

Bepaling van fenolische verbindingen in water

INHOUD

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | TOEPASSINGSGEBIED | 4 |
| 2 | PRINCIPE | 4 |
| 2.1 | <i>Extractie</i> | 4 |
| 2.2 | <i>Derivatisering</i> | 5 |
| 2.3 | <i>Zuivering</i> | 5 |
| 2.4 | <i>Analyse</i> | 5 |
| 3 | OPMERKINGEN | 6 |
| 4 | APPARATUUR EN MATERIAAL | 6 |
| 4.1 | <i>Apparatuur</i> | 6 |
| 4.2 | <i>Materiaal</i> | 6 |
| 5 | REAGENTIA en OPLOSSINGEN | 6 |
| 5.1 | <i>Reagentia</i> | 6 |
| 5.2 | <i>Oplossingen</i> | 7 |
| 6 | PROCEDURE | 7 |
| 6.1 | <i>Extractieprocedure</i> | 7 |
| 6.2 | <i>Directe derivatisering</i> | 10 |
| 6.3 | <i>Derivatisering na extractie</i> | 10 |
| 6.4 | <i>GC-MS analyse</i> | 11 |
| 7 | KWALITEITSCONTROLE | 12 |
| 7.1 | <i>Responslineariteit</i> | 12 |
| 7.2 | <i>Gaschromatografische scheiding</i> | 13 |
| 7.3 | <i>Relatieve responsfactoren</i> | 13 |
| 7.4 | <i>Blanco</i> | 13 |
| 7.5 | <i>Minimum detecteerbare hoeveelheden (MDH)</i> | 13 |
| 7.6 | <i>Recuperatierendement</i> | 13 |
| 7.7 | <i>Controlemonster</i> | 14 |
| 8 | BEREKENING | 14 |
| 8.1 | <i>Directe derivatisering</i> | 14 |
| 8.2 | <i>Derivatisering na extractie</i> | 15 |
| 8.3 | <i>Aantoonbaarheidsgrenzen voor de niet-gedetectedeerde fenolen in het monster</i> | 17 |
| 9 | REFERENTIES | 18 |

BIJLAGE 1 : Specifieke ionen voor de fenylacetaatesters _____ 19

BIJLAGE 2 : Typische GC/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van fenolen _____ 21

BIJLAGE 3 : Ionenchromatogrammen van het kalibratie-extract _____ 22

1 TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure **vervangt procedure WAC/IV/A/001 van januari 2013** en beschrijft een methode voor de extractie, derivatisering, zuivering en analyse van fenolen in water. Deze methode is toepasbaar voor oppervlaktewater, grondwater, drinkwater en afvalwater. Tabel 1 geeft een lijst van verbindingen die kunnen bepaald worden met deze methode. Dettol, nonylfenol en bisfenol A behoren niet tot het toepassingsgebied van grondwateranalyse in het kader van bodemonderzoek.

Tabel 1: overzicht van fenolische verbindingen van toepassing voor deze methode

| | |
|--------------------------|-------------------------------------|
| Fenol | 2,6-Dichloorfenol |
| 2-Methylfenol (o-Cresol) | 2,5-Dichloorfenol |
| 3-Methylfenol (m-Cresol) | 2,4-Dichloorfenol |
| 4-Methylfenol (p-Cresol) | 3,5-Dichloorfenol |
| 2,3-Dimethylfenol | 2,3-Dichloorfenol |
| 2,4-Dimethylfenol | 3,4-Dichloorfenol |
| 2,5-Dimethylfenol | 2,4,6-Trichloorfenol |
| 2,6-Dimethylfenol | 2,3,6-Trichloorfenol |
| 3,4-Dimethylfenol | 2,3,5-Trichloorfenol |
| 3,5-Dimethylfenol | 2,4,5-Trichloorfenol |
| 2-Ethylfenol | 2,3,4-Trichloorfenol |
| 3-Ethylfenol | 3,4,5-Trichloorfenol |
| 4-Ethylfenol | 2,3,5,6-Tetrachloorfenol |
| 4-Chloor-3-methylfenol | 2,3,4,6-Tetrachloorfenol |
| 2-Isopropylfenol | 2,3,4,5-Tetrachloorfenol |
| 2,3,5-Trimethylfenol | Pentachloorfenol |
| 2-Chloorfenol | 4-Chloor-3,5-dimethylfenol (dettol) |
| 3-Chloorfenol | Nonylfenol |
| 4-Chloorfenol | Bisfenol A |

De hier beschreven methode is gevalideerd voor de bovenstaande verbindingen. Het toepassingsgebied is mogelijk uit te breiden tot andere fenolverbindingen, zoals nitrofenolen.

Opmerking :

met 'nonylfenol' wordt het mengsel van isomeren bedoeld, met CAS-nummer 84852-15-3.

2 PRINCIPE

2.1 EXTRACTIE

Watermonsters worden na toevoeging van inwendige standaard direct gederiviseerd, met uitzondering van sterk verontreinigde stalen: deze worden eerst geëxtraheerd met dichloormethaan in zuur midden en daarna teruggeëxtraheerd in waterig milieu met base.

2.2 DERIVATISERING

De basisch gemaakte waterstalen of de waterige basische extracten van verontreinigde waterstalen worden gederiviseerd met azijnzuuranhydride, na toevoeging van K_2CO_3 als katalysator. De gevormde fenylacetaatesters worden met hexaan geëxtraheerd.

2.3 ZUIVERING

Na de derivatisering wordt het hexaanextract gewassen met water om polaire derivatisering-residu's te verwijderen.

2.4 ANALYSE

Aan de ingedampde extracten wordt een recovery standaard toegevoegd. De extracten worden geanalyseerd met een gaschromatograaf uitgerust met een massaspectrometrische detector (GC/MS). De detectie gebeurt in SIM-modus. De identificatie gebeurt aan de hand van de retentietijden in de ionenchromatogrammen en door vergelijking van de relatieve intensiteiten van de m/z signalen van de isotoopclusters. De kwantificering gebeurt door integratie van de piekoppervlakken behorend bij de chromatogrammen van de meest intense ionen. Er wordt gebruik gemaakt van de inwendige standaard methode, waarbij gekende hoeveelheden van ^{13}C of deuterium gemerkte componenten als interne standaard voor de extractie aan het staal worden toegevoegd.

Gezien de beperkte keuze aan gemerkte fenolen moet de kalibratiestandaard de volledige analyse doorlopen. Bij de analyse van verontreinigde waterstalen die eerst aan extractie onderworpen worden, kan het extractierendement van de interne standaarden berekend worden ten opzichte van een zogenaamde controlestandaard. Dit is een standaard die bekomen wordt door een mengsel van de gebruikte interne standaarden te derivatiseren zonder voorafgaandelijke extractie. Minstens vier isotoop-gemerkte fenolen worden als interne standaard gebruikt waarbij de volgende steeds aanwezig zijn: $^{13}C_6$ - of D5- of D6-fenol, D3-2,4-dimethylfenol, $^{13}C_6$ -pentachloorfenol en een andere gemerkte gechloreerde fenol. Bijkomend kan gebruik gemaakt worden van o.a. $^{13}C_6$ -4-chloorfenol, D5-2-chloorfenol, $^{13}C_6$ -2,4-dichloorfenol, $^{13}C_6$ -2,4,5-trichloorfenol, $^{13}C_6$ -2,4,6-trichloorfenol, $^{13}C_6$ -2,3,4,5-tetrachloorfenol, D8-o-cresol. Voor de bepaling van nonylfenol en bisfenol A wordt het gebruik van resp. D4-nonylfenol en D16-bisfenol A als interne standaard aangeraden.

Als recovery standaard komt elke apolaire verbinding in aanmerking die niet in de stalen aanwezig is en vergelijkbare retentietijd heeft als de fenolderivaten. Voorbeelden zijn: $^{13}C_{12}$ -4,4'-dichloorbifenyyl (= $^{13}C_{12}$ -PCB-15), D10-bifenyyl en $^{13}C_6$ -dichloorbenzeen.

Opmerkingen:

- het gebruik van verbindingen zoals D4-dichloorfenol (als interne standaard) of D4-dichloorbenzeen (als recovery standaard) moet vermeden worden wegens interferentie op de ionenclusters door eventueel aanwezige natieve componenten.
- andere extractie-, derivatiserings- en meetmethoden kunnen toegepast worden op voorwaarde dat aangetoond wordt dat de methode voldoet aan de kwaliteitseisen (punt 7). Dit geldt niet voor grondwateranalyse in het kader van bodemonderzoek, waar de acetylering met azijnzuuranhydride verplicht is.

3 OPMERKINGEN

Voor monster conservering en –bewaring wordt verwezen naar WAC/I/A/010. Grondwaterstalen (bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden bij aankomst in het labo opgeschud en men laat de stalen gedurende minstens 4 uur rusten zodat de deeltjes kunnen uitzakken. Aansluitend worden de stalen voorzichtig gedecanteerd. Niet meer dan de helft van de bovenstaande waterlaag wordt gedecanteerd om zo weinig mogelijk deeltjes in bewerking te nemen.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

4.1 APPARATUUR

- 4.1.1 Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
- 4.1.2 Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- 4.1.3 Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 4.1.4 GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadropool-type en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur

4.2 MATERIAAL

- 4.2.1 Scheitrechters (100-250-500-1000 ml)
- 4.2.2 Injectiespuiten van 50 µl voor het doperen met interne standaard en 'recovery' standaard
- 4.2.3 Gegradueerde puntbuizen
- 4.2.4 Pipetten van 1 en 5 ml
- 4.2.5 Maatcilinder (50 ml)
- 4.2.6 Trechters
- 4.2.7 Fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase, bv. DB-XLB; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
- 4.2.8 Injectiespuit van 10 µl
- 4.2.9 Glazen monsterflesjes (penicillineflesjes) van 2 ml

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 REAGENTIA

- 5.1.1 Dichloormethaan, CH₂Cl₂: voor residu-analyse
- 5.1.2 Iso-octaan, (CH₃)₂CHCH₂C(CH₃)₃: pro analyse
- 5.1.3 Iso-propanol, (CH₃)₂CHOH: pro analyse
- 5.1.4 Azijnzuuranhydride, (CH₃CO)₂O: pro analyse
- 5.1.5 Natriumhydroxide (NaOH) : pro analyse, ongeveer 1N (5.1.5.1.) en 10N (5.1.5.2.)
- 5.1.6 Zwavelzuur (H₂SO₄): pro analyse 1N (5.1.6.1.) en 10N (5.1.6.2.)
- 5.1.7 Kaliumcarbonaat (K₂CO₃) : pro analyse, poeder
- 5.1.8 Blanco water: water dat geen fenolische of andere interfererende componenten bevat, bijvoorbeeld mineraalwater
- 5.1.9 n-hexaan, C₆H₁₄: pro analyse
- 5.1.10 Natriumsulfaat, Na₂SO₄: gedroogd

5.2 OPLOSSINGEN

Opmerking:

de hieronder beschreven werkwijze vertrekt van vaste producten waarbij de hoofdstandaarden zelf aangemaakt worden. In de handel zijn echter ook reeds bereide en gecertificeerde oplossingen beschikbaar.

5.2.1. Hoofdstandaardoplossingen van natieve fenolen:

Van elke fenolverbinding wordt vanuit zuiver standaardmateriaal een afzonderlijke hoofdstandaard van 1000 µg/g bereid in iso-octaan (5.1.2.)

5.2.2. Hoofdstandaardoplossingen van deuterium - en ¹³C-gemerkte fenolen:

Er wordt een afzonderlijke hoofdstandaard bereid van 200 µg/g in iso-octaan (5.1.2.), uitgaande van zuiver standaardmateriaal of van oplossingen die verkrijgbaar zijn in de handel

5.2.3. Doperingsoplossing interne standaarden:

Van de hoofdstandaardoplossingen van D - en ¹³C- gemerkte fenolen (5.2.2.) wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan (5.1.2.) die elke component bevat in een concentratie van ongeveer 25 µg/g

5.2.4. Doperingsoplossing kalibratiestandaard:

Van de hoofdstandaardoplossingen van natieve fenolen (5.2.1.) wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan (5.1.2.) die elke verbinding bevat in een concentratie van ongeveer 25 µg/g

5.2.5. Werkoplossingen recovery standaard:

¹³C-12-4,4'-dichloorbifenyyl is in de handel te verkrijgen als een 50 µg/g oplossing in nonaan. Deze wordt verdund tot 20 µg/g in iso-octaan (5.1.2.)

6 PROCEDURE

6.1 EXTRACTIEPROCEDURE

Waterstalen: directe derivatisering

Weinig verontreinigd water (drinkwater, proper grondwater) kan zonder voorafgaandelijk extractie gederivatiseerd worden. Eerst worden de gemerkte interne standaarden toegevoegd en de pH wordt op 7 tot 11 gebracht met NaOH:

- leg de scheidrecter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0.1g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheidrecter. In geval van grondwater (decantatie, cfr supra) wordt maximum de helft van de bovenstaande fase overgebracht in de scheidrecter.
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- ~~breng het monster op pH 7-11 met NaOH 10N~~
- behandel verder zoals beschreven in 6.2

Sterk verontreinigde waterstalen

Waterstalen die niet direct gederiviseerd kunnen worden omwille van matrixinterferenties worden eerst zuur geëxtraheerd met dichloormethaan, waarna de fenolen teruggeëxtraheerd worden met een NaOH-oplossing. Merk op dat nonylfenol met onderstaande procedure niet geanalyseerd kan worden.

- leg de scheidrecter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0.1g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheidrecter. In geval van grondwater (decantatie, cfr supra) wordt maximum de helft van de bovenstaande fase overgebracht in de scheidrecter.
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H₂SO₄ 10N
- spoel de monsterfles na met 40 ml dichloormethaan en breng de spoelvoestof over naar de scheidrecter
- schud het geheel krachtig gedurende ca 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de dichloormethaanfase op in een tweede scheidrecter
- extraheer de waterfase nog minstens 1 keer met 30 ml dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug uit de verzamelde dichloormethaanfasen met drie keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.3

Opmerking

Alternatief kunnen sterk verontreinigde waterstalen vooraf gewassen worden met dichloormethaan :

- leg de scheidrecter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0,1 g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheidrecter
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- breng het monster op een pH tussen 12 en 13 met NaOH 10N
- spoel de monsterfles na met 40 ml dichloormethaan en breng de spoelvoestof over naar de scheidrecter
- schud het geheel krachtig gedurende ca. 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de waterfase op in een tweede scheidrecter
- behandel verder zoals beschreven in 6.2

Kalibratiestandaard voor waterstalen (directe derivatisering)

- leg de scheidrecter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- voeg 500 ml blanco water toe
- ~~breng het monster op pH 7-11 met NaOH 10N~~
- behandel verder zoals beschreven in 6.2

Kalibratiestandaard voor waterstalen (derivatisering na extractie)

- leg de scheidrecter plat en breng enkele ml isopropanol in de bol van de scheidrecter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H₂SO₄ 10N
- voeg 40 ml dichloormethaan toe
- schud het geheel krachtig gedurende ca 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de dichloormethaanfase op in een tweede scheidrecter
- extraheer de waterfase nog minstens 1 keer met 30 ml dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug uit de verzamelde dichloormethaanfasen met drie keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de resulterende NaOH-oplossing zoals beschreven in 6.3

Opmerking

Indien de alternatieve procedure voor sterk verontreinigde waterstalen toegepast werd (wassing met dichloormethaan), wordt de kalibratiestandaard aangemaakt als volgt :

- leg de scheidrecter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheidrecter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- breng het monster op een pH tussen 12 en 13 met NaOH 10N

- breng 40 ml dichloormethaan over naar de scheitrechter
- schud het geheel krachtig gedurende ca. 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de waterfase op in een tweede scheitrechter
- behandel verder zoals beschreven in 6.2

Controlestandaard waterstalen (derivatisering na extractie)

- leg de scheitrechter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg 60 ml NaOH 1N toe
- behandel verder zoals beschreven onder 6.3

6.2 DIRECTE DERIVATISERING

- breng het monster op pH 7-12 met H₂SO₄ 10N of NaOH 10N

Opmerking:

-pH 7 bevordert de derivatisering van chloorfenolen, terwijl pH 11-12 de derivatisering van alkylfenolen bevordert. De pH-waarde mag gekozen worden in functie van de beoogde parameters

- voeg aan het **geneutraliseerde** monster 2,5 g K₂CO₃ toe (0.5g/100 ml)
- derivatiseer de fenolen door aan de waterfase 1 ml azijnzuuranhydride toe te voegen
- schud krachtig gedurende 4 min. en laat 10 min. rusten
- extraheer de fenolderivaten met 50 ml hexaan; schud krachtig gedurende 4 min.
- laat de waterfase af en was de hexaafase met enkele ml blanco water
- laat de hexaafase af over een filter gevuld met Na₂SO₄ in een geïmpregneerde puntbuis
- damp in onder een stikstofstroom tot 1 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de werkoplossing recovery-standaard toe, zodanig dat de concentratie in het eindextract ongeveer 500 ng/g zal bedragen

6.3 DERIVATISERING NA EXTRACTIE

- breng de NaOH-oplossing (na extractie 6.1.) op pH 7 - 12 met H₂SO₄

Opmerkingen:

-pH 7 bevordert de derivatisering van chloorfenolen, terwijl pH 11-12 de derivatisering van alkylfenolen bevordert. De pH-waarde mag gekozen worden in functie van de beoogde parameters

-bij een te hoge pH-waarde zal de derivatiseringsreactie niet doorgaan; het is absoluut noodzakelijk om de NaOH oplossing te neutraliseren

- voeg aan de 60 ml NaOH-oplossing 0.5 g K₂CO₃ toe

- derivatiseer de fenolen door aan de waterfase 1 ml azijnzuuranhydride toe te voegen
- schud krachtig gedurende 4 min. en laat 10 min. rusten
- extraheer de fenolderivaten met 5 ml hexaan; schud krachtig gedurende 4 min
- laat de waterfase af en was de hexaanfase met enkele ml blanco water
- laat de hexaanfase af over een filter gevuld met Na₂SO₄ in een geïnduceerde puntbuis)
- damp in onder een stikstofstroom tot 1 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de werkoplossing recovery-standaard toe, zodanig dat de concentratie in het eindextract ongeveer 500 ng/g zal bedragen

6.4 GC-MS ANALYSE

Meting

De staalextracten, het extract van de kalibratiestandaard en het extract van de controlestandaard worden geanalyseerd met GC-MS. Daarbij wordt 1 µl splitless in de gaschromatograaf geïnjecteerd. Alternatieve injectietechnieken zoals on-column of groot-volume injectie kunnen toegepast worden, eventueel met aanpassing van de concentraties van kalibratiestandaard, recoverystandaard en interne standaarden. De chromatografische scheiding van de componenten wordt normaal uitgevoerd op een apolaire capillaire kolom met chemisch gebonden fase.

De detectie van de componenten gebeurt met een lage resolutie massaspectrometer. De massaspectrometer wordt ingesteld naar maximale respons voor de ionen 131, 219, 264 en 414 m.b.v. het referentiegas PFTBA. De opname van het chromatogram gebeurt in SIM met selectie en registratie van de karakteristieke ionen (bijlage 1). De typische GC-MS werkvoorwaarden voor de analyse zijn weergegeven in bijlage 2.

Uit het totale geregistreerde signaal worden specifieke ionenchromatogrammen van de te analyseren fenolen, de isotoopgemerkte interne standaarden en de recoverystandaard geëxtraheerd. Voor elke verbinding worden 2 ionen gekozen behorende bij de isotoop cluster van het moleculaire ion of een meer intens fragment. Typische ionenchromatogrammen zijn voor de kalibratie-oplossing weergegeven in bijlage 3.

Kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende fenolen gebeurt volgens de zgn. interne standaardmethode. Hierbij wordt elke verbinding gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde isotoopgemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd. Voor de keuze van de inwendige standaarden zie bijlage 1.

Minstens in het begin en aan het einde van elke analysereeks, en verder om een welbepaald aantal preparaten (bv. 8), wordt het kalibratie-extract (5.2.4.) geïnjecteerd. Van elke verbinding, natief of gemerkt, wordt de piekoppervlakte in het overeenkomstige meest intense ionenchromatogram gemeten.

Relatieve responsfactoren voor elke te bepalen fenolverbinding worden vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten van de natieve componenten en de overeenkomstige interne standaarden (zie punt berekeningen).

In geval van derivatisering na extractie wordt het extract van de controlestandaard geïnjecteerd aan het begin van de meetreeks. Hiermee worden de relatieve responsfactoren van de isotoop-gemerkte

interne standaarden bepaald uit de verhouding van de oppervlakten van de interne standaarden en de recoverystandaard (zie punt berekeningen).

Identificatie

De aanwezigheid van natieve fenolen in de monsters wordt bevestigd op basis van de onderstaande gegevens en criteria:

- de registratie van een piek bij de karakteristieke m/z, met piekhoogte groter dan 3 keer de ruishoogte (helpt van de 'peak-to-peak' ruis)
- de retentietijd in monster (RT') t.o.v. kalibratie-oplossing (RT), waarbij een maximale afwijking van 5 sec, vermeerderd met de waargenomen verschuiving voor de overeenkomstige interne standaard, wordt gehanteerd $[RT + \Delta RT(IS) - 5 \text{ sec} \leq RT' \leq RT + \Delta RT(IS) + 5 \text{ sec}]$

De identificatie van interne standaarden is eveneens gebaseerd op de bovenstaande criteria.

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

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

Kwantificering

Voor de monsterextracten worden de ionenchromatogrammen geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Van de geïdentificeerde fenolen worden de piekoppervlakten behorende bij het meest intense ion berekend. Uitgaande van de integratiewaarden voor het monster en de relatieve responsfactoren bepaald voor de kalibratiestandaard worden de gehalten van de verschillende verbindingen in het monster berekend (zie punt berekeningen).

De terugvindingen van de inwendige standaarden worden berekend aan de hand van hun relatieve responsfactor (zie punt berekeningen).

7 KWALITEITSCONTROLE

7.1 RESPONSLINEARITEIT

Het lineaire bereik van de detectorrespons wordt geverifieerd door derivatisering van verschillende standaarden met wisselende hoeveelheden natieve fenolen en een constante hoeveelheid aan inwendige standaarden. De standaardreeks wordt aangemaakt door verschillende hoeveelheden van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe te voegen aan 60 ml blancowater. De oplossingen worden gederivatiseerd zoals bescheven in 6.2.

Een controle van de lineariteit wordt uitgevoerd na elke reiniging van de MS-bron of bij een andere ernstige instrumentele ingreep.

Opmerking:

stelt men bij de monsteranalyse een overschrijding van de bovenste lineaire grens vast, d.i. de hoogste geregistreerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden uitgaande van een met hexaan verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de inwendige standaarden nog voldoende intens is, of uitgaande van een geringere hoeveelheid monster.

7.2 GASCHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritisch paar, bijvoorbeeld 2,3,5,6-tetrachloorfenylacetaat en 2,3,4,6-tetrachloorfenylacetaat in het chromatogram van het kalibratie-extract. De scheiding dient volledig te zijn tot aan de basislijn.

7.3 RELATIEVE RESPONSFACTOREN

Binnen eenzelfde analysereeks mogen de relatieve responsfactoren bekomen voor twee opeenvolgende injecties van de kalibratiestandaard (met tussentijdse analyse van monsterpreparaten) niet meer dan 20 % van mekaar afwijken.

7.4 BLANCO

Bij elke analysereeks wordt tenminste één procedureblanco bepaald. Hierbij wordt de volledige analyseprocedure gevolgd met HPLC water. Het geregistreerde chromatogram dient vrij te zijn van interfererende pieken die groter zijn dan 10% van de pieken geregistreerd voor de monsters in de analysereeks. Voor meetwaarden die kleiner zijn dan 5 maal de gevraagde rapporteergrens mogen de interfererende pieken niet groter zijn dan de helft van de gevraagde rapporteergrens.

7.5 MINIMUM DETECTEERBARE HOEVEELHEDEN (MDH)

Aan de hand van het chromatogram van de kalibratiestandaard kan voor elke verbinding de minimum detecteerbare hoeveelheid, in pg, berekend worden:

$$MDH_x = 3 \times \frac{RG_x}{PH_x} \times g_x$$

met

| | |
|------------------|--|
| MDH _x | minimum detecteerbare hoeveelheid, in pg |
| RG _x | de <i>peak-to-peak</i> ruisgrootte aan de voet van de chromatogrampiek van component x |
| PH _x | hoogte van de piek van component x |
| g _x | de hoeveelheid geïnjecteerde component x in pg |

De minimum detecteerbare hoeveelheid moet van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrens kan gehaald worden.

7.6 RECUPERATIERENDEMENT

Matrixeffecten kunnen een invloed hebben op extractie en derivatisering en zullen zich manifesteren door een lager recuperatierendement van de interne standaarden. Verantwoorde kwantificering is slechts dan toegelaten indien het recuperatierendement van de inwendige standaarden **minimaal 50% bedraagt**.

7.7 CONTROLEMONSTER

Op regelmatige basis wordt een controlemonster geanalyseerd. Van ten minste drie fenolen (bij voorkeur fenol, pentachloorfenol en een alkylfenol) worden de gehalten opgetekend in controlekaarten. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

Opmerking:

indien geen gecertificeerd referentiemateriaal beschikbaar is mag gebruik gemaakt worden van een gedopeerd monster.

8 BEREKENING

8.1 DIRECTE DERIVATISERING

Relatieve responsfactor van de natieve fenolen

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de fenolen en de interne standaarden in de respectievelijke ionchromatogrammen van de kalibratiestandaard wordt voor elke fenol de relatieve responsfactor (RRF) met behulp van onderstaande formule berekend.

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \times \frac{C_{IS}}{A_{IS}}$$

met:

| | |
|----------|--|
| RRF_x | relatieve responsfactor van component x |
| A_x | piekoppervlakte van de component x in de kalibratiestandaard |
| C_x | hoeveelheid van de component x gedopeerd in de kalibratiestandaard, in μg |
| C_{IS} | hoeveelheid van de interne standaard gedopeerd in de kalibratiestandaard, in μg |
| A_{IS} | piekoppervlakte van de interne standaard in de kalibratiestandaard |

Relatieve responsfactor van de interne standaarden

In geval van directe derivatisering worden de responsfactoren van de interne standaarden berekend op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaarden en van de recoverystandaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van de kalibratiestandaard. De RRF van elke interne standaard wordt berekend als volgt:

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \times \frac{C_{RS}}{A_{RS}}$$

met

| | |
|----------|--|
| RRF_x | relatieve responsfactor van interne standaard x |
| A_x | piekoppervlakte van de interne standaard x in de kalibratiestandaard |
| C_x | hoeveelheid van interne standaard x gedopeerd in de kalibratiestandaard, in μg |
| C_{RS} | hoeveelheid van de recoverystandaard gedopeerd in de kalibratiestandaard, in μg |

A_{RS} piekoppervlakte van de recoverystandaard in de kalibratiestandaard

Gehalte van de natieve fenolen in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van een component en de inwendige standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van het monster en rekening houdend met de relatieve responsfactor van de beschouwde component, kan de concentratie van de component in het water als volgt berekend worden:

$$C_x = \frac{I}{RRF_x} \times \frac{A_x}{A_{IS}} \times \frac{g_{IS}}{V}$$

met:

- C_x concentratie van component x in het staal ($\mu\text{g/l}$)
 RRF_x relatieve responsfactor van component x
 A_x piekoppervlakte van de component in het monster
 A_{IS} piekoppervlakte van de interne standaard in het monster
 g_{IS} toegevoegde hoeveelheid interne standaard aan het staal (μg)
 V volume monster in liter, waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd (gravimetrisch bepaald met aanname van een dichtheid = 1000 g/l)

Recuperatierendement van de interne standaarden

De terugvinding van een interne standaard in het staaextract wordt berekend uit de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaard en recovery standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen, aan de hand van de relatieve responsfactor van de beschouwde interne standaard:

$$R_x = \frac{I}{RRF_x} \times \frac{A_x}{A_{RS}} \times g_{RS} \times 100$$

met:

- R_x terugvinding van interne standaard x in het extract, in %
 RRF_x relatieve responsfactor van interne standaard x
 A_x piekoppervlakte van interne standaard x in het extract
 A_{RS} piekoppervlakte van de recovery-standaard in het extract
 g_{RS} toegevoegde hoeveelheid recovery-standaard aan het extract, in μg

8.2 DERIVATISERING NA EXTRACTIE

Relatieve responsfactor van de natieve fenolen

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de fenolen en de inwendige standaarden in de respectievelijke ionchromatogrammen van de kalibratiestandaard wordt voor elke fenol de relatieve responsfactor (RRF) met behulp van onderstaande formule berekend.

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \times \frac{C_{IS}}{A_{IS}}$$

met:

- RRF_x relatieve responsfactor voor component x
 A_x piekoppervlakte van de component x in de kalibratiestandaard
 C_x hoeveelheid van de component x gedopeerd in de kalibratiestandaard, in µg
 C_{IS} hoeveelheid van interne standaard gedopeerd in de kalibratiestandaard, in µg
 A_{IS} piekoppervlakte van de interne standaard in de kalibratiestandaard

Relatieve responsfactor van de interne standaarden

Op basis van de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaarden en van de recoverystandaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van de controlestandaard wordt voor elke gemerkte fenol de relatieve responsfactor (RRF) op de volgende wijze berekend:

$$RRF_x = \frac{A_x}{C_x} \times \frac{C_{RS}}{A_{RS}}$$

met:

- RRF_x relatieve responsfactor voor component x
 A_x piekoppervlakte van interne standaard x in de controlestandaard
 C_x hoeveelheid van interne standaard x gedopeerd in de controlestandaard, in µg
 C_{RS} hoeveelheid van de recoverystandaard toegevoegd aan het extract van de controlestandaard, in µg
 A_{RS} piekoppervlakte van de recoverystandaard in de controlestandaard

Gehalte van de natieve fenolen in het monster

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van een component en de interne standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen van het monster en rekening houdend met de relatieve responsfactor van de beschouwde component, kan de concentratie van de component in het monster, uitgedrukt in µg/l, als volgt berekend worden:

$$C_x = \frac{I}{RRF_x} \times \frac{A_x}{A_{IS}} \times \frac{g_{IS}}{V}$$

waarbij:

- C_x concentratie van component x in het staal (µg/l)
 V volume monster in liter, waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd (gravimetrisch bepaald met aanname van een dichtheid = 1000 g/l)
 RRF_x relatieve responsfactor van component x

| | |
|----------|---|
| A_x | piekoppervlakte van de component in het monster |
| A_{IS} | piekoppervlakte van de interne standaard in het monster |
| g_{IS} | toegevoegde hoeveelheid interne standaard aan het staal (μg) |

In het analyseverslag worden de gehalten weergegeven in $\mu\text{g/l}$.

Recuperatierendement van de interne standaarden

De terugvinding van een interne standaard in een staaextract of in het extract van de kalibratiestandaard wordt berekend uit de geïntegreerde piekoppervlakken van de interne standaard en recovery-standaard in de respectievelijke ionchromatogrammen, aan de hand van de relatieve responsfactor van de beschouwde interne standaard:

$$R_x = \frac{I}{RRF_x} \times \frac{A_x}{A_{RS}} \times g_{RS} \times 100$$

met

| | |
|----------|--|
| R_x | terugvinding van interne standaard x in het extract, in % |
| RRF_x | relatieve responsfactor van de interne standaard x |
| A_x | piekoppervlakte van interne standaard x in het extract |
| A_{RS} | piekoppervlakte van de recovery standaard in het extract |
| g_{RS} | toegevoegde hoeveelheid recovery standaard aan het extract, in μg |

Indien door matrixeffecten de terugvinding van de interne standaarden niet voldoet aan de gestelde eis dan moet dit in het verslag vermeld worden.

8.3 AANTOONBAARHEIDSGRENZEN VOOR DE NIET-GEDETECTEERDE FENOLEN IN HET MONSTER

De laagst aantoonbare concentratie die voor de verbindingen in een monster kan gemeten worden is afhankelijk van de gevoeligheid van de detector, de aard van de matrix, de hoeveelheid monster die in behandeling genomen werd, het extractierendement, de efficiëntie van de monsterzuivering, de kwaliteit van de gebruikte reagentia, enz.. Voor de niet-gedetectedeerde verbindingen worden "<"-waarden gerapporteerd overeenkomend met of groter dan de aantoonbaarheids grenzen. De aantoonbaarheids grenzen dienen kleiner te zijn dan de gevraagde rapporteergrenzen.

Een inschatting van de laagst detecteerbare concentratie voor de fenolen in het monster kan gebeuren aan de hand van de ruisgrootte en de piekhoogte van de inwendige standaard.

Voor watermonsters heeft geldt:

$$AG_x = 3 \times \frac{1}{RRF_x} \times \frac{RG_x}{PH_{IS}} \times \frac{g_{IS}}{V} \times f$$

Hierbij zijn:

| | |
|-----------|--|
| AG_x | aantoonbaarheids grens van component x, in $\mu\text{g/l}$ |
| RRF_x | relatieve responsfactor van component x |
| RG_x | de "peak-to-peak" ruisgrootte in het retentietijdsgebied van de component x |
| PH_{IS} | de hoogte van de piek van de overeenkomstige inwendige standaard |
| g_{IS} | toegevoegde hoeveelheid interne standaard, in μg |
| V | volume monster in liter, waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd (gravimetrisch bepaald met aanname van een dichtheid = 1000 g/l) |

f eventuele verdunningsfactor

Opmerking:

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

Voor de niet gedetecteerde verbindingen dienen de waargenomen aantoonbaarheidsgrenzen ofwel monstertype afhankelijke rapporteergrenzen opgegeven te worden.

9 REFERENTIES

- EN 872: 1996; Water Quality – Determination of suspended solids: Method by filtration through glass fibre filters
- EN 12673: 1998; Water Quality – Gas chromatographic determination of some selected chlorophenols in water
- ISO 8165-1: 1992, Water Quality - Determination of selected monovalent phenols (: Gaschromatographic method after enrichment by extraction)
- ISO 8165-2: 1999, Water Quality - Determination of selected monovalent phenols (: Method by derivatisation and gaschromatography)

BIJLAGE 1 : SPECIFIEKE IONEN VOOR DE FENYLACETAATTESTERS

| Komponent | m/z(1) | m/z(2) | Overeenkomstige IS | m/z(1) | m/z(2) |
|----------------------------------|------------|--------|--|------------|------------|
| fenol | 94 | 66 | ¹³ C ₆ -fenol | 100 | 70 |
| 2-methylfenol | 107 | 108 | D ₈ -2-methylfenol | 113 | 115 |
| 3-methylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 4-methylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 2,3-dimethylfenol | 107 | 108 | D ₃ -2,4-dimethylfenol | 109 | 110 |
| 2,4-dimethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 2,5-dimethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 2,6-dimethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 3,4-dimethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 3,5-dimethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 2-ethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 3-ethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 4-ethylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 4-chloor-3-methylfenol | 107 | 108 | " | " | " |
| 2-isopropylfenol | | | " | " | " |
| 2,3,5-trimethylfenol | | | " | " | " |
| 2-Chloorfenol | 128 | 130 | ¹³ C-4-Chloorfenol | 134 | 136 |
| 3-Chloorfenol | 128 | 130 | " | " | " |
| 4-Chloorfenol | 128 | 130 | " | " | " |
| 2,6-Dichloorfenol | 162 | 164 | ¹³ C-2,4-Dichloorfenol | 168 | 170 |
| 2,5-Dichloorfenol | 162 | 164 | " | " | " |
| 2,4-Dichloorfenol | 162 | 164 | " | " | " |
| 3,5-Dichloorfenol | 162 | 164 | " | " | " |
| 2,3-Dichloorfenol | 162 | 164 | " | " | " |
| 3,4-Dichloorfenol | 162 | 164 | " | " | " |
| 2,4,6-Trichloorfenol | 196 | 198 | ¹³ C-2,4,5-Trichloorfenol | 202 | 204 |
| 2,3,6-Trichloorfenol | 196 | 198 | " | " | " |
| 2,3,5-Trichloorfenol | 196 | 198 | " | " | " |
| 2,4,5-Trichloorfenol | 196 | 198 | " | " | " |
| 2,3,4-Trichloorfenol | 196 | 198 | " | " | " |
| 3,4,5-Trichloorfenol | 196 | 198 | " | " | " |
| 2,3,5,6-Tetrachloorfenol | 232 | 230 | ¹³ C-2,3,4,5-Tetrachloorfenol | 236 | 238 |
| 2,3,4,6-Tetrachloorfenol | 232 | 230 | " | " | " |
| 2,3,4,5-Tetrachloorfenol | 232 | 230 | " | " | " |
| Pentachloorfenol | 266 | 268 | ¹³ C-Pentachloorfenol | 276 | 274 |
| 4-Chloro-3,5-dimethylfenol | 156 | 158 | D ₃ -2,4-dimethylfenol | 109 | 110 |
| Nonylfenol | 135 | | D ₄ -Nonylfenol | 139 | |
| Bisfenol A | 213 | | D ₁₆ -Bisfenol A | 224 | |
| Recovery standaard 13C-PCB 15 | 234 | 236 | | | |

Opmerkingen :

- Voor ¹³C₆-2,4,5-trichloorfenol, ¹³C₆-2,3,4,5-tetrachloorfenol en ¹³C₆-pentachloorfenol worden massa's gekozen die niet overeenstemmen met de meest intense massa's van de isotoopcluster. Om de bijdrage van ionen behorende bij de isotoopcluster van de overeenkomstige natieve fenol

- bij de ionen van de koolstof-13 gemerkte verbinding te voorkomen, worden voor de gemerkte verbinding de massa's behorende bij het M+2 of M+4 ion genomen.
- De m/z-waarden gebruikt voor kwantificatie zijn in de bovenstaande tabel in vet weergegeven.

BIJLAGE 2 : TYPISCHE GC/MS WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN FENOLEN

Kolomspecificaties : DB-XLB, 30 m x 0.25 mm x 0.25 mm

Draaggas en druk : Helium, 75 kPa

Injectie :

Modus : splitless
Injectievolume : 1 µl hexaan eindextract
Injectietemperatuur: 250°C

GC-oven programmatie :

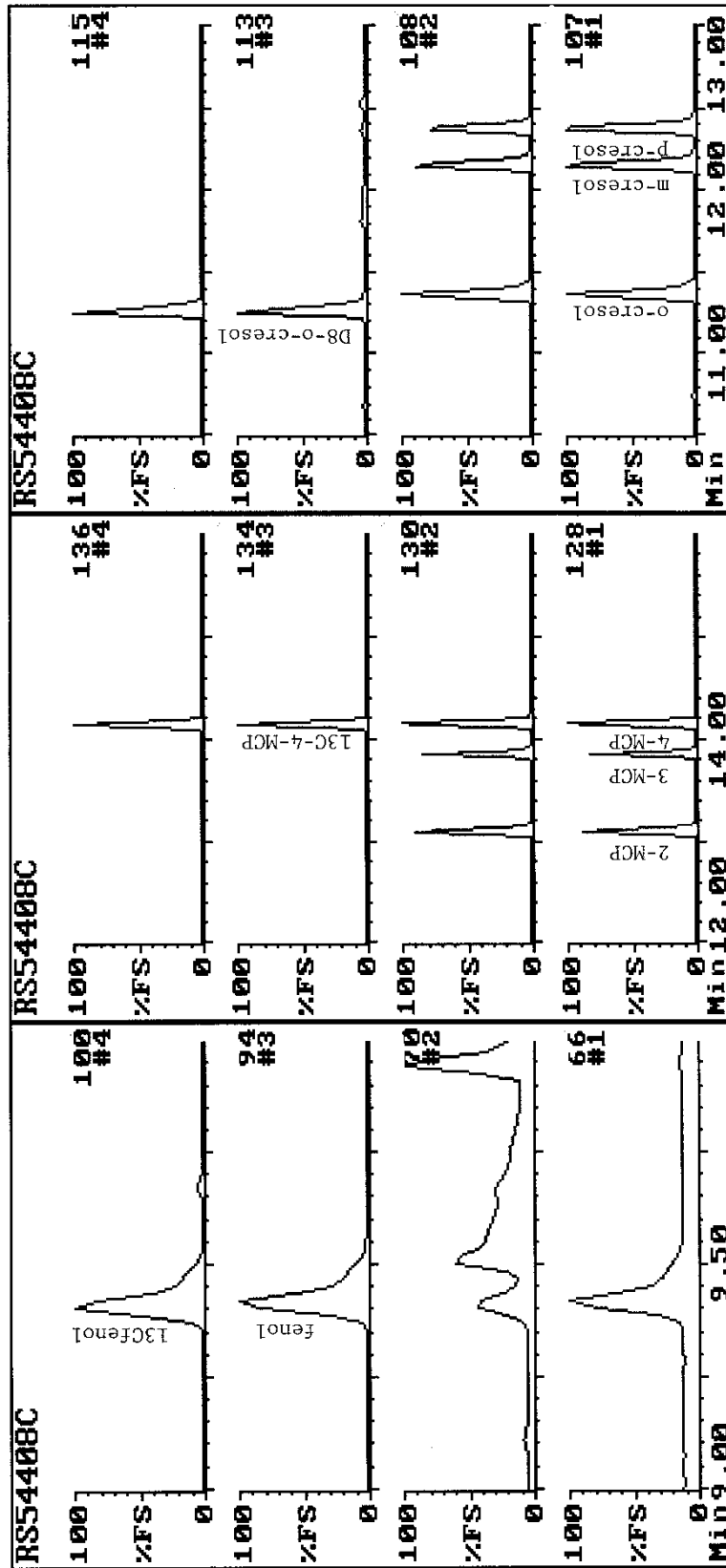
55°C : 1 min
55°C --> 205°C : 6°C/min
205°C --> 305°C : 25°C/min

totale duur : 30 min

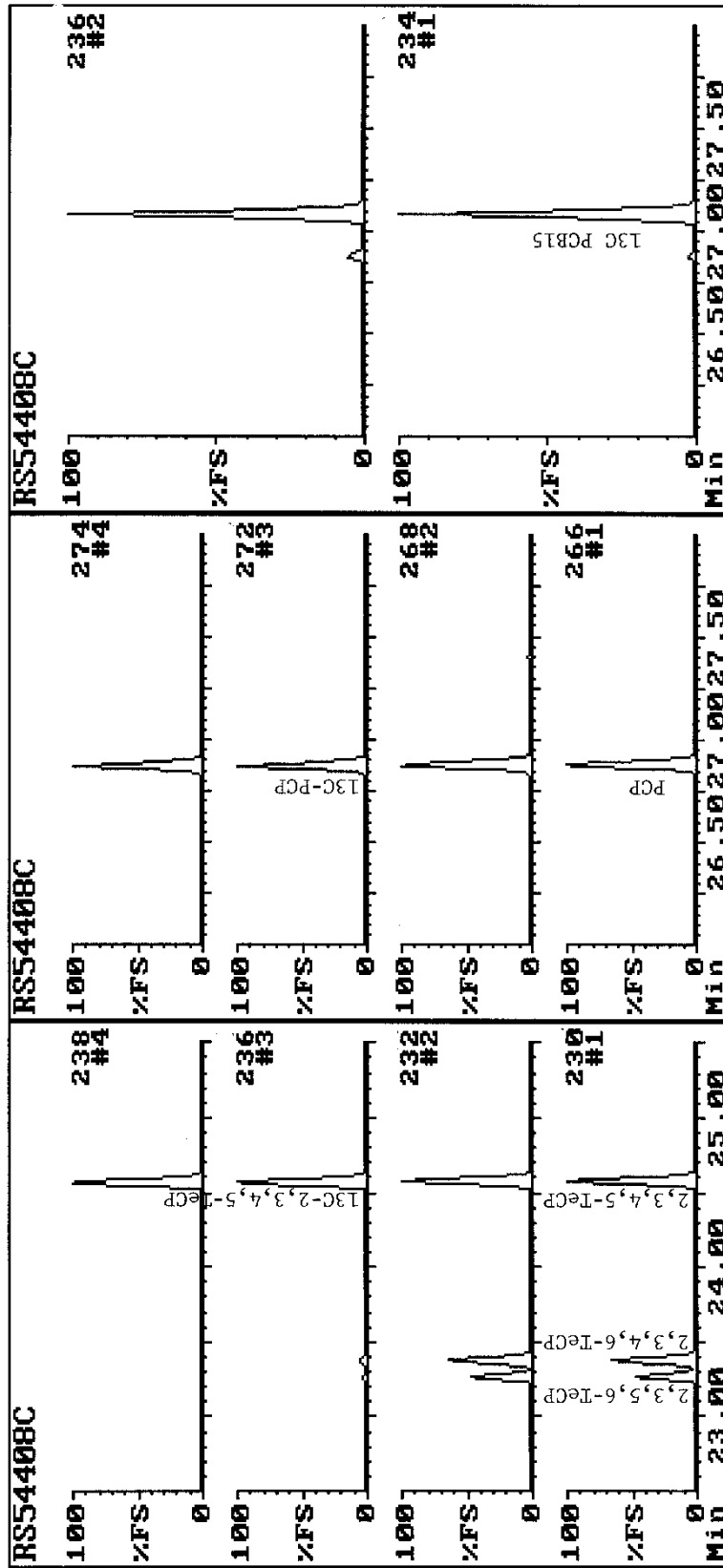
MS-instellingen :

Interfacetemperatuur : 280°C
Brontemperatuur : 230°C
Ionen : zie bijlage 1

BIJLAGE 3 : IONENCHROMATOGRAMMEN VAN HET KALIBRATIE-EXTRACT



BIJLAGE 3: VERVOLG



BIJLAGE 3: VERVOLG

