

BTO 2005.026
april 2005

De 'evaporative light scattering detector' (ELSD) voor de screening van water.

Stand van zaken van de ELSD-techniek voor
toepassing bij de drinkwaterbereiding

BTO 2005.026
april 2005

De 'evaporative light scattering detector' (ELSD) voor de screening van water.

Stand van zaken van de ELSD-techniek voor
toepassing bij de drinkwaterbereiding

© 2005 Kiwa N.V.
Alle rechten voorbehouden.
Niets uit deze uitgave mag
worden verveelvoudigd,
opgeslagen in een
geautomatiseerd
gegevensbestand, of
openbaar gemaakt, in enige
vorm of op enige wijze,
hetzij elektronisch,
mechanisch, door
fotokopieën, opnamen, of
enig andere manier, zonder
voorafgaande schriftelijke
toestemming van de
uitgever.

Kiwa N.V.
Water Research
Groningenhaven 7
Postbus 1072
3430 BB Nieuwegein

Telefoon 030 606 95 11
Fax 030 606 11 65
Internet www.kiwa.nl

Colofon

Titel

De 'evaporative light scattering detector' (ELSD)
voor de screening van water.

Projectnummer

111508.031

Projectmanager

P. M. van Berkel

Kwaliteitsborger(s)

P. M. van Berkel

Auteur(s)

A. Brandt en J. van den Broeke

Dit rapport is selectief verspreid onder medewerkers van BTO-participanten en is verder niet openbaar.

Samenvatting

In het kader van het Gezamenlijk Onderzoeksprogramma Waterleidingbedrijven is onderzoek uitgevoerd naar de bruikbaarheid van zogenaamde 'Evaporative Light-Scattering Detectoren' (ELSD) voor de detectie van organische stoffen in water. Onderzocht is of de huidige generatie ELSD mogelijk kan functioneren als aanvulling in een HPLC-UV-monitorsysteem bij de bewaking van de inname van ruwwater of voor de bewaking van het waterzuiveringsproces.

In totaal zijn de mogelijkheden van 6 detectoren van verschillende fabrikanten nader bekeken. Dit zijn de: ELSD 2000 ES (Alltech), PL-ELS 2100 (Polymer Laboratories), Sedex LT-ELSD en de Sedex 85 LT-ELSD (Sedere), Waters 2420 ELSD (Waters) en de Corona CAD (ESA). De Corona is een uitzondering, het is geen ELSD, het belangrijkste verschil is de detectie. Van alle instrumenten is onderzocht wat de minimaal meetbare concentratie is van een standaardoplossing van 10 fenylureum herbiciden. Met de apparatuur van Alltech, Sedex en de Corona zijn ook extracten van oppervlaktewater gemeten.

Het is gebleken dat de ELSD's en de Corona detector snel en eenvoudig inzetbaar zijn. Echter, alleen de Corona kan het gewenste meetniveau voor alle standaardstoffen halen en kan goed in oppervlaktewater meten. Er treden bij alle instrumenten grote verschillen in respons op voor de gemeten standaardstoffen. Toch lijkt, gezien de gevoeligheid en het aantal gedetecteerde stoffen, de UV-diode array-detector nog steeds de meest universele detector. Van de hier geëvalueerde detectoren biedt alleen de Corona detector hierop enige meerwaarde.

Inhoud

	Samenvatting	1
	Inhoud	2
1	Inleiding	3
2	Werking van de detectoren	4
3	Gegevens van de detectoren.	6
4	De experimenten	7
4.1	Resultaten van de metingen met de 10 fenylureum herbiciden	8
4.1.1	Alltech 2000 ES	10
4.1.2	Polymer Laboratories PL-ELS 2100	11
4.1.3	Sedex 75 LT	12
4.1.4	Sedex 85 LT	12
4.1.5	Waters 2420	13
4.1.6	Corona	14
4.1.7	Discussie	14
4.2	Resultaten van aanvullende metingen (oppervlaktewater en andere teststoffen)	15
4.2.1	Alltech	16
4.2.2	Sedex 85 LT	17
4.2.3	Corona	18
4.2.4	Dicussie	20
5	Conclusies	21
	Literatuur	22
I	Bijlage	23
II	Bijlage	25

1 Inleiding

In het kader van het Gezamenlijk Onderzoeksprogramma van de Waterleidingbedrijven is in 1999 onderzoek uitgevoerd naar de bruikbaarheid van HPLC-UV-monitorsystemen als zelfstandig werkend bewakingssysteem (Brandt, 1999). Deze monitor op basis van HPLC met UV-diode array-detectie (HPLC-DAD) die voor de bewaking van de ruwwater inname (of het zuiveringsproces) is in 2003 in gebruik genomen (Brandt, 2004). Met deze monitor kunnen veel organische stoffen op een laag concentratieniveau worden gemeten, de beperking is echter dat de stoffen wel UV-absorberende eigenschappen moeten bezitten. Bij onderzoek in diverse typen oppervlaktewater, waarbij zowel UV- als MS-detectie is gebruikt, is gebleken dat er een aantal stoffen in het oppervlaktewater voorkomen die niet met de UV-detector worden gemeten. Een aanvulling op de UV-detector voor de bewaking van het waterzuiveringsproces, en die minder kostbaar is dan een massaspectrometer, zou daarom van groot belang zijn.

In theorie kan een 'evaporative light scattering detector' (ELSD) alle niet vluchtige organische verbindingen meten. Het is een niet specifieke detector die, als het detectieniveau voldoende laag is, meer organische stoffen kan detecteren dan een UV-diode array-detector. Tot voor kort was het detectieniveau van dit type detectoren niet voldoende voor het meten van organische microverontreinigingen in water(extracten). Recente ontwikkelingen van de ELSD geven de indruk dat ook op voor de drinkwater sector interessante concentratieniveau's gemeten zou kunnen worden, mits voldoende geconcentreerd wordt. De theoretische detectiegrenzen komen nog niet op het niveau van UV- of MS-detectie, maar zouden voor de alarmering van verontreinigingen groter dan circa 1 µg/l kunnen voldoen. Dit komt bij een (on-line SPE) injectievolume van 10 tot 100 ml overeen met 10 tot 100 ng absoluut, wat voor de huidige generatie ESLD's mogelijk zou kunnen zijn.

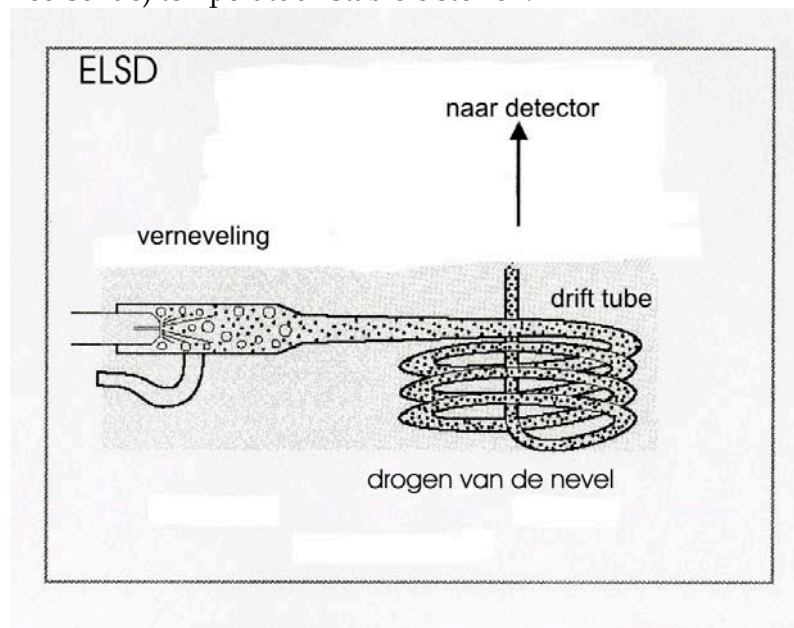
In dit onderzoek is uitgezocht in welke mate de huidige generatie ELSD-apparatuur stoffen die in het water kunnen voorkomen kan signaleren.

2 Werking van de detectoren

De 'Evaporative Light Scattering detector' (ELSD) is een HPLC-detector die al heel lang in gebruik is voor de detectie van slecht of niet met UV meetbare stoffen zoals polymeren, suikers, detergenten, farmaceutische stoffen, vetten en vetzuren. Het principe van de ELSD berust op lichtverstrooiing wanneer een lichtbundel een stroom van zwevende deeltjes kruist (zogenaamde scattering). Deze scattering wordt onder een bepaalde hoek ten opzichte van de lichtbundel gemeten, en de hoek van scattering alsook de mate waarin scattering optreedt, is indicatief voor deeltjes aantallen en deeltjesgrootte.

Om als HPLC-detector te kunnen functioneren, wordt de eluensstroom in een verstuiver gebracht en met een stroom stikstof verstoven (figuur 1). Vervolgens worden grotere druppels weg gevangen en komt de eluensnevel in een zogenaamde drift tube. In deze buis wordt het eluens verdampt en blijven de stoffen met een hoger kookpunt dan het eluens als deeltjes in de stikstofstroom. Deze deeltjes passeren een lichtbundel en veroorzaken scattering in de lichtbundel. De scattering wordt gemeten door de fotomultiplier. Als lichtbron worden verschillende typen gebruikt zoals halogeen, wolfram, laser, LED.

Een ELSD zou gevoelig zijn voor alle niet vluchtige en (bij de in de detector heersende) temperatuur stabiele stoffen.

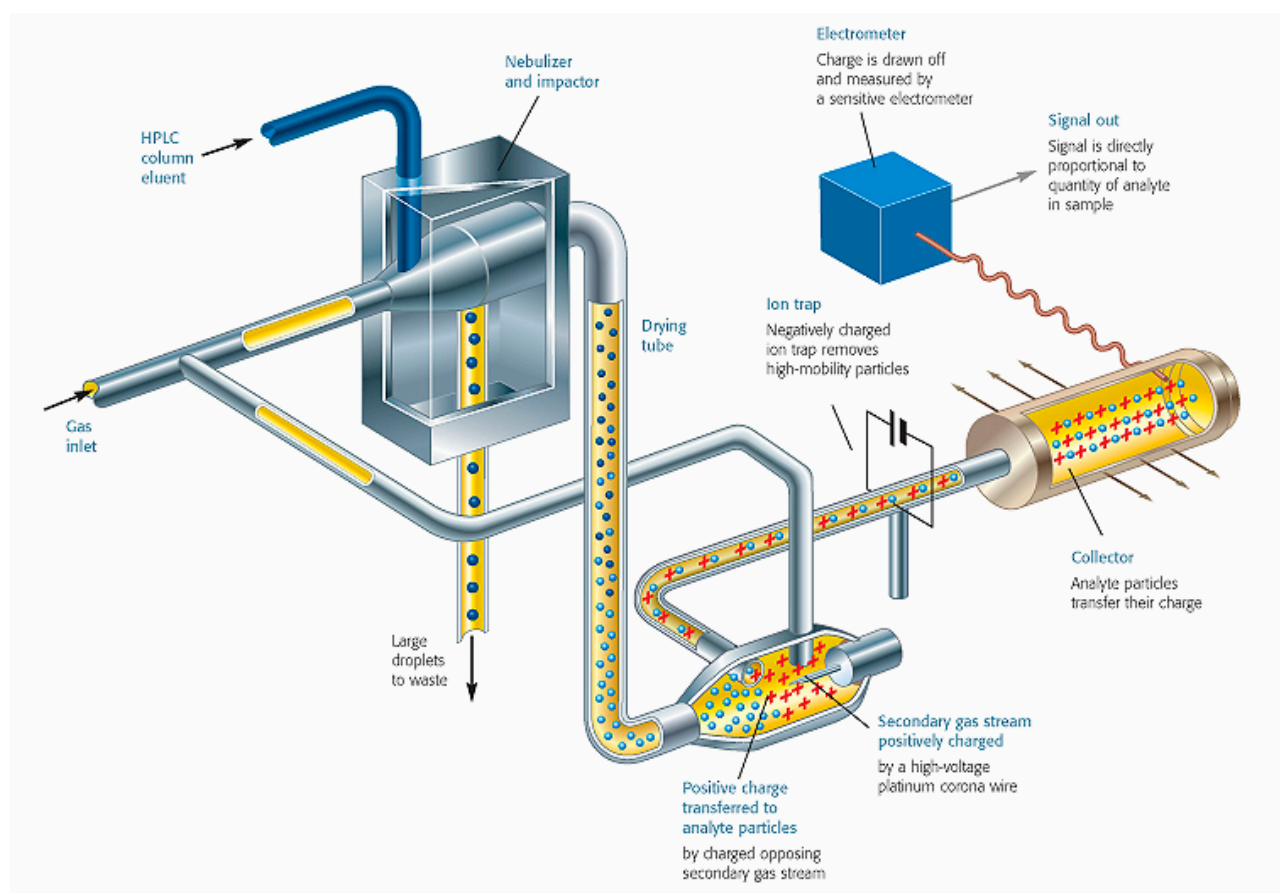


Figuur 1. Schema van de werking van een ELSD (overgenomen van Waters)

De temperatuur in de drift tube is van grote invloed op de piekrespons. Deze invloed verschilt per verbinding. Sommige verbindingen hebben bij lage temperatuur een grotere respons dan bij een hogere temperatuur en andersom. Ook kan de temperatuur in de drift tube van invloed zijn op de scheiding. Daarnaast is de ELSD-respons niet lineair; een injectie van 1000 ng en een injectie van 100 ng verschillen meer dan een factor 10 in piekhoogte.

De Corona-detector die nog maar net op de markt is, is ook in dit overzicht meegenomen. De Corona is weliswaar geen ELSD, omdat het een afwijkend detectie principe heeft (figuur 2), maar deze is voor eenzelfde soort toepassing als de ELSD ontworpen. Vandaar dat de Corona detector ook in deze evaluatie is meegenomen, mede omdat de respons van de Corona meer lineair zou zijn dan die van een ELSD.

Het eerste deel van de bewerking van het monster, de verstuiving en het drogen van de eluensstroom, is vergelijkbaar met die van de ELSD. Echter, in de Corona detector gebeurt dit bij kamertemperatuur, en de vernevelingskamer is niet gethermostreerd (bij ELSD gebeurt dit bij verhoogde temperatuur). Na verneveling en verdamping van het eluens wordt bij de Corona een positief geladen stikstofstroom aan de deeltjesstroom toegevoegd. Deze geladen stikstofdeeltjes dragen hun lading over aan de deeltjes van het monster. Vervolgens worden met behulp van een zogenaamde ion-trap de te snelle deeltjes weggevangen, voornamelijk de stikstof. Uiteindelijk staan de geladen deeltjes hun lading weer af in een collectorbuis. Deze lading wordt door een elektrometer in een signaal omgezet die gelijk is aan het aantal en de grootte van de deeltjes. Van de Corona-detector wordt gezegd dat de gevoeligheid 10 maal die van een ELSD is en vergelijkbaar is met UV-detectie. Ook de Corona detector is net als de ELSD in theorie gevoelig voor alle niet vluchtige stoffen.



Figuur 2. Schema van van de Corona-detector (Overgenomen van ESA).

3 Gegevens van de detectoren.

Tabel 1. Overzicht van de gegevens van de geteste apparatuur.

Naam/ type	Leverancier	Lichtbron	Detectie	Temp. range (°C)	Eluensdebiet range (ml/min)	opmerkingen
ELSD 2000 ES	Alltech	laserdioden 650 nm	siliconen fotodioden	omg. ^a - 120	- 5	keuze tussen gesplitte en ongesplitte aerosolstroom
PL-ELS 2100	Polymer Laboratories	LED 480 nm	fotomultiplier	omg. - 120	- 5	kan bij lage temperatuur voor vluchtige stoffen.
Sedex 75 LT ELSD	Sedere (Shimadzu)	Wolfram lamp	fotomultiplier	omg. - 80	0,1 - 5	Kan bij 32 °C 1ml H ₂ O/min. verwerken
Sedex 85 LT ELSD	Sedere (B. de Ronde)	blauwe LED	fotomultiplier	omg. - 85	0,005 - 5	keuze uit 4 soorten verstuivers
2420 ELSD	Waters	Wolfram- halogeen	fotomultiplier	omg. - 150	0,3 - 3 0,05 - 0,5	verwisselbare verstuivers
Corona CAD	ESA	n.v.t.	collector	omg.		alleen de verstuiving en verdamping zijn als bij ELSD

Opmerking: de catalogusprijs van een ELSD varieert tussen 10.000 en 15.000 Euro, die van de Corona ligt tussen 25.000 en 30.000 Euro.

^aOmg. is omgevingstemperatuur.

4 De experimenten

De in tabel 1 genoemde apparaten zijn getest met een standaardoplossing van 10 fenylureumherbiciden (FUH's) met een concentratie van circa 50 mg/l per verbinding. Van deze stoffen is de laagst meetbare concentratie vastgesteld met de te testen ELSD's (sectie 4.1). Dit is in een aantal gevallen door de leverancier uitgevoerd en in aantal gevallen door Kiwa (wanneer het apparaat door Kiwa op het eigen laboratorium getest is).

Er is gekozen voor het gebruik van FUH's omdat deze met hoge gevoeligheid te detecteren zijn met de UV detector die routinematig wordt gebruikt in combinatie met HPLC. Hierdoor is het mogelijk om tijdens de metingen gebruik te maken van het signaal van deze UV-detector als referentie. Daarnaast is tot in detail bekend hoe de response van de UV-detector eruit ziet voor deze FUH's, en hieraan kunnen de prestaties van de ELSD's worden gecorreleerd.

Voor detectoren die goed presteerden in de detectie van de FUH's is ook de response of andere stoffen bekeken (zie sectie 4.2)

Tabel 2. Gegevens van de standaardstoffen.

FUH-standaard 50 mg/l				
nr.	naam stof	MW	smeltpunt °C	Retentietijd (min.)*
1	metoxuron	228,7	127	26,58
2	monuron	198,6	171	28,42
3	methabenzthiazuron	221,2	120	31,08
4	chlorotoluron	212,7	148	31,97
5	isoproturon	206,3	158	32,98
6	diuron	233,0	158	33,86
7	monolinuron	214,6	82	34,62
8	metobromuron	259,1	95	35,82
9	linuron	249,1	93	39,61
10	chlorobromuron	293,5	96	40,47

* Globale retentietijden omdat de tijden verschillen per kolom.

Uitgangscondities voor de HPLC-scheiding:

Kolom: C18 (Alltima, Omnispher, Inertsil ODS-3/-2 of vergelijkbaar); 250 x 4,6 mm(i.d.); 5 µm.

Eluens: Water - acetonitril

Gradiënt: van 10 % naar 80 % acetonitril in 40 minuten (voor de snelle scheiding is ook 25 minuten gebruikt), 6 minuten spoelen op 100 % acetonitril en vervolgens 23 minuten spoelen met 10 % acetonitril.

Debiet: 0,7 ml/min. en tijdens het spoelen 1,0 ml/min.

Guard-kolom: C18-materiaal

Directe injectie: tot 20 µl standaardoplossing

Kolomtemperatuur: 8 °C (20 °C kan ook met iets minder resolutie).

UV-Detectie: 244 nm.

4.1 Resultaten van de metingen met de 10 fenylureum herbiciden

In tabel 3 zijn de resultaten weergegeven van de metingen die door de leveranciers of door Kiwa zijn uitgevoerd met een standaardoplossing van 10 fenylureumherbiciden. In deze tabel zijn naast de apparaatidentificatie ook de meetcondities en de gedoseerde concentraties weergegeven.

De concentratie van de standaardoplossing is circa 50 mg/l per component en de deelnemers is gevraagd vast te stellen wat de laagst meetbare concentratie is die met hun apparatuur te meten is. Om de resultaten zo goed mogelijk te kunnen vergelijken, is het signaal in millivolt (mV) aangegeven.

Tabel 3. Overzicht van de responsie van de ELSD's voor de FUH-standaardoplossing.

detector	Conditie *)	geteste conc.+/-	piek 1 (mV)	piek 2 (mV)	piek 3 (mV)	piek 4 (mV)	piek 5 (mV)	piek 6 (mV)	piek 7 (mV)	piek 8 (mV)	piek 9 (mV)	piek 10 (mV)
Alltech ELSD 2000 ES	40 °C 1,1 l/min 32 °C	1000 ng	22	17	14	25	20	24	1	2	6	10
		100 ng	1,4	0,8	0,5	1,2	1,2	1,4	-	-	0,4	0,7
Polymerlab's PL-ELS 2100	25 °C 1,4 l/min 50°C	1000 ng	17	22	35	36	46	40	10	21	64	60
		1000 ng	80	61	58	109	94	127	-	6	47	70
Sedex 75 LT ELSD	33 °C 3,5 bar	500 ng	336	155	= samen met piek 4	500	364	455	= samen met piek 6	-	27	100
		250 ng	131	81		138	131	188		-	-	38
Sedex 85 LT-ELSD	42 °C 3,8 bar	1000 ng	3040	1760	880	2660	1720	3020	-	100	430	970
		100 ng	92	15	2	42	13	61	-	-	-	6
Waters 2420 ELSD	48 °C 3,1 bar	1000 ng	1967	1367	133	1133	267	2133	-	-	133	1067
		100 ng	33	20	-	-	-	27	-	-	-	-
ESA Corona CAD	omgevings-temp. (5 pA)	100 ng	910	240	125	475	325	670	55	65	120	160
		20 ng	130	35	13	60	40	90	10	15	20	25

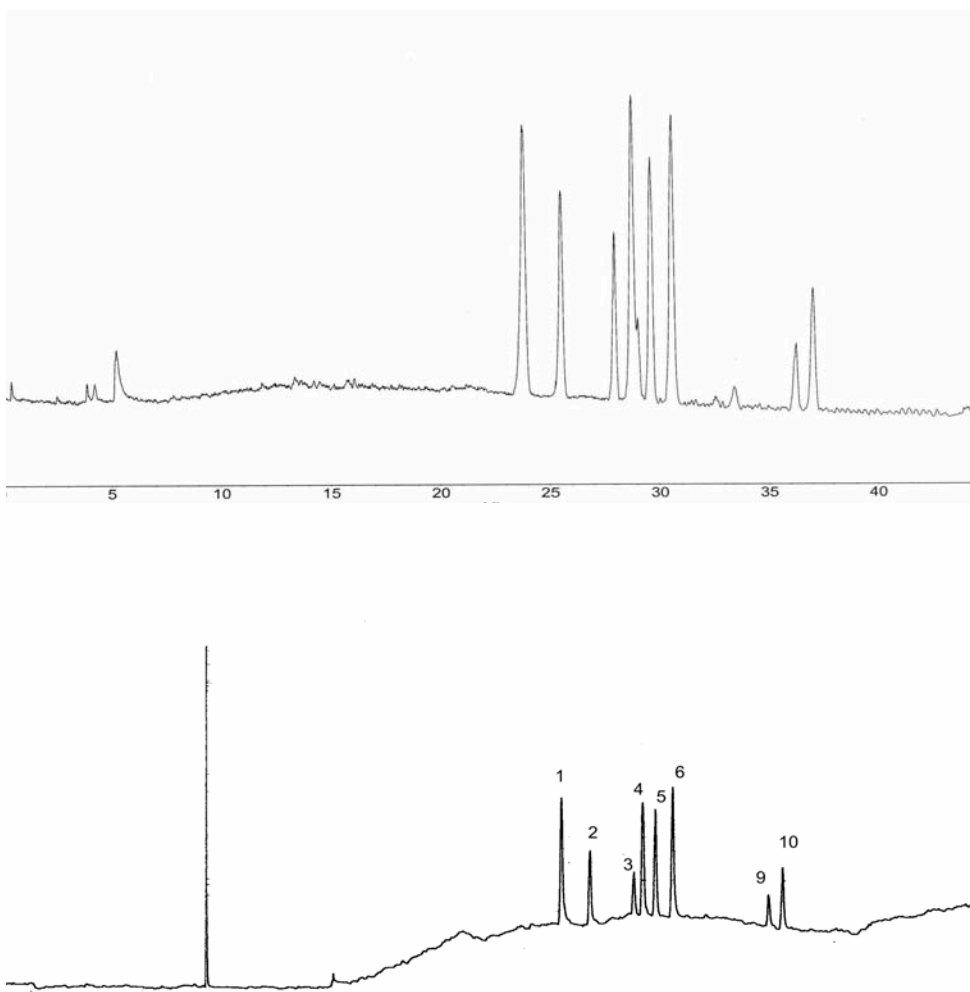
*) temperatuur van de drift tube en druk of debiet van de stikstof door het systeem

4.1.1 Alltech 2000 ES

Deze detector is door de leverancier en door Kiwa getest.

De Alltech 2000 ES heeft de mogelijkheid om met en zonder 'impactor' te meten. De impactor is een plaat die in de gasstroom een deel van het vernevelde eluens wegvangt. Met deze impactor kan met een waterig eluens bij een lagere temperatuur gemeten worden. Zonder de impactor komt alle nevel in de drift tube en dus veel meer van de deeltjes in het detectiedeel. Om te voorkomen dat druppels het detectie gedeelte bereiken, moet zonder het gebruik van de impactor de temperatuur van de drift tube hoger zijn dan wanneer met de impactor wordt gewerkt.

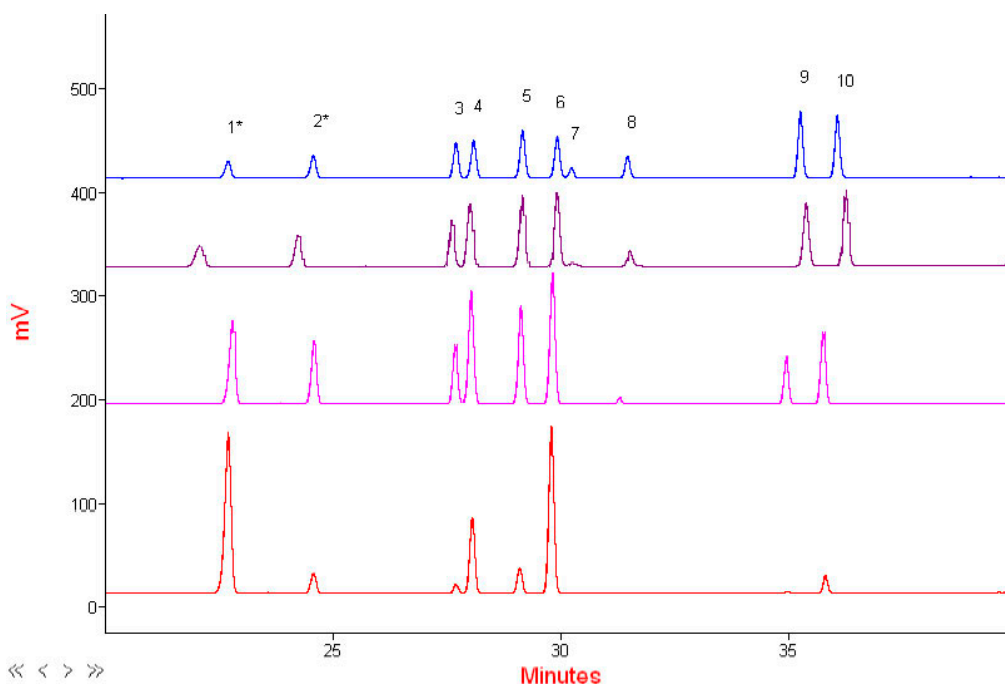
Meting van de FUH standaard waarbij 1000 ng van elk van de 10 herbiciden wordt geïnjecteerd (20 µl injectie, 50 mg/l) geeft bij 40 °C (met impactor) een goede respons voor 8 van de 10 FUH's. Respons op de stoffen monolinuron en metobromuron (pieknummers 7 en 8) is erg laag. De laagst mogelijke en beste meettemperatuur voor de FUH's met deze detector is 32 °C (met impactor). Bij deze optimale temperatuur geven, bij de injectie van de standaard (100 ng on-column), de pieken 7 en 8 geen signaal, terwijl de rest goed te meten is (figuur 3). Bij 80 °C (zonder impactor) is slechts voor 2 stoffen een respons (van 1000 ng) waar te nemen.



Figuur 3. Respons van 1000 ng (boven) en 100 ng (onder) van de 10 FUH op de Alltech ELSD. De FUH nummers 7 en 8 geven geen piek meer bij 100 ng. (Let op: de figuren verschillen zowel op de tijd als op de hoogte van de volle schaal weergave).

4.1.2 Polymer Laboratories PL-ELS 2100

De standaardoplossing met 50 mg/l van de 10 FUH's is door Polymer Laboratories bij 25, 40, 50 en 70 °C gemeten (20 µl injectie, 1000 ng on-column). Er is niet gekeken naar lagere concentraties. Het resultaat is weergegeven in figuur 4. Uit de figuur is af te lezen dat de laagste temperatuur (25 °C) het meest geschikt is om alle pieken te kunnen meten. Wanneer wordt gemeten bij 50 °C dan zijn de meeste pieken beduidend hoger behalve de pieken corresponderend met stoffen 7 en 8. Bij 25 °C verschilt de respons van de pieken 7 en 8 het minste van de overige piekresponses. Ook in vergelijking met de andere geteste detectoren heeft de PL-ELS 2100 bij 25 °C de meest lineaire respons in signaal vs. concentratie voor alle 10 de FUH's. Daarnaast is 25 °C absoluut gezien de laagste temperatuur waarbij de FUH's met enige ELSD gemeten konden worden.



Figuur 4. Chromatogrammen bij (van boven naar onderen) 25, 40, 50 en 70 °C van de Polymer Lab's-ELSD. Pieknnummers zijn in tabel 2 verklaard.

4.1.3 Sedex 75 LT

De test met de 10 FUH's van de Sedex 75 LT is door de firma Shimadzu uitgevoerd. In de door Shimadzu uitgevoerde experimenten is gebruik gemaakt van een afwijkende HPLC configuratie, waarbij een 150 mm kolomlengte werd toegepast in plaats van 250 mm. Door deze andere HPLC configuratie dan welke bij Kiwa is gebruikt, wordt de vergelijking van de resultaten behaald met deze detector met die van de andere detectoren bemoeilijkt.

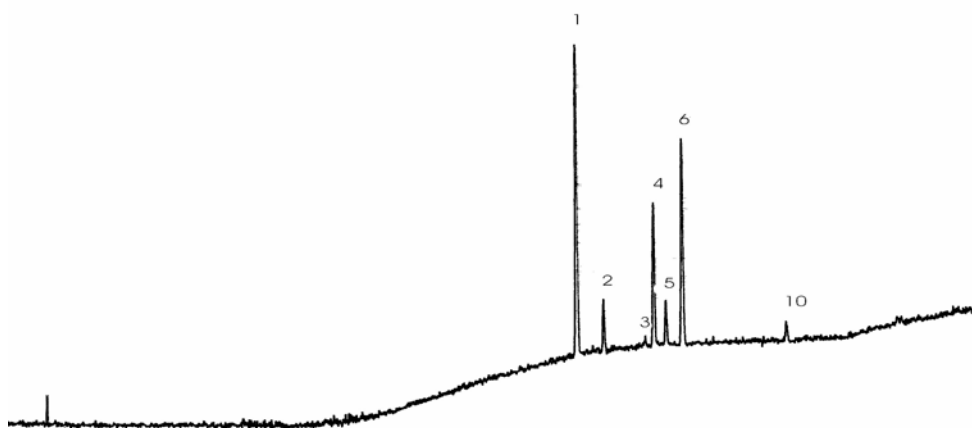
Het gebruik van de 150 mm kolom had als gevolg dat met de gegeven gradiënt niet alle pieken gescheiden werden. Aangenomen is dat de piekvolgorde niet is gewijzigd. Door het samenvallen met andere pieken kan over piek 3 en piek 7 geen uitspraak gedaan worden. De metingen zijn uitgevoerd bij 33 °C (zie bijlage II). Injectie van 1000 ng (on-column) toont dat alle met UV zichtbare pieken ook met de ELSD gemeten worden. Echter, de respons voor piek 8 is hier al erg laag. Op het concentratieniveau van 250 ng (on-column) zijn piek 8 en piek 9 niet meer meetbaar. De lage respons bij de 250 ng on column lijkt er op te wijzen dat deze de 75 LT minder gevoelig is dan de andere detectoren, omdat die bij deze concentratie nog wel in staat zijn piek 8 waar te nemen.

4.1.4 Sedex 85 LT

Deze detector is door Kiwa getest.

De laagst toepasbare temperatuur voor de drift tube, bij het gebruikte waterige eluens (10 % acetonitril bij aanvang van de gradiënt), is 42 °C. Op het concentratie niveau van 1000 ng (on-column) is er geen respons van piek 7 en naar verhouding zeer weinig respons van piek 8. Bij een concentratie van 100 ng ontbreken de pieken 7, 8 en 9 en is piek 3 nog net waarneembaar,

terwijl piek 1, 4 en 6 nog een hoge respons hebben (figuur 5). De spreiding in piekrespons is bij deze detector veel groter dan bij de Alltech ELSD, welke ook voor de pieken 3 en 9 bij 100 ng nog een goede respons heeft. Wel lijkt de Sedex 85 LT is gevoeliger dan de 75 LT, die bij 250 ng on-column de pieken 8 en 9 al niet meer kon detecteren.



Figuur 5. Respons van 100 ng van de 10 FUH op de Sedex85 LT ELSD. De FUH nummers 7 en 9 geven geen respons, 3 is nog net te zien, en 1, 4 en 6 geven een forse respons.

4.1.5 Waters 2420

Deze detector is door Kiwa getest.

De ingebruikname van deze detector verliep moeizamer dan bij de overige ELSD's. Het bleek wanneer eenmaal een te lage temperatuur voor de drift tube toegepast werd zich vloeistof ophoopte in de drift tube. Dit veroorzaakte op hardnekkige wijze spikes in het chromatogram. De laagst werkbare temperatuur was 48 °C. Er werd ook bij 45 °C gewerkt, maar hierbij deden zich meerdere malen de bovenstaande problemen voor. Ook de bediening van de Waters 2420 was minder duidelijk dan die van de overige detectoren: de temperatuur van de verstuiver kan bij dit instrument apart worden ingesteld, wat bij de andere hier beschreven detectoren niet mogelijk was. Echter deze temperatuur wordt ingesteld door middel van een instelling in procenten van een bepaald maximaal vermogen van het verwarmingselement, waarbij de relatie met de temperatuur niet geheel duidelijk was.

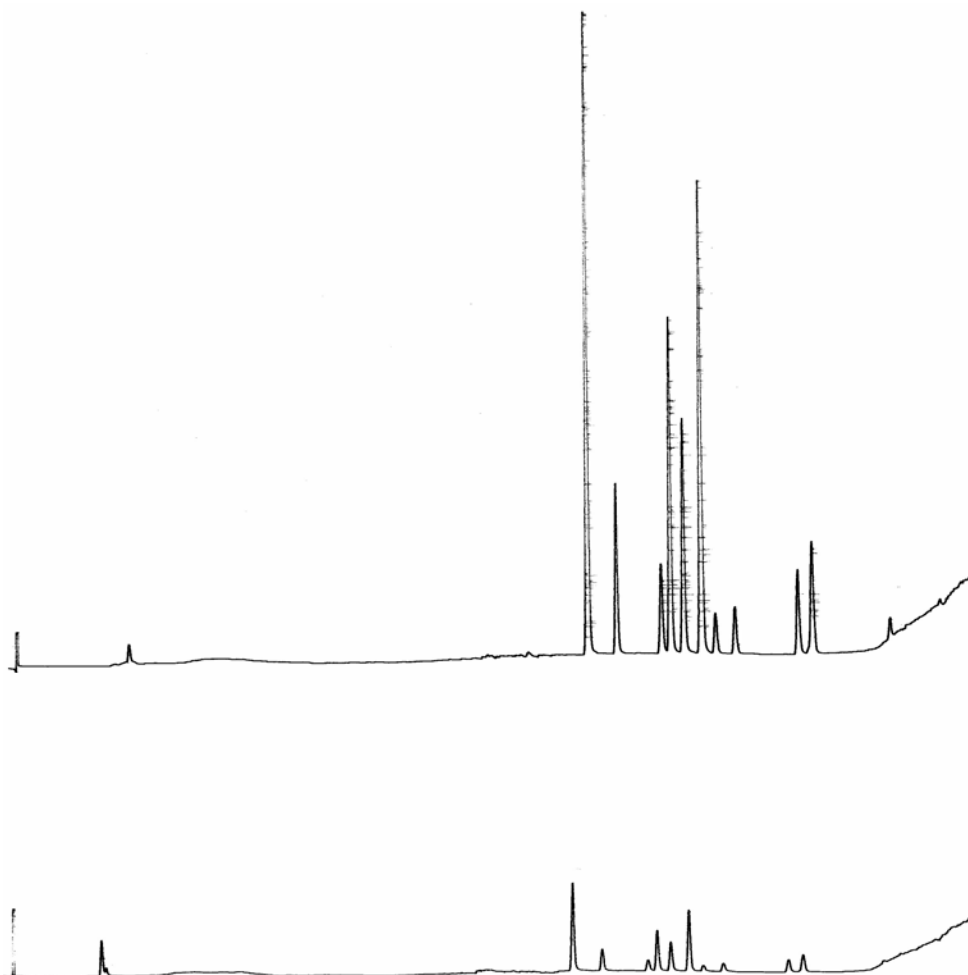
De respons bij 1000 ng (on-colum) van de 10 FUH's is bij deze ELSD voor de onderlinge pieken fors verschillend, meer nog dan de responsverschillen bij de Sedex ELSD's. Dit is mogelijk het gevolg van de hoge temperatuur waarbij gewerkt moet worden met de Waters 2420. Opvallend is dat bij een concentratie van 100 ng (on-column) nauwelijks meer een respons werd waargenomen voor welke FUH dan ook.

4.1.6 ESA Corona

Deze detector is door Kiwa getest.

De Corona-detector is duidelijk gevoeliger dan de ELSD's, een injectie van 20 ng geeft nog voor alle herbiciden een zichtbare respons zonder dat er noemenswaardige ruis te zien is (figuur 6). Bij de Corona-detector is de range aangegeven in pico-ampères (pA). Er is met deze detector gemeten bij 5 pA, terwijl nog gevoeliger, bij 2 pA, gemeten kan worden. Op het niveau van 2 pA wordt de ruis wel zichtbaar. Voor de metingen van oppervlaktewater met een humeuze matrix bleek 2 pA te veel ruis op te leveren.

Bij de Corona kan, in tegenstelling tot de ELSD's, niets aan de meetcondities worden gewijzigd (verdampingstemperatuur of gasdebiet liggen vast). De temperatuur van de drift tube is afhankelijk van de omgevingstemperatuur (niet gethermostreerd). Net als bij de ELSD's laat de Corona grote onderlinge verschillen in respons zien voor de 10 herbiciden. De fabrikant, die expliciet wijst op een consistente respons van uiteenlopende stoffen (nagenoeg onafhankelijk van de chemische structuur), heeft geen verklaring voor de gemeten verschillen.



Figuur 6. Standaardoplossing van de 10 FUH op de Corona. Boven 100 ng en onder 20 ng.

4.1.7 Discussie

Het is gebleken dat de geteste apparaten allemaal snel inzetbaar zijn. Alleen de opwarmtijd van de drift tube is noodzakelijk voor het stabiliseren en bij de

Corona was zelfs dat niet eens nodig. Alleen de Waters ELSD gaf problemen met de installatie. In tabel 3 is te zien dat op het concentratieniveau van 1000 ng (on-column) alle componenten nog gemeten kunnen worden door 3 detectoren (Alltech, Polymer Lab's en de Corona). Bij een 100 ng (on-column) belading verdwijnt de piek voor de stoffen waarvoor de ELSD's de laagste respons vertonen (vnl. pieken 7 en 8). Op de Corona is tot bij een concentratie van 20 ng (on-column) voor alle stoffen een piek terug te vinden, en omdat de maximum gevoeligheid van de detector niet werd gebruikt, valt te verwachten dat dit bij 10 ng (on-column) ook nog haalbaar zal zijn. De Corona is hiermee de meest gevoelige van de geteste detectoren.

Het blijkt dat de ELSD-meting het meest universeel is bij lage verdampingstemperaturen, met andere woorden de verschillen in de relatieve signaal sterktes verkregen voor de 10 FUH's zijn dan het kleinst. Hogere temperaturen kunnen voor een paar stoffen een veel grotere respons opleveren, maar tegelijkertijd worden pieken van andere stoffen veel kleiner of verdwijnen zelfs (zie ook de resultaten van de ELSD van Polymer Laboratories in fig. 3). Duidelijk is dat de respons van verschillende stoffen niet op dezelfde wijze reageert op veranderingen in meetcondities, wat de prestaties van de ELSD's bij het meten van, met name onbekende, verbindingen onvoorspelbaar maakt.

Opvallend is dat er reeds grote verschillen in respons optreden voor de 10 FUH's. Dit mag opvallend genoemd worden omdat de ELSD wordt omschreven als een niet selectieve detector, waarbij dan te verwachten is dat deze stoffen, met onderling weinig verschil in molecuulgrootte en structuur, een min of meer gelijke response teweeg zouden brengen. Het zou kunnen zijn dat bepaalde herbiciden met het eluens mee verdampen in de verdampingsstap (b.v. door azeotroop vorming), maar gezien de smeltpunten van deze stoffen (in tabel 1) lijkt dit niet waarschijnlijk. Deze waargenomen verschillen in respons zijn niet te verklaren en treden bij alle geteste detectoren op, in veel gevallen voor dezelfde herbiciden. Bij UV-detectie (bij 244 nm) worden veel minder onderlinge verschillen in respons waargenomen.

Het lijkt erop dat vooral de vernevelingsstap zeer gevoelig is voor de aard van de stof. De ELSD's en de Corona zijn dus niet zo universeel als beweerd wordt. Bij de ELSD van Polymer Laboratories is de onderlinge responsverspreiding het kleinst.

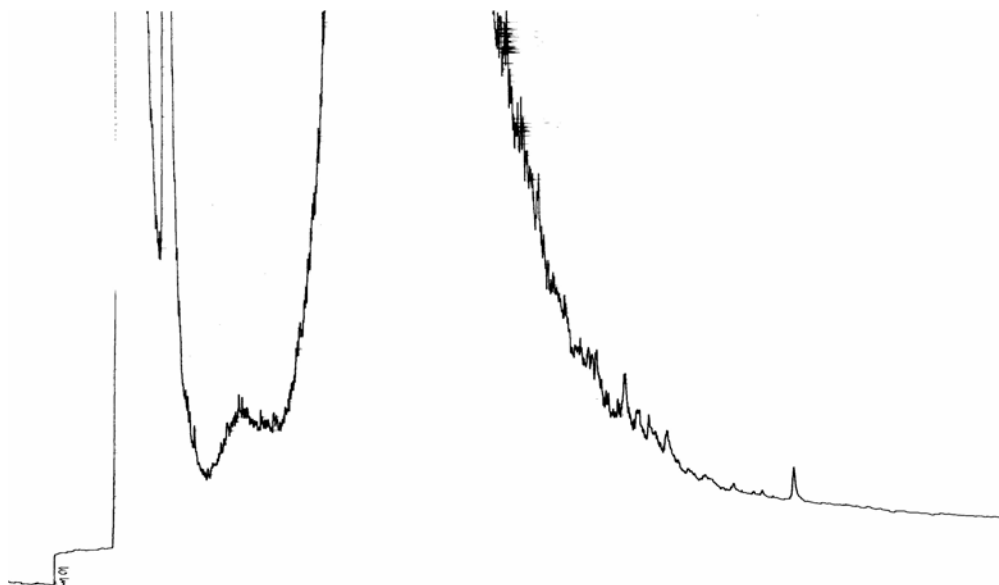
4.2 Resultaten van aanvullende metingen (oppervlaktewater en andere teststoffen)

Met de apparaten die bij Kiwa op het laboratorium getest zijn, is ook een aantal experimenten met oppervlaktewater uitgevoerd. Het oppervlaktewater dat hiervoor is gebruikt, was afkomstig uit het Lekkanaal. Om zoveel mogelijk te kunnen detecteren zijn volumes tot 100 ml van het gefiltreerde monster met behulp van on-line SPE op de analytische kolom gebracht. Naast de ELSD is ook met UV-diode array gedetecteerd.

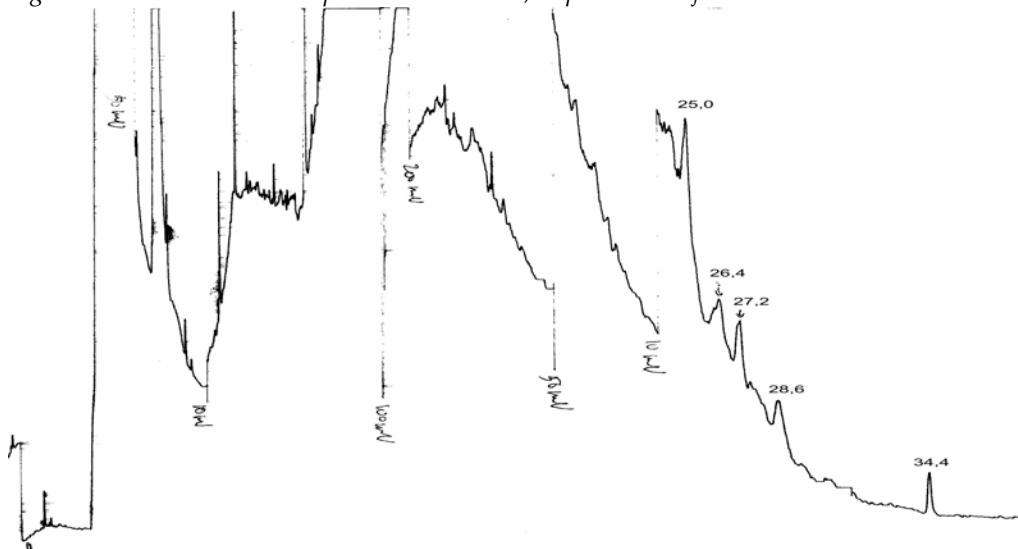
Met de Alltech ELSD en de Corona zijn naast de 10 FUH's een aantal extra standaardstoffen gemeten.

4.2.1 Alltech

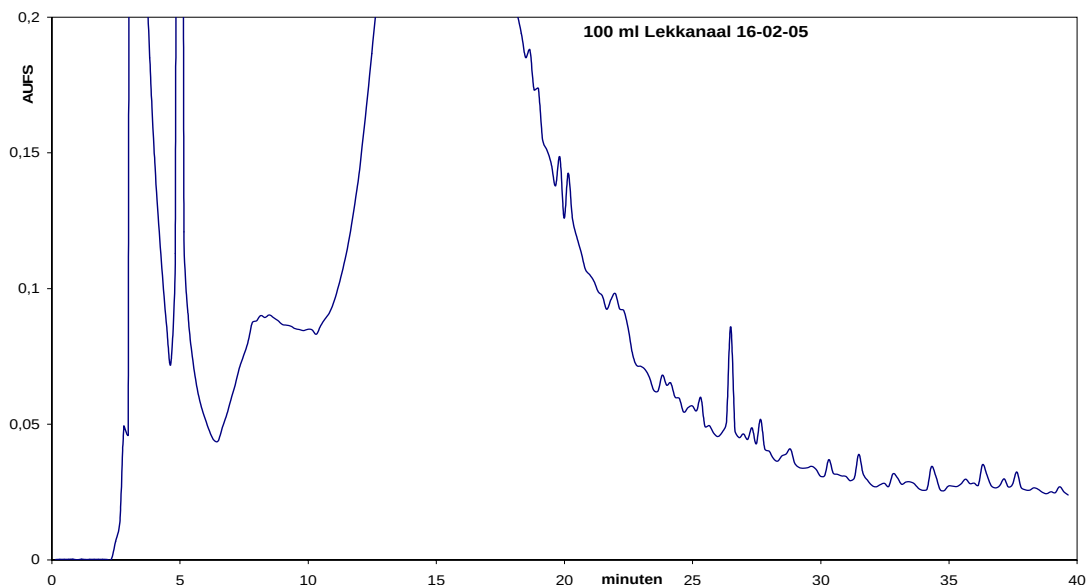
Onder de optimale condities voor de meting van de 10 FUH's (4.1.1, 34 °C met 'impactor') geeft het oppervlaktewater een door veel ruis gestoord signaal (fig. 7).



Figuur 7. 100 ml Lekkanaal op de Alltech ELSD, impactor on bij 34 °C.



Figuur 8. 100 ml Lekkanaal op de Alltech ELSD, impactor off bij 78 °C.



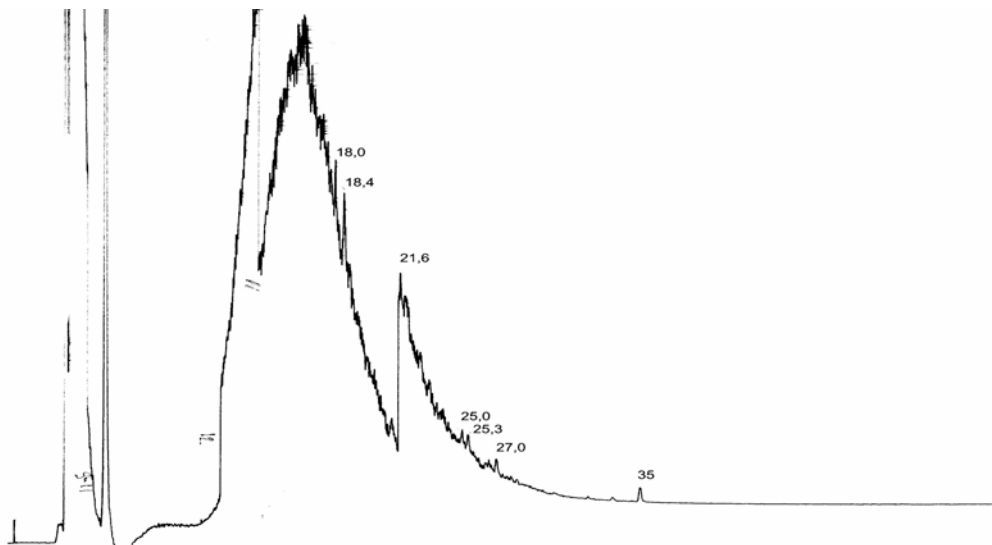
Figuur 9. 100 ml Lekkanaal op de Waters 2996 DAD, Maxplot 210 – 350 nm. Deze detector staat in serie met de ELSD's.

In dit chromatogram zijn drie pieken te onderscheiden die ook met UV gedetecteerd worden. Bij een hogere temperatuur (78 °C) en zonder de 'impactor' vertoont het chromatogram veel minder ruis. De met de ELSD gedetecteerde pieken zijn onder deze condities beter te onderscheiden en er zijn meer pieken te zien op het chromatogram (figuur 8). De humeuze matrix geeft op de ELSD, zeker in verhouding tot de gedetecteerde pieken, een forse respons. Deze verhouding is op een UV diode array-detector meer in het voordeel van de afzonderlijke pieken, ook bij lage golflengten. Met de UV diode array-detectie zijn in het oppervlaktewater meer pieken te zien en is gevoeliger te meten (figuur 9).

Naast de experimenten met het oppervlaktewater zijn drie stoffen getest die met UV slecht of helemaal niet te detecteren zijn (zie bijlage 1, structuren); captan (lage UV-respons), lincomycine (geen UV-respons), dodine (geen UV-respons, op MS brede piek + bijpieken). Geen van deze stoffen waren te detecteren met deze ELSD.

4.2.2 Sedex 85 LT

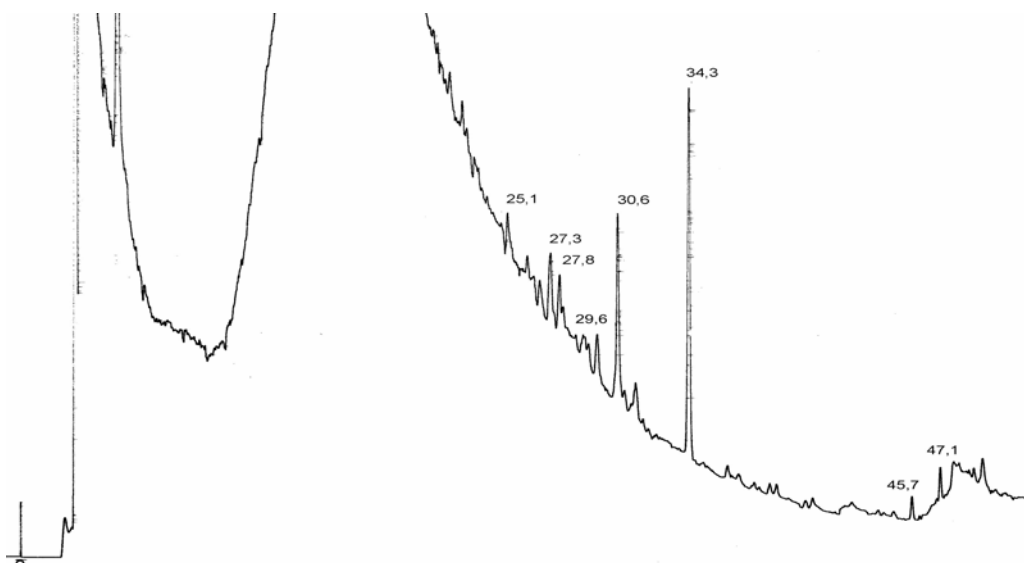
Ook de Sedex -ELSD is met oppervlaktewater getest en vergeleken met de UV diode array-detector. Ook het signaal van de Sedex wordt zwaar gestoord door de humeuze matrix (figuur 10). Hier is bij 1 temperatuur gemeten (42 °C). Er zijn een aantal pieken te onderscheiden, deels in de ruis van de matrixbult. Op één piekje na zijn al deze (lage) pieken beter met UV te detecteren.



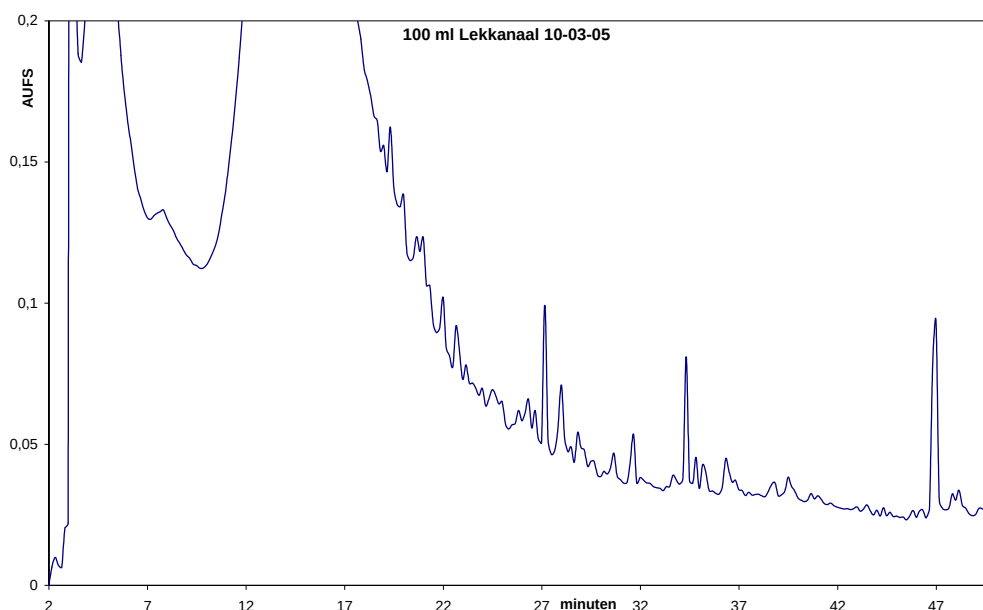
Figuur 10. 100 ml Lekkanaal op de Sedex 85 LT ELSD bij 42 °C.

4.2.3 Corona

De Corona geeft voor oppervlaktewater een chromatogram met een stabiel signaal en meer pieken dan de geteste ELSD's. Deze detector is ook duidelijk gevoeliger in oppervlaktewater dan de twee andere ELSD's. Er worden een met UV vergelijkbaar aantal pieken gedetecteerd. Hiervan zijn een aantal niet met UV te zien en andersom een zijn aantal wel met UV te zien en niet met de Corona (figuren 11 en 12). Er springen qua responsgrootte 2 pieken uit. De eerste is met UV niet te detecteren en de tweede wel, maar naar verhouding minder gevoelig. Er is geen nadere analyse naar de aard stoffen verantwoordelijk voor deze pieken uitgevoerd.



Figuur 11. 100 ml Lekkanaal op de Corona bij 10 pA.



Figuur 12. 100 ml Lekkanaal op de Waters 2996 DAD, Maxplot 210 – 350 nm. Deze detector staat in serie met de Corona.

Ook met de Corona zijn nog een aantal stoffen getest die weinig of geen UV-respons geven. Het gaat om de 3 stoffen die in 4.2.1 zijn genoemd en om azadirachtine (zie bijlage 1, structuren). Van deze stoffen leek alleen azadirachtine te detecteren, dit is echter niet met zekerheid vastgesteld. Azadirachtine is niet met massaspectrometrie te meten daarom is de (lage) UV respons niet te bevestigen.

Ook is gekeken naar de respons van de Corona na monstervoorbewerking en isolatie, scheiding en detectie in zuur milieu (0,05% trifluorazijnzuur). Dit resulteerde echter in een zodanig grote matrixbult dat geen afzonderlijke pieken meer waar te nemen waren.

Tot slot werden twee mengstandaarden bekeken met de Corona. De eerste standaardoplossing omvat 9 componenten (20 ng). Deze standaard wordt routinematig gebruikt bij evaluaties en validatie van HPLC systemen, omdat de aanwezige stoffen zeer divers van chemische en fysische aard zijn. De aanwezige componenten zijn:

- chloridazon;
- 4,4-sulfonyldifenol;
- simazine;
- carbamazepine;
- atrazine;
- TPPO;
- isoproturon;
- diuron;
- chlorobromuron.

Al deze stoffen zijn goed met UV detecteerbaar, echter atrazine en TPPO worden onder de gebruikte condities niet gescheiden. Met de Corona zijn

alle stoffen goed meetbaar, maar ook nu weer zijn er grote responsverschillen tussen de hogere pieken van chloridazon, 4,4-sulfonyldifenol en carbamazepine, en de overige veel lagere pieken (10 – 50 % van de hoogste piek).

Een mengstandaard van 26 UV-absorberende pieken is met de Corona getest. In deze standaardoplossing zijn meer componenten aanwezig, maar een aantal vallen samen, hebben geen UV-absorberende eigenschappen of vormen slechts een bult of hebben helemaal geen respons. Van deze 26 goed zichtbare pieken zijn er 21 die ook met de Corona gemeten kunnen worden. Echter, de Corona vindt geen andere pieken dan die door UV gedetecteerd worden.

4.2.4 *Discussie*

Met de geteste ELSD's is de meting in oppervlaktewater alleen mogelijk bij hogere temperaturen van de drift tube. Voor de meting van b.v. de 10 FUH's is dat echter nadelig. De Corona kan wel op lage temperatuur meten in oppervlaktewater (heeft de drift tube op omgevingstemperatuur). Ook blijkt de Corona de meeste afzonderlijke pieken te kunnen detecteren en is in verhouding tot de ELSD's veel gevoeliger (detectie tot < 20 ng on column). De Corona meet in oppervlaktewater een aantal stoffen die met UV-diode array niet gemeten worden. Daar tegenover staat dat in de geteste standaardoplossingen de niet UV actieve stoffen ook niet met de Corona gemeten kunnen worden en dat ook in deze standaarden grote responsverschillen optreden tussen de verschillende verbindingen.

Bij de injectie van 100 ml oppervlaktewater rijst de vraag of op den duur de grote hoeveelheid matrixmateriaal geen vervuiling van de detector veroorzaakt. Alle leveranciers geven aan dat schoonmaken niet nodig is en dat in het uiterste geval bij hoge temperatuur uitstoken voldoende is. Bij de Corona is dit moeilijk uitvoerbaar, omdat de drift tube niet verwarmd is. Bij de ELSD's is het systeem handmatig te reinigen, maar bij de technisch meer complexe Corona kan de gebruiker of servicemonteur niets ondernemen. Dit apparaat is nog maar net op de markt en aangenomen kan worden dat in de toekomst hier meer duidelijkheid over eventuele vervuiling beschikbaar komt.

5 Conclusies

Gezien de gevoeligheid, het aantal gedetecteerde stoffen en de eenvoud van toepassing lijkt de combinatie van HPLC en UV-diode array-detector nog steeds de meest geschikte detector voor de screening van (on)bekende stoffen in oppervlaktewater.

De ELSD lijkt geen grote toegevoegde waarde te hebben bij dergelijke toepassingen omdat de detectie niet gevoelig genoeg is en teveel afhankelijk is van stofs specifieke instrument instellingen en dus geen universeel karakter heeft.

De Corona-detector daarentegen lijkt qua gevoeligheid beter toepasbaar te zijn voor dit doel. Echter bij de in dit onderzoek gebruikte stoffen kon alleen de respons van de UV worden gereproduceerd (bij een lagere gevoeligheid) en konden geen stoffen zichtbaar worden gemaakt die met UV niet te meten zijn. De aanschafprijs van de Corona is dusdanig dat het apparaat voor een toepassing een duidelijk toegevoegde waarde ten opzichte van de ELSD moet hebben voordat aanschaf overwogen kan worden. Dit is in dit onderzoek niet gebleken.

Algemene conclusies zijn:

- De meeste ELSD's en zeker de Corona zijn snel en eenvoudig inzetbaar.
- Alleen de Corona kan het gewenste meetniveau van 10 - 100 ng on column voor de 10 FUH's halen. De overige instrumenten detecteren bij die concentratie tenminste twee herbiciden niet.
- Er treden bij alle instrumenten grote verschillen in respons op voor alle gemeten standaardstoffen, terwijl deze apparaten als universeel worden aangeprezen. De ELSD's van Polymer Laboratories en Alltech zijn wat dit betreft het meest universeel.
- Ten opzichte van de ELSD's kan de Corona ook in oppervlaktewater de meeste verbindingen meten en 5 tot 10 maal gevoeliger dan de ELSD's (tot 5 ng on column).
- Het is niet duidelijk hoe eventuele hardnekkige vervuiling van de detectoren opgeheven kan worden. Vooral het technisch complexe systeem van de Corona roept hierover vragen op. Wat dit aspect betreft is de UV-detector ruim in het voordeel.

Literatuur

Brandt, A. (1999) Oriëntatie voor een "early warning" HPLC-monitor.
Kiwa rapport SWI 99.161, Nieuwegein 1999.

Brandt, A. (2004) Validatie van de on-line HPLC-DAD-monitor te
Keizersveer.
Kiwa rapport KWR 03.106, Nieuwegein 2004.

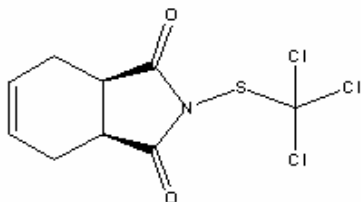
Gaudin, K., Baillet, A., Chaminade, P. (2004) Adaption of an evaporative light-
scattering detector to micro and capillary liquid chromatography and respons
assessment. J. Chromatogr. A., 1051 (2004) 43 – 51.

Na afronden van dit rapport is er een korte artikel verschenen over bevindingen
met de Corona detector. Dit is te vinden in:

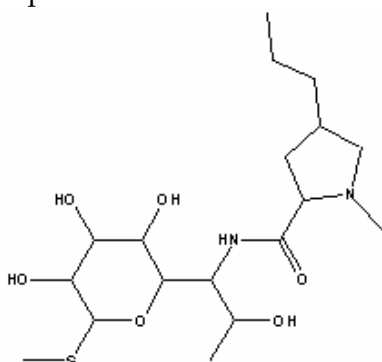
Gamache, P.H., McCarthy, R.S., Freeto, S.M., Asa, D.J., Woodcock, M.J., Laws, K.,
Cole, R.O. (2005) HPLC Analysis of Non-volatile Analytec using Charged Aerosol
Detection. LC-GC Europe 18(6) (2004) 345 – 353.

I Bijlage

Structuren van Captan; Lincomycine; Dodine; Azadirachtine
Structuren van de 10 fenylureumherbiciden.



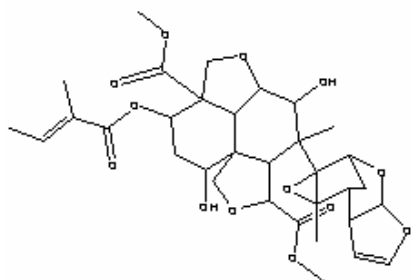
Captan



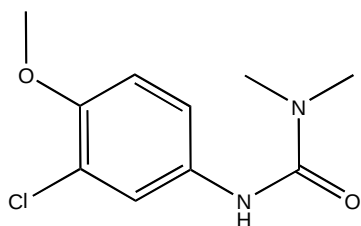
Lincomycine



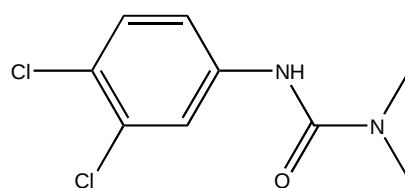
Dodine



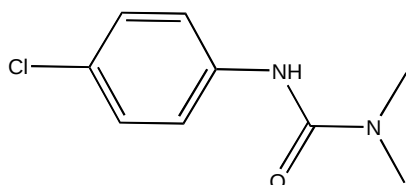
Azadirachtine



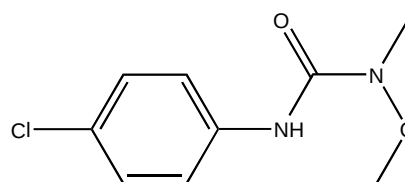
19937-59-8 metoxuron



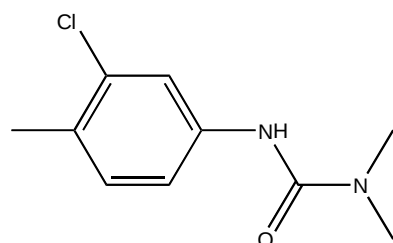
330-54-1 diuron



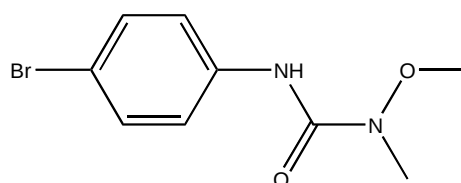
150-68-5 monuron



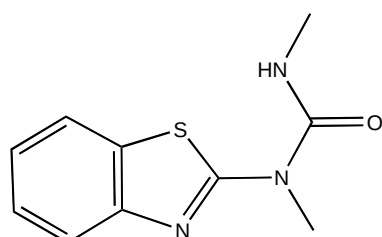
1746-81-2 monolinuron



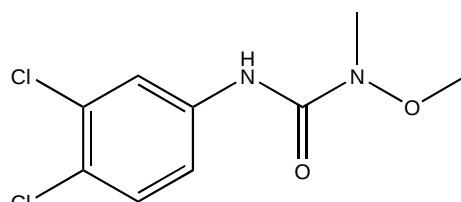
15545-48-9 chlorotoluron



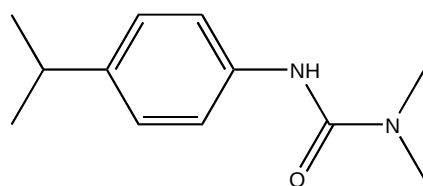
3060-89-7 metobromuron



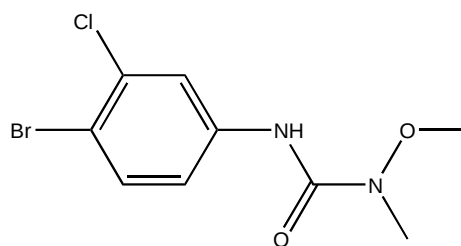
18691-97-9 methabenzthiazuron



330-55-2 linuron



34123-59-6 isoproturon



13360-45-7 chlorbromuron

II Bijlage

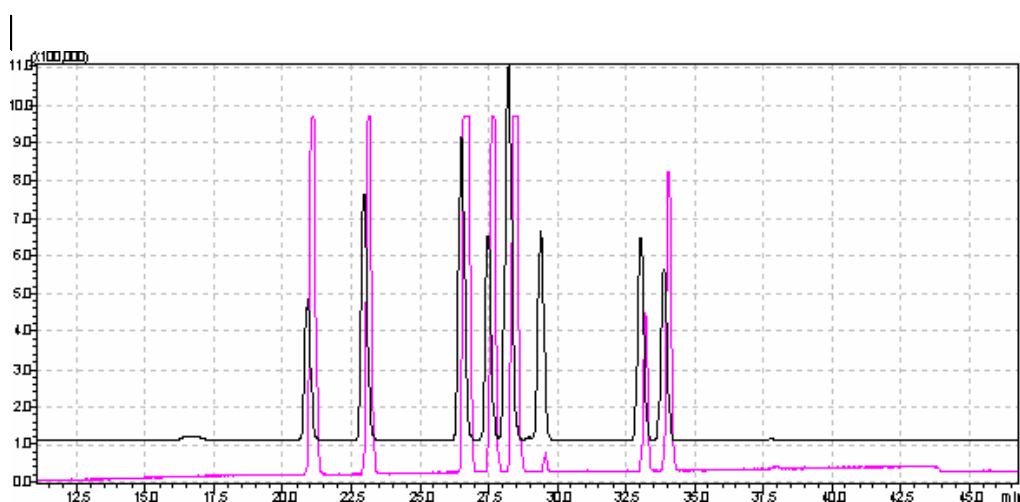
Testrapporten van de leveranciers

Geachte heer Brandt,

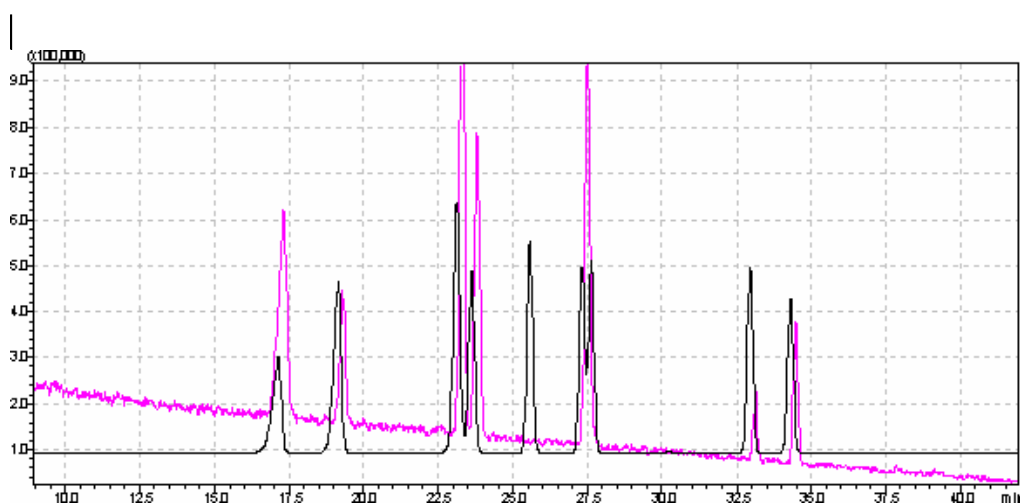
Hierbij doe ik u zoals telefonisch besproken een aantal resultaten toekomen n.a.v. de metingen welke wij voor u verricht hebben.

Voor onze metingen hebben wij i.p.v. een 25 cm kolom een 15 cm kolom gebruikt. De scheiding is hierdoor niet helemaal optimaal. Maar het geeft ons in ieder geval een indicatie betreffende de mogelijk te detecteren hoeveelheden. Her en der hebben we dan ook wat geschoven met de gradiënt. We hebben van uw monster verschillende hoeveelheden geïnjecteerd en de resultaten daarvan kunt u hieronder terug vinden.

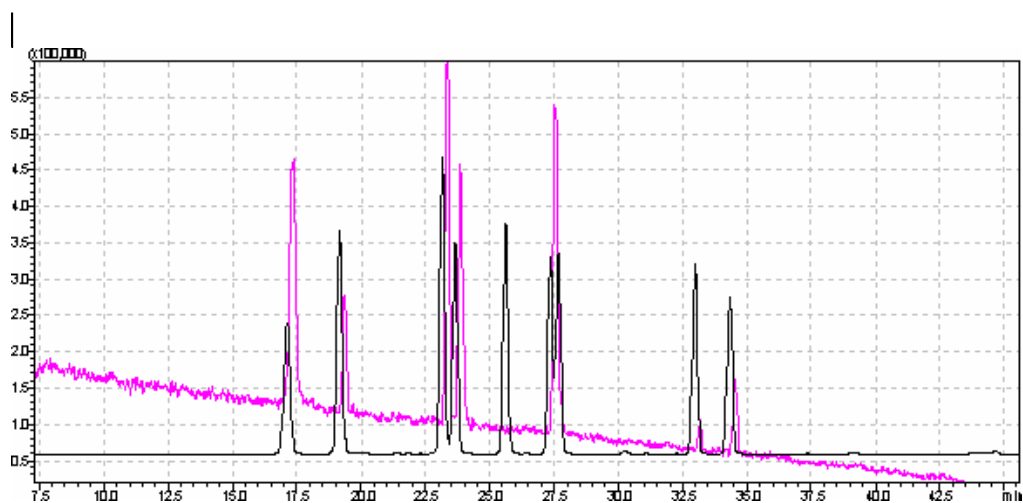
Injectie volume 20 ul



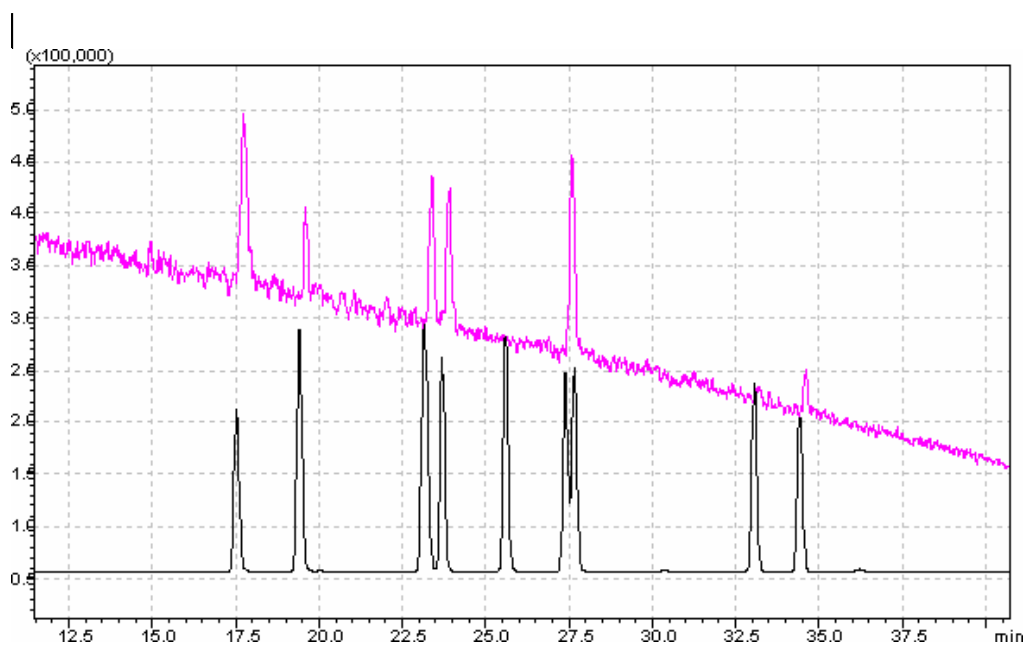
Injectievolume 15 ul



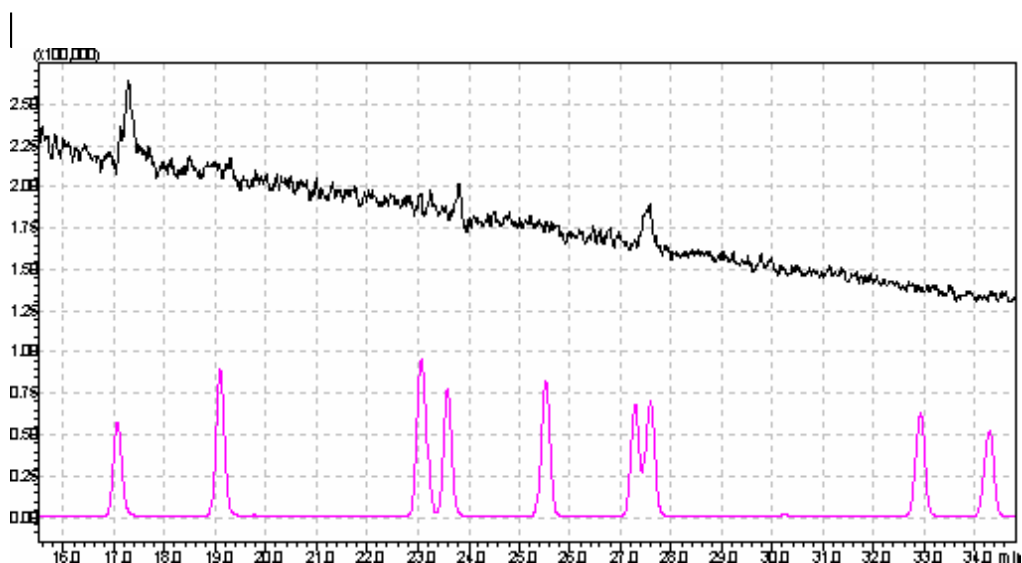
Injectievolume 10 ul



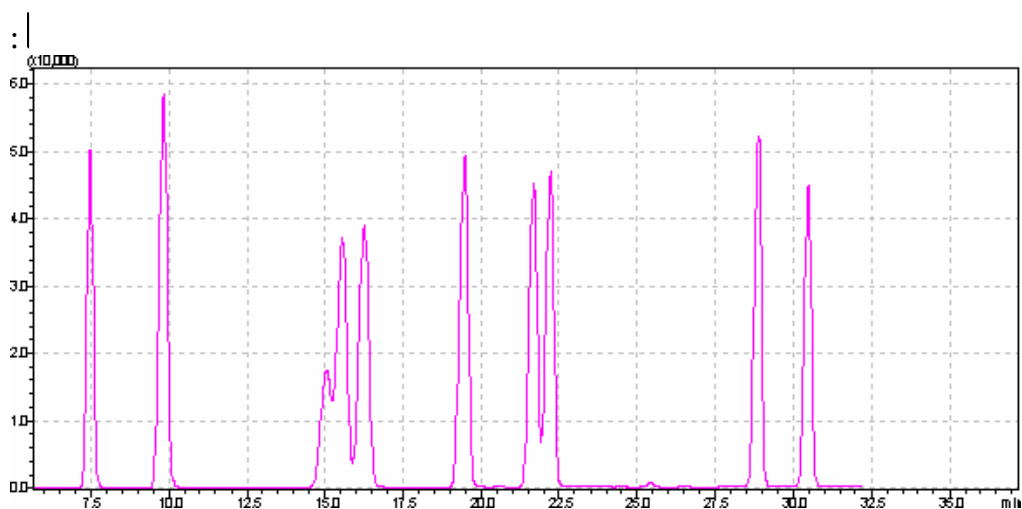
Injectievolume 5 ul



Injectievolume 2ul



Vlakkere gradiënt (UV-chromatogram):



Conclusie.

De paarse chromatogrammen zijn de ELSD-chromatogrammen (uitgezonderd bij 2ul).

In het eerste chromatogram is uw huidige gradiënt gebruikt bij een injectievolume van 20 ul

Hier zijn de pieken (waarvan er twee overlappende pieken zijn) allemaal te onderscheiden. Er is echter al een groot verschil in respons. De pieken van linuron bijvoorbeeld geeft een veel lagere respons in verhouding tot het UV-chromatogram

Bij een injectievolume van 15 ul van uw standaard monster hebben we een iets vlakkere gradiënt gebruikt. Hierdoor is de scheiding al wat beter.

Het blijkt dat hier de piek van diuron al niet meer te zien is. Ook vallen de pieken van monolinuron en metabromuron samen in het ELSD-chromatogram. Dit kan te maken hebben met de piekverbreding in de tubing naar de ELSD detector toe. Het lijkt er wel op dat deze beide nog zichtbaar zijn. Een iets betere resolutie zou hierin al uitsluitsel kunnen geven.

Bij 10 µl injectievolume valt ook de piek van linuron zo goed als weg en bij nog lager injectievolumes is er bijna niets meer te zien in het ELSD-chromatogram.

Voorzichtig zou men kunnen stellen dat een 20 µl injectie van de standaard (50 mg/l) nodig is om alle pieken waar te kunnen nemen.

Bij een ELSD-detector kan een hogere gevoeligheid gehaald bereikt worden door bij lagere flows (tot max 0,4 ml/min) te gaan meten. Hiervoor moeten wij dan wel een andere nebulizer buis gaan gebruiken, maar dit is zeker een optie. In relatie hiertoe zullen kolommen met kleinere deeltjes (3 of 2 µm) zeer zeker ook een positief effect op het resultaat hebben. Of we op deze manier een detectiegrens van 1 mg/l kunnen halen blijft twijfelachtig, maar is natuurlijk te proberen.

Een andere methode om een concentratie van 1 mg/l te kunnen zou bijvoorbeeld een on-line SPE HPLC methode kunnen zijn. Hierbij kan een grote hoeveelheid monster opgebracht worden op een trapkolom. Via een desorptiestap kan men dan de componenten meten via een RP-kolom. Co-Sense BA bijvoorbeeld, is een standaard systeem van Shimadzu voor deze toepassingen.

De gevoeligheid van een UV-detector ligt vele malen hoger dan die van een ELSD-detector. Voor een maximale gevoeligheid zou een single-quad MS-detector natuurlijk ook een goed alternatief kunnen zijn. U wint hiermee dan optimaal aan gevoeligheid, lineariteit en robuustheid.

Als u wilt, geven wij uiteraard graag een vervolg aan deze metingen. Maar in dat geval lijkt het mij verstandig om vooraf even een afspraak te maken om de gang van zaken even goed door te spreken zodat er een juiste richting wordt gekozen.

Momenteel heb ik een aantal vragen bij Sedere liggen betreffende hun ervaringen met Herbiciden en de mogelijkheden op hun nieuwste model. Zodra ik hier info over heb ontvangen licht ik u direct in.

Mocht u vragen hebben, aarzelt u dan niet om mij te mailen of te bellen. Zelf zal ik in de loop van volgende week even contact met u opnemen om een en ander door te spreken.

Met vriendelijke groet,

Rob Bindels
Shimadzu Benelux

Productspecialist HPLC



Polymer Laboratories

Applications Report 122-04

Contact: Mr A Brandt
Company: KIWA NV onderzoek en advies
Address: Postbus 1072
Nieuwegein
NL-3430BB
NEDERLAND
Telephone: 0031 30 6069560
PL contact: H.Bock/ S.Bullock
Date: 9 December 2004



Polymer Laboratories Ltd
Essex Road, Church Stretton
Shropshire, SY6 6AX, UK

Telephone: (Int + 44) 01694 723581
Fax: (Int +44) 01694 722171
www.polymerlabs.com

1.0 Sample Details

Samples	PL Reference No.
Fenylureaherbicides*	468-04

*The sample contained a mixture of 10 Fenylureaherbicides (see table):

Herbicide	Molecular Weight
Metoxuron	228.7
Monuron	198.6
Methabenthiazuron	221.2
Chlorotoluron	212.7
Isoproturon	206.3
Diuron	233.0
Monolinuron	214.6
Metobromuron	259.1
Linuron	249.1
Chlorobromuron	293.5

2.0 Experimental Details

The sample was analysed by reverse-phase HPLC and ELSD, as detailed below:

Sample Concentration: As supplied

Injection Volume: 20 µl

Column: Alltima C18 250x4.6 5µm

Eluent A: Water

Eluent B: ACN

Gradient:

Time (min)	Flow Rate (ml/min)	%A	%B
0	0.7(1.0)	10	90
40	0.7(1.0)	20	80
40.1	1.0	0	100
46.0	1.0	0	100
46.1	0.7(1.0)	10	90
69.0	0.7 (1.0)	10	90

Temperature () The flow in brackets was also investigated
Ambient

Flow rate : As above

Detector : PL-ELS 2100
Neb **25°C**
Evap **25**, 40, 50 & 70°C
Gas 1.6 & **1.4** SLM

Values in bold show the optimum PL-ELS 2100 conditions

3.0 Aims

To show the detection and separation of the 10 herbicides using Evaporative light-scattering detection.

4.0 Method Set-up

The sample was injected onto the chromatographic system as supplied. The sample was injected several times under different PL-ELS 2100 conditions to find the optimum ELSD settings. The customer separation was performed on a Varian C18 Omnisphere column. However, this column was not available, so a similar C18 column was used; Alltech C18 Alltima. This gave very good separation of the 10 compounds without any change to the gradient program supplied by the customer.

5.0 Results

For an initial scope run, the PL-ELS 2100 was set at 30°C, because the compounds are low in molecular weight and were thought to be volatile. Ten peaks were detected by the PL-ELS 2100, with good resolution. The identification of the individual herbicides was not possible, due to the absence of standards, so the peaks were labelled 1-10 in order of retention time for clarification. A separation at 1.0ml/min was investigated, but the resolution between peaks 6&7 was poor.

Figure 1a shows the chromatogram obtained for the herbicide sample at 25°C, with figure 1b showing a zoomed view of the 10 herbicides. All 10 herbicides eluted between 22-37 minutes, but additional peaks were observed later in run during the 100% ACN stage.

Peak number	Retention time (min)	Peak Area @25°C	Peak Area @40°C	Peak Area @50°C	Peak Area @70°C
1	22.9	144.7	269.03	720.23	1485.03
2	24.78	180.83	293.28	491.06	165.13
3	27.91	262.22	364.4	424.16	58.3
4	28.3	284.32	531.84	864.68	579.1
5	29.38	352.3	569.68	724.41	189.09
6	30.13	311.96	586.24	1008.34	1288.51
7	30.45	68.25	21.81	N/D	N/D
8	31.68	156.36	121.48	38.42	N/D
9	35.48	462.5	520.48	321.38	12.85
10	36.29	447.95	612.3	540.15	115.85

Table 1: Peak response as a function of ELSD temperature (see figure 6).

The sample was also analysed at ELSD temperatures of 40, 50 & 70°C, and these results are shown in figures 2, 3 & 4. Table 1 also shows the peak area response for each herbicide as a function of temperature. Figure 5 show an overlay of how the chromatographic profile changes with temperature.

By comparing the results in Figure 6, it is clear that the herbicide sample contains compounds of different volatility. Peaks 7 & 8 show a significant drop in response at 40°C, and at 70°C they are not detectable; highlighting their sensitivity to temperature. Peaks 9, 10 show a maximum response at 40°C, and above this their response is significantly reduced. A similar profile is observed for peaks 2,3,4 &5,

however their maximum response is observed at 50°C. The remaining peaks (1 & 6) appear to be non-volatile, as their response is greatest at 70°C.

6.0 Conclusions

From the data that has been presented, it is clear that the PL-ELS 2100 is capable of detecting fenylurea herbicides, even the low molecular weight compounds. The herbicide mixture contained compounds of mixed volatilities, and the optimum temperature for detecting all 10 herbicides was 25°C. At temperatures higher than this, loss of the more volatile compounds was observed and the integrity of the sample was lost.

SIGNED



S.Bullock

Thursday, 09 December 2004

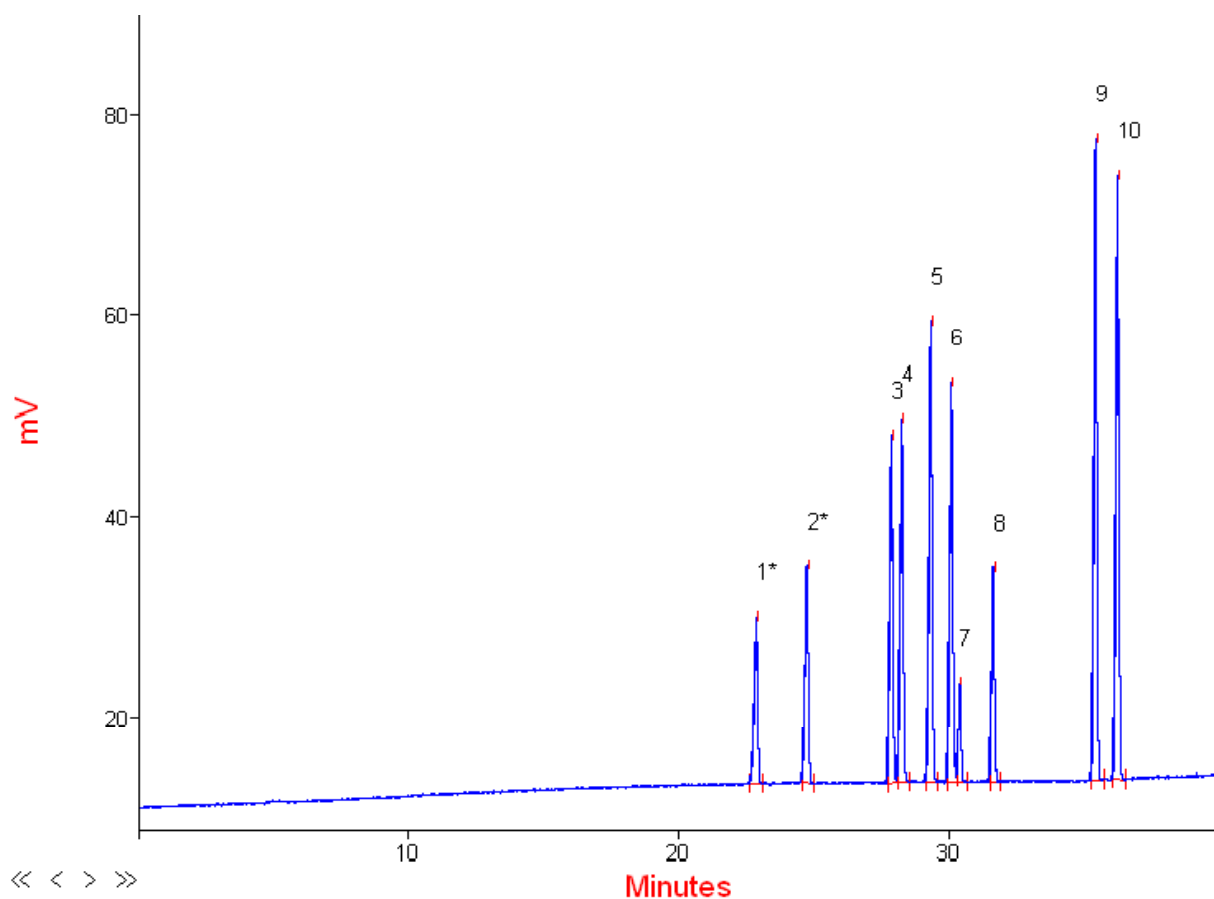


Figure 1a: 20µl injection of Herbicide Sample (468-04) @25°C; PL-ELS 2100, Neb 25°C, Gas 1.4SLM

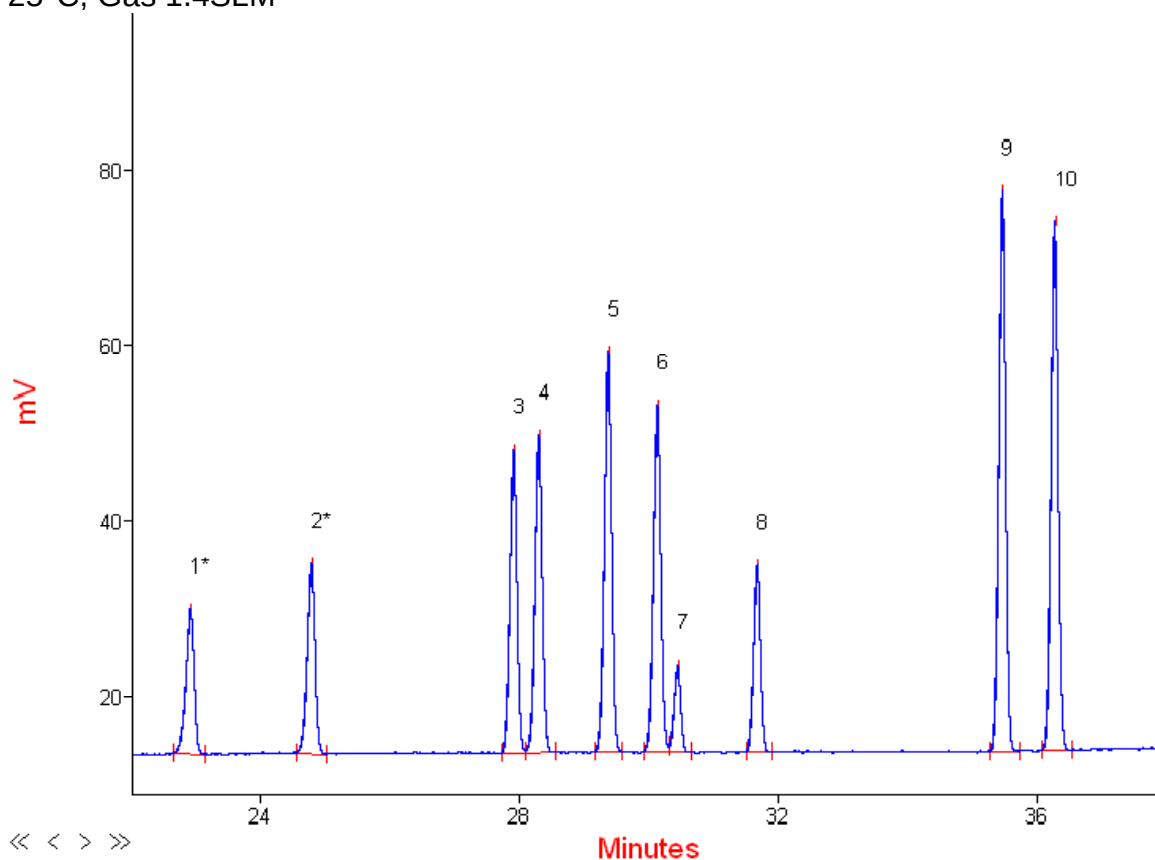


Figure 1b: Zoomed view of figure 1

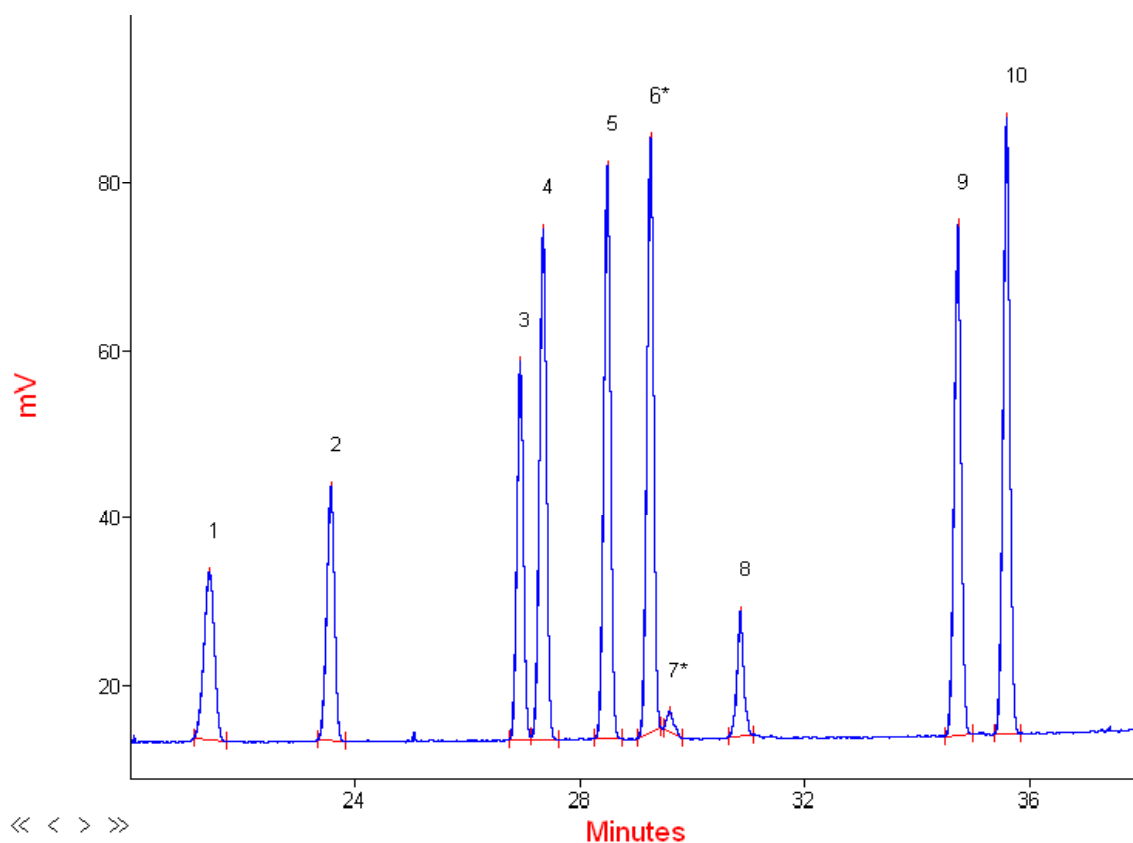


Figure 2: 20µl injection of Herbicide Sample (468-04) @40°C; PL-ELS 2100, Neb 25°C, Gas 1.6SLM

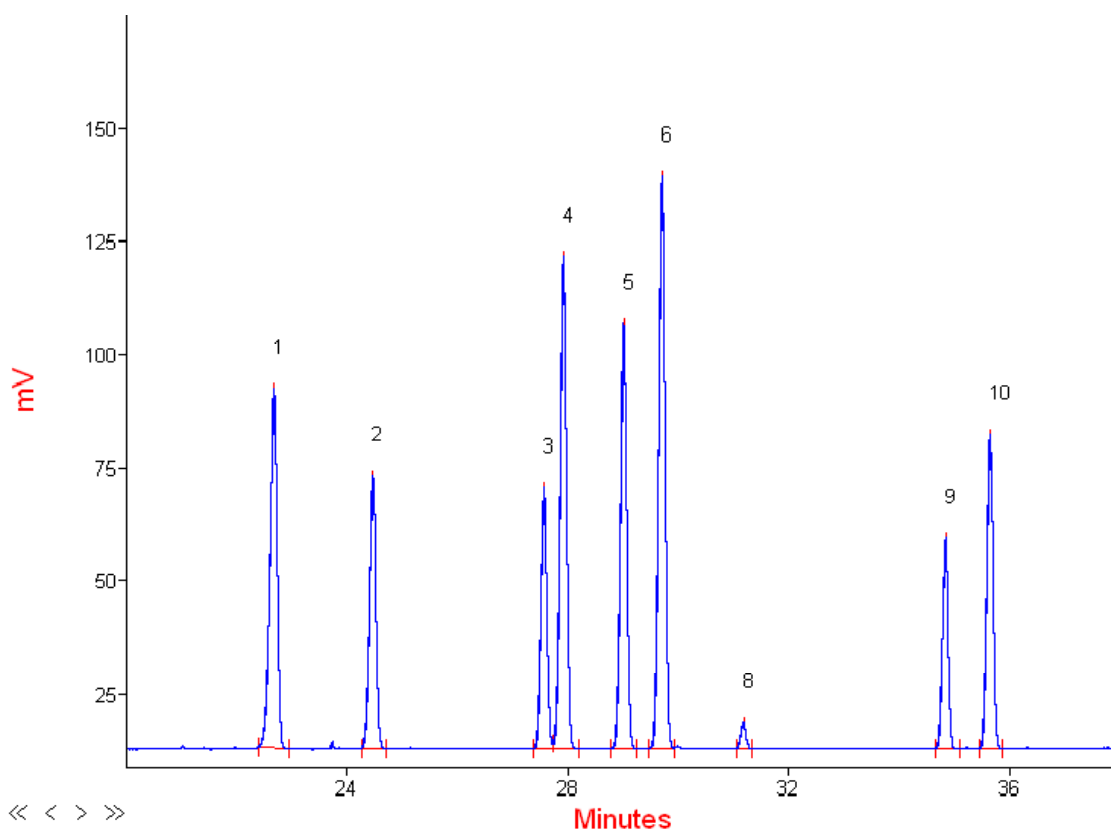


Figure 3: 20µl injection of Herbicide Sample (468-04) @50°C; PL-ELS 2100, Neb 25°C, Gas 1.6SLM

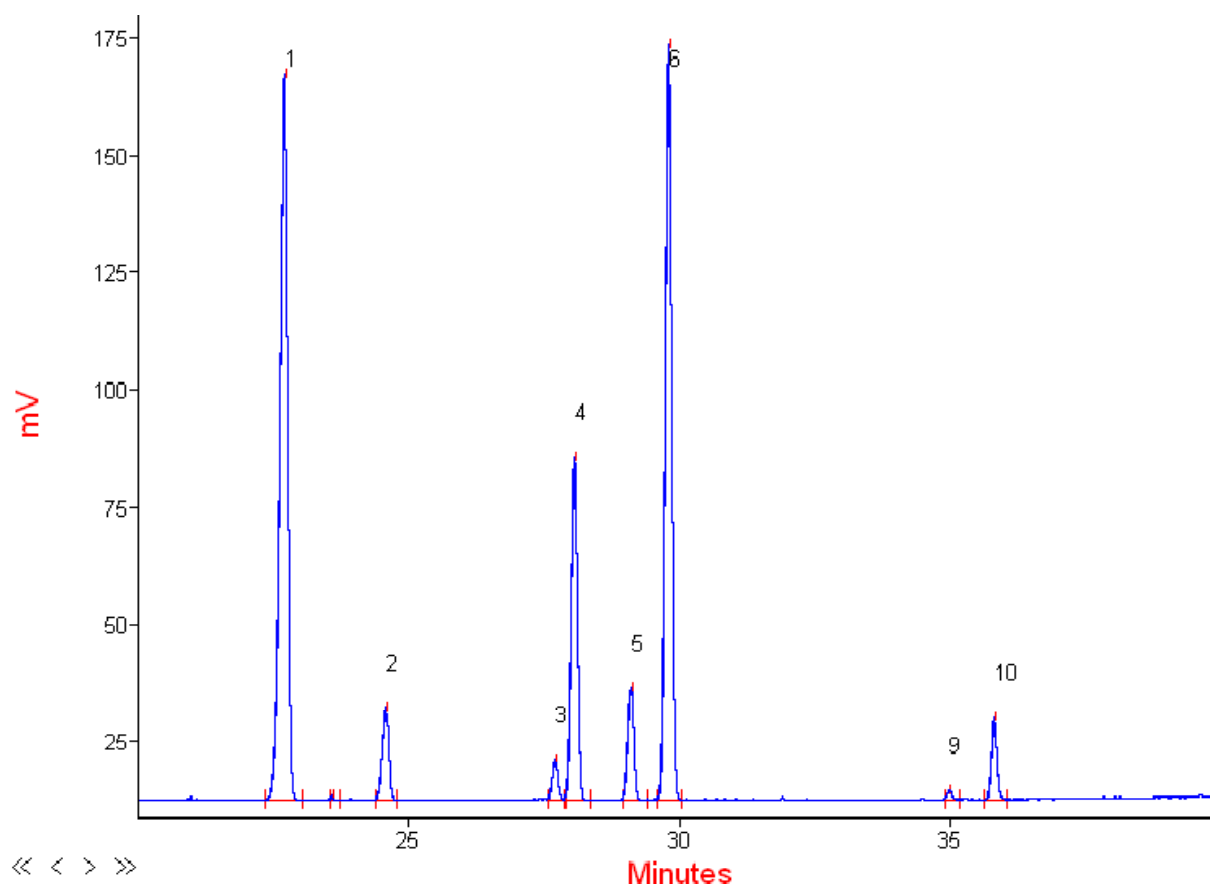


Figure 4: 20µl injection of Herbicide Sample (468-04) @70°C; PL-ELS 2100, Neb 30°C, Gas 1.2SLM

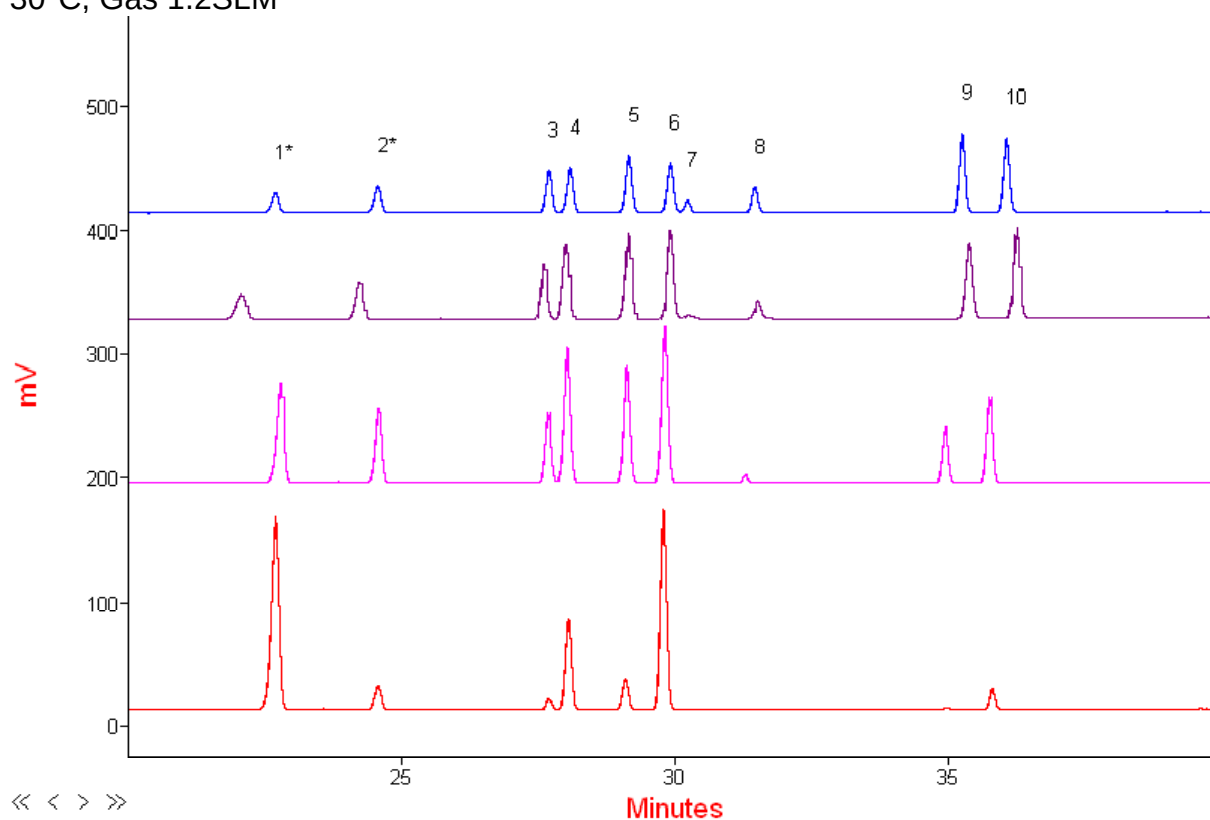


Figure 5: Overlay chromatogram of Herbicide Sample (468-04) @25, 40, 50 & 70°C; PL-ELS 2100, Neb 30°C, Gas 1.6SLM

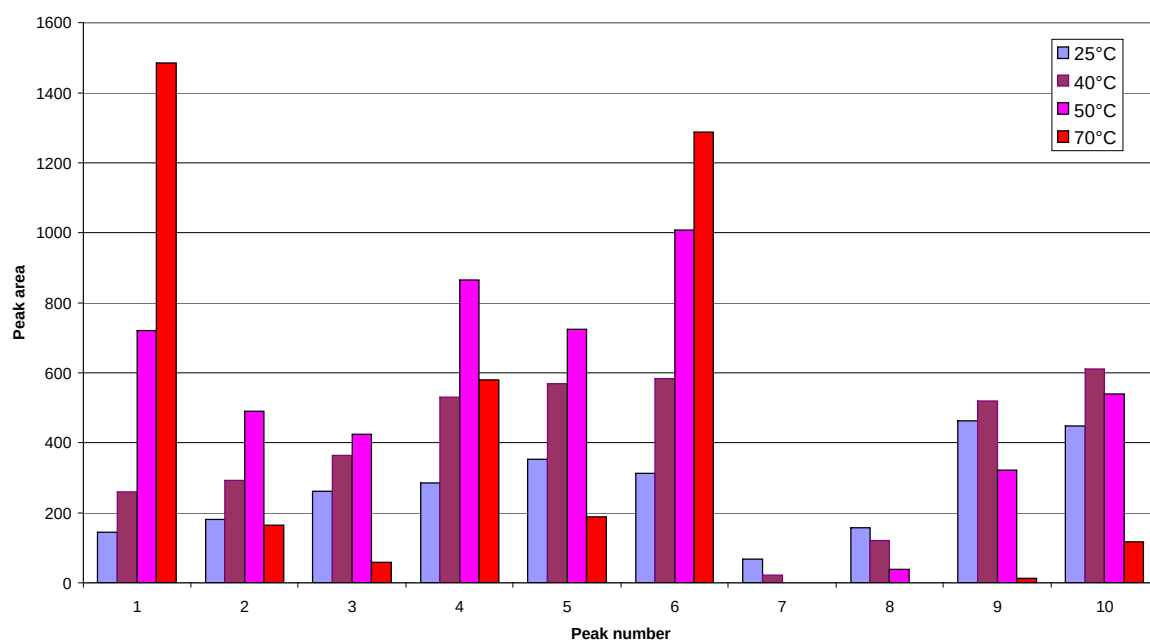


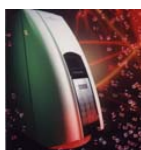
Figure 6: Peak response of Herbicides as a function of PL-ELS 2100 temperature (data taken from table 1)



Polymer Laboratories

Applications Report 122A-04

Contact: Mr A Brandt
Company: KIWA NV onderzoek en advies
Address: Postbus 1072
Nieuwegein
NL-3430BB
NEDERLAND
Telephone: 0031 30 6069560
PL contact: H.Bock/ S.Bullock
Date: 21 December 2004



Polymer Laboratories Ltd
Essex Road, Church Stretton
Shropshire, SY6 6AX, UK

Telephone: (Int + 44) 01694 723581
Fax: (Int +44) 01694 722171
www.polymerlabs.com

1.0 Sample Details

Samples	PL Reference No.
Fenylureaherbicides*	468-04

*The sample contained a mixture of 10 Fenylureaherbicides (see table):

Herbicide	Molecular Weight
Metoxuron	228.7
Monuron	198.6
Methabenthiazuron	221.2
Chlorotoluron	212.7
Isoproturon	206.3
Diuron	233.0
Monolinuron	214.6
Metobromuron	259.1
Linuron	249.1
Chlorobromuron	293.5

2.0 Experimental Details

The sample was analysed by reverse-phase HPLC and ELSD, as detailed below:

Sample Concentration: Supplied at 50µg/ml

Injection Volume: 20 µl

Column: Alltima C18 250x4.6 5µm

Eluent A: Water

Eluent B: ACN

Gradient:

Time (min)	Flow Rate (ml/min)	%A	%B
0	0.7	10	90
40	0.7	20	80
40.1	1.0	0	100
46.0	1.0	0	100
46.1	0.7	10	90
69.0	0.7	10	90

Temperature Ambient

Flow rate : As above

Detector : PL-ELS 2100
Neb 25°C
Evap 25
Gas 1.4 SLM

3.0 Aims

To show the Limit of detection for 10 herbicides using Evaporative light-scattering detection.

4.0 Method Set-up

The system and separation were previously optimised in report 122-04. The sample was diluted by 50% in succession to give solution concentrations of 25µg/ml and 12.5µg/ml. These dilute solutions were injected onto the chromatographic system under the conditions shown in section 2.

5.0 Results

The chromatogram in Figure 1 shows the 25µg/ml herbicide solution at 25°C. At this concentration, all of the peaks were detected, with S/N ranging from 4.0 to 43. Peak 7 was only just detected at this concentration, having a S/N above the threshold of 3 (see table 1).

Peak number	Retention time (min)	S/N 25µg/ml	S/N 12.5µg/ml
1	22.9	18.0	5.1
2	24.78	18.8	4.9
3	27.91	19.6	4.2
4	28.3	25.9	6.3
5	29.38	31.6	7.6
6	30.13	27.4	6.4
7	30.45	4.0	N/D
8	31.68	11.6	2.2
9	35.48	41.0	6.8
10	36.29	43.2	7.9

Table 1: S/N data for diluted solutions @25°C

At the lower concentration of 12.5µg/ml, peak 7 was not detected, and peak 8 had a S/N below the threshold of 3. The remaining peaks had S/N values between 4.2 and 7.9. The chromatogram for the 12.5µg/ml solution is shown in figure 2.

6.0 Conclusions

The Limit of Detection for the 10 herbicides was performed at an ELSD temperature of 25°C, to ensure that all 10 peaks were detected. This was particularly important for peak 7, which was temperature sensitive. From the analysis, it is clear that the LOD for the 10 compounds is different, with peak 7, having an LOD of 0.5µg (on-column), compared to peak 10, which is ca. 150ng (on-column).

The LOD for most of these compounds would be greater at higher ELSD temperatures, as the S/N improves as the evaporator and nebuliser temperature is increased.

SIGNED



S.Bullock

Tuesday, 21 December 2004

Polymer Laboratories Ltd
Essex Road, Church Stretton
Shropshire, SY6 6AX, UK

Telephone: (Int + 44) 01694 723581
Fax: (Int +44) 01694 722171
www.polymerlabs.com

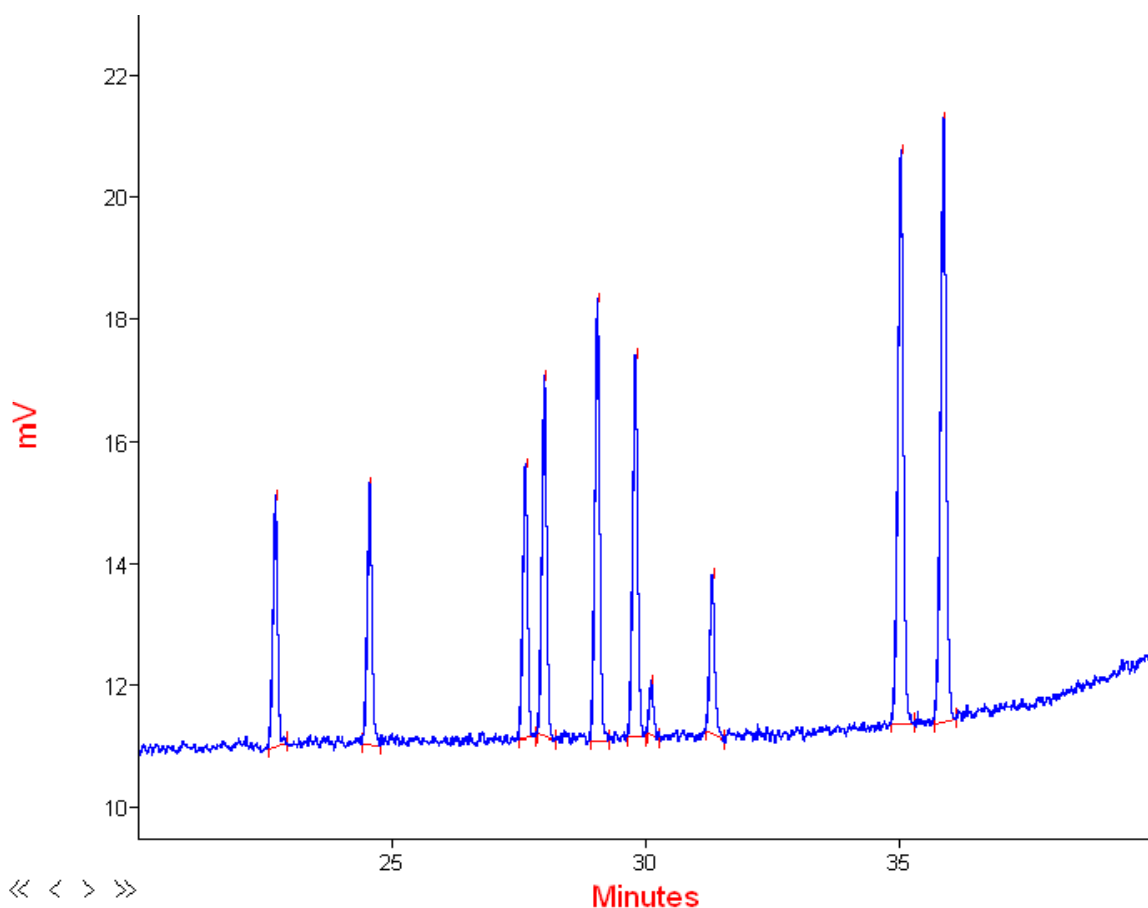


Figure 1: 20µl injection of 25µg/ml Herbicide Sample @25°C; PL-ELS 2100, Neb 25°C, Gas 1.4SLM

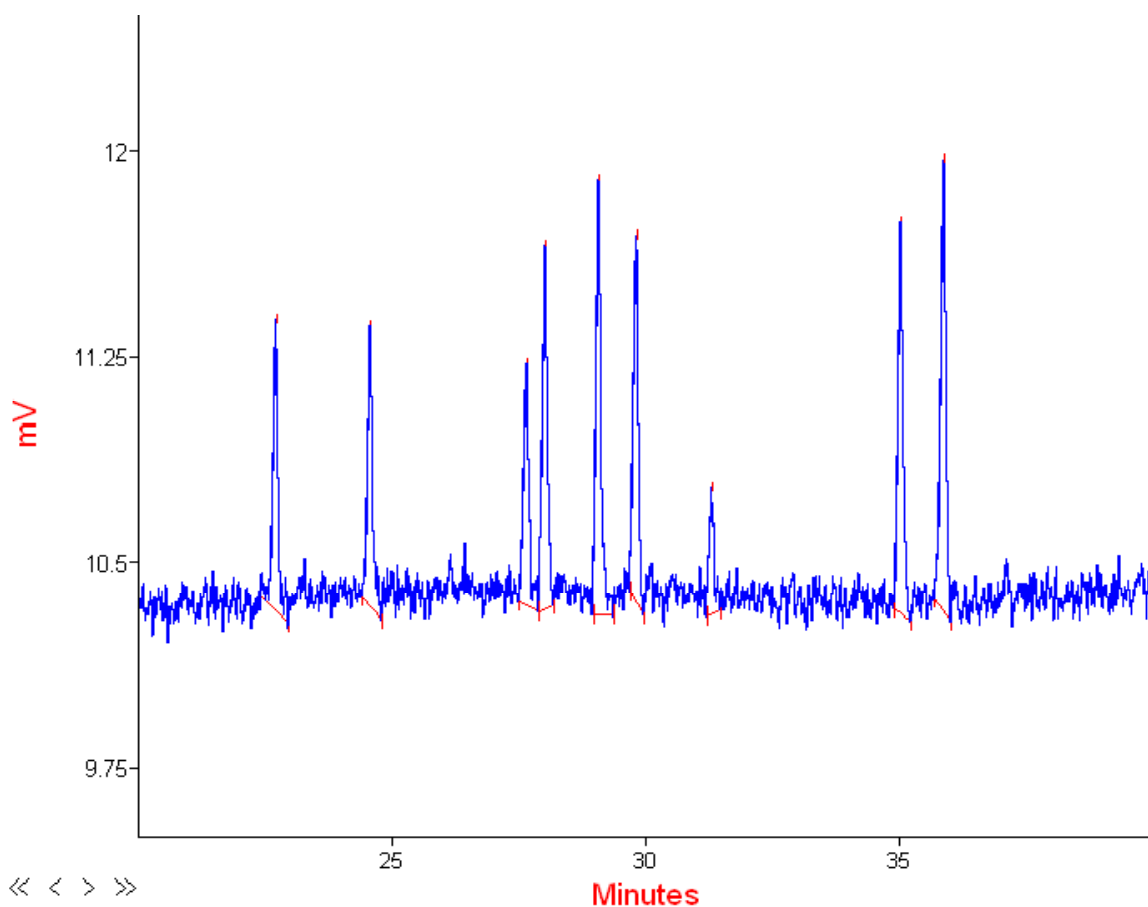


Figure 2: 20µl injection of 12.5µg/ml Herbicide Sample @25°C; PL-ELS 2100, Neb 25°C, Gas 1.4SLM

Polymer Laboratories Ltd
Essex Road, Church Stretton
Shropshire, SY6 6AX, UK

Telephone: (Int + 44) 01694 723581
Fax: (Int +44) 01694 722171
www.polymerlabs.com