

**POLYCHLOORBIFENYLEN EN CHLOORBENZENEN
IN BODEMVERBETERENDE MIDDELEN
ontwerp**

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De hieronder beschreven analysemethode is nieuw.

Deze methode wordt gebruikt voor het bepalen van een aantal polychloorbifenyyl-verbindingen (PCB's) en chloorbenzenen (CBz) in afvalstoffen die in of als meststof of bodemverbeterend middel worden gebruikt zoals compost, digestaten, aanverwante input- en outputstromen van de verwerking van organisch biologisch afval, zuiveringsslib.

In deze procedure wordt een methode beschreven voor de extractie, zuivering en analyse van een aantal polychloorbifenyylverbindingen (PCB's) en chloorbenzenen (CBz).

De methode is gericht op de bepaling van volgende componenten :

Polychloorbifenylen

2,4,4'-trichloorbifenyyl (PCB 28)	2,2',3,4,4',5'-hexachloorbifenyyl (PCB 138)
2,2',5,5'-tetrachloorbifenyyl (PCB 52)	2,2',4,4',5,5'-hexachloorbifenyyl (PCB 153)
2,2',4,5,5'-pentachloorbifenyyl (PCB 101)	2,2',3,4,4',5,5'-heptachloorbifenyyl (PCB 180)
2,3',4,4',5-pentachloorbifenyyl (PCB 118)	

Chloorbenzenen

1,2,3,4-tetrachloorbenzeen
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen
1,2,3,5-tetrachloorbenzeen
pentachloorbenzeen
hexachloorbenzeen

Deze methode kan gecombineerd worden met de methode voor de bepaling van minerale olie en PAK in bodemverbeterende middelen (CMA/3/W). In dat geval wordt één verzeeping uitgevoerd en het cyclohexaanextract wordt gesplitst in deextracten voor de respectievelijke parameters. Elk deextract moet voldoende staalinname vertegenwoordigen zodat de vereiste bepalingsgrenzen gehaald worden.

Opgelet, voor de bepaling van PAK worden de interne standaarden pas toegevoegd aan het extract.

2 PRINCIPE

De stalen worden na verkleining en homogenisatie onderworpen aan verzeeping met ethanolische kaliumhydroxide. De niet verzeefde organische componenten worden gerecupereerd door middel van partitie met cyclohexaan. Stalen met een gehalte droge stof tussen 2% en 10% worden vooraf ingedikt door droging aan de lucht bij 40°C of door vriesdrogen tot een droge stof gehalte bekomen wordt van minstens 10% en hoogstens 70%. Stalen met minder dan 2% droge stof worden rechtstreeks verzeeft en de resultaten worden uitgedrukt op productbasis. Het cyclohexaanextract wordt gezuiverd over een kolommetje met zure en basische silica. De PCB en CBz worden gemeten met een gaschromatograaf (GC), uitgerust met een massaspectrometrische detector (MS). De kwantificering verloopt volgens de interne standaard methode. Daarbij worden isotoop-gemerkte PCB en CBz voor de verzeeping aan het staal toegevoegd. De concentraties van de PCB en CBz worden berekend gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van de meest karakteristieke ionen voor de natieve componenten en de interne standaarden.

3 APPARATUUR EN MATERIALEN

- 3.1 analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0,1 mg
- 3.2 bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0,01 g
- 3.3 refluxopstelling : verwarmingsmantels en waterkoelers
- 3.4 refluxkolven van 250 ml met lange hals
- 3.5 gebruikelijk laboratoriumglaswerk
- 3.6 gekalibreerde puntbuisjes
- 3.7 scheidrechters van 1000 ml
- 3.8 eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet of een Rotavapor
- 3.9 injectiespuiten voor de additie van interne standaard
- 3.10 glazen chromatografische kolommen, lengte 40 cm, interne diameter 30-40 mm, voorzien van een gefritteerde basis en teflonkraan
- 3.13 GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadropool-type en de nodige software. De GC is eventueel uitgerust met een PTV of on-column groot-volume injector.
- 3.14 Fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase (fenylmethylsilicone of overeenkomstige carboraanpolymeer), bv. HT-5, 25 m x 0,22 mm x 0,10 µm

4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 4.1 ethanol, cyclohexaan, hexaan, aceton : residu-analyse kwaliteit
- 4.2 natriumsulfaat (Na₂SO₄): granulair en watervrij; een geopende verpakking wordt uitgegoten in een schaal en bewaard bij 130°C in een droogoven
- 4.3 kaliumhydroxide : pro analyse kwaliteit
- 4.4 ethanolische kaliumhydroxide (2M) : los 112 g KOH op in 100 ml water en leng aan tot 1 liter met ethanol 96%
- 4.5 geconcentreerd zwavelzuur (H₂SO₄) : 95-98%
- 4.6 natriumhydroxide (NaOH) : pro analyse kwaliteit
- 4.7 silica, geactiveerd: een laag van ongeveer 25 mm silica (70-230 mesh, bv Merck Kieselgel 100) wordt in een schaal verwarmd gedurende minstens 16 u op 130°C en vervolgens bewaard bij

- 130°C in de droogoven; voor gebruik laat men de schaal in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen
- 4.8 zure silica (44 % H₂SO₄) : 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
- 4.9 basische silica (33% NaOH) : aan 33,5 g geactiveerde silica wordt 16,5 g 1 N NaOH oplossing toegevoegd en de erlenmeyer wordt luchtdicht afgesloten. Het geheel wordt geschud tot alle agglomeraten verdwenen zijn; bewaar in een afgesloten recipiënt
- 4.10 interne standaardoplossing : bevat minstens 13C-tetrachloorbenzeen en 13C-hexachloorbenzeen en minstens 3 isotoopgemerkte PCB's , gekozen over het volledige retentietijdsgebied, in een concentratie van bv 10 µg/g per component.
- 4.11 kalibratiewerkoplossingen: uitgaande van oplossingen van de natieve en de isotoop-gemerkte PCB's en CBz worden werkoplossingen bereid die de te analyseren componenten bevatten in oplopende concentraties van bv. 0.02 tot 5 µg/g en de interne standaarden in een constante concentratie van bv. 1 µg/g
- 4.12 recoverystandaard: ter controle van de terugvinding van de interne standaarden. Als recoverystandaard kan bv 13C-PCB-178 of dibromobifenyl gebruikt worden

5 MONSTERBEWARING EN –VOORBEHANDELING

Bij de monstername van vloeibare stromen wordt gebruik gemaakt van donkergekleurde glazen recipiënten, afgesloten met glazen stoppen of plastic stoppen met teflon inlage.

Voor de monstername van niet-vloeibare stalen mogen plastic recipiënten gebruikt worden. De stalen worden koel en donker bewaard.

Voor de monstervoorbehandeling wordt ontwerp CMA/5/B.1 gevolgd.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 Verzeping

- Spoel een refluxopstelling (0.5 uur refluxen met ethanol en 0.5 uur met cyclohexaan)
- Weeg in de refluxkolf een hoeveelheid staal overeenkomend met 5 gram (+-0.5 g) droge stof; **van monsters met minder dan 2% droge stof wordt 20 g product ingenomen**
- Dopeer met interne standaarden (typisch wordt ongeveer 1 µg per interne standaard toegevoegd)
- Voeg 50 ml ethanolische kaliumhydroxide (2M) toe en reflux gedurende 2 uur
- Voeg door de koeler 100 ml cyclohexaan toe en laat nog 10 min koken
- Zet de kookplaat af en voeg door de koeler 100 tot 200 ml water toe, sluit de kolf af met een glazen stop en laat 12 uur rusten om een goede fasenscheiding te bekomen
- Neem zoveel mogelijk van de bovenstaande cyclohexaanfase af

6.2 Zuivering van het extract

- Droog de cyclohexaanfase over natriumsulfaat en damp in onder stikstofstroom tot 2 ml; voer daarbij een solventwissel uit naar hexaan

- Vul een glazen chromatografische kolom (i.d. 30-40 mm) met achtereenvolgens 10 g basische silica, 50 g zure silica en 5 g natriumsulfaat
- Spoel de kolom met 30 ml n-hexaan (laat niet droog komen)
- Breng het ingedampt extract op de kolom en elueer met 200 ml hexaan
- Damp het eluaat in tot 1 ml onder stikstofstroom en voeg aan het eindextract de recoverystandaard toe (typisch wordt ongeveer 1 µg toegevoegd)
- Analyseer de PCB's en CBZ met GC/MS

6.3 Meting

Van de preparaten en van de kalibratiewerkoplossing wordt typisch 1 µl splitless of on-column in de gaschromatograaf geïnjecteerd. On column injectie verdient de voorkeur, aangezien endrin en p,p'-DDT ontbinden in een vervuilde liner van een split/splitless injector. Voor deze laatste bedraagt de maximum temperatuur 210°C. Alternatief kan groot-volume injectie met een PTV injector of een on-column injector met solvent vapour exit toegepast worden.

De chromatografische scheiding van de componenten wordt uitgevoerd op een apolaire capillaire kolom met chemisch gebonden fase. De detectie van de componenten gebeurt met een lage resolutie massaspectrometer. De opname van het chromatogram gebeurt, afhankelijk van de gewenste gevoeligheid, in SIM of in Scan modus. Typische GC-MS instellingen voor de analyse zijn weergegeven in bijlage 1.

Uit het totale geregistreerde signaal worden specifieke ionenchromatogrammen van de te analyseren chloorkoolwaterstoffen, de isotoopgemerkte interne standaarden en de recoverystandaard geëxtraheerd. Voor elke verbinding worden 2 ionen gekozen behorende bij de isotoopcluster van het moleculaire ion of een meer intens fragmention. Typische ionenchromatogrammen voor de kalibratieoplossing zijn weergegeven in bijlage 2.

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

6.4 Kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende PCB's en CBz gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt elke component gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde isotoopgemerkte interne standaard die vlak voor de verzeping aan het monster werd toegevoegd.

De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren:

- aan de hand van de relatieve responsfactor (RRF), bepaald met één kalibratieoplossing. 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. 5) een kalibratieoplossing geïnjecteerd. De concentraties van de componenten in deze kalibratieoplossing liggen ongeveer in het midden van het lineair gebied of zijn representatief voor de verwachte monsterconcentraties. De RRFen voor elke te bepalen component worden vervolgens

bepaald uit de verhouding van de oppervlakten en concentraties van de natieve componenten en de overeenkomstige interne standaarden :

$$RRF = \frac{A \cdot C_{IS}}{A_{IS} \cdot C}$$

met

- RRF = relatieve responsfactor van de natieve component
- A = piekoppervlakte van natieve component in de kalibratieoplossing
- C = concentratie van de natieve component in de kalibratieoplossing (µg/ml)
- C_{IS} = concentratie van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratieoplossing (µg/ml)
- A_{IS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratieoplossing

De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 kalibratieoplossingen waartussen het staal geïnjecteerd werd. De RRFen van de 2 kalibratieoplossingen 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 5 kalibratieoplossingen 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 de natieve component en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv 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 15% bedragen (25% voor het laagste punt indien de concentratie in de buurt van de bepalingsgrens ligt). Om een welbepaald aantal preparaten (max. 5) wordt een kalibratie-oplossing geïnjecteerd om de geldigheid van de kalibratierechte te controleren; deze standaard mag maximaal 15% afwijken van de rechte.
- 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 natieve PAK en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv 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. 5) wordt een kalibratie-oplossing geïnjecteerd om de geldigheid van de kalibratiecurve te controleren; deze standaard mag maximaal 10% afwijken van de curve.

Opmerking:

Voor de berekening van de terugvinding van de interne standaarden wordt doorgaans de RRF-methode toegepast, waarbij de RRF van een interne standaard berekend wordt t.o.v. de overeenkomstige recoverystandaard 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 kalibratieoplossing
- C_{is} = concentratie van de interne standaard in de kalibratieoplossing (µg/ml)
- C_{RS} = concentratie van de overeenkomstige recoverystandaard in de kalibratieoplossing (µg/ml)
- A_{RS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige recoverystandaard in de kalibratieoplossing

6.5 Identificatie

De aanwezigheid PCB's en CBz in de stalen 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;
- de retentietijd in het staalchromatogram (RT') t.o.v. kalibratieoplossing (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. In bijlage 3 zijn de karakteristieke m/z van de natieve componenten en de isotoopgemerkte interne standaarden weergegeven, en staat voor elke component een typische overeenkomstige interne standaard vermeld.

6.6 Berekeningen

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakten van de natieve component en de overeenkomstige interne standaard in de resp. ionchromatogrammen van het monsterpreparaat en rekening houdend met de staalinname kan de concentratie van de natieve component in het monster berekend worden. Onderstaande formule geeft de berekening weer in geval de kalibratie gebaseerd is op RRFen :

$$C = \frac{A \cdot g_{IS}}{A_{IS} \cdot \langle RRF \rangle \cdot G}$$

met

- C = het gehalte van de natieve component in het staal in µg/kg ds (of µg/kg product indien het staal minder dan 2% droge stof bevat)
- A = piekoppervlakte van de natieve component bij injectie van het staalpreparaat
- A_{IS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard bij injectie van het staalpreparaat
- g_{IS} = hoeveelheid van de overeenkomstige interne standaard toegevoegd aan het monster voor de verzeeping (ng)
- <RRF > = de gemiddelde relatieve responsfactor voor de natieve component uitgaande van twee injecties van de kalibratieoplossing, respectievelijk voorafgaand aan en volgend op het monsterpreparaat
- G = hoeveelheid staal ingenomen bij de verzeeping (g droge stof of g product indien het staal minder dan 2% droge stof bevat)

Indien de bovenste lineaire grens van de detector overschreden is, 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.

6.7 Kwaliteitscontrole

Responslineariteit

De werkwijze voor de bepaling van lineariteit is beschreven in CMA Deel 6. 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.

Chromatografische scheiding

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritisch paar waaraan een minimum scheidingspercentage kan toegekend worden; bv. voor een HT-5 kolom met specificaties vermeld in bijlage 1 kan voor het kritisch paar PCB-28 en PCB-31 een scheidingspercentage van 50% geeist worden (beide componenten dienen in ongeveer gelijke concentraties aanwezig te zijn in het kalibratiemengsel).

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 PCB's en CBz in het chromatogram van de kalibratieoplossing kan de gevoeligheid van het toestel geverifieerd te worden. Deze moet van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrens kan gehaald worden.

Controle op de kalibratie

Voor de controle op de kalibratie wordt verwezen naar 6.4.

Procedureblanco

Bij elke analysereeks wordt tenminste één procedureblanco geanalyseerd. 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.

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 70% en 130%. Van ten minste 2 PCB's en 1 CBz verspreid over het ganse retentietijdsgebied worden de gehalten opgetekend in controlekaarten. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

Recuperatierendement van de interne standaarden

De terugvinding van elke interne standaard kan bepaald worden aan de hand van het signaal geregistreerd voor de interne standaard en de recoverystandaard :

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

met

- R = terugvinding van de interne standaard (in %)
- A_{IS} = piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van het staalpreparaat
- A_{RS} = piekoppervlakte van de recoverystandaard bij injectie van het staalpreparaat
- g_{RS} = hoeveelheid van de recoverystandaard toegevoegd aan het staalpreparaat (ng)
- g_{IS} = hoeveelheid van de interne standaard toegevoegd aan het extract (ng)
- RRF_{IS} = relatieve responsfactor van de interne standaard tov de recoverystandaard (zie 6.4)

Verantwoorde kwantificering wordt bekomen indien het recuperatierendement van de interne standaarden minimaal 50 % en maximaal 130% bedraagt. 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 dichtst bij de betreffende component ligt). De hoge terugvinding kan echter ook te wijten zijn aan onderdrukking van de overeenkomstige recoverystandaard; in dat geval wordt de terugvinding van de interne standaard berekend tov een andere recoverystandaard.

6.8 Rapportering

Vermeld in het analyseverslag het gehalte van de gedetecteerde verbindingen in mg/kg ds **of in mg/kg product indien het staal minder dan 2% droge stof bevat**. Geef voor de niet gedetecteerde verbindingen de waargenomen aantoonbaarheidsgrenzen op ofwel monstertype afhankelijke rapporteergrenzen.

BIJLAGE 1 Typische GC-MS instellingen voor de analyse van PCB en CBz

Kolomspecificaties : HT-5 of equivalent, 25 m x 0.22 mm x 0.10 µm

GC-instellingen

Draaggas en druk : Helium, 70 kPa

Injectiemodus : on-column

Injectievolume : 1 µl

Interfacetemperatuur : 275°C

MS-instellingen

Brontemperatuur : 250°C

Electronenenergie : 70 eV

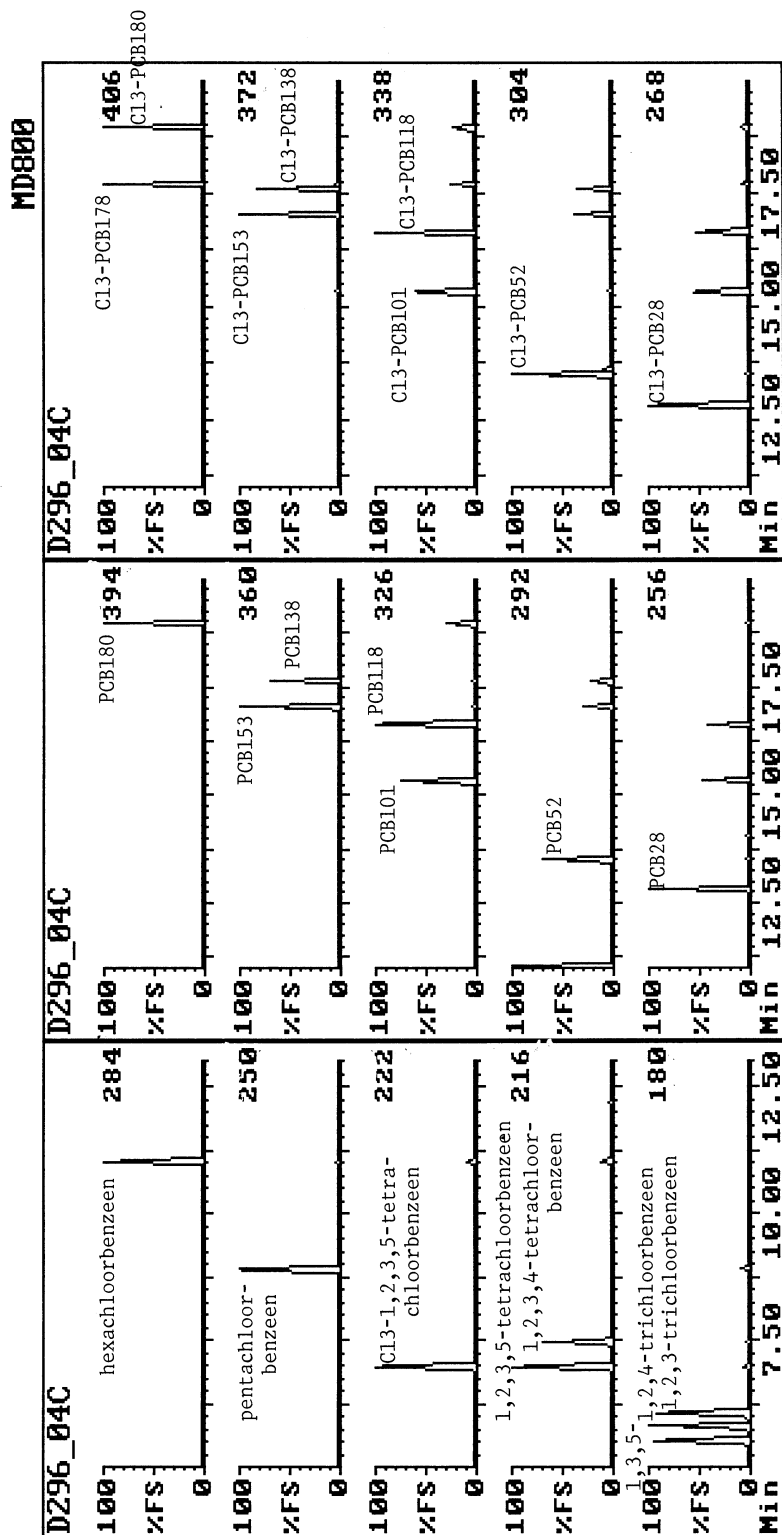
SIM-ionen : zie bijlage 3

Temperatuursprogrammatie GC-oven

155°C, isotherm gedurende 1 min

155°C → 260°C aan 5°C / min (hold 0 min)

260°C → 320°C aan 20°C / min (hold 5 min)

BIJLAGE 2 Typisch totaal ionchromatogram van de kalibratieoplossing

BIJLAGE 3 Karakteristieke m/z van de natieve PCB en CBz en van de isotoopgemerkte interne standaarden; typische overeenkomstige interne standaarden

Verbinding	m/z(1)	m/z(2)	lonen-verhouding	overeenkomstige IS
1,2,3,5-tetrachloorbenzeen	214	216	77/100	13C-tetrachloorbenzeen
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	214	216	77/100	13C-tetrachloorbenzeen
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	214	216	77/100	13C-tetrachloorbenzeen
pentachloorbenzeen	250	252	100/65	13C-tetrachloorbenzeen
hexachloorbenzeen	284	286	100/81	13C-hexachloorbenzeen
PCB 28	256	258	100/98	13C-PCB 28
PCB 52	290	292	77/100	13C-PCB 52
PCB 101	326	328	100/65	13C-PCB 101
PCB 118	326	328	100/65	13C-PCB 118
PCB 153	360	362	100/81	13C-PCB 153
PCB 138	360	362	100/81	13C-PCB 138
PCB 180	394	396	100/98	13C-PCB 180
inwendige standaarden				
13C-1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	224	226	100/22	
13C-hexachloorbenzeen	290	292	100/81	
13C-PCB 28	268	270	100/98	
13C-PCB 52	302	304	77/100	
13C-PCB 101	338	340	100/65	
13C-PCB 118	338	340	100/65	
13C-PCB 153	372	374	100/81	
13C-PCB 138	372	374	100/81	
13C-PCB 180	406	408	100/98	
recovery standaard				
13C-PCB 178	406	408	100/98	