

Formaldehyde met LC-UV

INHOUD

1	DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED	3
2	PRINCIPE	3
3	APPARATUUR EN MATERIAAL	3
4	REAGENTIA EN OPLOSSINGEN	4
5	MONSTERBEWARING EN –VOORBEHANDELING	4
6	ANALYSEPROCEDURE	4
6.1	<i>Extractie en derivatisering</i>	4
6.2	<i>Zuivering met vaste fase extractie</i>	5
6.3	<i>Zuivering met vloeistof-vloeistofextractie</i>	5
6.4	<i>LC-UV meting</i>	5
6.5	<i>Identificatie en integratie</i>	6
6.6	<i>Kalibratie</i>	6
6.7	<i>Gehalte formaldehyde in het bodemmonster</i>	6
7	KWALITEITSCONTROLE	7
8	RAPPORTERING	7
9	VEILIGHEID	7
10	REFERENTIES	7
	BIJLAGE A UPLC-UV chromatogram van een leembodemextract (50 mg/kg ds formaldehyde)	8

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure beschrijft een methode voor de extractie, derivatisatie en meting van formaldehyde in bodem. De methode is toepasbaar vanaf een concentratie van 1 mg/kg ds.

Opmerkingen:

- De methode kan uitgebreid worden met andere carbonylverbindingen (zie hiervoor EPA 8315A)
- Formaldehyde interageert met kleideeltjes, waardoor verlaagde terugvindingen worden waargenomen.
- Voor de bepaling van formaldehyde in water wordt verwezen naar WAC/IV/A/007.

2 PRINCIPE

Het bodemmonster wordt geëxtraheerd met buffer. Aan een gekende hoeveelheid extractievloeistof wordt dinitrofenylhydrazine (DNPH) toegevoegd. De gederivatiseerde verbinding (formaldehyde-DNPH) wordt geëxtraheerd met vaste fase extractie (SPE), gevolgd door elutie met acetonitrile, ofwel met vloeistof-vloeistof extractie. Het extract wordt geanalyseerd met een vloeistofchromatograaf uitgerust met een UV-detector. De piek geregistreerd bij een golflengte van 360 nm en bij de specifieke retentietijd van het formaldehyde-DNPH, wordt geïntegreerd. De kwantificatie gebeurt met de externe standaardmethode.

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 Schudapparaat met horizontale beweging, 150 tot 300 slagen per minuut
- 3.4 Centrifuge
- 3.5 Gebruikelijk laboratoriumglaswerk, volgens de gebruikelijke procedure gereinigd en gespoeld met aceton, grondig nagespoeld met water en vervolgens gedroogd
Opm.: methanol, aceton en ook detergents kunnen sporen formaldehyde bevatten en aanleiding geven tot verhoogde blancowaarden
- 3.6 SPE extractietoestel
- 3.7 SPE patronen: bv. Chromabond C18, 6ml, 200 mg
Opm.:
 - andere SPE fasen zijn mogelijk; validatie-experimenten dienen aan te tonen dat voldoende terugvinding en reproduceerbaarheid wordt bekomen.
 - ook online SPE kan toegepast worden; hierbij gelden specifieke fasen geschikt voor de SPE module
- 3.8 LC-UV systeem bestaande uit:
 - een vloeistofchromatograaf (HPLC of UHPLC) met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatische kolom en ontgassingseenheid
 - een UV-detector (bv. photodiode array), instelbaar op de golflengte van 350-360 nm
 - een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse

- 3.9 LC-kolom: een reversed phase kolom, bv. Waters Acquity UPLC BEH C18, 1.7 μ m, 2.1 x 150 mm voor UPLC-meting of gelijkwaardig

4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 4.1 NaOH, 1N (40 g/L)
- 4.2 Azijnzuur, 5M (300 g/L)
- 4.3 Natriumacetaat oplossing, 5M (410 g/L)
Opm.: Natriumacetaat lost slecht op. Het poeder langzaam en al roerend toevoegen aan water, dan soniceren bij 60°C (de oplosbaarheid bij kamertemperatuur bedraagt 365 g/L)
- 4.4 Extractiebuffer pH 4,9:
Verdun 64,3 ml NaOH 1N en 5,7 ml azijnzuur tot 1 liter met ultrapuur water
Pas indien nodig de pH aan met NaOH of HCl
- 4.5 Acetaatbuffer pH 5,0 (5M):
Voeg aan 40 mL azijnzuur (5M) 60 mL natriumacetaat oplossing (5M) toe; pas indien nodig de pH aan met NaOH of HCl
- 4.6 Acetaatbuffer, 25-voudige verdunning:
Leng 10 mL acetaatbuffer aan tot 250 mL met ultrapuur water
- 4.7 Verzadigde NaCl oplossing (359 g/L)
- 4.8 2,4-dinitrofenylhydrazine (DNPH) oplossing, 3 g/L:
Los 30 mg DNPH op in 10 ml acetonitrile (ACN)
Opm.: DNPH is explosief (warmte- en schokgevoelig!) en wordt daarom aangeboden, bevochtigd met een hoeveelheid water (gewoonlijk ca 35%)
- 4.9 Stockstandaard formaldehyde-DNPH (1055 mg/L); deze standaard is commercieel beschikbaar
- 4.10 Stockstandaard formaldehyde (1300 mg/L)
- 4.11 Acetonitrile, HPLC-kwaliteit
- 4.12 Mierezuur, HPLC-kwaliteit
- 4.13 Dichloormethaan (DCM) p.a.

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 EXTRACTIE EN DERIVATISERING

- Voeg aan 5 g gehomogeniseerde bodem 100ml extractiebuffer toe (verhouding 1/20)
- Schud het geheel gedurende minstens 2 uur op de schudtafel
- Centrifugeer gedurende 10 min bij 4000 rpm
- Voeg aan 25mL supernatans 1 mL acetaatbuffer pH 5 toe
- Voeg hieraan 1,5 mL DNPH reagens toe
- Schud het mengsel gedurende een uur bij 40°C
- Voeg daarna 2,5mL verzadigde NaCl-oplossing toe

6.2 ZUIVERING MET VASTE FASE EXTRACTIE

- Breng het gederivatiseerde extract onmiddellijk op een geconditioneerde SPE kolom; de kolom wordt geconditioneerd met 2,5 mL acetaatbuffer (25-maal verdund); de kolom mag hierna niet droogkomen
- Laat het watermonster doorlopen in 6-10 min
- Zuig het SPE patroon droog gedurende 1 min
- Elueer de formaldehyde-DNPH met 2,5 ml ACN
- Voeg 2,5 mL ultrapuur water toe

6.3 ZUIVERING MET VLOEISTOF-VLOEISTOFEXTRACTIE

- Extraheer het gederivatiseerde extract 3 maal met 5 mL DCM
- Droog de gecombineerde extracten met Na₂SO₄
- Centrifugeer het geheel
- Damp het supernatans in onder N₂
- Neem het residu op in 2,5 ml ACN en verdun met 2,5 mL water

6.4 LC-UV METING

Typische toestelinstellingen voor de bepaling van formaldehyde-DNPH zijn hieronder gegeven (UPLC-meting):

Injectie volume : 10 µL
 Kolom : Acquity UPLC BEH C18, 2.1 x 50 mm, 1.7 µm
 Kolomtemperatuur: 40°C
 Loopvloeistof : A = H₂O, B = ACN
 Elutie (isocratisch):

Tijd	A	B	Debiet
min	%	%	ml / min
0,00	70	30	0,40
5,00	70	30	0,40

Detectie: UV, 360 nm

Een voorbeeld van een chromatogram van een bodemextract opgenomen met de bovenstaande condities is weergegeven in bijlage A.

Opm.:

- Afhankelijk van het gebruikte toestel kan het absorptiemaximum bij iets lagere of hogere golflengte gelegen zijn
- De bepaling van formaldehyde-DNPH met LC-UV op de specifieke golflengte van de verbinding is selectief. Desalniettemin is verstoring van het signaal mogelijk door coëluerende verbindingen die licht absorberen in hetzelfde golflengtegebied. Bij twijfel dient overgegaan te worden op een LC-MS –analyse, met verificatie van de geregistreerde massa's. Formaldehyde-DNPH wordt in negatieve electrospray modus gedetecteerd bij m/z 209 (LC-MS) ofwel bij de MRM transitities 209>163 en 209>133 (LC-MS/MS).

6.5 IDENTIFICATIE EN INTEGRATIE

Formaldehyde wordt geïdentificeerd op basis van de criteria voor retentietijden zoals vermeld in CMA/6/D.

De geïdentificeerde piek wordt geïntegreerd met de software van het apparaat en manueel geverifieerd.

6.6 KALIBRATIE

Voor de kalibratie wordt verwezen naar CMA/6/D. De kalibratie omvat de injectie van minstens 4 standaardoplossingen van formaldehyde-DNPH of alternatief maakt men gebruik van formaldehydestandaarden die de volledige procedure doorlopen. De kalibratievergelijking heeft een lineair verloop:

$$A = aC + b$$

met

- A = de gemeten piekoppervlakte voor formaldehyde-DNPH in de resp. standaardoplossing
 C = de concentratie van formaldehyde-DNPH in de resp. standaardoplossing in mg/L
 a, b = de coëfficiënten van de kalibratievergelijking voor formaldehyde-DNPH

6.7 GEHALTE FORMALDEHYDE IN HET BODEMMONSTER

De concentratie in het monster wordt berekend als volgt:

$$C = \left(\frac{A - b}{a} \right) \times \frac{V_e}{1000} \times \frac{1}{G} \times f$$

met

- C = de concentratie van formaldehyde in het monster in mg/kg ds
 A = de gemeten piekoppervlakte voor formaldehyde-DNPH in het monsterextract
 V_e = het volume van het eindextract in mL
 G = de ingenomen hoeveelheid bodem in kg ds
 a en b = de coëfficiënten van de kalibratievergelijking
 f = de omrekeningsfactor van formaldehyde-DNPH naar formaldehyde (f = 0.14)

Opmerkingen:

- Het eindextract bedraagt typisch 5 ml, de monsterinname 5 g
- Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient het extract verdund te worden met acetonitrile/water 1/1 en opnieuw gemeten.
- Voor monsters die mogelijk hoge concentraties bevatten van formaldehyde en andere carbonylverbindingen, die ook reageren met DNPH, dient nagegaan te worden of de omzetting van formaldehyde naar formaldehyde-DNPH volledig is (m.a.w. of de overmaat DNPH niet opgebruikt is). De DNPH piek dient nog zichtbaar te zijn in het chromatogram. In geval van twijfel dient formaldehyde geaddeerd te worden aan het monster en de terugvinding bepaald te worden.

7 KWALITEITSCONTROLE

Voor de uitvoering van de kwaliteitscontroles wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

De volgende kwaliteitsparameters zijn van toepassing:

- Controle van de toestelgevoeligheid
- Controle van de responslineariteit en bepaling van het werkgebied
- Controle van de juistheid van de kalibratie-oplossingen (onafhankelijke controlestandaard)
- Bepaling van de blancobijdrage (procedureblanco)
- Bepaling van de terugvinding (controlemonster en/of matrixadditie)

8 RAPPORTERING

Vermeld in het analyseverslag het gehalte formaldehyde in mg/kg ds.

9 VEILIGHEID

De scheikundige producten die bij deze analysemethode gebruikt worden, zijn ondergebracht bij de potentieel giftige en kankerverwekkende stoffen. Dit maakt het noodzakelijk de voorziene maatregelen in het laboratorium toe te passen om blootstelling aan of contact met deze producten tot een minimum te herleiden.

10 REFERENTIES

US EPA method 8315A (1996) – Determination of carbonyl compounds by high performance liquid chromatography (HPLC)

BIJLAGE A

UPLC-UV CHROMATOGRAM VAN EEN LEEMBODEMEXTRACT (50 mg/kg ds
FORMALDEHYDE)