

~~~~~

***Bepaling van organofosforpesticiden en  
triazine-type herbiciden in water***

~~~~~

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	OPMERKINGEN	3
4	APPARATUUR EN MATERIAAL	4
4.1	APPARATUUR.....	4
4.2	MATERIAAL.....	4
5	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	4
5.1	REAGENTIA.....	4
5.2	OPLOSSINGEN	4
6	PROCEDURE	5
6.1	EXTRACTIE	5
6.2	GC-MS ANALYSE	6
7	BEREKENING	8
7.1	RELATIEVE RESPONSFACTOREN (KALIBRATIE)	8
7.2	GEHALTE VAN DE PESTICIDE-COMPONENTEN IN HET MONSTER	9
8	KWALITEITSCONTROLE	9
8.1	LINEARITEIT	9
8.2	RRF-WAARDEN	9
8.3	MINIMUM DETECTEERBARE HOEVEELHEDEN	9
8.4	PROCEDUREBLANCO	10
8.5	CONTROLEMONSTER.....	10
8.6	RECUPERATIERENDEMENT VAN DE INTERNE STANDAARD	10
8.7	ANALYSEGANG.....	11
9	REFERENTIES	11

1 TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure beschrijft een methode voor de kwantitatieve bepaling van organofosforpesticiden (OPP) en triazine-type herbiciden in water met behulp van gaschromatografie-massaspectrometrie. Deze meer stabiele pesticiden zijn gaschromatografeerbaar in tegenstelling tot de meeste andere polaire pesticiden die thermolabel zijn.

De organofosfor- en triazinepesticiden zijn weergegeven in tabel 1 en tabel 2. De samenstelling van de lijst is gebeurd op basis van de pesticiden die voorkomen in normmethoden en in prioriteitslijsten van de EU en Aminal.

Tabel 1: Lijst organofosforpesticiden.

Azinfos-ethyl	Azinfos-methyl
Bromophos	Bromophos-ethyl
Chlorfenvinphos	Chlorpyrifos
Chlorpyrifos-methyl	Diazinon
Dichloorvos	Dimethoat
Disulfoton	Ethoprofos
Fenitrothion	Fenthion
Fonofos	Malathion
Methidathion	Mevinfos
Parathion-ethyl	Parathion-methyl
Pirimiphos-methyl	Terbufos

Tabel 2: lijst triazine herbiciden

Atrazine	Cyanazine
Desethylatrazine	Desisopropylatrazine
Hexazinone	Prometryn
Propazine	Sebutylazine
Simazine	Terbutryn
Terbutylazine	

2 PRINCIPE

Watermonsters worden geëxtraheerd met dichloormethaan. Het extract wordt geconcentreerd en geanalyseerd met GC/MS. Interferenties in sterk verontreinigde waterstalen kunnen een verhoogde aantoonbaarheidsgrens tot gevolg hebben. Alternatief kan de meting met GC/NPD (stikstof-fosfor detector) uitgevoerd worden, zie ISO-10695:2000.

Voor de kwantificering wordt gebruik gemaakt worden van de interne standaardmethode. Het gebruik van de MS detector laat toe isotoopgemerkte interne standaarden aan te wenden, waardoor gecorrigeerd kan worden voor mogelijke verliezen tijdens de opwerking.

3 OPMERKINGEN

- Voor bewaringscondities en –termijnen wordt verwezen naar de algemene procedure voor watermonsters (WAC/I/A/010).
- Sommige fosforpesticides zijn zeer toxisch, ook bij huidcontact en inademing. Neem bij het aanmaken van stockoplossingen de nodige voorzorgen.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

4.1 Apparatuur

- 4.1.1. bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0,01 g;
- 4.1.2. analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0,1 mg;
- 4.1.3. vacuum-extractie eenheid (+ randmateriaal);
- 4.1.4. schudapparaat met horizontale beweging, 150 tot 300 slagen per minuut;
- 4.1.5. eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet;
- 4.1.6. gaschromatograaf voor capillaire kolommen, voorzien van een on-column injector, een MS-detector en een datastation voorzien van de nodige sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur.

4.2 Materiaal

- 4.2.1. scheidrecter 500-1000 ml voor de vloeistof-vloeistofextractie;
- 4.2.2. gebruikelijk laboratoriumglaswerk, gereinigd en gespoeld met aceton;
- 4.2.3. injectiespuiten van 50 tot 250 µl voor het doperen met interne standaard en recoverystandaard;
- 4.2.4. penicillineflesjes;
- 4.2.5. pasteurpipetten;
- 4.2.6. papierfilters;
- 4.2.7. capillaire kolom met apolaire of medium-polaire fase van 30 m lengte, met een diameter van 0,10 tot 0,32 mm en een filmdikte van 0,1 tot 0,25 µm

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 Reagentia

- 5.1.1. aceton: residu-analyse kwaliteit
- 5.1.2. dichloormethaan : residu-analyse kwaliteit
- 5.1.3. natriumsulfaat, Na₂SO₄: granulair en watervrij; een geopende verpakking wordt uitgegoten in een schaal en bewaard bij 130°C in een droogoven
- 5.1.4. toluen: residu-analyse kwaliteit
- 5.1.5. natieve fosforpesticiden en triazines (tabel 1 en 2): pro analyse (p.a.)
- 5.1.6. ¹³C –hexachloorbenzeen (interne standaard voor de fosforpesticiden): p.a.
- 5.1.7. ¹³C –atrazine (interne standaard voor de triazines): p.a.
- 5.1.8. PCB-112 (recoverystandaard): p.a.

5.2 Oplossingen

Opmerking:

Standaardoplossingen worden bereid uitgaande van zuiver standaard materiaal; alternatief kunnen reeds bereide standaardoplossingen in de handel aangekocht worden.

- 5.2.1. Stockoplossingen van fosforpesticiden en triazines:
van elke bovenstaande fosforpesticide- en triazinecomponent (tabel 1 en 2) wordt een afzonderlijke hoofdstandaard van ongeveer 500 µg/ml in aceton (5.1.1) of toluen (5.1.4.) gemaakt. Deze wordt bereid uit zuiver standaard materiaal (5.1.5.).
- 5.2.2. Stockoplossing van ¹³C -hexachloorbenzeen (interne standaard):
deze standaardoplossing wordt bereid uitgaande van zuiver standaard materiaal (5.1.6.) en bevat ongeveer 100 µg/ml ¹³C -hexachloorbenzeen in toluen (5.1.4.).
- 5.2.3. Stockoplossing van ¹³C -atrazine (interne standaard):
deze standaardoplossing wordt bereid uitgaande van zuiver standaard materiaal (5.1.7.) en bevat ongeveer 100 µg/ml ¹³C-atrazine in toluen (5.1.4.).
- 5.2.4. Stockoplossing van PCB-112 (recoverystandaard):
deze standaardoplossing wordt bereid uitgaande van zuiver standaard materiaal (5.1.8.) en bevat ongeveer 100 µg/ml PCB-112 in toluen (5.1.4.).
- 5.2.5. Standaard werkoplossingen voor lineariteitscontrole:
deze worden uitgaande van de bovenstaande stockoplossingen (5.1.1 tot 5.1.4) gemaakt in toluen (5.1.4.). De oplossingen bevatten:
- natieve componenten variërend in concentratie van bijvoorbeeld 0,2 tot 20 µg/ml;
 - ¹³C -hexachloorbenzeen met een constante concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml;
 - ¹³C -atrazine met een constante concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml;
 - PCB-112 met een constante concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml.
- 5.2.6. Doperingsoplossing van natieve fosfor- en triazinepesticiden:
deze wordt bereid in aceton uitgaande van zuiver standaardmateriaal (5.1.5.); de eindconcentratie bedraagt ongeveer 25 µg/ml per pesticide.
- 5.2.7. Doperingsoplossing van ¹³C -hexachloorbenzeen en ¹³C -atrazine:
uitgaande van de bovenstaande stockoplossingen van ¹³C -hexachloorbenzeen (5.2.2.) en ¹³C-atrazine (5.2.3.) wordt een verdunning gemaakt in aceton (5.1.1.) die ongeveer 25 µg/ml bevat van elke interne standaard.
- 5.2.8. Kalibratie-werkoplossing:
deze worden uitgaande van de bovenstaande stockoplossingen (5.1.1 tot 5.1.4) gemaakt in toluen (5.1.4.). De oplossing bevat:
- natieve componenten in een concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml;
 - ¹³C -hexachloorbenzeen in een concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml;
 - ¹³C -atrazine in een concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml;
 - PCB-112 in een concentratie van bijvoorbeeld 1 µg/ml.

6 PROCEDURE

6.1 Extractie

- Weeg de monsterfles tot op 0,1 g nauwkeurig.
- Breng de volledige inhoud van de monsterfles over in een geschikte scheidtrechter (4.2.1.).
- Breng ongeveer 1 ml aceton (5.1.1.) in een penicillineflesje (4.2.4.).

- Voeg m.b.v. een injectiespuit (4.2.2.) een gekende hoeveelheid van de interne standaarden (5.2.7.) toe aan de aceton, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte verbinding in het eindextract bijvoorbeeld 1 µg/ml zal bedragen.
- Breng m.b.v. een pasteurpipet (4.2.5.) de bovenstaande acetonoplossing met interne standaarden over naar de scheitrechter (4.2.1.).
- Spoel het penicillineflesje enkele malen na met dichloormethaan (5.1.2.) en breng de spoelvoeistof over naar de scheitrechter.
- Spoel de monsterfles na met 25-50 ml dichloormethaan (5.1.2.) en breng de spoelvoeistof over naar de scheitrechter.
- Schud het geheel krachtig gedurende ongeveer 3 min.
- Laat de organische fase af over een filter (4.2.6.) gevuld met Na₂SO₄ (5.1.3.).
- Herneem de spoel- en extractiestap nog tweemaal.
- Damp de verzamelde extracten in onder een stikstofstroom tot een eindvolume van ongeveer 1 ml en voer een solventwissel uit naar 500 µl toluen (5.1.4.)
- Dopeer het extract met een gekende hoeveelheid recoverystandaardoplossing (5.2.4.) zodanig dat de concentratie van de recoverystandaard in het eindextract bijvoorbeeld 1 µg/ml zal bedragen.
- Meet het extract met GC/MS (zie 6.2).

6.2 GC-MS analyse

Typische instellingen voor de GC-MS bepaling van organofosforpesticiden en triazines zijn hieronder weergegeven.

6.2.1 Instellingen van de GC-MS

- Kolomtype: DB5-XLB 30m X 0,25mm X 0,25 µm; apolaire voorkolom 1,5 m X 0,53 mm
- Draaggas: helium
- Injectievolume: 1 µl (on-column)
- Oventemperatuursprogramma: begintemperatuur: 115 °C; dan 10 °C/min naar 315 °C

Opmerking: voor triazines kan eventueel een snellere temperatuursprogrammering toegepast worden, bvb. 25 °C/min.

- Interfacetemperatuur: 275°C
- MS-brontemperatuur: 250°C
- MS-ionisatie: electron impact (70 eV)
- MS-SIM ionen: zie onderstaande tabellen

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

In de onderstaande tabellen zijn de massa's van de karakteristieke ionen weergegeven; het kwanterificeringsion is vetgedrukt. De nummering van de componenten verwijst naar de chromatogrammen in bijlage 1 en 2.

Tabel 3: Ionen (m/z) voor de fosforpesticiden

Nummer	Component	Massa 1	Massa 2
1	Dichloorvos	79	109
2	Mevinfos	109	127
3	Ethoprofos	97	158
4	¹³ C-HCB (Interne standaard)	290	292
5	Dimethoaat	87	93
6	¹³ C-Atrazine (Interne Standaard)	203	218
7	Terbufos	231	233
8	Diazinon	137	179
9	Fonofos	109	137
10	Disulfoton	88	97
11	Chlorpyrifos-methyl	286	288
12	Parathion-methyl	125	263
13	Pirimifos-methyl	276	290
14	Malathion	125	173
15	Fenitrothion	125	277
16	Chlorpyrifos-ethyl	314	316
17	Fenthion	125	278
18	Parathion-ethyl	291	292
19	Bromofos-methyl	329	331
20	Chlorfenvinfos	267	269
21	Bromofos-ethyl	357	359
22	Methidiathion	85	145
23	PCB-112	326	328
25	Azinfos-methyl	77	160
26	Azinfos-ethyl	77	160

Tabel 4: Ionen (m/z) voor de triazines

Nummer	Component	Massa 1	Massa 2
1	Desisopropylatrazine	68	172
1	Desethylatrazine	68	172
2	Simazine	172	200
2	Atrazine	172	200
2	¹³ C-atrazine (Interne Standaard)	203	218
3	Propazine	214	216
3	Terbutylazine	214	216
4	Sebutylazine	200	214
5	Prometryn	184	241
6	Terbutryn	185	226
7	Cyanazine	68	225
8	PCB-112 (Recoverystandaard)	326	328
9	Hexazinon	83	171

Opmerking:

De componenten worden berekend met ¹³C-atrazine als interne standaard. In geval van verstoring van het ¹³C -atrazine signaal kan evenwel gebruik gemaakt worden van ¹³C -hexachloorbenzeen.

6.2.2 Meting en kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende pesticiden gebeurt volgens de interne standaard methode. Hierbij wordt elke pesticide verbinding gekwantificeerd ten opzichte van een isotoopgemerkte interne standaard die bij het begin van de opwerking aan het te analyseren monster werd toegevoegd.

Minstens bij het begin en het einde van elke analysereeks en verder om de 10 preparaten wordt de kalibratie-werkoplossing (5.2.8.) geïnjecteerd. Van elke pesticide worden de ionenchromatogrammen gegenereerd en wordt de piekoppervlakte van het kwantificatie-ion gemeten.

Relatieve responsfactoren worden vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten van de kwantificatie-ionen van de te bepalen pesticide componenten en de gebruikte interne standaarden (zie verder)

Voor de interne standaarden worden relatieve responsfactoren bepaald t.o.v. de recovery standaard.

Een meetreeks bestaat uit een procedureblanco (een blanco watermonster die de volledige opwerkprocedure ondergaat conform de werkwijze voor monsters), het controlemonster (zie punt 7), de monsters en de kalibratie-werkoplossing (5.2.8.).

6.2.3 Identificatie

De aanwezigheid van pesticide componenten in de monsters wordt bevestigd op basis van onderstaande gegevens en criteria:

- De registratie van een piek bij de karakteristieke massa's van de twee geselecteerde ionen
- De retentietijd. deze mag niet meer afwijken dan 5 seconden van de retentietijd geregistreerd voor de kalibratie-oplossing eventueel vermeerderd met de verschuiving van de interne standaard
- De signaal/ruis verhouding, waarbij voor de betrokken ionen een piekhoogte groter dan 3 keer de ruishoogte dient gemeten te zijn.

7 BEREKENING

7.1 Relatieve responsfactoren (kalibratie)

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de natieve pesticide component en van de interne standaard in de respectievelijke ionenchromatogrammen van de kalibratie-oplossing wordt voor elke pesticidecomponent de relatieve responsfactor (RRF) op de volgende wijze berekend:

$$RRF_i = \frac{(A_i \times C_{IS})}{(A_{IS} \times C_i)}$$

met:

- RRF_i relatieve responsfactor van pesticidecomponent i
 A_i piekoppervlakte van pesticidecomponent i bij injectie van de kalibratieoplossing
 C_i concentratie van pesticidecomponent i in de kalibratieoplossing, in µg/ml
 C_{IS} concentratie van de interne standaard in de kalibratieoplossing, in µg/ml

A_{IS} piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van de kalibratieoplossing

Voor de bepaling van de pesticidegehalten in een monster wordt gebruik gemaakt van de gemiddelde RRF-waarden bekomen uitgaande van twee injecties van de kalibratieoplossing, namelijk de laatste voorafgaand aan en de eerste volgende op het monsterpreparaat.

7.2 Gehalte van de pesticide-componenten in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakten van de pesticidecomponent en van de interne standaard in de respectievelijke ionenchromatogrammen van het monsterpreparaat en rekening houdend met de relatieve responsfactor van de beschouwde pesticidecomponent, kan de concentratie van de pesticidecomponent in het watermonster met behulp van onderstaande formule berekend worden :

$$C_i = \frac{1}{\langle RRF_i \rangle} \cdot \frac{A_i}{A_{IS}} \cdot \frac{g_{IS}}{V}$$

met:

- C_i gehalte van de pesticidecomponent i in het monster, in $\mu\text{g/l}$
- A_i piekoppervlakte van de geïdentificeerde pesticidecomponent i in het monsterextract
- A_{IS} piekoppervlakte van de interne standaard in het monsterextract
- g_{IS} hoeveelheid van de overeenkomstige interne standaard toegevoegd aan het monster, in μg
- $\langle RRF_i \rangle$ de gemiddelde relatieve responsfactor voor pesticidecomponent i uitgaande van twee injecties van de kalibratie-oplossing, nl. de laatste voorafgaand aan en de eerste volgend op het monsterpreparaat
- V volume monster in liter, waaraan de interne standaard toegevoegd werd (gravimetrisch bepaald met aanname van een dichtheid = 1000 g/l).

Bovenstaande formules gelden voor zover de procedureblanco verwaarloosbaar klein is t.o.v. het gehalte in het monsterpreparaat (zie verder punt 8). Voor rapportering worden de gehalten afgerond tot op twee beduidende cijfers.

8 KWALITEITSCONTROLE

8.1 Lineariteit

Voor het uitvoeren van een lineariteitstest wordt een reeks van standaardoplossingen geïnjecteerd waarin de verschillende natieve verbindingen in oplopende concentraties en de interne standaarden in een constante concentratie aanwezig zijn (5.2.5.).

8.2 RRF-waarden

Bij herhaalde injectie van de kalibratiestandaard dienen de herhaalbaarheden van de RRF-waarden kleiner te zijn dan 10%.

Binnen een analysereeks mogen de RRF-waarden van twee opeenvolgende injecties van de kalibratiestandaard maximaal 15 % van elkaar afwijken.

8.3 Minimum detecteerbare hoeveelheden

Minimum detecteerbare hoeveelheden (in pg) zijn een maat voor de gevoeligheid van de apparatuur en worden bepaald op basis van de signaal-ruis verhoudingen bekomen voor een

aantal verbindingen geregistreerd in het chromatogram van een kalibratiestandaard uit het midden van het lineair gebied:

$$MDH = 3 \times \frac{RG \times C \times V \times 1000}{PH}$$

met :

MDH	minimum detecteerbare hoeveelheden, in pg
RG	de “peak-to-peak” ruishoogte aan de voet van de piek van het kwantificatie-ion van de pesticidecomponent
PH	de piekhoogte van het kwantificatie-ion van de pesticidecomponent
C	concentratie van de pesticidecomponent in de kalibratiestandaard (in µg/ml)
V	het geïnjecteerde volume (in µl)

8.4 Procedureblanco

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

8.5 Controlemonster

Bij elke analysereeks wordt een controlemonster meegenomen. Dopeer met dit doel blancowater met de aceton oplossing van pesticiden (5.1.5.).

De terugvindingen worden opgetekend in een controlekaart en moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

8.6 Recuperatierendement van de interne standaard

Voor elk monster wordt het recuperatierendement van de interne standaard bepaald, dit door vergelijking van de oppervlakten van de interne standaard en de recovery standaard:

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

met:

R	Recuperatierendement van interne standaard IS, in %
A _{IS}	oppervlakte van de interne standaard in het staal
A _{RS}	oppervlakte van de recoverystandaard in het staal
g _{RS}	toegevoegde hoeveelheid recoverystandaard aan het eindextract
g _{IS}	toegevoegde hoeveelheid interne standaard aan het monster voor de monsterzuivering
RRF _i	relatieve responsfactor van de interne standaard t.o.v. de recovery standaard, bepaald aan de hand van het kalibratiemengsel

Verantwoorde kwantificering is slechts dan toegelaten indien het recuperatierendement van de interne standaard minimaal 40 % bedraagt voor ¹³C -atrazine en minimaal 50% voor ¹³C -hexachloorbenzeen.

8.7 Analysegang

Een typische analysegang is hieronder schematisch weergegeven.

1. Bij elke ernstige instrumentele ingreep (bijv. reiniging van de bron of installeren van een nieuwe kolom) of op regelmatige basis:

injecteer kalibratieoplossingen pesticiden van verschillende concentratie
bepaal lineair bereik

2. Per analysereeks:

injecteer solventblanko
injecteer werkoplossing pesticiden en bereken RRF1
injecteer procedureblanko
injecteer controlemonster; bereken en verifieer het gehalte
injecteer monsterpreparaten (max. 10)

injecteer werkoplossing pesticiden, bereken RRF2 en $\langle \text{RRF} \rangle$ is $0,85 < \frac{\text{RRF1}}{\text{RRF2}} < 1,15$?

verifieer de blancobijdrage : $A_i(\text{blanco}) < 0.1 * A_i(\text{monster})$?

bereken de recuperatierendementen : is $R\% > 40\%$ (^{13}C -atrazine)?

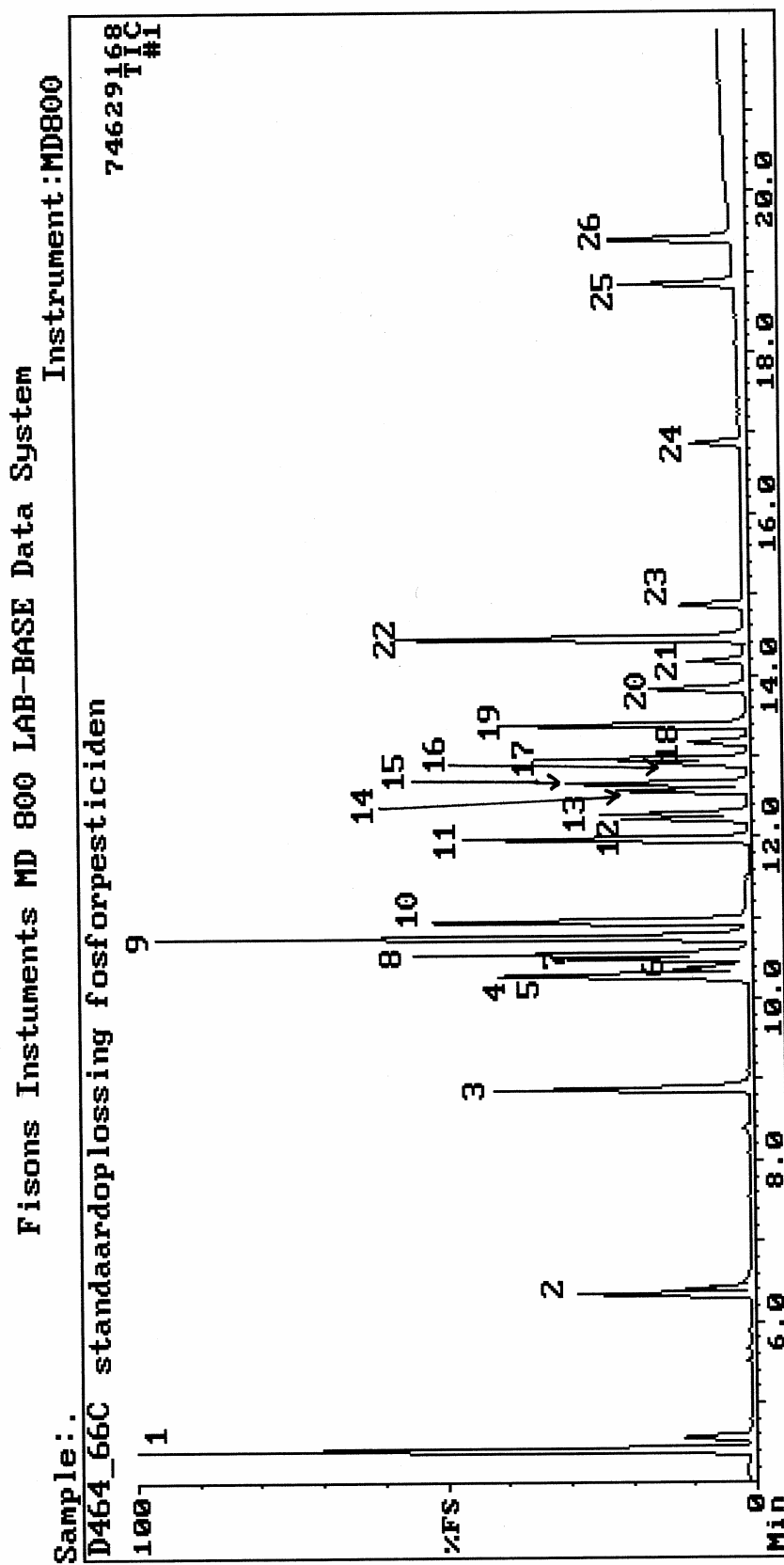
$R\% > 50\%$ (^{13}C -hexaCBz)?

bereken de gehalten voor het monster

9 REFERENTIES

- EPA 8141B: 1999; Organophosphorous Compounds by GC; SW 846
- ISO 8466: 1990; Water Quality – Calibration and Evaluation of Analytical Methods and Estimation of Performance Characteristics, Part 1: Statistical Evaluation of the Linear Calibration Function
- ISO 10695: 2000; Water Quality – Determination of Selected Organic Nitrogen and Phosphorus Compounds – Gas Chromatographic Methods

BIJLAGE 1 TIC VAN ORGANOFOSFORPESTICIDEN



BIJLAGE 2 TIC VAN TRIAZINE-TYPE HERBICIDEN

