

Fenol en fenolische koolwaterstoffen

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	3
2.1	Extractie	3
2.2	Derivatisering	4
2.3	Zuivering	4
	<i>Staalopwerking Methode B (enkel voor waterstalen)</i>	4
2.3.1	Extractie	4
2.3.2	Derivatisering	4
2.3.3	Zuivering	4
2.4	Analyse	4
3	Apparatuur en materiaal	5
4	Reagentia en oplossingen	5
5	Monsterbewaring en -voorbehandeling	6
6	Analyseprocedure	7
6.1.3	Derivatisering na extractie	10
6.2	<i>METHODE B</i>	11
6.2.2	Derivatisering	11
6.3	<i>GC-MS analyse</i>	11
7	Kwaliteitsparameters	14
7.1	<i>Responslineariteit</i>	14
7.2	<i>Gaschromatografische scheiding</i>	14
8	Rapportage	14
9	Prestatiekenmerken	14
10	Referenties	15
	BIJLAGE A Specifieke ionen voor de fenylacetaat testers	16
	BIJLAGE B Typische GC/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van fenolen	18
	BIJLAGE C Ionenchromatogrammen van het kalibratie-extract	19
	BIJLAGE C (vervolg)	20
	BIJLAGE C (vervolg)	21

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt de procedure CMA/3/K van november 2018.

In deze procedure wordt een methode beschreven voor de extractie, derivatisering, zuivering en analyse van fenolen in bodem, afvalstoffen, sediment en water.

De lijst van verbindingen is hieronder weergegeven:

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

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

2 PRINCIPE

De fenolen worden bepaald met GC-MS. Voor waterstalen kan de staalopwerking op 2 manieren uitgevoerd worden. Methode A is gebaseerd op vloeistof/vloeistof-extractie. Methode B is een SPE-extractie gevolgd door een dubbele derivatisering.

2.1 STAALOPWERKING METHODE A

2.1.1 EXTRACTIE

Bodem-, sediment- en vaste afvalmonsters worden na dopering met interne standaard ultrasoon geëxtraheerd met methanol. Watermonsters worden direct gederiviseerd, behalve 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 vaste stalen en 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 derivatisatie-residu's te verwijderen.

2.2 STAALOPWERKING METHODE B (ENKEL VOOR WATERSTALEN)

2.2.1 EXTRACTIE

Watermonsters worden aangezuurd en na toevoeging van inwendige standaard geëxtraheerd dmv vaste fase extractie (SPE). De fenolen worden geëluëerd 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 derivatisatie-residu's te verwijderen.

2.3 ANALYSE

Aan de ingedampde 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 koolstof-13 of deuterium gemerkte componenten als interne standaard voor de extractie aan het staal worden toegevoegd. De meting kan ook met GC-MS/MS gebeuren.

Gezien het sterk uiteenlopend extractierendement van de alkylfenolen en de beperkte keuze aan gemerkte alkylfenolen moet de kalibratiestandaard de volledige analyse doorlopen. Bij de analyse van vaste matrices en van verontreinigde waterstalen die eerst aan extractie onderworpen worden (methode A), kan het recuperatierendement 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 : $^{13}C_6$ - of D_5 - of D_6 -fenol, D_3 -2,4-dimethylfenol, $^{13}C_6$ -pentachloorfenol en een andere gemerkte gechlloreerde fenol.

Bijkomend kan gebruik gemaakt worden van o.a. $^{13}\text{C}_6$ -4-chloorfenol, D_5 -2-chloorfenol, $^{13}\text{C}_6$ -2,4-dichloorfenol, $^{13}\text{C}_6$ -2,4,5-trichloorfenol, $^{13}\text{C}_6$ -2,4,6-trichloorfenol, $^{13}\text{C}_6$ -2,3,4,5-tetrachloorfenol, D_8 -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 :

$^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-dichloorbifenyyl (= $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-15), D10-bifenyyl en $^{13}\text{C}_6$ -dichloorbenzeen.

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.

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 (porcelein)
- 3.4 ultrasoonbad
- 3.5 scheitrechters (100-250-500-1000 ml)
- 3.6 injectiespuiten van 50 μl voor het doperen met interne standaard en 'recovery' standaard
- 3.7 eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 3.8 gegradueerde puntbuizen
- 3.9 pipetten van 1 en 5 ml (Eppendorf)
- 3.10 maatcilinder (50 ml)
- 3.11 trechters
- 3.12 GC-MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf, een autosampler, een lage resolutie massaspectrometer van het quadrupool-type en een PC met sturings- en dataverwerkingsprogrammatuur
- 3.13 fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase, bv. DB-XLB, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm
- 3.14 injectiespuit van 10 μl
- 3.15 glazen monsterflesjes (penicillineflesjes) van 2 ml
- 3.16 glazen monsterflesjes van 20 ml
- 3.17 opstelling voor elutie van SPE-patronen
- 3.18 SPE-patronen : ENVI-Chrom P (6 ml, 250 mg) of gelijkwaardig

4 REAGENTIA EN OPLOSSINGEN

- 4.1 dichloormethaan: voor residu-analyse
- 4.2 n-hexaan: voor residu-analyse
- 4.3 methanol: pro analyse
- 4.4 iso-octaan: pro analyse
- 4.5 iso-propanol: pro analyse
- 4.6 azijnzuuranhydride: pro analyse
- 4.7 natriumhydroxide (NaOH): pro analyse 1N en 10N
- 4.8 zwavelzuur (H_2SO_4): pro analyse 1N en 10N
- 4.9 zoutzuur : pro analyse 6N
- 4.10 kaliumcarbonaat (K_2CO_3): pro analyse, poeder
- 4.11 natriumsulfaat (Na_2SO_4): pro analyse, poeder, watervrij. Na_2SO_4 wordt in de droogoven bewaard bij 130°C
- 4.12 blanco water: water dat geen fenolische of andere interfererende componenten bevat

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

4.13 natieve fenolen:

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

4.14 deuterium en koolstof-13 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

4.15 doperingsoplossing interne standaarden:

- uit de bovenstaande hoofdstandaardoplossingen van deuterium en koolstof-13 gemerkte fenolen wordt een verdunning gemaakt in iso-octaan die elke component bevat in een concentratie van bv. 25 µg/g

4.16 doperingsoplossing kalibratiestandaard:

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

4.17 recovery-standaard:

- ¹³C₁₂-4,4'-dichloorbifenyyl is in de handel te verkrijgen als in oplossing. Deze wordt verdund tot bv. 20 µg/g in iso-octaan

5 MONSTERBEWARING EN -VOORBEHANDELING

Voor de monsterverwerking en -bewaring wordt verwezen naar CMA/1/B.

De monstervoorbehandeling is beschreven in CMA/5/B.

Grondwaterstalen (gewoonlijk 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.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 METHODE A

6.1.1 Extractieprocedure

Waterstalen: directe derivatisering

Weinig verontreinigd water (drinkwater, proper grondwater) kan zonder voorafgaandelijk extractie gederiviseerd worden. Eerst worden de gemerkte interne standaarden toegevoegd en de pH wordt op 11-12 gebracht met NaOH 10N :

- 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 doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 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 over in de scheitrechter
- weeg de lege monsterfles en bepaal het gewicht en hieruit het volume van de oorspronkelijke inhoud
- breng het monster op pH 7-12 met H₂SO₄ 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

- behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

Sterk verontreinigde waterstalen

Waterstalen die niet direct gederiviseerd kunnen worden omwille van matrixinterferenties worden eerst zuur geëxtraheerd met dichloormethaan, waarna de fenolen teruggeëxtraheerd worden met een NaOH-oplossing:

- 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 doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 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 over 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 H₂SO₄ 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 dichloormethaanfase op in een tweede scheitrechter
- extraheer de waterfase opnieuw 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 doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 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 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
- breng de waterfase op pH 7-12 met H₂SO₄ 10N en behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

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

Bodem en vast afval

Het monster wordt eerst gehomogeniseerd door omroeren en/of langdurig schudden.

- weeg 1 tot 5 gram bodem af in een vial van 20 ml en voeg een gekende hoeveelheid interne standaardoplossing toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen (indien hoge concentraties fenolen verwacht worden kan minder staal ingewogen worden)
- voeg 10 ml methanol toe en soniceer de vial gedurende 1 uur; schud de oplossing af en toe op
- laat bezinken en breng de bovenstaande methanolfase over in een scheitrechter die 60 ml NaOH (1N) bevat
- was de NaOH-oplossing met 20 ml dichloormethaan
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.1.3

Kalibratiestandaard voor waterstalen (directe derivatisering)

- 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 doeringsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doeringsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- voeg 500 ml blanco water toe
- breng de waterfase op pH 7-12 met H₂SO₄ 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

- behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

Kalibratiestandaard voor waterstalen (derivatisering na extractie)

- 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 doeringsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doeringsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 1000 ng/g zal bedragen
- zuur het water aan tot een pH tussen 1 en 2 met H₂SO₄ 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 dichloormethaanfase op in een tweede scheitrechter
- extraheer de waterfase opnieuw 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 doeringsoplossing interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen; voeg enkele ml blanco water toe
- voeg daarna met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de doeringsoplossing kalibratiestandaard toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke natieve fenol in het eindextract ca. 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
- breng de waterfase op pH 7-12 met H₂SO₄ 10N of NaOH 10N en behandel verder zoals beschreven in 6.1.2

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

Kalibratiestandaard voor vaste stalen

- breng 10 ml methanol in een vial van 20 ml
- voeg met een injectiespuit een gekende hoeveelheid van de natieve fenolen en interne standaarden toe, zodanig dat de concentratie van elke fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- soniceer de vial gedurende 1 uur; schud de oplossing af en toe op
- breng de methanolfase over in een scheitrechter die 60 ml NaOH (1N) bevat
- was de NaOH-oplossing met 20 ml dichloormethaan
- behandel de NaOH-oplossing verder zoals beschreven in 6.1.3

Controlestandaard

- de controlestandaard laat toe de terugvinding van de interne standaarden te bepalen voor waterstalen (in geval van derivatisering na extractie) en voor vaste stalen
- 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 doeringsoplossing interne standaarden toe aan de iso-propanol, zodanig dat de concentratie van elke gemerkte fenol in het eindextract ca. 500 ng/g zal bedragen
- voeg 60 ml NaOH 1N toe
- behandel verder zoals beschreven onder 6.1.3

6.1.2 Directe derivatisering

- voeg aan het monster 2,5 g K_2CO_3 toe (0,5g/100 ml)
- 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 hexaafase met enkele ml blanco water
- laat de hexaafase af over een filter gevuld met Na_2SO_4 in een geïnduceerde 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 ongeveer 500 ng/g zal bedragen

6.1.3 DERIVATISERING NA EXTRACTIE

- breng de NaOH-oplossing op pH 7 - 12 met H_2SO_4

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 60 ml K_2CO_3 (0,1M) oplossing toe 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 hexaafase met enkele ml blanco water
- laat de hexaafase af over een filter gevuld met Na_2SO_4 in een geïnduceerde 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 ongeveer 500 ng/g zal bedragen.

6.2 METHODE B

6.2.1 Extractieprocedure

- homogeniseer het staal en neem een deelstaal van 250 ml
- 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

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 μ l azijnzuuranhydride, schud krachtig en laat 10 min rusten
- voeg 1 ml K_2CO_3 40% toe
- derivatiseer opnieuw door toevoeging van 100 μ l 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 staalectracten, de extracten van de kalibratiestandaarden en het extract van de controlestandaard worden geanalyseerd met GC-MS. Daarbij wordt 1 μ l 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 componenten 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 A). De typische GC-MS werkvoorwaarden voor de analyse zijn weergegeven in bijlage B.

Uit het totale geregistreerde signaal worden specifieke ionenchromatogrammen van de te analyseren fenolen, de isotoop-gemerkte interne standaarden en de 'recovery'-standaard geëxtraheerd. Voor elke verbinding worden 3 ionen gekozen behorende bij de isotoop cluster van het moleculaire ion of een meer intens fragmention. Typische ionenchromatogrammen voor de kalibratieoplossing zijn weergegeven in bijlage C.

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 isotoop-gemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd. Voor de keuze van de inwendige standaarden zie bijlage A.

De kalibratie kan op 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. 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 meetreeksen. 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:

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

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/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

Identificatie van de natieve fenolen en de interne standaarden is gebaseerd op de retentietijden en op de ionenratio's; deze moeten voldoen aan de criteria vermeld in CMA/6/D.

In bijlage A 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.

7 KWALITEITSPARAMETERS

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, terugvinding van de interne standaard, controle op gevoeligheid, controlestaal en controlestandaard wordt verwezen naar CMA/6/D.

7.1 RESPONSILINEARITEIT

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 hoogste geregistreerde oppervlakte in het lineaire gebied, dan moet de analyse hernomen worden startend van een met hexaan verdunde hoeveelheid monsterextract, voor zover het signaal van de inwendige standaarden 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 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 RAPPORTAGE

Voor stalen geanalyseerd onder erkenning wordt voor de rapportering (eenheden en maximale rapportagegrenzen) verwezen naar CMA/6/A.

9 PRESTATIEKENMERKEN

Voor de prestatiekenmerken wordt verwezen naar CMA deel 6.

10 REFERENTIES

- EN 12673, Water Quality – Gas chromatographic determination of some selected chlorophenols in water.
- ISO 8165, Water Quality - Determination of selected monovalent phenols.

BIJLAGE A

SPECIFIEKE IONEN VOOR DE FENYLACETAATTESTERS

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	¹³ C-4-chloorfenol	134	136
3-chloorfenol	128	130	64	"	"	"
4-chloorfenol	128	130	64	"	"	"
2,6-dichloorfenol	162	164	98	¹³ C-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	¹³ C-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	¹³ C-2,3,4,5-tetrachloorfenol	236	238
2,3,4,6-tetrachloorfenol	232	230	234	"	"	"
2,3,4,5-tetrachloorfenol	232	230	234	"	"	"
pentachloorfenol	266	268	264	¹³ C-pentachloorfenol	272	274
Recovery standaard	234	236				
bvb. ¹³ C-PCB 15						

Opmerkingen

- Voor $^{13}\text{C}_6$ -2,4,5-trichloorfenol, $^{13}\text{C}_6$ -2,3,4,5-tetrachloorfenol en $^{13}\text{C}_6$ -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 ion genomen.
- De m/z-waarden gebruikt voor kwantificatie zijn in de bovenstaande tabel in vet weergegeven.

BIJLAGE B

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

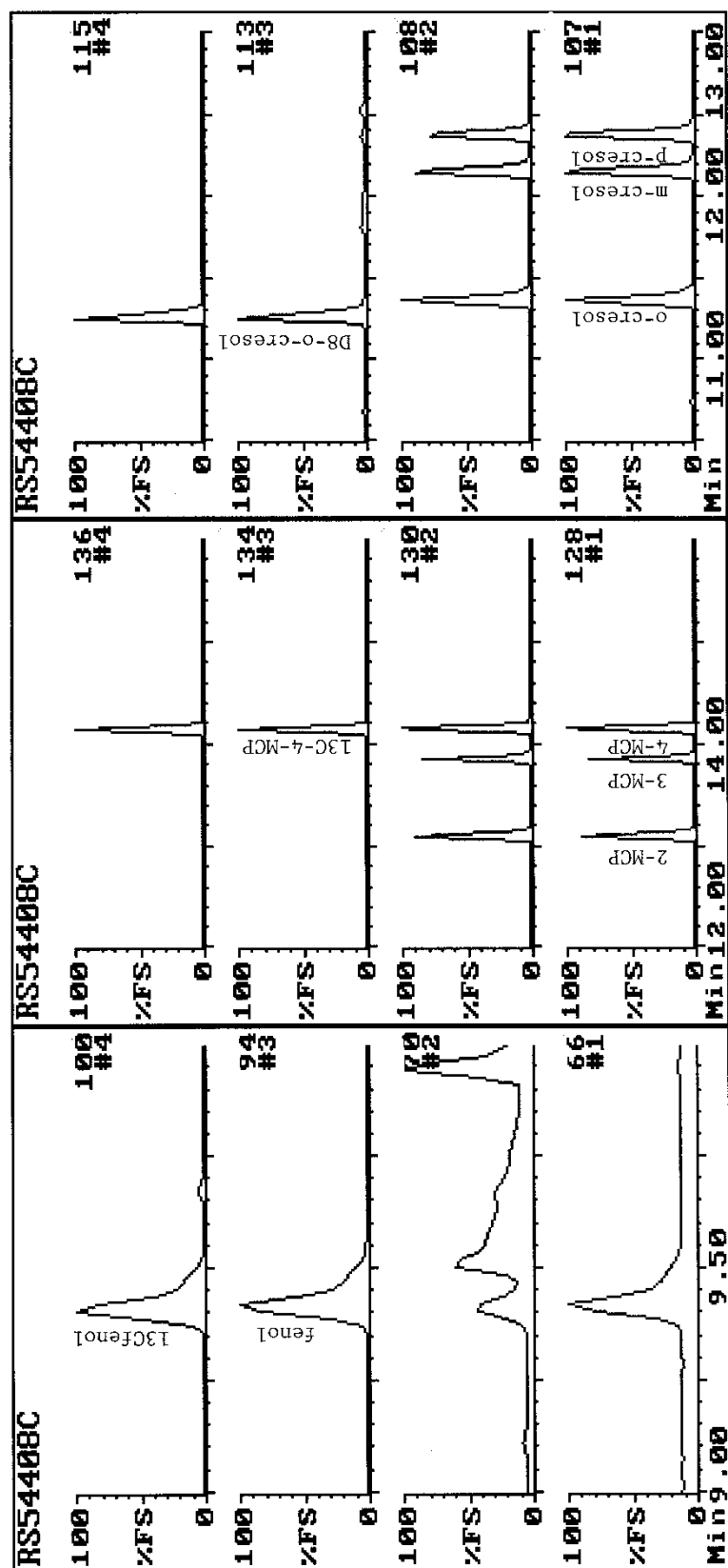
totale duur : 30 min

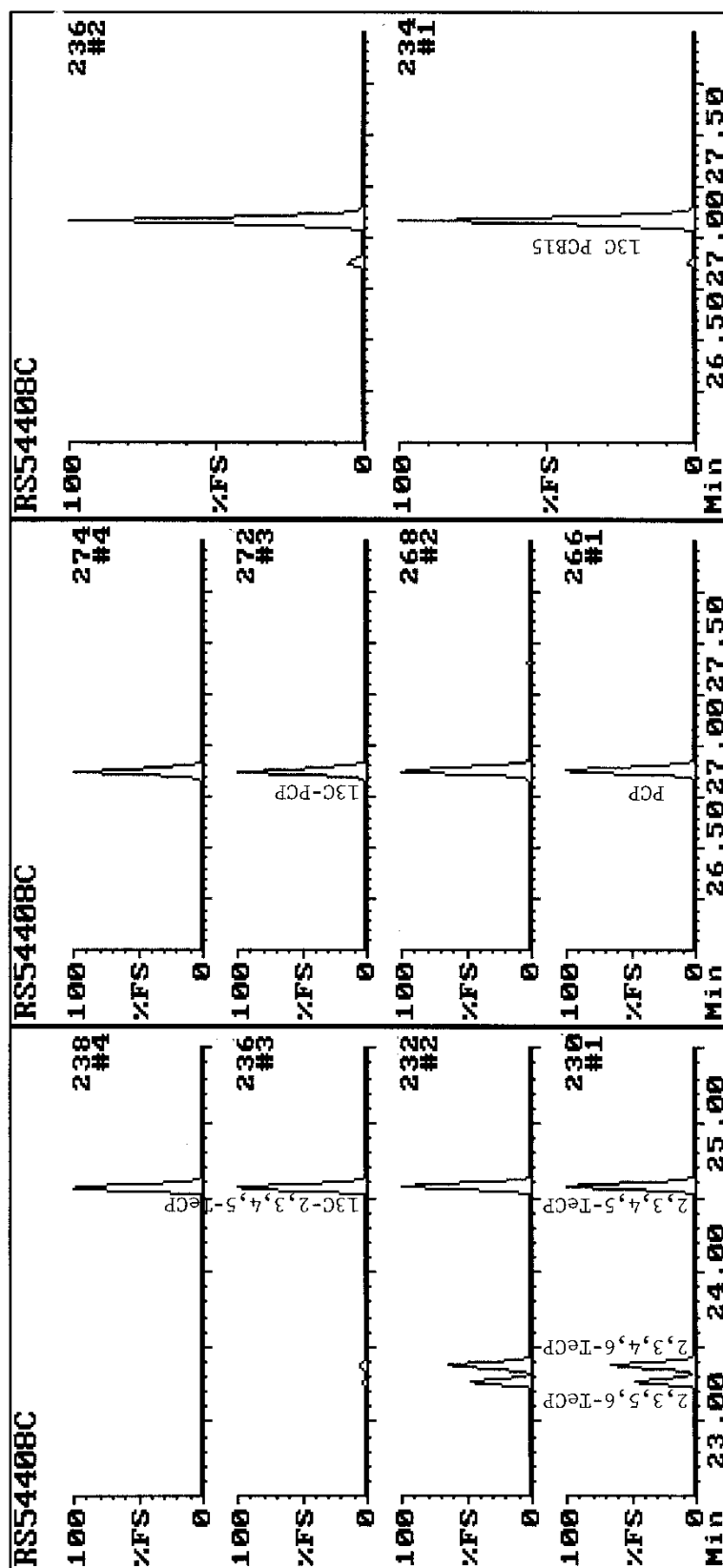
MS-instellingen :

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

BIJLAGE C

IONENCHROMATOGRAMMEN VAN HET KALIBRATIE-EXTRACT



BIJLAGE C
(VERVOLG)

BIJLAGE C
(VERVOLG)