

Gel permeatie chromatografie (GPC) voor de zuivering van monsterextracten

ONTWERP

INHOUD

1	DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	APPARATUUR EN MATERIAAL	3
4	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	4
5	PROCEDURE	4
5.1	<i>Werkvoorwaarden van de GPC</i>	4
5.2	<i>Calibratie van de GPC : bepaling van de elutievensters</i>	4
5.3	<i>Fractionering van het staalextract</i>	4
6	KWALITEITSCONTROLE	4
6.1	<i>Controle van de elutievensters</i>	4
	BIJLAGE A Lijst van componenten die geschikt zijn voor GPC-zuivering (niet limitatieve lijst)	5

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure vervangt ontwerpprocedure CMA/3/Z van december 2010. Gel permeatie chromatografie (GPC) is een scheidingstechniek die gebaseerd is op deeltjesgrootte. Deze procedure beschrijft de toepassing van GPC als zuiveringsmethode voor extracten ter bepaling van organische parameters. Hoogmoleculaire stoffen die dmv GPC uit het extract verwijderd kunnen worden zijn bv. vetten, natuurlijke en synthetische polymeren, harsen, proteïnes, cellulair materiaal, steroïden en moleculaire zwavel. De methode kan toegepast worden op extracten voor de meting van polycyclische aromatische koolwaterstoffen, polychloorbifenylen, matig vluchtige chloorkoolwaterstoffen en gaschromatografeerbare pesticides (zie lijst in bijlage A).

Opmerkingen :

- GPC is niet geschikt voor de verwijdering van stoorpieken die bij de meting in het chromatogram interfereren met de te bepalen componenten. Wel kunnen met GPC hoogkokende stoffen verwijderd worden die anders de injectiepoort en het eerste stuk van de kolom zouden contamineren;
- endrinaldehyde gaat bij de GPC-zuivering grotendeels verloren. Voor de pesticides simazine, prometryn en cyanazine is de terugvinding aan de lage kant (60-80%).

2 PRINCIPE

De hier beschreven methode is gebaseerd op een Waters Envirogel kolom die geëluëerd wordt met dichloromethaan. Alternatieve systemen (bv. BioBeads met een solventcombinatie van cyclohexaan en ethylacetaat) zijn ook bruikbaar. Op de GPC-kolom vindt een scheiding plaats op basis van molecuulgrootte : de grotere moleculen elueren eerst, de kleinste laatst. Voor routinematige analyse wordt de GPC-kolom gekoppeld aan een injectie-automaat en een fractiecollector. De hoogmoleculaire interferenties (zoals vetten en polymeren) worden in een eerste (afval)fractie opgevangen. In de volgende (analyse)fractie worden de te analyseren componenten opgevangen, en deze fractie wordt bewaard om verder op te werken of te analyseren. Tenslotte elueert de elementaire zwavel, die in een derde (afval)fractie opgevangen wordt.

De fractiecollector dient zodanig geprogrammeerd te worden dat start- en stoptijden voor het opvangen van de analysefractie overeenkomen met het elutievenster van de te bepalen componenten. Dit elutievenster wordt vooraf bepaald en dient regelmatig gecontroleerd te worden.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- LC-systeem, voorzien van een auto-injector en een fractiecollector. De LC dient geschikt te zijn voor het gebruik van dichloormethaan als eluens. De injector moet geschikt zijn voor een injectievolume van minstens 2 ml. Optioneel is de LC uitgerust met een UV-detector.
- Waters Envirogel kolommen met respectievelijke dimensies 19x150mm en 19x300mm. Deze worden in serie gekoppeld en functioneren als 1 kolom van 450 mm lengte. De kolommen worden gemonteerd volgens de handleiding van de fabrikant.
- Monsterflesjes voor de auto-injector
- Opvangvials voor de fractiecollector
- Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet

4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- Dichloormethaan: residuanalyse
- Standaardoplossingen in dichloormethaan van PAK, PCB, gaschromatografeerbare pesticides en matig vluchtige koolwaterstoffen voor de bepaling van de elutievensters.

5 PROCEDURE

5.1 WERKVOORWAARDEN VAN DE GPC

- Eluens : dichloormethaan
- Debiet : 4 ml/min
- Injectievolume : 2 ml

5.2 CALIBRATIE VAN DE GPC : BEPALING VAN DE ELUTIEVENSTERS

Voor de bepaling van de elutievensters wordt een standaard in dichloormethaan op de GPC geïnjecteerd. De standaard bevat alle componenten waarvoor het elutievenster bepaald dient te worden. Het eluaat wordt opgevangen in een aantal opeenvolgende fracties, elk overeenkomend met 1.5 minuten elutietijd (of 6 ml eluensvolume). Alle fracties worden ingedampt tot 1 ml en na additie van interne standaard geanalyseerd met GC/MS (voor de keuze van interne standaarden en de GC/MS meetcondities wordt verwezen naar de respectievelijke CMA-procedures). De concentratie van elke component in elke fractie wordt procentueel uitgedrukt tov het totaal van alle fracties. In bijlage 2 is een typische fractieverdeling weergegeven. Daaruit valt o.a. af te leiden dat de gaschromatografeerbare pesticides onder de gegeven condities elueren 14.5 tot 23.5 min, de PAK van 19 tot 25 min, de PCB van 19 tot 22 min, en de overige matig vluchtige chloorkoolwaterstoffen van 19 tot 23.5 min.

5.3 FRACTIONERING VAN HET STAALEXTRACT

Indien nodig wordt het extract eerst omgezet naar dichloormethaan. Dit is noodzakelijk omdat de GPC-kolom beschadigd kan raken door andere solventen (bv. hexaan). Het extract wordt daarbij op een volume van ongeveer 2.2 ml gebracht, zodat de autosampler 2 ml kan afnemen voor de injectie. Programmeer de fractiecollector zodanig dat de fractie die de te bepalen componenten bevat opgevangen wordt. In geval de zuivering moet dienen voor de bepaling van PAK zal men bij de stalen dus typisch de fractie 19 tot 25 min opvangen.

6 KWALITEITSCONTROLE

6.1 CONTROLE VAN DE ELUTIEVENSTERS

Op regelmatige basis (afhankelijk van het gebruik, in routine bv. éénmaal per week) worden de retentietijden op de GPC-kolom gecontroleerd. Dit kan gebeuren door een volledige hercalibratie zoals beschreven onder 5.2. Alternatief (bij frequent gebruik) kan de retentietijd van een UV-detecteerbare component (bv. anthraceen) gemeten worden aan de hand van de UV-detector. Deze retentietijd mag niet meer dan 5% verschuiven tov de initiële calibratie, zoniet dient een hercalibratie uitgevoerd te worden zoals beschreven onder 5.2.

BIJLAGE A

LIJST VAN COMPONENTEN DIE GESCHIKT ZIJN VOOR GPC-ZUIVERING (NIET LIMITATIEVE LIJST)

Polycyclische aromatische koolwaterstoffen

naftaleen
acenaftyleen
acenafteen
fluoreen
fenantreen
anthraceen
fluorantheen
pyreen
benz(a)anthraceen
chryseen
benzo(b)fluorantheen
benzo(k)fluorantheen
benzo(a)pyreen
indeno(1,2,3,cd)pyreen
dibenzo(a,h)anthraceen
benzo(g,h,i)peryleen

Polychloorbifenylen

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

Matig vluchtige chloorkoolwaterstoffen

1,2,3-trichloorbenzeen
1,2,4-trichloorbenzeen
1,3,5-trichloorbenzeen
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen
1,2,3,5-tetrachloorbenzeen
pentachloorbenzeen
hexachloorbenzeen
hexachloorethaan
hexachloorbutadien
1-chloornaftaleen
2-chloornaftaleen

BIJLAGE A **Vervolg***Gaschromatografeerbare pesticides*

2,3,5,6-tetrachloornitrobenzeen (TCNB)

trifluralin

alfa-BHC

hexachloorbenzeen

gamma-BHC

pentachloornitrobenzeen (PCNB)

beta-BHC

delta-BHC

heptachloor

aldrin

telodrin

isodrin

heptachloorepoxide

o,p'-DDE

gamma-chloordaan

alfa-chloordaan

alfa-endosulfaan

p,p'-DDE

dieldrin

o,p'-DDD

endrin

o,p'-DDT

p,p'-DDD

beta-endosulfaan

p,p'-DDT

endosulfansulfaat

methoxychloor

dichlorvos

mevinphos

ethoprophos

demeton

dimethoat

diazinon

methyl-parathion

malathion

fenitrothion

chlorfenvinphos

methidathion

triazophos

azinphos-methyl

azinphos-ethyl

coumafos

terbufos

fonofos

disulfoton

BIJLAGE A **Vervolg**

chlorpyrifos-methyl
pirimiphos-methyl
chlorpyrifos
parathion-ethyl
fenthion
bromophos-methyl
bromophos-ethyl
desethylatrazine
desethyl-terbutylazine
simazine
propazine
atrazine
terbutylazine
sebutylazine
prometryn
terbutryn
cyanazine
hexazinon