

Bepaling van ftalaten in water met GC-MS/MS

INHOUD

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

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure is nieuw en beschrijft een GC-MS/MS methode voor de kwantitatieve bepaling van 16 individuele ftalaten en 5 isomerenmengsels van ftalaten in oppervlaktewater, grondwater, drinkwater en afvalwater. De volgende componenten vallen onder het toepassingsgebied:

Individuele ftalaten

DMP	dimethylftalaat
DEP	diethylftalaat
DPrP	dipropylftalaat
DIBP	di-isobutylftalaat
DnBP	di-n-butylftalaat
DnPP	di-n-pentylftalaat
DIPP	di-isopentylftalaat
PIPP	n-pentylisopentylftalaat
DnHxP	di-n-hexylftalaat
DIHxP	di-isoheptylftalaat
DnHpP	di-n-heptylftalaat
BBP	benzylbutylftalaat
DEHP	di(2-ethylhexyl)ftalaat
DCHP	dicyclohexylftalaat
DnOP	di-n-octylftalaat
DnUP	di-n-undecylftalaat

Isomerenmengsels

DIHxP-mix	di-isoheptylftalaat (mix van isomeren)
DIHpP-mix	di-isoheptylftalaat (mix van isomeren)
DINP-mix	di-isononylftalaat (mix van isomeren)
DIDPmix	di-isodecylftalaat (mix van isomeren)
DIUP-mix	di-isoundecylftalaat (mix van isomeren)

2 PRINCIPE

Deze methode voor de bepaling van ftalaten in water is gebaseerd op een vloeistof-vloeistofextractie (LLE) met hexaan, gevolgd door een gaschromatografische scheiding met tandem massaspectrometrische detectie (GC-MS/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.

Voor de individuele ftalaten bedraagt de bepalingsgrens van de methode 0.5 µg/l tot 2 µg/l, afhankelijk van de component en van de concentratie in de blanco. Voor isomerenmengsels is de bepalingsgrens afhankelijk van de ketenlengte en varieert tussen 1 en 5 µg/l.

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 mee 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;
- alle glaswerk (incl. pasteurpipetten, vials,...) uitgloeien bij 450 °C;
- contact met plastic volledig vermijden

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.
- 4.1.4. Gaschromatograaf voor capillaire kolommen, voorzien van een on-column, split/splitless of PTV injector, een MS/MS-detector en een datastation voorzien van de nodige sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur.

4.2 MATERIAAL

- 4.2.1. Scheitrechter 250-500 ml voor de vloeistof-vloeistofextractie.
- 4.2.2. Gebruikelijk laboratoriumglaswerk.
- 4.2.3. Injectiespuit van vb. 100 µL voor het doperen van de interne standaarden.
- 4.2.4. Penicillineflesjes.
- 4.2.5. Pasteurpipetten.
- 4.2.6. Capillaire kolom met apolaire fase, bijvoorbeeld een DB-XLB kolom van 30 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. Hexaan : residu-analyse kwaliteit.
- 5.1.3. Isopropanol : residu-analyse kwaliteit.
- 5.1.4. Individuele ftalaten: dimethylftalaat, diethylftalaat, dipropylftalaat, di-isobutylftalaat, di-n-butylftalaat, di-n-pentylftalaat, di-isopentylftalaat, n-pentylisopentylftalaat, di-n-hexylftalaat, di-isohexylftalaat, di-n-heptylftalaat, benzylbutylftalaat, di(2-ethylhexyl)ftalaat, dicyclohexylftalaat, di-n-octylftalaat, di-n-undecylftalaat: p.a.

- 5.1.5. Isomerenmengsels: isohexylftalaat-mix, isoheptylftalaatmix, isononylftalaatmix, isodecylftalaatmix, isoundecylftalaatmix: p.a.
- 5.1.6. Interne standaarden:
d₄-dimethylftalaat (d₄-DMP), d₄-diethylftalaat (d₄-DEP), d₄-di-isobutylftalaat (d₄-DIBP), d₄-di-n-butylftalaat (d₄-DnBP), d₄-benzylbutylftalaat (d₄-BBP), d₄-di-n-hexylftalaat (d₄-DnHxP), d₄-di-2-ethylhexylftalaat (d₄-DEHP), d₄-di-n-octylftalaat (d₄-DnOP): p.a.
- 5.1.7 Recoverystandaard: bv. ¹³C-PCB-180.

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 uitgaande van zuiver standaard materiaal, in een concentratie van bv. 250 mg/L.
- 5.2.2. Stockoplossingen van d₄-gemerkte ftalaten (interne standaarden):
Stockoplossingen van d₄-gemerkte ftalaten (al dan niet afzonderlijke) worden bereid in hexaan of ander alkaan uitgaande van zuiver standaard materiaal, in een concentratie van bv. 100 mg/L.
- 5.2.3. Stockoplossing van de recoverystandaard:
Stockoplossing van de recoverystandaard wordt bereid in hexaan of ander alkaan uitgaande van zuiver standaard materiaal, in een concentratie van bv. 100 mg/L.
- 5.2.4. Kalibratiewerkoplossingen:
De werkoplossingen voor de kalibratie worden gemaakt in hexaan uitgaande van de bovenstaande stockoplossingen. De kalibratiewerkoplossingen bevatten de natieve ftalaten in een concentratie variërend van bijvoorbeeld 0,01 mg/L tot 1 mg/L voor individuele ftalaten en 0,02 tot 2 mg/l voor de isomerenmengsels. De concentratie van de interne standaarden en van de recoverystandaard is in deze oplossingen constant, bv. 0,1 mg/L.
- 5.2.5. Additie-oplossing van natieve individuele ftalaten:
De additie-oplossing voor aanmaak van het controlemonster wordt bereid in isopropanol uitgaande van de stockoplossingen. De concentratie van individuele ftalaten in deze oplossing bedraagt bv. 10 mg/L.
- 5.2.6. Additie-oplossing van d₄-gemerkte ftalaten:
Uitgaande van de bovenstaande stockoplossing van d₄-gemerkte ftalaten wordt een verdunning gemaakt in isopropanol in een concentratie van bijvoorbeeld 10 mg/L.
- 5.2.7. Additie-oplossing van de recoverystandaard:
Uitgaande van de bovenstaande stockoplossing van d₄-gemerkte ftalaten wordt een verdunning gemaakt in isopropanol in een concentratie van bijvoorbeeld 10 mg/L.

6 PROCEDURE

6.1 EXTRACTIE

- Weeg de monsterfles tot op 0,1 g nauwkeurig.
- Breng het volledige waterstaal (minstens 200 ml) over in een geschikte scheitrechter.
- Voeg m.b.v. een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de interne standaarden toe.
- Spoel de monsterfles met 10 ml hexaan en voeg toe aan de scheitrechter.
- Schud de scheitrechter krachtig gedurende ongeveer 3 min.
- Laat de waterfase af en vang 1 ml van de hexaanfase op in een meetvial.
- Voeg een gekende hoeveelheid recoverystandaard toe.
- Sluit de vial af met aluminiumfolie en met een crimpcap.
- Meet het extract met GC-MS/MS (zie 6.2).

6.2 METING

De analyse van ftalaten in water wordt uitgevoerd met GC-MS/MS in SRM modus.

Typische toestelinstellingen van de GC-MS/MS zijn weergegeven in bijlage A. In bijlage B zijn de typische transitieën weergegeven.

Voor de geïnjecteerde extracten en standaardoplossingen worden de ionchromatogrammen gegenereerd en de piekoppervlakten van de selectieve en generieke transitieën worden bepaald.

Opmerkingen:

- de piekoppervlakte van de selectieve transitie wordt gebruikt voor de kwantificering, de generieke transitie wordt gebruikt ter confirmatie van de identiteit;
- de isomerenmengsels worden over gans hun elutiegebied geïntegreerd. De patronen kunnen afwijken van deze in de kalibratiestandaarden.

6.3 IDENTIFICATIE

De native 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_i	=	relatieve responsfactor van natieve component i
A_i	=	piekoppervlakte van natieve component i bij injectie van de kalibratieoplossing
C_i	=	concentratie (in ng/μl) van de natieve component i in de kalibratie oplossing
C_{IS}	=	concentratie (in ng/μl) 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 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 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 natieve 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

C_{is}	=	kalibratieoplossing 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

6.4.2 BEREKENING VAN HET GEHALTE VAN DE FTALAATVERBINDING IN HET MONSTER

Voor de monsterextracten worden de ionenchromatogrammen (van de specifieke transitie) geregistreerd op identieke wijze als voor de standaardoplossingen. Van de geïdentificeerde ftalaten worden de piekoppervlakten behorende bij de specifieke transitie 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 µg/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: TYPISCHE TOESTELINSTELLINGEN GC-MS/MS

Kolom:	DB-XLB 30m x 0,25mm x 0,25µm
Draaggas:	He
Kolomflow:	1 ml/min
Injectievolume:	1 µl splitless
Injectortemperatuur:	250 °C
Ovenprogramma:	60°C (1 min) 20°C/min->280°C (1.5 min) 20°C/min->320°C (6 min)
Source temperatuur:	230 °C
Collision gass:	1.3 mTorr
Transities:	zie bijlage B

BIJLAGE B: TYPISCHE MS/MS-TRANSITIES VAN DE FTALATEN

<i>Parameter</i>	<i>Specifieke transitie</i>	<i>Generieke transitie</i>	<i>Retentietijd (min)</i>	<i>Kwantificatie tov</i>
Individuele ftalaten				
DMP	194->163	163->77	7.9	d4-DMP
DEP	177->149	149->65	8.7	d4-DEP
DPrP	191->149	149->65	9.8	d4-DIBP
DIBP	223->149	149->65	10.2	d4-DIBP
DnBP	223->149	149->65	10.8	d4-DnBP
DnPP	237->149	149->65	11.7	d4-DnBP
DIPP	237->149	149->65	11.3	d4-DnBP
PIPP	237->149	149->65	11.5	d4-DnBP
DnHxP	251->149	149->65	12.6	d4-DHxP
DIHxP	251->149	149->65	12.2	d4-DHxP
DnHpP	265->149	149->65	13.8	d4-DnOP
BBP	206->149	149->65	12.8	d4-BBP
DEHP	167->149	149->65	13.7	d4-DEHP
DCHP	167->149	149->65	13.8	d4-DEHP
DnOP	279->149	149->65	14.9	d4-DnOP
DnUP	321->149	149->65	18.6	d4-DnOP
Isomerenmengsels				
DIHxmix	251->149	149->65	11.8 – 13.5	d4-DnOP
DIHp mix	265->149	149->65	12.5 – 14.2	d4-DnOP
DINP mix	293->149	149->65	14.2 – 16.2	d4-DnOP
DIDP mix	307->149	149->65	14.6 – 17.0	d4-DnOP
DIUP mix	321->149	149->65	14.8 – 18.6	d4-DnOP
Interne standaarden				
d4-DMP	198->167	167->81	7.9	¹³ C-PCB-180
d4-DEP	181->153	153->69	8.7	¹³ C-PCB-180
d4-DiBP	227->153	153->69	10.2	¹³ C-PCB-180
d4-DnBP	227->153	153->69	10.8	¹³ C-PCB-180
d4-BBP	210->153	153->69	12.8	¹³ C-PCB-180
d4-DHxP	255->153	153->69	12.6	¹³ C-PCB-180
d4-DEHP	171->153	153->69	13.7	¹³ C-PCB-180
d4-DnOP	283->153	153->69	14.9	¹³ C-PCB-180
Recoverystandaard				
Bv. ¹³ C-PCB-180	394->324	396->326	13.9	