



Application Note AN-M-015

Medición de trazas de ácidos haloacéticos, dalapón y bromato en agua potable

Análisis robusto con IC-MS/MS según US EPA 557

La cloración del agua potable ayuda a reducir los patógenos, pero también puede formar subproductos potencialmente cancerígenos, por ejemplo, ácidos haloacéticos (HAA), dalapón y bromato [1,2]. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) y la UE establecen un límite máximo de contaminación para la suma de cinco HAA (HAA5: MCAA, MBAA, DCAA, DBAA, TCAA) de 60 partes por mil millones (60 µg/L) [3]. El método 557 de la EPA describe su cuantificación en el rango de µg/L en una amplia variedad de tipos de agua [4]. Aquí, el análisis se logra con un cromatógrafo de iones (IC) Metrohm acoplado a un espectrómetro de masas (MS) de triple

cuadropolo Agilent. Este método sensible no requiere extracción de muestra, y el módulo supresor Metrohm elimina cualquier interferencia del eluyente. Los analitos se resuelven bien de los componentes de la matriz con la columna Metrosep A Supp 19. Las recuperaciones de la adición de la matriz para 1 µg/L de todos los analitos se situaron entre el 65 % y el 115 %, incluso en muestras de agua con alta carga. Los niveles mínimos de notificación (LMR) fueron de 0,025 a 0,25 µg/L. El método IC-MS/MS presentado cumple todos los requisitos del Método 557 de la EPA.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE MUESTRA

Las muestras de agua incluyeron agua del grifo (del este de Suiza) y agua mineral (Evian que contiene c(carbonato de hidrógeno) = 360 mg/L, c(sulfato) = 14 mg/L, c(cloruro) = 10 mg/L y c(nitrato) = 3,8 mg/L). Además, se analizó la matriz de muestra sintética de laboratorio (LSSM) según EPA 557 (c(cloruro de amonio) = 100 mg/L, c(nitrato) = 20 mg/L,

c(carbonato de hidrógeno) = 150 mg/L, c(cloruro) = 250 mg/L y c(sulfato) = 250 mg/L). Las muestras se estabilizaron con metanol al 0,1 % (v/v) y se enfriaron a 4 °C. Se añadieron estándares internos a una concentración de 4 µg/L (aquí: MCAA-¹³C y MBA-¹³C).

EXPERIMENTO

La combinación de la HPLC con la espectrometría de masas se ha centrado comúnmente en el estudio de moléculas orgánicas. La combinación de la cromatografía iónica (IC) con la espectrometría de masas (EM) abre el campo al análisis de alta sensibilidad de sustancias iónicas y más polares en soluciones acuosas o matrices que contienen sales. El uso del Centro de Muestras 889 IC – cool garantiza un procesamiento de muestras estable y reproducible a 4 °C (Figura 1) al prevenir la desintegración de los HAA sensibles a la degradación.



Figura 1. Configuración instrumental para medir ácidos haloacéticos, dalapón y bromato, incluyendo un Centro de Muestras IC 889 – cool (Metrohm), un IC Vario 940 Professional (Metrohm) y un LC/MS de Triple Cuadropolo 6475 con Fuente de Iones Jet Stream Technology (Agilent). Se utilizó un Dosino para la infusión directa al MS durante la optimización del método.

El cromatógrafo iónico de microcalibre sin metales 940 Professional IC Vario, con columna Metrosep A Supp 19, supresión secuencial y detector de conductividad IC MB, logró una separación cromatográfica sin interferencias y con un volumen vacío reducido. La detección sensible y selectiva de ácidos haloacéticos se realizó con un LC/MS de triple cuadrupolo Agilent 6475 equipado con una fuente de iones Jet Stream Technology de Agilent, operado en modo de adquisición de monitorización dinámica de múltiples reacciones (dMRM). La detección de conductividad permite cuantificar aniones comunes como fluoruro, cloruro, nitrato o sulfato en paralelo. Un Dosino adicional permite la infusión directa de soluciones estándar al MS para optimizar el método, es decir, encontrar los mejores parámetros de MS para detectar los analitos de interés.

El módulo de IC continuo 948, CEP, produce con precisión un eluyente de hidróxido de potasio en concentraciones de 15 a 100 mmol/L de hidróxido de potasio (KOH) (**Figura 2**). El CI se operó con el software MagIC Net y el MS con el software MassHunter. La sincronización de ambos instrumentos se controló mediante un cable remoto. La **Tabla 1** muestra los ajustes más importantes del instrumento.



Figura 2. El Módulo de CI Continuo 948 (CEP) produce automáticamente eluyente de KOH a partir de agua ultrapura y un concentrado de KOH. La producción electroquímica del eluyente se realiza en una membrana del cartucho productor de eluyente.

Tabla 1. En esta tabla se enumeran los parámetros del método más importantes para la determinación de ácido haloacético con IC-MS/MS.

Coulmna IC	Metrosep A Supp 19 - 150/4.0
Eluente/gradiente	15–100 mmol/L KOH + 10% metanol
Caudal	0.5 mL/min
Temperatura de la columna	15 °C
Volumen de inyección	100 µL
Supresión	sequential
Polaridad iónica	negative
Cuadal de gas	12 L/min
Flujo de gas de envoltura	12 L/min
Temperatura del gas	150 °C
Temperatura del gas de envoltura	245 °C
Detección	dMRM (dynamic Multiple Reaction Monitoring)

RESULTADOS

El método presentado permite determinar todos los ácidos haloacéticos, bromato y dalapón relevantes en agua potable, según la norma EPA 557 (**Tabla 2**). La separación en la columna Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 con hidróxido como eluyente fue robusta y reproducible. Esta combinación permitió una resolución suficiente entre los picos de matriz altamente concentrados (es decir, cloruro, nitrato, bicarbonato y sulfato) y los analitos (**Figura 3**). La matriz se desvió a la zona de desechos para evitar la supresión iónica en el MS. Otra ventaja de esta configuración es el supresor estable al disolvente. El uso de metanol al 10 % en el eluyente facilita la

transferencia de la fase acuosa a la gaseosa y no afecta al supresor. Por lo tanto, no fue necesaria la adición posterior de disolventes orgánicos con una bomba secundaria después de la columna para mejorar la evaporación de los analitos en el MS.

La calibración de 0,1 a 40 µg/L con ajustes cuadráticos arrojó valores de R² en el rango de 0,996 a 0,999. La determinación de los niveles mínimos de notificación (LCMRL) se realizó según la norma EPA 557, capítulo 9.2.4 (**Tabla 2**). Se analizaron con éxito siete réplicas para determinar el límite superior e inferior del PIR (intervalo de predicción de los resultados) (rango aceptable: 50-150%).

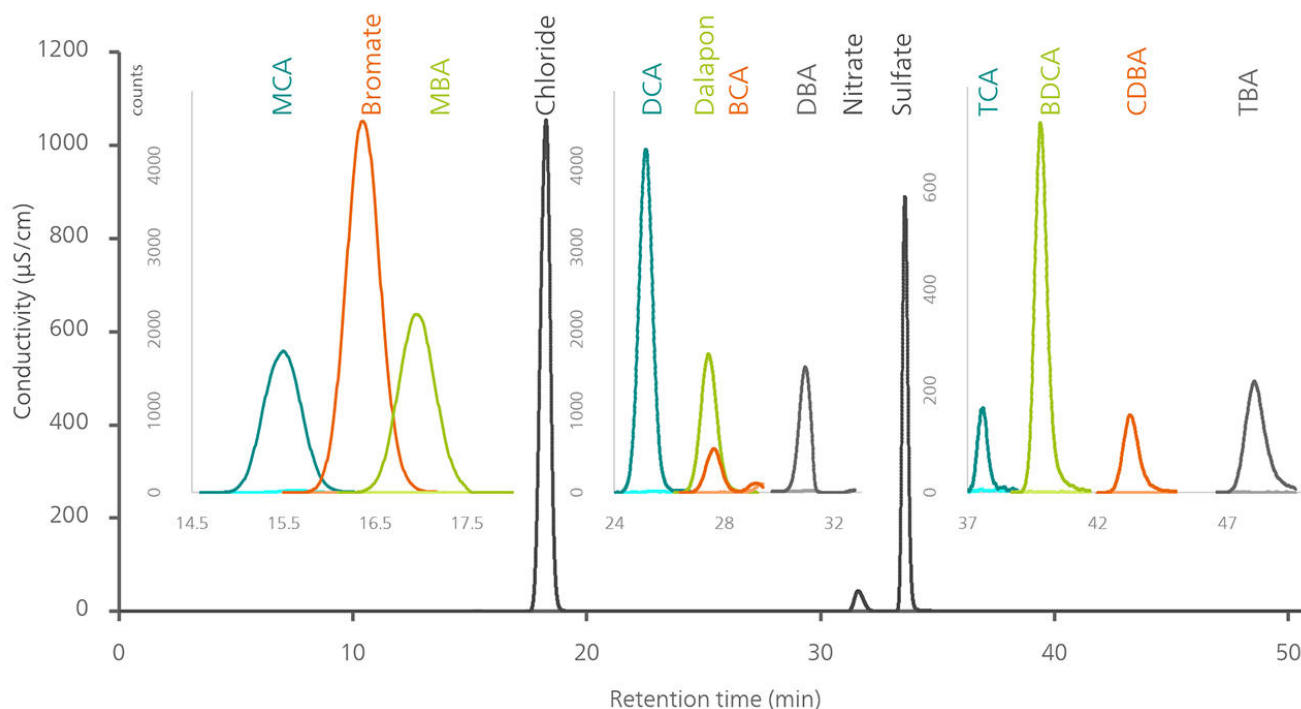


Figura 3. Superposición de un cromatograma de una matriz de muestra sintética de laboratorio (LSSM) según la norma EPA 557 con $c(\text{cloruro de amonio}) = 100 \text{ mg/L}$, $c(\text{nitrato}) = 20 \text{ mg/L}$, $c(\text{carbonato de hidrógeno}) = 150 \text{ mg/L}$, $c(\text{cloruro}) = 250 \text{ mg/L}$ y $c(\text{sulfato}) = 250 \text{ mg/L}$ (líneas claras), y de LSSM adicionado con 1 µg/L de todos los analitos (líneas intensas). El volumen de inyección fue de 100 µL .

Las muestras de agua se analizaron directamente (sin necesidad de dilución). La **Tabla 3** muestra que las recuperaciones de 1 µg/L mediante adición se situaron en el rango del 65-115 % (para LSSM), del 46-112 % (para agua del grifo) y del 87-150 % (para agua Evian). Las réplicas para agua del grifo ($n = 7$) se situaron en el rango de 0,7-6,8 % de desviación estándar relativa (DER). Para agua mineral (Evian) ($n = 6$) y para LSSM ($n = 7$), los valores de DER se situaron en el rango de 1,6-6,3 % y 1,0-36,5 %, respectivamente. La mayoría de los valores fueron ≤ 5 %, excepto para TCAA (que eluye cerca del sulfato). Los pares críticos fueron DBA/nitrato y TCAA/sulfato.

Las ventanas de desviación deben ajustarse con precisión para obtener datos completos de los analitos DBAA y TCAA y desviar tanto el nitrato como el sulfato a los residuos. La degradación de la muestra a temperatura ambiente fue visible al cabo de un día y se observó una degradación considerable al cabo de cuatro o cinco días. Las muestras deben medirse a tiempo o se debe utilizar un muestreador con función de refrigeración (p. ej., 889 IC Sample Center – *cool*). En esta configuración se utilizó un supresor de CO_2 Metrohm (MCS), ya que mejoró la conductividad de fondo y, por lo tanto, redujo el número de iones interferentes en el MS.

Tabla 2. La determinación de los niveles mínimos de notificación (LCMRL) de concentración más baja se realizó según la norma EPA 557, capítulo 9.2.4, Confirmación del nivel mínimo de notificación (LMR). Se analizaron siete réplicas para determinar el límite superior e inferior del PIR (intervalo de predicción de los resultados) (rango aceptable: 50-150%). *No se analizaron concentraciones inferiores a 0,025 µg/L, pero la relación señal-ruido fue >10, lo que indicó que no se alcanzó el límite mínimo.

Analito	Abreviatura	Tiempo de Retención [min]	Precursor m/z	Producto m/z	Concentración para el nivel mínimo de reporte [µg/L]	Límites PIR [%]
Ácido monocloroacético	MCAA	15.8	93	34.9	0.025*	91–109
Ácido monobromoacético	MBAA	17.2	137	79	0.025*	88–112
Bromato	BrO ₃	16.7	127	111	0.025*	84–116
Ácido dicloroacético	DCAA	25.6	127	83	0.025	84–116
Dalapón	DAL	28.0	141	97	0.025	74–126
Ácido bromocloroacético	BCAA	28.0	173	81	0.05	74–126
Ácido dibromoacético	DBAA	31.4	217	173	0.025	75–125
Ácido tricloroacético	TCAA	37.9	161	117	0.25	62–131
Ácido bromodicloroacético	BDCAA	40.2	163	81	0.025	79–121
Ácido clorodibromoacético	CDBAA	43.5	207	79	0.025	52–148
Ácido tribromoacético	TBAA	49.1	251	79	0.025	62–138

Tabla 3. Se adicionaron tres tipos de muestras de agua con 1 µg/L de todos los analitos enumerados y se determinaron mediante IC-MS/MS. No se evaluaron analitos en las muestras originales sin adicionar. No se detectaron o su concentración fue inferior a 0,1 µg/L. Los valores de concentración se promediaron en al menos seis réplicas.

Analito	Concentración [µg/L] en muestras enriquecidas con 1 µg/L de todos los analitos		
	Agua del grifo (este de Suiza)	Agua mineral (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

CONCLUSIÓN

The presented method fulfills all analytical requirements of US EPA 557 [4]. The robust setup of hyphenating Metrohm IC and Agilent MS guarantees the highest sensitivity and selectivity for all relevant haloacetic acids, dalapon, and bromate, even in complex drinking water matrices. The five

representative substances (mono-, di-, and trichloroacetic acid, and mono- and dibromoacetic acid) were precisely quantified in the sub µg/L concentration range for various water samples. The requirements of EPA 557 [4] and the EU directive [5] are met with this method.

REFERENCIAS

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 Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP/MB

El 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP es el aparato CI inteligente de **dos canales** con **supresión secuencial** (un canal) y una **bomba peristáltica** para la regeneración de supresores. Este aparato puede emplearse con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Aparato estándar para determinaciones en paralelo de cationes y aniones
- Análisis de trazas para aniones y cationes
- Supervisión online para aniones y cationes
- Optimizado para aplicaciones microbore (2 mm), ideal para técnicas de acoplamiento (IC-MS o IC-ICP/MS)

Compatible con MagIC Net 4.1 y versiones superiores

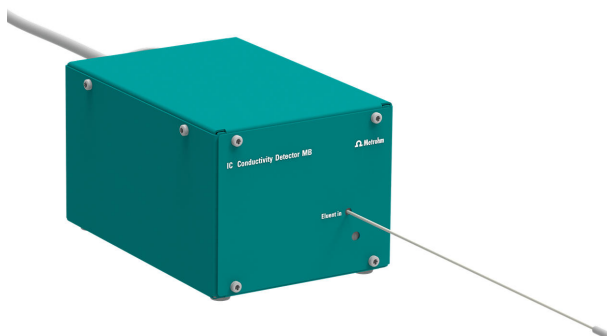


Metrosep A Supp 19 - 150/4.0

Excelentes propiedades de separación y alta capacidad: estas son las cualidades que distinguen claramente a la familia de productos Metrosep A Supp 19 de las demás integrantes de la cartera de columnas. Destaca por tener las mejores simetrías de picos y su gran selectividad, así como por su elevada estabilidad térmica, mecánica y química, lo que le confiere extrema robustez y resistencia ante presiones y flujos más altos.

La versión de 150 mm es considerada la columna estándar para la cromatografía aniónica, pues resuelve con seguridad la gran mayoría de aplicaciones y puede utilizarse con mucha versatilidad. En virtud de su gran capacidad, la columna de separación Metrosep A Supp 19 - 150/4,0 resulta particularmente adecuada, incluso para aplicaciones complejas con exigentes matrices. Por sus excelentes propiedades de separación, el campo de utilización de la Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 es muy versátil y abarca, entre otras, las siguientes aplicaciones:

- Determinación de aniones estándar (fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, fosfato y sulfato) en las más diversas muestras de agua;
- Determinación de aniones estándar y ácidos orgánicos en complejas matrices de muestras como, por ejemplo, muestras tomadas del medioambiente o muestras de alimentos;
- Determinación de aniones estándar y ácidos orgánicos en el agua de alimentación de calderas para garantizar la seguridad de las operaciones en centrales eléctricas;
- Determinación de aniones estándar en muestras farmacéuticas.



IC Conductivity Detector MB

Detector de conductividad de alto rendimiento, inteligente y compacto para aparatos CI inteligentes. Optimizado para columnas microbore. La extraordinaria constancia de temperatura, el tratamiento completo de la señal dentro del bloque detector protegido y DSP (tratamiento digital de la señal) de última generación garantizan la máxima precisión de la medida. Gracias a la zona de trabajo dinámica, no es necesario el cambio de la zona (ni siquiera automático).

Ámbitos típicos de aplicación:

- Determinaciones de cationes o aniones con supresión química, supresión secuencial o sin supresión y detección de conductividad
- Optimizado para aplicaciones microbore (2 mm), ideal para técnicas de acoplamiento (IC-MS o IC-ICP/MS)

Resumen de la especificación:

- 0...15 000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ sin conmutación de gama
- Volumen de celda: 0,3 μL
- Electrodo de forma anular de acero fino X2CrNiMo17-12-2 (316 L), compatibles con MSA
- Presión máxima de servicio: 10,0 MPa (100 bar)
- Temperatura de la celda: 20...50 °C en pasos de 5 °C
- Estabilidad térmica: 0,001 °C
- Ruido de la línea de base: 0,2 nS/cm típico en la supresión secuencial
- Capilares: d. i. 0,18 mm

Compatible con MagIC Net 4.1 y versiones superiores



889 IC Sample Center – cool

El 889 IC Sample Center - cool es la solución de automatización perfecta para cuando se dispone de muy poca cantidad de muestra. A diferencia del 889 IC Sample Center, también dispone de una función de refrigeración que lo convierte en el cambiador de muestras ideal para muestras inestables térmicamente o bioquímicamente relevantes.