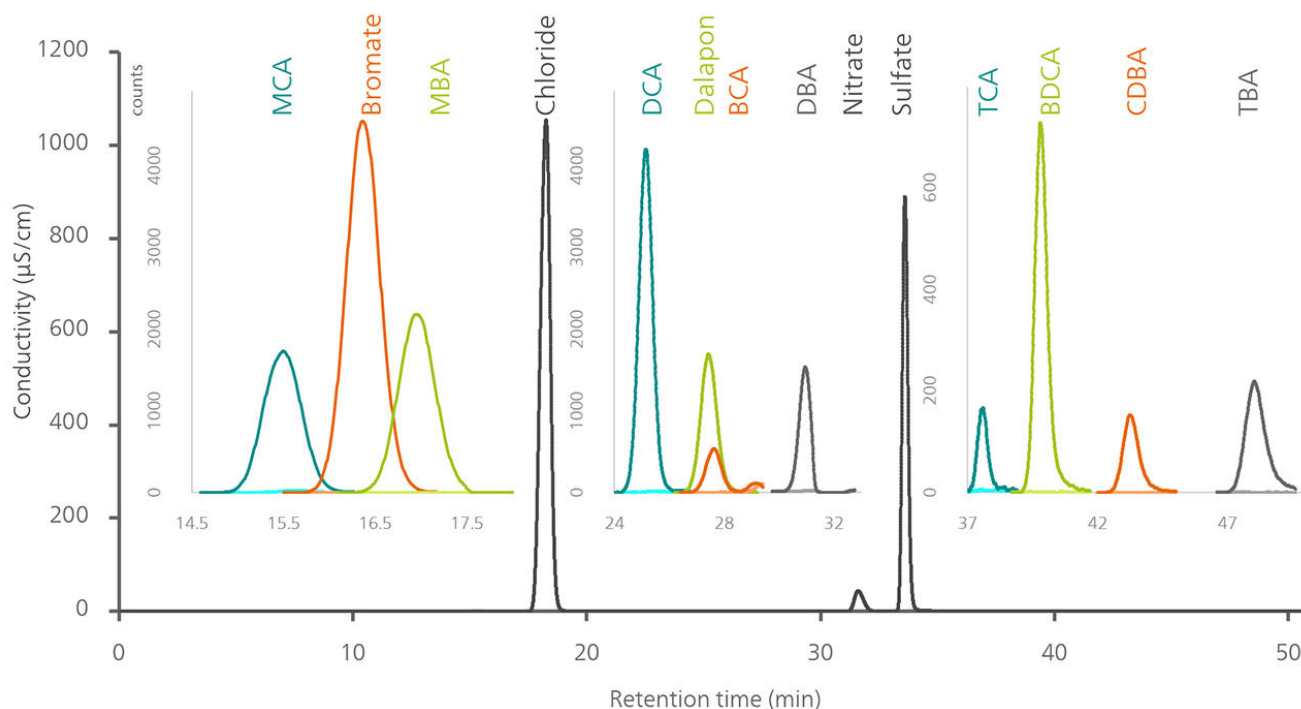


Figure 3. Sovrapposizione di un cromatogramma di matrice di campioni sintetico da laboratorio (LSSM) secondo EPA 557 con $c(\text{cloruro di ammonio}) = 100 \text{ mg/L}$, $c(\text{nitrato}) = 20 \text{ mg/L}$, $c(\text{idrogeno carbonato}) = 150 \text{ mg/L}$, $c(\text{cloruro}) = 250 \text{ mg/L}$ e $c(\text{solfato}) = 250 \text{ mg/L}$ (linee di colore chiaro) e di LSSM arricchito con 1 µg/L di tutti gli analiti (linee intensamente colorate). Il volume di iniezione era di 100 µL .

I campioni di acqua sono stati analizzati direttamente (non è necessaria alcuna diluizione). La **tabella 3** mostra che i recuperi con picchi di 1 µg/L erano compresi tra 65 e 115% (per LSSM), 46 e 112% (per l'acqua di rubinetto) e 87 e 150% (per l'acqua Evian). I replicati per l'acqua del rubinetto ($n = 7$) erano compresi tra 0,7 e 6,8% RSD (deviazione standard relativa). Per l'acqua minerale (Evian) ($n = 6$) e per LSSM ($n = 7$) i valori RSD erano rispettivamente compresi tra 1,6-6,3% e 1,0-36,5%. La maggior parte dei valori erano $\leq 5\%$, ad eccezione del TCAA (che eluisce vicino al solfato).

Le coppie critiche erano DBA/nitrato e TCAA/solfato. Le finestre del deviatore devono essere impostate con

precisione per acquisire dati completi per gli analiti DBAA e TCAA e deviare sia il nitrato che il solfato nei rifiuti. La degradazione del campione a temperatura ambiente era visibile dopo un giorno e si verificava una degradazione considerevole dopo quattro-cinque giorni. I campioni devono essere misurati tempestivamente oppure deve essere utilizzato un campionatore con funzione di raffreddamento (ad esempio, 889 IC Sample Center – cool). In questa configurazione è stato utilizzato un soppressore di CO_2 Metrohm (MCS) poiché migliorava il fondo di conduttività e quindi riduceva il numero di ioni interferenti nel sistema MS.

Tabella 2. La determinazione dei livelli minimi di segnalazione della concentrazione più bassa (LCMRL) è stata effettuata secondo EPA 557, capitolo 9.2.4 conferma del livello minimo di segnalazione (MRL). Sette repliche sono state analizzate per il limite superiore e inferiore del PIR (intervallo di previsione dei risultati) (intervallo accettabile 50-150%). *Non sono state testate concentrazioni inferiori a 0,025 µg/L, ma il rapporto segnale/rumore era >10 e ha dimostrato che il limite minimo non è stato raggiunto.

Analyte	Abbreviat ion	Retention time [min]	Precurs or m/z	Produc t m/z	Concentration for minimum reporting level [µg/L]	PIR limits [%]
Monochloroacetic acid	MCAA	15.8	93	34.9	0.025*	91–109
Monobromoacetic acid	MBAA	17.2	137	79	0.025*	88–112
Bromate	BrO ₃	16.7	127	111	0.025*	84–116
Dichloroacetic acid	DCAA	25.6	127	83	0.025	84–116
Dalapon	DAL	28.0	141	97	0.025	74–126
Bromochloroacetic acid	BCAA	28.0	173	81	0.05	74–126
Dibromoacetic acid	DBAA	31.4	217	173	0.025	75–125
Trichloroacetic acid	TCAA	37.9	161	117	0.25	62–131
Bromodichloroacetic acid	BDCAA	40.2	163	81	0.025	79–121
Chlorodibromoacetic acid	CDBAA	43.5	207	79	0.025	52–148
Tribromoacetic acid	TBAA	49.1	251	79	0.025	62–138

Tabella 3. A tre tipi di campioni di acqua è stato aggiunto 1 µg/L di tutti gli analiti elencati e determinati con IC-MS/MS. Gli analiti non sono stati valutati nei campioni originali non addizionati. Non sono stati rilevati o erano inferiori a 0,1 µg/L. I valori di concentrazione vengono calcolati in media su almeno sei repliche.

Analyte	Concentration [µg/L] in samples spiked with 1 µg/L of all analytes		
	Tap water (eastern Switzerland)	Mineral water (Evian)	LSSM (EPA 557)
MCAA	1.12	1.41	1.15
MBAA	1.00	0.97	0.87
BrO ₃ ⁻	0.88	0.86	0.84
DCAA	0.88	1.03	0.80
DAL	0.88	0.93	0.76
BCAA	0.87	0.87	0.71
DBAA	0.88	1.22	0.79
TCAA	0.46	1.50	0.65
BDCAA	0.89	0.91	0.87
CDBAA	0.88	1.00	0.88
TBAA	0.88	1.43	0.84

CONCLUSIONE

Il metodo presentato soddisfa tutti i requisiti analitici della norma US EPA 557 [4]. La solida configurazione di combinazione di Metrohm IC e Agilent MS garantisce la massima sensibilità e selettività per tutti gli acidi aloacetici, dalapon e bromati rilevanti, anche nelle matrici complesse di acqua potabile. Le cinque

sostanze rappresentative (acido mono-, di- e tricloroacetico e acido mono- e dibromoacetico) sono state quantificate con precisione nell'intervallo di concentrazione inferiore a µg/L per vari campioni di acqua. Con questo metodo vengono soddisfatti i requisiti dell'EPA 557 [4] e della direttiva UE [5].

RIFERIMENTI

1. Zhao, H.; Yang, L.; Li, Y.; et al. Environmental Occurrence and Risk Assessment of Haloacetic Acids in Swimming Pool Water and Drinking Water. *RSC Adv* 10 (47), 28267–28276. DOI:10.1039/d0ra02389b
2. Sinha, R.; Gupta, A. K.; Ghosal, P. S. A Review on Trihalomethanes and Haloacetic Acids in Drinking Water: Global Status, Health Impact, Insights of Control and Removal Technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2021, 9 (6), 106511. DOI:10.1016/j.jece.2021.106511
3. US EPA, O. *National Primary Drinking Water Regulations*. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> (accessed 2022-09-19).
4. United States Environmental Protection Agency. Method 557: Determination of Haloacetic Acids, Bromate, and Dalapon in Drinking Water by Ion Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (IC-ESI-MS/MS). *EPA Document No. 815-B-09-012* 2009.
5. *Directive - 2020/2184 - EN - EUR-Lex*. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2020/2184/oj> (accessed 2024-03-11).

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP/MB

Il 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP è lo strumento IC intelligente **a due canali** con **soppressione sequenziale** (un canale) e una **pompa peristaltica** per la rigenerazione del soppressore. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevazione.

Campi d'impiego tipici:

- Strumento standard per determinazioni parallele di anioni e cationi
- Analisi delle tracce per anioni e cationi
- Monitoraggio in linea per anioni e cationi
- Ottimizzato per le applicazioni Microbore (2 mm), ideale per le tecniche di accoppiamento (IC-MS o IC-ICP/MS)

Supportato da MagIC Net 4.1 e versioni successive

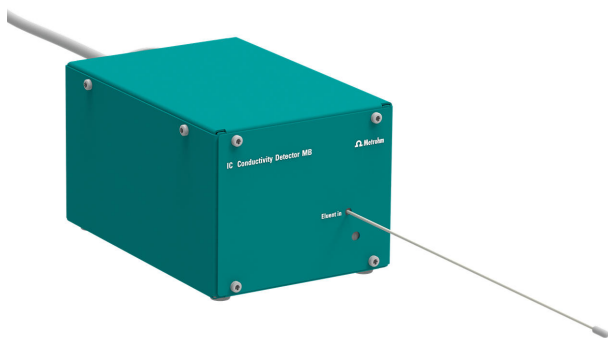


Metrosep A Supp 19 - 150/4,0

Proprietà di separazione eccezionali ed elevata capacità: queste le caratteristiche che fanno risaltare la famiglia di prodotti Metrosep A Supp 19 rispetto al portfolio di colonne. Questa famiglia di prodotti si contraddistingue per le migliori simmetrie dei picchi e selettività, nonché per l'elevata stabilità termica, meccanica e chimica che la rende estremamente robusta e stabile a portate e pressioni più elevate.

La variante da 150 mm rappresenta la colonna standard per la cromatografia anionica, dal momento che riesce a risolvere in sicurezza la maggior parte delle applicazioni ed è molto versatile. Data la sua elevata capacità, la colonna di separazione Metrosep A Supp 19 - 150/4,0 è particolarmente adatta anche alle applicazioni complesse con matrici impegnative. Viste le sue eccezionali proprietà di separazione, la colonna Metrosep A Supp 19 - 150/4,0 è utilizzabile in una gamma molto ampia di applicazioni, tra cui:

- Determinazione di anioni standard (fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, fosfato e solfato) nei più svariati campioni d'acqua;
- Determinazione di anioni standard e acidi organici con matrici di campione complesse, come ad es. campioni ambientali e alimentari;
- Determinazione di anioni standard e acidi organici nell'acqua di alimentazione delle caldaie, per garantire il funzionamento sicuro delle centrali elettriche;
- Determinazione di anioni standard nei campioni farmaceutici.



IC Conductivity Detector MB

Rilevatore della conducibilità ad alte prestazioni compatto e intelligente per gli strumenti IC intelligenti. Ottimizzato per le colonne Microbore. Eccellente stabilità di temperatura, la completa elaborazione del segnale all'interno del blocco del rivelatore protetto e DSP – Digital Signal Processing (elaborazione del segnale digitale) – di ultima generazione garantiscono la massima precisione della misura. Grazie al range dinamico di lavoro non sono necessari cambiamenti (anche non automatici) del range di misura.

Campi d'impiego tipici:

- Determinazione di anioni o cationi con soppressione chimica, soppressione sequenziale o senza soppressione e rilevazione in conducibilità
- Ottimizzato per le applicazioni Microbore (2 mm), ideale per le tecniche di accoppiamento (IC-MS o IC-ICP/MS)

Panoramica delle specifiche:

- Da 0 a 15.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ senza commutazione dell'intervallo
- Volume della cella: 0,3 μL
- Elettrodi ad anello in acciaio legato X2CrNiMo17-12-2 (316 L), compatibili con MSA
- Pressione d'esercizio massima: 10,0 MPa (100 bar)
- Temperatura della cella: da 20 a 50 °C in incrementi di 5 °C
- Stabilità della temperatura: < 0,001 °C
- Rumore di fondo: < 0,2 nS/cm tipico per la soppressione sequenziale
- Capillari: DI 0,18 mm

Supportato da MagIC Net 4.1 e versioni successive



889 IC Sample Center – cool

L'889 IC Sample Center – cool è la soluzione di automazione idonea quando disponete solo di una quantità molto ridotta di campione. Rispetto all'889 IC Sample Center dispone inoltre di una funzione di raffreddamento e pertanto è il campionatore ideale per campioni rilevanti dal punto di vista biochimico o per campioni termicamente instabili.