

## Bepaling van di-2-ethylhexylftalaat en andere ftalaten in oppervlaktewater

## INHOUD

<b>1</b>	<b>TOEPASSINGSGBIED</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>PRINCIPE</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>OPMERKINGEN</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>APPARATUUR EN MATERIAAL</b>	<b>4</b>
4.1	<i>Apparatuur</i>	4
4.2	<i>Materiaal</i>	4
<b>5</b>	<b>REAGENTIA en OPLOSSINGEN</b>	<b>4</b>
5.1	<i>Reagentia</i>	4
5.2	<i>Oplossingen</i>	5
<b>6</b>	<b>PROCEDURE</b>	<b>5</b>
6.1	<i>Extractie</i>	5
6.2	<i>Meting</i>	6
6.3	<i>Identificatie</i>	7
6.4	<i>Kalibratie en kwantificatie</i>	7
6.4.1	<i>Kalibratiewerkwijzen</i>	7
6.4.2	<i>Berekening van het gehalte van de ftalaatverbinding in het monster</i>	9
<b>7</b>	<b>KWALITEITSCONTROLE</b>	<b>9</b>
7.1	<i>Lineariteit</i>	9
7.2	<i>Gaschromatografische scheiding</i>	9
<b>8</b>	<b>Rapportering</b>	<b>9</b>
<b>9</b>	<b>REFERENTIES</b>	<b>10</b>
<b>BIJLAGE A :</b>	<b>GC-MS chromatogram van een standaardoplossing van ftalaten</b>	<b>11</b>
<b>BIJLAGE B :</b>	<b>GC-MS chromatogram van een standaardoplossing van DiNP en DiDP</b>	<b>12</b>

## 1 TOEPASSINGSGEBIED

In Bijlage I van het huidig 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 prioritaire 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 **vervangt de procedure WAC/IV/A/004 van augustus 2015 en** 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 uitgloeien 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), di-isodecylftalaat (DiDP) : pro analyse (p.a.)

- 5.1.5.  $d_4$ -dimethylftalaat ( $d_4$ -DMP),  $d_4$ -diethylftalaat ( $d_4$ -DEP),  $d_4$ -di-isobutylftalaat ( $d_4$ -DiBP),  $d_4$ -di-n-butylftalaat ( $d_4$ -DBP),  $d_4$ -benzylbutylftalaat ( $d_4$ -BBP),  $d_4$ -di-2-ethylhexylftalaat ( $d_4$ -DEHP),  $d_4$ -di-n-octylftalaat ( $d_4$ -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  $d_4$ -gemerkte ftalaten (interne standaarden):  
Stockoplossingen van  $d_4$ -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  $d_4$ -gemerkte ftalaten:  
Uitgaande van de bovenstaande stockoplossing van  $d_4$ -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 scheidrecter (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  $\mu$ g elk.
- Spoel de monsterfles met 20 ml dichloormethaan (5.1.1.) en voeg toe aan de scheidrecter.
- Schud het geheel krachtig gedurende ongeveer 3 min.
- Vang de organische fase op in een monsterflesje.
- Droog met  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  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	

Voor de geïnjecteerde extracten en standaardoplossingen worden ionchromatogrammen gegenereerd en de piekoppervlakten van de kwantificatie-ionen van natieve en d4-gemerkte verbindingen worden bepaald.

*Opmerking:*

- 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).

### 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.~~

~~De natieve ftalaten en de interne standaarden worden geïdentificeerd aan de hand van de criteria voor retentietijden en ionenverhoudingen zoals vastgelegd in procedure WAC/VI/A/003.~~

### 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 kalibratie kan op verschillende manieren gebeuren (voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar WAC/VI/A/003) :

- aan de hand van de relatieve responsfactor (RRF), bepaald met minstens één kalibratie-oplossing. Deze werkwijze kan gevolgd worden indien de RRFen binnen bepaalde grenzen constant zijn over het meetgebied. De RRFen voor elke te bepalen component worden bepaald uit de verhouding van de oppervlakten en concentraties van de natieve componenten en de overeenkomstige interne standaarden :

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

met

RRF<sub>i</sub> = relatieve responsfactor van natieve component i

A<sub>i</sub> = piekoppervlakte van natieve component i bij injectie van de

$C_i$	=	kalibratieoplossing concentratie (in ng/ $\mu$ l) van de native component i in de kalibratieoplossing
$C_{is}$	=	concentratie (in ng/ $\mu$ l) van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratieoplossing
$A_{is}$	=	piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard bij injectie van 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.

- aan de hand van 'bracketing'. Daarbij wordt de kalibratiereeks 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. 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 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 kalibratieoplossingen 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 native component en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend.

Voor de berekening van de terugvinding van de interne standaarden wordt doorgaans de RRF-methode toegepast, waarbij de RRF van een interne standaard bepaald wordt t.o.v. de overeenkomstige 'recovery'-standaard met onderstaande formule:

$$RRF_{is} = \frac{A_{is} \times C_{RS}}{A_{RS} \times C_{is}}$$

met		
$RRF_{is}$	=	relatieve responsfactor van de interne standaard
$A_{is}$	=	piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van de kalibratieoplossing
$C_{is}$	=	concentratie (in ng/ $\mu$ l) van de interne standaard in de kalibratieoplossing
$C_{RS}$	=	concentratie (in ng/ $\mu$ l) van de recoverystandaard in de kalibratieoplossing
$A_{RS}$	=	piekoppervlakte van de recoverystandaard bij injectie van de kalibratieoplossing



#### 6.4.2 BEREKENING VAN HET GEHALTE VAN DE FTALAATVERBINDING IN HET MONSTER

Voor de monsterextracten worden de ionenchromatogrammen geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Van de geïdentificeerde ftalaten 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.

Van de berekende gehalten wordt de waarde bekomen voor de procedureblanco afgetrokken.

## 7 KWALITEITSCONTROLE

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, terugvinding van de interne standaard, controle op gevoeligheid, controlestaal en controlestandaard wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

### 7.1 LINEARITEIT

Indien de bovenste lineaire grens van de detector overschreden is, 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".

### 7.2 GASCHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kolomkwaliteit kan 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.

## 8 RAPPORTERING

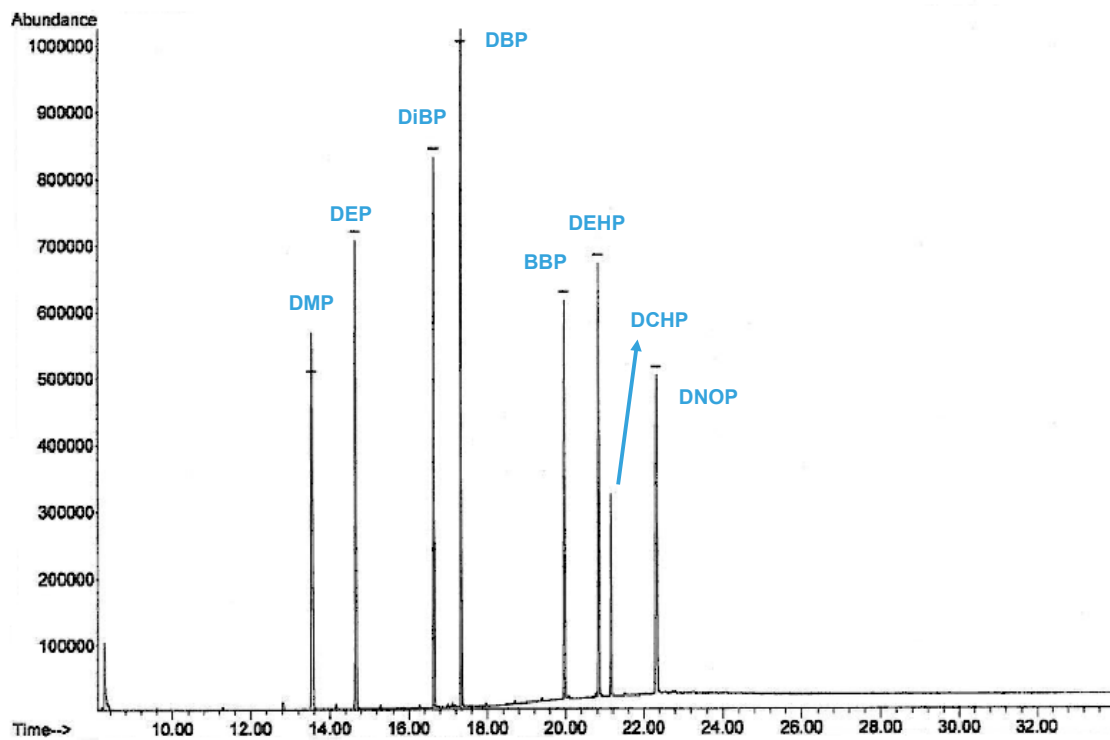
Vermeld in het analyseverslag het gehalte van elke ftalaatverbinding in  $\mu\text{g/l}$ .

## 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 A: GC-MS CHROMATOGRAM VAN EEN STANDAARDOPLOSSING VAN FTALATEN**

**BIJLAGE B: GC-MS CHROMATOGRAM VAN EEN STANDAARDOPLOSSING VAN DINP EN DIDP**