

Organochloorpesticiden in bagger- en ruimingsspecie

INHOUD

1	DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
2.1	<i>Staalvoorbereiding</i>	3
2.2	<i>Analyse</i>	3
3	APPARATUUR EN MATERIAAL	4
4	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	4
5	MONSTERBEWARING EN MONSTERVOORBEHANDELING	5
6	ANALYSEPROCEDURE	5
6.1	<i>Extractie en zuivering</i>	5
6.2	<i>Analyse</i>	6
6.2.1	Meting	6
6.2.2	Identificatie	6
6.2.3	Kalibratie	6
6.2.4	Kwantificering	7
7	Kwaliteitsparameters	8
7.1	<i>Responslineariteit</i>	8
7.2	<i>Gaschromatografische scheiding</i>	8
7.3	<i>Minimum detecteerbare hoeveelheid (MDH)</i>	9
7.4	<i>Procedureblanco</i>	9
7.5	<i>Controlemonster</i>	9
7.6	<i>Terugvinding van de interne standaarden</i>	9
8	RAPPORTERING	10
	BIJLAGE A Voorbeeld van LV-GC/MS-instellingen voor de bepaling van OCP in baggerspecie	11
	BIJLAGE B Karakteristieke ionen en typische retentietijden van de OCP (DB-XLB kolom, 30m x 0.25mm x 0.25 µm)	12

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure vervangt de procedure van CMA/3/Y van december 2012.

In deze procedure wordt een methode beschreven voor de extractie, zuivering en analyse van een aantal organochloorpesticiden (OCP's) in bagger- en ruimingsspecie. De methode is eveneens toepasbaar op waterbodem. De lijst van verbindingen is hieronder weergegeven:

alfa-HCH (hexachloorcyclohexaan)	alfa-chloordaan (cis-chloordaan)
beta-HCH	gamma-chloordaan (trans-chloordaan)
gamma-HCH (lindaan)	o,p'-DDD
aldrin	p,p'-DDD
dieldrin	o,p'-DDE
telodrin	p,p'-DDE
alfa-endosulfan	o,p'-DDT
beta-endosulfan	p,p'-DDT
endosulfansulfaat	

De bepalingsgrenzen van de methode zijn afhankelijk van de verbinding en van de graad van verontreiniging van het monster, en kunnen variëren tussen 1 en 50 µg/kg ds per OCP.

Opmerking : de resultaten van aldrin die met deze methode bekomen worden zijn meestal een onderschatting.

2 PRINCIPE

2.1 STAALVOORBEREIDING

De staalopwerking wordt uitgevoerd door middel van QUECHERS. Aan ongeveer 10 gram nat staal wordt interne standaard toegevoegd. Het staal wordt vervolgens geëxtraheerd door te soniceren of te vortexen met acetonitrile. Na centrifugatie wordt de bovenstaande fase geschud met zouten (watervrij magnesiumsulfaat en natriumacetaat). De bovenstaande fase wordt vervolgens opgezuiverd met een combinatie van adsorbentia : 'octadecyl' (C18), 'primary/secondary amine exchange material' (PSA) en 'graphitized carbon black' (GCB). Het extract wordt ingedampt en opgezuiverd door middel van fractionering met gelpermeatiechromatografie (GPC), en de relevante fractie wordt geanalyseerd.

2.2 ANALYSE

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 retentietijd en van de relatieve intensiteiten van de karakteristieke ionen. De kwantificering gebeurt door integratie van de piekoppervlakken behorend bij de chromatogrammen van de karakteristieke ionen. Er wordt gebruik gemaakt van de interne standaard methode waarbij de HCHs berekend worden t.o.v. 13C-HCH en de overige OCP t.o.v. 13C-p,p'-DDE.

Opmerking : bijkomend kunnen nog andere interne standaarden toegevoegd worden, bv. D4-p,p'-DDT als interne standaard voor de DDTs.

Voor de analyse van de extracten mag ook GC-ECD aangewend worden; voor de juiste werkwijze van meting, kalibratie, kwantificatie en kwaliteitscontrole wordt verwezen naar [NEN 5734](#) [NEN 6980 \(2011\)](#) en [ISO10382:2002](#) (bodem).

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 3.1 analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0,1 mg
- 3.2 bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0,01 g
- 3.3 injectiespuiten van 50-250 µl voor het doperen met interne standaard
- 3.4 eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 3.5 maatcilinder (100 ml)
- 3.6 QUECHERS-kit, bestaande uit een zoutrecipiënt met watervrij magnesiumsulfaat en natriumacetaat (bv. Restek Q-Sep Q150) en een adsorbensrecipiënt met een combinatie van magnesiumsulfaat, C18, PSA en GCB (bv. Restek Q-Sep Q352)
- 3.7 een GPC-opstelling voorzien van een fractiecollector. Voor de fractionering wordt bv een Waters Envirogelkolom gebruikt (bestaande uit een prekolommetje, een kolom van 19x150mm en kolom van 19x300mm, in serie aan elkaar gekoppeld). Het injectievolume bedraagt 2 ml. Als eluens wordt dichloormethaan gebruikt met een debiet van 4 ml/min. Het elutievenster van de OCP-fractie dient vooraf bepaald te worden (typisch 16 tot 24 minuten).
- 3.8 GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadrupool-type en een PC met sturings- en dataverwerkings-programmatuur. De GC is eventueel uitgerust met een PTV (programmed temperature vaporiser) of on-column groot-volume injector.
- 3.9 fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase, bv. DB-XLB, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm

4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 4.1 acetonitrile, dichloormethaan : voor residu-analyse
- 4.2 natriumsulfaat (Na_2SO_4): poeder, watervrij. Na_2SO_4 wordt in de droogoven bewaard bij 130°C
- 4.3 hoofdstandaardoplossingen van organochloorpesticiden:
 - van elke bovenstaande chloorpesticide wordt een afzonderlijke hoofdstandaard van 100 µg/g in hexaan of een ander alkaan gemaakt. Deze wordt bereid uit zuiver standaard-materiaal.
- 4.4 hoofdstandaardoplossingen van 13C-p,p'-DDE en 13C-beta-HCH (interne standaarden):
 - deze standaardoplossingen wordt bereid uitgaande van zuiver standaard materiaal. De oplossingen bevatten 100 µg/g in hexaan of een ander alkaan
- 4.5 doperingsstandaardoplossing van 13C-p,p'-DDE en 13C-beta-HCH (interne standaarden):
 - uitgaande van de bovenstaande hoofdstandaardoplossingen 13C-p,p'-DDT en 13C-beta-HCH wordt een verdunning van ongeveer 20 µg/g in hexaan of een ander alkaan gemaakt
- 4.6 doperingsoplossing recoverystandaard : als recoverystandaard kan elke verbinding gebruikt worden die elueert in het gebied van de OCP en die niet interfereert met de natieve OCP of de interne standaarden. De doperingsoplossing bevat ongeveer 20 µg/g recoverystandaard in hexaan.
- 4.7 kalibratiestandaard werkoplossing van OCP's:

- uitgaande van de bovenstaande hoofdstandaardoplossingen van natieve en ¹³C-gemerkte verbindingen en van de doperingsoplossing van de recoverystandaard wordt een verdunning in dichloormethaan of hexaan of een ander alkaan gemaakt die elke verbinding in een concentratie van ongeveer 1 µg/g bevat
- 4.7 standaard werkoplossingen voor lineariteitscontrole:
- uitgaande van de bovenstaande hoofdstandaardoplossingen van natieve en ¹³C-gemerkte verbindingen wordt een verdunningsreeks gemaakt, waarbij de concentratie van elke natieve component varieert en de concentratie van de interne standaard constant gehouden wordt op ongeveer 1 µg/g

Opmerking : de aanmaak van standaarden kan ook gebeuren aan de hand van aangekochte mengstandaarden

5 MONSTERBEWARING EN MONSTERVOORBEHANDELING

Voor de monsterconservering en –bewaring wordt verwezen naar CMA/1/B.

Voor de monstervoorbehandeling wordt verwezen naar CMA/5/B.3.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE EN ZUIVERING

Het monster wordt gehomogeniseerd door omroeren. Eventueel bovenstaand water wordt gedecanteerd. De extractie en zuivering gebeuren aan de hand van QUECHERS :

- weeg ongeveer 10 gram nat staal in een centrifugatiebuisje en dopeer met interne standaard
- voeg 20 ml acetonitrile toe en sluit het recipiënt af
- soniceer gedurende 2 uur, het centrifugatiebuisje wordt af en toe opgeschud. Alternatief kan 3 min gevortext worden.
- centrifugeer (3000 T/min, 5 min)
- breng de bovenstaande fase over in het QUECHERS-buisje met magnesiumsulfaat en natriumacetaat (bv Q-Sep Q150)
Opmerking : indien de hoeveelheid magnesiumsulfaat niet volstaat om het extract te drogen mag een extra hoeveelheid toegevoegd worden
- schud krachtig gedurende 1 minuut
- centrifugeer (3000 T/min, 5 min)
- breng de bovenstaande fase over naar het busje met adsorbentia (bv Q-Sep Q352)
- schud krachtig gedurende 1 minuut
- centrifugeer (3000 T/min, 5 min)
- neem zoveel mogelijk af van de bovenstaande fase, damp in tot bijna droog en voeg 10 ml dichloormethaan toe
- droog het dichloormethaanextract over een busje met natriumsulfaat
- damp in tot 2.2 ml

Het extract wordt vervolgens opgezuiverd over GPC om hoogmoleculaire verbindingen en zwavel te verwijderen. De procedure is in detail beschreven in CMA/3/Z.

- vang de OCP-fractie op en damp in tot 1 ml en dopeer met recoverystandaard

6.2 ANALYSE

6.2.1 METING

Van de preparaten en van de standaard-werkoplossing voor GC-MS kalibratie wordt 1 µl splitless of on-column in de gaschromatograaf geïnjecteerd. 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 normaal 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 in SIM modus. Typische PTV-GC-MS instellingen zijn gegeven in bijlage A. De ionen voor kwantificering en confirmatie alsook de retentietijden bekomen met de typische instellingen zijn weergegeven in bijlage B.

6.2.2 IDENTIFICATIE

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

- de retentietijd van de piek in de ionenchromatogrammen van het staal ligt binnen een tolerantie van 0.08 min, in vergelijking met de retentietijd van het pesticide in de ionenchromatogrammen van de kalibratieoplossing
- SIM : typische ionen zijn weergegeven in bijlage B; de signaal/ruis-verhouding van elk ion dient groter of gelijk te zijn aan 3.
- SIM: de relatieve intensiteiten van de gedetecteerde ionen, uitgedrukt als percentage van het ion met de hoogste intensiteit, moeten overeenkomen met de intensiteiten van de kalibratieoplossing, binnen onderstaande marges :

Relatieve intensiteit (% vd hoofdpijk)	Max. toelaatbare marge (relatief)
> 50%	+/-10%
>20% tot 50%	+/-15%
>10% tot 20%	+/-20%
<10%	+/-50%

De identificatie van de interne standaard is eveneens gebaseerd op bovenstaande criteria. De geïdentificeerde pieken worden geïntegreerd met de software van het apparaat en manueel geverifieerd.

6.2.3 KALIBRATIE

De kwantitatieve bepaling van de verschillende OCP's gebeurt volgens de interne standaard methode. Hierbij wordt elke component, uitgezonderd de HCHs, gekwantificeerd t.o.v. 13C-p,p'-DDE, die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd. De HCHs worden gekwantificeerd t.o.v. 13C-beta-HCH.

De kalibratie kan op 2 manieren gebeuren : aan de hand van een kalibratierechte of aan de hand van de gemiddelde relatieve responsfactor (RRF).

Kalibratierechte

Aan het begin van de analysereeks worden minimaal 4 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 pesticiden en de 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. 10) wordt een kalibratieoplossing geïnjecteerd om de geldigheid van de kalibratierechte te controleren; deze standaard mag maximaal 15% afwijken van de rechte.

Gemiddelde RRF

De relatieve responsfactor (RRF) wordt 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. 10) een kalibratieoplossing geïnjecteerd. De concentraties van de pesticiden 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 native componenten en de interne standaard :

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

met

RRF_i = relatieve responsfactor van het pesticide

A_i = piekoppervlakte van het pesticide bij injectie van de kalibratieoplossing

C_i = concentratie (in ng/μl) van het pesticide in de kalibratieoplossing

C_{IS} = concentratie (in ng/μl) van de interne standaard in de kalibratieoplossing

A_{IS} = piekoppervlakte van de 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.

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

6.2.4 KWANTIFICERING

Met de kalibratierechte

De vergelijking van de kalibratierechte kan voorgesteld worden door $Y = a \cdot X + b$. De concentratie van een pesticide in het staal wordt dan berekend als volgt :

$$C = \left[\frac{\left(\frac{A}{A_{IS}} \right) - b}{a} \right] \times \frac{g_{IS}}{G} \times \frac{100}{DS}$$

- C = concentratie van het pesticide in het monster ($\mu\text{g}/\text{kg ds}$)
 A = piekoppervlakte van het pesticide in het monster
 A_{IS} = piekoppervlakte van de interne standaard in het monster
 g_{IS} = hoeveelheid interne standaard toegevoegd aan het monster (ng)
 G = gewicht monsterinname waaraan de inwendige standaard toegevoegd werd (g)
 DS = gehalte droge stof van het monster (%)

Met de gemiddelde RRF

Gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakten van de pesticiden en de overeenkomstige interne standaarden in het chromatogram van het monsterpreparaat en rekening houdend met de staalinname kan de concentratie van elk pesticide in het monster berekend worden. Onderstaande formule geeft de berekening weer :

$$C_i = \frac{A_i \cdot g_{IS}}{A_{IS} \cdot \langle RRF_i \rangle \cdot G} \times \frac{100}{DS}$$

met

- C_i = concentratie van het pesticide in het monster ($\mu\text{g}/\text{kg ds}$)
 A_i = piekoppervlakte van het pesticide in het monster
 g_{IS} = hoeveelheid interne standaard toegevoegd aan het monster (ng)
 A_{IS} = piekoppervlakte van de interne standaard in het monster
 <RRFi> = gemiddelde RRF van het pesticide
 G = gewicht monsterinname waaraan interne standaard werd toegevoegd (g)
 DS = gehalte droge stof van het monster (%)

Opmerking: bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient voor de bepaling van de betrokken pesticideverbinding het extract verdund te worden met hexaan en opnieuw gemeten.

7 KWALITEITSPARAMETERS

7.1 RESPONSLINEARITEIT

Voor de werkwijze voor de bepaling van de lineariteit wordt verwezen naar de validatieprocedure van het CMA. 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 GASCHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritisch paar in het chromatogram van de kalibratieoplossing. Het chromatografisch scheidingspercentage (gelijk aan

hoogte vallei / hoogte laagste piek) dient kleiner te zijn dan een vooraf bepaalde limietwaarde (beide componenten dienen in ongeveer gelijke concentraties aanwezig te zijn in het kalibratiemengsel). Alternatief kan de kolomkwaliteit opgevolgd worden aan de hand van een voor een pesticidenpaar berekend scheidingsgetal.

7.3 MINIMUM DETECTEERBARE HOEVEELHEID (MDH)

De MDH is een maat voor de gevoeligheid van het apparaat. Aan de hand van het chromatogram van de kalibratieoplossing wordt voor elke pesticideverbinding de kleinst meetbare hoeveelheid bepaald door:

$$MDH = 3 \times \frac{RH}{PH} \times g$$

met

MDH = de minimum detecteerbare hoeveelheid (pg)

RH = de "peak-to-peak" ruishoogte aan de voet van de chromatogrampiek van de OCP

PH = de piekhoogte van de OCP

g = hoeveelheid van de OCP geïnjecteerd op kolom (pg)

De instrumentele detectielimieten moeten van die aard zijn dat zonder problemen de gevraagde rapporteergrenzen kunnen gehaald worden.

7.4 PROCEDUREBLANCO

Bij elke analysereeks wordt tenminste één procedureblanco geanalyseerd. Hierbij wordt de volledige analyseprocedure gevolgd, met inname van blanco water als monster.

M.b.t. de blancobijdrage worden volgende regels gehanteerd:

- voor monsterwaarden groter dan 5 maal de rapporteergrens: de chromatogrammen dienen vrij te zijn van pieken in een concentratie groter dan 10%
- voor monsterwaarden kleiner dan 5 maal de rapporteergrens: de chromatogrammen dienen vrij te zijn van pieken in een concentratie groter dan de helft van de rapporteergrens.

7.5 CONTROLEMONSTER

Om de terugvinding en de reproduceerbaarheid te controleren wordt op regelmatige basis een controlemonster geanalyseerd. Dit is bij voorkeur een gecertificeerd materiaal (indien beschikbaar), maar er mag ook gebruik gemaakt worden van een gedopeerd monster. De terugvindingen moeten gelegen zijn tussen 70% en 130% (**behalve voor aldrin : 50% - 130%**). Van minstens 3 pesticiden verspreid over het ganse retentietijdsgebied worden de gehalten opgetekend in controlekaarten. De opgetekende waarden moeten voldoen aan de voor controlekaarten geldende criteria.

7.6 TERUGVINDING 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 %)
AIS = piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van het staalpreparaat
ARS = piekoppervlakte van de recoverystandaard bij injectie van het staalpreparaat
gRS = hoeveelheid van de recoverystandaard toegevoegd aan het staalpreparaat (ng)
gIS = hoeveelheid van de interne standaard toegevoegd aan het staal (ng)
RRFIS = relatieve responsfactor van de interne standaard tov de recoverystandaard

Verantwoorde kwantificering wordt bekomen indien het recuperatierendement van de interne standaarden minimaal 10% en maximaal 40% bedraagt (hierbij is rekening gehouden met het feit dat slechts 1/3 tot 1/4 van het oorspronkelijk extract gerecupereerd wordt na de Quechers-opwerking).

8 RAPPORTERING

Vermeld in het analyseverslag het gehalte van de gedetecteerde verbindingen in mg/kg ds. Geef voor de niet gedetecteerde verbindingen de waargenomen aantoonbaarheidsgrenzen op ofwel monstertype afhankelijke rapporteergrenzen.

BIJLAGE A

VOORBEELD VAN LV-GC/MS-INSTELLINGEN VOOR DE BEPALING VAN OCP IN BAGGERSPECIE

Autosampler instellingen

- injection volume	10 µl
- injection speed	5 µl/s
- pre inject delay	300 ms
- post inject delay	300 ms

PTV-instellingen

- injection temperature	45 °C
- injection time	0.3 min
- injection pressure	10 kPa
- evaporation time	0.2 min
- evaporation pressure	10 kPa
- evaporation flow	50 ml/min
- transfer time	6 min
- transfer pressure	100 kPa
- transfer temperature	350 °C @ 5°C/s
- splitless time	3 min

GC/MS-instellingen

- oventemperatuursprogramma :

initial	40 °C (4 min)
rate 1	15 °C/min
level 1	160 °C (0 min)
rate 2	5 °C/min
level 2	320 °C (6 min)

- MS source temperature	200 °C
- MS modus	SIM
- MS ionen	zie bijlage B

BIJLAGE B**KARAKTERISTIEKE IONEN EN TYPISCHE RETENTIETIJDEN VAN DE OCP (DB-XLB KOLON, 30M X 0.25MM X 0.25 µM)**

Component	Retentietijd min.	Kwantificeringsion m/z	Confirmatie-ion m/z
alfa-BHC	16,48	219	217
gamma-BHC	17,16	219	217
beta-BHC	17,84	219	217
aldrin	19,40	263	265
o,p'-DDE	21,12	246	248
p,p'-DDE	22,23	246	248
o,p'-DDD	22,49	235	237
o,p'-DDT	23,43	235	237
p,p'-DDD	23,86	235	237
p,p'-DDT	24,83	235	237
gamma-chloordaan	21,47	373	375
alfa-chloordaan	21,60	373	375
alfa-endosulfaan	21,67	239	241
beta-endosulfaan	24,02	239	241
endosulfansulfaat	25,34	272	274
dieldrin	22,44	79	263
13C-beta-HCH (interne std)	17,84	225	223
13C-p,p'-DDE (interne std)	22,20	258	260