

~~~~~  
***Bepaling van polycyclische aromatische  
koolwaterstoffen in water***  
~~~~~

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED.....	3
2	PRINCIPE.....	3
2.1	EXTRACTIE	3
2.2	ZUIVERING.....	3
2.3	IDENTIFICATIE EN KWANTIFICERING VAN DE PAKS.....	3
3	OPMERKINGEN.....	4
4	APPARATUUR EN MATERIAAL.....	5
4.1	APPARATUUR.....	5
4.2	MATERIAAL.....	5
5	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN.....	6
5.1	REAGENTIA.....	6
5.2	OPLOSSINGEN GC/MS.....	7
5.3	OPLOSSINGEN HPLC.....	8
6	PROCEDURE.....	8
6.1	EXTRACTIE	8
6.2	ZUIVERING EXTRACT	9
6.3	GC-MS ANALYSE	11
6.4	HPLC-ANALYSE	12
7	BEREKENING.....	14
7.1	EXTERNE KALIBRATIE (HPLC-METHODE)	14
7.2	INTERNE KALIBRATIE (GC/MS).....	15
8	KWALITEITSCONTROLE.....	16
8.1	RESPONSLINEARITEIT	16
8.2	CHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING	16
8.3	MINIMUM DETECTEERBARE HOEVEELHEDEN (MDH)	17
8.4	RESPONSFACTOREN EN RELATIEVE RESPONSFACTOREN	17
8.5	BLANCO.....	17
8.6	CONTROLEMONSTER.....	17
8.7	RECUPERATIERENDEMENT VAN DE INTERNE STANDAARDEN (GC/MS)	17
8.8	TERUGVINDING VAN DE SURROGAAT (HPLC)	18
8.9	VOORBEELD VAN ANALYSEGANGL.....	18
9	REFERENTIES.....	18
	BIJLAGE 1: TYPISCHE GC-MS WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN PAKS.....	20
	BIJLAGE 2: TYPISCHE HPLC WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN PAKS.....	21
	BIJLAGE 3: TOTAAL IONEN CHROMATOGRAM VOOR EEN PAK KALIBRATIE-OPLOSSING - EERSTE DEEL.....	22
	BIJLAGE 4: HPLC FLUORESCENTIECHROMATOGRAM VOOR EEN PAK KALIBRATIE-OPLOSSING.....	24

1 TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure beschrijft een analysemethode voor de bepaling van polyaromatische koolwaterstoffen (PAKs) in oppervlaktewater, grondwater, drinkwater en afvalwater en is gericht op de kwantificering van de 16 zgn. "EPA"-PAK:

Tabel 1 Overzicht van de te analyseren PAKs

naftaleen
 acenaftyleen
 acenaften
 fluoreen
 fenantreen
 anthraceen
 fluorantheen
 pyreen
 benz(a)anthraceen
 chryseen
 benzo(b)fluorantheen
 benzo(k)fluorantheen
 benzo(a)pyreen
 indeno(1,2,3,cd)pyreen
 dibenzo(a,h)anthraceen
 benzo(g,h,i)peryleen

2 PRINCIPE

2.1 Extractie

De waterstalen worden geëxtraheerd met dichloormethaan of hexaan.

De controle van de extractierendementen wordt uitgevoerd door voorafgaande additie van deuterium gemerkte PAKs in geval van GC-MS detectie of van een surrogaatverbinding, bv. 6-methylchryseen, in geval van HPLC detectie.

2.2 Zuivering

Extracten van waterstalen worden in regel niet gezuiverd, maar indien nodig wordt een zuiveringsprocedure toegepast om interferenties te elimineren. Deze bestaat uit adsorptiechromatografie over silica en/of alumina.

2.3 Identificatie en kwantificering van de PAKs

PAKs kunnen zowel gaschromatografisch als vloeistofchromatografisch bepaald worden. In geval van gaschromatografische analyse gebeurt de detectie met een massaspectrometer, in geval van vloeistofchromatografie in combinatie met een fluorescentie- en UV-detector.

2.3.1 GC-MS bepaling

De eigenlijke meting vindt plaats m.b.v. een gaschromatograaf (GC), uitgerust met een massaspectrometrische detector (MS), volgens de 'selected ion monitoring' (SIM) methode. Alternatief kan, mits voldoende detecteerbaarheid en mits aanpassing van de hieronder gegeven concentraties van kalibratie- en doperingsstandaarden, in "full scan" modus gewerkt worden uitgaande van geëxtraheerde ionchromatogrammen.

De identificatie van een te bepalen polyaromaat steunt op de vergelijking van de retentietijd in het specifieke ionchromatogram van staal en kalibratieoplossing. De kwantificering verloopt volgens de interne standaard methode, waarbij gekende hoeveelheden van deuterium-gemerkte componenten als interne standaarden vóór de extractie aan het staal worden toegevoegd. Minstens 5 deuterium-gemerkte polyaromaten worden als interne standaarden gebruikt. Voorbeelden zijn:

D8-naftaleen, D10-anthraceen, D10-fluorantheen, D10-pyreen, D12-benzo(b)fluorantheen, D12-benzo(k)fluorantheen, D12-benzo(a)pyreen, D12-indeno(1,2,3,cd)-pyreen en D12-benzo(g,h,i)peryleen. D8-naftaleen is in de gekozen reeks inwendige standaarden steeds aanwezig.

Gehalten worden berekend gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van de meest karakteristieke ionen voor de PAKs en de interne standaarden.

De kwantificering volgens de interne standaard methode laat toe automatisch en accuraat de verliezen in rekening te brengen die in de extractie-, zuiverings-, indamp- en injectiestap van de analyse kunnen optreden. Door toevoegen van een zgn. recoverystandaard, bv. D12-chryseen of een andere niet-coëluerende verbinding, juist voor de instrumentele meting kan men de recuperatierendementen van de afzonderlijke interne standaarden bepalen.

2.3.2 HPLC bepaling

De vloeistofchromatograaf (HPLC) is uitgerust met een fluorescentie detector (FD) en een UV of een diode array detector (DAD). De identificatie van een te bepalen polyaromaat steunt op de vergelijking van zijn retentietijd in het staal en in de kalibratie-oplossing. Het simultaan gebruik van beide detectoren laat toe om interferentie uit te sluiten. Kwantificatie gebeurt volgens de externe standaard methode.

Controle van het goede verloop van de analyse gebeurt aan de hand van de terugvinding van een surrogaatverbinding, bv. 6-methylchryseen.

Aangezien geen inwendige standaarden gebruikt worden dient i.f.v. de van toepassing zijnde matrix gecorrigeerd te worden voor de extractierendementen bekomen op basis van validatiegegevens.

3 OPMERKINGEN

- Voor bewaringscondities en –termijnen wordt verwezen naar de algemene procedure voor watermonsters WAC/IV/A/010.
- Grondwaterstalen (gewoonlijk bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden onmiddellijk na aankomst gefiltreerd over een geschikte glasvezelfilter met specificaties zoals vermeld onder punt apparatuur en materiaal. Alle andere types waterstalen worden in de regel niet vooraf gefiltreerd.
- Waterstalen worden binnen de 7 dagen geëxtraheerd. De extracten zijn gedurende 1 maand houdbaar in de koelkast.
- De scheikundige producten die bij deze analysemethode gebruikt worden, zijn ondergebracht bij de potentieel giftige en kankerverwekkende stoffen. Dit maakt het noodzakelijk de voorziene maatregelen in het laboratorium toe te passen om blootstelling aan of contact met deze producten tot een minimum te herleiden.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

4.1 Apparatuur

- 4.1.1. Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
- 4.1.2. Bovenweiger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- 4.1.3. Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 4.1.4. GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadropool-type en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogramma. De GC is eventueel uitgerust met een PTV of on-column groot-volume injector
- 4.1.5. HPLC uitgerust met gradiënt pomp, ontgassingseenheid, kolomthermostatisatie, fluorescentiedetector, variabele UV-detector of diode array detector, autosampler en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogramma

4.2 Materiaal

- 4.2.1. Voor de vloeistof-vloeistofextractie: scheidtrechter (500-1000 ml)
- 4.2.2. Injectiespuiten van 50-250 µl voor het doperen met resp. interne standaard, 'recovery' standaard en surrogaat
- 4.2.3. Voor de eventuele zuivering: glazen chromatografische kolommen, i.d. 10-15 mm, met gefritteerde basis en teflonkraan; de kolommen zijn voorzien van een slijpstuk bovenaan waarop een broomtrechter geplaatst kan worden
- 4.2.4. Erlenmeyers (100 en 250 ml)
- 4.2.5. Maatcilinder (100 ml)
- 4.2.6. 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 50mg/l microkristallijn cellulose (TLC grade of equivalent), waarbij de weerhouden hoeveelheid gesuspendeerde deeltjes tussen 90 en 110% moet gelegen zijn
- 4.2.7. Fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase (5% fenylmethylpolysiloxaan, DB5-MS of gelijkwaardig), bv. 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm

Opmerking: op een apolaire fase coëlueren benzo(b)fluorantheen en benzo(j)fluorantheen enerzijds en dibenzo(a,c)anthraceen en dibenzo(a,h)anthraceen anderzijds. Alternatief kan een semipolaire kolom gebruikt worden (bv. een 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm DB-1701 of gelijkwaardig). In dat geval coëluert benzo(j)fluorantheen met benzo(k)fluorantheen, wat een interferentievrije bepaling van benzo(b)fluorantheen toelaat. Op basis van de simultane analyse van reële stalen op beide kolommen kan afgeleid worden dat benzo(j)fluorantheen steeds aanwezig is in een concentratie die ongeveer 40% bedraagt van de concentratie van benzo(b)fluorantheen.

- 4.2.8. Een reversed phase C18 kolom, van 100 tot 250 mm lengte, met een diameter van 2 tot 4.6 mm en een deeltjesgrootte van 3 tot 10 µm.
- 4.2.9. Injectiespuit van 10 µl

4.2.10. Glazen amberkleurige monsterflesjes (penicillineflesjes) van 5 ml

4.2.11. Pasteurpipetten

4.2.12. Puntbuis

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 Reagentia

5.1.1. n-hexaan: residuanalyse

5.1.2. Petroleumether (40-60°C): residuanalyse

5.1.3. Iso-hexaan: residuanalyse

5.1.4. Aceton: residuanalyse

5.1.5. Dichloormethaan: residuanalyse

5.1.6. n-nonaan : pro synthese of gelijkwaardig

5.1.7. Acetonitrile: gradiënt

5.1.8. Natriumsulfaat (Na_2SO_4): granulair en watervrij; een geopende verpakking wordt uitgetogen in een schaal en bewaard bij 130°C in een droogoven

5.1.9. Silica, geactiveerd: een laag van ongeveer 25 mm silica (70-230 mesh) wordt in een schaal verwarmd gedurende minstens 16u op 130°C en vervolgens bewaard bij 130°C in de droogoven; voor gebruik laat men de schaal in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen

5.1.10. Silicagel 3 % H_2O : voeg aan geactiveerde silica in een erlenmeyer gravimetrisch 3 % H_2O toe, sluit de erlenmeyer af en schud het geheel tot alle agglomeraten verdwenen zijn; de aldus bereide silica kan een week bewaard worden

5.1.11. Alumina, geactiveerd, basisch of neutraal, 70-230 mesh: aluminiumoxide wordt geactiveerd door verhitten gedurende minstens 15 u bij 450°C en wordt nadien bewaard bij 130°C in een droogoven; de bewaartermijn is op max. 1 maand gesteld; voor gebruik laat men de schaal in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen

5.1.12. Koperplaatjes

5.1.13. Tetrabutylammoniumwaterstofsulfietreagens (TBA-reagens): voeg 5 g natriumsulfiet toe aan een 0.1M oplossing van tetrabutylammoniumwaterstofsulfiet in isopropanol

5.1.15. Salpeterzuur, HNO_3 : 1N oplossing

5.1.15. Iso-propanol

5.1.16. Natriumsulfiet, Na_2SO_3

5.2 Oplossingen GC/MS

Opmerking:

De hieronder beschreven werkwijze vertrekt van vaste producten waarbij de hoofdstandaarden zelf aangemaakt worden. In de handel zijn echter reeds bereide en gecertificeerde PAK mengsels verkrijgbaar.

5.2.1. Hoofdstandaardoplossingen natieve PAKs:

Van elk van de te analyseren PAKs wordt, uitgaande van zuiver (min. 98%) vast product gravimetrisch een stockoplossing van ongeveer 100 µg/g in n-nonaan (5.1.6.) of een ander alkaan bereid

5.2.2. Hoofdstandaardoplossingen interne standaarden:

Van minstens 5 isotoopgemerkte PAKs, gekozen over het volledige retentietijdsgebied, wordt uitgaande van zuiver (min.98%) vast product, gravimetrisch een stockoplossing van ongeveer 100 µg/g in n-nonaan bereid. Voorbeelden zijn:

D8-naftaleen
D10-anthraceen
D10-fluorantheen
D10-pyreen
D12-benzo(b)fluorantheen
D12-benzo(k)fluorantheen
D12-benzo(a)pyreen
D12-indeno(1,2,3,cd)pyreen
D12-benzo(g,h,i)peryleen

5.2.3. Hoofdstandaardoplossing recoverystandaard:

Van D12-chryseen of een andere isotoop gemerkte PAK wordt op gravimetrische wijze rechtstreeks een werkoplossing van ongeveer 100 µg/g in n-nonaan of een ander alkaan bereid; en dit uitgaande van zuiver vast product (zuiverheid moet min.98% bedragen).

Opmerkingen:

- Wanneer de oplosbaarheid te laag is wordt een minimale hoeveelheid aceton (5.1.4.) toegevoegd

- Met betrekking tot de houdbaarheid van de standaarden is nonaan (5.1.6.) als solvent de beste keuze. In geval van groot-volume injectie kan het gebruik van meer vluchtige alkanen (bvb. hexaan) aangewezen zijn.

5.2.4. Werkoplossing interne standaard (IS doperingsstandaard):

door menging van de individuele hoofdstandaardoplossingen van de deuteriumgemerkte PAKs wordt gravimetrisch een interne standaard-werkoplossing bereid met een concentratie van ongeveer 10 µg/g van elk van de interne standaarden in n-nonaan (5.1.6.) of een ander alkaan.

5.2.5. Standaard werkoplossingen voor controle van de responslineariteit:

uitgaande van de hoofdstandaardoplossingen van de natieve en deuteriumgemerkte PAKs worden gravimetrisch minstens 5 standaard werkoplossingen in n-nonaan (5.1.6.) of een

ander alkaan bereid die de te analyseren PAKs bevatten in oplopende concentraties van bijvoorbeeld 0.02 tot 5 µg/g en de interne standaarden in een constante concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/g.

5.2.6. Standaard werkoplossing voor GC-MS kalibratie:

voor de bepaling van de relatieve responsfactoren wordt gebruik gemaakt van een standaard-werkoplossing in n-nonaan (5.1.6.) of een ander alkaan die de te analyseren PAKs en de deuterium-gemerkte PAKs (interne standaarden en recovery-standaard) bevat in een concentratie van ongeveer 1 µg/g.

5.3 Oplossingen HPLC

5.3.1. Hoofdstandaardoplossingen PAKs:

Van elk van de te analyseren PAKs wordt, uitgaande van zuiver (min. 98%) vast product een stockoplossing van ongeveer 100 µg/ml in acetonitrile (5.1.7.) bereid.

5.3.2. Hoofdstandaardoplossingen surrogaat:

Van 6-methylchryseen of een andere niet-coëluerende en niet in de te analyseren monsters voorkomende PAK wordt, uitgaande van zuiver (min. 98%) vast product, een stockoplossing van ongeveer 100 µg/ml in acetonitrile (5.1.7.) bereid.

5.3.3. Standaard werkoplossingen voor kalibratie:

Uitgaande van de hoofdstandaardoplossingen van de PAKs worden minstens 5 standaard-werkoplossingen in acetonitrile bereid die de te analyseren PAKs bevatten in concentraties van bijvoorbeeld 2 tot 1000 ng/ml, waarbij de laagste concentraties bedoeld zijn voor het opstellen van de fluorescentiekalibratierechte en de hoogste voor het opstellen van de UV-kalibratierechte (inzonderheid deze van acenaftyleen).

5.3.4. Werkoplossingen voor de controle van de kalibratierechte:

Uitgaande van de hoofdstandaardoplossingen van de PAKs wordt een standaard-werkoplossing in acetonitrile (5.1.7.) bereid die de te analyseren PAKs bevat in een concentratie overeenkomend met het middengebied van de lineaire reeks.

6 PROCEDURE

6.1 Extractie

- Weeg de monsterfles tot op 0.1 g nauwkeurig.
- Breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in een geschikte scheidtrechter (4.2.1.).
- In geval van GC-MS analyse: breng ongeveer 1 ml aceton (5.1.4.) in een penicillineflesje (4.2.10.); voeg m.b.v. een injectiespuit (4.2.2.) een gekende hoeveelheid van de interne standaard-werkoplossing (5.2.4.) toe aan de aceton; breng m.b.v. een pasteurpipet (4.2.11.) de bovenstaande acetonoplossing met interne standaarden over naar de scheidtrechter; spoel het penicillineflesje enkele malen na met dichloromethaan (5.1.5.) of hexaan (5.1.1.) (of een ander alkaan) en breng de spoelvoelstof over naar de scheidtrechter (4.2.1.).
- In geval van HPLC analyse: voeg m.b.v. een injectiespuit (4.2.2.) een gekende hoeveelheid van de surrogaat werkoplossing (5.3.2.) toe.

- Spoel de monsterfles na met dichloromethaan (5.1.5.) of hexaan (5.1.1.) en breng de spoelvloeistof over naar de scheidtrechter (4.2.1.).

Opmerking:

Dient op het waterstaal ook een minerale olie bepaling te gebeuren dan wordt als extractievloeistof hexaan (of een ander alkaan) gebruikt; ook wordt het waterstaal in dat geval aangezuurd tot pH 2 en wordt aan het waterstaal de nodige hoeveelheid zout toegevoegd conform de procedure voor minerale olie.

- Schud het geheel krachtig gedurende ongeveer 3 min.
- Laat de organische fase af over een filter gevuld met Na₂SO₄ (5.1.8.).
- Herneem de spoel- en extractiestap tweemaal.
- Damp de verzamelde extracten in onder een stikstofstroom tot een eindvolume van ongeveer 2-3 ml.
- Indien geen opzuivering toegepast wordt dan wordt het extract verder behandeld volgens 6.3 (voor GC/MS) of 6.4 (voor HPLC).
- Voor sterk verontreinigde extracten kan een zuivering over silica, alumina of een combinatie van silica en alumina uitgevoerd worden. Het extract wordt dan verder behandeld volgens 6.2. Extracten die specifiek met zwavel verontreinigd zijn kunnen zonodig verder gezuiverd worden door behandeling met koper (6.2.4.) of tetrabutylammoniumwaterstofsulfiet (TBA reagens) (6.2.5.).
- Weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud.

6.2 Zuivering extract

6.2.1 Werkwijze voor zuivering over silica

- Vul een chromatografische kolom (4.2.3.) met 5 g silicagel/3% H₂O (5.1.10.) en daarboven 2 cm Na₂SO₄ (5.1.8.).
- Breng het ingedampt monsterextract boven op de kolom en elueer met 60 ml n-hexaan/dichloormethaan (80/20 v/v), waarmee tegelijkertijd het oorspronkelijk recipiënt wordt nagespoeld.
- Damp het eluaat onder stikstofstroom in tot 2 à 3 ml en behandel verder volgens 6.3 (GC/MS) of 6.4 (HPLC).

6.2.2 Werkwijze voor zuivering over alumina

- Vul een chromatografische kolom (4.2.3.) met 5 g geactiveerde alumina (5.1.11.) en daarboven 2 cm Na₂SO₄ (5.1.8.).
- Breng het ingedampt monsterextract boven op de kolom en elueer met 50 ml -hexaan/dichloormethaan (50/50 v/v), waarmee tegelijkertijd het oorspronkelijk recipiënt wordt nagespoeld.
- Damp het eluaat onder stikstofstroom in tot een volume van 2-3 ml en behandel verder volgens 6.3 (GC/MS) of 6.4 (HPLC).

Opmerkingen:

- De kolom is mits tussentijds reinigen met dichloromethaan (5.1.5.) en hexaan (5.1.1.) herbruikbaar voor een volgend staal;
- De activiteit van silica is afhankelijk van het lot, de luchtvochtigheid en de activeringstemperatuur; aanpassing van de elutievolume's kan nodig zijn; er wordt best vooraf uitgetest in welke mate de alifatische koolwaterstoffen nog voorkomen in de aromatische fractie en omgekeerd en of de aromatische koolwaterstoffen kwantitatief teruggevonden worden.

6.2.3 Werkwijze voor zuivering over gecombineerde silica/alumina-kolom

- Vul een chromatografische kolom (4.2.3.) met achtereenvolgens 1 g geactiveerde alumina (5.1.11.), 3 g geactiveerde silica (5.1.9.) en 2 cm Na₂SO₄ (5.1.8.).
- Spoel de kolom met 20 ml n-hexaan.
- Breng het ingedampt monsterextract boven op de kolom en elueer met 12 ml n-hexaan, waarmee tegelijkertijd het oorspronkelijk recipiënt wordt nagespoeld; deze prefractie bevat eventueel aanwezige alkanen en mag verwijderd worden.
- Elueer de PAK met 20 ml n-hexaan/dichloormethaan (50/50 v/v).
- Damp het eluaat onder stikstofstroom in tot 2 à 3 ml en behandel verder volgens 6.3 (GC/MS) of 6.4 (HPLC).

6.2.4 Werkwijze voor zuivering met koper (enkel indien resterende zwavelinterferentie)

- Breng een 20-tal dunne koperplaatjes (5.1.12.) van ongeveer 1 à 2 cm² in de nodige hoeveelheid 1N HNO₃ (5.1.14.) voor activatie gedurende enkele minuten; spoel de plaatjes grondig met aceton (5.1.4.) en laat drogen aan de lucht.
- Voeg aan het tot 5-10 ml ingedampt extract geleidelijk koperplaatjes (5.1.12.) toe tot geen onmiddellijke zwartverkleuring door reactie met het aanwezige zwavel meer optreedt.
- Breng aansluitend het extract over naar een amberkleurig monsterflesje (4.2.10.) voor verdere behandeling volgens 6.3 of 6.4 (langdurig contact met koper dient vermeden te worden).

6.2.5 Werkwijze voor zuivering met TBA-reagens (enkel indien resterende zwavelinterferentie)

- Voeg aan het ingedampte extract achtereenvolgens 1 ml isopropanol (5.1.15.), 1 ml TBA reagens (5.1.13.) en een spatelpunt natriumsulfiet (5.1.16) toe.
- Sluit af en schud gedurende 1 min.
- Voeg 5 ml water toe en schud gedurende 2 min.
- Scheid de organische fase af en was de waterfase tweemaal na met 1 ml hexaan (5.1.1.).
- Voeg de hexaanfasen samen en droog met Na₂SO₄ (5.1.8.).
- Breng het gedroogde extract over naar een amberkleurig monsterflesje (4.2.10.) voor verdere behandeling volgens 6.3 of 6.4

6.3 GC-MS analyse

6.3.1 Werkwijze voor finale concentrering en toevoeging van de recoverystandaard

- Breng het ingedampt monsterextract over in een amberkleurig monsterflesje (4.2.10.), waarin eventueel vooraf 1 ml n-nonaan (5.1.6.) als 'keeper' is gebracht.
- Spoel de wanden van de erlenmeyer tenminste driemaal na met enkele ml dichloormethaan (5.1.5.), en breng deze eveneens over.
- Damp het extract in naar een eindvolume van ongeveer 1 ml (of een ander geschikt volume in geval van groot-volume injectie).
- Voeg m.b.v. een injectiespuit (4.2.2.) een gekende hoeveelheid van de recoverystandaard-werkoplossing (5.2.3.) toe aan het eindextract.

6.3.2 Meting

Van de preparaten en van de standaard-werkoplossing voor GC/MS kalibratie (5.2.6.) wordt standaard 1 µl splitless of on-column in de gaschromatograaf (4.1.4.) geïnjecteerd. Alternatief kan groot-volume injectie (bijvoorbeeld met een PTV injector of een on-column injector met solvent vapour exit) toegepast worden. De chromatografische scheiding van de componenten wordt normaal uitgevoerd op een apolaire capillaire kolom met chemisch gebonden fase (4.2.7.). De detectie van de componenten gebeurt met een lage resolutie massaspectrometer (4.1.4.) in de SIM-mode, met selectie en registratie van het moleculair ion van de te analyseren PAK's, de deuteriumgemerkte interne standaarden en de recoverystandaard. Alternatief kan gebruik gemaakt worden van de full scan modus, met extractie van de voor de PAK's specifieke ionchromatogrammen. Gezien de verminderde detecteerbaarheid in full scan modus dienen de concentraties van de kalibratiestandaard en de doperingshoeveelheden van interne standaarden en recoverystandaard verhoogd te worden.

De massaspectrometer wordt ingesteld naar maximale respons voor de ionen 131, 219, 264 en 414 m.b.v. het referentiegas PFTBA.

De typische GC-MS werkvoorwaarden voor PAK-analyse zijn weergegeven in bijlage 1.

Een typisch totaal ionchromatogram van de kalibratie-oplossing is weergegeven in bijlage 3.

Opmerking:

Wordt een signaal waargenomen groter dan de hoogste concentratie van het lineaire bereik (zie hieronder) dan dient de oplossing verdund te worden.

6.3.3 Kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende PAK's gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt elke component gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde deuteriumgemerkte PAK die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd.

Minstens in het begin en aan het einde van elke analysereeks, en verder om een welbepaald aantal preparaten (bv. 5), wordt de kalibratieoplossing (5.2.5.) geïnjecteerd. Van elke PAK, natief of gemerkt, wordt de piekoppervlakte in het ionchromatogram van het karakteristieke ion gemeten, en dit zowel voor de kalibratieoplossingen als voor de monsterpreparaten. Relatieve responsfactoren voor elke te bepalen component worden vervolgens bepaald uit de

verhouding van de oppervlakten van de natieve componenten en de overeenkomstige interne standaarden (zie verder). Voor de interne standaarden worden relatieve responsfactoren bepaald t.o.v. de recoverystandaard.

6.3.4 Identificatie

De aanwezigheid van natieve PAKs 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 (helft 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 karakteristieke m/z en de signaal/ruis verhouding, en verder op de elutievolgorde zoals experimenteel vastgelegd (zie bijlage 3).

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

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

6.4 HPLC-analyse

6.4.1 Werkwijze voor finale concentrering

- Breng het ingedampte extract over naar een puntbuis (4.2.12.).
- Voeg aan het ingedampte extract 1 ml acetonitrile (5.1.7.) toe.
- Damp in tot ongeveer 0.8 ml.
- Leng aan met acetonitrile (5.1.7.) tot een welbepaald volume, bvb. 1 ml

6.4.2 Meting

Van de preparaten en van de standaard-werkoplossingen voor HPLC kalibratie wordt een welbepaalde hoeveelheid, bv. 20 µl, in de vloeistofchromatograaf (4.1.5.) geïnjecteerd. De chromatografische scheiding van de componenten wordt uitgevoerd op een C18 kolom (4.2.8.). De detectie van de componenten gebeurt met een fluorescentiedetector gecombineerd met een UV-detector.

Opmerkingen:

- wordt een signaal waargenomen groter dan de hoogste concentratie van de kalibratiereeks of van het lineaire bereik (zie hieronder) dan dient de oplossing verdund te worden;
- voor acenaftyleen wordt geen fluorescentiesignaal waargenomen, zodat de bepaling van deze verbinding aan de hand van het UV absorptie chromatogram dient te gebeuren;

De typische HPLC werkvoorwaarden voor PAK-analyse zijn weergegeven in bijlage 2. Een typisch fluorescentiechromatogram van de kalibratie-oplossing is weergegeven in bijlage 4.

Opmerking

De optimale instelling van de fluorescentiedetector is sterk afhankelijk van het type toestel. De in bijlage weergegeven programmering is dan ook bij wijze van voorbeeld opgenomen.

6.4.3 Kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende PAKs gebeurt volgens de externe standaardmethode. Hierbij wordt elke te bepalen component gekwantificeerd aan de hand van een kalibratierechte.

Op regelmatige basis wordt een reeks kalibratieoplossingen (5.3.3.) in oplopende concentratie, bvb. van 2 tot 1000 ng/ml, geïnjecteerd. Van elke PAK worden de piekoppervlakten (of alternatief de piekhoogten) in de chromatogrammen van de verschillende kalibratieoplossingen gemeten. De piekoppervlakten (of –hoogten) worden voor elke te bepalen component uitgezet i.f.v. de concentratie. Uit de helling van de rechten worden resp. responsfactoren berekend op basis waarvan de gehalten bepaald worden (zie verder).

De kalibratierechten dienen niet bij elke analysereeks geconstrueerd te worden. Wel wordt aan de hand van een kalibratieoplossing uit het middengebied van de kalibratiereeks om een welbepaald aantal stalen, bv. 10, nagegaan of het bekomen signaal niet te sterk afwijkt van de te bekomen waarde. Een maximale afwijking van 10% t.o.v. de kalibratierechte is toegelaten. Is de afwijking groter dan dient de kalibratierechte opnieuw bepaald te worden.

6.4.4 Identificatie

De aanwezigheid van PAK's in de monsters wordt bevestigd op basis van de onderstaande gegevens:

- de retentietijd in monster (RT') t.o.v. kalibratie-oplossing (RT), waarbij een maximale afwijking van 0.2 min wordt toegestaan, vermeerderd met de waargenomen verschuiving voor de surrogaat;
- de simultane aanwezigheid van pieken in zowel het fluorescentiechromatogram als het UV chromatogram op de juiste retentietijden, voor zover het aanwezige concentratieniveau dit toelaat;
- in geval van onzuivere chromatogrammen dient de aanwezigheid van PAK's bevestigd te worden door een GC-MS analyse.

Gezien de hogere specificiteit van de fluorescentiedetector gebeurt, met uitzondering van acenaftyleen, de kwantificatie op basis van de piekoppervlakten of –hoogten bekomen in het fluorescentiechromatogram. Indien de bovenste lineaire grens voor de fluorescentiedetector overschreden is, wordt het extract verdund en opnieuw gemeten; eventueel kan gebruik gemaakt worden van de piekoppervlakten of –hoogten bekomen in het UV-chromatogram, op voorwaarde dat voldoende zuivere chromatogrammen bekomen worden.

7 BEREKENING

7.1 Externe kalibratie (HPLC-methode)

7.1.1 Responsfactoren

De externe standaardmethode is gebaseerd op de bepaling van een respons- of gevoeligheidsfactor (RF) van elke PAK verbinding. Gebruikmakend van de samenstelling van het kalibratiemengsel en de geïntegreerde piekoppervlakken van de respectievelijke PAK verbindingen worden de verschillende gevoeligheidsfactoren als volgt berekend (opmerking: alternatief kan men gebruik maken van piekhoogten):

$$RF_i = \frac{A_i}{C_i}$$

met

RF_i gevoeligheids- of responsfactor, in ml/μg
 A_i piekoppervlak van de PAK-verbinding in de kalibratiestandaard
 C_i concentratie van de PAK-verbinding in de kalibratiestandaard, in μg/ml

In de praktijk wordt gebruik gemaakt van een kalibratiereeks. Voor elke PAK verbinding worden de gemeten A_i-waarden uitgezet i.f.v. de C_i-waarden en na lineaire regressie wordt uit de helling van de rechte de RF_i-waarde bekomen. Alternatief kan met de gemiddelde RF_i gerekend worden.

7.1.2 Gehalten van de PAK verbindingen in de monsters

Het gehalte van de verbindingen wordt gegeven door de onderstaande formule:

$$C_i = \frac{A_i \cdot v \cdot f \cdot 1000}{RF_i \cdot V \cdot Q_i}$$

met:

C_i de concentratie van verbinding i, in μg/l
 A_i de piekoppervlakte voor verbinding i in het monster
 RF_i de responsfactor, in ml/μg
 v het volume van het eindextract, in ml
 V het volume van de in behandeling genomen hoeveelheid monster, in ml
 f de verdunningsfactor
 Q_i de gemiddelde terugvinding voor de verbinding i zoals waargenomen bij de validatie voor de van toepassing zijnde matrix en berekend als de verhouding van de gemeten waarde en de referentiewaarde

7.1.3 Aantoonbaarheidsgrenzen voor niet-gedetectedeerde PAK verbindingen 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-gedetectedeerde PAK 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 PAK verbindingen in het monster kan gebeuren aan de hand van de oppervlakte of hoogte van een chromatogrampiek die net van de ruis kan onderscheiden worden. Uitgaande van deze oppervlakte kan met bovenstaande formules de laagst aantoonbare concentratie berekend worden.

7.2 Interne kalibratie (GC/MS)

7.2.1 Relatieve responsfactoren

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de native PAK component en de overeenkomstige interne standaard in de resp. ionchromatogrammen van de kalibratie-oplossing wordt voor elke PAK-component de relatieve responsfactor (RRF) op de volgende wijze berekend:

$$RRF_i = \frac{A_i \cdot C_{IS}}{A_{IS} \cdot C_i}$$

met:

RRF_i	relatieve responsfactor van PAK-component i
A_i	piekoppervlakte van PAK-component i bij injectie van de kalibratie-oplossing
C_i	concentratie (in $\mu\text{g/ml}$) van PAK-component i in de kalibratie-oplossing
C_{IS}	concentratie (in $\mu\text{g/ml}$) van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing
A_{IS}	piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard bij injectie van de kalibratie-oplossing

Voor de bepaling van de PAK-gehalten in een monster wordt bij voorkeur gebruik gemaakt van de gemiddelde RRF-waarden bekomen uitgaande van twee injecties van de kalibratie-oplossing, nl. de laatste voorafgaand aan en de eerste volgend op het monsterpreparaat.

7.2.2 Gehalte van de PAK-componenten in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakten van de PAK-component en de overeenkomstige interne standaard in de resp. ionchromatogrammen van het monsterpreparaat en rekening houdend met de relatieve responsfactor van de beschouwde PAK-component, kan de concentratie van de PAK-component in het monster als volgt berekend worden :

$$C_i = \frac{A_i \cdot g_{IS} \cdot 1000}{A_{IS} \cdot \langle RRF_i \rangle \cdot V}$$

met:

C_i	gehalte van de PAK-component i in het monster, in $\mu\text{g/l}$
V	het volume aan extractie onderworpen waterstaal, in ml
A_i	piekoppervlakte van PAK-component i bij injectie van de kalibratie-oplossing
A_{IS}	piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard
g_{IS}	de hoeveelheid in bewerking genomen interne standaard, in μg
RRF_i	relatieve responsfactor van PAK-component i

7.2.3 Aantoonbaarheidsgrenzen voor niet-gedetecteerde PAK-componenten in het monster
De aantoonbaarheidsgrenzen worden bepaald uitgaande van de “peak-to-peak” ruishoogte in het retentietijdsgebied van de betreffende component en de piekhoogte van de interne standaard:

$$DG_i = \frac{3 \cdot RG_i \cdot g_{IS} \cdot 1000}{PH_{IS} \cdot \langle RRF_i \rangle \cdot V}$$

met:

DG _i	aantoonbaarheidsgrens van PAK-component i in het monster, in µg/l
g _{IS}	de hoeveelheid in bewerking genomen interne standaard, in µg
V	het volume aan extractie onderworpen waterstaal, in ml
RG _i	de ruishoogte in de omgeving van verbinding i
PH _{IS}	de piekhoogte van de interne standaard, overeenkomstig aan verbinding i
⟨RRF _i ⟩	de relatieve responsfactor van verbinding i

Opmerking:

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

8 KWALITEITSCONTROLE

8.1 Responslineariteit

Uitgaande van minimaal 5 standaardoplossingen met verschillende concentraties aan PAK-verbindingen, en in geval van interne kwantificatie met een vaste concentratie aan inwendige standaarden, en vertrekkend van tienmaal de minimum detecteerbare hoeveelheid (zie hieronder), wordt de lineariteit van de detectorrespons gecontroleerd.

In geval van externe kwantificatie wordt voor elke PAK verbinding de detectorrespons uitgezet i.f.v. de concentratie; de helling van de rechte is RRF_i.

In geval van interne kwantificatie wordt de verhouding van de detectorrespons van de PAK-component en de overeenkomstige inwendige standaard uitgezet i.f.v. de verhouding van de concentratie van de PAK-componenten en de inwendige standaard; de helling van de rechte is RRF_i.

Een controle van de lineariteit wordt uitgevoerd bij elke ernstige instrumentele ingreep.

8.2 Chromatografische scheiding

In geval van GC/MS analyse wordt de kolomkwaliteit geverifieerd aan de hand van de scheiding van het kritische paar benzo(b)fluorantheen en benzo(k)fluorantheen in het chromatogram van de kalibratieoplossing. Het gaschromatografisch scheidingspercentage (hoogte vallei / hoogte hoogste piek) dient, bij gebruik van een 30 m apolaire kolom, kleiner te zijn dan 60 % (beide componenten dienen in ongeveer gelijke concentraties aanwezig te zijn in het kalibratiemengsel).

In geval van HPLC-analyse kan de kolomkwaliteit geverifieerd worden aan de hand van de scheiding van bv. het kritische paar acenafteen en fluoreen in het fluorescentiechromatogram van de kalibratieoplossing. Het chromatografisch scheidingspercentage (hoogte vallei / hoogte hoogste piek) dient kleiner te zijn dan 20 %.

8.3 Minimum detecteerbare hoeveelheden (MDH)

De minimum detecteerbare hoeveelheid is een maat voor de gevoeligheid van het apparaat. Aan de hand van de signaal-ruisverhouding geregistreerd voor de PAK verbindingen in het chromatogram van de kalibratiestandaardoplossing kan de gevoeligheid van het toestel geverifieerd te worden. Deze moet van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrens kan gehaald worden.

8.4 Responsfactoren en relatieve responsfactoren

In geval van externe kalibratie worden de responsfactoren bepaald aan de hand van een kalibratierechte. Om een welbepaald aantal monsters, bv. 10, wordt de geldigheid van de kalibratierechte geverifieerd door injectie van een kalibratie-controlestandaard (zie hierboven).

In geval van interne kalibratie worden relatieve responsfactoren bepaald aan de hand van een kalibratie-oplossing uit het middengebied van het lineair bereik. Binnen eenzelfde analysereeks dient gecontroleerd te worden in hoeverre de relatieve responsfactoren bekomen voor twee opeenvolgende injecties van de kalibratie-oplossing, met tussentijdse injectie van tenminste één monsterextract, van elkaar afwijken. Voor elke PAK moet de verhouding RRF1/RRF2 tussen 0.8 en 1.2 liggen. In geval van interne kalibratie wordt bij voorkeur het gemiddelde van 2 relatieve responsfactoren genomen voor de berekening van de gehalten van een tussenliggende reeks monsters.

8.5 Blanco

Bij elke analysereeks wordt tenminste één procedureblanco bepaald. Hierbij wordt de volledige analyseprocedure gevolgd, doch zonder inname van monster. Het geregistreerde chromatogram dient vrij te zijn van interfererende pieken groter dan 10% van de pieken geregistreerd voor het monster met uitzondering van monsterwaarden kleiner dan 5 maal de gevraagde rapporteergrens, waarvoor de interfererende pieken niet groter mogen zijn dan de helft van de gevraagde rapporteergrens.

8.6 Controlemonster

Op regelmatige basis wordt een controlemonster meegenomen.

Van minstens 3 PAKs verspreid over het ganse retentietijdsgebied worden de gehalten opgetekend in controlekaarten, samen met de som van het gehalte van alle PAKs. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

8.7 Recuperatierendement van de interne standaarden (GC/MS)

Wordt gebruik gemaakt van de interne kwantificatiemethode dan kunnen aan de hand van het signaal geregistreerd voor de inwendige standaarden en de recoverystandaard voor elk monster de recuperatierendementen van de inwendige standaarden bepaald worden:

$$R\% = \frac{A_{IS} \cdot g_{RS} \cdot 100}{A_{RS} \cdot g_{IS} \cdot RRF_{IS}}$$

met:

R%	recuperatierendement, in %
A _{IS}	piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van het preparaat
A _{RS}	piekoppervlakte van de recoverystandaard bij injectie van het preparaat

g_{RS}	hoeveelheid (in ng) van de recoverystandaard toegevoegd aan het preparaat bij het einde van de opwerking
g_{IS}	hoeveelheid (in ng) van de interne standaard toegevoegd aan het monster
RRF_{IS}	gemiddelde relatieve responsfactor van de interne standaard t.o.v. de recovery-standaard, uitgaande van twee injecties van de kalibratie-oplossing, voorafgaand en volgend op het monsterpreparaat

Verantwoorde kwantificering is slechts dan toegelaten indien het recuperatierendement van de interne standaarden minimaal 50 % bedraagt. Voor d8-naftaleen dient de terugvinding minimaal 40% te bedragen.

8.8 Terugvinding van de surrogaat (HPLC)

Bij HPLC bepalingen wordt het goede verloop van de analyse geverifieerd aan de hand van het teruggevonden gehalte van de surrogaat. Deze moet voor elk preparaat gelegen zijn tussen 80% en 120%.

8.9 Voorbeeld van analysegang

Zie volgende pagina.

9 REFERENTIES

- EN 872: 1996; Water Quality – Determination of suspended solids: Method by filtration through glass fibre filters
- TNRCC method 1006: Procedure conform Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group, USA

Voorbeeld van 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
 Bereken in geval van externe kalibratie voor elke PAK <RF>

Per analysereeks:

Injecteer kalibratie-oplossing: bepaal voor elke PAK RF(i) of RRF(i)
 verifieer ligging RF(i) tov <RF>

Verifieer de chromatografische scheiding

Injecteer procedureblanco

Injecteer monsterpreparaten (max. 5)

Injecteer kalibratie-oplossing en bepaal voor elke PAK RF(i+1) of RRF(i+1)
 verifieer ligging RF(i+1) tov <RF>
 of $0.8 \leq RRF(i)/RRF(i+1) \leq 1.2$?

Injecteer monsterpreparaten (max. 5)

Bepaal de piekoppervlakten voor het monsterpreparaat en verifieer m.b.t. lineariteit
 binnen lineair gebied ?
 herinjecteer zonodig na verdunning

Verifieer de blancobijdrage $A_i(\text{blanco}) < 0.1 \cdot A_i(\text{monster})?$

Verifieer de recuperatierendementen voor de IS (GC-MS)
 of de terugvinding van de surrogaat (HPLC) $R\%(IS) > 50\%$ (naft. 40%)?
 $R\%(surrogaat) > 80\%$?

Bereken de gehalten voor het monster

Op regelmatige basis:

Bepaal de MDH-waarden (kalibratie-oplossing)

Injecteer controlemonster

Bereken en verifieer de gehalten in het controlemonster

BIJLAGE 1: TYPISCHE GC-MS WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN PAKS

Kolomspecificaties : DB-5MS of equivalent, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm

GC-instellingen

Draaggas en druk : Helium, 75 kPa
 Injectiemodus : Splitless (purge on na 1 min)
 Split vent : 30 ml / min
 Septum purge : 1 ml / min
 Injectievolume : 1 µl
 Injectietemperatuur : 300°C
 Interfacetemperatuur : 275°C

MS-instellingen

Brontemperatuur: 250°C
 Electronenenergie : 70 eV
 SIM-ionen : zie tabel 1

Temperatuursprogrammatie GC-oven

125°C : isotherm gedurende 1 min
 125°C → 205°C : 20°C / min
 205°C → 305°C : 10°C / min
 305°C : isotherm gedurende 15 min
 totale duur : 30 min

PAK-component	m/z	Kwantificering t.o.v.
Naftaleen	128	D8-naftaleen
Acenaftyleen	152	"
Acenafteen	153	"
Fluoreen	166	D10-anthraceen
Fenantreen	178	"
Anthraceen	178	"
Fluorantheen	202	D10-fluorantheen
Pyreen	202	D10-pyreen
Benz(a)anthraceen	228	"
Chryseen	228	"
Benzo(b)fluorantheen	252	D12-benzo(b)fluorantheen
Benzo(k)fluorantheen	252	D12-benzo(k)fluorantheen
Benzo(a)pyreen	252	D12-benzo(a)pyreen
Indeno(1,2,3,cd)pyreen	276	D12-indeno(1,2,3,cd)pyreen
Dibenzo(a,h)anthraceen	278	D12-benzo(g,h,i)peryleen
Benzo(g,h,i)peryleen	276	"
D8-naftaleen	136	
D10-anthraceen	188	
D10-fluorantheen	212	
D10-pyreen	212	
D12-benzo(b)fluorantheen	264	
D12-benzo(k)fluorantheen	264	
D12-benzo(a)pyreen	264	
D12-indeno(1,2,3,cd)pyreen	288	
D12-benzo(g,h,i)peryleen	288	
D12-chryseen	240	

BIJLAGE 2: TYPISCHE HPLC WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN PAKSKolomspecificaties : VYDAC C18 201TP54 250x4mmHPLC-instellingen

Injectievolume : 20 µl

Kolomtemperatuur : 35°C

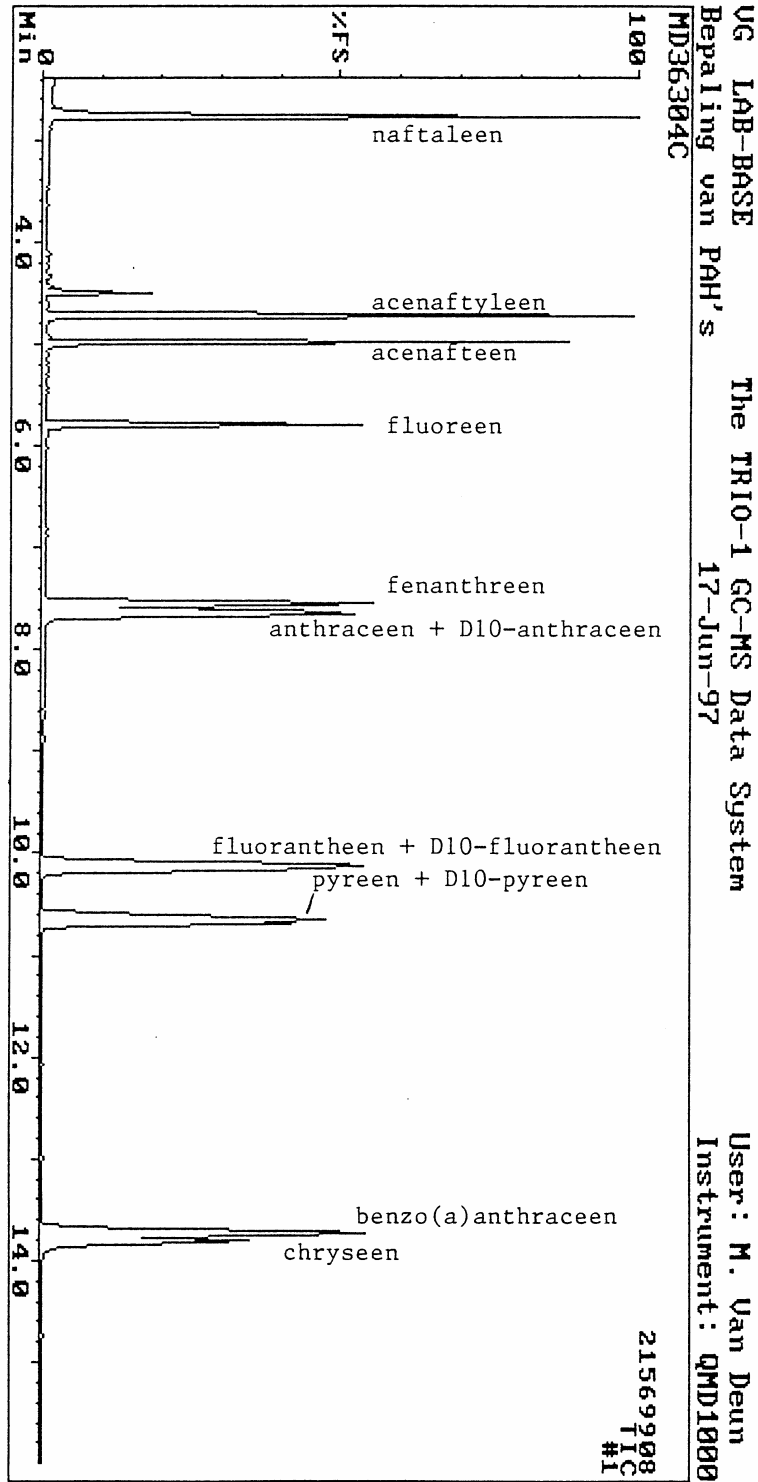
Gradiënt :

Tijd (min)	Acetonitrile %	Water %
0	50	50
10	50	50
50	100	0
60	50	50
70	50	50

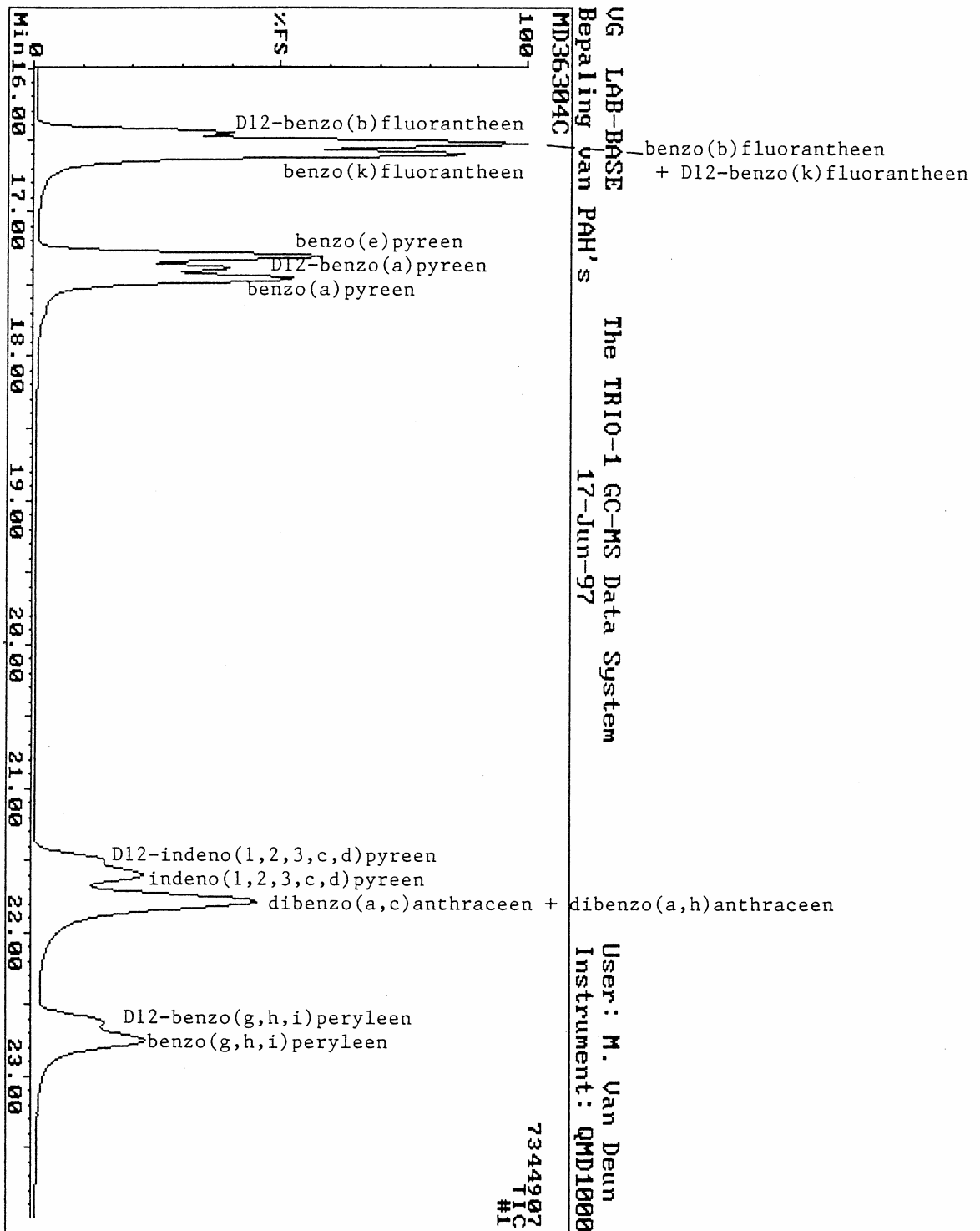
Fluorescentiedetector en DAD programmatie :

PAK	DAD	Fluorescentie (zie NEN 5771)	
	λ _{max} voor UV	Aanbevolen λ _{ex} /λ _{em}	Geoptimaliseerde λ _{ex} /λ _{em}
Naftaleen	220	280/340	280/334
Acenaftyleen	227	280/340	292/324
Acenafteen	229		
Fluoreen	261	280/340	268/308
Fenantreen	251	280/340	292/366
Anthraceen	252	305/430	253/402
Fluorantheen	236	305/430	360/460
Pyreen	240	305/430	336/376
Benz(a)anthraceen	287	305/430	288/390
Chryseen	267	305/430	268/383
Benzo(b)fluorantheen	256	305/430	300/436
Benzo(k)fluorantheen	307	305/430	308/414
Benzo(a)pyreen	296	305/430	296/408
Benzo(g,h,i)peryleen	299	305/430	300/410
Dibenzo(a,h)anthraceen	297	305/430	297/398
Indeno(1,2,3,cd)pyreen	250	305/500	302/506

**BIJLAGE 3: TOTAAL IONEN CHROMATOGRAM VOOR EEN PAK
KALIBRATIE-OPLOSSING - EERSTE DEEL**



BIJLAGE 3: Totaal ionen chromatogram voor een PAK kalibratie-oplossing – tweede deel



**BIJLAGE 4: HPLC FLUORESCENTIECHROMATOGRAM VOOR EEN PAK
KALIBRATIE-OPLOSSING**

