

Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV

Postbus 68
1970 AB IJmuiden
Tel.: 0255 564646
Fax.: 0255 564644
Internet: postkamer@rivo.dlo.nl

Postbus 77
4400 AB Yerseke
Tel.: 0113 572781
Fax.: 0113 573477

RIVO Rapport

Nummer: C065/04

Baseline studie naar potentieel bioaccumuleerbare stoffen in oppervlaktewater

Pim E.G. Leonards en Evert Van Barneveld

Opdrachtgever: RIZA
Postbus 17
8200 AA Lelystad
dr. E. Roex

Project nummer: 3441228006

Akkoord: dr. J. de Boer
Afdelingshoofd Milieu en Voedselveiligheid

Handtekening: _____

Datum: 13 september 2004

Aantal exemplaren: 10
Aantal pagina's:
Aantal tabellen: 2
Aantal figuren: -
Aantal bijlagen: 1

In verband met de
verzelfstandiging van de
Stichting DLO, waartoe tevens
RIVO behoort, maken wij sinds 1
juni 1999 geen deel meer uit van
het Ministerie van Landbouw,
Natuurbeheer en Visserij. Wij zijn
geregistreerd in het
Handelsregister Amsterdam
nr. 34135929
BTW nr. NL 808932184B09.

De Directie van het RIVO is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van het RIVO; opdrachtgever vrijwaart het RIVO van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets van dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	2
Samenvatting	3
1. Inleiding.....	3
2. Doelstelling	3
3. Materialen en methoden	4
4. Resultaten en discussie.....	5
5. Conclusies en aanbevelingen	8
6. Referenties.....	8

Samenvatting

Onderzoek werd uitgevoerd naar de bepaling van potentieel bioaccumuleerbare verbindingen (PBS) in influent, effluent en oppervlaktewateren uit Nederland. Hierbij werd gebruik gemaakt van SPME-extractie gecombineerd met een GC-FID/MS detectie. Kwantificering en het scheidend vermogen tussen gehalten was betrouwbaarder met FID dan met MS detectie. De aangetroffen PBS-gehalten in effluent en oppervlaktewater varieerden tussen de 0,7 en 3,8 mM en liggen lager dan de acute en chronische toxiciteitswaarden voor vis, watervlo en alg. Het RWZI influent PBS-gehalte was circa tien maal hoger dan in effluent en lag rond de acute narcotische toxiciteitwaarde voor watervlo. Als achtergrond gehalte in oppervlaktewater wordt 1 mM aangehouden.

1. Inleiding

In het kader van een OSPAR demonstratieprogramma wordt aandacht besteed aan de parameters Toxiciteit (T), Bioaccumulatie (B) en Persistentie (P) voor het totaal effluent beoordelingsstelsel (TEB). Voor bioaccumulatie is nog geen standaardprocedure voorhanden en heeft Nederland (RIZA) aangeboden om onderzoek uit te voeren naar een SPME-methode om bioaccumulatie te schatten. De methode bepaalt de hoeveelheid potentieel bioaccumuleerbare organische stoffen (PBS) in water en maakt gebruik van het verwaarloosbaar uitputting principe (Verbruggen et al., 2000). Voor de extractie van het water wordt een SPME-fiber gebruikt en voor de scheiding en detectie van de stoffen een gaschromatograaf (GC) gekoppeld aan een vlamionisatie detector (FID) en/of massaspectrometer (MS). In een eerder OSPAR-onderzoek werden de PBS-gehalten in effluenten uit verschillende Europese landen bepaald (Leonards et al., 2003). Doel van het huidige onderzoek is het beter in kaart brengen van de ranges aan PBS-gehalten in relatief schone en vervuilde wateren. Op deze wijze kan het ontwikkelen van een normstelsel voor het totaal effluent beoordelingsstelsel beter worden bepaald en onderbouwd.

2. Doelstelling

Doel van het onderzoek was de bepaling van de PBS-gehalten met behulp van SPME en GC-FID/MS in influent, effluent en oppervlaktewateren.

3. Materialen en methoden

Het PBS-gehalte werd van een 17-tal influent-, effluent- en oppervlaktewatermonsters, aangeleverd door het RIZA, bepaald. Elk monster werd in triplo geëxtraheerd en gemeten. Extracties werden uitgevoerd volgens het SPME-protocol (de Maagd, 2000). Op verzoek van het RIZA werd op twee punten afgeweken van het protocol, i) GC-oven temperatuurprogramma en ii) detectiemethode. Aanpassing van het protocol had als doel om na te gaan of de SPME-methode tevens gebruikt kan worden om onbekende stoffen te identificeren met MS. De metingen werden daarom uitgevoerd met een GC die gekoppeld was aan zowel een FID als een MS detector in plaats van alleen een FID. Twee DB-1 (J&W) GC-kolommen werden met een two-hole ferrule aan de injector gekoppeld en aangesloten op de FID en de MS. In overleg met IMLO van het RIZA werd een nieuw GC temperatuurprogramma gekozen waarbij de oven minder snel werd opgewarmd (11°C /min) in vergelijking met het SPME-protocol (30°C /min). Het voordeel van het nieuwe programma is dat de pieken in het chromatogram beter gescheiden worden en daardoor makkelijker geïdentificeerd konden worden. Het nadeel is dat de pieken in het chromatogram breder worden en daardoor stoffen die op zeer lage concentraties voorkomen verdwijnen in de basislijn en daardoor niet worden meegenomen in de kwantificering van het PBS-gehalte. Uit eerder onderzoek is gebleken dat stoffen met een lage concentratie een substantiële bijdrage kunnen leveren aan het PBS-gehalte. Kwantificering van het totale piekoppervlakte in het chromatogram werd uitgevoerd met een externe standaard (2,3-dimethylnaftaleen).

De volgende GC, FID, MS en SPME parameters werden gebruikt:

GC

Injectietemperatuur: 50°C

Temperatuurprogramma: 50°C, 2 min, gevolgd door 11°C/min naar 300°C

GC kolom: DB-1 (J&W) ID 0.25 mm en Filmdikte 0.25µm, 10 m naar FID en 12 m naar MSD

Splittijd: split gesloten gedurende gehele run

Liner: SPME liner voor SPME metingen en normale GC liner voor injectie standaard

Injectietermpertatuur: 250°C

Injectievolume standaard: 1 µl

MS

Mode: EI

Scan range: 45-550 m/z

Transfer line: 300°C

Brontemperatuur: 230°C

FID

Heater: 300°C

Flow N₂: 23 ml/min

Flow lucht: 400 ml/min

Flow H₂: 30 ml/min**SPME**

Type: PDMS, 100 µm

Injectietemperatuur: 250°C

Injectietijd: gedurende gehele runtijd

4. Resultaten en discussie

De gemiddelde PBS-gehalten uitgedrukt als SPME fiber gehalten (Cfiber) van de monsters zijn in tabel 1 en de individuele gehalten in bijlage 1 weergegeven. Cfiber gehalten geanalyseerd met FID vertonen een kleinere variatie (VC 7-65%) dan met MS (0-124%) wat in het eerdere OSPAR onderzoek ook werd vastgesteld (Leonards et al., 2003). Een deel van het probleem is gerelateerd aan de oplopende basislijn in de MS-chromatogrammen waardoor integratie van het totale piekoppervlakte wordt bemoeilijkt. De VCs van de triplo metingen voor FID zijn echter hoger dan gevonden in de eerdere studie waarbij de VCs varieerden tussen de 6% en 41%. Eén van de oorzaken voor de hogere VC's zou veroorzaakt kunnen worden door het verschil in GC-oven temperatuurprogramma van de huidige methode en het standaard SPME-protocol. In het SPME-protocol wordt een snelle opwarming van de GC-oven gebruikt om de pieken zo snel mogelijk van de GC-kolom te elueren. Het gevolg is dat pieken worden "samengedrukt" en daardoor i) het piekoppervlak van stoffen met een lage concentratie worden meegenomen en ii) integratie van het chromatogram eenvoudiger wordt doordat het begin- en eindpunt van integratie gemakkelijker zichtbaar zijn. Bij het huidige onderzoek werd een minder snelle GC-opwarming toegepast en dit zou mogelijk minder reproduceerbaar kunnen zijn. Aangeraden wordt om na te gaan of de reproduceerbaarheid van de meting afhankelijk is van de opwarmsnelheid van de GC-oven. Verder zou overwogen kunnen worden om een zeer korte GC-kolom (1 à 2 m) te gebruiken waardoor het boven beschreven condensatie effect wordt versterkt.

De Cfiber gehalten voor oppervlaktewater varieerden tussen 0,7 en 1,5 mM met FID detectie. Het PBS-gehalte in Markermeer water van 1,0 mM is vergelijkbaar met het resultaat uit eerder onderzoek waarbij 0,5 mM werd gerapporteerd (Leonards et al., 2002). Industriële en RWZI effluenten hadden Cfiber gehalten van 0,6 tot 3,8 mM. Het Cfiber gehalte in influent van een

RWZI was circa tien maal hoger dan in het effluent water. Het scheidend vermogen in PBS-gehalten tussen de monsters is groter met FID dan met MS wat van belang is voor het ontwikkelen van een maatlat voor de TEB benadering.

De aangetroffen Cfiber gehalten kunnen worden vergeleken met acute narcotische waarden voor de watervlo (77mM), alg (57mM) en vis (42mM) (Parkerton et al., 2001), zie tabel 2. Het Cfiber gehalte van het influentmonster ligt dicht tegen de kritische grens voor narcotische toxiciteit voor de watervlo. Alle oppervlakte- en effluentmonsters liggen onder de acute en chronische toxiciteitswaarden.

Tabel 1: Cfiber (mM) gehalten van de oppervlaktewater, effluent en influentmonsters.

Weergegeven zijn het gemiddelde gehalte, standaard deviatie (SD) en variatie coëfficiënt (VC) voor FID en MS detectie.

GC-FID				
RIVO LIMS nr.	RIZA locatie	Gemiddeld	SD	VC (%)
	1e Petroleumhaven			
2004/0114	Rotterdam	1,1	0,40	36
2004/0115	Markermeer	1,0	0,60	59
2004/0116	Oosterschelde	1,2	0,4	34
2004/0117	Den Oever	0,9	0,35	39
2004/0118	Petroleumhaven Amsterdam	1,2	0,4	32
2004/0119	De Leijen	0,9	0,53	58
2004/0120	IJsselmeer	0,7	0,17	25
2004/0121	Dommel	1,0	0,29	28
2004/0122	Stadskern Leeuwarden	0,85	0,05	5
2004/0123	Opeindervaart	1,5	0,3	22
2004/0124	Westerschelde	0,82	0,5	65
2004/0125	DSM Geleen - Augustus	2,6	1,2	45
2004/0126	DSM Geleen - November	1,06	0,3	30
2004/0127	DSM Andeno (t=0)	0,56	0,20	35
2004/0128	DSM Andeno (t=28)	1,9	0,1	7
2004/0129	RWZI Oijden effluent	3,8	1,8	47
2004/0130	RWZI Oijden (influent)	39	8	19

Vervolg tabel 1:

GC-MS				
RIVO LIMS nr.	RIZA locatie	Gemiddeld	SD	VC (%)
	1e Petroleumhaven			
2004/0114	Rotterdam	0,14	0,06	46
2004/0115	Markermeer	0,11	0,10	85
2004/0116	Oosterschelde	0,66	0,68	102
2004/0117	Den Oever	0,27	0,19	70
2004/0118	Petroleumhaven Amsterdam	0,05	0,06	124
2004/0119	De Leijen	0,24	0,10	39
2004/0120	IJsselmeer	0,26	0,16	60
2004/0121	Dommel	0,46	0,11	23
2004/0122	Stadskern Leeuwarden	0,07	0,01	16
2004/0123	Opeindervaart	0,08	0,04	46
2004/0124	Westerschelde	0,08	0,06	71
2004/0125	DSM Geleen - Augustus	0,28	0,001	0.3
2004/0126	DSM Geleen - November	0,11	0,03	28
2004/0127	DSM Andeno (t=0)	0,05	0,03	57
2004/0128	DSM Andeno (t=28)	0,12	0,05	45
2004/0129	RWZI Oijden effluent	0,37	0.27	74
2004/0130	RWZI Oijden (influent)	28	7	25

Tabel 2: Kritischwaarden (acuut en chronisch) voor Cfiber van forel, alg en watervlo.

Chronische narcotische toxiciteit werd geschat aan de hand van de acute/chronisch ratio (ACR) van 1/5 (Di Toro et al., 2000*).

Eindpunt	Critical Cfiber (mM)	Referentie
Acute narcotische toxiciteit forel	77	Parkerton et al., 2001
Acute narcotische toxiciteit alg	57	Parkerton et al., 2001
Acute narcotische toxiciteitwatervlo	42	Parkerton et al., 2001
Chronische narcotische toxiciteit forel	15	Estimated based on ACR of 1/5*
Chronische narcotische toxiciteit alg	11	Estimated based on ACR of 1/5*
Chronische narcotische toxiciteit watervlo	8	Estimated based on ACR of 1/5*

5. Conclusies en aanbevelingen

- ?? Verschillen in PBS-gehalten kunnen beter onderscheiden worden met FID dan met MS.
- ?? FID geeft minder variatie in de meting dan MS.
- ?? Geadviseerd wordt om voor de kwantificering van het PBS-gehalte gebruik te maken van GC-FID.
- ?? Ondanks de soms hoge variatiecoëfficiënten tussen triplo metingen lijkt de methode geschikt te zijn als screeningsmethode om de mate van bioaccumulatie te bepalen.
- ?? Alleen monsters die een gehalte bezitten boven een bepaalde norm zouden vervolgens met GC-MS kunnen worden geanalyseerd om de identiteiten van de stoffen te achterhalen.
- ?? Achtergrond Cfiber gehalten in oppervlaktewater liggen rond de 1 mM.

6. Referenties

- de Maagd, G-J. 2000. Protocol analyse oppervlaktewater met polyacrylaat fiber – solid phase micro extraction. RIZA.
- Leonards, P.E.G. en E. van Barneveld. 2002. Methodeontwikkeling en praktijkonderzoek van een SPME-procedure voor de bepaling van Potentieel Bioaccumulerende Stoffen (PBS) in effluenten. RIVO rapport C054/02.
- Leonards, P.E.G., A. Kruijt en P. Wezenbeek. 2003. Bepaling van potentieel bioaccumuleerbare stoffen met GC-FID/MS en screening van organische verbindingen in effluenten. RIVO rapport C053/03.
- Parkerton, T., D. Letinske, Febbi, C.Dzamba, M. Connely, D. Winklemann, D. Peterson. 2001. Biomimetic extraction as a cost-effective analytical tool for determining the aquatic toxicity hazard of complex petroleum products. Proceedings SETAC, Madrid, Spain, May 7-10.
- Verbruggen, E.M.J., Vaes W.H.J., Parkerton, T.F., Hermens, L.M. 2000. Polyacrylate coated SPME fibers as a tool to simulate body residues and target concentrations of complex organic mixtures for estimation of baseline toxicity. Environ. Sci. Tech., 34(2), 324-331.

Bijlage 1: Individuele Cfiber gehalten

RIVO LIMS nr.	RIZA code	FID			MS		
		#1	#2	#3	#1	#2	#3
2004/0114	1e Petroleumhaven Rotterdam	1.6	0.94	0.82	0.15	0.20	0.07
2004/0115	Markermeer	1.2	0.34	1.5	0.22	0.08	0.04
2004/0116	Oosterschelde	1.6	1.3	0.77	1.39	0.53	0.06
2004/0117	Den Oever	1.0	0.51	1.2	0.48	0.10	0.24
2004/0118	Petroleumhaven Amsterdam	1.6	1.0	0.9	0.13	0.02	0.01
2004/0119	De Leijen	1.5	0.59	0.63	0.19	0.35	0.18
2004/0120	IJsselmeer	0.9	0.60	0.60	0.43	0.24	0.12
2004/0121	Dommel	1.4	0.91	0.85	0.48	0.34	0.56
2004/0122	Stadskern Leeuwarden	0.80	0.89	0.85	0.08	0.07	0.06
2004/0123	Opeindervaart	1.5	1.9	1.2	0.08	0.11	0.04
2004/0124	Westerschelde	0.75	1.4	0.32	0.08	0.13	0.02
2004/0125	DSM Geleen - Augustus	3.4	1.8		0.28	0.28	
2004/0126	DSM Geleen - November	0.84	1.3		0.13	0.08	
2004/0127	DSM Andeno (t=0)	0.75	0.57	0.36	0.08	0.03	0.03
2004/0128	DSM Andeno (t=28)	1.8	2.0	1.8	0.18	0.10	0.08
2004/0129	RWZI Oijden effluent	4.2	1.8	5.3	0.38	0.09	0.64
2004/0130	RWZI Oijden (influent)	30	43	44	20	34	30