



Bepaling van gebromeerde brandvertragers in water



INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED.....	3
2	PRINCIPE.....	3
3	APPARATUUR EN MATERIAAL	3
3.1	APPARATUUR.....	3
3.2	MATERIAAL	4
4	REAGENTIA EN STANDAARDEN	5
4.1	REAGENTIA.....	5
4.2	STANDAARDEN EN STANDAARDOPLOSSINGEN	5
5	MONSTERVEROORBEREIDING	7
5.1	VLOEISTOF/VLOEISTOF EXTRACTIE.....	7
5.2	ZUIVERING.....	7
5.2.1	Zuivering over een gecombineerde silica/H ₂ SO ₄ – silica/NaOH kolom.....	8
5.2.2	Zuivering over alumina (zie ISO 22032).....	8
5.2.3	Zuivering met gel permeatie chromatografie	8
5.3	FINALE CONCENTRERING EN TOEVOEGING VAN DE RECOVERY STANDAARD.....	8
6	GC-MS ANALYSE.....	8
6.1	METING	8
6.2	IDENTIFICATIE	9
6.3	KALIBRATIE EN KWANTIFICATIE	9
7	BEREKENINGEN	11
7.1	GEHALTE VAN DE PBDE-CONGENEREN EN HBCD IN AFVALWATER	11
7.2	AANTOONBAARHEIDSGRENZEN VOOR NIET-GEDETECTEERDE BROOMVERBINDINGEN IN HET MONSTER	12
7.3	RECUPERATIERENDEMENTEN VAN DE INTERNE STANDAARDEN	12
8	KWALITEITSCONTROLE	13
8.1	RESPONSLINEARITEIT	13
8.2	CHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING	13
8.3	MINIMUM DETECTEERBARE HOEVEELHEDEN (MDH)	13
8.4	CONTROLE OP DE KALIBRATIE	13
8.5	PROCEDUREBLANCO	14
8.6	CONTROLEMONSTER.....	14
8.7	RECUPERATIERENDEMENT VAN DE INTERNE STANDAARD	14
9	VEILIGHEID	14
10	REFERENTIES.....	15

1 TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure beschrijft een methode voor de extractie, zuivering en analyse van een aantal gebromeerde brandvertragers in water. De methode is toepasbaar op grondwater, oppervlaktewater, drinkwater en afvalwater. Onderstaande tabel toont de van toepassing zijnde verbindingen.

- Polybroomdifenylethers (PBDE)
 - BDE 28: 2,4,4'-tribroomdifenyl ether
 - BDE 47: 2,2',4,4'-tetrabroomdifenyl ether
 - BDE 99: 2,2',4,4',5-tentabroomdifenyl ether
 - BDE 100: 2,2',4,4',6-pentabroomdifenyl ether
 - BDE 153: 2,2',4,4',5,5'-hexabroomdifenyl ether
 - BDE 154: 2,2',4,4',5,6'-hexabroomdifenyl ether
 - BDE 183: 2,2',3,4,4',5',6-heptabroomdifenyl ether
 - BDE 209: decabroomdifenyl ether
- Hexabroomcyclododecaan (HBCD)
- Decabroomdifenylethaan (DBDPE)

Opm.: In sommige gevallen kan HBCD omwille van adsorptie/degradatiefenomenen minder betrouwbaar bepaald worden. In dat geval kan het berekende gehalte van deze verbinding enkel als indicatief gerapporteerd worden.

2 PRINCIPE

Vloeistoffen worden door vloeistof/vloeistof extractie met dichloormethaan geëxtraheerd. In geval van sterk vervuilde monsters kan een zuiveringsstap noodzakelijk zijn om interferenties te verwijderen. Zuivering gebeurt door kolomchromatografie op alumina of op een meerlagen kolom en/of met behulp van gel permeatie chromatografie.

De meting wordt uitgevoerd met een gaschromatograaf (GC), uitgerust met een massaspectrometrische detector (MS).

De kwantificatie van de PBDE, DBDPE en HBCD congenere gebeurt aan de hand van isotoop gemerkte standaarden of niet voorkomende, niet interfererende BDE-congeneren, die als interne standaard voor de zuivering aan het staal worden toegevoegd. Door toevoegen van een zgn. 'recovery'-standaard juist voor de instrumentele meting kan men de recuperatierementen van de interne standaarden bepalen.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

3.1 Apparatuur

- Analytische balans met afleesnauwkeurigheid van 0,1 mg

- Bovenweger met afleesnauwkeurigheid van 0,01 g
- Eenheid voor indampen onder vacuum of stikstofstroom met regelbaar debiet of met vortex luchtstroom.
- GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf met PTV, on-column of split/splitless injector, een autosampler, een massaspectrometer en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogramma. Volgende detectiewijzen zijn mogelijk:
 - o electron impact lage resolutie MS (EI-LRMS)
 - o electron impact hoge resolutie MS (EI-HRMS)
 - o electron impact lage resolutie tandem MS (EI-LRMS/MS)
 - o electron capture negatief ion chemische ionisatie lage resolutie MS (ECNI-LRMS).
- GPC-opstelling bestaande uit een geschikte GPC-kolom (zie hieronder), een fractiecollector en een UV-detector.

3.2 Materiaal

- Gebruikelijk laboratoriummateriaal zoals bv.:
 - o Scheitrechter (500-1000 ml) voor vloeistof-vloeistofextractie
 - o Injectiespuiten van 50-250 µl, voor het doperen met resp. interne standaard en recovery standaard
 - o Glazen chromatografie 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
 - o Erlenmeyers (100 en 250 ml)
 - o Maatcilinder (100 ml)
 - o Injectiespuit van 10 µl
 - o Glazen amberkleurige monsterflesjes (penicillineflesjes)
 - o Pasteurpipetten
- Fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase, fenylmethylpolysiloxaan of overeenkomstige carboraanpolymer (bvb. HT-5, HT-8, DB5-HT, CP-Sil 8, ...) met maximale kolomlengte van 30 m, maximale filmdikte van 0.1 µm en typische inwendige diameter van 0.22-0.25 mm; geschikte kolommen zijn ook de zogenaamde 0.53 mm i.d. vacuum outlet kolommen zoals bv. CP-Sil 8 rapid MS; voorwaarde is dat de capillaire inlaat van de MS voldoende groot moet zijn voor de montage van de kolom
- GPC-kolom: geschikt voor milieutoepassingen (Envirogel (Waters), Enviroprep (Polymer Laboratories) of gelijkwaardig).
Bepaal aan de hand van een standaardmengsel de fractie van het GPC-eluens dat genomen moet worden voor de verdere uitvoering van de analyse. Dit standaardmengsel bevat bv. zwavel, maïsolie en de te bepalen brandvertragers.

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

4.1 Reagentia

- Extractievloeistof: dichloormethaan (DCM) of n-hexaan of een ander vluchtig alkaan (bvb. isohexaan), voor residu-analyse.
- Aceton, voor residu-analyse
- Nonaan, toluen: voor residu-analyse: voor de aanmaak van standaardoplossingen; als alternatief voor nonaan kan een ander alkaan (bvb. iso-octaan) gebruikt worden. *Opn.*: BDE-209 en DBDPE stockoplossingen worden omwille van hun beperkte oplosbaarheid aangemaakt in toluen
- Natriumsulfaat (gedroogd)
- Zwavelzuur (95-97 % pro analyse)
- Natriumhydroxide 1 M : los 10 g NaOH-pellets op in 250 ml ultrapuur water
- Alumina, basisch, geactiveerd: activeer basische aluminiumoxide, activiteit B Super I gedurende 16 u bij 150°C; laat vervolgens afkoelen in een exsiccator.
- Silica: een laag van ongeveer 25 mm silicagel 100 mesh wordt in een schaal verwarmd gedurende minstens 16 u op 130 °C. Voor gebruik laat men de schaal in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen.
- Silica/H₂SO₄ 44%: giet 28 g geactiveerde silica en 22 g geconcentreerd zwavelzuur in een erlenmeyer en schud het geheel tot alle agglomeraten verdwenen zijn; bewaar in een afgesloten recipiënt.
- Silica/NaOH 1 N 33 %: aan 33,5 g geactiveerde silica wordt 16,5 g 1 N NaOH oplossing toegevoegd; het geheel wordt geschud tot alle agglomeraten verdwenen zijn; bewaar in een afgesloten recipiënt.

4.2 Standaarden en standaardoplossingen

Natieve verbindingen:

Afzonderlijke oplossingen of mengoplossingen van de natieve verbindingen vermeld onder 1 zijn commercieel beschikbaar; alternatief kan vertrokken worden van de zuivere producten.

Maak voor het vastleggen van het lineair bereik (zie 8.1) en de responsfactor (zie 6.3) geschikte verdunningen (in nonaan of een ander alkaan of toluen) i.f.v. de gekozen detectietechniek.

Inwendige standaarden:

Voorbeelden van inwendige standaarden zijn:

- voor EI-MS:
- ¹³C-BDE-47

- ¹³C-BDE-99
- ¹³C-BDE-153
- ¹³C-BDE-183
- ¹³C-BDE-209
- ¹³C-HBCD
- ¹³C-DBDPE

- voor NCI-MS:
 - ¹²C-BDE-77 (3,3',4,4-tetrabroomdifenylether)
 - ¹²C-BDE-181 (2,2',3,4,4,5,6-heptabroomdifenylether)
 - ¹³C-BDE-209

Afzonderlijke oplossingen of mengoplossingen van de inwendige standaarden zijn commercieel beschikbaar; maak van deze oplossingen i.f.v. de gekozen detectietechniek geschikte verdunningen, enerzijds voor additie aan de monsters, anderzijds voor de controle van de lineariteit en de kalibratie. Typische concentraties voor de inwendige standaarden zijn opgenomen in tabel 1. Binnen een lineariteitsreeks zijn de inwendige standaarden aanwezig in een constante concentratie.

Bij additie aan monsters wordt die hoeveelheid inwendige standaard toegevoegd opdat de concentratie in het eindextract analoog is aan deze van de kalibratiestandaard.

Recovery standaard (injectiestandaard)

Gebruik hiervoor een verbinding die niet interfereert met de te bepalen verbindingen en zelf niet geïntereerd wordt door matrixcomponenten. Voorbeelden zijn dibroomoctafluorbifenyyl, PCB-209 of ¹³C-PCB-209. Voeg de verbinding toe aan de kalibratie-oplossing in een concentratie vergelijkbaar met deze van de inwendige standaard (zie tabel 1).

Belangrijke opmerking:

Broomverbindingen zijn lichtgevoelig; gebruik amberkleurige recipiënten en bewaar de standaardoplossingen in het donker.

Tabel 1: typische inwendige standaard en recovery standaard concentraties voor kalibratie-oplossingen en eindextract in ng/ml

	EI-LRMS	ECNI-LRMS
¹³ C-BDE-47	200	
¹³ C-BDE-99	200	
¹³ C-BDE-153	200	
¹³ C-BDE-183	400	
¹³ C-BDE-209	500	200
¹³ C-HBCD	1000	2000
¹² C-BDE-77		100
¹² C-BDE-181		200
PCB-209	400	
Dibroomoctafluorobifenyyl		50-100

5 MONSTERVOORBEREIDING

5.1 Vloeistof/vloeistof extractie

Waterstalen worden aan een vloeistof/vloeistof extractie onderworpen.

Vooraf wordt in de scheidrecter 10ml isopropanol gebracht waaraan een geschikte hoeveelheid van de inwendige standaarden additie-oplossing wordt toegevoegd. Het monster wordt in de scheidrecter overgebracht en de monsterfles wordt nagespoeld met 25 ml DCM, die vervolgens aan het watermonster in de scheidrecter wordt toegevoegd. Het geheel wordt gedurende 10 minuten geschud en de organische fase wordt afgescheiden. De extractie wordt nog tweemaal hernomen met telkens 25 ml DCM.

De verzamelde extracten worden gedroogd met Na_2SO_4 en onder een stikstofstroom / vortexstroom ingedampt tot enkele ml. In geval gekozen wordt voor verdere zuivering van het extract met zure silica, alumina of GPC (zie 5.2) wordt er verder ingedampt tot bijna droog en wordt het residu opgenomen in enkele ml hexaan. In geval geen zuivering toegepast wordt wordt er overgegaan op de finale concentrering en additie van de recovery standaard (zie 5.3).

Opmerking:

De stalen die latex bevatten, geven een brede emulsielaag tussen het water en de DCM-fase. De emulsielaag wordt mee afgelaten met de DCM-fase. Na centrifugeren en uitzakken van de emulsielaag wordt de bovenstaande waterlaag zo goed mogelijk afgepipetteerd en opnieuw geëxtraheerd met DCM. De verzamelde extracten worden gefiltreerd over een papierfilter met ca 3 g Na_2SO_4 waarbij de laatste resten water en de latex worden verwijderd

Bij sommige monsters is de aanwezige hoeveelheid latex echter te groot, wat resulteert in zeer lage terugvindingen van de inwendige standaarden (zie 7.3). In dat geval wordt de latex/DCM fase na centrifugatie zo goed mogelijk afgezonderd en vervolgens wordt de DCM afgedampt. Het residu wordt vermengd met een voldoende hoeveelheid Na_2SO_4 en gedurende 24 uur aan een soxhletextractie met DCM onderworpen.

In geval van latexhoudende en andere sterk vervuilde afvalwaters verdient het aanbeveling om te vertrekken kleinere monsterhoeveelheden (bv. 50 ml) opdat na opzuivering voldoende zuivere extracten bekomen zouden worden: voeg 10 % isopropanol toe aan het monster (giet ev. eerst over in een ander monsterrecipiënt en spoel de fles na met isopropanol en voeg toe aan het monster), homogeniseer en neem vervolgens een deelmonster. Gevolg is wel dat in dit geval hogere rapportteergrenzen van toepassing gelden.

5.2 Zuivering

Of een zuivering van het monsterextract noodzakelijk is en welke zuivering best wordt toegepast is afhankelijk van de oorsprong van het monster. Propere oppervlaktewaters kunnen doorgaans zonder zuivering geanalyseerd worden en in de meeste gevallen worden met GPC-zuivering reeds goede resultaten bekomen.

5.2.1 Zuivering over een gecombineerde silica/H₂SO₄ – silica/NaOH kolom

Een chromatografiekolom wordt achtereenvolgens gevuld met 1g silica/NaOH 33%1N, 5g silica/H₂SO₄ 44% en 1 cm Na₂SO₄. De kolom wordt gewassen met 12 ml hexaan. Vervolgens brengt men het ingedampde extract op de kolom en laat doordringen, waarna men elueert met 40 ml hexaan. Het volledige eluaat wordt opgevangen.

5.2.2 Zuivering over alumina (zie ISO 22032)

Een chromatografiekolom wordt achtereenvolgens gevuld met 1-2 cm Na₂SO₄, 25g aluminiumoxide en 1-2 cm Na₂SO₄. Het ingedampde extract wordt met hexaan verdund tot 10 ml en vervolgens op de kolom gebracht. Men elueert met 150 ml n-hexaan:DCM 98:2 voor de verwijdering van koolwaterstoffen en vervolgens met 200 ml n-hexaan:DCM 1:1 voor de vrijstelling van de brandvertragers.

5.2.3 Zuivering met gel permeatie chromatografie

Controleer vooraf aan de hand van een geschikte standaardoplossing en een UV detector de goede werking van de GPC-kolom.

De GPC-zuivering kan rechtstreeks gebeuren vertrekkend van het ingedampde monsterextract ofwel uitgaande van het eluaat van de kolomzuivering. Damp het eluaat van de kolomzuivering in tot ca 0.5 ml en verdun tot 1-2 ml met het voorgeschreven solvent van de GPC zuivering.

Injecteer, elueer doorheen de GPC kolom en vang de fractie op die de BDE congenen, HBCD en DBDPE bevat.

5.3 Finale concentrering en toevoeging van de recovery standaard

Het extract, het eluaat van de kolomzuivering of de opgevangen GPC fractie wordt onder een stikstofstroom / vortexstroom ingedampt tot 1-2 ml. Het concentraat wordt vervolgens overgebracht naar een meetflesje geschikt voor de GC-auto-injector, waarin vooraf als 'keeper' 100-500 µl nonaan (of iso-octaan of toluen) werd gebracht. Aan het eindextract wordt een geschikte hoeveelheid recovery standaard toegevoegd.

6 GC-MS ANALYSE

6.1 Meting

De extracten en de meetstandaarden worden geanalyseerd met gaschromatografie met massaspectrometrische detectie.

In geval van een on-column of een PTV-type gesimuleerde on-column injector gebeurt de injectie bij een temperatuur lager dan het kookpunt van het solvent. Typisch wordt 1 µl van het extract geïnjecteerd.

De scheiding gebeurt op een apolaire korte kolom (zie 3.). Het is belangrijk de verblijftijd in de kolom kort te houden, bij een oventemperatuur die maximaal 310°C bedraagt. De detectie gebeurt met een quadrupool, sector of ion trap massaspectrometer in electron impact modus (EI) of in electron capture negatieve ionisatie modus (ECNI). Desgevallend kan gekozen worden voor een MS/MS benadering.

De typische werkvoorwaarden voor de bepaling van PBDE, DBDPE en HBCD zijn opgenomen in de tabel 1. De bijhorende chromatogrammen van standaardoplossingen zijn weergegeven in de figuur 1.

Indien de bovenste lineaire grens van de detector overschreden is (zie 8.1), dan wordt het extract verdund en opnieuw gemeten; indien de verdunning tot gevolg zou hebben dat de interne standaarden niet goed meer kunnen gemeten worden dan wordt aan het verdund extract een extra hoeveelheid interne standaard toegevoegd.

6.2 Identificatie

De aanwezigheid van de PBDE-congeneren, DBDPE en HBCD in de afvalwaters wordt bevestigd op basis van de onderstaande gegevens en criteria:

- de registratie van pieken, met een signaal-ruisverhouding groter dan 3, bij de geselecteerde massa's van het moleculair ion of van een molecuulfragment;
- een isotoopverhouding die maximaal 15% afwijkt van de theoretische verhouding voor zover de signaal-ruisverhouding groter is dan 10; in geval van een full scan opname moet de volledige overeenkomstige isotoop cluster waarneembaar zijn
- in geval van een MS/MS opname, de registratie van pieken bij de karakteristieke massa's van de geselecteerde dochterionen;
- de retentietijd (bij maximum piekhoogte) die niet meer dan 0.03 min mag afwijken van de retentietijd opgenomen voor de kalibratiestandaard.

6.3 Kalibratie en kwantificatie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende PBDE congenen en HBCD gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt elke component gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde isotoopgemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd.

De kwantificatie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren:

- Aan de hand van de relatieve responsfactor (RRF), bepaald met één kalibratie-oplossing. Deze werkwijze kan gevolgd worden indien de RRFen binnen bepaalde grenzen constant zijn over het meetgebied. Hierbij wordt minstens aan het begin en op het einde van elke analysereeks, en verder om een welbepaald aantal preparaten (max. 10) een kalibratie-oplossing geïnjecteerd. De concentraties van de PBDE congenen, DBDPE en HBCD in deze kalibratie-oplossing liggen ongeveer in het midden van het lineair

gebied of zijn representatief voor de verwachte monsterconcentraties. De RRF van elke te bepalen verbinding wordt vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten en concentraties van de natieve verbinding en de overeenkomstige interne standaard:

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

met		
RRF _i	=	relatieve responsfactor van de broomverbinding i
A _i	=	piekoppervlakte van de broomverbinding i bij injectie van de kalibratie-oplossing
C _i	=	concentratie (in ng/ml) van de broomverbinding i in de kalibratie-oplossing
C _{IS}	=	concentratie (in ng/ml) van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing
A _{IS}	=	piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing

De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 kalibratie-oplossingen waartussen het staal geïnjecteerd werd. De RRFen van de 2 kalibratie-oplossingen mogen niet meer dan 10 % van dat gemiddelde afwijken.

- Aan de hand van kalibratierechten. In dit geval worden aan het begin van de analysereeks minimaal 3 kalibratie-oplossingen geanalyseerd met concentraties verspreid over het lineair gebied. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van te bepalen verbindingen en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt d.m.v. lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend. De correlatiecoëfficiënt dient groter te zijn dan 0.995 en de afwijking van elk punt tot de rechte mag niet meer dan 10% bedragen. Om een welbepaald aantal preparaten (max. 10) wordt een kalibratie-oplossing geïnjecteerd om de geldigheid van de kalibratierechte te controleren; deze standaard mag maximaal 15% afwijken van de rechte.

$$\frac{A_i}{A_{IS}} = a \frac{C_i}{C_{IS}} + b$$

- Aan de hand van kwadratische curven. Indien bij de lineariteitstest gebleken is dat er geen lineair maar een kwadratisch verband is tussen concentratie en respons, dan kunnen kwadratische curven gebruikt worden voor de kalibratie. Daartoe worden aan het begin van de analysereeks minimaal 5 kalibratie-oplossingen geanalyseerd met concentraties verspreid over het meetgebied. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de te bepalen verbindingen en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt d.m.v. kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend. De correlatiecoëfficiënt dient groter te zijn dan 0.995 en de afwijking van elk punt tot de curve mag niet meer dan 10% bedragen. Om een welbepaald aantal preparaten (max. 10) wordt een kalibratie-oplossing geïnjecteerd om de geldigheid van de kalibratiecurve te controleren; deze standaard mag maximaal

10% afwijken van de curve. Indien de kalibratieoplossingen de volledige procedure doorlopen (dwz.extractie, GPC,...) dan mogen deze maximaal 20% afwijken.

Opmerking:

Voor de berekening van de terugvinding van de interne standaarden wordt doorgaans de RRF-methode toegepast, waarbij de RRF van een interne standaard bepaald wordt t.o.v. de overeenkomstige ‘recovery’-standaard met onderstaande formule:

$$RRF_{is} = \frac{A_{is} \cdot C_{RS}}{A_{RS} \cdot C_{is}}$$

met

- RRF_{is} = relatieve responsfactor van de interne standaard
- A_{is} = piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van de kalibratie-oplossing
- C_{is} = concentratie (in ng/ml) van de interne standaard in de kalibratie-oplossing
- C_{RS} = concentratie (in ng/ml) van de overeenkomstige recoverystandaard in de kalibratie-oplossing
- A_{RS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige recoverystandaard bij injectie van de kalibratie-oplossing

7 BEREKENINGEN

7.1 Gehalte van de PBDE-congeneren, DBDPE en HBCD in het watermonster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakten van de te bepalen verbinding en de overeenkomstige interne standaard in de resp. ionchromatogrammen van het monsterpreparaat en rekening houdend met de staalinname kan de concentratie van de verbinding in het monster berekend worden.

Onderstaande formules geven de berekening weer in geval de kalibratie gebaseerd is op RRFen resp. kalibratierechte:

$$C_i = \frac{A_i \cdot g_{IS}}{A_{IS} \cdot < RRF_i > \cdot V}$$

$$C_i = \left(\frac{\frac{A_i}{A_{IS}} - b}{a} \right) * \frac{g_{IS}}{V}$$

met

- C_i = het gehalte in $\mu\text{g/l}$ van de broomverbinding i in het monster
 A_i = piekoppervlakte van de broomverbinding i bij injectie van het preparaat
 A_{IS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard bij injectie van het preparaat
 g_{IS} = hoeveelheid in ng van de overeenkomstige interne standaard toegevoegd aan het monster
 $\langle RRF_i \rangle$ = de gemiddelde relatieve responsfactor voor de broomverbinding i uitgaande van twee injecties van de kalibratieoplossing, voorafgaand aan en volgend op het monsterpreparaat
 V = het volume aan extractie onderworpen watermonster in ml
 a, b = coëfficiënten van de kalibratierechte

Opm.: In het geval de kalibratie gebaseerd is op een lineaire of kwadratische kalibratievergelijking zal voor de bepaling van de gehalten gewoonlijk gebruik gemaakt worden van de kwantificatiesoftware van het apparaat.

7.2 Aantoonbaarheidsgrenzen voor niet-gedetectede broomverbindingen 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-gedetectede broomverbindingen worden “<”-waarden gerapporteerd overeenkomend met of groter dan 2 keer de aantoonbaarheidsgrenzen. De aantoonbaarheidsgrenzen dienen kleiner te zijn dan de helft van de gevraagde rapporteergrenzen.

Voor de bepalingswijze van de aantoonbaarheidsgrenzen wordt verwezen naar de validatieprocedure van het WAC.

7.3 Recuperatierendementen van de interne standaarden

Voor elk monster worden de recuperatierendementen van de interne standaarden, d.i. de experimenteel teruggevonden hoeveelheid van elk van de bij het begin van de analyse toegevoegde interne standaard, bepaald. Dit gebeurt t.o.v. de 'recovery' standaard, volgens onderstaande formule:

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

met

- $R\%$ = % 'recovery'
 A_{IS} = piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van het preparaat
 A_{RS} = piekoppervlakte van de 'recovery' standaard bij injectie van het preparaat
 g_{RS} = hoeveelheid (in ng) van de 'recovery' standaard toegevoegd aan het preparaat bij het einde van de opwerking

g_{IS} = hoeveelheid (in ng) van de interne standaard toegevoegd aan het watermonster bij het begin van de opwerking
<RRF_{IS}>= gemiddelde relatieve responsfactor van de interne standaard t.o.v. de 'recovery'-standaard, bepaald aan de hand van de kalibratie-standaardoplossingen

8 KWALITEITSCONTROLE

8.1 Responslineariteit

Voor de werkwijze voor de bepaling van de lineariteit wordt verwezen naar de validatieprocedure van het WAC. Een controle van de lineariteit wordt uitgevoerd bij elke ernstige instrumentele ingreep. Indien niet aan lineariteit is voldaan mag overgeschakeld worden op een andere (bv. kwadratische) functie.

8.2 Chromatografische scheiding

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritisch paar in het chromatogram van de kalibratie-oplossing. Een voorbeeld van een kritisch paar op een DB5-HT is BDE-47 en BDE-66. Het gaschromatografisch scheidingspercentage (hoogte vallei / hoogte laagste piek) dient hiervoor kleiner te zijn dan 10% (beide componenten dienen in ongeveer gelijke concentraties aanwezig te zijn in het kalibratiemengsel). De keuze van het kritisch paar en het scheidingscriterium zijn afhankelijk van de gekozen kolom.

Alternatief kan de kolomkwaliteit opgevolgd worden aan de hand van een voor een congenerenpaar berekend scheidingsgetal.

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 broomverbindingen 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 rapportteergrens kan gehaald worden.

8.4 Controle op de kalibratie

Voor de controle op de kalibratie wordt verwezen naar 6.3.

8.5 Procedureblanco

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

Om de terugvinding en de reproduceerbaarheid te controleren wordt op regelmatige basis een controlemonster geanalyseerd. Dit is bij voorkeur een gecertificeerd materiaal, maar er mag ook gebruik gemaakt worden van een gedopeerd monster. De terugvindingen moeten gelegen zijn tussen 75% en 125%. Van minstens 3 broomverbindingen verspreid over het ganse retentietijdsgebied worden de gehalten opgetekend in controlekaarten. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

8.7 Recuperatierendementen van de interne standaard

Verantwoorde kwantificering wordt bekomen indien de recuperatierendementen van de inwendige standaarden, zoals gedefinieerd in 7.3, minimaal 30 % bedragen. Lagere recuperatierendementen zijn toegestaan op voorwaarde dat voldoende signaal-ruisverhouding bekomen wordt om aan de vereiste rapporteergrens te voldoen. Voor de non-deca-PBDE congenen kan een bovengrens van 130% vastgelegd worden. Hogere terugvindingen kunnen te wijten zijn aan interferenties op het specifiek ion van de interne standaard; in dat geval wordt een andere interne standaard gebruikt voor de kwantificering (bij voorkeur een interne standaard die qua retentietijd het dichtst bij de betreffende broomverbinding ligt).

Opm.: Voor ¹³C-BDE-209, ¹³C-DBDPE en ¹³C-HBCD wordt vastgesteld dat de respons toeneemt met toenemende concentratie aan natieve verbinding. Voor ¹³C-BDE-209, ¹³C-DBDPE en ¹³C-HBCD zijn terugvindingen hoger dan 130% dus mogelijk maar in dat geval dient geëvalueerd te worden of de verhoogde terugvinding een gevolg is van de aanwezigheid van natieve verbinding in het monster dan wel veroorzaakt wordt door interferentie.

9 VEILIGHEID

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.

10 REFERENTIES

ISO/DIS 22032:2004 Water quality – Determination of selected polybrominated diphenyl ethers in sediment and sewage sludge – method using extraction and gas chromatography/mass spectrometry

EPA 1614: Brominated diphenyl ethers in water, soil, sediment and tissue by HRGC-HRMS, draft 2003

Tabel I: Typische GC-MS werkvoorwaarden voor de bepaling van PBDE en HBCD

Voorbeeld 1: GC-EI-MS

Kolom: DB5-HT, 15 m x 0.25 mm x 0.1 µm

Voorkolom: Restek, siltek deactivated guard kolom 2m, 0.53mm

Draaggas en druk : Helium, constant flow 1.0 ml/min

Injectie :

Modus : on-column
 Injectietemperatuur : 143 °C (begin temperatuur)
 Injectievolume : 1 µl
 Temperatuursprogrammatie: idem als oven

GC-oven programmatie :

143°C (3 min) → 300°C (20°C/min, dan 9 min) → 340°C (60°C/min, dan 0.5 min)

EI-MS-instellingen:

Transfer line temperatuur: 290 °C
 Brontemperatuur : 280 °C
 EI energie: 70 eV

m/z-waarden en isotoopverhoudingen:

	LRMS	HRMS	MS/MS (ion trap)
BDE-28	405.8 (100) 407.8 (97)	405.8026 (100) 407.8006 (97)	406->242-254
BDE-47	323.9 (51) 325.9 (100)	483.7131 (68) 485.7111 (100)	486->320-332
BDE-99	403.8 (100) 405.8 (98)	563.6215 (100) 565.6195 (98)	564->398-410
BDE-100	id	id	id
BDE-153	481.7 (68) 483.7 (100)	481.6975 (68) 483.6955 (100)	644->478-490
BDE-154	id	id	id
BDE-183	561.6 (100) 563.6 (98)	561.6060 (100) 563.6040 (98)	564->448-460
BDE-209	799.3 (100) 801.3 (78)	797.3355 (85) 799.3335 (100)	799->630-650

DBDPE	484.6 (100) 486.6 (98)	484.6032 (100) 486.6012 (98)	?
HBCD	478.8 (69) 480.8 (100)	478.8043 (69) 480.8023 (100)	239
¹³ C-BDE-47	335.9 (51) 337.9 (100)	495.7533 (68) 497.7513 (100)	418->254-266
¹³ C-BDE-99	415.8 (100) 417.8 (98)	575.6619 (100) 577.6599 (98)	498->332-344
¹³ C-BDE-153	493.7 (68) 495.7 (100)	493.7378 (68) 495.7357 (100)	576->410-422
¹³ C-BDE-183	573.6 (100) 575.6 (98)	573.6462 (100) 575.6442 (98)	654->490-502
¹³ C-BDE-209	811.4 (100) 813.4 (78)	811.3914 (100) 813.3893 (78)	811->266-278
¹³ C-DBDPE	491.6 (100) 493.6 (98)	491.6267 (100) 493.6247 (98)	?
¹³ C-HBCD	251.1 (100) 253.1 (98)	251.0838 (100) 253.0818 (98)	?
PCB-209			498
¹³ C-PCB-209	509.7 (100) 511.7 (86)	509.7229 (100) 511.7199 (86)	

Voorbeeld 2: GC-ECNI-MS

Kolom: HT-5 12m x 0.22mm x 0.1µm.

Voorkolom: Varian, Methyl deactivated fused silica tubing 0.53 mm

Draaggas en druk : Helium, programmed flow 1.5 ml/min (8 min), dan toename met 5 ml/min naar 3 ml/min (17 min)

Injectie :

Modus : on-column
 Injectietemperatuur : 60°C
 Injectievolume : 2 µl
 Temperatuurprogrammatie: idem als oven

GC-oven programmatie :

60°C (3 min) → 260°C (50°C/min, 0 min) → 300°C (30°C/min, dan 16 min)

ECNI-MS-instellingen:

Transfer line temperatuur: 310°C
 Brontemperatuur : 180°C
 Ionisatiegas: CH₄ of NH₃ (1.5 ml/min)
 Damping gas flow: 3 ml/min

m/z-waarden:

	quadrupool	ion trap
BDE-28	79 81	[77-83]
BDE-47	79 81	[77-83]
BDE-99	79 81	[77-83]
BDE-100	id	[77-83]
BDE-153	79 81	[77-83]
BDE-154	id	[77-83]
BDE-183	79 81	[77-83]
BDE-209	484.7 486.7	[481-483] + [637-648] + [716-726] + [793-800]
DBDPE	79 81	[77-83]
HBCD	79 81	[77-83]
BDE-77	79 81	[77-83]
BDE-181	79 81	[77-83]
¹³ C-BDE-209	494.7 496.7	[503-506] + [655-662] + [734-741] + [810-818]
DBOFBP		[369.5-385.5] + [449.5-460.5]

Figuur 1:
GC-MS chromatogrammen voor standaardoplossingen van PBDE congenere, HBCD en DBDPE



