Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

Bepaling van fenolische verbindingen in water

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

INHOUD

1 TOEPASSINGSGEBIED 3

2 PRINCIPE 3

2.1 Staalopwerking Methode A 4
2.1.1 Extractie 4
2.1.2 Derivatisering 4
2.1.3 Zuivering 4

2.2 Staalopwerking Methode B 4
2.2.1 Extractie 4
2.2.2 Derivatisering 4
2.2.3 Zuivering 4

2.3 Analyse 4

3 OPMERKINGEN 5

4 APPARATUUR EN MATERIAAL 5

4.1 Apparatuur 5

5 REAGENTIA en OPLOSSINGEN 6

5.1 Reagentia 6

5.2 Oplossingen 6

6 PROCEDURE 7

6.1 Methode A 7
6.1.1 Extractieprocedure 7
6.1.2 Directe derivatisering 9
6.1.3 Derivatisering na extractie 10

6.2 Methode B 10
6.2.1 Extractieprocedure 10
6.2.2 Derivatisering 11

6.3 GC-MS analyse 11

7 KWALITEITSCONTROLE 14

7.1 Responslineariteit 14

7.2 Gaschromatografische scheiding 14

8 RAPPORTERING 14

9 REFERENTIES 14

BIJLAGE 1 : Specifieke ionen voor de fenylacetaatesters 16

BIJLAGE 2 : Typische GC/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van fenolen 18

BIJLAGE 3 : Typisch GC-patroon van technisch nonylfenol 19

emis

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt procedure WAC/IV/A/001 van november 2016 en beschrijft een methode voor de extractie, derivatisering, zuivering en analyse van fenolen in water. Deze methode is toepasbaar voor oppervlaktewater, grondwater, drinkwater en afvalwater. Tabel 1 geeft een lijst van verbindingen die kunnen bepaald worden met deze methode.

Tabel 1: overzicht van fenolische verbindingen van toepassing voor deze methode

Fenol	2,6-Dichloorfenol
2-Methylfenol (o-Cresol)	2,5-Dichloorfenol
3-Methylfenol (m-Cresol)	2,4-Dichloorfenol
4-Methylfenol (p-Cresol)	3,5-Dichloorfenol
2,3-Dimethylfenol	2,3-Dichloorfenol
2,4-Dimethylfenol	3,4-Dichloorfenol
2,5-Dimethylfenol	2,4,6-Trichloorfenol
2,6-Dimethylfenol	2,3,6-Trichloorfenol
3,4-Dimethylfenol	2,3,5-Trichloorfenol
3,5-Dimethylfenol	2,4,5-Trichloorfenol
2-Ethylfenol	2,3,4-Trichloorfenol
3-Ethylfenol	3,4,5-Trichloorfenol
4-Ethylfenol	2,3,5,6-Tetrachloorfenol
4-Chloor-3-methylfenol	2,3,4,6-Tetrachloorfenol
2-Isopropylfenol	2,3,4,5-Tetrachloorfenol
2,3,5-Trimethylfenol	Pentachloorfenol
2-Chloorfenol	4-Chloor-3,5-dimethylfenol (dettol)
3-Chloorfenol	Octylfenol
4-Chloorfenol	Nonylfenol
	Bisfenol A

De hier beschreven methode is gevalideerd voor de bovenstaande verbindingen. Het toepassingsgebied is mogelijk uit te breiden tot andere fenolverbindingen, zoals nitrofenolen.

Opmerkingen :

- met 'nonylfenol' wordt het mengsel van isomeren bedoeld, met CAS-nummer 84852-15-3
- met octylfenol wordt 4-tertiair-octylfenol bedoeld, met CAS-nummer 140-66-9

2 PRINCIPE

De fenolen worden bepaald met GC-MS na derivatisering.
Weinig verontreinigde stalen worden direct gederivatiseerd. Sterk verontreinigde stalen worden gederivatiseerd na opzuivering dmv vloeistof-vloeistof extractie. Deze laatste werkwijze is echter niet geschikt voor de bepaling van nonylfenol. Indien nonylfenol bepaald dient te worden in verontreigde stalen wordt een SPE-extractie uitgevoerd gevolgd door dubbele derivatisering; deze staalvoorbereiding is geschikt voor de bepaling van alle fenolen uit het toepassingsgebied.

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

Voor de bepaling van octylfenol, nonylfenol en bisfenol A in afvalwater kan als alternatief procedure WAC/IV/A/005 toegepast worden (LC-MS).

2.1 STAALOPWERKING METHODE A

2.1.1 EXTRACTIE

Watermonsters worden na toevoeging van inwendige standaard direct gederivatiseerd, met uitzondering van sterk verontreinigde stalen: deze worden eerst geëxtraheerd met dichloormethaan in zuur midden en daarna teruggeëxtraheerd in waterig milieu met base.

2.1.2 DERIVATISERING

De basisch gemaakte waterstalen of de waterige basische extracten van verontreinigde waterstalen worden gederivatiseerd met azijnzuuranhydride, na toevoeging van K_2CO_3 als katalysator. De gevormde fenylacetaatesters worden met hexaan geëxtraheerd.

2.1.3 ZUIVERING

Na de derivatisering wordt het hexaanextract gewassen met water om polaire derivatisering-residu's te verwijderen.

2.2 STAALOPWERKING METHODE B

2.2.1 EXTRACTIE

Watermonsters worden aangezuurd en na toevoeging van inwendige standaard geëxtraheerd dmv vaste fase extractie (SPE). De fenolen worden geëlueerd met aceton.

2.2.2 DERIVATISERING

Het acetonextract wordt gederivatiseerd met azijnzuuranhydride in 2 stappen (bij verschillende pH), na toevoeging van K_2CO_3 als katalysator. De gevormde fenylacetaatesters worden met hexaan geëxtraheerd.

2.2.3 ZUIVERING

Na de derivatisering wordt het hexaanextract gewassen met water om polaire derivatisering-residu's te verwijderen.

2.3 ANALYSE

Aan de ingedampte extracten wordt een recovery standaard toegevoegd. De extracten worden geanalyseerd met een gaschromatograaf uitgerust met een massaspectrometrische detector (GC/MS). De detectie gebeurt in SIM-modus. De identificatie gebeurt aan de hand van de retentietijden in de ionenchromatogrammen en door vergelijking van de relatieve intensiteiten van de m/z signalen van de isotoopclusters. De kwantificering gebeurt door integratie van de piekoppervlakken behorend bij de chromatogrammen van de meest intense ionen. Er wordt gebruik gemaakt van de inwendige standaard methode, waarbij gekende hoeveelheden van ^{13}C of deuterium gemerkte componenten als interne standaard voor de extractie aan het staal worden toegevoegd.

http://www.emis.vito.be

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

Gezien de beperkte keuze aan gemerkte fenolen moet de kalibratiestandaard de volledige analyse doorlopen. Bij de analyse van verontreinigde waterstalen die eerst aan extractie onderworpen worden (methode A) kan het extractierendement van de interne standaarden berekend worden ten opzichte van een zogenaamde controlestandaard. Dit is een standaard die bekomen wordt door een mengsel van de gebruikte interne standaarden te derivatiseren zonder voorafgaandelijke extractie. Minstens vier isotoop-gemerkte fenolen worden als interne standaard gebruikt waarbij de volgende steeds aanwezig zijn: ^{13}C6- of D5- of D6-fenol, D3-2,4-dimethylfenol, ^{13}C6-pentachloorfenol en een andere gemerkte gechloreerde fenol. Voor de bepaling van octylfenol, nonylfenol en bisfenol A worden de volgende interne standaarden toegevoegd : ^{13}C-4-(3,6-dimethylheptyl)fenol, ^{13}C-4-t-octylfenol en D16-bisfenol A.

Bijkomend kan gebruik gemaakt worden van o.a. ^{13}C6-4-chloorfenol, D5-2-chloorfenol, ^{13}C6-2,4-dichloorfenol, ^{13}C6-2,4,5-trichloorfenol, ^{13}C6-2,4,6-trichloorfenol, ^{13}C6-2,3,4,5-tetrachloorfenol, D8-o-cresol.

Als recovery standaard komt elke apolaire verbinding in aanmerking die niet in de stalen aanwezig is en vergelijkbare retentietijd heeft als de fenolderivaten. Voorbeelden zijn: ^{13}C12-4,4'-dichloorbifenyl (= ^{13}C12-PCB-15), D10-bifenyl en ^{13}C6-dichloorbenzeen.

Opmerkingen:

- het gebruik van verbindingen zoals D4-dichloorfenol (als interne standaard) of D4-dichloorbenzeen (als recovery standaard) moet vermeden worden wegens interferentie op de ionenclusters door eventueel aanwezige natieve componenten.

- andere extractie-, derivatiserings- en meetmethoden kunnen toegepast worden op voorwaarde dat aangetoond wordt dat de methode voldoet aan de kwaliteitseisen (punt 7). Dit geldt niet voor grondwateranalyse in het kader van bodemonderzoek, waar de acetylering met azijnzuuranhydride verplicht is.

3 OPMERKINGEN

Voor monsterconservering en –bewaring wordt verwezen naar WAC/I/A/010. Grondwaterstalen (bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden bij aankomst in het labo opgeschud en men laat de stalen gedurende minstens 4 uur rusten zodat de deeltjes kunnen uitzakken. Aansluitend worden de stalen voorzichtig gedecanteerd. Niet meer dan de helft van de bovenstaande waterlaag wordt gedecanteerd om zo weinig mogelijk deeltjes in bewerking te nemen.

4 APPARATUUR EN MATERIAAL

4.1 APPARATUUR

4.1.1 Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
4.1.2 Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
4.1.3 Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
4.1.4 Opstelling voor elutie van SPE patronen
4.1.5 GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadrupool-type en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

Materiaal

4.1.6 Scheitrechters (100-250-500-1000 ml)
4.1.7 Injectiespuiten van 50 µl voor het doperen met interne standaard en 'recovery' standaard
4.1.8 Gegradueerde puntbuizen
4.1.9 Pipetten van 1 en 5 ml
4.1.10 Maatcylinder (50 ml)
4.1.11 Trechters
4.1.12 GC-kolom met apolaire stationaire fase, bv. DB-XLB; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
4.1.13 Injectiespuit van 10 µl
4.1.14 Glazen monsterflesjes (penicillineflesjes) van 2 ml
4.1.15 SPE patronen : ENVI-Chrom P (6 ml, 250 mg) of gelijkwaardig

5 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

5.1 REAGENTIA

5.1.1 Dichloormethaan: voor residu-analyse
5.1.2 Iso-octaan: pro analyse
5.1.3 Iso-propanol: pro analyse
5.1.4 Azijnzuuranhydride: pro analyse
5.1.5 Natriumhydroxide: pro analyse, ongeveer 1N en 10N
5.1.6 Zwavelzuur: pro analyse 1N en 10N
5.1.7 Zoutzuur: pro analyse 6N
5.1.8 Kaliumcarbonaat (K_2CO_3) : pro analyse, poeder
5.1.9 Blanco water: water dat geen fenolische of andere interfererende componenten bevat, bijvoorbeeld mineraalwater
5.1.10 n-hexaan : pro analyse
5.1.11 Natriumsulfaat, Na_2SO_4: gedroogd

5.2 OPLOSSINGEN

Opmerking:
de hieronder beschreven werkwijze vertrekt van vaste producten waarbij de hoofdstandaarden zelf aangemaakt worden. In de handel zijn echter ook reeds bereide en gecertificeerde oplossingen beschikbaar.

5.2.1. Hoofdstandaardoplossingen van natieve fenolen:

Van elke fenolverbinding wordt vanuit zuiver standaardmateriaal een afzonderlijke hoofdstandaard van bv. 1000 µg/g bereid in iso-octaan

5.2.2. Hoofdstandaardoplossingen van deuterium - en ^{13}C-gemerkte fenolen:

Er wordt een afzonderlijke hoofdstandaard bereid van bv. 200 µg/g in iso-octaan, uitgaande van zuiver standaardmateriaal of van oplossingen die verkrijgbaar zijn in de handel

5.2.3. Doperingsoplossing interne standaarden:

Van de hoofdstandaardoplossingen van D - en ^{13}C- gemerkte fenolen wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan die elke component bevat in een concentratie van bv. 25 µg/g

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

5.2.4. Doperingsoplossing kalibratiestandaard:

Van de hoofdstandaardoplossingen van natieve fenolen wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan die elke verbinding bevat in een concentratie van bv. 25 µg/g

5.2.5. Werkoplossingen recoverystandaard:

^{13}C-12-4,4'-dichloorbifenyl is in de handel te verkrijgen als een 50 µg/g oplossing in nonaan. Deze wordt verdund tot bv. 20 µg/g in iso-octaan

6 PROCEDURE

6.1 METHODE A

6.1.1 EXTRACTIEPROCEDURE

Waterstalen: directe derivatisering

Weinig verontreinigd water (drinkwater, proper grondwater) kan zonder voorafgaandelijk extractie gederivatiseerd worden. Eerst worden de gemerkte interne standaarden toegevoegd.

- leg de scheitrechter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0.1g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheitrechter. In geval van grondwater (decantatie, cfr supra) wordt maximum de helft van de bovenstaande fase overgebracht in de scheitrechter.
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

Sterk verontreinigde waterstalen

Waterstalen die niet direct gederivatiseerd kunnen worden omwille van matrixinterferenties worden eerst zuur geëxtraheerd met dichloormethaan, waarna de fenolen teruggeëxtraheerd worden met een NaOH-oplossing. Merk op dat nonylfenol met onderstaande procedure niet geanalyseerd kan worden.

- leg de scheitrechter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0.1g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheitrechter. In geval van grondwater (decantatie, cfr supra) wordt maximum de helft van de bovenstaande fase overgebracht in de scheitrechter.
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H_2SO_4 10N

http://www.emis.vito.be

- spoel de monsterfles na met 40 ml dichloormethaan en breng de spoelvloeistof over naar de scheitrechter
- schud het geheel krachtig gedurende ca 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de dichloormethaanfase op in een tweede scheitrechter
- extraheer de waterfase nog minstens 1 keer met 30 ml dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug uit de verzamelde dichloormethaanfasen met drie keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.1.3

Opmerking
Alternatief kunnen sterk verontreinigde waterstalen vooraf gewassen worden met dichloormethaan :

- leg de scheitrechter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- weeg de monsterfles tot op 0,1 g nauwkeurig
- breng de volledige inhoud van de monsterfles (typisch 500-1000 ml) over in de scheitrechter
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- breng het monster op een pH tussen 12 en 13 met NaOH 10N
- spoel de monsterfles na met 40 ml dichloormethaan en breng de spoelvloeistof over naar de scheitrechter
- schud het geheel krachtig gedurende ca. 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de waterfase op in een tweede scheitrechter
- behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

<u>Kalibratiestandaard voor waterstalen (directe derivatisering)</u>

- leg de scheitrechter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract bv. 1000 ng/g zal bedragen
- voeg 500 ml blanco water toe
- behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

<u>Kalibratiestandaard voor waterstalen (derivatisering na extractie)</u>

- leg de scheitrechter plat en breng enkele ml isopropanol in de bol van de scheitrechter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025
http://www.emis.vito.be
emis

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

concentratie van elke natieve fenol in het eindextract bv. 1000 ng/g zal bedragen
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H_2SO_4 10N
- voeg 40 ml dichloormethaan toe
- schud het geheel krachtig gedurende ca 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de dichloormethaanfase op in een tweede scheitrechter
- extraheer de waterfase nog minstens 1 keer met 30 ml dichloormethaan
- extraheer de fenolen terug uit de verzamelde dichloormethaanfasen met drie keer 20 ml NaOH 1N
- behandel de resulterende NaOH-oplossing zoals beschreven in 6.1.3

Opmerking
Indien de alternatieve procedure voor sterk verontreinigde waterstalen toegepast werd (wassing met dichloormethaan), wordt de kalibratiestandaard aangemaakt als volgt :

- leg de scheitrechter plat en breng enkele milliliters iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg vervolgens met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract bv. 1000 ng/g zal bedragen
- breng het monster op een pH tussen 12 en 13 met NaOH 10N
- breng 40 ml dichloormethaan over naar de scheitrechter
- schud het geheel krachtig gedurende ca. 2 min; laat de fasen ontmengen en vang de waterfase op in een tweede scheitrechter
- behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

<u>Controlestandaard waterstalen (derivatisering na extractie)</u>

- leg de scheitrechter plat en breng enkele ml iso-propanol in de bol van de scheitrechter; voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen
- voeg 60 ml NaOH 1N toe
- behandel verder zoals beschreven onder 6.1.3

6.1.2 DIRECTE DERIVATISERING

- breng het monster op pH 7-12 met H_2SO_4 10N of NaOH 10N

Opmerking:
pH 7 bevordert de derivatisering van chloorfenolen, terwijl pH 11-12 de derivatisering van alkylfenolen bevordert. De pH-waarde mag gekozen worden in functie van de beoogde parameters

- voeg aan het monster 2,5 g K_2CO_3 toe (0.5g/100 ml)

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

- derivatiseer de fenolen door aan de waterfase 1 ml azijnzuuranhydride toe te voegen
- schud krachtig gedurende 4 min. en laat 10 min. rusten
- extraheer de fenolderivaten met 50 ml hexaan; schud krachtig gedurende 4 min.
- laat de waterfase af en was de hexaanfase met enkele ml blanco water
- laat de hexaanfase af over een filter gevuld met Na_2SO_4 in een gegradueerde puntbuis
- damp in onder een stikstofstroom tot 1 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de werkoplossing recovery-standaard toe, zodanig dat de concentratie in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen

6.1.3 DERIVATISERING NA EXTRACTIE

- breng de NaOH-oplossing (na extractie 6.1.) op pH 7 - 12 met H_2SO_4

Opmerkingen:
- pH 7 bevordert de derivatisering van chloorfenolen, terwijl pH 11-12 de derivatisering van alkylfenolen bevordert. De pH-waarde mag gekozen worden in functie van de beoogde parameters
- bij een te hoge pH-waarde zal de derivatiseringsreactie niet doorgaan; het is absoluut noodzakelijk om de NaOH oplossing te neutraliseren

- voeg aan de 60 ml NaOH-oplossing 0.5 g K_2CO_3 toe
- derivatiseer de fenolen door aan de waterfase 1 ml azijnzuuranhydride toe te voegen
- schud krachtig gedurende 4 min. en laat 10 min. rusten
- extraheer de fenolderivaten met 5 ml hexaan; schud krachtig gedurende 4 min
- laat de waterfase af en was de hexaanfase met enkele ml blanco water
- laat de hexaanfase af over een filter gevuld met Na_2SO_4 in een gegradueerde puntbuis)
- damp in onder een stikstofstroom tot 1 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de werkoplossing recovery-standaard toe, zodanig dat de concentratie in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen

6.2 METHODE B

6.2.1 EXTRACTIEPROCEDURE

- homogeniseer het staal en neem een deelstaal van 250 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doperingsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract bv. 500 ng/g zal bedragen
- breng het deelstaal op pH 3.5 met HCl 6N
- conditioneer het SPE-patroon met 2 keer 10 ml aceton
- conditioneer het SPE-patroon met 10 ml water op pH 3.5 (met HCl 6N)
- breng het deelstaal op het SPE-patroon (5 tot 10 ml per minuut)
- spoel het patroon met 10 ml water op pH 3.5 (met HCl 6N)
- droog de cartridges dmv centrifugeren (bv. 15 min aan 3000 rpm)
- breng 2 ml aceton op het patroon en laat 10 min inwerken
- elueer verder met nog 2 keer 2 ml aceton

http://www.emis.vito.be

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

Opmerking:
Om verstopping van het SPE-patroon te vermijden mag een weinig glaswol toegevoegd worden in het patroon. De glaswol dient mee gespoeld en geëxtraheerd te worden.

6.2.2 DERIVATISERING

- voeg aan het acetonextract (6 ml) 1 ml K_2CO_3 10% toe
- damp in onder stikstofstroom tot 1 ml
- derivatiseer door toevoeging van 100 µl azijnzuuranhydride, schud krachtig en laat 10 min rusten
- voeg 1 ml K_2CO_3 40% toe
- derivatiseer opnieuw door toevoeging van 100 µl azijnzuuranhydride, schud krachtig en laat 10 min rusten
- voeg 0.5 ml hexaan toe en extraheer de fenolderivaten door 30 sec te schudden
- zonder de hexaanfase af en was met 1 ml NaCl 20%
- zonder de hexaanfase af, droog over een weinig natriumsulfaat en voeg de recoverystandaard toe

6.3 GC-MS ANALYSE

Meting

De staalextracten, de extracten van de kalibratiestandaarden en het extract van de controlestandaard worden geanalyseerd met GC-MS. Daarbij wordt 1 µl splitless in de gaschromatograaf geïnjecteerd. Alternatieve injectietechnieken zoals on-column of groot-volume injectie kunnen toegepast worden, eventueel met aanpassing van de concentraties van kalibratiestandaard, recoverystandaard en interne standaarden. De chromatografische scheiding van de komponenten wordt normaal uitgevoerd op een apolaire capillaire kolom met chemisch gebonden fase.

De detectie van de componenten gebeurt met een lage resolutie massaspectrometer. De massaspectrometer wordt ingesteld naar maximale respons voor de ionen 131, 219, 264 en 414 m.b.v. het referentiegas PFTBA. Alternatief wordt een automatische tuning uitgevoerd (afhankelijk van de gebruikte software). De opname van het chromatogram gebeurt in SIM met selectie en registratie van de karakteristieke ionen (bijlage 1). De typische GC-MS werkvoorwaarden voor de analyse zijn weergegeven in bijlage 2.

Uit het totale geregistreerde signaal worden specifieke ionenchromatogrammen van de te analyseren fenolen, de isotoopgemerkte interne standaarden en de recoverystandaard geëxtraheerd. Voor elke verbinding worden 2 ionen gekozen behorende bij de isotoop cluster van het moleculaire ion of een meer intens fragmention. Typische ionenchromatogrammen zijn voor de kalibratie-oplossing weergegeven in bijlage 3.

Kalibratie

De kwantitatieve bepaling van de verschillende fenolen gebeurt volgens de zgn. interne standaard-methode. Hierbij wordt elke verbinding gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde isotoopgemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd. Voor de keuze van de inwendige standaarden zie bijlage 1.

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

http://www.emis.vito.be

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

- 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. 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 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 bepaald wordt t.o.v. de overeenkomstige 'recovery'-standaard met onderstaande formule:

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

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

Opmerking :

In geval van derivatisering na extractie (Methode A) worden de RRFen van de interne standaarden niet berekend ahv de kalibratiestandaard maar ahv de controlestandaard die geïnjecteerd wordt aan het begin van de meetreeks.

Identificatie

De natieve fenolen en de interne standaarden worden geïdentificeerd aan de hand van de criteria voor retentietijden en ionenverhoudingen zoals vastgelegd in procedure WAC/VI/A/003. Voor nonylfenol is de identificatie bijkomend gebaseerd op patroonherkenning. Voor een positieve identificatie dient het patroon overeen te komen met dit van de kalibratiestandaard. In bijlage 3 is bij wijze van voorbeeld een typisch GC-patroon van technisch nonylfenol weergegeven. Merk op dat kleine afwijkingen in samenstelling mogelijk zijn, afhankelijk van de herkomst van het technisch mengsel.

In bijlage 1 zijn de karakteristieke m/z van de natieve en gemerkte fenolen weergegeven, en staat voor elke natieve verbinding de overeenkomstige interne standaard vermeld.

Van de geïdentificeerde pieken wordt de oppervlakte of alternatief de piekhoogte bepaald.

Kwantificering

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

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025
http://www.emis.vito.be
emis

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

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 RESPONSLINEARITEIT

De werkwijze voor de bepaling van lineariteit is beschreven in WAC/VI/A/001.
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 verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de interne standaard nog voldoende intens is, of startend van een geringere hoeveelheid monster.

7.2 GASCHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van een kritisch paar, bijvoorbeeld 2,3,5,6-tetrachloorfenylacetaat en 2,3,4,6-tetrachloorfenylacetaat in het chromatogram van het kalibratie-extract. De scheiding dient volledig te zijn tot aan de basislijn.

Alternatief kan de kolomkwaliteit geverifieerd worden aan de hand van het aantal theoretische platen, berekend op basis van de piekkarakteristieken 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_{Ri} 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 fenolverbinding in µg/l.

9 REFERENTIES

- EN 872: 1996; Water Quality – Determination of suspended solids: Method by filtration through glass fibre filters
- EN 12673: 1998; Water Quality – Gas chromatographic determination of some selected chlorophenols in water
- ISO 8165-1: 1992, Water Quality - Determination of selected monovalent phenols (: Gaschromatographic method after enrichment by extraction)

- ISO 8165-2: 1999, Water Quality - Determination of selected monovalent phenols (: Method by derivatisation and gaschromatography)
- ISO 24293:2009; Water quality – Determination of individual isomers of nonylphenol – Method using solid phase extraction (SPE) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025
http://www.emis.vito.be

http://www.emis.vito.be Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

BIJLAGE 1 : SPECIFIEKE IONEN VOOR DE FENYLACETAATESTERS

Komponent	m/z(1)	m/z(2)	m/z(3)	Overeenkomstige IS	m/z(1)	m/z(2)
fenol	**94**	66		$^{13}C_6$-fenol	**100**	70
2-methylfenol	**107**	108		D_8-2-methylfenol	**113**	115
3-methylfenol	**107**	108		"	"	"
4-methylfenol	**107**	108		"	"	"
2,3-dimethylfenol	**107**	108		D_3-2,4-dimethylfenol	**109**	110
2,4-dimethylfenol	**107**	108		"	"	"
2,5-dimethylfenol	**107**	108		"	"	"
2,6-dimethylfenol	**107**	108		"	"	"
3,4-dimethylfenol	**107**	108		"	"	"
3,5-dimethylfenol	**107**	108		"	"	"
2-ethylfenol	**107**	108		"	"	"
3-ethylfenol	**107**	108		"	"	"
4-ethylfenol	**107**	108		"	"	"
4-chloor-3-methylfenol	**142**	144	107	"	"	"
2-isopropylfenol	**121**	136		"	"	"
2,3,5-trimethylfenol	**121**	136		"	"	"
2-Chloorfenol	**128**	130	64	13C-4-Chloorfenol	**134**	136
3-Chloorfenol	**128**	130	64	"	"	"
4-Chloorfenol	**128**	130	64	"	"	"
2,6-Dichloorfenol	**162**	164	98	13C-2,4-Dichloorfenol	**168**	170
2,5-Dichloorfenol	**162**	164	98	"	"	"
2,4-Dichloorfenol	**162**	164	98	"	"	"
3,5-Dichloorfenol	**162**	164	98	"	"	"
2,3-Dichloorfenol	**162**	164	98	"	"	"
3,4-Dichloorfenol	**162**	164	98	"	"	"
2,4,6-Trichloorfenol	**196**	198	200	13C-2,4,5-Trichloorfenol	202	**204**
2,3,6-Trichloorfenol	**196**	198	200	"	"	"
2,3,5-Trichloorfenol	**196**	198	200	"	"	"
2,4,5-Trichloorfenol	**196**	198	200	"	"	"
2,3,4-Trichloorfenol	**196**	198	200	"	"	"
3,4,5-Trichloorfenol	**196**	198	200	"	"	"
2,3,5,6-Tetrachloorfenol	**232**	230	234	13C-2,3,4,5-Tetrachloorfenol	236	**238**
2,3,4,6-Tetrachloorfenol	**232**	230	234	"	"	"
2,3,4,5-Tetrachloorfenol	**232**	230	234	"	"	"
Pentachlorofenol	**266**	268	234	13C-Pentachloorfenol	272	**274**
4-Choro-3,5-dimethylfenol	**156**	158	121	D_3-2,4-dimethylfenol	**109**	110
Octylfenol	**135**	107		13C-4-t-octylfenol	**141**	113
Nonylfenol	**135**	121	149	13C-4-(3,6-dimethylheptyl)fenol	**155**	113
Bisfenol A	**213**	228		D_{16}-Bisfenol A	**224**	**242**
Recovery standaard bvb. ^{13}C-PCB 15	**234**	236				

Opmerkingen :

- Voor $^{13}C_6$-2,4,5-trichloorfenol, $^{13}C_6$-2,3,4,5-tetrachloorfenol en $^{13}C_6$-pentachloorfenol worden massa's gekozen die niet overeenstemmen met de meest intense massa's van de isotoopcluster. Om de bijdrage van ionen behorende bij de isotoopcluster van de overeenkomstige natieve fenol

bij de ionen van de koolstof-13 gemerkte verbinding te voorkomen, worden voor de gemerkte verbinding de massa's behorende bij het M+2 of M+4 ion genomen.

- De m/z-waarden gebruikt voor kwantificatie zijn in de bovenstaande tabel in vet weergegeven.

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025
http://www.emis.vito.be
emis

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025

http://www.emis.vito.be

BIJLAGE 2 : TYPISCHE GC/MS WERKVOORWAARDEN VOOR DE BEPALING VAN FENOLEN

Kolomspecificaties : DB-XLB, 30 m x 0.25 mm x 0.25 mm

Draaggas en druk : Helium, 75 kPa

Injectie :

Modus : splitless
Injectievolume : 1 µl hexaan eindextract
Injectietemperatuur: 250°C

GC-oven programmatie :

55°C :	1 min
55°C --> 205°C :	6°C/min
205°C --> 305°C :	25°C/min
totale duur :	30 min

MS-instellingen :

Interfacetemperatuur : 280°C
Brontemperatuur : 230°C
Ionen : zie bijlage 1

emis

Ministerieel besluit van 29 april 2025 --- Belgisch Staatsblad van 07 mei 2025
http://www.emis.vito.be

BIJLAGE 3 : TYPISCH GC-PATROON VAN TECHNISCH NONYLFENOL