

## **Tributyltin in bodem, waterbodem, sediment, bagger- en ruimingsspecie**

## INHOUD

|           |                                                            |           |
|-----------|------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>  | <b>Doel en toepassingsgebied</b>                           | <b>3</b>  |
| <b>2</b>  | <b>Principe</b>                                            | <b>3</b>  |
| 2.1       | Voorbehandeling en extractie                               | 3         |
| 2.2       | Zuivering                                                  | 3         |
| 2.3       | Identificatie en kwantificering van TBT                    | 3         |
| <b>3</b>  | <b>Apparatuur en materiaal</b>                             | <b>4</b>  |
| <b>4</b>  | <b>Reagentia en oplossingen</b>                            | <b>4</b>  |
| <b>5</b>  | <b>Monsterbewaring en -voorbehandeling</b>                 | <b>5</b>  |
| <b>6</b>  | <b>Analyseprocedure</b>                                    | <b>5</b>  |
| 6.1       | Staalvoorbehandeling                                       | 5         |
| 6.2       | Extractie                                                  | 5         |
| 6.3       | Derivatisering                                             | 6         |
| 6.4       | Zuivering                                                  | 6         |
| 6.5       | Meting                                                     | 7         |
| 6.5.1     | Toestelinstellingen                                        | 7         |
| 6.5.2     | Kalibratie                                                 | 7         |
| 6.5.3     | Kwantificering                                             | 8         |
| <b>7</b>  | <b>Kwaliteitscontrole</b>                                  | <b>8</b>  |
| 7.1       | Responslineariteit                                         | 8         |
| 7.2       | Chromatografische scheiding                                | 9         |
| 7.3       | Recuperatierendement van de interne standaard en surrogaat | 9         |
| <b>8</b>  | <b>Prestatiekenmerken</b>                                  | <b>9</b>  |
| <b>9</b>  | <b>Rapportering</b>                                        | <b>9</b>  |
| <b>10</b> | <b>Referenties</b>                                         | <b>9</b>  |
|           | <b>BIJLAGE A Karakteristieke ionen (MS)</b>                | <b>10</b> |
|           | <b>BIJLAGE B Karakteristieke transities (MS/MS)</b>        | <b>11</b> |

## 1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

~~Deze procedure is nieuw.~~ Deze procedure vervangt procedure CMA/3/L van november 2016.

De hieronder beschreven analysemethode wordt gebruikt voor het bepalen van tributyltin (TBT) met gaschromatografie (GC) na derivatisering. De methode is geschikt voor de bepaling van TBT in :

- bodem
- waterbodem
- sediment
- bagger- en ruïmingspecie

## 2 PRINCIPE

### 2.1 VOORBEHANDELING EN EXTRACTIE

De stalen worden gehomogeniseerd en (optioneel) gevriesdroogd. Aan gevriesdroogde stalen en aan stalen met meer dan 80% droge stof wordt water toegevoegd tot <80% ds alvorens te extraheren.

Het TBT-kation wordt uit de stalen geëxtraheerd met methanol/azijnzuur (1/1). Na aanpassing van de pH tot 4 à 6 wordt het TBT-kation gederivatiseerd met natrium tetraethylboraat (NaBEt<sub>4</sub>) en het gevormde ethyltributyltin wordt geëxtraheerd met hexaan.

### 2.2 ZUIVERING

Indien nodig wordt een zuiveringsprocedure toegepast om interferenties te elimineren. Deze bestaat uit adsorptiechromatografie over silica of alumina.

### 2.3 IDENTIFICATIE EN KWANTIFICERING VAN TBT

De meting gebeurt met GC-MS of GC-MS/MS. De identificatie van TBT steunt op de vergelijking van de retentietijd in het specifieke ionchromatogram van staal en kalibratieoplossing. De kwantificering verloopt volgens de interne standaard-methode, waarbij gekende hoeveelheden van deuterium gemerkt TBT als interne standaard vóór de extractie aan het staal wordt toegevoegd. De kalibratie gebeurt t.o.v. standaarden van ethyl-TBT en ethyl-TBT-d<sub>27</sub>.

Gehalten worden berekend gebruik makend van de geïntegreerde piekoppervlakken van de meest karakteristieke ionen voor ethyl-TBT en ethyl-TBT-d<sub>27</sub>.

De kwantificering volgens de interne standaard-methode laat toe automatisch en accuraat de verliezen in rekening te brengen die in de extractie-, **derivatiserings**-, zuiverings-, indamp- en injectiestap van de analyse kunnen optreden. Door toevoegen een zgn. 'recovery'-standaard juist voor de instrumentele meting kan het terugvindingsrendement van de interne standaard bepaald worden. Als recoverystandaard wordt tetrapropyltin of tetrapentyltin gebruikt.

Om het goede verloop van de opwerking te controleren wordt een zgn. surrogaatverbinding toegevoegd aan elk staal vóór de extractie. Als surrogaat wordt tripropyltin (TPrT) gebruikt.

### 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 mortier en stamper (porselein)
- 3.4 glazen recipiënten voorzien van schroefdob met teflon inleg of voorzien van een glazen stop
- 3.5 centrifugetubes (glas)
- 3.6 injectiespuiten voor het doperen met resp. interne standaard, recovery standaard en surrogaat.
- 3.7 eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 3.8 glazen chromatografische kolommen, i.d. 10-15 mm, met gefritteerde basis en teflonkraan
- 3.9 erlenmeyers (100 en 250 ml)
- 3.10 maatcilinder (100 ml)
- 3.11 GC-MS of GC-MS/MS systeem bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer of tandem massaspectrometer en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur
- 3.12 In geval van headspace-SPME : een headspace verwarmingsapparaat en SPME extractiespuiten voorzien van een geschikte fase
- 3.13 fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase (5%fenylmethylpolysiloxaan, DB5-MS of gelijkwaardig), bv. 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm

#### Opmerking

*Alle glaswerk dat in contact komt met staal of extract dient grondig gereinigd te worden door te spoelen met aceton en hexaan*

### 4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 4.1 n-hexaan, petroleumether (40-60°C), isohexaan of een ander alkaan: residu-analyse (of gelijkwaardig)
- 4.2 aceton, dichloormethaan : residu-analyse (of gelijkwaardig)
- 4.3 methanol, azijnzuur : residu-analyse (of gelijkwaardig)
- 4.4 natriumsulfaat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ): granulair en watervrij; een geopende verpakking wordt uitgegoten in een schaal en bewaard bij 130°C in een droogoven
- 4.5 natriumhydroxide (NaOH): oplossing 40%
- 4.6 silica, geactiveerd: een laag van ongeveer 25 mm silica (70-230 mesh) wordt in een schaal verwarmd gedurende minstens 12 u op 500°C. De schaal wordt in de oven afgekoeld tot 200°C en vervolgens afgekoeld tot kamertemperatuur in een exsiccator.
- 4.7 silicagel 3 %  $\text{H}_2\text{O}$  : voeg aan de geactiveerde silica in een erlenmeyer gravimetrisch 3 %  $\text{H}_2\text{O}$  toe, sluit de erlenmeyer af en schud het geheel tot alle agglomeraten verdwenen zijn; de aldus bereide silica kan een week bewaard worden
- 4.8 alumina, geactiveerd, basisch , 70-230 mesh: aluminiumoxide wordt geactiveerd door verhitten gedurende minstens 24 u bij 600°C. De schaal wordt in de oven afgekoeld tot 200°C en vervolgens afgekoeld tot kamertemperatuur in een exsiccator.
- 4.9 Alumina 10 %  $\text{H}_2\text{O}$  : voeg aan de geactiveerde alumina in een erlenmeyer gravimetrisch 10 %  $\text{H}_2\text{O}$  toe, sluit de erlenmeyer af en schud het geheel tot alle agglomeraten verdwenen zijn; de aldus bereide alumina kan een week bewaard worden

## Standaardoplossingen

Opmerkingen:

- de hieronder beschreven standaarden kunnen aangemaakt worden uitgaande van zuivere vaste producten of van aankochte oplossingen. Oplossingen van tripropyltin zijn minder stabiel, daarom wordt aanbevolen om de standaarden van deze component aan te maken vanuit de zuivere vaste stof.

- 4.10 Additieoplossing interne standaard : bereid een oplossing in methanol die ongeveer 2 µg/ml TBT-chloride bevat
- 4.11 Additieoplossing surrogaat : bereid een oplossing in methanol die ongeveer 2 µg/ml TPrT-chloride bevat
- 4.12 recoverystandaard: bereid een oplossing in hexaan (of een ander alkaan) die ongeveer 2 µg/ml tetrapropyltin bevat
- 4.13 kalibratieoplossingen : bereid oplossingen in hexaan (of een ander alkaan) die ethyl-TBT en ethyl-TPrT bevatten in oplopende concentraties van 5 tot 500 µg/l en de interne standaard ethyl-TBT-d27 en de recoverystandaard tetrapropyltin in een concentratie van 50 µg/l

## 5 MONSTERBEWARING EN -VOORBEHANDELING

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

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

## 6 ANALYSEPROCEDURE

### 6.1 STAALVOORBEHANDELING

De stalen worden gehomogeniseerd door te mengen. Om de homogenisatie te vergemakkelijken mogen de stalen gevriesdroogd en gemalen worden.

### 6.2 EXTRACTIE

De stalen worden veldnat opgewerkt. Aan stalen met meer dan 80% droge stof en aan gevriesdroogde stalen wordt water toegevoegd tot een gehalte droge stof bekomen wordt van 70% tot 80%.

- weeg in een afsluitbaar glazen recipiënt een hoeveelheid veldnat staal af overeenkomst met 2 tot 5 g droge stof
- voeg 50 µl van de additieoplossing interne standaard en 50 µl van de additieoplossing surrogaat toe
- als extractievloeistof wordt een mengsel van methanol en azijnzuur toegevoegd (1/1). Per gram droge stof staalinname wordt 5 ml extractievloeistof toegevoegd.
- soniceer het mengsel gedurende 30 minuten in een ultrasoonbad
- centrifugeer en zonder de bovenstaande vloeistof af
- voeg opnieuw een volume extractievloeistof toe, gelijk aan de helft van de hoeveelheid gebruikt voor de eerste extractie

- centrifugeer en voeg de bovenstaande vloeistoffase samen met de vorige in een glazen recipiënt met schroefdpot met tefloninlage.

### 6.3 DERIVATISERING

- voeg 10 ml natriumhydroxide oplossing 40% toe
- breng de pH op 4 tot 6 met azijnzuur
- voeg 20 ml hexaan (of een ander alkaan)
- voeg derivatiseringsreagens toe :
  - ofwel 5% NaBEt<sub>4</sub> in water : voeg 4 ml per g droge stof staalinname toe
  - ofwel 10% NaBEt<sub>4</sub> in THF : voeg 0.5 ml per g droge stof staalinname toe
- sluit het recipiënt af en schud hevig gedurende 1 minuut
- schud het recipiënt gedurende 20 min op de schudbank
- laat bezinken en pipetteer de hexaanfase af
- herhaal de extractie met 20 ml hexaan (of een ander alkaan)
- voeg de hexaanfasen samen
- was de hexaanfase met 5 ml natriumhydroxide oplossing 10M
- zuiver het extract over silica of alumina (zie hieronder)

*Opmerking : als alternatief voor de hexaanextractie kan ook headspace-SPME toegepast worden; de zuiveringsstap over silica of alumina vervalt dan*

### 6.4 ZUIVERING

Indien nodig (bij onzuivere chromatogrammen) worden het extract aan een van onderstaande zuiveringsprocedures onderworpen.

#### Zuivering over silica

- vul de chromatografische kolom voor de helft met hexaan
- breng 5 g silica 3% H<sub>2</sub>O in de kolom gevolgd door 3 g droogmiddel
- breng het extract op de kolom en elueer de organotinverbindingen met 5% aceton in hexaan of met 20% dichloormethaan in hexaan; de geschikte hoeveelheid eluens dient vooraf experimenteel bepaald te worden
- damp het eluaat in tot een eindvolume van ongeveer 1 ml
- voeg 25 µl recoverystandaard toe

#### Zuivering over alumina

- vul de chromatografische kolom voor de helft met hexaan
- breng 5 g alumina 10% H<sub>2</sub>O in de kolom gevolgd door 3 g droogmiddel
- breng het extract op de kolom en elueer de organotinverbindingen hexaan; de geschikte hoeveelheid dient vooraf experimenteel bepaald te worden
- damp het eluaat in tot een eindvolume van ongeveer 1 ml
- voeg 25 µl recoverystandaard toe

## 6.5 METING

### 6.5.1 TOESTELINSTELLINGEN

De componenten worden gescheiden op een gaschromatografische kolom en gedetecteerd met MS in SIM-mode of met MS/MS in SRM-mode. In het eerste geval worden karakteristieke massa's gemeten (bijlage A), in het tweede geval worden de dochterionen van karakteristieke transitie's gemeten (bijlage B).

### 6.5.2 KALIBRATIE

De kwantitatieve bepaling van TBT en van de surrogaat TPrT gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt elke component gekwantificeerd t.o.v. de interne standaard ethyl-TBT-d27 die bij het begin van de extractie 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 minstens één kalibratie-oplossing. 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 kalibratie-oplossing geïnjecteerd.—De RRFen voor TBT en TPrT worden vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten en concentraties van de natieve componenten en de interne standaard :

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

met

$RRF_i$  = relatieve responsfactor van de natieve component i

$A_i$  = piekoppervlakte van natieve component i bij injectie van de kalibratieoplossing

$C_i$  = concentratie (in ng/μl) van natieve component i in de kalibratieoplossing

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

$A_{IS}$  = piekoppervlakte van de 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 kalibratie-oplossingen 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 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. 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 van de interne standaard. Vervolgens wordt dmv kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend.

Voor de berekening van de terugvinding van de interne standaard wordt doorgaans de RRF-methode toegepast, waarbij de RRF van de interne standaard bepaald wordt t.o.v. de 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 (in ng/μl) van de interne standaard in de kalibratieoplossing       |
| $C_{RS}$   | = | concentratie (in ng/μl) van de recoverystandaard in de kalibratieoplossing       |
| $A_{RS}$   | = | piekoppervlakte van de recoverystandaard bij injectie van de kalibratieoplossing |

### 6.5.3 KWANTIFICERING

Voor de monsterextracten worden de chromatogrammen geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Uitgaande van de integratiewaarden (piekoppervlakten) 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 (GC), procedureblanco, terugvinding van de interne standaard, terugvinding van de surrogaat en controle op gevoeligheid 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 geregistreeerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden startend van een verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de interne standaard nog voldoende intens is, of startend van een geringere hoeveelheid monster.



## 7.2 CHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

In geval van GC-analyse wordt de kolomkwaliteit geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritische paar in het chromatogram van de kalibratie-oplossing. 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.

## 7.3 RECUPERATIEREDEMMENT VAN DE INTERNE STANDAARD EN SURROGAAT

Voor de eisen aan de terugvindingen van de interne standaard en surrogaat wordt verwezen naar CMA/6/D.

## 8 PRESTATIEKENMERKEN

Voor de prestatiekenmerken wordt verwezen naar CMA deel 6.

## 9 RAPPORTERING

Vermeld in het analyseverslag het gehalte van TBT in  $\mu\text{g/kg}$  droge stof.

## 10 REFERENTIES

ISO23161: Soil quality – Determination of selected organotin compounds - Gas-chromatographic method (2009)

ISO17353: Water quality – Determination of selected organotin compounds – gas-chromatographic method (2004)

CEN/TS16692 : Water quality – Determination of tributyltin (TBT) in whole water samples – Method using solid phase extraction (SPE) with SPE disks and gas chromatography with triple quadrupole mass spectrometry

**BIJLAGE A KARAKTERISTIEKE IONEN (MS)**

| Component             | m/z | m/z | m/z | m/z | m/z | m/z |
|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ethyl-tributyltin     | 291 | 289 | 263 | 261 | 179 | 177 |
| Ethyl-tripropyltin    | 249 | 247 | 235 | 233 | 193 | 191 |
| Tetrapropyltin        | 249 | 247 | 165 | 163 | 207 | 205 |
| Ethyl-tributyltin-D27 | 235 | 121 | 263 | 291 |     |     |

**BIJLAGE B KARAKTERISTIEKE TRANSITIES (MS/MS)**

| Component             | Moederion 1<br>m/z | Dochterion 1<br>m/z | Moederion 2<br>m/z | Dochterion 2<br>m/z |
|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| Ethyl-tributyltin     | 291                | 179                 | 291                | 235                 |
| Ethyl-tripropyltin    | 247                | 163                 | 249                | 165                 |
| Tetrapropyltin        | 247                | 163                 | 249                | 165                 |
| Ethyl-tributyltin-D27 | 254                | 190                 | 318                | 190                 |