

NN31050.84-01

1984-01

stora

Analyse van zuiveringsslib

op

organochloorverbindingen en polychloorbiphenylen

2. Minimalisering van foutenbronnen en analysevoorschrift

38/1

BIBLIOTHEEK
STADINGEBOUW

stora

postbus 414, 2280 AK rijswijk

☎ 070 - 980.287

stichting toegepast onderzoek reiniging afvalwater



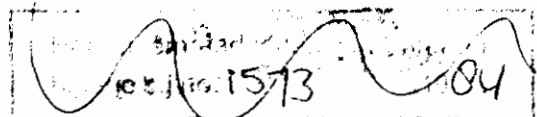
Analyse van zuiveringslib

op

organochloorverbindingen en polychloorbiphenylen

2. Minimalisering van foutenbronnen en analysevoorschrift

20 JULI 1993



890129

	Inhoud	I - II
	Ten geleide	III
1	SAMENVATTING	1
2	INLEIDING	2
3	DE GASCHROMATOGRAFISCHE BEPALING VAN ORGANOCHLOORPESTICIDEN EN POLYCHLOORBIPHENYLEN	3 - 18
3.1	Algemeen	3
3.2	Keuze van indicator-chloorbiphenylen	3 - 4
3.3	De gaschromatografische scheiding van PCB's en organochloorpesticiden met capillaire kolommen	4 - 12
3.4	Injectietechnieken voor de gaschromatografische analyse	12
3.4.1	<i>de gesplitte injectie</i>	12 - 13
3.4.2	<i>de splitloze injectie</i>	13 - 14
3.4.3	<i>de "on-column" injectie</i>	14
3.4.4	<i>injectie met een vaste-stofinjector</i>	14
3.5	Identificering en kwantificering van PCB- en pesticidengehalten	14 - 16
3.5.1	<i>identificatie van chloorpesticiden en polychloorbiphenylen</i>	14
3.5.2	<i>kwantificering van pesticiden- en PCB-gehalten</i>	14 - 16
3.6	Ringonderzoek van pesticiden in petroleumether	16 - 17
3.7	Conclusies	18
4	CLEAN-UP VAN HET EXTRACT EN SCHEIDING VAN POLYCHLOORBIPHENYLEN EN PESTICIDEN	19 - 29
4.1	Probleemstelling	19
4.2	Clean-up van extracten en de scheiding van pesticiden en PCB's op aluminiumoxyde	19
4.2.1	<i>uitvoering experimenten</i>	19 - 20
4.2.2	<i>resultaten van recovery-experimenten van pesticiden bij de clean-up op aluminiumoxyde</i>	20 - 21
4.2.3	<i>conclusies</i>	21 - 22
4.3	Scheiding van PCB's en organochloorpesticiden en de clean-up op silicagel	22 - 25
4.3.1	<i>uitvoering experimenten</i>	22 - 23
4.3.2	<i>resultaten</i>	23 - 25
4.4	De storing van elementair zwavel bij de detectie van organochloorverbindingen	25 - 27
4.4.1	<i>uitvoering experimenten en resultaten</i>	27
4.5	Conclusies	27 - 29
5	DE ISOLATIE VAN CHLOORPESTICIDEN EN PCB'S UIT ZUIVERINGSSLIB	30 - 37
5.1	Principe	30
5.1.1	<i>adsorptie van PCB's en chloorpesticiden aan zwevend materiaal</i>	30 - 31
5.1.2	<i>de extractie en desorptie van organische verbindingen</i>	31 - 32
5.1.3	<i>toegepaste extractietechnieken</i>	32
5.2	Experimenten	32 - 34
5.2.1	<i>stoomdestillatie-extractie</i>	33
5.2.2	<i>kolomelutie</i>	33 - 34
5.2.3	<i>schudextractie</i>	34

5.3	Resultaten	34 - 37
5.3.1	<i>stoomdestillatie - extractie</i>	34
5.3.2	<i>elutie van kolommen zuiveringsolib</i>	34 - 35
5.3.3	<i>schudeextracties van zuiveringsolib</i>	35 - 36
5.4	Conclusies	37
6	LITERATUUR	38 - 39

BIJLAGEN:

1.	Nummering PCB-isomeren volgens IUPAC-regels	41
2.	Nummering en structuur van diverse organochloorpesticiden	43 - 45
3.	Chromatografiebuis voor clean-up en fractionering van het extract	47
4.	Analysevoorschrift voor de bepaling van organochloorpesticiden en individuele chloorbiphenylen in monsters zuiveringsolib.	49 - 57

Ten geleide

De betekenis van getalwaarden voor gehalten aan stoffen in slib van rioolwaterzuiveringsinrichtingen wordt bepaald door de nauwkeurigheid van de analysemethode en de betrouwbaarheid van de uitkomsten.

Het voorgaande deelrapport - 1. Foutenbronnen - in het kader van dit onderzoek naar de analyse van zuiveringsslib op organochloorverbindingen en polychloorbiphenylen wees op extractie, "clean-up" van de extracten en gaschromatografische scheiding als voornaamste foutenbronnen. Het thans voorliggende rapport mondt uit in een analysevoorschrift waarin het effect van deze foutenbronnen zoveel mogelijk is geëlimineerd; het resultaat is een aantoonbaarheidsgrens van 10 ng/g droge stof, een nauwkeurigheid van circa 20% en een systematische afwijking van 20 à 50%.

Het onderzoek werd uitgevoerd* door het Keuringsinstituut voor Waterleidingartikelen KIWA N.V., namens de STORA begeleid door dr. W. Fieggen (voorzitter), drs. P.C.M. Frintrop, mevr.drs. M.E. Slijkhuis-van der Harst en drs. R.C.C. Wegman.

Het Ingenieursbureau voor milieuzaken en civiele techniek "Oranjewoud" B.V., het Technisch Adviesbureau van de Unie van Waterschappen B.V. en de Stichting Waterlaboratorium Zwolle leverden een belangrijke bijdrage aan het project door hun medewerking aan ringonderzoeken naar de grootte van de fouten in de gaschromatografische bepalingen.

Rijswijk, januari 1984

de directeur van de STORA

drs. J.F. Noorthoorn van der Kruijff

* De Onderzoekadviescommissie, die tot dit project adviseerde, bestond uit:
prof.ir. A.C.J. Koot (voorzitter), drs. J.F. Noorthoorn van der Kruijff (secretaris) en
dr.ir. H.J. Eggink, prof.dr. P.G. Fohr, ir. R. Karper, ir. C.H. Kuggeleijn, ir. J.S.
Kuyper, ir. Th.G. Martijn, ir. H.A. Meijer, ir. H.M.J. Scheltinga, dr.ir. D.W. Scholte
Ubing, ir. J. van Selm, ir. M. Tiessens, drs. A.A. Wismeijer (leden).

1 SAMENVATTING

De nauwkeurigheid en betrouwbaarheid van de analyse van zuiveringsslib op pesticiden en polychloorbiphenylen (PCB's) worden negatief beïnvloed door onvolledige extractierendementen, de clean-up van het extract en de gas-chromatografische scheiding van pesticiden en PCB's.

Teneinde deze foutenbronnen te minimaliseren is onderzoek verricht aan deze stappen in de analyse.

De kwantitatieve bepaling wint aan nauwkeurigheid en juistheid door gehalten van individuele PCB-isomeren of organochloorpesticiden te bepalen na scheiding op een capillaire kolom met een voldoende groot schotelgetal aan de hand van nauwkeurig geprepareerde oplossingen van standaardstoffen.

Ondanks een groot scheidend vermogen worden verschillende pesticiden onvolledig gescheiden van PCB-isomeren waardoor vooraf een kolomchromatografische scheiding op een microkolom gevuld met gedeactiveerde siliciumoxyde dient plaats te vinden. In de eerste fractie worden tesamen met PCB's, HCB, heptachloor, aldrin, pp'-DDE en pp'-DDT bepaald; in een tweede fractie de overige organochloorpesticiden.

Als extractiemiddel voor zuiveringsslibdeeltjes is aceton zeer geschikt; recoveries voor toevoegingen van diverse PCB-isomeren en pesticiden bedragen 80 - 100%.

Storingen door elementair zwavel kunnen eenvoudig worden voorkomen door het acetonextract te schudden met enkele milliliters van een natriumsulfietoplossing; een uitgebreide clean-up via een water-hexaan partitie en gedeactiveerde aluminiumoxyde voorafgaand aan de kolomchromatografische scheiding, is noodzakelijk.

Een voorschrift voor de analyse van zuiveringsslib is als bijlage bijgevoegd. De analysegrens is afhankelijk van eventueel in het chromatogram voorkomende storende verbindingen en bedraagt in de meeste gevallen 50 ng/g droge stof; onder gunstige omstandigheden kunnen lagere gehalten, tot circa 10 ng/g droge stof geanalyseerd worden. De systematische afwijking, veroorzaakt door onvolledige extractierendementen of verliezen bij de verdere opwerking, bedraagt 20-50%.

De precisie gedefinieerd als minimaal tweemaal de standaardafwijking bedraagt circa 20%.

2 INLEIDING

Organochloorpesticiden ("pesticiden") en polychloorbiphenylen ("PCB's") behoren tot de groep van gechloreerde, niet ionische koolwaterstoffen. Deze verbindingen van industriële afkomst worden nog slechts op beperkte schaal gebruikt in de landbouw of toegepast in industriële produkten. Door de slechte afbreekbaarheid en grote verspreiding echter worden deze verbindingen veelvuldig aangetroffen op diverse plaatsen in het milieu. Vanwege de toxische eigenschappen en de hoge accumulatiefactor in dierlijk weefsel is er behoefte aan een nauwkeurige en betrouwbare analysemethode voor deze verbindingen in zuiveringsslib.

Uit het eerste gedeelte van het onderzoek naar foutenbronnen in de bepalingsmethode van pesticiden en PCB's in zuiveringsslib blijkt dat vooral de extractie, de "clean-up" van het extract en de chromatografische scheiding en kwantificering van de componenten belangrijke foutenbronnen in de analysemethode vormen.

Dit onderzoek is gericht op de minimalisering van deze foutenbronnen ten einde de nauwkeurigheid en betrouwbaarheid van de bepalingsmethode te verbeteren.

Hiervoor is nadere aandacht besteed aan:

- de gaschromatografische scheiding van pesticiden en PCB's met behulp van capillaire kolommen en de kwantificering van de diverse componenten;
- optimalisering van de "clean-up" van het extract en de kolomchromatografische voorscheiding van pesticiden en PCB's door een mogelijke combinatie van beide stappen in één procedure;
- diverse extractiemethoden en het rendement hiervan voor zuiveringsslib.

Op grond van de resultaten is een analysevoorschrift opgesteld voor de bepaling van pesticiden en PCB's in zuiveringsslib (bijlage 4).

3 DE GASCHROMATOGRAFISCHE BEPALING VAN ORGANOCHLOORPESTICIDEN EN POLYCHLOOR-BIPHENYLEN

3.1 Algemeen

De bepaling van het totale gehalte aan polychloorbiphenylen (PCB's) met behulp van gaschromatografie wordt bemoeilijkt door het grote aantal verschillende gechloteerde biphenylen. Van de 209 theoretisch mogelijke chloorbiphenylen komen er circa 100 voor in de diverse technische mengsels, bekend onder namen als Aroclor of Clophen, met toevoegingen voor de chloreringsgraad. Doordat accumulatiefactoren en afbraakmechanismen per soort chloorbiphenyl verschillen en verschillende samenstellingen worden geproduceerd, is het niet mogelijk totaal-gehalten van PCB's in monsters afkomstig uit het milieu te bepalen aan de hand van technische mengsels. Het blijkt namelijk dat het chromatogram van extracten van monsters uit diverse milieucompartimenten zelden overeenkomt met het patroon van technische mengsels. Daarnaast overlappen de chromatogrammen van de verschillende technische mengsels elkaar, zodat kwantificering aan de hand van meerdere standaardmengsels onbetrouwbaar wordt.

Voor de gaschromatografische scheiding en kwantificering via patroonherkenning worden vaak gepakte kolommen gebruikt.

Een probleem bij het gebruik van gepakte kolommen wordt gevormd door optredende interferenties met eveneens in het chromatogram voorkomende chloorpesticiden of andere onbekende verbindingen.

Deze problemen kunnen gedeeltelijk voorkomen worden door de gehalten van individuele chloorbiphenylen te bepalen. Er dient dan een gaschromatografische kolom met een hoog scheidend vermogen gebruikt te worden om de individuele chloorbiphenylen van elkaar en van onbekende verbindingen te scheiden.

Doordat het praktisch niet mogelijk is alle individuele chloorbiphenylen afzonderlijk te kwantificeren zal voor de mate van verontreiniging door PCB's een aantal indicator-chloorbiphenylen gekozen moeten worden.

3.2 Keuze van indicator-chloorbiphenylen

Criteria voor de keuze van individuele gechloteerde indicator biphenylen zijn de volgende: de afbreekbaarheid en het voorkomen in het milieu, de accumulatie-factor in voedselketens, het aandeel in technische mengsels en de toxiciteit. De verbindingen moeten tevens goed te scheiden zijn bij de gaschromatografische analyse.

Op basis hiervan en van tot op heden bekende, vaak nog onvolledige, gegevens zijn in ander verband door een NNI-werkgroep de volgende individuele chloorbiphenylen gekozen als indicator:

no. 28	: 2,4 - 4'	trichloorbiphenyl
no. 52	: 2,5-2', 5'	tetrachloorbiphenyl
no. 101	: 2, 4, 5 - 2', 5'	pentachloorbiphenyl
no. 138	: 2, 3, 4 - 2', 4', 5'	hexachloorbiphenyl
no. 153	: 2, 4, 5 - 2', 4', 5'	hexachloorbiphenyl
no. 180	: 2, 3, 4, 5 - 2', 4', 5'	heptachloorbiphenyl

Hierbij kunnen de volgende opmerkingen gemaakt worden:

- door uniforme toepassing van indicator-chloorbiphenylen wordt vergelijking mogelijk van gehalten chloorbiphenylen in de diverse milieucompartimenten of voedselketens;
- in zuiveringsslib zijn PCB's uit diverse technische mengsels, dus van laag tot hoog gechloteerd, aangetroffen in gehalten van 0,1 - 1 mg per kg droge

- stof, berekend op basis van technische mengsels als Aroclor 1242, 1248, 1254^{5,6}. Ook verontreinigingen door lichter gechloreerde biphenylen (zoals Aroclor 1221) zijn niet uitgesloten;
- hoger gechloreerde biphenylen zijn, afhankelijk van de plaats van de Cl-substitutie, minder goed afbreekbaar en bezitten een hogere accumulatiefactor en toxiciteit;
 - per groep chloorbiphenylen - 2, 3, . . . 7 Cl-atomen per molecuul - is een goed te scheiden chloorbiphenyl uitgekozen. Als kolom werd hiervoor een capillaire kolom met als fase CP-sil-5 en CP-sil-7 gebruikt;
 - alle zes genoemde componenten maken een belangrijk deel uit van de in de diverse technische mengsels voorkomende componenten;
 - alle zes genoemde componenten zijn commercieel verkrijgbaar.

Deze NNI-keuze is voor dit onderzoek ook gevolgd.

3.3 De gaschromatografische scheiding van PCB's en organochloorpesticiden met capillaire kolommen

Ten behoeve van het onderzoek zijn alle mogelijke individuele chloorbiphenylen benoemd volgens de IUPAC-regels en genummerd².

Deze nummers zullen in de verdere tekst gebruikt worden in plaats van de officiële structuurnaam (zie bijlage 1).

Slechts een aantal van deze individuele PCB's is commercieel verkrijgbaar of gesynthetiseerd, waardoor het niet mogelijk is alle componenten in technische PCB-mengsels te identificeren; met behulp van de combinatie gaschromatografie/massaspectrometrie is het alleen mogelijk het aantal Cl-atomen te bepalen. Voor de technische mengsels Aroclor 1221, 1242, 1254 en 1260 zijn chromatogrammen opgenomen met een capillaire kolom (50 meter, fase CP-sil 5). Voor de injectie is een korte voorkolom (10% SE 30 op chromosorb WHP, 80 - 100 mesh) en een splitter toegepast.

Via vergelijking van een aantal verschillende componenten met gepubliceerde chromatogrammen van deze mengsels, verkregen met een capillaire kolom met als fase SE-30^{2,3}, zijn deze benoemd.

Deze chromatogrammen zijn weergegeven in de figuren 1, 3, 5 en 7. Vooraf zijn ter controle van de vergelijkbaarheid chromatogrammen opgenomen van een technisch PCB-mengsel van Bayer (Clophen A 60) met een capillaire kolom gecoat met SE-30 (25 meter, binnendiameter 0,25 mm, filmdikte 0,35 micron) en een capillaire kolom met een CP-sil 5-fase (50 meter, binnendiameter 0,27 mm, filmdikte 0,47 micron).

Uit deze chromatogrammen blijkt, dat de elutievolgorde voor beide kolommen identiek is. Dit is in overeenstemming met de opgave van de fabrikant, die vanwege de grotere stabiliteit CP-sil 5 als vervanging van SE-30 voorschrijft. Hierom is SE-30 als stationaire fase ook niet meer in het verdere onderzoek betrokken.

Tevens is voor een mengsel organochloorpesticiden een chromatogram opgenomen (fig. 9). De pesticiden zijn genummerd (A t/m R); zie bijlage 2 waarin tevens de structuurformules zijn opgenomen. In chromatogrammen (fig. 2, 4, 6 en 8) van mengsels van PCB's en pesticiden is aangegeven voor welke pesticiden geen volledige scheiding met PCB's verkregen wordt.

Hieruit blijkt, dat bij de bepaling van het gehalte α -HCH, aldrin, dieldrin, endrin, heptachloor, heptachloorepoxide, α - en β -endosulfan, pp'-DDE, op'-DDD en pp'-DDT grote fouten kunnen optreden in het geval er tevens polychloorbiphenylen in het extract aanwezig zijn, doordat de pieken gedeeltelijk samen vallen.

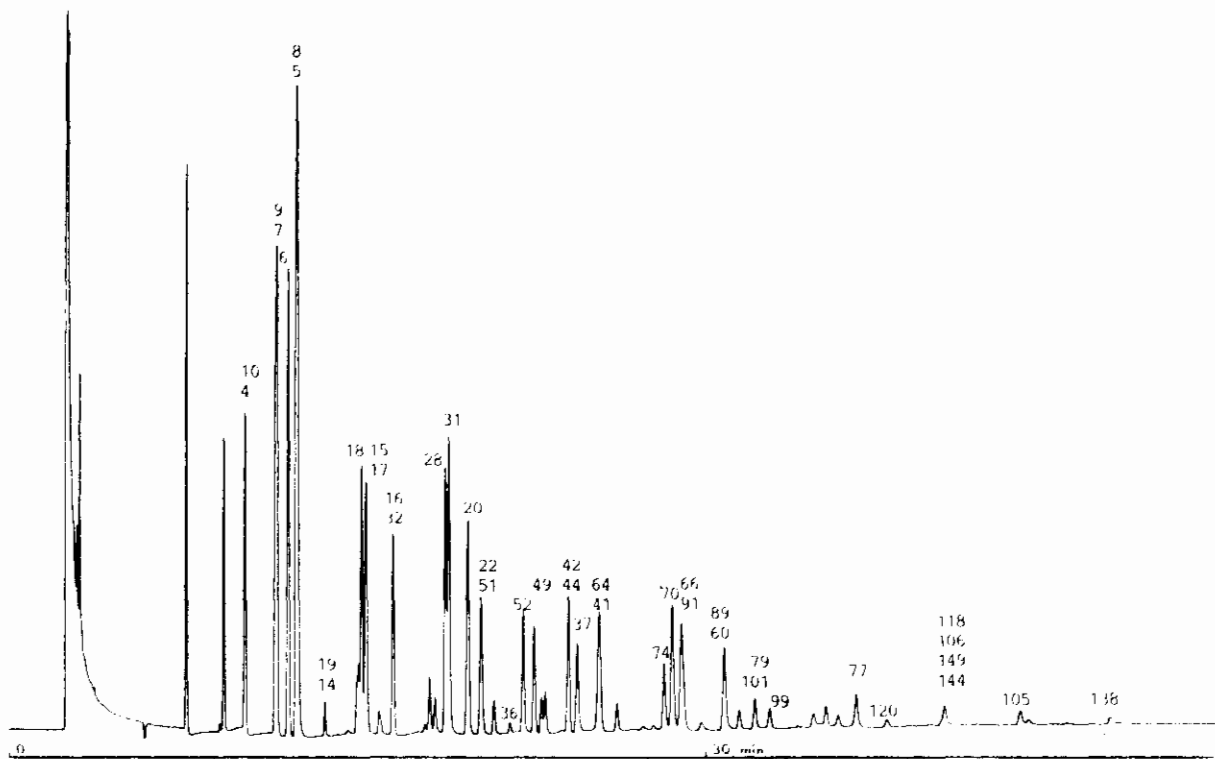


Fig. 1. Gaschromatogram opgenomen met elektronen-Invangdetector en capillaire kolom (fase: CP-sil-5) van Aroclor 1221

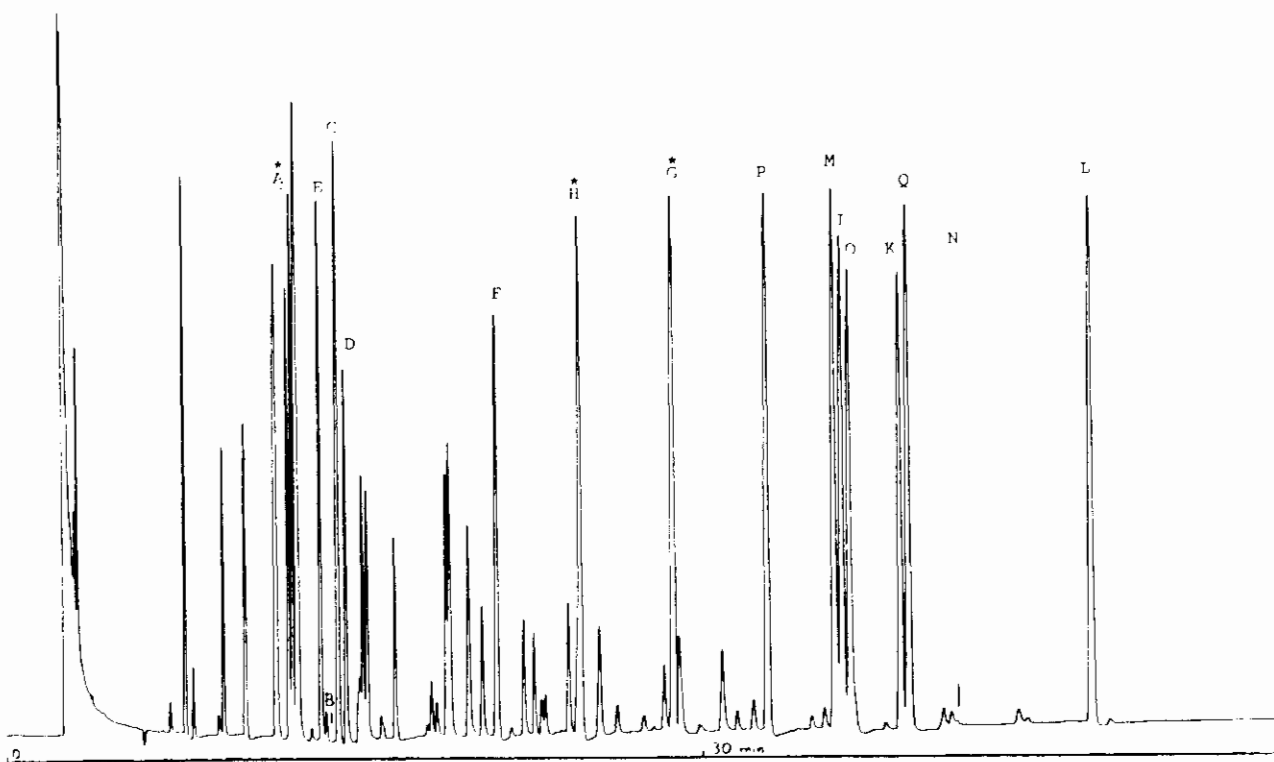


Fig. 2. Gaschromatogram opgenomen met elektronen-Invangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van een mengsel van Aroclor 1221 en pesticiden (*: interferentie)

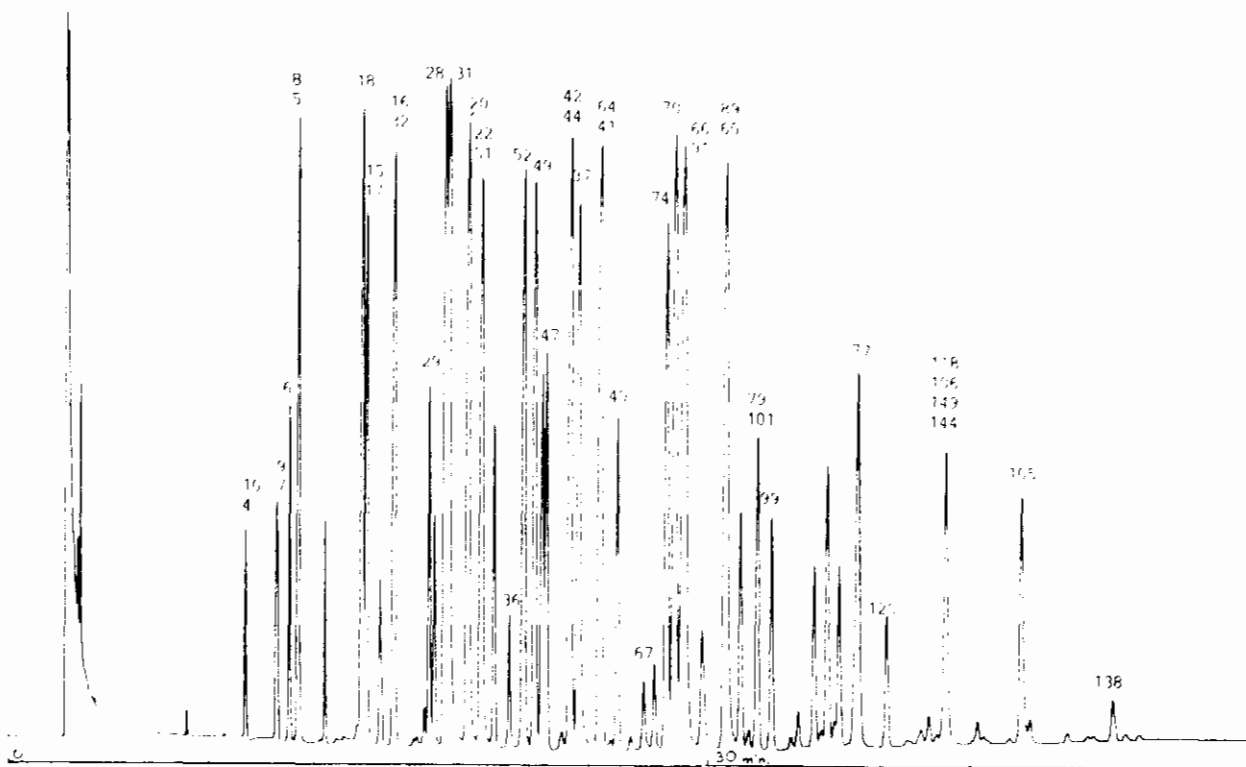


Fig. 3. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van Aroclor 1242.

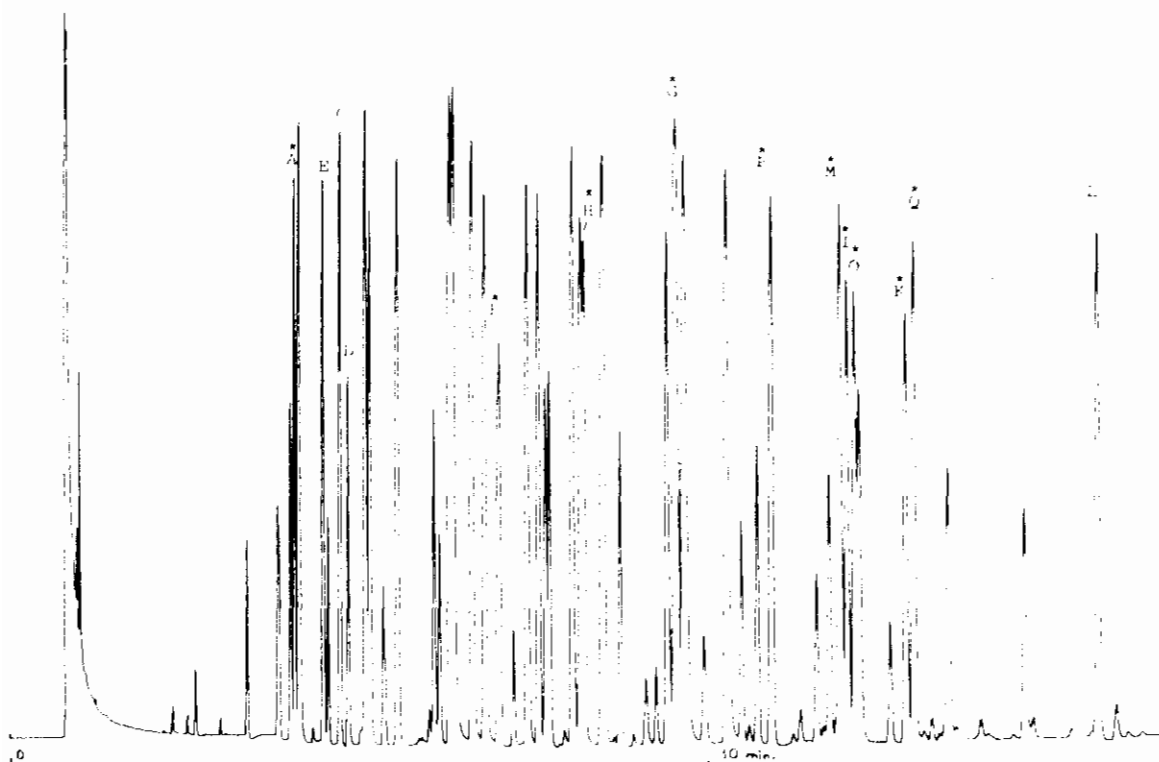


Fig. 4. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van een mengsel van Aroclor 1242 en pesticiden (*: interferentie).

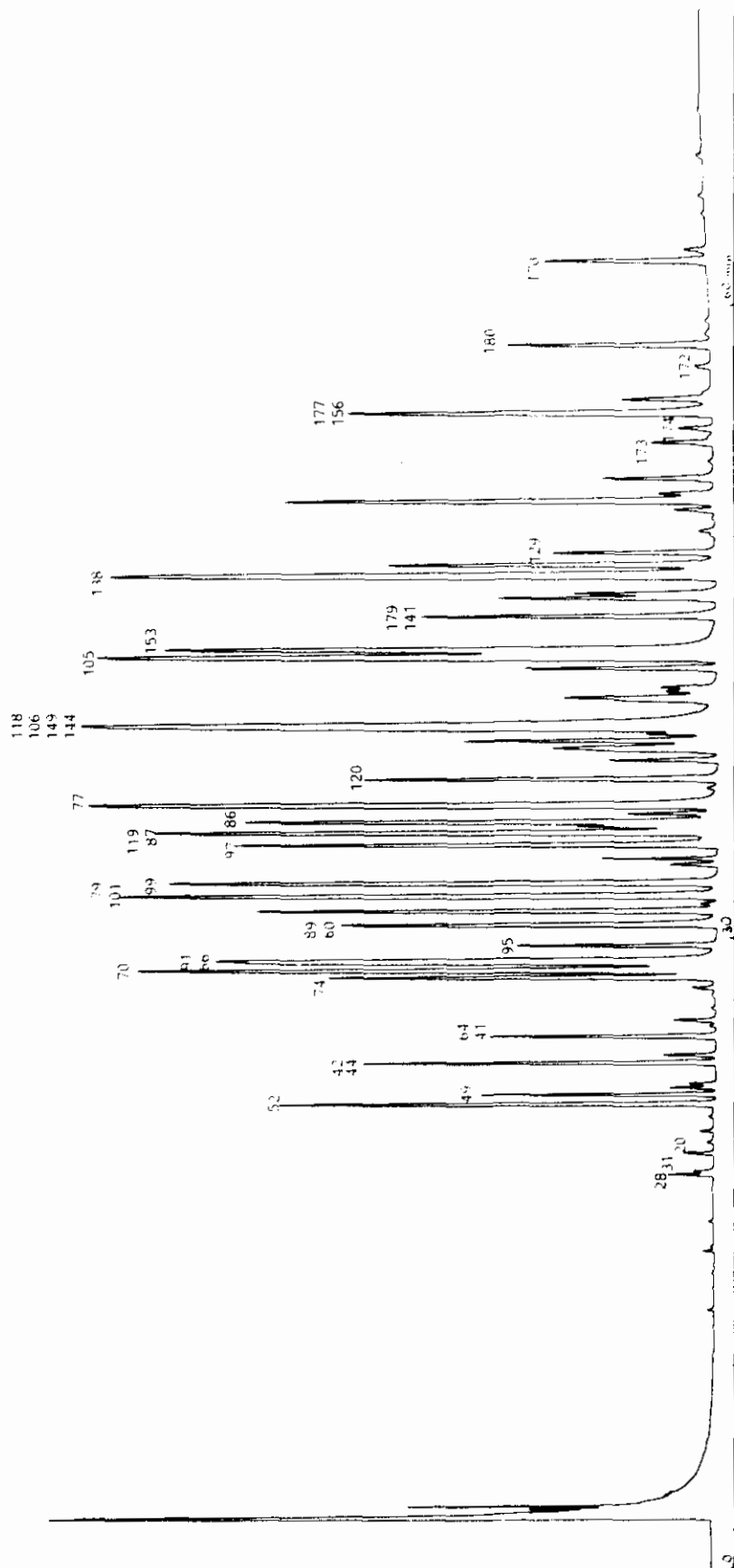


Fig. 5. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van Aroclor 1254

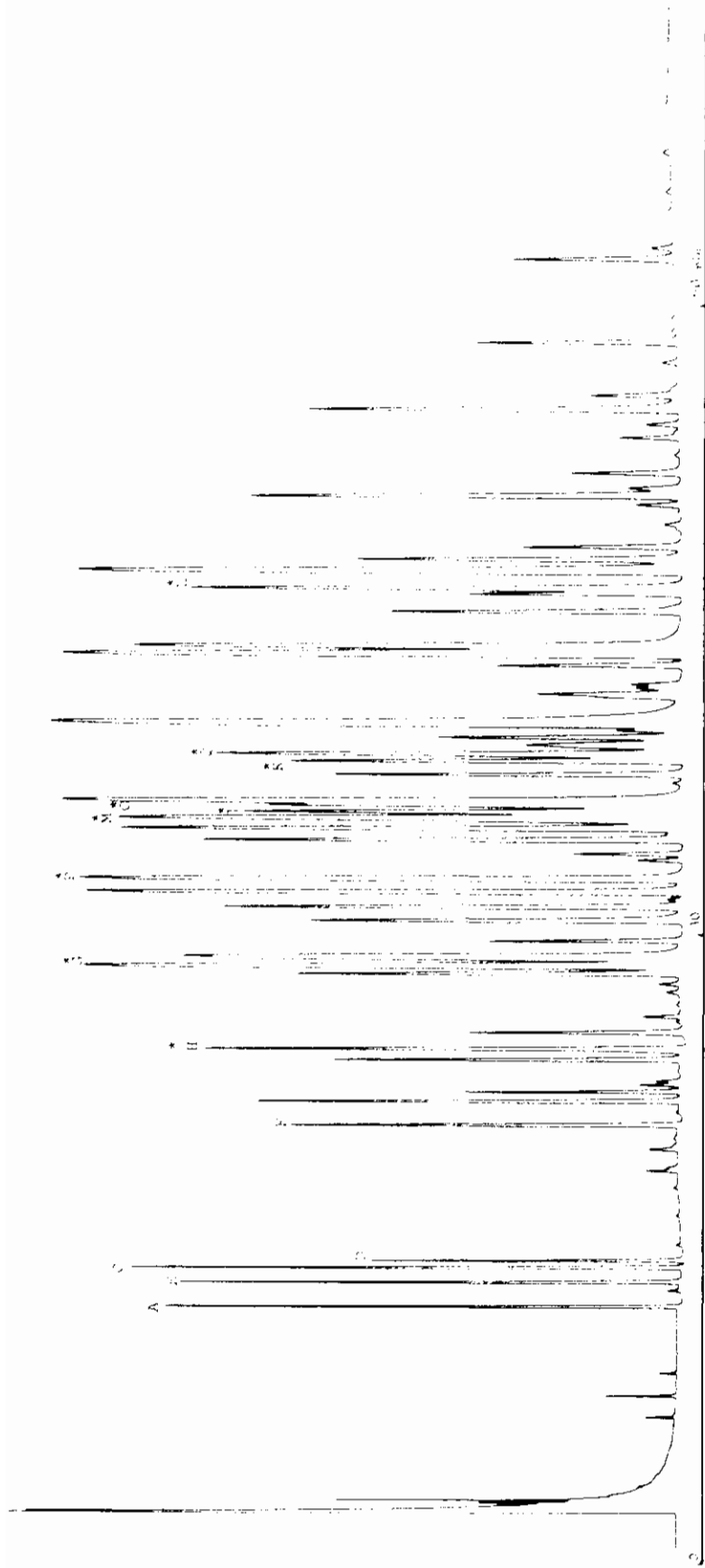


Fig. 6. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvandetoeter en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van een mengsel van Aroclor 1254 en pesticiden (*: interferentie)

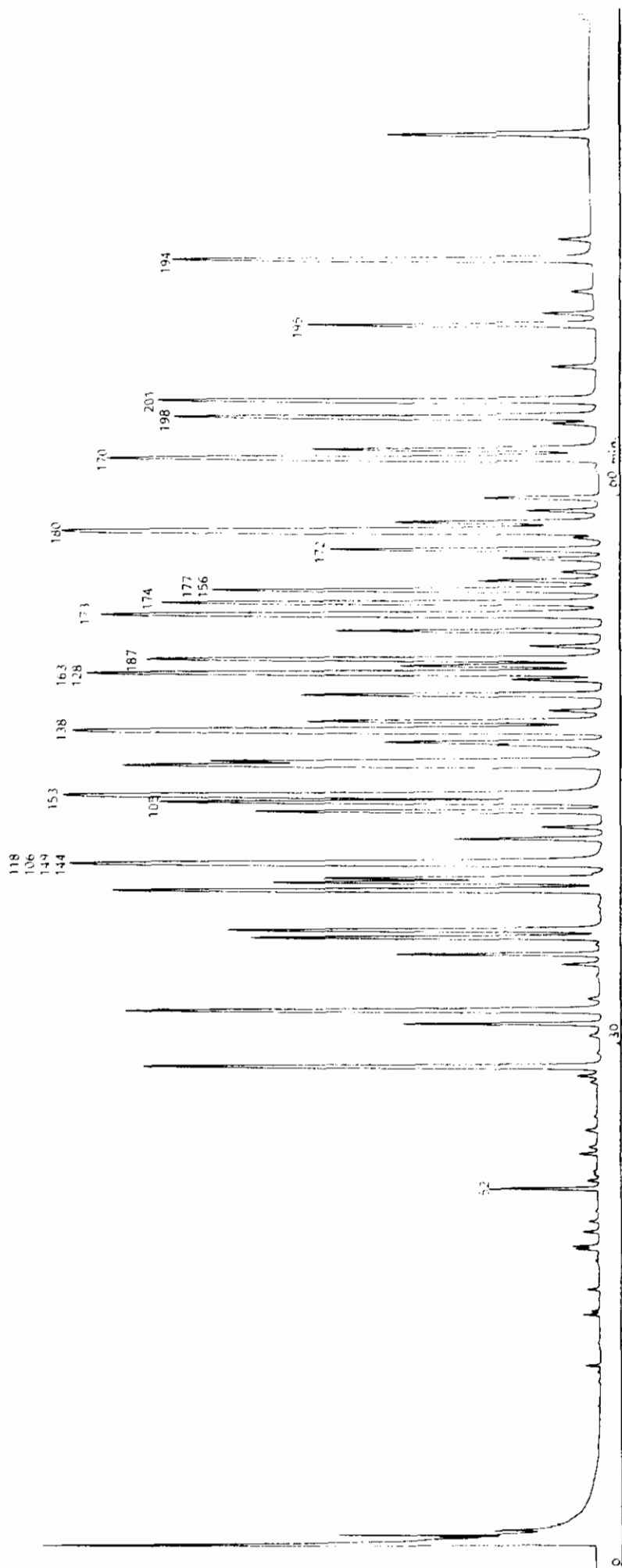


Fig. 7. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van Aroclor 1260.

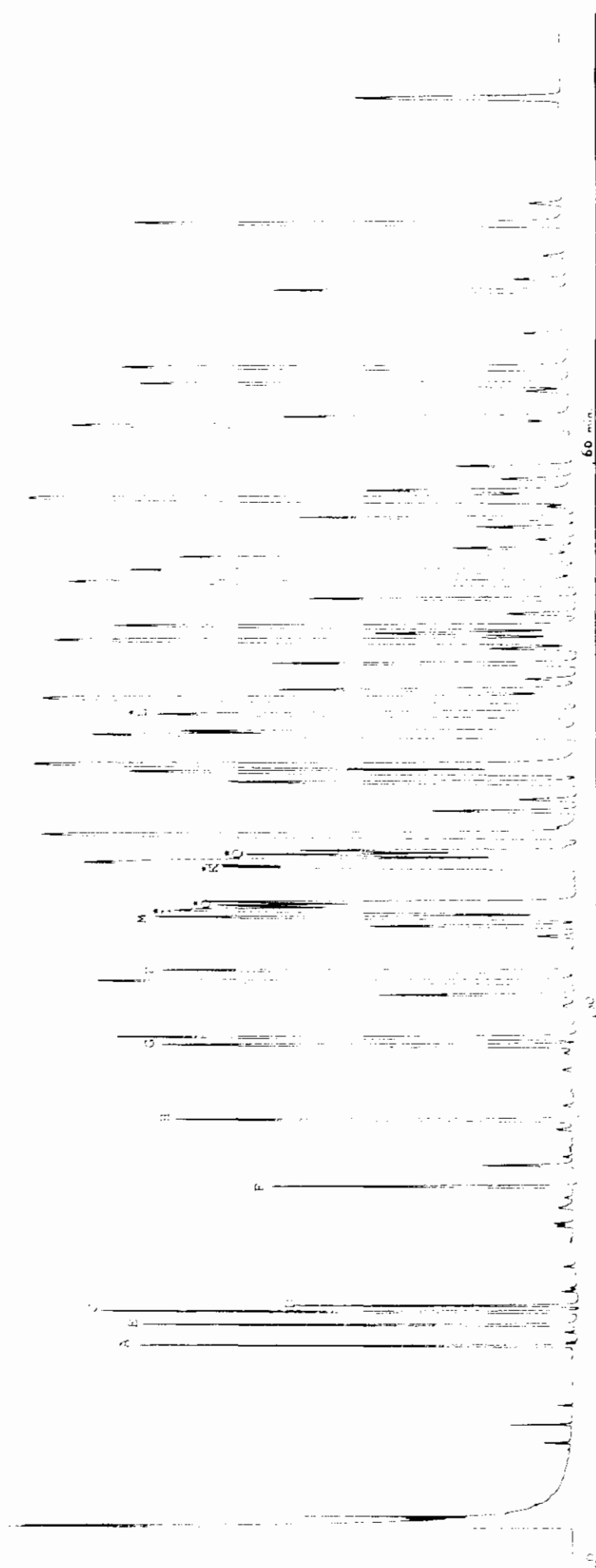


Fig. 8. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van een mengsel van Aroclor 1260 en pesticiden (* interferentie)

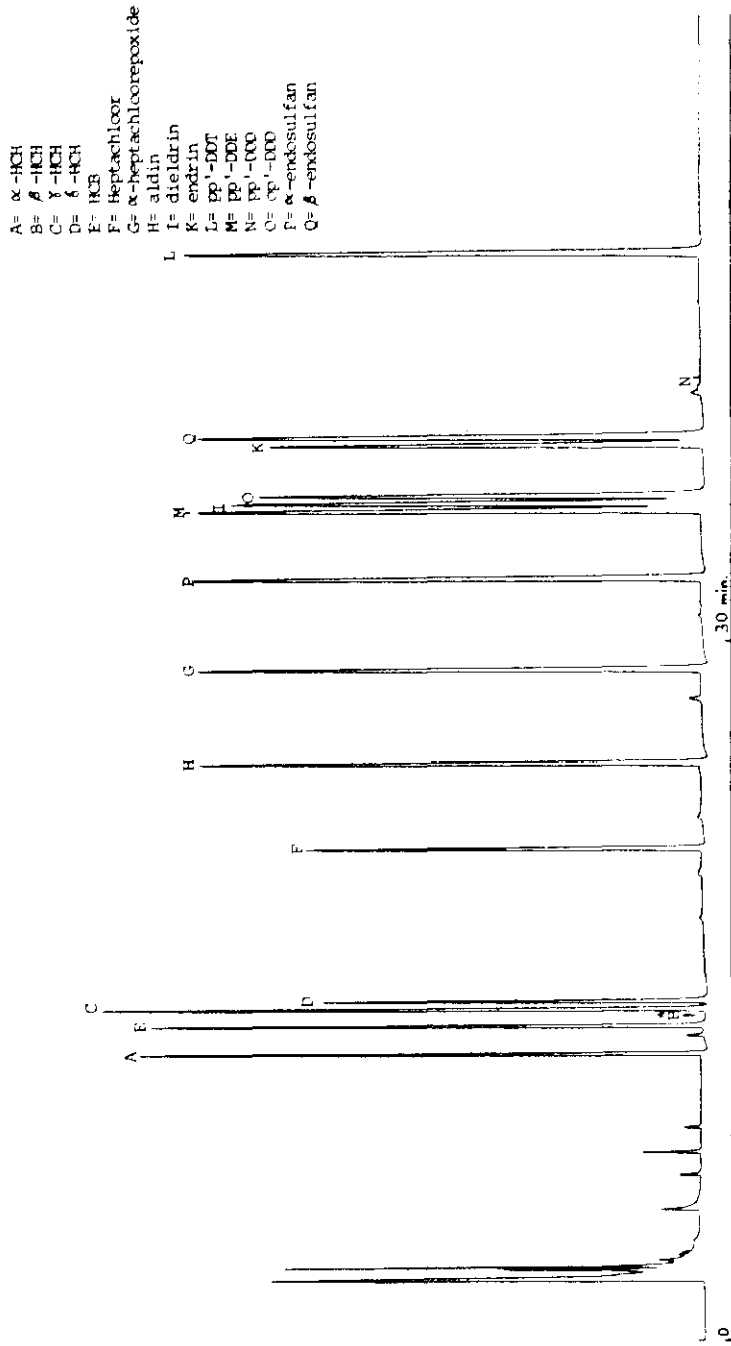


Fig. 9. Gaschromatogram opgenomen met elektroneninvangdetector en capillaire kolom (fase CP-sil-5) van een mengsel van pesticiden.

Voor de scheiding van pesticiden en PCB's over een capillaire kolom zijn twee verschillende kolommen uitgetest. Met beide kolommen (tabel 1) werd na optimalisering van de gassnelheid en de temperatuurprogrammering voor een standaard pesticiden-mengsel voor alle componenten een volledige scheiding verkregen; ook voor de soms moeilijk te scheiden componenten pp'-DDE en dieldrin. In de tweede kolom verloopt deze scheiding sneller, zodat de CP-sil-7-fase geschikter lijkt voor de scheiding van organochloor-pesticiden.

Voor de scheiding van de hoger-kokende, meer apolaire polychloorbiphenylen lijkt de CP-sil-5-fase meer geschikt.

In geval van relatief vuile extracten wegen de hogere kolomtemperatuur en grotere stabiliteit (langere levensduur) van de CP-sil-5-fase op tegen het wat grotere scheidend vermogen van de CP-sil-7-fase.

Door toepassing van een langere kolom, bijvoorbeeld 50 meter, kan een voldoende groot schotelgetal verkregen worden.

	kolom 1	kolom 2
type	WCOT	WCOT
fase	CP-sil-5	CP-sil-7
filmdikte	0,47 micron	0,40 micron
lengte	46 meter	25 meter
binnendiameter	0,27 mm	0,25 mm
voordruk	1,6 bar	0,6 bar
begintemperatuur	185° C	210° C
duur	0 min.	20 min.
programmering	1° C/min.	1° C/min.
eindtemperatuur	275° C	250° C
maximum temperatuur	300° C	280° C
schotelgetal voor aldrin	105.000	85.000

Tabel 1. Gegevens capillaire kolommen en gaschromatografische condities.

3.4 Injectietechnieken voor de gaschromatografische analyse

Voor een optimaal gebruik van het groot scheidend vermogen van capillaire kolommen is het noodzakelijk het monster op een zo gering mogelijk aantal schotels van de kolom te introduceren. Het geringe inwendige volume van een capillaire kolom beperkt de monstergrootte bij directe injectie in sterke mate.

Voor de bepaling van matig-vluchtige verbindingen met een kookpunt van circa 150°C zijn diverse technieken ontwikkeld, zoals de gesplitte injectie, de splitloze injectie, injectie met behulp van een vallende naald of injectie op een voorkolom.

3.4.1 *de gesplitte injectie*

Ter voorkoming van piekverbreding wordt van de bij hoge temperatuur geïnjecteerde hoeveelheid monster (1 - 5 µl) slechts een gering deel in de capillaire kolom gevoerd. De resterende fractie wordt weggeblazen. De splitverhouding, uitgedrukt als percentage van het totale geïnjecteerde monster dat in de capillaire kolom wordt gevoerd, is afhankelijk van het type splitter (geometrie) en bedraagt meestal 1-10%. Doordat slechts een klein gedeelte in de kolom gevoerd wordt, kunnen alleen relatief hoge gehalten bepaald worden.

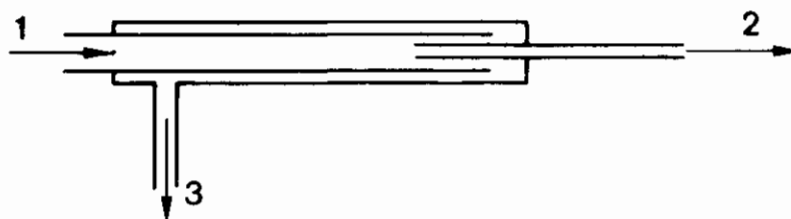


Fig. 10. Monstersplitter

- 1 = injectie
- 2 = analyse
- 3 = afvoer

De methode is daarom minder geschikt voor analyses waar de hoeveelheid te bewerken monster beperkt is, of het extract niet ver geconcentreerd kan worden.

Bij deze techniek kan enige discriminatie optreden bij de splitsing van stoffen met hogere molecuulgewichten.

Een gesplitte injectie in combinatie met een gepakte kleine voorkolom ondervangt problemen met de onderste analysegrens doordat de relatief grote splitverhouding, ten behoeve van de reproduceerbaarheid, onnodig wordt. Een voorkolom voor de splitter vangt grote, niet reproduceerbare, wisselingen in de drukopbouw bij injectie gedeeltelijk op, waardoor ook bij lage splitverhoudingen - tot 50% - deze splitsing reproduceerbaar is. Hierdoor blijft de gevoeligheid van de gaschromatografische analyse behouden.

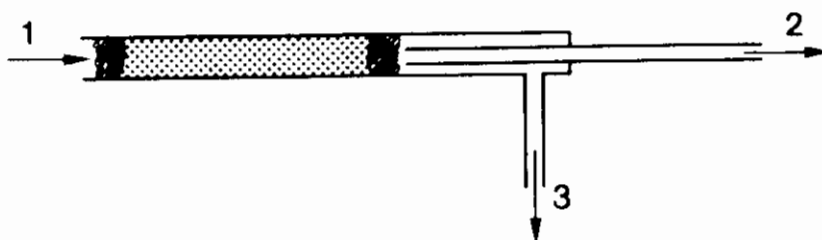


Fig. 11. Voorkolom met monstersplitter

- 1 = gepakte voorkolom
- 2 = capillaire kolom
- 3 = afvoer

Voor de analyse van zeer lage gehalten organische verbindingen met een kookpunt vanaf circa 150°C is het mogelijk via een eenvoudige aanpassing macro-injecties (50-100 µl) uit te voeren op de gepakte voorkolom. Na afblazen van het oplosmiddel bij kamertemperatuur via de afvoer, worden de organische verbindingen thermisch gedesorbeerd en opgevangen op de eerste schotels van de gekoelde capillaire kolom. De temperatuur van de voorkolom moet dan programmeerbaar zijn.

3.4.2 *de splitloze injectie*

Bij deze techniek wordt 1-5 µl geïnjecteerd in een verwarmde injectiekamer. Het draaggas brengt het in de dampfase overgegangene monster in een gekoelde capillaire kolom waar de organische verbindingen met relatief hoge kookpunten condenseren en gescheiden worden van het oplosmiddel dat door het draaggas door de capillaire kolom wordt gevoerd. Het is mogelijk na enige minuten

een splitter te openen, waardoor hoogkokende verbindingen - die mogelijk nog uit de injectiekamer vrijkomen - niet naar de capillaire kolom gaan, maar gedurende de analyse worden afgeblazen. Deze methode is bruikbaar voor lage concentraties, omdat alle componenten de capillaire kolom doorlopen en uiteindelijk worden gedetecteerd.

3.4.3 *de "on-column" injectie*

Hierbij wordt 0,5-1 µl geïnjecteerd, direct in de capillaire kolom of in een injectiekamer - een z.g. liner - met geringe binnendiameter. Indien injectie in de capillaire kolom plaatsvindt, kunnen uitsluitend capillaire kolommen met een wat grotere binnendiameter (0,3 - 0,5 mm) toegepast worden. Hierbij wordt niet het grote scheidend vermogen verkregen van kolommen met kleinere binnendiameters (ca. 0,2 mm).

Ter voorkoming van discriminatie van hoog-kokende organische verbindingen door condensatie in de injectienaald kan de kolom gekoeld worden op de plaats waar de naald zich tijdens injectie bevindt⁹. Deze injectiemethode is zeer reproduceerbaar; de gevoeligheid is redelijk doordat circa 1 µl monster absoluut in de kolom kan worden ingebracht.

3.4.4 *injectie met een vaste-stofinjector*

Een vaste-stofinjector bestaat uit een glazen staaf die in de injectiekamer van een gaschromatograaf gebracht kan worden. Er wordt met een injectiespuit een paar µl van het extract bij kamertemperatuur op de punt van de glazen naald gebracht. Na afdampen van het oplosmiddel, inclusief vluchtige organische verbindingen door het langsstromende draaggas, wordt de naald voor de capillaire kolom gebracht waar thermische desorptie van de matig-vluchtige verbindingen plaatsvindt.

Voor zwaardere organochloorpesticiden en polychloorbiphenylen vormt deze methode een goed bruikbare techniek.

Bij injectie van erg vuile, slecht af te dampen extracten kan contaminatie van de injectiepoort optreden.

3.5 Identificering en kwantificering van PCB- en pesticidengehalten

3.5.1 *identificatie van chloorpesticiden en polychloorbiphenylen*

Identificatie van in het chromatogram van een extract waargenomen pieken vindt plaats door vergelijking van de retentietijd ten opzichte van die van standaardstoffen.

Dit is mogelijk door de relatieve retentietijden ten opzichte van een aan het extract toegevoegde stof (b.v. Mirex) te vergelijken met de relatieve retentietijden van de verschillende PCB's of pesticiden ten opzichte van dezelfde stof in een standaardoplossing.

Ook kunnen absolute retentietijden van pieken in het extract vergeleken worden met die van pieken afkomstig van PCB's of pesticiden in het standaardmengsel. Een piek wordt positief benoemd wanneer onder andere de retentietijd minder dan 0,5% afwijkt van die van een standaardstof.

Door standaardadditie van de standaardstoffen aan het extract, nadat dit geanalyseerd is, kan de betrouwbaarheid van de identificatie vergroot worden door nogmaals een chromatogram op te nemen. Er dient gebruik gemaakt te worden van een capillaire kolom met een schotelgetal groter dan 60.000 voor pcb-component nr. 138 bij 220°C isotherm en een capaciteitsfactor van 4-6, afhankelijk van de laagdikte van de stationaire fase.

3.5.2 *kwantificering van pesticiden- en PCB-gehalten*

Bij de detectie van organohalogeenvbindingen met behulp van een elektroneninvangdetector (ECD) wordt de afname van een elektronenstroom tussen twee

elektroden in de detector geregistreerd. Deze afname wordt veroorzaakt doordat elektronen ingevangen worden door de te detecteren component. De grootte van deze afname is zowel een maat voor de hoeveelheid als de elektronegativiteit van een verbinding. Hierdoor is het geen absolute meting, zodat een calibratie voor de verschillende organohalogeenvverbindingen moet plaatsvinden; aan de hand van meerdere verdunningen van een standaardoplossing verspreid over het gehele werkgebied. Vanwege de niet-lineaire respons (fig. 12) van een ECD moet het sterk afgeraden worden calibraties aan de hand van één ijkoplossing uit te voeren. Het niet-lineaire karakter wisselt per type detector en soort verbinding en wordt evenals de gevoeligheid sterk beïnvloed door de plaats en de vorm van de positieve elektrode in de detector.

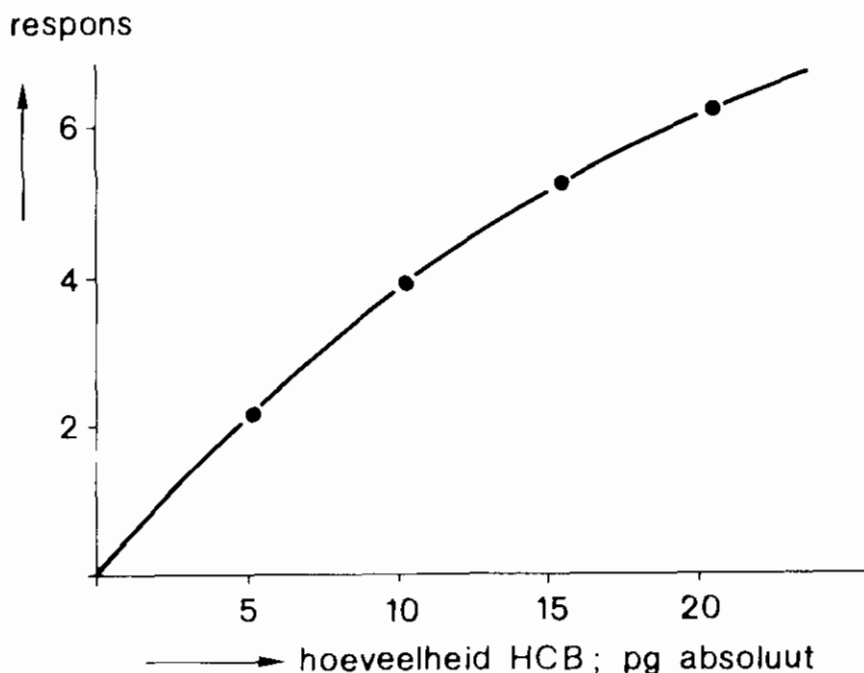


Fig. 12. Detector-respons voor verschillende hoeveelheden hexachloorbenzeen; injectievolume 1 µl; concentratie 5-20 pg/µl.

Met behulp van de ijkcurven, verkregen door piekoppervlakken of piekhoogten uit te zetten tegen de concentraties, wordt voor de verschillende pesticiden en PCB's het gehalte in het extract bepaald.

Indien automatische apparatuur voor de berekening en ijking wordt gebruikt, dient deze zodanig te zijn uitgevoerd dat er voor het niet-lineaire gedrag van de ECD wordt gecorrigeerd.

Een andere methode voor de kwantificering is het gebruik van een interne standaardstof, die in een nauwkeurig bekende hoeveelheid aan het extract wordt toegevoegd. De concentratie van een te kwantificeren component wordt bepaald uit de verhouding van de piekoppervlakken of piekhoogten van de component en de interne standaardstof, en een ijkfactor die de gevoeligheid van de detector voor de respectievelijke component en de standaardstof bevat:

$$C_x = f \cdot \frac{R_x}{R_{st}} \cdot C_{st}$$

waarin C_x = concentratie van de te kwantificeren verbinding
 C_{st} = concentratie van de interne standaardstof
 R_x = respons voor de te kwantificeren verbinding
 R_{st} = respons voor de interne standaardstof
 f = ijkfactor.

De ijkfactor wordt berekend uit een chromatogram van een oplossing met nauwkeurig bekende hoeveelheden van de interne standaardstof en de te kwantificeren componenten.

In deze ijkfactor zijn de verschillende gevoeligheden voor de diverse verbindingen verwerkt.

Ook hier moet rekening gehouden worden met een niet-lineair gedrag van de detector voor een bepaalde verbinding; slechts wanneer dit niet-lineaire gedrag voor zowel interne standaardstof als de te kwantificeren verbinding hetzelfde is, is de ijkfactor een constante. Indien dit niet het geval is dienen voor diverse concentraties ijkfactoren bepaald te worden.

Voordeel van de laatstgenoemde kwantificeringsmethode is dat de meting onafhankelijk wordt van de nauwkeurigheid van de monsterintroductie.

Als nadeel geldt dat in het chromatogram van het monster twee pieken opgemeten moeten worden waardoor de fout toeneemt, vooral bij een niet volledige scheiding van de interne standaardstof. Dit laatste is in chromatogrammen van extracten van zuiveringsslib vaak het geval.

De bepaling van het gehalte van een pesticide of polychloorbiphenyl in zuiveringsslib, uitgedrukt per hoeveelheid droge stof, vindt plaats door omrekening waarbij factoren voor de hoeveelheid in bewerking genomen nat slib, het drogestofgehalte en het uiteindelijke volume extract - na concentrering en clean-up - gebruikt worden.

$$C_z = \frac{C_E \times V_E}{G_z \times d.s.} \times 100$$

waarin C_z = gehalte in zuiveringsslib in $\mu\text{g}/\text{kg}$ droge stof

C_E = gehalte in het extract in $\mu\text{g}/\text{ml}$

V_E = volume van het extract in ml

G_z = hoeveelheid nat zuiveringsslib in bewerking genomen in kg

d.s. = drogestofgehalte in %.

De ijkoplossingen voor de kwantificering moeten worden bereid uit zuivere standaardstoffen (>99%) en oplosmiddelen.

Uit de standaardstoffen wordt een stockoplossing bereid van circa 5 - 20 mg/100 ml.

Deze oplossing wordt gecontroleerd op de afwezigheid van storende componenten in het chromatogram van een verdunning van deze oplossing.

Door combinatie van fracties van deze stockoplossingen wordt een mengstandaardoplossing met hoge gehalten verkregen. Uit deze oplossing wordt door verdunning een serie werkstandaardoplossingen gemaakt.

3.6 Ringonderzoek van pesticiden in petroleumether

Om een indruk te krijgen van de fout die gemaakt wordt bij de gaschromatografische bepaling zijn in een oplossing van 2 x 5 pesticiden in petroleumether de gehalten bepaald met behulp van een meegeleverde standaard door de volgende vier laboratoria volgens de gebruikelijke eigen methode:

- Technisch Adviesbureau van de Unie van Waterschappen B.V.;
- Stichting Waterlaboratorium Zwolle;
- Ingenieursbureau voor milieuzaken en civiele techniek "Oranjewoud" B.V.;
- Keuringsinstituut voor Waterleidingartikelen KIWA N.V.

De analyses werden uitgevoerd met capillaire kolommen: tweemaal 25 meter, CP-sil-7, tweemaal CP-sil-5, met een aangepaste injectietechniek (splitter of vaste-stofinjector).

De bepaling van de gehalten in de onbekende oplossing werd in drievoud uitgevoerd, inclusief het verdunnen met een factor 1000. IJklijnen werden ge-

construeerd uit de meetwaarden van vier verschillende verdunningen. De resultaten van deze analyses staan vermeld in tabel 2. Het gevonden gehalte is berekend uit de door de vier laboratoria opgegeven gemiddelde gehalten van drie metingen.

	werkelijk gehalte ($\mu\text{g/ml}$)	gevonden gehalte (n=4)	relatieve standaard- deviatie (%)	afwijking Δ (%)
HCB	11,72	11,77	4,0	+ 0,4
γ - HCH	12,65	12,58	3,6	- 0,6
pp' - DDE	21,80	21,89	3,8	+ 0,4
dieldrin	20,98	20,82	2,3	- 0,8
α - endosulfan	16,67	16,82	1,3	+ 0,9
pp' - DDT	33,25	33,50	4,8	+ 0,8
gemiddeld over pesticiden	-	-	3,3	0,65

Tabel 2. Resultaten van het ringonderzoek met de pesticidenoplossing door vier laboratoria (analyse m.b.v. capillaire kolom).

De gemiddelde standaarddeviatie - over zes pesticiden berekend - bedraagt 3,3%; de gemiddelde absolute afwijking van het ingewogen gehalte 0,65%. De getallen zijn vergeleken met een eerder gehouden ringonderzoek¹, waarbij volgens een zelfde opzet werd gewerkt, maar nog gepakte kolommen werden gebruikt.

De vergelijking is uitgevoerd met dezelfde pesticiden met uitzondering van γ - HCH; in plaats daarvan werd in het eerste ringonderzoek het vergelijkbare α - HCH gebruikt. De resultaten zijn samengevat in tabel 3. De minder geconcentreerde oplossing behoefde hier voor analyse slechts 100 maal verdund te worden.

	werkelijk gehalte ($\mu\text{g/ml}$)	gevonden gehalte (n=4)	relatieve standaard- deviatie (%)	afwijking Δ (%)
HCB	1,94	2,02	8,2	- 4,1
α - HCH	2,00	1,95	10,0	- 2,5
pp' - DDE	2,26	2,12	14,5	- 6,2
dieldrin	2,71	2,60	10,6	- 4,1
α - endosulfan	2,25	2,08	11,9	- 7,6
pp' - DDT	4,03	3,79	13,9	- 5,6
gemiddeld over zes pesticiden	-	-	11,5	- 5,0

Tabel 3. Resultaten van een eerder ringonderzoek uitgevoerd door vier laboratoria (analyse m.b.v. gepakte kolom).

3.7 Conclusies

Het blijkt mogelijk om lage concentraties pesticiden of individuele chloorbiphenylen (circa 10 ng/ml) met een zeer grote nauwkeurigheid juist te bepalen.

Hiervoor kan een gesplitte injectie bij kleine splitverhouding of een splitloze injectie gebruikt worden.

De nauwkeurigheid voor de bepaling van deze stoffen in extracten zal dan ook vooral beperkt worden door het optreden in het chromatogram van storende pieken afkomstig van onbekende verbindingen.

Minimalisering van deze interferenties wordt bereikt door gebruik te maken van een 50 meter lange capillaire kolom met een kleine binnendiameter (<0,25 mm).

Als fase voldoet een apolaire siliconenfase (CP-sil-5) goed, bij voorkeur in een chemisch gebonden vorm. Dit in verband met de grotere stabiliteit en hoge coatingefficiëntie waardoor degradatie van organische verbindingen aan actieve plaatsen in de kolom minimaal is.

4 CLEAN-UP VAN HET EXTRACT EN SCHEIDING VAN POLYCHLOORBIPHENYLEN EN PESTICIDEN

4.1 Probleemstelling

Het ruwe hexaanextract bevat componenten, die storen bij de gaschromatografische scheiding of bij de detectie met behulp van een elektroneninvangdetector.

Bij de gaschromatografische scheiding kunnen storingen optreden, doordat de stationaire fase wordt aangetast of vervuild; hierdoor kunnen actieve plaatsen ontstaan, waaraan bijvoorbeeld pp'-DDT tijdens de analyse kan ontleden. Door aantasting of vervuiling van de vloeistof-fase zal het schotelgetal afnemen, waardoor de scheiding negatief wordt beïnvloed.

Onbekende verbindingen kunnen in het chromatogram samenvallen met de te bepalen chloorbiphenylen of pesticiden.

Bij de detectie kan door het optreden van vervuiling de gevoeligheid afnemen en een minder stabiele basisstroom tussen de elektroden ontstaan, waardoor negatieve pieken in het chromatogram kunnen voorkomen door een kortdurende toename van de basisstroom en de kwantificering onbetrouwbaar wordt.

Ter voorkoming van bovengenoemde storingen worden extracten voorgezuiverd door bijvoorbeeld adsorptie van storende componenten aan aluminiumoxyde¹⁰. Ter voorkoming van interferentie van polychloorbiphenylen bij de bepaling van een aantal chloorpesticiden wordt een voorscheiding in het extract uitgevoerd via vloeistofchromatografie op een kolom met siliciumoxyde¹¹. Voor de verwijdering van elementaire zwavel - dat de detectie stoort - wordt het hexaanextract geschud met kwik of actieve koper, of laat men het zwavel reageren met tetrabutylammoniumsulfiet.

In dit onderzoek zijn bovengenoemde stappen toegepast voor relatief zeer vuile zuiveringsslibextracten; waar mogelijk zijn deze stappen geoptimaliseerd.

4.2 Clean-up van extracten en de scheiding van pesticiden en PCB's op aluminiumoxyde.

De verwijdering van de detectie storende verbindingen met behulp van aluminiumoxyde¹⁰ wordt veelvuldig toegepast bij de analyse van chloorpesticiden. Soms worden voor dit doel ook Florisil, actieve kool of siliciumoxyde gebruikt. Ook is het mogelijk storende componenten via vloeistof-vloeistofpartitie te verwijderen.

De voorkeur voor aluminiumoxyde boven andere middelen berust op de constante eigenschappen van dit materiaal; bovendien kan voor de elutie gebruik worden gemaakt van kleine hoeveelheden, relatief weinig schadelijke, organische oplosmiddelen.

Het aluminiumoxyde wordt doorgaans eerst geactiveerd bij circa 130-150°C en vervolgens gedeactiveerd met 5-11 gewichtsprocenten water. Bij deactivering met 11% water wordt een optimum bereikt voor wat betreft een volledige elutie van chloorpesticiden inclusief β -HCH en een goede adsorptie¹² van vette materialen.

Bij dit onderzoek is gekeken naar het elutiepatroon van chloorpesticiden en PCB's voor verschillende kolommen gevuld met Al₂O₃, en naar de mogelijkheden om meteen tijdens de clean-up een fractionering in PCB's en pesticiden uit te voeren.

4.2.1 *uitvoering experimenten*

Een chromatografiebuis (bijlage 3) met een binnendiameter van 6 mm, waarin een klein propje gesilaniseerde glaswol is aangebracht, is droog gepakt met 2,0 ± 0,05 g aluminiumoxyde (Woelm-basisch). Het aluminiumoxyde is na activeren gedurende minimaal 16 uur bij 150°C gedeactiveerd met 11 of 5 gew.% water. Op de kolom is met behulp van een pipet 1 ml van een stan-

daardoplossing van pesticiden in hexaan (50-100 ng/ml) of van een extract, waaraan pesticiden zijn toegevoegd, gebracht. Na spoelen van de puntbuis met 1 ml hexaan is ook dit op de kolom gebracht op het moment dat de vloeistofspiegel juist de bovenkant van de kolomvulling bereikt heeft. Daarna is geëlueerd met hexaan; de hexaan is in fracties van 1 of 2 ml opgevangen welke direct gaschromatografisch zijn geanalyseerd op de verschillende pesticiden. Daarnaast zijn nog twee soorten chromatografiebuizen onderzocht: buizen met een lengte van 15 cm en een binnendiameter van 8 mm, welke gevuld waren met 10,0 g Al_2O_3 (11% water) en buizen, uitgerust met een teflon kraantje, zodat de kolommen als "slurry" gepakt konden worden.

4.2.2 *resultaten van recovery-experimenten van pesticiden bij de clean-up op aluminiumoxyde.*

In de onderstaande figuren zijn de elutiepatronen weergegeven van de volgende 14 organochloorpesticiden: HCB, α -, γ -, en δ -HCH, aldrin, dieldrin, endrin, heptachloor, heptachloorepoxyde, pp'-DDE, op'-DDD, pp'-DDT, α - en β -endosulfan.

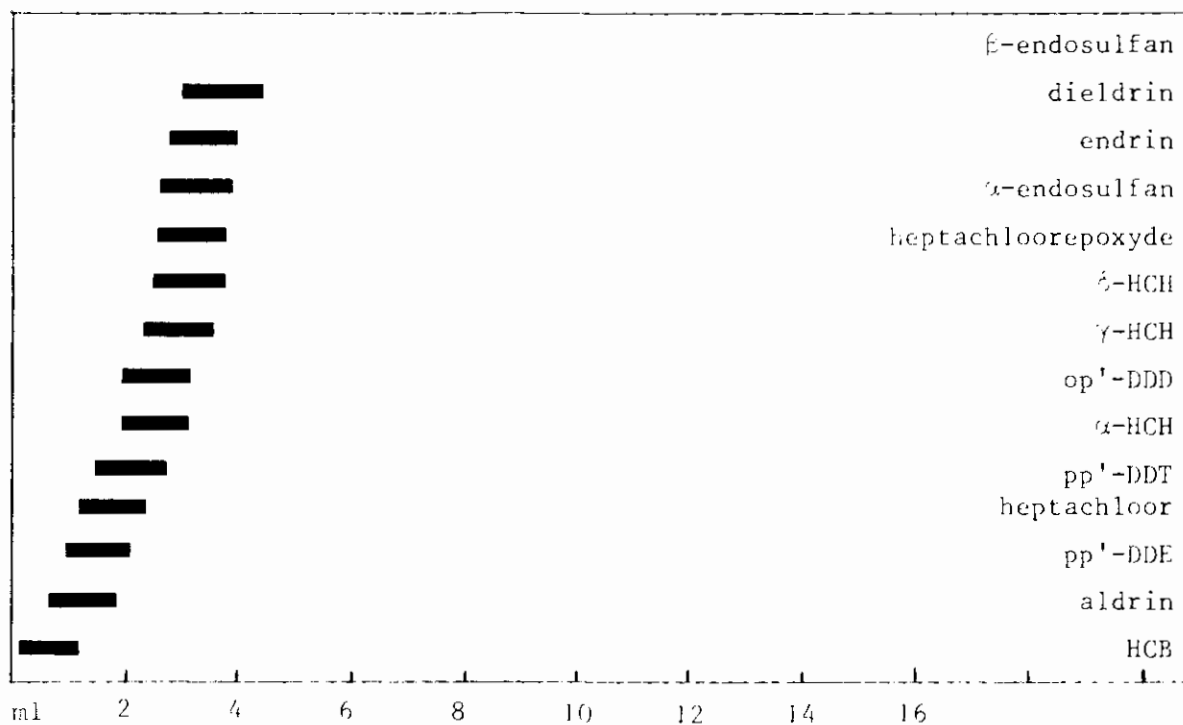


Fig. 13. Elutie van pesticiden van een kolom, droog gepakt met 2.0 gram Al_2O_3 (11% water).

Uit de resultaten blijkt dat alle genoemde pesticiden, inclusief volgens literatuuropgave de β -isomeer van HCH, volledig geëlueerd worden, met uitzondering van β -endosulfan dat ook met 15 ml hexaan nog niet wordt geëlueerd. Er treedt een onvoldoende scheiding op van de verschillende pesticiden in de verschillende fracties, hoewel storende componenten in voldoende mate geadsorbeerd blijven. Deze clean-up is niet geschikt om tegelijkertijd de PCB's, die met de eerste millimeters hexaan geëlueerd worden, te scheiden van de organochloorpesticiden.

Bij gebruik van minder gedeactiveerde Al_2O_3 (5 gew.% water) treedt een wat tragere elutie op, echter zonder dat de scheiding aanmerkelijk wordt verbeterd (fig. 14).

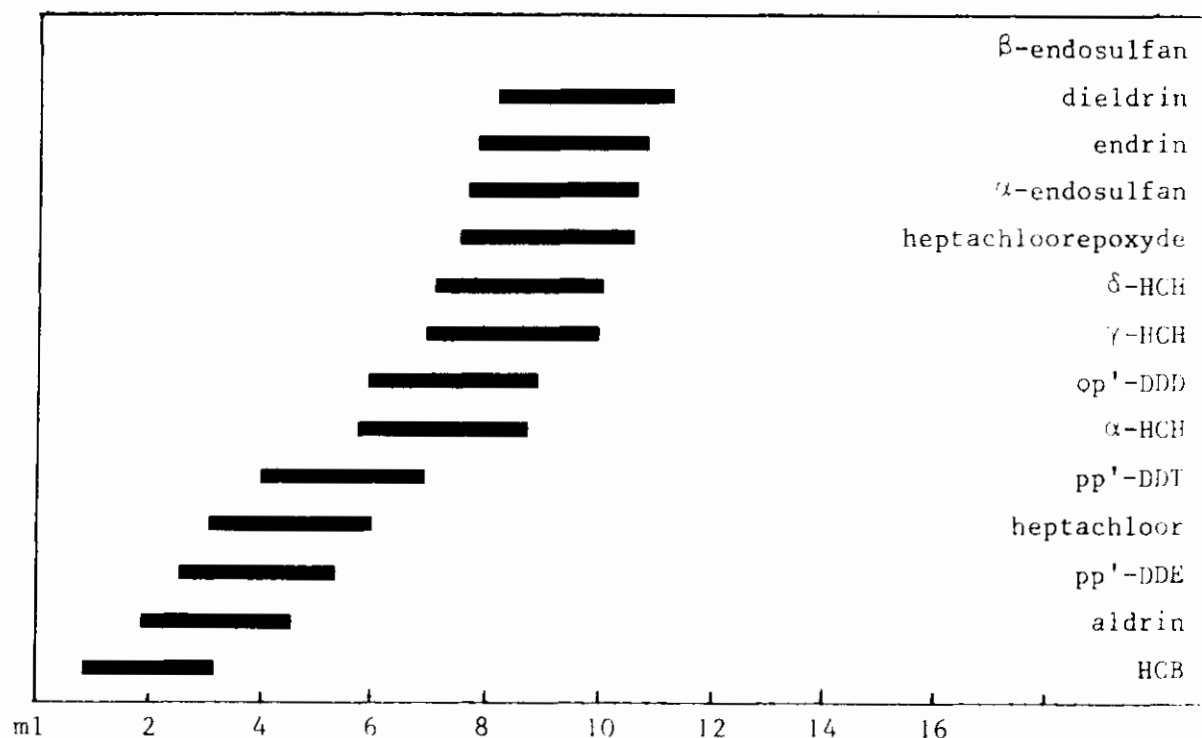


Fig. 14. Elutie van pesticiden van een kolom, droog gepakt met 2.0 gram Al_2O_3 (5% water)

Indien nog actievere aluminiumoxyde toegepast wordt, moet een mengsel van hexaan en diethylether gebruikt worden voor de volledige elutie van pesticiden, waarbij echter ook storende verbindingen meegeëluëerd worden. De clean-up van het extract wordt daardoor onvoldoende.

Voor toevoegingen van pesticiden aan het ruwe zuiverings-slib-extract treedt geen meetbare verandering van het elutiepatroon op bij de clean-up op aluminiumoxyde.

Resultaten voor hetzelfde standaardmengsel bij toepassing van een langere kolom - lengte 15 cm, binnendiameter 8 mm, gevuld met 10,0 gram Al_2O_3 (11% water) zijn weergegeven in figuur 15.

De resultaten voor een als "slurry" gepakte kolom zijn, overeenkomstig de bevindingen van andere onderzoekers, niet beter. Het elutievolume neemt wat toe, terwijl de scheiding gelijk blijft.

Uit fig. 15 blijkt, dat de scheiding bij gebruik van grotere kolommen niet zodanig beter wordt, dat er twee fracties afgezonderd kunnen worden, waarbij zich in de eerste fractie de PCB's en apolaire pesticiden (HCB, aldrin, pp'-DDE) bevinden en in de tweede fractie de minder apolaire pesticiden (dieldrin, endrin), zonder dat pesticiden met fysisch-chemische eigenschappen tussen deze groepen in (zoals α-HCH, γ-HCH, pp'-DDT), over beide fracties verdeeld worden.

4.2.3 conclusies

- Volledige elutie van pesticiden wordt verkregen bij de clean-up op een aluminiumoxyde-kolom met uitzondering van β-endosulfan en het nog meer polaire endosulfansulfaat, bij gebruik van 15 ml hexaan en een microkolom met 2,0 gram aluminiumoxyde (gedeactiveerd met 11% water).
- Aangezien er op semi-preparatieve schaal een clean-up van het extract moet plaatsvinden is de op de kolom gebrachte hoeveelheid monster (0,5 - 1 ml) onvoldoende op de kolomdimensies afgestemd. Er treedt daardoor

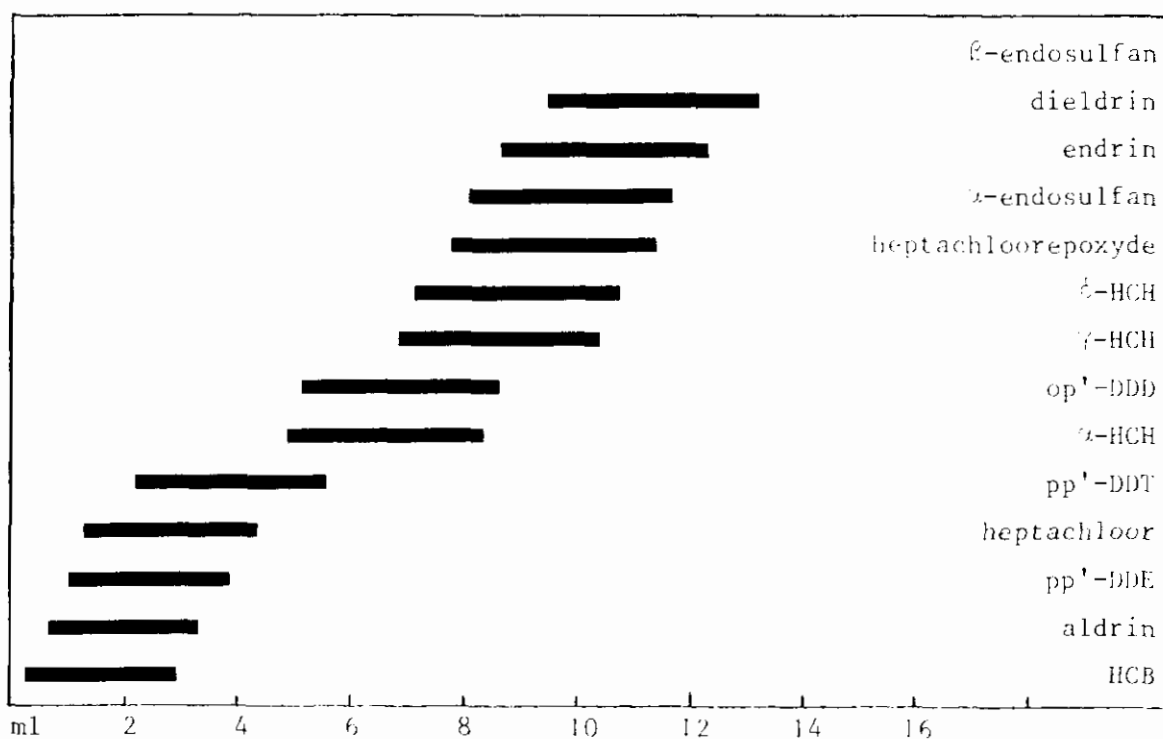


Fig. 15. Elutie van pesticiden van een kolom, droog gepakt met 10.0 gram Al_2O_3 (11% water)

onvoldoende scheiding op voor fractionering in pcb's en pesticiden.

- Vermindering van de hoeveelheid monster is ongewenst. In verband met de gevoeligheid van de analysemethode moet het ingedampde extract kwantitatief op de kolom worden overgebracht.

- Bij toepassing van grotere kolommen neemt het scheidend vermogen toe; het gebruik van grotere hoeveelheden elutiemiddel is daarbij onvermijdelijk.

Door de betere eigenschappen van SiO_2 verdient het aanbeveling de scheiding apart op SiO_2 uit te voeren.

4.3 Scheiding van PCB's en organochloorpesticiden en de clean-up op silicagel.

Voor de scheiding van organochloorpesticiden van PCB's op siliciumoxyde worden verschillende voorschriften gehanteerd.

De verschillen ontstaan door afwijkende activiteiten van het siliciumoxyde, wisselende kolomdimensies en verschillen in elutiemiddel.

Onder bepaalde omstandigheden kan een scheiding worden verkregen tussen de moeilijk te scheiden PCB's en pp'-DDE^{*}.

Nadelen van deze methode zijn de noodzakelijk grote kolomdimensies, de grote hoeveelheden elutiemiddel en de uitgebreide indamp-procedure.

Deze methode is te bewerkelijk voor routinematige analyses. Ten behoeve van het laatste wordt hier een methode ontwikkeld op basis van een zeer eenvoudig te prepareren microkolom (bijlage 3).

4.3.1 witvoering apparatuur.

Siliciumoxyde^{*} wordt geactiveerd door deze gedurende maximaal 16 uur bij 150°C te bewaren en na afkoelen gedeactiveerd met 5 gewichtsprocenten (95 + 5 g) water. Na homogeniseren wordt het siliciumoxyde gedurende minimaal 16 uur bewaard om te stabiliseren.

^{*}(Grace Davison Chemical; 60-200 mesh)

In de microkolom is (ter verkrijging van voldoende elutiesnelheid!) een klein propje gesilaniseerde glaswol aangebracht. De microkolom wordt droog gepakt met 1,5 g SiO₂ (5% water).

Na opbrengen met een pipet van 1 ml standaardmengsel of ingedampt extract, waaraan pesticiden of PCB's zijn toegevoegd, wordt de puntbuis nagespoeld met 1 ml hexaan. Deze wordt ook met de pipet op de kolom gebracht op het moment dat de vloeistofspiegel de bovenkant van de kolomvulling bereikt heeft.

Deze procedure wordt herhaald. Vervolgens wordt geëluëerd met hexaan en een mengsel van hexaan en diethylether (verhouding 75 : 25).

Het eluaat wordt opgevangen in fracties van 5 ml, waarin direct, zonder verdere concentrering, gaschromatografisch de verschillende componenten zijn bepaald.

4.3.2 resultaten

Het elutiepatroon van pesticiden en PCB's is weergegeven in figuur 16 na bepaling van de verschillende pesticiden in de diverse fracties. Het elutiepatroon voor 1 ml van een standaardmengsel van pesticiden in hexaan (0,1 - 0,3 µg/ml) komt overeen met dat voor 1 ml van een slibextract, waaraan na clean-up op aluminiumoxyde pesticiden of PCB's zijn toegevoegd. Beide procedures, die een aantal malen werden uitgevoerd, vertonen geen verschil in elutiepatroon.

Meegeëxtraheerde componenten uit het zuiverings-slib beïnvloeden de scheiding dus niet in merkbare mate.

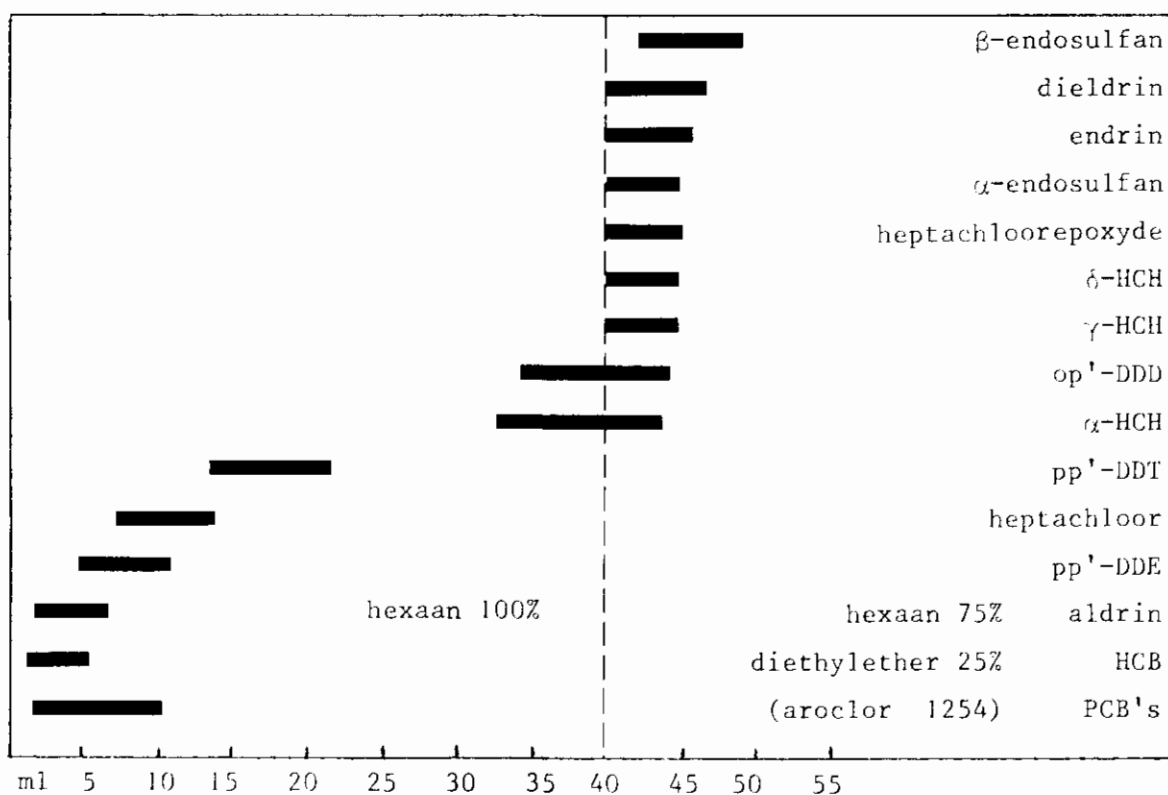


Fig. 16. Elutie van PCB's en pesticiden van een kolom droog gepakt met 1,5 g SiO₂ (5% water)

Uit het patroon blijkt dat de apolaire pesticiden HCB, aldrin, heptachloor, pp'-DDE en pp'-DDT geheel in de eerste fracties geëluëerd worden, terwijl minder apolaire pesticiden pas in latere fracties, of met een meer polair

elutiemiddel (75% hexaan, 25% diethylether) worden geëluëerd. PCB's (aroclor 1254) worden geheel in de eerste 2 fracties geëluëerd; er treedt dus geen volledige scheiding op tussen PCB's en HCB, aldrin, heptachloor of pp'-DDE.

Fractionering van het eluaat in twee fracties is mogelijk na 25 ml hexaan; in de eerste fractie kunnen bij de gaschromatografische analyse genoemde pesticiden, met uitzondering van HCB, samenvallen met pieken van PCB-isomeren.

De tweede fractie, bestaande uit 15 ml van een mengsel hexaan en diethylether bevat de overige pesticiden.

Om de pieken van enkele pesticiden in het gaschromatogram niet samen te laten vallen met die van PCB-isomeren, is de scheiding ook uitgevoerd op een langere kolom, als "slurry" gepakt met 10,0 g SiO₂. In tegenstelling tot andere experimenten is hier slechts 100 µl van een standaardoplossing van pesticiden en PCB's opgebracht.

ECD-respons in fracties

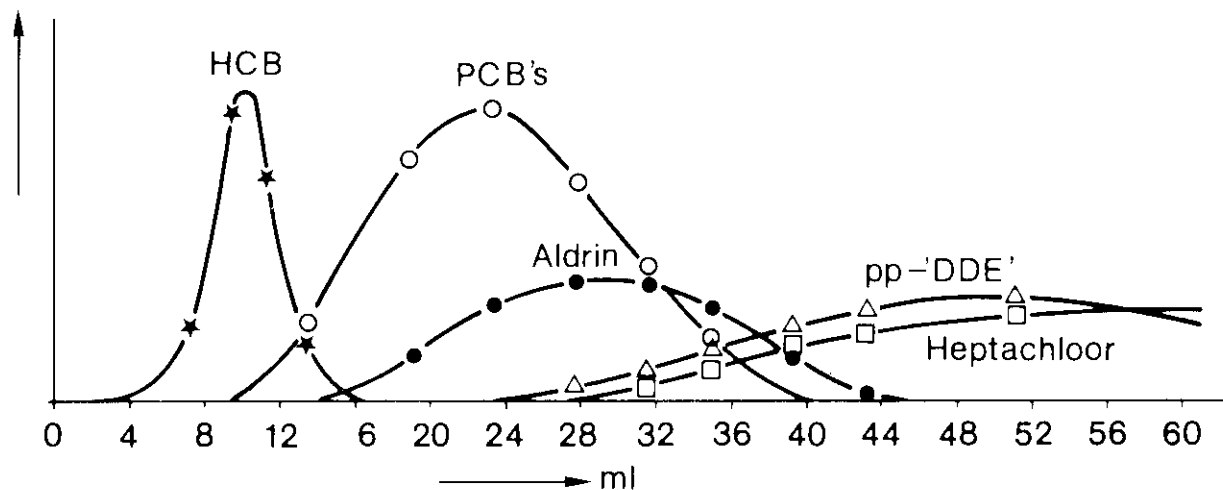


Fig. 17. Elutie van pesticiden en PCB's (clophen A-60) op een kolom, als "slurry" gepakt met 10,0 g SiO₂ (5% water).

Met deze langere kolom en kleinere monstergrootte kan een scheiding worden verkregen voor PCB's en pp'-DDT; de scheiding tussen PCB's, pp'-DDE en heptachloor is zeer kritisch en niet volledig, terwijl HCB en aldrin niet gescheiden worden van PCB's.

Voor grotere monstervolumina wordt de scheiding minder volledig; de methode is niet geschikt voor routinematige analyses.

Gebruik van actievere SiO₂ (b.v. 3 gew.% water) levert naast een piekverbreeding voor de diverse componenten een wat betere scheiding op. De relatief grote hoeveelheid monster - ca. 1 ml - is de meest beperkende factor bij het verkrijgen van een volledige scheiding van PCB's en pp'-DDE. Vermindering hiervan wordt problematisch door het semi-preparatieve en kwantitatieve karakter van de scheiding.

Experimenten met verdunningen van standaardmengsels van PCB's en pesticiden met 10-20% polair organisch oplosmiddel van de stockoplossingen, geven een grote verschuiving van het elutiepatroon te zien. De elutie van minder apolaire pesticiden als endosulfan en dieldrin wordt versneld, zodat geen fractionering meer mogelijk is.

Naast de scheiding van pesticiden en PCB's op siliciumoxyde is onderzocht of deze methode tegelijkertijd geschikt is voor de clean-up van het ruwe slibextract, zodat een aparte clean-up op aluminiumoxyde vooraf achterwege kan blijven.

Daartoe zijn ruw extract en een zelfde extract na clean-up op Al_2O_3 , na toevoeging van pesticiden op kolommen gebracht en geëluëerd.

De kolommen zijn gepakt met 1,5 g SiO_2 en geëluëerd met 25 ml hexaan en 15 ml van een mengsel van hexaan (75%) en diethylether (25%). Het eluaat is opgevangen in fracties van 5 ml welke geschromatografisch zijn geanalyseerd.

Uit de resultaten blijkt dat het elutiepatroon voor beide extracten hetzelfde is (figuur 18).

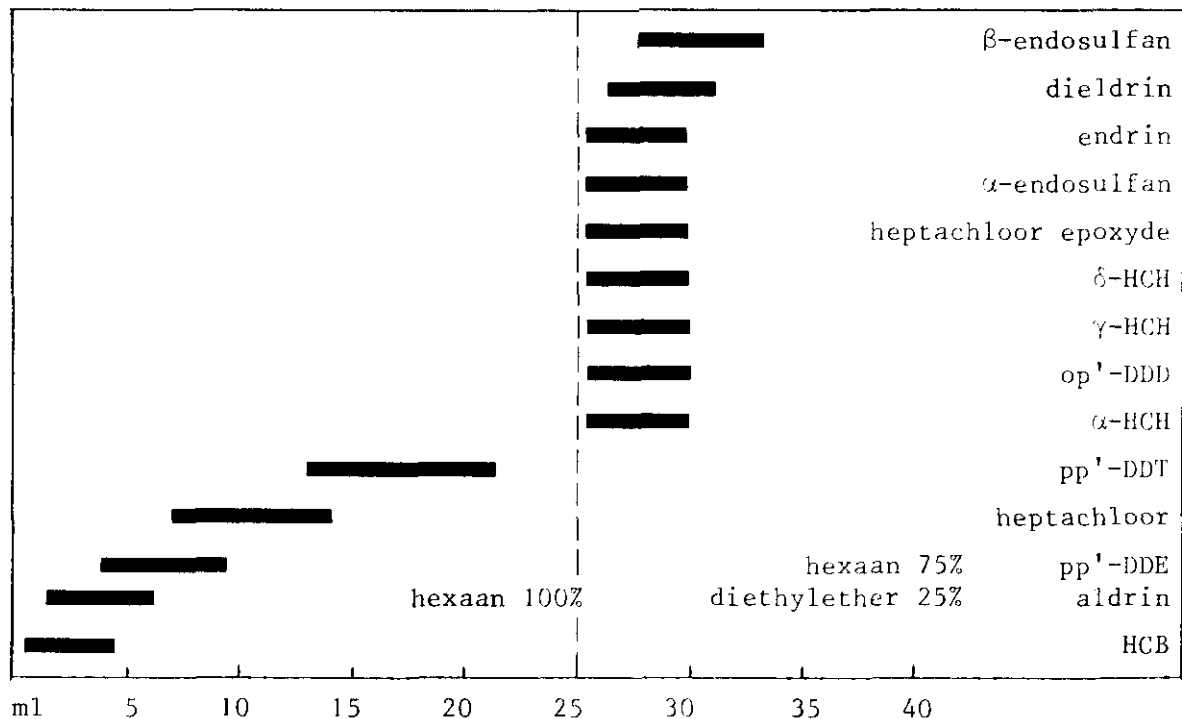


Fig. 18. Elutie van pesticiden in ruwe slibextracten en extracten, na clean-up op Al_2O_3 .

Bij de analyse van de eerste fractie van het meer polaire elutiemiddel trad in het begin van het chromatogram interferentie op van pieken van onbekende verbindingen met de pieken van α -, γ -, en δ -HCH. Deze zijn daardoor niet meer aan te tonen of te kwantificeren in het ruwe slibextract (fig. 19, 20).

4.4 De storing van elementair zwavel bij de detectie van organochloorverbindingen

In zuiveringsslib is relatief veel zwavel aanwezig in de vorm van H_2S of nog niet volledig gereduceerde elementaire zwavel. Elementaire zwavel wordt bij de extractie met een organisch oplosmiddel meegeëxtraheerd en niet geadsorbeerd op een kolom aluminiumoxyde.

In het uiteindelijke extract veroorzaakt zwavel een zeer langdurige, sterke verstoring van het signaal van de elektroneninvangdetector. HCH-isomeren, HCB, aldrin en PCB's uit het begin van het chromatogram kunnen daardoor niet bepaald worden (fig. 16).

De literatuur geeft diverse methoden om elementaire zwavel uit extracten te verwijderen. Bij verzeeping van het extract met kaliumhydroxyde in ethanol

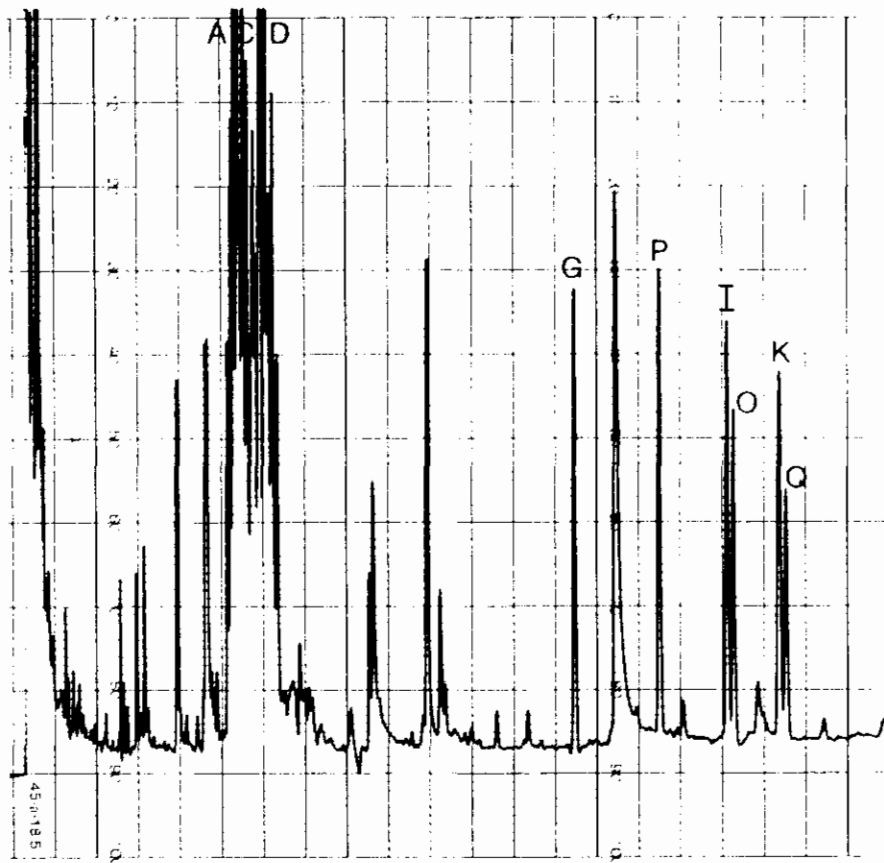


Fig. 19. Chromatogram van de fractie van een ruw slibextract, waarin HCH-isomeren geëlueerd worden (gescheiden op SiO₂)

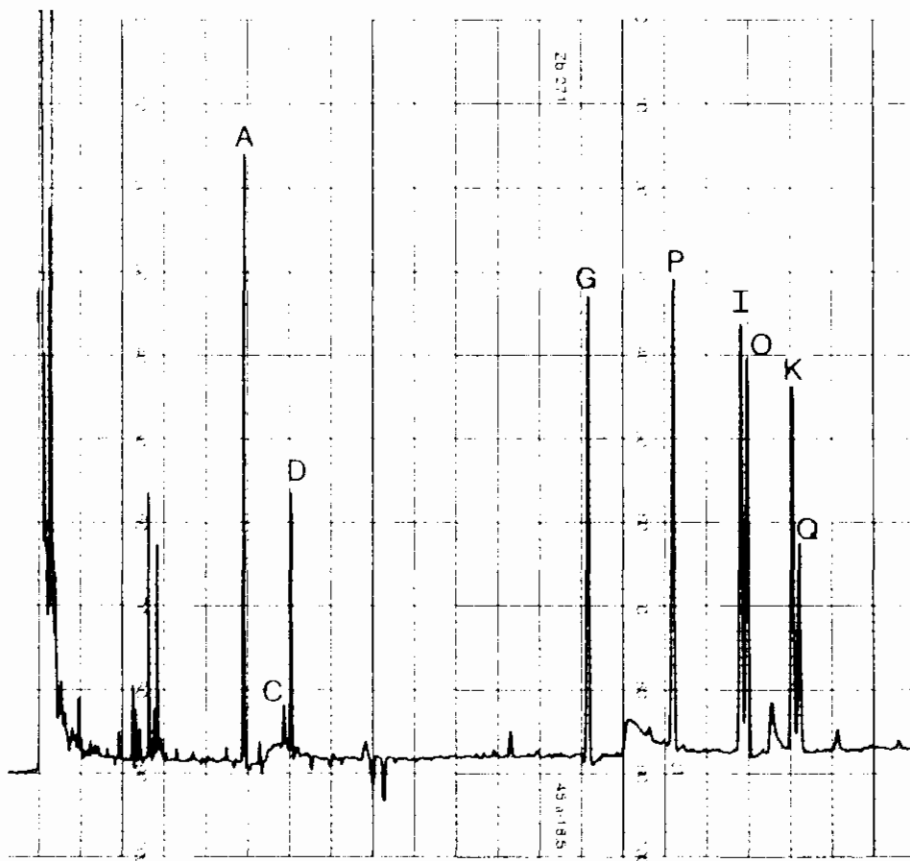
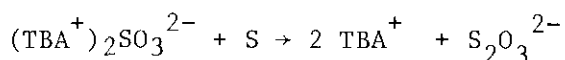


Fig. 20. Chromatogram van de fractie van een ruw slibextract, waarin HCH-isomeren geëlueerd worden (na clean-up op Al₂O₃ en scheiding op SiO₂)

vindt een kwantitatieve omzetting van zwavel plaats. Bij deze bewerkelijke methode worden echter ook organochloorpesticiden als DDT, DDD en HCH-isomeren geheel of gedeeltelijk omgezet of afgebroken. Ook kan zwavel verwijderd worden met metallisch kwik, zilvernitraat op aluminiumoxyde en met salpeterzuur geactiveerde koperkrullen. Bij deze methoden worden echter schadelijke stoffen gebruikt; de omzettingen met kwik en koper verlopen vrij traag.

Door Jensen e.a.¹³ is een efficiënte methode voor sediment- en slibmonsters ontwikkeld, waarbij tetrabutylammoniumsulfiet in het uiteindelijke extract reageert met elementaire zwavel onder vorming van thio-sulfaat:



Door de aanwezigheid van het tetrabutylammonium-ion kan het sulfiet-ion binnendringen in het lipofiele extractiemiddel wanneer dit met enkele milliliterspropanol en 1 ml van een tetrabutylammoniumsulfietoplossing wordt geschud. Na de reactie worden de polaire verbindingen door toevoegen van water afgescheiden van de apolaire fase.

Op basis van dit reactiemechanisme is een sterk vereenvoudigde procedure uitgetest; in een vroeg stadium van de analysemethode - voordat de elementaire zwavel in het apolaire extractiemiddel kan overgaan - laat men het reageren met een oplossing van natriumsulfiet in water.

Voor de volledige ontsluiting en extractie van sediment- of slibmonsters wordt nl. aceton gebruikt. Dit is een beter medium dan hexaan. Het acetonextract is nog goed mengbaar met de waterige sulfietoplossing.

4.4.1 *uitvoering experimenten en resultaten*

Na afscheiding van het water en het extractiemiddel via centrifugeren (zie hoofdstuk 5) wordt de gecombineerde fase gedurende 2 minuten geschud met 3 ml van een verzadigde natriumsulfiet-oplossing.

Na toevoegen van hexaan en verdere clean-up van het extract vindt de gaschromatografische analyse plaats. De resultaten van deze methode zijn weergegeven in de chromatogrammen in fig. 21 en 22.

4.5 Conclusies

Een micro-kolom met aluminiumoxyde, gedeactiveerd met 11% water, bewerkstelligt een volledige elutie van apolaire organochloorpesticiden bij een goede adsorptie van storende stoffen als vetten en pigmentstoffen. Deze kolom kan echter niet tegelijkertijd PCB's en pesticiden van elkaar scheiden.

De scheiding PCB's-pesticiden kan in zoverre bereikt worden met een micro-kolom silicium-oxyde, gedeactiveerd met 5% water, dat HCB, aldrin, heptachloor, pp'-DDE en pp'-DDT zich bij de PCB's bevinden. Hoewel scheiding van PCB's en pp'-DDT optreedt, wordt ter voorkoming van de verdeling van heptachloor en pp'-DDE over meerdere fracties, de fractionering zo gekozen dat pp'-DDT zich in de fractie met PCB's bevindt.

Een scheiding tussen pp'-DDE en PCB's kan slechts met andere, mindere praktische kolomdimensies worden uitgevoerd. Aldrin verdeelt zich daarbij over de verschillende fracties; een scheiding tussen PCB's en aldrin kon niet verkregen worden.

Combinatie van de clean-up en scheiding op siliciumoxyde leverde geen goede resultaten op; voor de elutie van minder apolaire pesticiden is een wat meer polair elutiemiddel vereist waarmee ook storende verbindingen worden

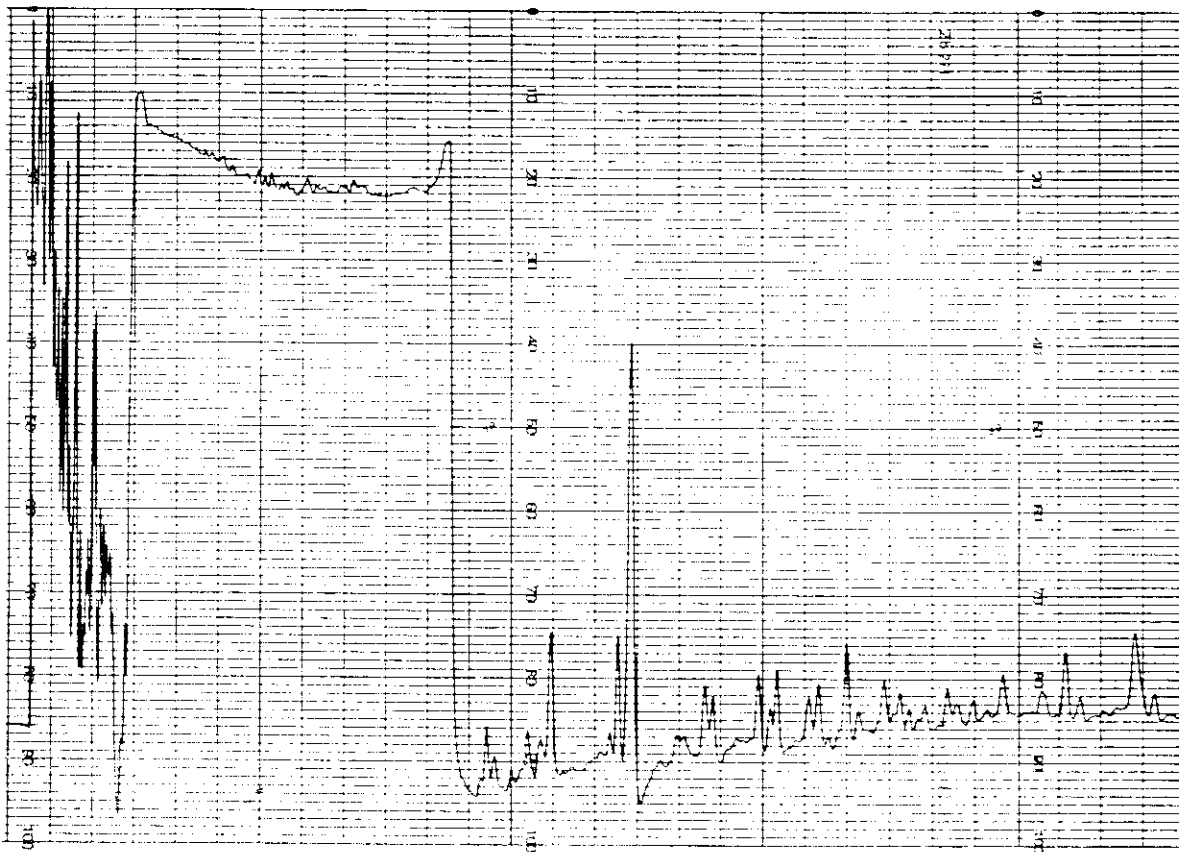


Fig. 21. Chromatogram van een zuiveringsslubextract zonder verwijdering van elementaire zwavel (opgenomen met een elektroneninvangdetector)

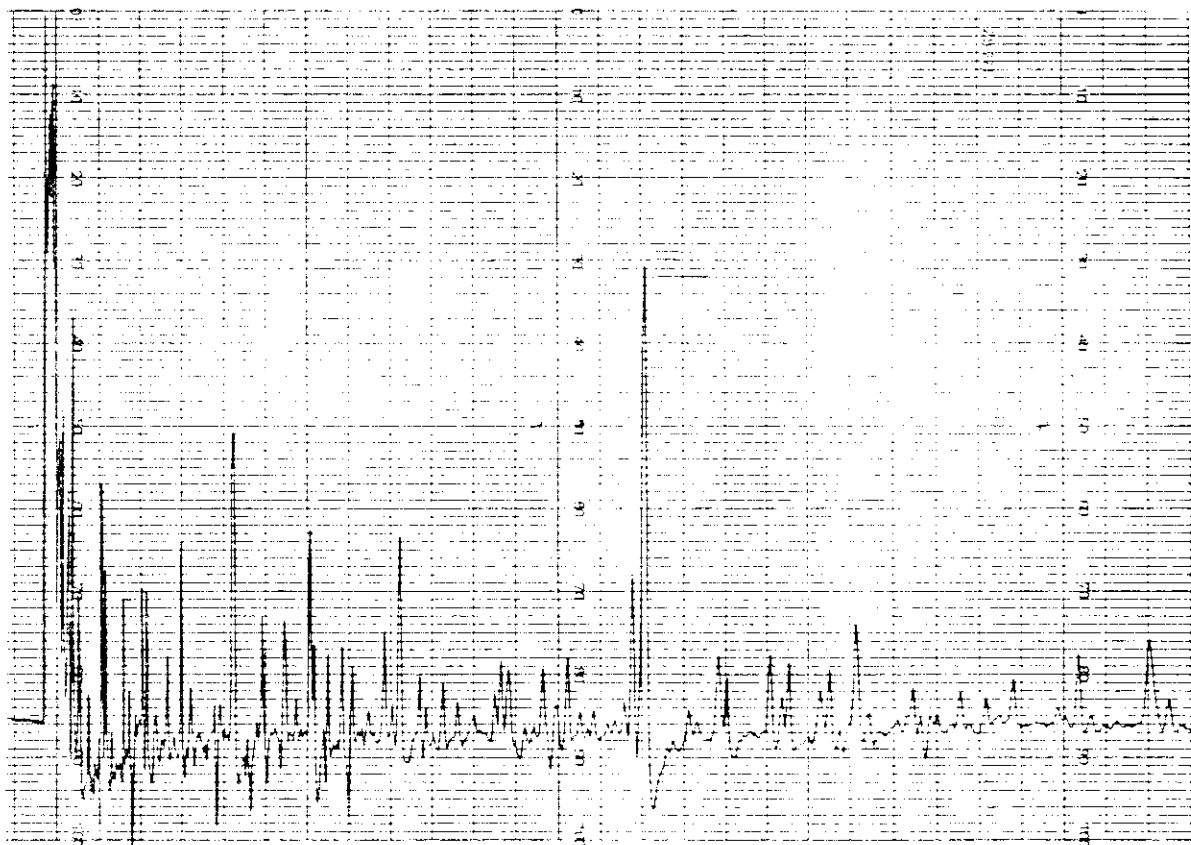


Fig. 22. Chromatogram van een zuiveringsslubextract na verwijdering van elementaire zwavel met sulfiet (opgenomen met een elektroneninvangdetector)

meegeëluëerd. Door toepassing van een minder polair elutiemiddel - waarmee juist pesticiden geëluëerd worden - zou de extra clean-up op aluminiumoxyde vooraf achterwege kunnen blijven.

Verwijdering van elementaire zwavel is eenvoudig en effectief uit te voeren door het acetonextract en afgescheiden water te schudden met een verzadigde natriumsulfietoplossing.

5 DE ISOLATIE VAN CHLOORPESTICIDEN EN PCB'S UIT ZUIVERINGSSLIB

5.1 Principe

Voor het isoleren en concentreren van organochloorverbindingen kan men verschillende middelen gebruiken zoals organische oplosmiddelen, actieve kool, kunstharsen (XAD₄) en polymeren (polyurethaanschuim).

Voor monsters bestaande uit vaste-stof (deeltjes) kunnen alleen oplosmiddelen gebruikt worden; voor vloeistoffen - watermonsters - zijn ook de andere middelen geschikt.

Zuiveringsslib bestaat meestal, afhankelijk van de toegepaste indikkingsmethode, voor circa 90-98% uit water en voor 10-2% uit droge stof¹.

5.1.1 *adsorptie van PCB's en chloorpesticiden aan zwevend materiaal*

Om een hoog isolatierendement te verkrijgen en eventueel een der fasen te mogen verwaarlozen, is het noodzakelijk inzicht te hebben in de verdeling van organochloorverbindingen over de waterfase en de vastestofdeeltjes.

Parameters die een rol spelen bij de adsorptie van organochloorverbindingen aan zwevend materiaal zijn de oplosbaarheid, de samenstelling van de vastestofdeeltjes (organischestofgehalte en deeltjesgrootte) en de samenstelling van de waterfase (pH, DOC en humuszuurgehalte).

Met betrekking tot de verdeling van de lipofiele organochloorverbindingen (b.v. PCB's) over waterfase en vastestoffase is onderzoek verricht aan verschillende combinaties van parameters, vooral voor verschillende typen oppervlaktewater.

Als maat geldt hier de verdelingscoëfficiënt K:

$$K = (x/m) / c_{eq};$$

K = verdelingscoëfficiënt

x = hoeveelheid (mg) PCB's aan sediment

m = hoeveelheid (mg) vastestofdeeltjes

c_{eq} = hoeveelheid (mg) PCB's per hoeveelheid water bij evenwicht

Steen e.a. van de EPA^{2,3} hebben de verdelingscoëfficiënt o.a. voor PCB's bepaald; zij vinden waarden van $0,5 \cdot 10^3$ - $1,5 \cdot 10^3$ voor Aroclor 1016 en 1242, en voor twee individuele tetrachloorbiphenylen met verschillende soorten sediment en rivierslib.

De adsorptie voor de twee onderzochte isomeren nam toe bij een hoger organischstofgehalte van de deeltjes. Uit deze resultaten blijkt dat het grootste gedeelte van lipofiele verbindingen zoals PCB's geadsorbeerd is; ook bij Fleinere gehalten vastestofdeeltjes.

Adsorptie-isothermen, opgenomen voor lindaan en aldrin aan klei met organisch materiaal, geven eveneens een bijna kwantitatieve adsorptie te zien³.

Duinker e.a.⁴ vinden dat PCB's in het oppervlaktewater van Lek en Waal ongeveer gelijk verdeeld zijn over de waterfase en het gesuspendeerde materiaal. Voor HCB en HCH-isomeren wordt zelfs een groter percentage opgelost dan geadsorbeerd gevonden. Als scheiding werd een filtratie over Whatman GF/C-filters toegepast.

In afvalwater worden getallen in dezelfde orde van grootte vermeld. Metingen aan influent en effluent van rioolwaterzuiveringsinrichtingen geven een duidelijke afname van het PCB-gehalte in het effluent te zien.

Op basis van de grote spreiding in deze gegevens en het veelal hoge organischestofgehalte dient bij de bepaling van PCB's in zuiverings-slibmonsters het gehele monster - dus inclusief de waterfase - in behandeling genomen te worden.

5.1.2 *de extractie en desorptie van organische verbindingen*

Voor een hoog extractierendement dient een volledige desorptie van PCB's plaats te vinden. Dit is alleen mogelijk als het oplosmiddel alle geadsorbeerde verbindingen kan bereiken. Voor de desorptie van apolaire verbindingen als PCB's en pesticiden van vaste fasen worden verschillende methoden en oplosmiddelen toegepast.

Bij vaste fasen met kleine poriën, b.v. de kunsthars XAD₄, kleideeltjes of biologisch materiaal dient eerst water volledig uit de poriën van deze deeltjes te zijn verwijderd.

In de poriën geadsorbeerde verbindingen worden dan niet meer geblokkeerd door water en zijn bereikbaar voor organische oplosmiddelen. Aanwezigheid van water maakt deze bereikbaarheid bijvoorbeeld onvoldoende voor een niet met water mengbaar organisch oplosmiddel als hexaan.

Voor de verwijdering van water en desorptie van organische verbindingen kan ethanol worden gebruikt²⁰. Nadeel van dit oplosmiddel is het te polaire karakter waardoor het minder geschikt is als oplosmiddel voor zeer lipofiele verbindingen. Voor een volledige desorptie wordt daarom nog een tweede, meer apolair, oplosmiddel (cyclohexaan) toegevoegd.

Als er geen storingen bij de verdere analyse optreden, gaat de voorkeur uit naar één oplosmiddel dat nog net met water mengbaar is en tevens als oplosmiddel voor de te desorberen verbindingen kan dienen (aceton b.v.)²³.

Mengsels van oplosmiddelen (b.v. hexaan en aceton) kunnen door het meer apolaire karakter minder geschikt zijn voor een goede verwijdering van het water uit de poriën van de vastestofdeeltjes. Daardoor is er een intensiever en langduriger contact nodig, b.v. in een krachtige schudextractie in plaats van een soxhlet-extractie.

Door de aanwezigheid van veel water in de poriën kan bovendien ontmenging van het homogene extractiemengsel in twee fasen optreden, zodat het lipofiele oplosmiddel de poriën niet meer kan bereiken.

Als de verdere analyse minder polaire oplosmiddelen vraagt (b.v. hexaan), moeten methoden worden toegepast om de verbindingen eenvoudig en met een goed rendement van de ene vloeistof naar de andere over te brengen.

Als maat voor de adsorptie/desorptie en oplosbaarheid van organische verbindingen van een vaste fase in een organisch oplosmiddel wordt in de literatuur de oplosbaarheidsparameter van de verbinding gebruikt¹⁸. In onderstaande tabel zijn deze voor een aantal verbindingen weergegeven¹⁵.

water	23,2	chloroform	9,3
methanol	14,5	benzeen	9,2
ethanol	12,7	tolueen	8,9
nitrobenzeen	10,0	MIBK	8,4
naftaleen	9,9	cyclohexaan	8,2
aceton	9,9	n-hexaan	7,3
methylethylketon	9,3		

Tabel 4. Oplosbaarheidsparameters van diverse verbindingen.

Van mengsels kan deze berekend worden uit de volumefracties en de oplosbaarheidsparameter van elke component: voor mengsels van hexaan en aceton kunnen de volgende waarden worden berekend:

25% hexaan	75% aceton	9,2
50% hexaan	50% aceton	8,6
75% hexaan	25% aceton	7,9

Voor de vaste fase - bijvoorbeeld zuiveringsslibdeeltjes - zijn geen waarden bekend; deze zijn slechts bekend voor gesynthetiseerde adsorptiemiddelen als polystyreen.

Voor PCB's en chloorpesticiden mag aangenomen worden dat deze waarden tussen de 8 en 10 liggen, b.v. tetrachloorbiphenyl 8,8^{1,2}. Berekende waarden voor gechlloreerde koolwaterstoffen liggen rond de 9^{2,1}.

Aannemende dat de oplosbaarheid maximaal is - en de desorptie het snelst - bij gelijke oplosbaarheidsparameters voor organische verbinding en oplosmiddel, lijkt aceton een optimale keuze, mede door de volledige mengbaarheid van aceton en water.

5.1.3 *toegepaste extractietechnieken*

Veel toegepaste extractietechnieken zijn de schudextractie, extractie in een soxhlet-apparaat, kolom-elutie van de stationaire fase en stoomdestillatie.

Een schudextractie met aceton gevolgd door een hexaan-extractie van de aceton-waterfase geeft voor natte grondmonsters met toevoegingen van chloorpesticiden de hoogste recovery vergeleken met een extractie in een soxhlet-apparaat, een schudextractie met petroleum-ether, of een 50/50 mengsel van petroleumether en aceton^{2,3}.

Chiba e.a.⁴ vinden voor de extractie van natte grond met een mixer of door schudden de beste resultaten voor aceton en dimethylformamide (DMF) en mengsels van aceton-hexaan. Wanneer de grond met Na₂SO₄ wordt gedroogd, daalt de recovery voor aldrin en dieldrin.

Bij onderzoek naar de meest geschikte technieken voor meer polaire oplosmiddelen (DMF, aceton) werden de beste resultaten verkregen met een blender; ook met de soxhlet-methode worden hoge recoveries verkregen. Het gehalte aan meegeëxtraheerd organisch materiaal was met de laatste techniek het hoogst. De beste resultaten werden steeds verkregen bij langere contacttijden (tot 20 uur) tussen monster en organisch oplosmiddel; met name bij extracties in soxhlet-apparatuur.

Codefroot, Sandra e.a.¹¹ vinden voor stoomdestillatie van watermonsters of vaste stof aangevuld met water, goede resultaten in een gecombineerde microstoomdestillatie/extractie-opstelling; deze methode heeft als voordeel dat clean-up van het extract niet noodzakelijk is. Recoveries bedragen 80-100% voor PCB's (aroclor 1260) en pesticiden.

Bij deze praktijkgegevens voor toevoegingen aan slib of grond dient te worden opgemerkt dat adsorptie veelal aan de buitenkant van deeltjes zal plaatsvinden en de organische verbindingen daardoor vrij gemakkelijk te extraheren zijn. Bij verdere inkapseling, b.v. door langere contacttijden, kan microbiologische afbraak de recovery-resultaten ongunstig beïnvloeden.

5.2 Experimenten

Om de meest geschikte extractietechniek voor zuiveringsslib vast te stellen, zijn de stoomdestillatie, de kolomelutie en schudextracties nader bestudeerd.

5.2.1 stoomdestillatie-extractie

In microapparatuur¹¹ (fig. 23) werd de extractie uitgetest van watermonsters, waaraan pesticiden waren toegevoegd (50-100 ng per 50 ml water). Daarbij werden meer en minder vluchtige, en meer en minder apolaire pesticiden gebruikt, waaronder HCB, α -HCH, pp'-DDE, pp'-DDT, heptachloorepoxyde, α -endosulfan en dieldrin.

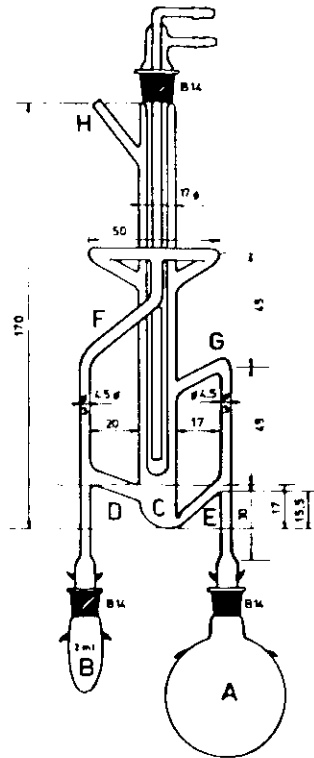


Fig. 23. Stoomdestillatie-extractieapparaat voor isolatie van pesticiden uit water of slibmonsters.

De hoeveelheid monster in vat A bedroeg 50ml, de hoeveelheid extractiemiddel (hexaan) in vaatje B 2 ml. Na verhitten van de hexaan tot het kookpunt wordt met behulp van een oliebad het monster verhit tot ca. 140°C. Door isolatie moet vroegtijdige condensatie van het extractiemiddel worden voorkomen.

5.2.2 kolomelutie

In diverse kolommen (binnendiameter 0,5-2 cm, lengte 10-30 cm frit P₁-P₅) uitgerust met teflonkraan en glazen stop, zijn de waterverwijdering en pesticidenextractie onderzocht.

Aan een afgewogen hoeveelheid zuiveringsslib (10-30 gram) met een drogestofgehalte van 5,6% werd 200-500 ng van individuele chloorpesticiden toegevoegd, ca. 4 uur voor de extractie. Na overbrenging hiervan in een kolom werd vervolgens 10-30 ml aceton toegevoegd.

Na opschudden wordt de kolom geëlueerd. Na toevoeging van nog eens 30 ml aceton en opschudden werd de kolom een tweede maal geëlueerd.

Met 3 ml verzadigde natriumsulfietoplossing is de totale aceton-fase één minuut geschud ter verwijdering van elementaire zwavel.

De pesticiden worden overgebracht in hexaan door 50 ml hexaan toe te voegen en te mengen; de polaire bestanddelen - inclusief aceton - worden verwijderd door schudden gedurende 10 minuten met 300 ml water. Deze wassing vindt na afscheiden van de waterfase nogmaals plaats; de gecombineerde waterfasen worden nageschud met 50 ml hexaan. De gecombineerde hexaan-fasen worden gedroogd met watervrije natriumsulfaat en ingedampt met Kuderna-Danish-apparatuur tot 1 ml. Na clean-up op gedeactiveerde aluminiumoxyde (11% water), indampen tot 1 ml en scheiding van het extract in twee fracties op een kolom siliciumoxyde (gedeactiveerd met 5% water) vindt gaschromatografische analyse plaats. 2 µl van het ingedampte extract wordt geïnjecteerd in een gaschromatograaf uitgerust met een combinatie van een gepakte voorkolom, een splitter (5 ml/min) en 50 m capillaire kolom (binnendiameter 0,27 mm, fase CP-sil 5). Berekening van de gehalten van zowel monsters als standaardoplossingen vindt plaats door meting van piekhoogten.

5.2.3 *schudextractie*

In een kunststof centrifugebuis (polypropyleen), afsluitbaar met een schroefdop met teflon-inlegfolie, wordt 25 gram zuiveringsslib met een drogestofgehalte van 5,6% afgewogen. Na centrifugeren gedurende 5 minuten bij 10.000 t.p.m. wordt de waterfase afgescheiden in een scheidtrechter. Vervolgens wordt 25 ml aceton toegevoegd en wordt de centrifugebuis gedurende 10 minuten krachtig geschud. Na centrifugeren - 5 minuten, 10.000 t.p.m. - wordt de acetonfase afgeschonken in de scheidtrechter. Deze procedure wordt nog éénmaal herhaald. Daarna vindt verdere opwerking en analyse plaats, zoals beschreven in 5.2.2.

5.3 Resultaten

5.3.1 *stoomdestillatie - extractie*

De apparatuur blijkt ook na diverse aanpassingen van de geometrie, moeilijk toepasbaar. Gecondenseerde stoom (druppels) sluit steeds de terugvloeiopening (buis D, fig. 23) voor de bovenstaande hexaanlaag af. De aanpassingen bestonden uit verandering van de hoek en/of binnendiameter van het terugvloeiuisje D. Er konden geen recovery-experimenten worden uitgevoerd.

5.3.2 *elutie van kolommen zuiveringsslib*

De verwijdering van water uit het zuiveringsslib door verschillende glasfritten (P₁ - P₅), vóór de toevoeging van aceton, verloopt niet of nauwelijks. Alle fritten slibben dicht, waardoor de elutie uiteindelijk stopt. Bij gebruik van het meest grove glasfrit zijn de eerste afgescheiden milliliters water niet helder: uiteindelijk slibt ook deze frit dicht bij grotere hoeveelheden zuiveringsslib.

Toevoeging van aceton aan het natte zuiveringsslib verhoogt de elutiesnelheid; wanneer het water eenmaal verwijderd is, levert de elutie van aceton evenals bij filtratie over Whatman glasvezelfilters, geen problemen op.

Voor een voldoende hoge doorloopsnelheid blijkt het nodig 10 gram zuiveringsslib te mengen met 20 ml aceton.

Het zuiveringsslib werd een tweede maal in de kolom met 30 ml aceton geschud en geëluëerd.

In tabel 5 zijn de recoveries weergegeven voor pesticiden toegevoegd aan 10 gram nat zuiveringsslib (5,6% droge stof).

organochloor- verbinding	blanco- gehalte µg/g d.s.	toegevoegde hoeveelheid µg/g d.s.	gevonden hoeveelheid µg/g d.s.	recovery %
α-HCH	0,010	0,267	0,230	82
HCB	0,045	0,213	0,240	91
heptachloor	-	0,240	0,200	84
heptachloorepoxyde	-	0,354	0,305	86
aldrin	-	0,297	0,210	71
dieldrin	0,030	0,437	0,360	75
endrin	-	0,529	0,425	80
α-endosulfan	-	0,462	0,375	81
β-endosulfan	-	0,626	0,0	0
pp'-DDE	0,070	0,387	0,420	90
op'-DDD	-	0,575	0,470	82
pp'-DDT	-	0,645	0,510	79

Tabel 5. Recoveries van pesticiden toegevoegd aan zuiveringsslib en geïsoleerd via elutie (proeven in duplo)

De recoveries vermeld in tabel 5 zijn gecorrigeerd voor de blancogehalten van het zuiveringsslib. Voor de verschillende pesticiden is de recovery gemiddeld 82%, met uitzondering van β-endosulfan dat bij de clean-up achter blijft.

De methode is goed uitvoerbaar wanneer aan 10 gram zuiveringsslib 20 ml aceton wordt toegevoegd; bij kleinere hoeveelheden aceton loopt de kolom niet door. Door de relatief kleine hoeveelheid in bewerking genomen zuiveringsslib ligt de analysegrens vrij hoog. Uitgaande van een detectiegrens van 10 ng pesticide/ml extractiemiddel bedraagt de analysegrens bij een drogestofgehalte van het zuiveringsslib van 2% globaal 50 ng/g droge stof.

5.3.3 schudeextracties van zuiveringsslib

Bij het afcentrifugeren van het water of het extractiemiddel (aceton) wordt een afsluitbare centrifugebuis gebruikt, waardoor het tevens mogelijk is de extractie in de buis uit te voeren. De methode wordt daarvoor geschikter voor routinematige uitvoering.

Aan het zuiveringsslib met een drogestofgehalte van 5,6% werd toegevoegd: 200- 600 ng van individuele chloorpesticiden of ca. 10 µg PCB's (als mengsel aroclor 1254) - of een mengsel van individuele pesticiden en PCB's. De toevoegingen vonden ca. 4 uur voor de extractie plaats. Zonder voorafschieding van het water hoopt zich zwevend materiaal op tussen de na centrifugeren ontstane gescheiden water- en acetonfase, waardoor na afschenken geen helder extract verkregen wordt.

Resultaten van de analyse van 25 gram zuiveringsslib, in duplo uitgevoerd volgens de procedure beschreven in 5.2.3 zijn weergegeven in tabel 6.

De extracten zijn ingedampt tot 5 ml; het niveau van de toevoegingen is in verband hiermee relatief hoog ten opzichte van gehalten die in de praktijk voorkomen. Hierdoor is het mogelijk de recoveries met een geringe standaardafwijking (5-10%) te bepalen; de storings door reeds in het zuiveringsslib aanwezige componenten zijn relatief gering. Bij de berekening van gehalten of recoveries van de in de tabel genoemde PCB-isomeren is rekening gehouden met het niet lineaire karakter van de elektroneninvangdetektor.

organochloor- verbinding	monster I blanco slib		monster II slib met pesticiden			monster III slib met PCB's			monster IV slib met pesticiden en PCB's		
	gevonden		gevonden		recovery ¹	gevonden		recovery ¹	gevonden		recovery ¹
	µg/g		µg/g		%	µg/g		%	µg/g		%
α-HCH	0,015	0,267	0,275	0,275	97	-	0,020	-	0,267	0,270	95
HCB	0,050	0,213	0,250	0,250	94	-	0,050	-	0,213	0,240	89
heptachloor	-	0,240	0,215	0,215	90	-	-	-	0,240	0,215	90
heptachloorepoxyde	-	0,354	0,300	0,300	85	-	-	-	0,354	0,305	86
aldrin	-	0,297	0,215	0,215	72	-	-	-	0,297	0,220	75
dieldrin	0,035	0,437	0,435	0,435	91	-	0,030	-	0,437	0,425	90
endrin	-	0,529	0,460	0,460	87	-	-	-	0,529	0,460	87
α-endosulfan	-	0,462	0,385	0,385	83	-	-	-	0,462	0,370	80
β-endosulfan	-	0,626	0,0	0,0	0	-	-	-	0,626	0,0	0
pp'-DDE	0,085	0,387	0,455	0,455	95	-	-	-	0,387	0,440	92
op'-DDD	-	0,575	0,570	0,570	99	-	-	-	0,575	0,575	93
pp'-DDT	-	0,645	0,555	0,555	86	-	-	-	0,645	0,610	94
aroclor 1254:											
nr. 79/101 ⁴	8	-	8	8	-	105	108	105	105	105	95
nr. 77 ⁴	7	-	8	8	-	137	138	132	132	131	95
nr. 118 ⁴	10	-	10	10	-	156	160	155	155	157	97
nr. 105 ⁴	7	-	8	8	-	131	132	128	128	129	96
nr. 138 ⁴	16	-	15	15	-	117	123	113	113	121	95

Tabel 6. Recoveries van organochloorpesticiden en PCB's via schudextractie met aceton (proeven in duplo)

¹Recoveries gecorrigeerd voor blanco-gehalten

²pp'-DDE niet gescheiden van PCB-isomeren

³niet kwantificeerbaar door storing onbekende component in chromatogram

⁴door onbekendheid van gehalten in mengsel 1254 zijn de piekhoogten van

genoemde isomeren weergegeven voor een toevoeging van 11,06 µg aroclor

1254 per gram droge stof.

5.4 Conclusies

Schudextracties met aceton geven een hoge recovery van (gemiddeld ca. 90%) aan zuiveringsslib toegevoegde pesticiden en een vijftal PCB-isomeren.

De mate waarin deze toegevoegde verbindingen geadsorbeerd zijn, is onduidelijk.

Meegeëxtraheerd polair materiaal wordt bij de partitie van het water-aceton-hexaanmengsel verwijderd. Elementaire zwavel kan volledig worden verwijderd door het water/oplosmiddel-mengsel te schudden met verzadigde natriumsulfietoplossing.

Voor extracten ingedampt tot 1 ml (bij voorkeur via weging) is een aantoonbaarheidsgrens* van 10 ppb mogelijk (10 ng/g droge stof).

De analysegrens is afhankelijk van eventueel in het chromatogram voorkomende storende componenten, maar bedraagt in de meeste gevallen 50 ppb of lager.

De systematische afwijking van de methode is 20-50% en wordt vnl. veroorzaakt door onvolledige extractierendementen of verliezen bij de verdere opwerking van het extract.

De precisie - minimaal tweemaal de standaardafwijking bij drie bepalingen - bedraagt ca. 20%.

*voor de genoemde organochloorpesticiden en individuele PCB-isomeren.

1. Armour, J.A. & Burke, J.A.; Method for separating Polychlorinated Biphenyls from DDT and its analogs, *Journal of the A.O.A.C.*, 1970, Vol 53, No. 4 : 761-768.
2. Ballschmiter, K. & Zell, M.; Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) by glasscapillary-gaschromatography, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1980, 302, 20-31.
3. Baluja, G, Murado, M.A. & Tejedor, M.C.; Adsorption-Desorption of Lindane and Aldrin by Soils as affected by Soil Main Components; in *Pesticides, lectures held at the IUPAC third international congress of pesticide chemistry, Helsinki, 3-9 july 1974*; E.Q.S.; Coulston, F. & Korte, F.; Stuttgart, Georg Thieme Publishers, 1975 supplement Vol. III, 243-249.
4. Chiba, M. & Morley, H.V.; Factors influencing extraction of Aldrin and Dieldrin residues from different soil types; *J. Agr. Food. Chem.*; 1968, vol. 16 no. 6, 916-922.
5. Copius Peereboom, J.W., Brinkman, U.A.Th. & de Boer, N.J.A. e.a.; Transport van PCB's in het milieu, *H₂O*, 13, nr. 1, 15-21.
6. Duinker, J.C. & Hillebrand, M.T.J.; Behaviour of PCB, Pentachlorobenzene, Hexachlorobenzene, α -HCH, γ -HCH, β -HCH, Dieldrin, Endrin and pp'-DDD in the Rhine-Meuse estuary and the adjacent coastal area; *Netherlands Journal of Sea Research*, 1979, 13, 2, 256-281.
7. Van Engers, L.E.; NVA-enquête betreffende de productie, bestemming en kwaliteit van zuiveringszand in Nederland in 1977, *H₂O*, 1979, 12, no. 16, 359-360.
8. Fieggan, W.; Rapport betreffende onderzoek van zuiveringszand op pesticiden; Unie van Waterschappen, 1978.
9. Fieggan, W.; Rapport betreffende onderzoek van zuiveringszand op pesticiden en PCB's in 1981; Unie van Waterschappen, 1981.
10. Galli, M., Trestianu, S., & Grob Jr., K.; Special cooling system for the on-column injector in capillary gas chromatography eliminating discrimination of sample compounds; *Journ. of H.R.C. & C.C.*; 1979, vol. 2, 366-370.
11. Godefroot, M., Stechele, M. Sandra, P. & Verzele, M.; A new method for the quantitative analysis of organochlorine-pesticides and polychlorinatedbiphenyls; in *Analysis of Organic Micropollutants in Water, proceedings of the second European Symposium, Killarney, 17-19 nov. 1981*; Brørseth, A. & Angelletti, G.; Dordrecht, D. Reidel Publishing Company, 1981, 16-23.
12. Greve, P.A. & Grevenstuk, W.B.F.; Optimization of the alumina clean-up used in multiresidue pesticide analysis; in *Pesticides, lectures held at the IUPAC third international congress of pesticide chemistry, Helsinki, 3-9 july 1974*; E.Q.S.; Coulston, F. & Korte, F.; Stuttgart, Georg Thieme Publishers, 1975, supplement Vol. III, 80-85.
13. Grob, K. & Grob J.K.; Splitless injection and the solvent effect; *Journ. of H.R.C. & C.C.*, 1978, july, 57-64.
14. Grob J., K. & Neukom, H.P.; Factors affecting the accuracy and precision of cold on-column injections in capillary gaschromatography; *Journ. of Chrom.*; 1980, 189, 109-117.
15. *Handbook of Chemistry and Physics*; 60e editie, Weast, R.C., Cleveland, The Chemical Rubber Co., C732-C735.
16. Holden, A.V. & Marsden, K.; Single-stage clean-up of animal tissue extracts for organochlorine residue analysis; *J. Chromatog.*, 1969, 44, 481-492.

17. Jensen, J., Renberg, L. & Reutergårdh, L.; Residue Analysis of sediment and sewage sludge for organochlorines in the presence of elemental sulfur; *Anal. Chem.*, 1977, vol. 49, no. 2, 316-318.
18. Mori, S.; Elution behavior of some solutes on a porous polystyrene gel in High Performance Liquid Chromatography; *Anal. Chem.*, 1978, vol. 50, no. 6, 745-748.
19. Noordsij, A.; Macro-injectie op capillaire kolommen; *H₂O*, 1979, 12, no. 8, 174-177.
20. Noordsij, A., van Beveren, J. & Brandt, A.; Isolation of organic compounds from water for chemical analysis and toxicological testing; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 1983, Vol. 13, 205-217.
21. Steen, W.C., Paris, D.F. & Baughman, G.L.; Partitioning of selected polychlorinated biphenyls to natural sediments; *Water Research*, 1978, vol. 12, 655-657.
22. STORA, Analyse van zuiveringsslib op organochloorverbindingen en polychloorbiphenylen; I. Foutenbronnen, Rijswijk, 1980.
23. Wegman, R.C.C. & Hofstee, A.W.M.; Determination of organochlorines in river sediment by capillary gaschromatography; *Water Research*, 1982, vol. 16, 1265-1272.
24. Zell, M. & Ballschmiter, K.; Trace analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by ECD glass capillary gaschromatography in environmental samples of different trophic levels; *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1980, 304, 337-349.

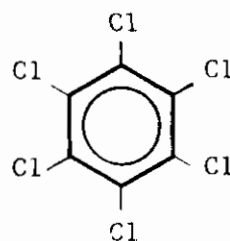
No.	Structure	No.	Structure	No.	Structure	No.	Structure
	Monochlorobiphenyls		Tetrachlorobiphenyls		Pentachlorobiphenyls		Hexachlorobiphenyls
1	2	52	2,2',5,5'	105	2,3,3',4,4'	161	2,3,3',4,5',6
2	3	53	2,2',5,6'	106	2,3,3',4,5	162	2,3,3',4',5,5'
3	4	54	2,2',6,6'	107	2,3,3',4',5	163	2,3,3',4',5,6
		55	2,3,3',4	108	2,3,3',4,5'	164	2,3,3',4',5',6
	Dichlorobiphenyls	56	2,3,3',4'	109	2,3,3',4,6	165	2,3,3',5,5',6
4	2,2'	57	2,3,3',5	110	2,3,3',4',6	166	2,3,4,4',5,6
5	2,3	58	2,3,3',5'	111	2,3,3',5,5'	167	2,3',4,4',5,5'
6	2,3'	59	2,3,3',6	112	2,3,3',5,6	168	2,3',4,4',5',6
7	2,4	60	2,3,4,4'	113	2,3,3',5',6	169	3,3',4,4',5,5'
8	2,4'	61	2,3,4,5	114	2,3,4,4',5		
9	2,5	62	2,3,4,6	115	2,3,4,4',6		Heptachlorobiphenyls
10	2,6	63	2,3,4',5	116	2,3,4,5,6	170	2,2',3,3',4,4',5
11	3,3'	64	2,3,4',6	117	2,3,4',5,6	171	2,2',3,3',4,4',6
12	3,4	65	2,3,5,6	118	2,3',4,4',5	172	2,2',3,3',4,5,5'
13	3,4'	66	2,3',4,4'	119	2,3',4,4',6	173	2,2',3,3',4,5,6
14	3,5	67	2,3',4,5	120	2,3',4,5,5'	174	2,2',3,3',4,5,6'
15	4,4'	68	2,3',4,5'	121	2,3',4,5',6	175	2,2',3,3',4,5',6
		69	2,3',4,6	122	2',3,3',4,5	176	2,2',3,3',4,6,6'
	Trichlorobiphenyls	70	2,3',4',5	123	2',3,4,4',5	177	2,2',3,3',4',5,6
16	2,2',3	71	2,3',4',6	124	2',3,4,5,5'	178	2,2',3,3',5,5',6
17	2,2',4	72	2,3',5,5'	125	2',3,4,5,6'	179	2,2',3,3',5,6,6'
18	2,2',5	73	2,3',5',6	126	3,3',4,4',5	180	2,2',3,4,4',5,5'
19	2,2',6	74	2,4,4',5	127	3,3',4,5,5'	181	2,2',3,4,4',5,6
20	2,3,3'	75	2,4,4',6			182	2,2',3,4,4',5,6'
21	2,3,4	76	2',3,4,5		Hexachlorobiphenyls	183	2,2',3,4,4',5',6
22	2,3,4'	77	3,3',4,4'	128	2,2',3,3',4,4'	184	2,2',3,4,4',6,6'
23	2,3,5	78	3,3',4,5	129	2,2',3,3',4,5	185	2,2',3,4,5,5',6
24	2,3,6	79	3,3',4,5'	130	2,2',3,3',4,5'	186	2,2',3,4,5,6,6'
25	2,3',4	80	3,3',5,5'	131	2,2',3,3',4,6	187	2,2',3,4',5,5',6
26	2,3',5	81	3,4,4',5	132	2,2',3,3',4,6'	188	2,2',3,4',5,6,6'
27	2,3',6			133	2,2',3,3',5,5'	189	2,3,3',4,4',5,5'
28	2,4,4'		Pentachlorobiphenyls	134	2,2',3,3',5,6	190	2,3,3',4,4',5,6
29	2,4,5	82	2,2',3,3',4	135	2,2',3,3',5,6'	191	2,3,3',4,4',5',6
30	2,4,6	83	2,2',3,3',5	136	2,2',3,3',6,6'	192	2,3,3',4,5,5',6
31	2,4',5	84	2,2',3,3',6	137	2,2',3,4,4',5	193	2,3,3',4',5,5',6
32	2,4',6	85	2,2',3,4,4'	138	2,2',3,4,4',5'		
33	2',3,4	86	2,2',3,4,5	139	2,2',3,4,4',6		Octachlorobiphenyls
34	2',3,5	87	2,2',3,4,5'	140	2,2',3,4,4',6'	194	2,2',3,3',4,4',5,5'
35	3,3',4	88	2,2',3,4,6	141	2,2',3,4,5,5'	195	2,2',3,3',4,4',5,6
36	3,3',5	89	2,2',3,4,6'	142	2,2',3,4,5,6	196	2,2',3,3',4,4',5',6
37	3,4,4'	90	2,2',3,4',5	143	2,2',3,4,5,6'	197	2,2',3,3',4,4',6,6'
38	3,4,5	91	2,2',3,4',6	144	2,2',3,4,5',6	198	2,2',3,3',4,5,5',6
39	3,4',5	92	2,2',3,5,5'	145	2,2',3,4,6,6'	199	2,2',3,3',4,5,6,6'
		93	2,2',3,5,6	146	2,2',3,4',5,5'	200	2,2',3,3',4,5',6,6'
	Tetrachlorobiphenyls	94	2,2',3,5,6'	147	2,2',3,4',5,6	201	2,2',3,3',4',5,5',6
40	2,2',3,3'	95	2,2',3,5',6	148	2,2',3,4',5,6'	202	2,2',3,3',5,5',6,6'
41	2,2',3,4	96	2,2',3,6,6'	149	2,2',3,4',5',6	203	2,2',3,4,4',5,5',6
42	2,2',3,4'	97	2,2',3',4,5	150	2,2',3,4',6,6'	204	2,2',3,4,4',5,6,6'
43	2,2',3,5	98	2,2',3',4,6	151	2,2',3,5,5',6	205	2,3,3',4,4',5,5',6
44	2,2',3,5'	99	2,2',4,4',5	152	2,2',3,5,6,6'		
45	2,2',3,6	100	2,2',4,4',6	153	2,2',4,4',5,5'		Nonachlorobiphenyls
46	2,2',3,6'	101	2,2',4,5,5'	154	2,2',4,4',5,6'	206	2,2',3,3',4,4',5,5',6
47	2,2',4,4'	102	2,2',4,5,6'	155	2,2',4,4',6,6'	207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'
48	2,2',4,5	103	2,2',4,5',6	156	2,3,3',4,4',5	208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'
49	2,2',4,5'	104	2,2',4,6,6'	157	2,3,3',4,4',5'		
50	2,2',4,6			158	2,3,3',4,4',6		Decachlorobiphenyl
51	2,2',4,6'			159	2,3,3',4,5,5'	209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'
				160	2,3,3',4,5,6		

Nummering PCB-isomeren volgens IUPAC-regels

Lijst van belangrijkste organochloorpesticiden, degradatieproducten en polychloorbiphenylmengsels

- HCB (E)

hexachloorbenzeen



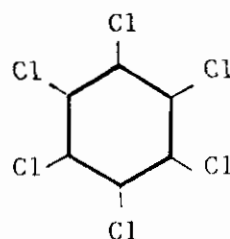
- HCH

1, 2, 3, 4, 5, 6-hexachloorcyclohexaan; er komen vier isomeren voor: α , β , γ en δ waarvan de γ -isomeer (lindaan) de belangrijkste is. α = A

β = B

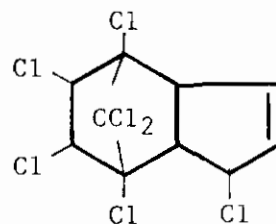
γ = C

δ = D



- Heptachloor (F)

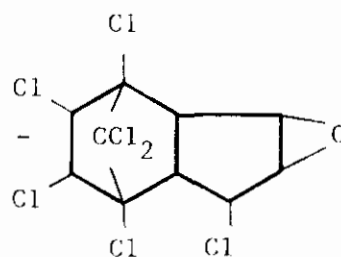
1, 4, 5, 6, 7, 8, 8-heptachloor - 3a, 4, 7, 7a - tetrahydro - 4,7 - endo-methano indaan



- Heptachloorepoxyde (G)

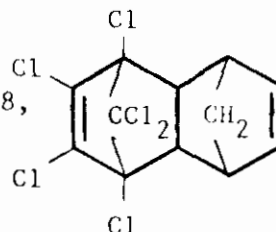
1, 4, 5, 6, 7, 8, 8-heptachloor - 2,3 - epoxy - 3a, 4, 7, 7a - tetrahydro - 4,7 - methano indaan.

Komt als twee isomeren voor; (α = G)



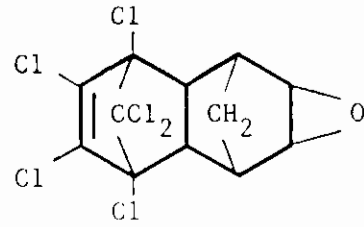
- Aldrin (H)

1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloor - 1, 4, 4a, 5, 8, 8a - hexahydro - 1,4 - endo - exo - 5,8 - di-methanonafaleen



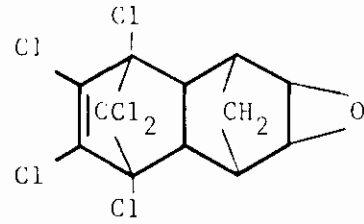
- Dieldrin (I)

1, 2, 3, 4, 10, 10-hexachloor - 6,7 - epoxy - 1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a - octahydro - exo - 1,4 - endo - 5,8 - dimethanonafhtaleen



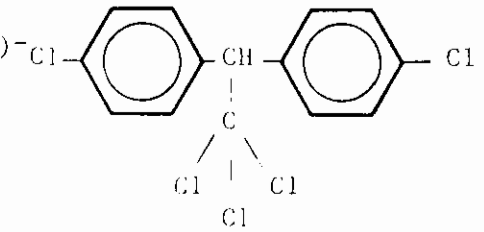
- Endrin (K)

1, 2, 3, 4, 10, 10 - hexachloor - 6,7 - epoxy - 1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a - octahydro exo - 1,4 - exo - 5,8 - dimethanonafhtaleen; isomeer van dieldrin



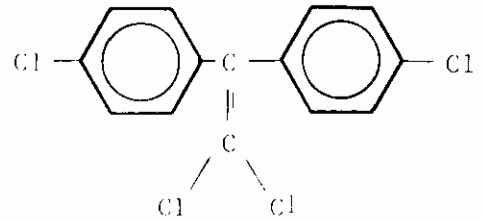
- pp'-DDT (L)

1, 1, 1 - trichloor - 2,2 - bis (p-chloorfenyl)-ethaan; ook komt de op' - isomeer voor



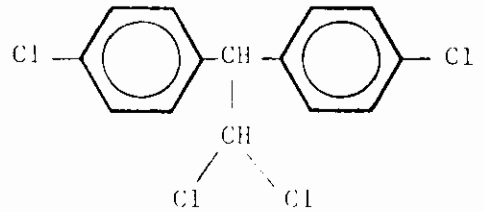
- pp'-DDE (M)

1,1 - dichloor - 2,2 - bis (p - chloorfenyl)-ethaan



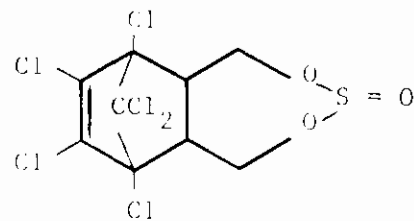
- pp'-DDD (N)

1,1 dichloor - 2,2 - bis (p - chloorfenyl)ethaan; ook komt de op' - isomeer voor (O)



- Endosulfan

6, 7, 8, 9, 10, 10 - hexachloor - 1, 5, 5a, 6, 9, 9a - hexahydro - 6,9 - methano - 2, 4, 3 - benzo (1) - dioxathiepin - 3 - oxyde, komt voor als twee isomeren α en β

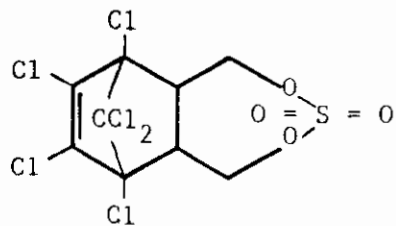


α = P

β = Q

- Endosulfansulfaat (R)

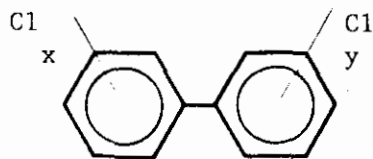
6, 7, 8, 9, 10, 10 - hexachloor - 1, 5
5a, 6, 9, 9a - hexahydro - 6,9 - methano
- 2, 4, 3 - benzo - dioxathiepin - 3,3 -
dioxide



- Polychloorbiphenyl

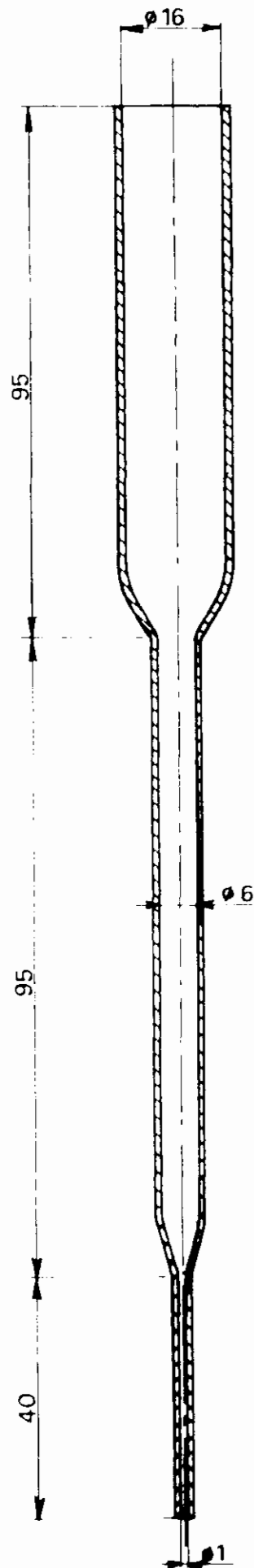
Merksnamen voor PCB-mengsels van diverse
fabrikanten zijn: Aroclor, Clophen, Phe-
noclor.

Het toevoegsel bij Aroclor-mengsels be-
staat uit vier cijfers; de laatste twee
geven het gewichtspercentage chloor weer.



x en y = 1 tot 5

Chromatografiebuis



Schaal 1:1

Chromatografiebuis voor clean-up en fractionering van het extract

ANALYSEVOORSCHRIFT VOOR DE BEPALING VAN ORGANOCHLOORPESTICIDEN
EN INDIVIDUELE CHLOORBIPHENYLEN IN MONSTERS ZUIVERINGSSLIB

1 DOEL

Bepaling van de gehalten van diverse organochloorpesticiden en individuele polychloorbiphenylen (pcb's) in zuiveringsslib, havenslib of sediment. De onderste analysegrens daarbij bedraagt circa 10 µg/kg droge stof.

2 PRINCIPE

Van een monster zuiveringsslib wordt na homogeniseren een fraktie genomen voor de bepaling van het drogestofgehalte. Een tweede fraktie wordt na afscheiding van overtollig water tweemaal geëxtraheerd met aceton. Na verwijdering van elementaire zwavel, dat de uiteindelijke detectie stoort, worden de apolaire pesticiden en pcb's overgebracht in hexaan en de aanwezige polaire verbindingen, inclusief aceton, door schudden met water verwijderd.

Vervolgens vindt na drogen en indampen van het extract een "clean-up" plaats op gedeactiveerde aluminiumoxide.

Een scheiding tussen pcb's en een aantal organochloorpesticiden wordt gemaakt met behulp van een micro-kolom met siliciumoxide.

De uiteindelijke bepaling vindt plaats via gaschromatografie met behulp van een elektroneninvangdetector. De gehalten worden per individuele verbinding of isomeer opgegeven.

3 BEMONSTERING EN CONSERVERING VAN ZUIVERINGSSLIB

3.1 Gebruikte materialen

Ten behoeve van de monsternamen moeten glazen potten beschikbaar zijn met een inhoud van 500 ml, met een wijde opening en met een kunststof schroefdeksel. Ter voorkoming van storings door organische verbindingen, b.v. ftalaten, afkomstig van de kunststofdeksel dient deze voorzien te zijn van een teflon- of aluminium inlegfolie. De wijde opening vergemakkelijkt het vullen en uitschenken van het monster; het laatste vooral als nagisting met gasontwikkeling opgetreden is.

De flessen of potten, welke van een degelijke kwaliteit glas moeten zijn ter voorkoming van breuk, mogen in verband met de gasontwikkeling slechts voor de helft tot maximaal driekwart gevuld worden. Zij moeten tevens volledig afgesloten worden.

Materialen die bij de monsterneming in aanraking komen met het monster, moeten bij voorkeur niet van kunststof zijn.

3.2 Monsterneming

Monsters dienen een representatief beeld te geven van het bemonsterde zuiveringsslib. De manier waarop een representatief monster verkregen kan worden hangt af van het zuiveringsproces. Wanneer tijdens de afvalwaterzuivering een intensieve menging plaatsvindt kan volstaan worden met het nemen van één steekmonster. In andere gevallen dient een aantal steekmonsters (10 - 20) verzameld te worden, zo uniform mogelijk gespreid over het te onderzoeken slib. Na zorgvuldige menging van het verzamelmonster wordt hieruit het representatieve monster genomen. In de codering van de monsters dienen tijdstip, datum, plaats en naam van de monsternemer opgenomen te zijn. Tevens moeten bijzonderheden en wijze van bemonstering worden vermeld.

3.3 Monsterconservering

Door de biologische activiteit van zuiveringsslib kan afbraak optreden van diverse organische verbindingen. Om deze reden mogen de monsters niet te lang bewaard worden. Door de relatief grote hoeveelheid water (90-95%) is

het niet mogelijk de monsters in glazen potten in te vriezen; ze moeten daarom in een donkere koelkast bij +4°C bewaard worden. Het verdient aanbeveling de monsters zo spoedig mogelijk (binnen 24-48 uur) te extraheren; de ruwe extracten kunnen gemakkelijker gedurende langere tijd (enkele weken) bij een lage temperatuur (-15°C) in een diepvriezer bewaard worden.

Indien er tussen het tijdstip van monsterneming en aankomst op het laboratorium meer dan 24 uur zijn verstreken, moeten de monsters voor bewaring eerst ontgast worden. Verdere maatregelen ter conservering zijn niet mogelijk.

4 MONSTERVOORBEHANDELING

De gehalten pesticiden en polychloorbiphenylen in zuiveringsslib worden opgegeven per hoeveelheid droge stof. Aangezien de pesticidenbepaling en de bepaling van het drogestofgehalte niet aan hetzelfde deelmonster kunnen worden uitgevoerd, dient het monster in twee fracties verdeeld te worden. Voor dat deze splitsing plaatsvindt, moet het monster eerst met bijvoorbeeld een elektrische bepermixer gehomogeniseerd worden.

Na homogeniseren wordt circa 15 gram zuiveringsslib afgewogen in een droogschuitje en circa 30-50 gram in een afsluitbare centrifugebuis.

4.1 Bepaling van het drogestofgehalte

Een nauwkeurig afgewogen hoeveelheid zuiveringsslib (circa 15 gram) wordt bij 104-110°C gedurende 16-24 uur in een droogstoof gedroogd tot constant gewicht (zie NEN-norm 3235-4.1).

Gecontroleerd dient te worden of de afwijkingen van de temperatuur - vooral bij snelle luchtverversing in de droogstof - op de plaats van droging geen grote afwijkingen vertoont.

Na afkoelen in een vacuümexsiccator wordt het weegschuitje weer nauwkeurig gewogen en het drogestofgehalte met een nauwkeurigheid van 0,05% absoluut bepaald.

5 DE EXTRACTIE VAN ZUIVERINGSSLIBMONSTERS

5.1 Principe

Het zuiveringsslibmonster wordt na afcentrifugeren tweemaal geschud met een polair organisch oplosmiddel. Na reactie van het meegeëxtraheerde elementair zwavel met sulfiet-ionen wordt het extract geschud met hexaan en worden polaire verbindingen door schudden met water verwijderd.

5.2 Benodigde apparatuur

- a. Afsluitbare centrifugebuizen (glas of polypropyleen) met een nuttige inhoud van 50 ml; schrofdoppen met teflon-inlegfolie;
- b. Centrifuge (minimaal 3000 t.p.m.);
- c. Schudapparaat; horizontale schudbeweging, minimaal 300 slagen/minuut;
- d. Scheitrechters (500 ml);
- e. Erlenmeijers (250 ml).

5.3 Reagentia

- a. Aceton p.a. (gedestilleerd, vrij van storende componenten);
- b. Hexaan p.a. (" " " ");
- c. Natriumsulfiet p.a.;
- d. Water, vrij van storende componenten.

5.4 Procedure

- In een afsluitbare centrifugebuis wordt na homogeniseren van het zuive-

- ringslibmonster 50 gram nauwkeurig afgewogen.
- Gedurende 10 minuten wordt het gecentrifugeerd bij minimaal 3000 toeren per minuut. Het bovenstaande water wordt afgeschonken in een scheitrechter met teflon kraan en een inhoud van 500 ml.
 - Na toevoegen van 25 ml aceton wordt de slibkoek met een spatel los gemaakt. Na hermetisch sluiten van de centrifugebuis wordt deze gedurende 15 minuten krachtig geschud in het schudapparaat.
 - Vervolgens wordt het extractiemiddel gedurende 10 minuten afgecentrifugeerd. De aceton wordt eveneens in de scheitrechter van 500 ml afgeschonken. Deze extractieprocedure wordt éénmaal herhaald.
 - De water-aceton-fase wordt in de scheitrechter geschud gedurende enkele minuten nadat 2 ml van een verzadigde natriumfulfietoplossing is toegevoegd.
 - Hierna wordt 50 ml hexaan toegevoegd en gedurende enkele minuten geschud.
 - Na toevoeging van 250 ml water wordt de scheitrechter gedurende 10 minuten geschud in het schudapparaat.
 - De waterfase wordt afgescheiden in een tweede scheitrechter en met 50 ml nageëxtraheerd; na afscheiden van het water wordt deze hexaan-fase bij de eerste hexaan-fase gevoegd.
 - De gecombineerde hexaan-fasen worden met 250 ml water geschud.
 - Na afscheiden van het water wordt de hexaan-fase overgebracht in een erlenmeijer van 250 ml; de scheitrechter wordt nagespoeld met hexaan, wat wordt toegevoegd aan het hexaan-extract.

6 CONCENTRERING EN CLEAN-UP VAN HET EXTRACT

6.1 Principe

Na drogen met natriumsulfaat wordt het extract ingedampt met Kuderna-Danish indampapparatuur tot 5-10 ml en onder stikstof bij kamertemperatuur afgeblazen tot circa 1 ml. Verwijdering van componenten, die de bepaling storen, vindt plaats door adsorptie aan gedeactiveerde aluminiumoxide; pesticiden en pcb's worden geëluëerd van de kolom met hexaan.

6.2 Benodigde apparatuur

- Waterbad met temperatuurbereik tot 100°C.
- Kuderna-Danish indampapparatuur.
- Chromatografiebuizen (zie bijlage 3).
- Glaswol, gesilaniseerd of kwartswol.

6.3 Reagentia

- Hexaan p.a. (gedestilleerd; vrij van storende componenten).
- Aluminiumoxide W 200, basisch of neutraal, activiteit Super I Woelm.
- Natriumsulfaat, p.a. watervrij, gedurende 3 uur verhit op circa 500°C.
- Kooksteentjes, geëxtraheerd met hexaan.
- Zuivere stikstof.

6.4 Procedure

- Het extract wordt gedroogd door toevoeging van natriumsulfaat. Schud het extract gedurende een halve minuut en breng het over in de indampapparatuur. Was de erlenmeijer met het natriumsulfaat na met twee porties van 10 ml. hexaan.
- N.B.: Vermijd lange contacttijden van het natriumsulfaat en het extract in verband met mogelijke verliezen van organische verbindingen door adsorptie aan het natriumsulfaat.

- Damp het monster na toevoeging van een kooksteentje in tot circa 5-10 ml. Vervolgens wordt het onder een zachte stroom stikstof bij kamertemperatuur tot 1 ml afgeblazen.
N.B.: Te ver indampen bij hoge temperatuur of bij een te harde stikstofstroom kan verliezen opleveren van de meest vluchtige pesticiden en PCB's.
- Een adsorptiekolom wordt geprepareerd door een propje glaswol in de chromatografiebuis te brengen en droog te pakken met $2,0 \pm 0,1$ gram aluminiumoxide gedeactiveerd met 11% water.
N.B.: Schud de aluminiumoxide na toevoeging van water - 11 gram water op 89 gram aluminiumoxide - tot alle klonten verdwenen zijn. Bewaar het, vóór gebruik, gedurende minstens 16 uur afgesloten van de lucht. De bruikbaarheid bedraagt tenminste 5 dagen.
- Breng het extract met een pipet over op de droog gepakte adsorptiekolom; spoel de puntbuis na met 1 ml hexaan en breng dit ook over met de pipet op de kolom op het moment dat de vloeistofspiegel de bovenkant van de kolomvulling bereikt heeft. Herhaal deze procedure éénmaal.
- Spoel de puntbuis na met 12 ml hexaan en elueer hiermee de adsorptiekolom.
- Concentreer het eluaat (15 ml) door overblazen met stikstof bij kamertemperatuur tot 0,5 - 1 ml.

7 SCHEIDING VAN PCB'S EN ZWAK-POLAIRE ORGANOCHLOORPESTICIDEN

7.1 Principe

Het zuiveringsslibextract wordt via kolomchromatografie op silicagel - gedeactiveerd met 5% water - gescheiden in twee fracties. De eerste fractie bevat de PCB's en de apolaire organochloorpesticiden (HCB, p, p'-DDE, heptachloor, aldrin en pp'-DDT). De tweede fractie bevat de wat meer polaire chloorpesticiden (α -HCH, γ -HCH, dieldrin, endrin, o, p'-DDD en α -endosulfan).

7.2 Benodigde apparatuur

- a. Chromatografiebuizen (zie bijlage 3).
- b. Glaswol, gesilaniseerd of kwartswol.
- c. Gecalibreerde puntbuizen.

7.3 Reagentia

- a. Silicagel (mesh 60-200, Grace Davison Chemical).
- b. Hexaan p.a. (gedestilleerd; vrij van storende componenten).
- c. Diethylether p.a. (gedestilleerd, vrij van storende componenten).

7.4 Procedure

- Een chromatografiekolom wordt geprepareerd door een propje glaswol aan te brengen in de chromatografiebuis en deze droog te pakken met $1,5 \pm 0,1$ gram silicagel, gedeactiveerd met 5% water.
- De silicagel wordt van te voren geactiveerd door deze gedurende minimaal 24 uur in een stoof bij 150°C te bewaren. Vervolgens wordt na afkoelen in een exsiccator aan 95 gram silicagel 5 gram water toegevoegd.
N.B.: Na toevoegen van water de silicagel schudden tot alle klonten verdwenen zijn; daarna afgesloten van de lucht gedurende minstens 16 uur laten conditioneren. De bruikbaarheid bedraagt tenminste 5 dagen.
- Het ingedamppte extract wordt met een pipet overgebracht op de droog gepakte kolom. De puntbuis wordt nagespoeld met 1 ml hexaan; dit wordt met dezelfde

pipet op de kolom gebracht op het moment dat de vloeistofspiegel juist de bovenkant van de kolomvulling heeft bereikt. Hierna wordt deze procedure nogmaals herhaald.

- De kolom wordt achtereenvolgens geëluëerd met 25 ml hexaan (fractie 1) en met 25 ml van een mengsel van hexaan en diethylether (volumeverhouding 75/25); dit eluaat vormt fractie 2.
- De twee gescheiden fracties worden ingedampt door overblazen met stikstof tot minder dan 1 ml in een van te voren gewogen puntbuis en exact op gewicht afgevuld tot 1 ml met hexaan.
N.B.: Voor iedere nieuwe batch of ander merk silicagel dient het elutiepatroon gecontroleerd te worden met behulp van een standaardoplossing van PCB's en organochloorpesticiden.

8 DE GASCHROMATOGRAFISCHE ANALYSE

8.1 Apparatuur

Voor de scheiding van de diverse componenten in het extract wordt gebruik gemaakt van een gaschromatograaf uitgerust met een capillaire kolom (WCOT) gecoat met een apolaire stationaire fase (CP-sil 5, CP-sil 7, SE 30 of SE 52) en een elektroneninvangdetector op basis van ⁶³Nikkel.

Een programmeerbare oventemperatuur is gewenst ter verkrijging van een optimale scheiding en analyseduur. Afhankelijk van het type gaschromatograaf kunnen diverse injectietechnieken worden toegepast; een integrator voor het nauwkeurig vastleggen van de retentietijd is vereist.

8.2 Injectietechnieken

Afhankelijk van de toegepaste injectietechniek wordt 1-5 µl van het extract of een standaardoplossing, al of niet automatisch - in de injectiekamer van de gaschromatograaf geïnjecteerd.

8.2.1 *splitlose injectie*

Hierbij wordt 1 - 5 µl geïnjecteerd in een verwarmde injectiekamer. Het draaggas brengt het in de damfase overgegene monster in de gekoelde capillaire kolom, waar de pesticiden en PCB's, met relatief hoge kookpunten, condenseren op de eerste schotels van de kolom. Na enkele minuten wordt de splitter geopend waardoor hoogkokende verbindingen die mogelijk nog vrijkomen uit de injectiekamer, niet op de capillaire kolom komen maar gedurende de analyse afgeblazen worden. Tevens wordt de oventemperatuur snel verhoogd tot die waarde waarbij de scheiding optimaal is, eventueel gevolgd door een langzame verdere programmering tot de eindtemperatuur.

8.2.2 *injectie waarbij monster gesplit wordt*

Bij directe injectie van het monster in de verwarmde injectiekamer bij hoge oventemperatuur wordt het monster gesplitst in een gedeelte dat in de kolom wordt gevoerd en een gedeelte dat afgeblazen wordt ter voorkoming van piekverbreding. Ten behoeve van de reproduceerbaarheid moet een minimale splitverhouding - afhankelijk van het type splitter - aangehouden worden. Ten behoeve van een kleinere splitverhouding met behoud van een goede reproduceerbaarheid en een grotere gevoeligheid, kan gebruik worden gemaakt van een gepakte voorkolom, waar tevens eventueel aanwezige hoogmoleculaire verbindingen op achterblijven; de capillaire kolom krijgt hierdoor een langere levensduur.

8.2.3 *injectie met een vaststofinjector*

Bij dit injectiesysteem wordt 1 - 5 µl monster op de punt van een verplaatsbare glazen naald gebracht. Na afdampen van het oplosmiddel wordt de glazen naald in de verwarmde injectiekamer gebracht waar de te bepalen componenten

in de gasfase overgaan en met het draaggas naar de kolom worden gevoerd.

8.3 Gaschromatografische omstandigheden

kolom : capillaire kolom (WCOT); lengte 50 meter; inwendige diameter 0,25 mm;

fase : CP - sil 5, laagdikte 0,45 µm;

voorkolom : glazen kolom, lengte 10 cm, inwendige diameter 2 mm, gepakt met 10% SE-30 op chromosorb WHP 80-100;

draaggas : helium of stikstof, 1,6 bar;

gassnelheden: 1-2 ml/min. door kolom
4 ml/min. door splitter

make-up gas : stikstof, 20 ml/min.

Opmerking : 1. Andere kolommen kunnen worden toegepast met afwijkende dimensies of stationaire fase, mits het schotelgetal en de capaciteitsfactor voor aldrin groter zijn dan 60.000 respectievelijk 6.

2. Helium verdient aanbeveling als draaggas.

temperatuur : injector 250°C.
oven 210°C (begin) - 270°C (eind)
geprogrammeerd met 1°C/minuut.
detector 350°C.

Opmerking : De omstandigheden waarbij de scheiding plaatsvindt, kunnen gewijzigd worden afhankelijk van de toegepaste injectie-techniek, soort capillaire kolom of verdere optimalisering van de kolom.

detector : mode differential-pulse
puls periode 500 µsec
puls breedte 1 µsec
detectielimiet $<10^{-13}$ gram Aldrin/sec.

Opmerking : Omstandigheden kunnen gevarieerd worden afhankelijk van type electroneninvang-detector.

9 IDENTIFICERING EN KWANTIFICERING VAN PCB'S EN ORGANOCHLOORPESTICIDEN

9.1 Identificering

Identificering van de onbekende pieken vindt plaats door vergelijking van de retentietijd van de pieken met die van de pesticiden of PCB's in de chromatogrammen van de standaardoplossingen of door vergelijking van de relatieve retentietijd van de onbekende pieken ten opzichte van in het extract toegevoegde interne standaardstoffen (b.v. Mirex).

Voor een nauwkeurige vaststelling van de retentietijd is een elektronische integrator vereist.

Als derde methode kan na opname van het chromatogram een standaardadditie van een oplossing van pesticiden en PCB's aan het extract gegeven worden en een tweede chromatogram opgenomen worden.

9.2 Kwantificering

Voor de kwantificering van de pesticiden- en PCB-gehalten wordt gebruik gemaakt van standaardoplossingen van deze stoffen.

Als indicatie voor het PCB-gehalte wordt het gehalte opgegeven van de volgende individuele chloorbiphenylen:

nr. 28	: 2, 4-4'	trichloorbiphenyl
52	: 2,5 - 2'5'	tetrachloorbiphenyl
101	: 2, 4, 5 - 2'5'	pentachloorbiphenyl
138	: 2, 3, 4 - 2'4'5'	hexachloorbiphenyl
153	: 2, 4, 5 - 2'4'5'	hexachloorbiphenyl
180	: 2, 3, 4, 5 - 2'4'5'	heptachloorbiphenyl

Opmerking: Alle genoemde chloorbiphenylen zijn commercieel verkrijgbaar.

Deze chloorbiphenylen zijn mede geselecteerd op basis van de aanwezigheid in technische mengsels, slechte afbreekbaarheid, accumulatiefactor en gaschromatografische scheiding van andere chloorbiphenylen.

Ten behoeve van de kwantificering van de pesticide- en polychloorbiphenylgehalten wordt een ijklijn voor de diverse verbindingen gemaakt door de piekhoogten uit te zetten tegen de concentratie van de pesticiden en individuele chloorbiphenylen in de verschillende verdunningen van de stockoplossing.

Kwantificering aan de hand van één verdunning van de standaardoplossing moet worden vermeden in verband met het niet lineaire karakter van de elektroneninvangdetector en kan slechts plaatsvinden wanneer de piekhoogten in het chromatogram van het extract en van de standaardoplossing onderling weinig verschillen; dit is afhankelijk van het lineaire werkgebied en (dus) type detector.

Aan de hand van de ijklijnen worden de gehalten van de diverse pesticiden en individuele PCB's berekend.

Opmerking: In plaats van de piekhoogte kan ook de integraal (piekoppervlak) gebruikt worden bij goed gescheiden pieken.

9.3 Bereiding van standaardoplossingen

- Voor de bereiding van standaardoplossingen wordt uitgegaan van zuivere stoffen;
- Hiervan worden geconcentreerde stockoplossingen gemaakt door met een balans circa 20 mg nauwkeurig af te wegen en op te lossen in 100 ml hexaan.

N.B.: Controleer aan de hand van een gaschromatogram van deze oplossing eerst de zuiverheid van de standaardstof.

- Door combinatie van kleine hoeveelheden (2 - 10 ml) van deze individuele stockoplossingen wordt een mengstandaardoplossing met hoge gehalten pesticiden en PCB's verkregen;
- Uitgaande van deze oplossing worden door verdunningen de werkstandaardoplossingen bereid.

- N.B.:
1. De stockoplossingen worden bewaard bij -15 tot -18°C in een diepvriezer; de verdunningen kunnen bewaard worden bij 4°C en zijn minimaal een jaar houdbaar.
 2. Componenten in mengstandaardoplossingen mogen in het gaschromatogram geen overlapping te zien geven.
 3. p, p' - DDT kan onder bepaalde condities afgebroken worden waarbij p, p' - DDE en p, p' - DDD gevormd kunnen worden. Het is daarom aan te bevelen deze drie verbindingen niet alle in één standaardoplossing op te nemen maar te verdelen over twee mengstandaardoplossingen.