

BENZIDINEN

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode wordt gebruikt voor het bepalen van de volgende benzidines, zowel in watermonsters als in vaste afvalmonsters:

- Benzidine
- o-Tolidine
- 3,3'-Dichloorbenzidine

2 PRINCIPE

2.1 Extractie

De afvalmonsters worden vooreerst aan een aangepaste extractie-techniek onderworpen (chloroform). Watermonsters worden met CHCl_3 geëxtraheerd bij pH 7. Vaste monsters worden met CHCl_3 in een soxhlet-apparaat geëxtraheerd. De chloroform wordt daarna terug geëxtraheerd in zuur midden, geneutraliseerd en opnieuw met chloroform geëxtraheerd. Vervolgens wordt door evaporatie de chloroform door methanol vervangen en geconcentreerd.

2.2 Zuivering

Als zuiveringsprocedure past men de zure terugextractie toe.

2.3 Identificatie

Identificatie van de benzidinen wordt uitgevoerd op basis van retentietijd, de in lineaire scan opgenomen spectra of op basis van de relatieve intensiteiten van de gemeten specifieke ionen in de selected ion monitoring (SIM)-mode.

2.4 Kwantificering

Voor de kwantitatieve bepaling van de benzidines wordt gebruik gemaakt van de externe of interne standaard-methode op basis van het meest karakteristieke ion.

Bij het uitvoeren van kwantitatieve bepalingen is het belangrijk het recuperatierendement van de methode te kennen voor elke component aanwezig in het standaardmengsel. Aan elke analyst wordt het derhalve aanbevolen deze rendementen nauwkeurig te bepalen onder eigen werkomstandigheden en voor de aanwezige monstermatrix.

3 BELANGRIJKE OPMERKINGEN

Matrixinterferenties worden veroorzaakt door coëxtractie van organische componenten en zijn afhankelijk van de herkomst van het monster. De zuiveringsstappen ingesloten bij de extractieprocedure verhinderen in grote mate de meest voorkomende interferenties.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 4.1 scheidtrechter van 2000 ml en 250 ml met teflon stop
- 4.2 erlenmeyer van 250 ml
- 4.3 Soxhlet-apparaat van 500 ml
- 4.4 rondbodemkolf van 100 ml
- 4.5 rotovaporisator
- 4.6 geïnduceerd centrifugebuisje van 10 ml met schroefkap en teflonafdichting
- 4.7 thermostatisch bad
- 4.8 gaschromatograaf (GC) uitgerust met een split/splitless of op-kolom injectiesysteem geschikt voor het gebruik van capillaire kolommen
- 4.9 analytische kolom : WCOT Fused Silica kolom CP Sil 5 CB, 50 m x 0,25 mm interne diameter, $df = 0,12 \mu m$
- 4.10 injectiespuit van 10 μl
- 4.11 gaschromatograaf-massaspectrometer (GC/MS) interface
- 4.12 lage resolutie massaspectrometer (LR-MS)

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 5.1 chloroform, methanol: pesticide-kwaliteit
- 5.2 natriumthiosulfaat ($Na_2S_2O_3$): korrels (pro analyse)
- 5.3 zwavelzuur (H_2SO_4): pro analyse
- 5.4 natriumfosfaat (Na_3PO_4): pro analyse
- 5.5 natriumhydroxyde (NaOH): pro analyse
- 5.6 standaard benzidine-oplossing ($\mu g/\mu l$):
 - kan bereid worden door zuiver standaard-materiaal op te lossen in methanol of als gecertificeerde oplossing aangekocht worden

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 Extractie- en zuiveringsprocedure

6.1.1 Watermonsters

De volledige inhoud van de fles wordt in een 2 l scheidtrechter overgebracht. De fles wordt grondig nagespoeld met $CHCl_3$ en daarna bij het extract gevoegd. De pH van het monster wordt met een oplossing van natriumhydroxyde of zwavelzuur tussen 6,5 en 7,5 gebracht. Het watermonster wordt driemaal geëxtraheerd: de eerste maal met 100 ml $CHCl_3$, de twee andere malen met 50 ml $CHCl_3$. De organische fracties worden verzameld en driemaal met 25 ml H_2SO_4 1N geëxtraheerd. De zuurextracten worden verzameld in een 250 ml beker. Al roerend wordt hieraan 5 ml Na_3PO_4 -oplossing 0.4M toegevoegd.

De pH van de oplossing wordt daarna, onder krachtig roeren en toevoeging van NaOH 5N tussen de 6 en 7 gebracht.

De geneutraliseerde oplossing wordt kwantitatief in een 250 ml scheidtrechter overgebracht en driemaal met 25 ml $CHCl_3$ geëxtraheerd. De extracten worden verzameld in een tweede 250 ml scheidtrechter en gewassen met 25 ml water.

De organische fractie wordt vervolgens overgebracht in een 100 ml rondbodemkolf en na toevoeging van 20 ml methanol geconcentreerd in een rotovaporisator tot 5 ml bij verminderde druk en 30°C.

Het concentraat wordt kwantitatief overgebracht in een geïnduceerd buisje, waarbij de kolf enkele malen grondig met 2 ml methanol gespoeld wordt. Verder kan het extract onder een stikstofgasstroom bij 30°C tot 1 ml ingedampt worden.

6.1.2 Vaste monsters

Vaste monsters (25 g) worden gedurende 24 h in een soxhlet-apparaat geëxtraheerd met CHCl_3 . Vervolgens wordt de procedure verder toegepast vanaf de H_2SO_4 -behandeling zoals hierboven beschreven.

6.2 Analysetechniek (GC/MS)

De monsterextracten worden in de gaschromatograaf geïnjecteerd bij 275°C. De chromatografische scheiding van de componenten wordt uitgevoerd op een capillaire kolom met chemisch gebonden fase en een temperatuursprogramma tussen 120°C en 275°C.

De detectie of de analyse van de componenten wordt uitgevoerd op een LR-MS.

Het kwantificeren van de componenten wordt uitgevoerd in de SIM-mode.

6.3 Identificatie

Verskillende parameters komen in aanmerking voor de identificatie van benzidinen in het afvalmonster.

Retentietijd

De retentietijd (RT) van de benzidinen is een belangrijke parameter die tot identificatie kan bijdragen.

Scan-modes

Indien in voldoende mate benzidinen aanwezig zijn, is het mogelijk in de lineaire scan-mode identificatie uit te voeren aan de hand van de opgenomen spectra van de standaardcomponenten. Indien echter weinig organisch materiaal aanwezig is kan de gevoeligheid van de meting verbeterd worden door gebruik te maken van de quasi-scan mode waarbij een vrij groot aantal specifieke massa's per component gevolgd worden.

m/e-ratio's

Zeer belangrijk voor de identificatie van benzidinen in de SIM-mode is de verhouding tussen de intensiteiten van de gemeten specifieke m/e-waarden bij eenzelfde retentietijd. Bij de identificatie van benzidinen in de SIM-mode zal de verhouding van de gemeten intensiteiten bij eenzelfde retentietijd niet meer dan 10 % afwijken van de verhoudingen opgemeten bij de kalibratie van de massaspectrometer en het signaal van de pieken moet groter zijn dan 2,5 maal het ruisniveau.

Tabel 1 geeft een overzicht van de specifieke ionen voor elke benzidine-component met de daarbij behorende relatieve intensiteiten.

Tabel 1: relatieve intensiteiten van de gemeten m/e-waarden voor elke benzidine-component

piek nr.	benzidine-component	m/e	relatieve intensiteit
1	Benzidine	92	8,9
		156	6,4
		167	5,1
		183	11,6
		184	100,0
		185	13,9
2	o-Tolidine	106	9,0
		180	6,2
		196	8,2
		211	15,0
		212	100,0
		213	16,3
3	3,3'-Dichloorbenzidine	126	6,7
		154	6,7
		252	100,0
		253	17,0
		254	65,7
		256	11,2

7 CONTROLE-ANALYSE

7.1 Kalibratie van de massaspectrometer

De kalibratie van de MS ten behoeve van het kwantitatief meten is gesteund op de bepaling van een responsfactor (RF) van elke benzidine-component.

De kalibratie van de massaspectrometer wordt uitgevoerd in de SIM-mode zoals beschreven onder 6.3 bij de m/e-waarden gegeven in onderstaande tabel 2.

Tabel 2: m/e-waarden voor de kalibratie van de massaspectrometer

benzidine-component	m/e
Benzidine	184
o-Tolidine	212
3,3'-Dichloorbenzidine	252

Gebruik makend van de retentietijden, de samenstelling van het benzidine-standaardmengsel en de overeenkomstige piekoppervlakken kan de responsfactor (RF) per component als volgt berekend worden :

$$RF(\text{benzidine - component}) = \frac{As}{C}$$

met

RF = responsfactor

As = piekoppervlak van kalibratiemassa of massa-range voor benzidine-component in standaardmengsel

C = concentratie van benzidine-component standaardmengsel in µg/ml

7.2 Recuperatierendement van de methode

Bij het uitvoeren van kwantitatieve bepalingen is het belangrijk het recuperatierendement van de methode te kennen voor elke component aanwezig in het standaardmengsel. Aan elke analyst wordt het derhalve aanbevolen deze rendementen nauwkeurig te bepalen onder eigen werkomstandigheden en voor de aanwezige monstermatrix.

8 BEREKENINGEN

Voor de kwantitatieve bepaling van de verschillende geïdentificeerde benzidinen in het monster wordt gebruik gemaakt van de uitwendige standaard-methode waarbij de overeenkomstige piekoppervlakken gecorrigeerd worden door een absolute responsfactor (RF) om de absolute concentratie per benzidine-component te berekenen.

$$\text{conc. benzidine - component, } \mu\text{g/l} = K \cdot \frac{1}{RF} \cdot \frac{Am}{V} \cdot \frac{Ws}{W} \cdot \frac{1}{R}$$

met

K = verdunningsfactor (= 1 wanneer het extract tot 1 ml werd geconcentreerd)

RF = absolute responsfactor voor de benzidine-component

Am = piekoppervlak van de specifieke massa of massa-range voor de geïdentificeerde benzidine-component in het monsterextract

V = volume van het geëxtraheerde water in liter

Ws = geïnjecteerd volume van het standaardmengsel in µl

W = geïnjecteerd volume van het monsterextract in µl

R = recuperatierendement van de methode voor de specifieke benzidine-component

9 METHODEKARAKTERISTIEKEN

Nauwkeurigheid

De nauwkeurigheid van de methode, rekening houdend met alle analytische parameters, wordt geraamd op ± 10 à 15 %.

Detectielimiet

De detectielimiet van de methode (MDL) is begrepen tussen 1 en 25 $\mu\text{g/l}$ of 0,1 à 1 $\mu\text{g/g}$ oorspronkelijk monster, afhankelijk van de component, de organische matrix van het monster, de hoeveelheid geëxtraheerd monster, de ingestelde gevoeligheid van de LR-MS en de aanwezige interferenties.

10 VEILIGHEID

De scheikundige produkten die bij deze analysemethode gebruikt worden, zijn ondergebracht bij de potentieel giftige en kankerverwekkende stoffen. Dit maakt het noodzakelijk de nodige maatregelen in het laboratorium te voorzien en toe te passen om blootstelling aan of contact met deze produkten tot een minimum te herleiden.

De behandeling van deze produkten en de voorbereiding van standaard-oplossingen worden in een geventileerde kast uitgevoerd.

11 REFERENTIE

- Bepaling van benzidinen, methode SCK 2011, 21 februari 1985, S84/43/L2544/JVds/ldj/337