

BEPALING VAN FENOL EN FENOLISCHE KOOLWATERSTOFFEN

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt de procedure AAC/3/K van december 1991.

In deze procedure wordt een methode beschreven voor de extractie, derivatisering, zuivering en analyse van fenolen in bodem, afvalstoffen, sediment en water.

De lijst van verbindingen is hieronder weergegeven :

Fenol	2-Chloorfenol
2-Methylfenol (o-Cresol)	3-Chloorfenol
3-Methylfenol (m-Cresol)	4-Chloorfenol
4-Methylfenol (p-Cresol)	2,6-Dichloorfenol
2,3-Dimethylfenol	2,5-Dichloorfenol
2,4-Dimethylfenol	2,4-Dichloorfenol
2,5-Dimethylfenol	3,5-Dichloorfenol
2,6-Dimethylfenol	2,3-Dichloorfenol
3,4-Dimethylfenol	3,4-Dichloorfenol
3,5-Dimethylfenol	2,4,6-Trichloorfenol
2-Ethylfenol	2,3,6-Trichloorfenol
3-Ethylfenol	2,3,5-Trichloorfenol
4-Ethylfenol	2,4,5-Trichloorfenol
4-Chloor-3-methylfenol	2,3,4-Trichloorfenol
2-Isopropylfenol	3,4,5-Trichloorfenol
2,3,5-Trimethylfenol	2,3,5,6-Tetrachloorfenol
	2,3,4,6-Tetrachloorfenol
	2,3,4,5-Tetrachloorfenol
	Pentachloorfenol

De hier beschreven methode is gevalideerd voor de bovenstaande verbindingen. Het toepassingsgebied is mogelijk uit te breiden tot andere fenolverbindingen zoals nitrofenolen.

2 PRINCIPE

2.1 Extractie

Bodem-, sediment- en vaste afvalmonsters worden vermengd met celite en na dopering met inwendige standaard aan een versnelde solvent extractie (ASE) met THF/hexaan onderworpen. Watermonsters worden direct gederivatiseerd, behalve sterk verontreinigde stalen : deze worden eerst geëxtraheerd met dichloormethaan in zuur midden en daarna teruggeëxtraheerd in waterig milieu met base.

2.2 Derivatisering

De basisch gemaakte waterstalen of de waterige basische extracten van vaste stalen en van verontreinigde waterstalen worden gederiviseerd met azijnzuuranhydride, na toevoeging van K_2CO_3 als katalysator. De gevormde fenylacetaatesters worden met hexaan geëxtraheerd.

2.3 Zuivering

Na de derivatisering wordt het hexaanextract gewassen met water om polaire derivatisatie-residu's te verwijderen.

2.4 Analyse

Aan de ingedampde extracten wordt een recovery standaard toegevoegd. De extracten worden geanalyseerd met een gaschromatograaf uitgerust met een massaspectrometrische detector (GC/MS). De detectie gebeurt in SIM-modus. De identificatie gebeurt aan de hand van de retentietijden in de ionenchromatogrammen en door vergelijking van de relatieve intensiteiten van de m/z signalen van de isotoopclusters. De kwantificering gebeurt door integratie van de piekoppervlakken behorend bij de chromatogrammen van de meest intense ionen. Er wordt gebruik gemaakt van de inwendige standaard methode, waarbij gekende hoeveelheden van koolstof-13 of deuterium gemerkte componenten als interne standaard voor de extractie aan het staal worden toegevoegd.

Gezien het sterk uiteenlopend extractierendement van de alkylfenolen en de beperkte keuze aan gemerkte alkylfenolen moet de kalibratiestandaard de volledige analyse doorlopen. Bij de analyse van vaste matrices en van verontreinigde waterstalen die eerst aan extractie onderworpen worden, kan het recuperatierendement van de interne standaarden berekend worden ten opzichte van een zogenaamde controlestandaard. Dit is een standaard die bekomen wordt door een mengsel van de gebruikte interne standaarden te derivatiseren zonder voorafgaandelijke extractie. Minstens vier isotoop-gemerkte fenolen worden als interne standaard gebruikt waarbij de volgende steeds aanwezig zijn : $^{13}C_6$ - of D_5 - of D_6 -fenol, D_3 -2,4-dimethylfenol, $^{13}C_6$ -pentachloorfenol en een andere gemerkte gechloreerde fenol. Bijkomend kan gebruik gemaakt worden van o.a. $^{13}C_6$ -4-chloorfenol, D_5 -2-chloorfenol, $^{13}C_6$ -2,4-dichloorfenol, $^{13}C_6$ -2,4,5-trichloorfenol, $^{13}C_6$ -2,4,6-trichloorfenol, $^{13}C_6$ -2,3,4,5-tetrachloorfenol, D_8 -o-cresol.

Als recovery standaard komt elke apolaire verbinding in aanmerking die niet in de stalen aanwezig is en vergelijkbare retentietijd heeft als de fenolderivaten. Voorbeelden zijn :

$^{13}C_{12}$ -4,4'-dichlorobifenyyl (= $^{13}C_{12}$ -PCB-15), D10-bifenyyl en $^{13}C_6$ -dichlorobenzeen.

Het gebruik van verbindingen zoals D4-dichlorofenol (als interne standaard) of D4-dichlorobenzeen (als recovery standaard) moet vermeden worden wegens interferentie op de ionenclusters door eventueel aanwezige natieve componenten.

3 APPARATUUR EN MATERIALEN

- Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
- Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- Mortier en stamper (porcelein)

- Dionex ASE 200 accelerated solvent extractor met extractiecellen van 11 tot 33 ml en opvangvials van 40 tot 60 ml
- Scheitrechters (100-250-500-1000 ml)
- Injectiespuiten van 50 µl voor het doperen met interne standaard en 'recovery' standaard
- Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- Gegradueerde puntbuizen
- Pipetten van 1 en 5 ml (Eppendorf)
- Maatcilinder (50 ml)
- Trechters
- Voor de filtratie van peilputwaters : borosilicaatglasvezelfilters conform de specificaties opgelegd in EN 872, d.w.z. vrij van bindmiddel, met een gewicht van 50 tot 100 g/m² en getest met 200 ml van een referentiesuspensie van 50 mg/l microkristallijn cellulose (TLC grade of equivalent), waarbij de weerhouden hoeveelheid gesuspenderde deeltjes tussen 90% en 100% moet gelegen zijn
- GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadrupool-type en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur.
- Fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase, bv. DB-XLB, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
- Injectiespuit van 10 µl
- Glazen monsterflesjes (penicillineflesjes) van 2 ml

4 REAGENTIA

4.1 Chemische producten

- Dichloormethaan : voor residu-analyse
- n-hexaan : voor residu-analyse
- tetrahydrofuraan (THF) : pro analyse
- Iso-octaan: pro analyse
- Iso-propanol: pro analyse
- Azijnzuuranhydride: pro analyse
- Natriumhydroxide (NaOH) : pro analyse 1N en 10N
- Zwavelzuur (H₂SO₄) : pro analyse 1N en 10N
- Kaliumcarbonaat (K₂CO₃) : pro analyse, poeder
- Natriumsulfaat (Na₂SO₄) : pro analyse, poeder, watervrij. Na₂SO₄ wordt in de droogoven bewaard bij 130°C.
- Diatomeeënaarde : korrelgrootte 0.01-0.04 mm (Merck Celite 545).
- Zeezand : met zuur gereinigd en gegloeid (Merck p.a.)
- blanco water : water dat geen fenolische of andere interfererende componenten bevat

4.2 Standaardoplossingen

Opm.: de hieronder beschreven werkwijze vertrekt van vaste producten waarbij de hoofdstandaarden zelf aangemaakt worden. In de handel zijn echter reeds bereide en gecertificeerde oplossingen beschikbaar.

Hoofdstandaardoplossingen

- natieve fenolen : van elke fenolverbinding wordt vanuit zuiver standaardmateriaal een afzonderlijke hoofdstandaard van 1000 µg/g bereid in iso-octaan
- deuterium en koolstof-13 gemerkte fenolen : er wordt een afzonderlijke hoofdstandaard bereid van 200 µg/g in iso-octaan, uitgaande van zuiver standaardmateriaal of van oplossingen die verkrijgbaar zijn in de handel

Doperingsoplossingen:

- ‘doperingsoplossing interne standaarden’ : uit de bovenstaande hoofdstandaardoplossingen van deuterium en koolstof-13 gemerkte fenolen wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan die elke component bevat in een concentratie van ongeveer 25 µg/g
- ‘doperingsoplossing kalibratiestandaard’ : uitgaande van de bovenstaande hoofdstandaardoplossingen van natieve fenolen wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan die elke verbinding bevat in een concentratie van ongeveer 25 µg/g

Werkoplossingen:

- recovery-standaard : $^{13}\text{C}_{12-4,4'}$ -dichlorobifenyl is in de handel te verkrijgen als een 50 µg/g oplossing in nonaan. Deze wordt verdund tot 20 µg/g in iso-octaan

5 MONSTERBEWARING EN –VOORBEHANDELING

Bij de monsternamen wordt gebruik gemaakt van bruine glazen flessen, afgesloten met glazen stoppen of plastic stoppen met teflon inlage. Waterstalen mogen in geen geval in plastic recipiënten worden genomen.

De stalen worden geconserveerd door aanzuren met HCl tot pH 4 en additie van $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1 gram per liter). De bewaring gebeurt bij 4°C en in het donker. Grondwaterstalen (gewoonlijk bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden onmiddellijk na aankomst gefiltreerd over een geschikte glasvezelfilter met specificaties zoals vermeld onder 3.

Van bodemstalen worden deeltjes met een diameter groter dan 5 mm voorafgaandelijk door zeven verwijderd. Afvalresten worden niet verwijderd.

Bodem en vaste afvalstoffen worden binnen de 14 dagen geanalyseerd, waterstalen binnen de 7 dagen. Diepgevroren zijn waterstalen tot 6 maanden houdbaar. De extracten kunnen 40 dagen bewaard worden.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 Extractieprocedure

Waterstalen : directe derivatisering

Weinig verontreinigd water (drinkwater, proper grondwater) kan zonder voorafgaandelijk extractie gederivatiseerd worden. Eerst worden de gemerkte interne standaarden toegevoegd en de pH wordt op 11-12 gebracht met NaOH 10N :

- leg de scheidrecter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0.1 g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheidrecter
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- breng het monster op pH 11-12 met NaOH 10N
- behandel verder zoals beschreven in 6.2

Sterk verontreinigde waterstalen

Waterstalen die niet direct gederivatiseerd kunnen worden omwille van matrixinterferenties worden eerst zuur geëxtraheerd met dichloormethaan, waarna de fenolen teruggeëxtraheerd worden met een NaOH-oplossing.

- leg de scheidrecter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0.1 g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheidrecter
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H₂SO₄ 10N
- spoel de monsterfles na met 40 ml dichloormethaan en breng de spoelvloeistof over naar de scheidrecter
- schud het geheel krachtig gedurende ca 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de dichloormethaanfase op in een tweede scheidrecter
- extraheer de waterfase nog twee keer met 30 ml dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug uit de verzamelde dichloormethaanfasen met drie keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.3

Bodem en vast afval

Het monster wordt eerst gehomogeniseerd door omroeren en/of langdurig schudden. Voor de ASE-extractie wordt een mengsel van hexaan en THF gebruikt.

- weeg in een mortier een hoeveelheid (bv. 10 g) van het homogene monster af, tot op 0.01 g nauwkeurig
- weeg een hoeveelheid celite af, tot op 0.01 g nauwkeurig; vermeng met het monster in de mortier tot een droge massa bekomen wordt
- breng in de extractiecel een cellulosefiltertje en weeg vervolgens in de extractiecel, afhankelijk van de verwachte verontreinigingsgraad van het monster, een hoeveelheid van het met celite vermengde monster af, tot op 0.01 g nauwkeurig en vul de extractiecel verder op met zeezand
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- sluit de bovenkant van de extractiecel handdicht af met een 'cap'
- voer de extractie uit met onderstaande ASE instellingen

HEAT	5 min	PRESSURE	140 bar
STATIC	5 min	TEMPERATURE	100 °C
FLUSH%	60 vol	SOL # 1	THF 20 %
PURGE	150 sec	SOL # 2	n-hexaan 80 %
CYCLES	1	SOL # 3	- %

- damp het extract in tot enkele ml en leng aan tot 40 ml met dichloormethaan
- breng het extract over in een scheidrecter en spoel de collectievial na met enkele milliliters dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug met 3 keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.3

Kalibratiestandaard voor waterstalen (directe derivatisering)

- leg de scheidrecter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- voeg 500 ml blanco water toe
- breng het monster op pH 11-12 met NaOH 10N
- behandel verder zoals beschreven in 6.2

Kalibratiestandaard voor waterstalen (derivatisering na extractie)

- leg de scheidrecter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H₂SO₄ 10N
- spoel de monsterfles na met 40 ml dichloormethaan en breng de spoelvloeistof over naar de scheidrecter
- schud het geheel krachtig gedurende ca 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de dichloormethaanfase op in een tweede scheidrecter
- extraheer de waterfase nog twee keer met 30 ml dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug uit de verzamelde dichloormethaanfasen met drie keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de resulterende NaOH-oplossing zoals beschreven in 6.3

Kalibratiestandaard voor vaste stalen (ASE-extractie)

- breng in een scheidrecter 40 ml dichloormethaan; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen;
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- extraheer de fenolen met 3 keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.3

Controlestandaard waterstalen (derivatisering na extractie) en vaste stalen (ASE-extractie)

- leg de scheidrecter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg 60 ml NaOH 1N toe
- behandel verder zoals beschreven onder 6.3

6.2 Directe derivatisering

- voeg aan het basische gemaakte monster 2.5 g K_2CO_3 toe (0.5g/100 ml)
- derivatiseer de fenolen door aan de waterfase 1 ml azijnzuuranhydride toe te voegen
- schud krachtig gedurende 4 min. en laat 10 min. rusten
- extraheer de fenolderivaten met 50 ml hexaan; schud krachtig gedurende 4 min.
- laat de waterfase af en was de hexaanafase met enkele ml blanco water
- laat de hexaanafase af over een filter gevuld met Na_2SO_4 in een geïnduceerde puntbuis
- damp in onder een stikstofstroom tot 1 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de werkoplossing recovery-standaard toe, zodanig dat de concentratie in het eindextract ongeveer 500 ng/g zal bedragen

6.3 Derivatisering na extractie

- breng de NaOH-oplossing op pH 11-12 met H_2SO_4 (voeg eerst 5.5 ml 10N toe en daarna enkele ml 1N)

Opm. : bij een te hoge pH-waarde zal de derivatiseringsreactie niet doorgaan; het is absoluut noodzakelijk om de pH van de NaOH oplossing op 11-12 te brengen.

- voeg aan de 60 ml NaOH-oplossing 0.5 K_2CO_3 toe
- derivatiseer de fenolen door aan de waterfase 1 ml azijnzuuranhydride toe te voegen
- schud krachtig gedurende 4 min. en laat 10 min. rusten
- extraheer de fenolderivaten met 5 ml hexaan; schud krachtig gedurende 4 min.
- laat de waterfase af en was de hexaanafase met enkele ml blanco water
- laat de hexaanafase af over een filter gevuld met Na_2SO_4 in een geïnduceerde puntbuis
- damp in onder een stikstofstroom tot 1 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de werkoplossing recovery-standaard toe, zodanig dat de concentratie in het eindextract ongeveer 500 ng/g zal bedragen

6.4 GC-MS analyse

Meting

De staaextracten, het extract van de kalibratiestandaard en het extract van de controlestandaard worden geanalyseerd met GC-MS. Daarbij wordt 1 μ l splitless in de gaschromatograaf geïnjecteerd. Alternatieve injectietechnieken zoals *on-column* of *groot-volume injectie* kunnen toegepast worden, eventueel met aanpassing van de concentraties van kalibratiestandaard, recoverystandaard en interne standaarden. De chromatografische

scheiding van de componenten wordt normaal uitgevoerd op een apolaire capillaire kolom met chemisch gebonden fase.

De detectie van de componenten gebeurt met een lage resolutie massaspectrometer. De massaspectrometer wordt ingesteld naar maximale respons voor de ionen 131, 219, 264 en 414 m.b.v. het referentiegas PFTBA. De opname van het chromatogram gebeurt in SIM met selectie en registratie van de karakteristieke ionen (bijlage 1). De typische GC-MS werkvoorwaarden voor de analyse zijn weergegeven in bijlage 2.

Uit het totale geregistreerde signaal worden specifieke ionenchromatogrammen van de te analyseren fenolen, de isotoop-gemerkte interne standaarden en de 'recovery'-standaard geëxtraheerd. Voor elke verbinding worden 2 ionen gekozen behorende bij de isotoop cluster van het moleculaire ion of een meer intens fragmention. Typische ionenchromatogrammen zijn voor de kalibratie-oplossing weergegeven in bijlage 3.

Kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende fenolen gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt elke verbinding gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde isotoop-gemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd. Voor de keuze van de inwendige standaarden zie bijlage 1.

Minstens in het begin en aan het einde van elke analysereeks, en verder om een welbepaald aantal preparaten (bv. 8), wordt het kalibratie-extract geïnjecteerd. Van elke verbinding, natief of gemerkt, wordt de piekoppervlakte in het overeenkomstige meest intense ionenchromatogram gemeten.

Relatieve responsfactoren voor elke te bepalen fenolverbinding worden vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten van de natieve componenten en de overeenkomstige interne standaarden (zie 7.1).

In geval van derivatisering na extractie wordt het extract van de controlestandaard geïnjecteerd aan het begin van de meetreeks. Hiermee worden de relatieve responsfactoren van de isotoop-gemerkte interne standaarden bepaald uit de verhouding van de oppervlakten van de interne standaarden en de recovery-standaard (zie 7.3).

Identificatie

De aanwezigheid van natieve fenolen in de monsters wordt bevestigd op basis van de onderstaande gegevens en criteria:

- de registratie van een piek bij de karakteristieke m/z, met piekhoogte groter dan 3 keer de ruishoogte (helpt van de 'peak-to-peak' ruis)
- de retentietijd in monster (RT') t.o.v. kalibratie-oplossing (RT), waarbij een maximale afwijking van 5 sec, vermeerderd met de waargenomen verschuiving voor de overeenkomstige interne standaard, wordt gehanteerd $[RT + \Delta RT(IS) - 5 \text{ sec} \leq RT' \leq RT + \Delta RT(IS) + 5 \text{ sec}]$

De identificatie van interne standaarden is eveneens gebaseerd op de bovenstaande criteria.

In bijlage 1 zijn de karakteristieke m/z van de natieve en gemerkte fenolen weergegeven, en staat voor elke natieve verbinding de overeenkomstige interne standaard vermeld.

Van de geïdentificeerde pieken wordt de oppervlakte of alternatief de piekhoogte bepaald.

Kwantificering

Voor de monsterextracten worden de ionenchromatogrammen geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Van de geïdentificeerde fenolen worden de piekoppervlakten behorende bij het meest intense ion berekend. Uitgaande van de integratiewaarden voor het monster en de relatieve responsfactoren bepaald voor de kalibratiestandaard worden de gehalten van de verschillende verbindingen in het monster berekend (zie 7.2).

De terugvindingen van de inwendige standaarden worden berekend aan de hand van hun relatieve responsfactor (zie 7.4).

7 BEREKENINGEN

7.1 Directe derivatisering

Responsfactor van de natieve fenolen

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de fenolen en de inwendige standaarden in de respectievelijke ionenchromatogrammen van de kalibratiestandaard wordt voor elke fenol de relatieve responsfactor (RRF) met behulp van onderstaande formule berekend.

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \cdot \frac{C_{IS}}{A_{IS}}$$

met

- A_x = piekoppervlakte van de component x in de kalibratiestandaard
- C_x = hoeveelheid van de component x gedopeerd in de kalibratiestandaard (μg)
- C_{IS} = hoeveelheid van de inwendige standaard gedopeerd in de kalibratiestandaard (μg)
- A_{IS} = piekoppervlakte van de inwendige standaard in de kalibratiestandaard

Responsfactor van de interne standaarden

In geval van directe derivatisering worden de responsfactoren van de interne standaarden berekend op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaarden en van de recoverystandaard in de respectievelijke ionenchromatogrammen van de kalibratiestandaard. De RRF van elke interne standaard wordt berekend als volgt :

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \cdot \frac{C_{RS}}{A_{RS}}$$

met

- A_X = piekoppervlakte van de interne standaard x in de kalibratiestandaard
 C_X = hoeveelheid van de interne standaard x gedopeerd in de kalibratiestandaard (μg)
 CRS = hoeveelheid van de recoverystandaard gedopeerd in de kalibratiestandaard (μg)
 ARS = piekoppervlakte van de recoverystandaard in de kalibratiestandaard

Gehalte van de natieve fenolen in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van een component en de inwendige standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van het monster en rekening houdend met de relatieve responsfactor van de beschouwde component, kan de concentratie van de component in het water als volgt berekend worden :

$$C_x = \frac{I}{RRF_x} \cdot \frac{A_x}{A_{IS}} \cdot \frac{g_{IS}}{V}$$

met

- RRF_x = relatieve responsfactor van component x
 A_X = piekoppervlakte van de component in het monster
 A_{IS} = piekoppervlakte van de inwendige standaard in het monster
 g_{IS} = toegevoegde hoeveelheid inwendige standaard aan het staal (μg)
 V = volume monster in liter, waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd (gravimetrisch bepaald met aanname van een dichtheid = 1000 g/l).

Recuperatierendement van de interne standaarden

De terugvinding van een interne standaard in het staalextract wordt berekend uit de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaard en recovery-standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen, aan de hand van de relatieve responsfactor van de beschouwde interne standaard :

$$R_x = \frac{I}{RRF_x} \cdot \frac{A_x}{A_{RS}} \cdot g_{RS} \cdot 100$$

met

- R_x = terugvinding van interne standaard x in het extract (%)
 RRF_x = relatieve responsfactor van interne standaard x
 A_X = piekoppervlakte van interne standaard x in het extract
 A_{RS} = piekoppervlakte van de recovery- standaard in het extract
 g_{RS} = toegevoegde hoeveelheid recovery-standaard aan het extract (μg)

7.2 Derivatisering na extractie

Responsfactor van de natieve fenolen

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de fenolen en de inwendige standaarden in de respectievelijke ionchromatogrammen van de kalibratiestandaard wordt voor elke fenol de relatieve responsfactor (RRF) met behulp van onderstaande formule berekend.

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \cdot \frac{C_{IS}}{A_{IS}}$$

met

- A_x = piekoppervlakte van de component x in de kalibratiestandaard
- C_x = hoeveelheid van de component x gedopeerd in de kalibratiestandaard (μg)
- C_{IS} = hoeveelheid van de inwendige standaard gedopeerd in de kalibratiestandaard (μg)
- A_{IS} = piekoppervlakte van de inwendige standaard in de kalibratiestandaard

Responsfactor van de interne standaarden

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaarden en van de recovery-standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van de controlestandaard wordt voor elke gemerkte fenol de relatieve responsfactor (RRF) op de volgende wijze berekend :

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \cdot \frac{C_{RS}}{A_{RS}}$$

met

- A_x = piekoppervlakte van interne standaard x in de controlestandaard
- C_x = hoeveelheid van interne standaard x gedopeerd in de controlestandaard (μg)
- C_{RS} = hoeveelheid van de recovery-standaard toegevoegd aan het extract van de controlestandaard (μg)
- A_{RS} = piekoppervlakte van de recovery-standaard in de controlestandaard

Gehalte van de natieve fenolen in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van een component en de inwendige standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van het monster en rekening houdend met de relatieve responsfactor van de beschouwde component, kan de concentratie van de component in het bodem- of vaste afvalmonster, uitgedrukt in mg/kg ds, als volgt berekend worden :

$$C_x = \frac{I}{RRF_x} \cdot \frac{A_x}{A_{IS}} \cdot \frac{g_{IS}}{G} \cdot \frac{100}{ds}$$

met

- RRF_x = relatieve responsfactor van component x
 A_x = piekoppervlakte van de component in het monster
 A_{IS} = piekoppervlakte van de inwendige standaard in het monster
 g_{IS} = toegevoegde hoeveelheid inwendige standaard aan het staal (μg)
 G = afgewogen hoeveelheid monster in g, waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd
 ds = droogrest in % (voor de bepaling zie CMA 2/II/A.1)

Voor *watermonsters* wordt de concentratie, in $\mu\text{g/l}$, als volgt berekend :

$$C_x = \frac{I}{RRF_x} \cdot \frac{A_x}{A_{IS}} \cdot \frac{g_{IS}}{V}$$

met RRF_x , A_x , A_{IS} zoals hierboven en

- V = volume monster in liter, waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd
 (gravimetrisch bepaald met aanname van een dichtheid = 1000 g/l).

Recuperatierendement van de interne standaarden

De terugvinding van een interne standaard in een staaextract of in het extract van de kalibratiestandaard wordt berekend uit de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaard en recovery-standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen, aan de hand van de relatieve responsfactor van de beschouwde interne standaard :

$$R_x = \frac{I}{RRF_x} \cdot \frac{A_x}{A_{RS}} \cdot g_{RS} \cdot 100$$

met

- R_x = terugvinding van interne standaard x in het extract (%)
 RRF_x = relatieve responsfactor van interne standaard x
 A_x = piekoppervlakte van interne standaard x in het extract
 A_{RS} = piekoppervlakte van de recovery- standaard in het extract
 g_{RS} = toegevoegde hoeveelheid recovery-standaard aan het extract (μg)

7.3 Aantoonbaarheidsgrenzen voor de niet-gedetecteerde fenolen in het monster

De laagst aantoonbare concentratie die voor de verbindingen in een monster kan gemeten worden is afhankelijk van de gevoeligheid van de detector, de aard van de matrix, de hoeveelheid monster die in behandeling genomen werd, het extractierendement, de efficiëntie van de monsterzuivering, de kwaliteit van de gebruikte reagentia, enz.. Voor de niet-gedetecteerde verbindingen worden “<”-waarden gerapporteerd overeenkomend met of groter dan de aantoonbaarheidsgrenzen. De aantoonbaarheidsgrenzen dienen kleiner te zijn dan de gevraagde rapporteergrenzen.

Een inschatting van de laagst detecteerbare concentratie voor de fenolen in het monster kan gebeuren aan de hand van de ruisgrootte en de piekhoogte van de inwendige standaard.

Voor *bodem- en vaste afvalmonsters* geldt :

$$AG_x = 3 \cdot \frac{1}{RRF_x} \cdot \frac{RG_x}{PH_{IS}} \cdot \frac{g_{IS}}{G} \cdot \frac{100}{ds}$$

Voor *watermonsters* heeft men :

$$AG_x = 3 \cdot \frac{1}{RRF_x} \cdot \frac{RG_x}{PH_{IS}} \cdot \frac{g_{IS}}{V} \cdot f$$

Hierbij zijn, naast de hierboven reeds gespecificeerde parameters :

- f = eventuele verdunningsfactor
 RG_x = de "peak-to-peak" ruisgrootte in het retentietijdsg gebied van de component x
 PH_{IS} = de hoogte van de piek van de overeenkomstige inwendige standaard

Opmerking: bij de berekening van de aantoonbaarheidsgrenzen wordt gebruik gemaakt van piekhoogten i.p.v. piekoppervlakten, ook al zijn de RRF_x gedefinieerd op basis van piekoppervlakten; aangezien aantoonbaarheidsgrenzen in wezen altijd maar schattingen zijn wordt deze benadering aanvaardbaar geacht.

8 KWALITEITSPARAMETERS

8.1 Responslineariteit

Het lineaire bereik van de detectorrespons wordt geverifieerd door derivatisering van verschillende standaarden met wisselende hoeveelheden natieve fenolen en een constante hoeveelheid aan inwendige standaarden. De standaardreeks wordt aangemaakt door verschillende hoeveelheden van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe te voegen aan 60 ml water (vooraf op pH 11-12 gebracht met NaOH 10N). De oplossingen worden gederiviseerd zoals beschreven in 6.2.

Bij uitzetten van de verhouding van de detectorresponsen van een component en de overeenkomstige inwendige standaard in functie van de verhouding van de concentraties van de component en de interne standaard dient voor elke verbinding een rechte bekomen te worden waarvan de variatiecoëfficiënt V_{xo} (zie ISO-8466-1990:1) kleiner is dan 15 %.

Bijkomend zet men $(A_i * C_{IS}) / (A_{IS} * C_i)$ uit i.f.v. C_i . Aan de lineariteit is voldaan indien de afwijking t.o.v. de gemiddelde waarde maximaal 15 % bedraagt.

Een controle van de lineariteit wordt uitgevoerd na elke reiniging van de MS-bron of bij een andere ernstige instrumentele ingreep.

Opm.: stelt men bij de monsteranalyse een overschrijding van de bovenste lineaire grens vast, d.i. de hoogste geregistreerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden startend van een met hexaan verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de inwendige standaarden nog voldoende intens is, of startend van een geringere hoeveelheid monster.

8.2 Gaschromatografische scheiding

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritisch paar, bijvoorbeeld 2,3,5,6-tetrachloorfenylacetaat en 2,3,4,6-tetrachloorfenylacetaat in het chromatogram van het kalibratie-extract. De scheiding dient volledig te zijn tot aan de basislijn.

8.3 Relatieve responsfactoren

Binnen eenzelfde analysereeks mogen de relatieve responsfactoren bekomen voor twee opeenvolgende injecties van de kalibratiestandaard (met tussentijdse analyse van monsterpreparaten) niet meer dan 20 % van mekaar afwijken.

8.4 Blanco

Bij elke analysereeks wordt tenminste één procedureblanco bepaald. Hierbij wordt de volledige analyseprocedure gevolgd met blanco water in plaats van monster. Het geregistreerde chromatogram dient vrij te zijn van interfererende pieken die groter zijn dan 10% van de pieken geregistreerd voor het de monsters in de analysereeks. Voor meetwaarden die kleiner zijn dan 5 maal de gevraagde rapporteergrens mogen de interfererende pieken niet groter zijn dan de helft van de gevraagde rapporteergrens.

8.5 Minimum detecteerbare hoeveelheden (MDH)

Aan de hand van het chromatogram van de kalibratiestandaard kan voor elke verbinding de minimum detecteerbare hoeveelheid, in pg, berekend worden :

$$MDH_x = 3 \cdot \frac{RG_x}{PH_x} \cdot g_x$$

met

RG_x = de *peak-to-peak* ruisgrootte aan de voet van de chromatogrampijk van component x

PH_x = de hoogte van de piek van component x

g_x = de hoeveelheid geïnjecteerde component x in pg

De minimum detecteerbare hoeveelheid moet van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrens kan gehaald worden.

8.6 Recuperatierendement

Matrixeffecten kunnen een invloed hebben op extractie en derivatisering en zullen zich manifesteren door een lager recuperatierendement van de interne standaarden. Verantwoorde kwantificering is slechts dan toegelaten indien het recuperatierendement van de inwendige standaarden minimaal 70 % bedraagt voor directe derivatisering en 50% indien derivatisering na extractie toegepast werd.

8.7 Controlemonster

Op regelmatige basis wordt een controlemonster geanalyseerd. Van ten minste drie fenolen (bij voorkeur fenol, pentachloorfenol en een alkylfenol) worden de gehalten opgetekend in controlekaarten. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

Opm.: indien geen gecertificeerd referentiemateriaal beschikbaar is mag gebruik gemaakt worden van een gedopeerd monster.

9 RAPPORTAGE

Vermeld in het analyseverslag het gehalte van de gedetecteerde verbindingen in mg/kg ds voor bodem- en vaste afval monsters en in µg/l voor watermonsters. Geef voor de niet gedetecteerde verbindingen de waargenomen aantoonbaarheidsgrenzen op ofwel monstertype afhankelijke rapportagegrenzen. Indien door matrixeffecten de terugvinding van de interne standaarden niet voldoet aan de gestelde eis dan moet dit in het verslag vermeld worden.

10 VOORBEELD VAN EEN ANALYSEGANG

Bij elke ernstige instrumentele ingreep (bijv. reiniging van de detector) of op regelmatige basis:

Injecteer standaard-werkoplossingen van verschillende concentratie	
Bepaal V_{xo} van de regressierechte	$V_{xo} \leq 15\%$?
Bepaal lineair bereik	

Per analysereeks:

Injecteer het extract van de controlestandaard: bepaal voor elke interne standaard de RRF(i) (behalve bij directe derivatisering)	
Injecteer het extract van de kalibratiestandaard: bepaal voor elke fenol RRF(i) bepaal voor elke IS de RRF(i) (enkel bij directe derivatisering)	
Injecteer de solventblanco	
Injecteer het extract van de procedureblanco	
Injecteer monsterpreparaten (max. 10)	
Injecteer het extract van de kalibratiestandaard: bepaal voor elke fenol RRF(i+1)	$0.8 \leq RRF(i)/RRF(i+1) \leq 1.2$?
Bepaal de piekoppervlakten voor het monsterpreparaat verifieer m.b.t. lineariteit verifieer de recuperatierendementen voor de IS	binnen lineair gebied ? $R\%(IS) > 50\%$? (directe deriv. : $R\%(IS) > 70\%$?)
Bereken de gehalten voor het monster	

11 METHODEKARAKTERISTIEKEN

Voor een bodemonmonster gedopeerd met fenolen op een niveau van 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, zijn de terugvindingen gelegen tussen 80% en 120%. De herhaalbaarheid (% RSD) bedraagt voor de meeste fenolen minder dan 2%. De aantoonbaarheidsgrenzen zijn bij een inname van 5 g monster lager dan 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per fenol.

Voor grondwatermonsters gedopeerd op een niveau van 500 ng/l per fenol wordt een herhaalbaarheid vastgesteld van minder dan 10% per fenol en de terugvinding ligt tussen 80% en 120%; dit geldt zowel voor directe derivatisering als derivatisering na extractie. De aantoonbaarheidsgrens bedraagt over het algemeen minder dan 5 ng/l per fenol.

12 REFERENTIES

EN 12673, Water Quality – Gas chromatographic determination of some selected chlorophenols in water.

ISO 8165, Water Quality - Determination of selected monovalent phenols.

BIJLAGE 1: Specifieke ionen voor de fenylacetaatesters

Komponent	m/z(1)	m/z(2)	Overeenkomstige IS	m/z(1)	m/z(2)
fenol	94	66	¹³ C ₆ -fenol	100	70
2-methylfenol	107	108	D ₈ -2-methylfenol	113	115
3-methylfenol	107	108	"	"	"
4-methylfenol	107	108	"	"	"
2,3-dimethylfenol	107	108	D ₃ -2,4-dimethylfenol	109	110
2,4-dimethylfenol	107	108	"	"	"
2,5-dimethylfenol	107	108	"	"	"
2,6-dimethylfenol	107	108	"	"	"
3,4-dimethylfenol	107	108	"	"	"
3,5-dimethylfenol	107	108	"	"	"
2-ethylfenol	107	108	"	"	"
3-ethylfenol	107	108	"	"	"
4-ethylfenol	107	108	"	"	"
4-chloor-3-methylfenol	107	108	"	"	"
2-isopropylfenol			"	"	"
2,3,5-trimethylfenol			"	"	"
2-Chloorfenol	128	130	13C-4-Chloorfenol	134	136
3-Chloorfenol	128	130	"	"	"
4-Chloorfenol	128	130	"	"	"
2,6-Dichloorfenol	162	164	13C-2,4-Dichloorfenol	168	170
2,5-Dichloorfenol	162	164	"	"	"
2,4-Dichloorfenol	162	164	"	"	"
3,5-Dichloorfenol	162	164	"	"	"
2,3-Dichloorfenol	162	164	"	"	"
3,4-Dichloorfenol	162	164	"	"	"
2,4,6-Trichloorfenol	196	198	13C-2,4,5-Trichloorfenol	202	204
2,3,6-Trichloorfenol	196	198	"	"	"
2,3,5-Trichloorfenol	196	198	"	"	"
2,4,5-Trichloorfenol	196	198	"	"	"
2,3,4-Trichloorfenol	196	198	"	"	"
3,4,5-Trichloorfenol	196	198	"	"	"
2,3,5,6-Tetrachloorfenol	232	230	13C-2,3,4,5-Tetrachloorfenol	236	238
2,3,4,6-Tetrachloorfenol	232	230	"	"	"
2,3,4,5-Tetrachloorfenol	232	230	"	"	"
Pentachloorfenol	266	268	13C-Pentachloorfenol	272	274
Recovery standaard 13C-PCB 15	234	236			

Opmerkingen :

- Voor ¹³C₆-2,4,5-trichloorfenol, ¹³C₆-2,3,4,5-tetrachloorfenol en ¹³C₆-pentachloorfenol worden massa's gekozen die niet overeenstemmen met de meest intense massa's van de isotoopcluster. Om de bijdrage van ionen behorende bij de isotoopcluster van de overeenkomstige natieve fenol bij de ionen van de koolstof-13 gemerkte verbinding te voorkomen, worden voor de gemerkte verbinding de massa's behorende bij het M+2 ion genomen.
- De m/z-waarden gebruikt voor kwantificatie zijn in de bovenstaande tabel in vet weergegeven.

BIJLAGE 2: Typische GC/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van fenolen

Kolomspecificaties : DB-XLB, 30 m x 0.25 mm x 0.25 mm

Draaggas en druk : Helium, 75 kPa

Injectie :

Modus : splitless
Injectievolume : 1 µl hexaan eindextract
Injectietemperatuur: 250°C

GC-oven programmatie :

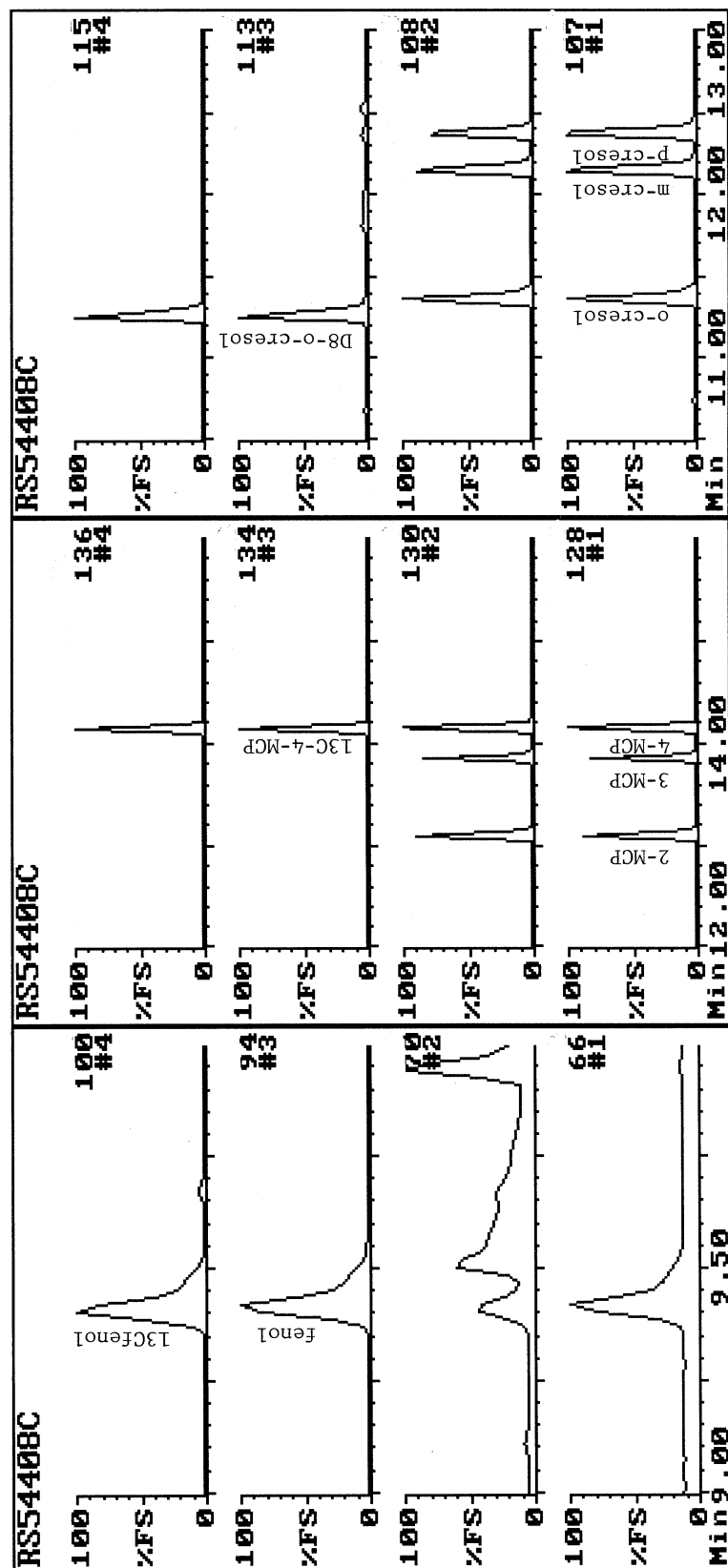
55°C : 1 min
55°C --> 205°C : 6°C/min
205°C --> 305°C : 25°C/min

totale duur : 30 min

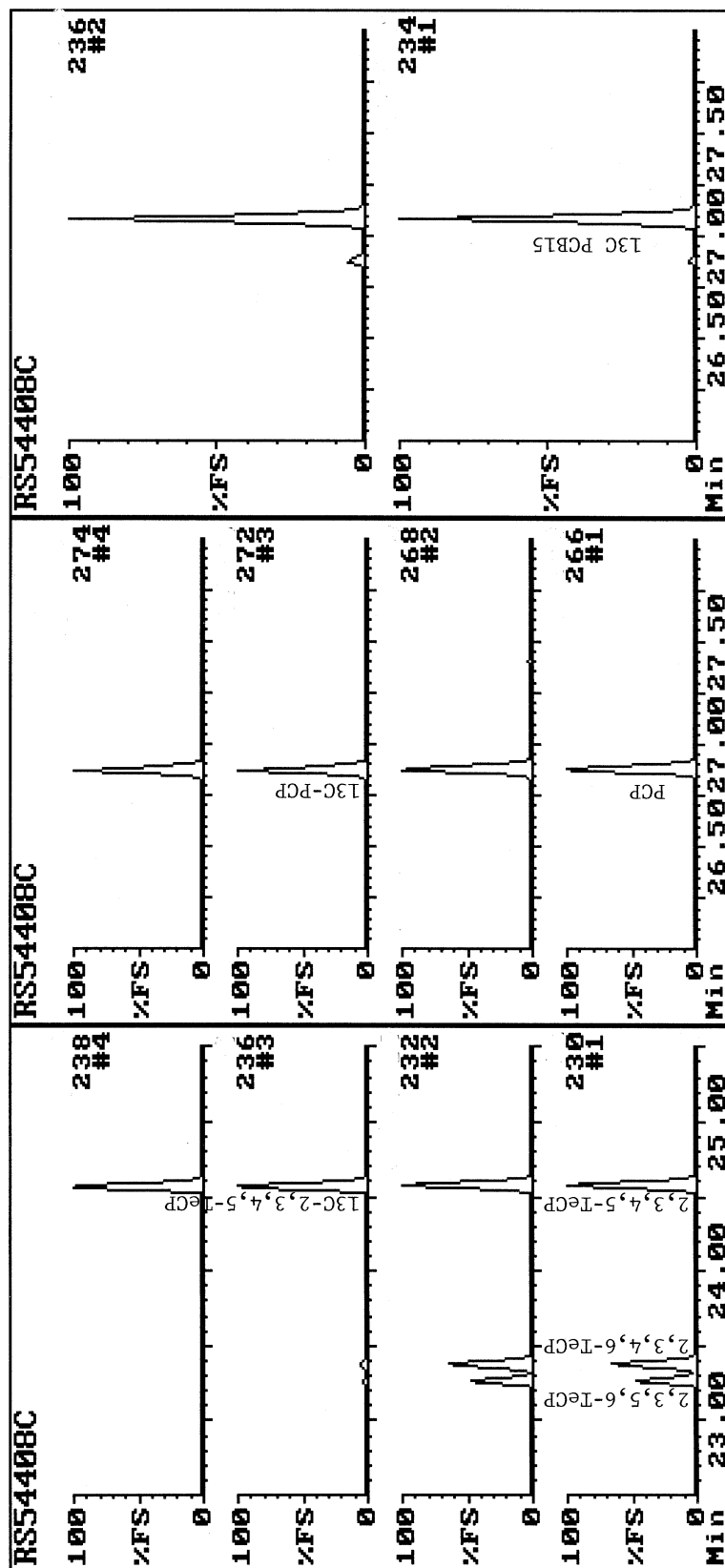
MS-instellingen :

Interfacetemperatuur : 280°C
Brontemperatuur : 230°C
Ionen : zie bijlage 1

BIJLAGE 3: Ionenchromatogrammen van het kalibratie-extract



Bijlage 3 : (vervolg)



Bijlage 3: (vervolg)

