

~~~~~  
***Bepaling van di-2-ethylhexylftalaat en andere  
ftalaten in oppervlaktewater***  
~~~~~

INHOUD

1	TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	OPMERKINGEN	4
4	APPARATUUR EN MATERIAAL	4
4.1	APPARATUUR.....	4
4.2	MATERIAAL.....	4
5	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	5
5.1	REAGENTIA.....	5
5.2	OPLOSSINGEN.....	5
6	PROCEDURE	6
6.1	EXTRACTIE.....	6
6.2	METING.....	6
6.3	IDENTIFICATIE.....	8
6.4	KALIBRATIE EN KWANTIFICATIE.....	8
6.4.1	<i>Kalibratiewerkwijzen</i>	8
6.4.2	<i>Berekening van het gehalte van de ftalaatverbinding in het monster</i>	9
7	KWALITEITSCONTROLE	10
7.1	LINEARITEIT.....	10
7.2	RRF-WAARDEN.....	10
7.3	MINIMUM DETECTEERBARE HOEVEELHEDEN.....	10
7.4	PROCEDUREBLANCO.....	11
7.5	CONTROLEMONSTER.....	11
7.6	TERUGVINDING VAN DE INTERNE STANDAARDEN.....	11
8	VEILIGHEID	11
9	REFERENTIES	11

1 TOEPASSINGSGEBIED

In Bijlage I van het huidige voorstel voor een Richtlijn van het Europees parlement en de Raad inzake milieukwaliteitsnormen op het gebied van het waterbeleid en tot wijziging van Richtlijn 2000/60/EG worden milieukwaliteitsnormen (MKN) voor 33 prioritair stoffen, waaronder di-2-ethylhexylftalaat, en andere verontreinigende stoffen in oppervlaktewateren vermeld.

De vastgelegde milieukwaliteitsnorm voor di-2-ethylhexylftalaat (DEHP) in landoppervlaktewater en andere oppervlaktewateren bedraagt 1,3 µg/L. Rekening houdend met deze MKN mag de gewenste bepalingsgrens (LOQ) van DEHP in oppervlaktewater maximum 30 % van deze MKN bedragen, d.i. 390 ng/L.

Deze procedure beschrijft een methode voor de kwantitatieve bepaling van de onderstaande ftalaten, waaronder di-2-ethylhexylftalaat, in oppervlaktewater met behulp van gaschromatografie-massaspectrometrie:

- dimethylftalaat (DMP)
- diethylftalaat (DEP)
- di-n-butylftalaat (DBP)
- di-isobutylftalaat (DiBP)
- benzylbutylftalaat (BBP)
- di-2-ethylhexylftalaat (DEHP)
- di-n-octylftalaat (DnOP)
- dicyclohexylftalaat (DCHP)

Naast deze ftalaten kan de ontwikkelde methode eveneens gebruikt worden voor de semi-kwantitatieve bepaling van o.a. volgende ftalaten in oppervlaktewater:

- di-isononylftalaat (DiNP)
- di-isodecylftalaat (DiDP)

2 PRINCIPE

De methode voor de bepaling van DEHP en de andere ftalaten in oppervlaktewater is gebaseerd op een vloeistof-vloeistofextractie (LLE) met dichloormethaan, gevolgd door een gaschromatografische scheiding met massaspectrometrische detectie (GC-MS).

Kwantificering van de te bepalen componenten gebeurt aan de hand van de interne standaardmethode. Isotoop gemerkte verbindingen worden voor de extractie aan het staal toegevoegd. Dit laat om te corrigeren voor mogelijke verliezen tijdens de opwerking.

Opmerking: Een alternatieve werkwijze staat beschreven in ISO 18856:2004. Hierbij gebeurt de opwerking van de monsters aan de hand van vaste fase extractie (SPE).

3 OPMERKINGEN

- Voor bewaringscondities en –termijnen wordt verwezen naar de algemene procedure voor watermonsters (WAC/I/A/010).
- Ftalaten zijn alomtegenwoordig in het laboratorium. De contaminatie vanuit de laboratoriumomgeving, zowel in gas- als deeltjesvorm, kan leiden tot overschatte waarden indien geen gepaste maatregelen genomen worden. De blancowaarde bepaalt tegelijk ook de onderste bepalingsgrens. Het beheersen van de blanco is dan ook een conditio sine qua non voor het uitvoeren van betrouwbare en gevoelige analyses van ftalaten in oppervlaktewater.

De volgende maatregelen dienen genomen te worden om de procedureblanco onder controle te houden:

- het gebruik van handschoenen zoveel mogelijk vermijden;
- glaswerk uitglorieien bij 450 °C;
- voor gebruik glaswerk grondig spoelen (2 à 3 keer) met dichloormethaan;
- pasteurpipetten soniceren in dichloormethaan;
- verwijderen van alle naalden bij indampen onder stikstofatmosfeer.
- één GC-MS systeem uitsluitend voor de analyse van ftalaten

Afhankelijk van de omstandigheden in het laboratorium kunnen bijkomende maatregelen ter beheersing van de blanco noodzakelijk zijn.

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. Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet;
- 4.1.4. Gaschromatograaf voor capillaire kolommen, voorzien van een on-column, split/splitless of PTV injector, een MS-detector en een datastation voorzien van de nodige sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur.

4.2 Materiaal

- 4.2.1. Scheitrechter 500-1000 ml voor de vloeistof-vloeistofextractie;
- 4.2.2. Gebruikelijk laboratoriumglaswerk, gereinigd en gespoeld met dichloormethaan;
- 4.2.3. Injectiespuit van vb. 100 µL voor het doperen van de interne standaard ;
- 4.2.4. Penicillineflesjes
- 4.2.5. Pasteurpipetten gesoniceerd in dichloormethaan;
- 4.2.6. Capillaire kolom met apolaire fase, bijvoorbeeld een DB-XLB kolom van 60 m lengte, een interne diameter van 0,25 mm en een filmdikte van 0,25 µm

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 Reagentia

- 5.1.1. Dichloormethaan : residu-analyse kwaliteit
- 5.1.2. Hexaan : residu-analyse kwaliteit
- 5.1.3. Isopropanol : residu-analyse kwaliteit
- 5.1.4. Dimethylftalaat (DMP), diethylftalaat (DEP), di-isobutylftalaat (DiBP), di-n-butylftalaat (DBP), benzylbutylftalaat (BBP), di-2-ethylhexylftalaat (DEHP), di-n-octylftalaat (DnOP), dicyclohexylftalaat (DCHP), di-isononylftalaat (DiNP), diisodecylftalaat (DiDP) : pro analyse (p.a.)
- 5.1.5. d₄-dimethylftalaat (d₄-DMP), d₄-diethylftalaat (d₄-DEP), d₄-di-isobutylftalaat (d₄-DiBP), d₄-di-n-butylftalaat (d₄-DBP), d₄-benzylbutylftalaat (d₄-BBP), d₄-di-2-ethylhexylftalaat (d₄-DEHP), d₄-di-n-octylftalaat (d₄-DnOP) (interne standaarden): 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 natieve ftalaten:
Stockoplossingen van natieve ftalaten (al dan niet afzonderlijke) worden bereid in hexaan of ander alkaan (5.1.2) uitgaande van zuiver standaard materiaal (5.1.4), in een concentratie van bv. 250 mg/L.
- 5.2.2. Stockoplossingen van d₄-gemerkte ftalaten (interne standaarden):
Stockoplossingen van d₄-gemerkte ftalaten (al dan niet afzonderlijke) worden bereid in hexaan of ander alkaan (5.1.2) uitgaande van zuiver standaard materiaal (5.1.5), in een concentratie van bv. 100 mg/L.
- 5.2.3. Kalibratiewerkoplossingen:
De werkoplossingen voor de kalibratie worden gemaakt in dichloormethaan (5.1.1.) uitgaande van de bovenstaande stockoplossingen (5.2.1 tot 5.2.2). De kalibratiewerkoplossingen bevatten de natieve ftalaten in een concentratie variërend van bijvoorbeeld 0,05 mg/L tot 1 mg/L. De concentratie van de interne standaarden is in deze oplossingen constant, bv. 0,5 mg/L.
- 5.2.4. Additie-oplossing van natieve ftalaten:
De additie-oplossing voor aanmaak van het controlemonster wordt bereid in isopropanol (5.1.3) uitgaande van de stockoplossingen (5.2.1). De concentratie van ftalaten bedraagt in deze oplossing bijvoorbeeld 5 mg/L.
- 5.2.5. Additie-oplossing van d₄-gemerkte ftalaten:
Uitgaande van de bovenstaande stockoplossing van d₄-gemerkte ftalaten (5.2.2.) wordt een verdunning gemaakt in isopropanol (5.1.3.) in een concentratie van bijvoorbeeld 5 mg/L.

6 PROCEDURE

6.1 Extractie

- Weeg de monsterfles tot op 0,1 g nauwkeurig.
- Breng het oppervlaktewater (minstens 200 ml) over in een geschikte scheidrechter (4.2.1.).
- Voeg m.b.v. een injectiespuit (4.2.2.) een gekende hoeveelheid van de interne standaarden (5.2.5.) toe aan het oppervlaktewater, bv. 0,5 µg elk.
- Spoel de monsterfles met 20 ml dichloormethaan (5.1.1.) en voeg toe aan de scheidrechter.
- Schud het geheel krachtig gedurende ongeveer 3 min.
- Vang de organische fase op in een monsterflesje.
- Droog met Na₂SO₄ in geval het extract nog water bevat.
- Damp het extract in onder een stikstofstroom tot een eindvolume van ongeveer 1 ml.
- Meet het extract met GC/MS (zie 6.2).

Opm.: In bepaalde gevallen kan het monsterextract onvoldoende zuiver zijn voor een accurate bepaling. Opzuivering van het monsterextract kan gebeuren met gel permeatie chromatografie (GPC). Hiervoor wordt verwezen naar WAC/IV/B/040.

6.2 Meting

De analyse van ftalaten in oppervlaktewater wordt uitgevoerd met GC-MS in de single ion monitoring (SIM) modus.

Typische instellingen van de GC-MS zijn:

- Kolomtype: DB-XLB 60m x 0,25mm x 0,25 µm.
- Draaggas: helium
- Injectievolume: 1 µl (splitless)
- Oventemperatuursprogramma: begintemperatuur: 50 °C gedurende 1 minuut; dan opwarmen tot 320°C tegen 15 °C/min, dan isotherm bij 320 °C gedurende 15 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 149, 153, 167 en 171 m.b.v. het referentiegas (PFTBA).

In de onderstaande tabel zijn de massa's van de karakteristieke ionen voor de natieve en de overeenkomstige gemerkte verbindingen weergegeven.

Tabel 1: Ionen (m/z) voor natieve en d4-gemerkte ftalaten

<i>Parameter</i>	<i>Target ion</i>	<i>Qualifier ion</i>	<i>Retentietijd (min)</i>	<i>Kwantificatie tov</i>
DMP	163	194	13,4	d4-DMP
DEP	149	177	14,6	d4-DEP
DiBP	149	223	16,4	d4-DiBP
DBP	149	223	17,1	d4-DBP
BBP	149	206	19,8	d4-BBP
DEHP	149	167	20,6	d4-DEHP
DCHP	149	167	20,9	d4-DEHP
DNOP	149	279	22	d4-DNOP
DiNP	149	293	~22,5	d4-DEHP
DiDP	149	307	~23,8	d4-DEHP
d4-DMP	167	198	13,4	
d4-DEP	153	181	14,5	
d4-DiBP	153	227	16,4	
d4-DBP	153	227	17,1	
d4-BBP	153	210	19,7	
d4-DEHP	153	171	20,6	
d4-DNOP	153	283	22,0	

Elke meetreeks bestaat uit minstens één solventblanco, de kalibratiewerkoplossingen (5.2.3.), een procedureblanco (een blanco watermonster die de volledige opwerkprocedure ondergaat conform de werkwijze voor monsters), een controlemonster (zie 8) en een beperkt aantal monsters (5-7).

Voor de geïnjecteerde extracten en standaardoplossingen worden ionchromatogrammen gegenereerd en de piekoppervlakten van de kwantificatie-ionen van natieve en d4-gemerkte verbindingen worden bepaald. Relatieve responsfactoren en gehalten worden vervolgens berekend uit de verhouding van deze oppervlakten (zie 6.4)

Opmerkingen:

- In tegenstelling tot de andere ftalaten bestaan DiNP en DiDP uit complexe isomerenmengsels (zie bv. het chromatogram in bijlage 2). De samenstelling hiervan kan verschillend zijn van deze van de kalibratie-oplossing. Hierdoor ontstaat twijfel omtrent het al dan niet interferentievrij zijn van de pieken. De resultaten voor deze ftalaten worden om die reden als semi-kwantitatief gerapporteerd. Aangezien de DiNP en DiDP mengsels niet gescheiden zijn wordt de som gerapporteerd. Ook is de bepalingsgrens voor deze verbindingen gevoelig hoger (tot 50 maal).
- Indien de bovenste lineaire grens van de detector overschreden is (zie 7.1), 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 standaarden toegevoegd. Het resultaat wordt in dat geval gerapporteerd met de vermelding “mogelijk onderschat”.

6.3 Identificatie

De aanwezigheid van een specifieke ftalaat in het monster 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.

6.4 Kalibratie en kwantificatie

De kwantitatieve bepaling van een ftalaat gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt de ftalaatverbinding gekwantificeerd t.o.v. de overeenkomstige isotoopgemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd.

6.4.1 Kalibratiewerkwijzen

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 (zie 7.1 controle van de lineariteit). Hierbij wordt minstens aan het begin en op het einde van elke analysereeks, en verder om een welbepaald aantal preparaten (max. 7) een kalibratie-oplossing geïnjecteerd. De concentratie van ftalaten in deze kalibratie-oplossing ligt ongeveer in het midden van het lineair gebied of is representatief voor de verwachte monsterconcentraties. De RRF van elke ftalaat 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 de relatieve responsfactor van de ftalaatverbinding
- A_i de piekoppervlakte van de ftalaatverbinding bij injectie van de kalibratie-oplossing
- C_i de concentratie (in mg/L) van de ftalaatverbinding in de kalibratie-oplossing
- C_{IS} de concentratie (in mg/L) van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing
- A_{IS} de piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing

De berekening van de concentratie 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 minstens 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 verbinding 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. 7) 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. 7) wordt een kalibratie-oplossing geïnjecteerd om de geldigheid van de kalibratiecurve te controleren; deze standaard mag maximaal 10% afwijken van de curve.

6.4.2 Berekening van het gehalte van de ftalaatverbinding in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakten van de ftalaatverbinding 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:

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

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

met:

C_i	het gehalte van de ftalaatverbinding in het monster, in $\mu\text{g/l}$
A_i	de piekoppervlakte van de ftalaatverbinding in het monsterextract
A_{IS}	de piekoppervlakte van de interne standaard in het monsterextract
g_{IS}	de hoeveelheid van de overeenkomstige interne standaard toegevoegd aan het monster, in μg
$\langle\text{RRF}_i\rangle$	de gemiddelde relatieve responsfactor voor de ftalaatverbinding uitgaande van twee injecties van de kalibratie-oplossing, nl. de laatste voorafgaand aan en de eerste volgend op het monsterpreparaat
V	het volume monster in liter, waaraan de interne standaard toegevoegd werd
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.

Van de berekende gehalten wordt de waarde bekomen voor de procedureblanco (7.4) afgetrokken. De gehalten worden afgerond tot op twee beduidende cijfers.

7 KWALITEITSCONTROLE

7.1 Lineariteit

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.

7.2 RRF-waarden

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

7.3 Minimum detecteerbare hoeveelheden

De minimum detecteerbare hoeveelheid is een maat voor de gevoeligheid van het apparaat. Aan de hand van de signaal-ruisverhouding geregistreerd voor de ftalaatverbinding in het chromatogram van de kalibratiewerkoplossing (bij voorkeur uit het lage concentratiegebied)

kan de gevoeligheid van het toestel geverifieerd te worden. Deze moet van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrens kan gehaald worden.

7.4 Procedureblanco

Bij elke meetreeks 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.

7.5 Controlemonster

Bij elke analysereeks wordt een controlemonster meegenomen. Dopeer met dit doel mineraalwater met de additie-oplossing van ftalaten in isopropanol (5.2.4) en werk op zoals hierboven beschreven.

De terugvinding wordt opgetekend in een controlekaart en moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

7.6 Terugvinding van de interne standaarden

Het goede verloop van de analyse kan gecontroleerd worden aan de hand van de terugvinding van de interne standaard. Het gebruik van een zogenaamde recovery standaard voor de bepaling van het terugvindingsrendement (zie andere WAC/IV/A procedures) kan evenwel verantwoordelijk zijn voor een verhoogde blancowaarde. Best worden de oppervlakten van de interne standaarden bekomen voor de monsters rechtstreeks vergeleken met deze bekomen voor de kalibratie-oplossing(en).

8 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.

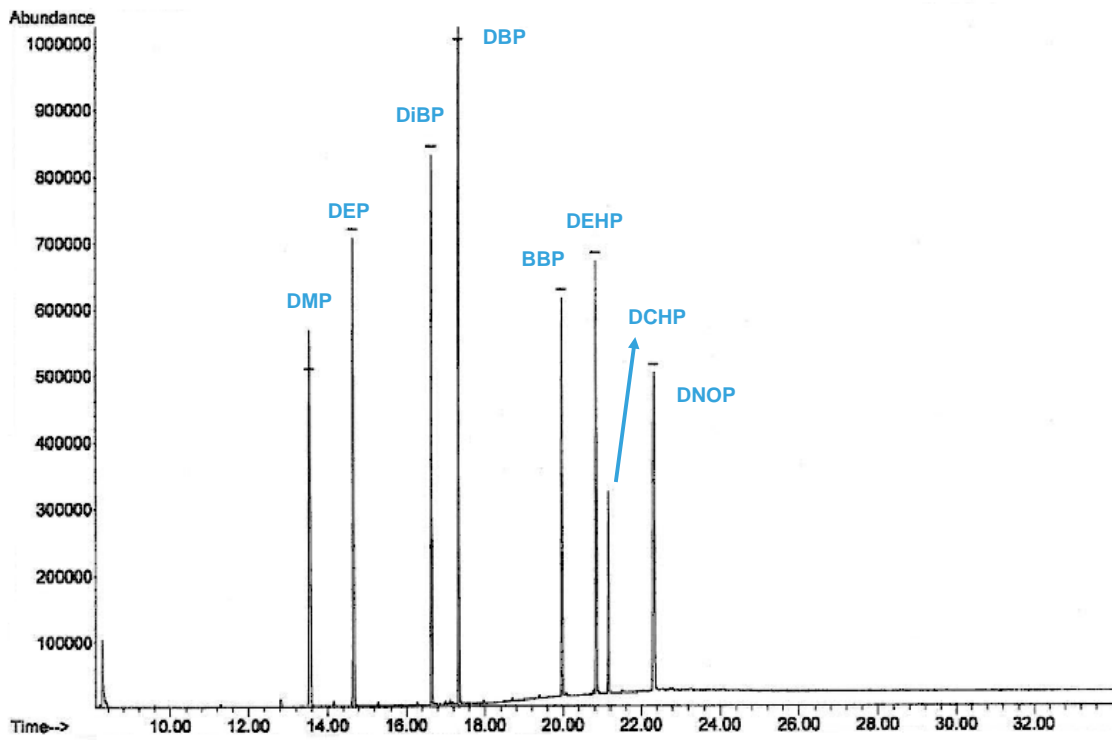
9 REFERENTIES

Richtlijn 2000/60/EG van het Europees Parlement en de Raad inzake Vaststelling van een kader voor communautaire maatregelen betreffende het waterbeleid (Kaderrichtlijn Water)

Richtlijn van het Europees Parlement en de Raad inzake milieukwaliteitsnormen op het gebied van het waterbeleid en tot wijziging van Richtlijn 2000/60/EG

ISO 18856:2004 methode “*Water quality – Determination of selected phthalates using gas chromatography-mass spectrometry*”

BIJLAGE 1: GC-MS chromatogram van een standaardoplossing van ftalaten



BIJLAGE 2: GC-MS chromatogram van een standaardoplossing van DiNP en DiDP

