

Polychloorbifenylen en chloorbenzenen in bodemverbeterend middel en meststof

INHOUD

1	DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	APPARATUUR EN MATERIALEN	4
4	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	4
5	MONSTERBEWARING EN –VOORBEHANDELING	5
6	ANALYSEPROCEDURE	5
6.1	<i>Verzeping (behalve voor stalen met <2%DS)</i>	5
6.2	<i>Verzeping van stalen met <2%DS)</i>	5
6.3	<i>Zuivering van het extract</i>	6
6.4	<i>Meting</i>	6
6.5	<i>Kalibratie</i>	7
6.6	<i>Identificatie</i>	8
6.7	<i>Kwantificering</i>	8
7	KWALITEITSCONTROLE	9
7.1	<i>Responslineariteit</i>	9
7.2	<i>Chromatografische scheiding</i>	9
8	Prestatiekenmerken	10
9	Rapportering	10
	BIJLAGE A Typische GC-MS instellingen voor de analyse van PCB en CBz	11
	BIJLAGE B Typisch totaal ionchromatogram van de kalibratieoplossing	12
	BIJLAGE C Karakteristieke m/z van de native PCB en CBz en van de isotoopgemerkte interne standaarden; typische overeenkomstige interne standaarden	13

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure vervangt de procedure CMA/3/X van oktober 2017.

Deze methode wordt gebruikt voor het bepalen van een aantal polychloorbifenyl-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 polychloorbifenylverbindingen (PCB's) en chloorbenzenen (CBz).

De methode is gericht op de bepaling van volgende componenten :

Polychloorbifenylen

2,4,4'-trichloorbifenyl (PCB 28)	2,2',3,4,4',5'-hexachloorbifenyl (PCB 138)
2,2',5,5'-tetrachloorbifenyl (PCB 52)	2,2',4,4',5,5'-hexachloorbifenyl (PCB 153)
2,2',4,5,5'-pentachloorbifenyl (PCB 101)	2,2',3,4,4',5,5'-heptachloorbifenyl (PCB 180)
2,3',4,4',5-pentachloorbifenyl (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 en meststoffen (CMA/3/W). In dat geval wordt één verzeeping uitgevoerd en het hexaanextract wordt gesplitst in deelextracten voor de respectievelijke parameters. Elk deelextract moet voldoende staalinname vertegenwoordigen zodat de vereiste bepalingsgrenzen gehaald worden.

2 PRINCIPE

De stalen worden na verkleining en homogenisatie onderworpen aan verzeeping met ethanolische kaliumhydroxide. De niet verzeefte organische componenten worden gerecupereerd door middel van partitie met hexaan. Stalen met een gehalte droge stof tussen 2% en 10% worden vooraf ingedikt tot een droge stof gehalte bekomen wordt van minstens 10% en hoogstens 70%, door middel van drogen aan de lucht bij 40°C. Stalen met minder dan 2% droge stof worden rechtstreeks verzeeft. **Bij optimalisatie en miniaturisatie door gebruik van GC-MS/MS is het niet verplicht stalen met een droge stof tussen 2% en 10% in te dikken mits een verklaring van gelijkwaardigheid door OVAM.** Het hexaanextract 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 (1000 ml voor stalen met <2% DS)
- 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
- 3.11 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. **Als alternatief voor GC/MS mag GC-MS/MS toegepast worden.**
- 3.12 Fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase (fenylmethylsilicone of overeenkomstige carboraanpolymer), bv. HT-5, 25 m x 0,22 mm x 0,10 µm

4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 4.1 ethanol, hexaan, aceton : residu-analyse kwaliteit
- 4.2 natriumsulfaat (Na_2SO_4): 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 (H_2SO_4) : 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 % H_2SO_4) : 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

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

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

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 VERZEPING (BEHALVE VOOR STALEN MET <2%DS)

- Spoel een refluxopstelling (0.5 uur refluxen met ethanol en 0.5 uur met hexaan)
- Weeg in de refluxkolf een hoeveelheid staal overeenkomend met 5 gram (+0.5 g) droge stof
- 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 hexaan 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 hexaanfase af

Opmerking : andere procedures van verzeping zijn toegestaan mits een verklaring van gelijkwaardigheid door OVAM

6.2 VERZEPING VAN STALEN MET <2%DS)

- Spoel een refluxopstelling (0.5 uur refluxen met ethanol en 0.5 uur met hexaan)
- Weeg in de refluxkolf 100 g staal in
- Voeg de de interne standaarden toe (typisch wordt ongeveer 1 µg per interne standaard toegevoegd)
- Voeg 150 ml ethanolische kaliumhydroxide (2M) toe en reflux gedurende 2 uur
- Voeg door de koeler 300 ml hexaan toe en laat nog 30 min koken
- Zet de kookplaat af en voeg door de koeler ongeveer 500 ml water toe, sluit de kolf af met een glazen stop en laat het verzepingsmengsel afkoelen
- Breng de inhoud van de refluxkolf over in een scheidtrechter van 2000 ml
- Schud het verzepingsmengsel gedurende 3 min manueel of 30 min op de schudbank
- De hexaanfase wordt afgescheiden (eventueel na centrifugatie)

Opmerking : andere procedures van verzeping zijn toegestaan mits een verklaring van gelijkwaardigheid door OVAM

6.3 ZUIVERING VAN HET EXTRACT

- Droog de hexaanfase over natriumsulfaat en damp in onder stikstofstroom tot 2 ml
- 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

Opmerkingen :

- Bij stalen die in sterke mate verontreinigd zijn kan een verstoring van de chromatografie optreden. In dat geval kan het extract verder gezuiverd worden door DMSO/hexaan partitie: zie hiervoor de procedure CMA/3/A.
- Bij gebruik van GC-MS/MS met backflush is het niet nodig om de stalen op te zuiveren mits een verklaring van gelijkwaardigheid door OVAM

6.4 METING

Van de preparaten en van de kalibratiewerkoplossing wordt typisch 1 µl splitless of on-column in de gaschromatograaf geïnjecteerd. Voor splitless injectie 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 A.

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

6.5 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 isotoop-gemerkte interne standaard die vlak voor de verzeeping aan het monster werd toegevoegd.

De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren (voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar CMA/6/D):

- 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 minstens één kalibratieoplossing geïnjecteerd. 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 dekalibratieoplossing

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.

- aan de hand van 'bracketing'. De kalibratiereeks wordt geïnjecteerd minstens bij het begin en bij het einde van de meetreeks. De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 injecties van de 2 punten waartussen het staal begrepen is.
- aan de hand van kalibratierechten. In dit geval worden aan het begin van de analysereeks minimaal 4 kalibratieoplossingen geanalyseerd met concentraties groter dan 0 en verspreid over het lineair gebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. 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.
- 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. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet

van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de native component en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend.

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:

$$\text{RRF}_{\text{is}} = \frac{A_{\text{is}} \cdot C_{\text{RS}}}{A_{\text{RS}} \cdot C_{\text{is}}}$$

met

RRF_{is} = relatieve responsfactor van de interne standaard

A_{is} = piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van de kalibratie-oplossing

C_{is} = concentratie van de interne standaard in de kalibratieoplossing ($\mu\text{g/ml}$)

C_{RS} = concentratie van de overeenkomstige recoverystandaard in dekalibratieoplossing ($\mu\text{g/ml}$)

A_{RS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige recoverystandaard in de kalibratie-oplossing

6.6 IDENTIFICATIE

De aanwezigheid PCB's en CBz in de stalen wordt bevestigd op basis van de criteria voor retentietijden en ionenverhoudingen zoals vermeld in CMA/6/D.

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 C zijn de karakteristieke m/z van de native componenten en de isotoopgemerkte interne standaarden weergegeven, en staat voor elke component een typische overeenkomstige interne standaard vermeld.

6.7 KWANTIFICERING

Voor de monsterextracten worden op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen de ionenchromatogrammen geregistreerd. Van de geïdentificeerde chloorkoolwaterstoffen worden de piekoppervlakten behorende bij het meest intense ion berekend. Uitgaande van de integratiewaarden voor het monster en de relatieve responsfactoren of kalibratierechte/curve bepaald voor de kalibratiestandaard worden de gehalten van de verschillende verbindingen in het monster berekend.

De terugvindingen van de inwendige standaarden worden berekend aan de hand van hun relatieve responsfactor.

7 KWALITEITSCONTROLE

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, terugvinding van de interne standaard, controle op gevoeligheid, controlestaal en controlestandaard wordt verwezen naar CMA/6/D.

7.1 RESPONSLINEARITEIT

De werkwijze voor de bepaling van lineariteit is beschreven in CMA Deel 6. Stelt men bij de monsteranalyse een overschrijding van de bovenste lineaire grens vast, d.i. de hoogst geregistreerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden startend van een met nonaan verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de inwendige standaard nog voldoende intens is, of startend van een geringere hoeveelheid monster.

7.2 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 A 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).

Alternatief kan de kolomkwaliteit geverifieerd worden aan de hand van het aantal theoretische platen, berekend op basis van de piekarakteristieken voor een gekozen verbinding in het chromatogram van de kalibratiestandaard. Het aantal platen N_{th} wordt gegeven door :

$$N_{th} = 5.54 * \left(\frac{t_{R_i}}{w_{1/2}} \right)^2$$

Hierbij is t_{R_i} de waargenomen retentietijd voor de verbinding i en $w_{1/2}$ de piekbreedte op halve hoogte, uitgedrukt in dezelfde tijdseenheid.

Om een continue controle te hebben over de kolomkwaliteit is het zinvol de scheidingskarakteristieken uit te zetten in een controlekaart.

Scheiding van PCB: er blijken geen GC-kolommen beschikbaar te zijn waarmee alle kritische PCB-paren gescheiden zijn. Daarom dient ofwel het koppel PCB-28/PCB-31 gescheiden te zijn, ofwel het koppel PCB-138/PCB163.

De scheiding kan op 3 manieren gecontroleerd worden:

- (1) Aan de hand van de piekresolutie. De resolutie dient minstens 0.5 te bedragen. De resolutie wordt gedefinieerd als de verhouding van de afstand tussen de maxima van twee pieken enerzijds en hun gemiddelde piekbreedte aan de basis anderzijds.
- (2) Aan de hand van de piekhoogte en de valleihogte : de verhouding tussen de valleihogte enerzijds en de hoogte van de piek met de laagste respons dient kleiner te zijn dan 0,7.
- (3) Alternatief kan gebruik gemaakt worden van de verhouding tussen enerzijds (piekhoogte laagste piek – valleihogte) en anderzijds de piekhoogte van de laagste piek, deze verhouding dient groter te zijn dan 0,5.

8 PRESTATIEKENMERKEN

Voor de prestatiekenmerken wordt verwezen naar CMA deel 6.

9 RAPPORTERING

~~Vermeld in het analyseverslag het gehalte van de gedetecteerde verbindingen in mg/kg ds. Indien het staal minder dan 2% ds bevat kan het resultaat bijkomend uitgedrukt worden in in mg/kg product. Voor stalen geanalyseerd onder erkenning wordt voor de rapportering (eenheden en maximale rapportagegrenzen) verwezen naar CMA/6/A.~~

Opmerking: 1,2,3,5-tetrachloorbenzeen en 1,2,4,5-tetrachloorbenzeen coëlueren op een apolaire kolom; ze kunnen ook massaspectrometrisch niet onderscheiden worden. Deze isomeren worden dan ook niet individueel maar als som gerapporteerd.

BIJLAGE A**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 C

Temperatuursprogrammatie GC-oven

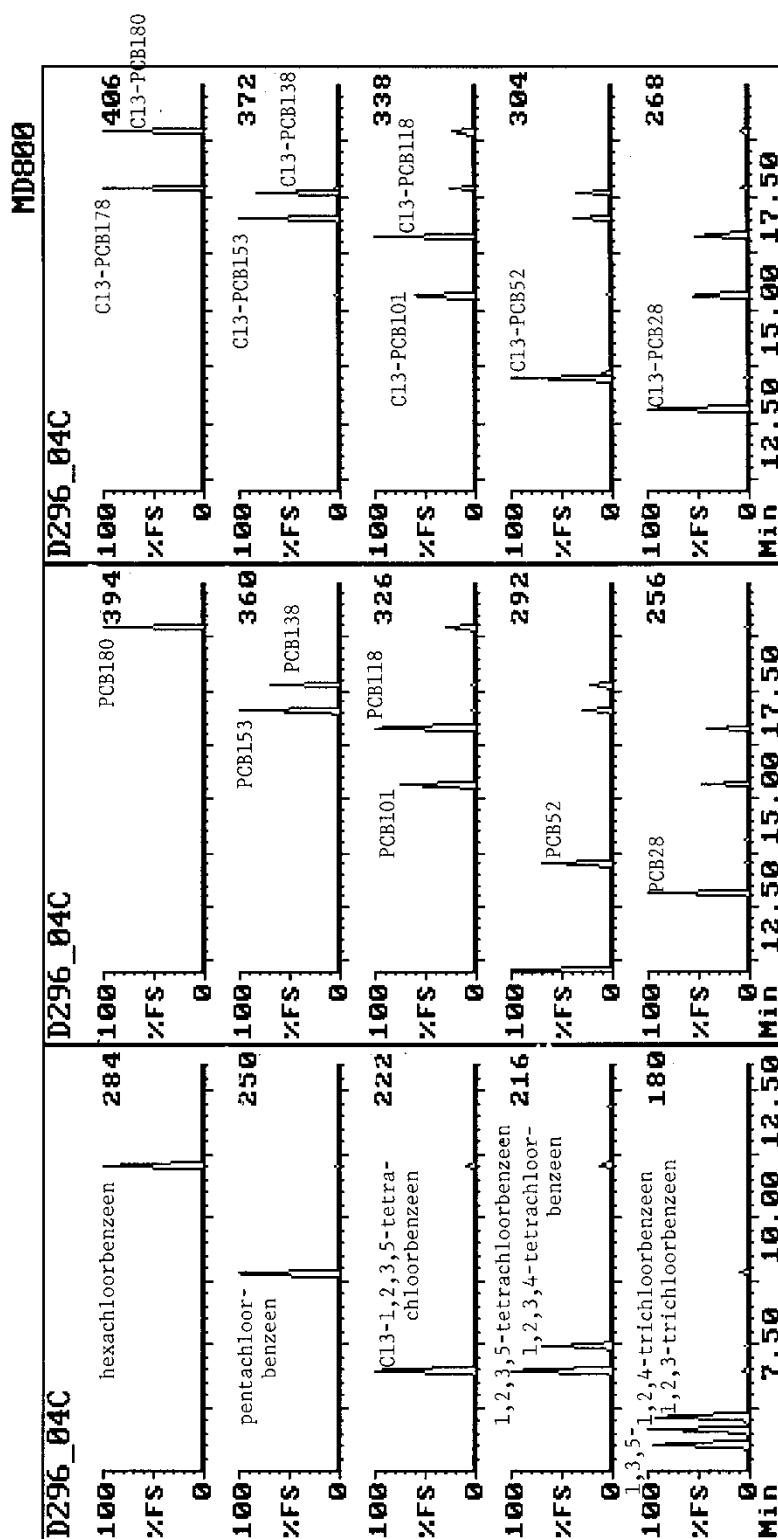
155°C, isotherm gedurende 1 min

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

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

BIJLAGE B

TYPISCH TOTAAL IONCHROMATOGRAM VAN DE KALIBRATIEOPLOSSING



BIJLAGE C
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)	ionen- verhouding m/z (3)	overeenkomstige IS
1,2,3,5-tetrachloorbenzeen	214	216	77/100 -218	13C-tetrachloorbenzeen
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	214	216	77/100 -218	13C-tetrachloorbenzeen
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	214	216	77/100 218	13C-tetrachloorbenzeen
pentachloorbenzeen	250	252	100/65 248	13C-tetrachloorbenzeen
hexachloorbenzeen	284	286	100/81 282	13C-hexachloorbenzeen
PCB 28	256	258	100/98 -260	13C-PCB 28
PCB 52	290	292	77/100 294	13C-PCB 52
PCB 101	326	328	100/65 324	13C-PCB 101
PCB 118	326	328	100/65 324	13C-PCB 118
PCB 153	360	362	100/81 358	13C-PCB 153
PCB 138	360	362	100/81 358	13C-PCB 138
PCB 180	394	396	100/98 398	13C-PCB 180
inwendige standaarden				
13C-1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	224	226	100/22 222	
13C-hexachloorbenzeen	290	292	100/81 288	
13C-PCB 28	268	270	100/98 272	
13C-PCB 52	302	304	77/100 306	
13C-PCB 101	338	340	100/65 336	
13C-PCB 118	338	340	100/65 336	
13C-PCB 153	372	374	100/81 370	
13C-PCB 138	372	374	100/81 370	
13C-PCB 180	406	408	100/98 410	
recovery standaard				
13C-PCB 178	406	408	100/98 410	