

Project 7151316

Biodegradatie van organische microverontreinigingen met schimmeltechnologie

Projectleider: W.A. Traag

Rapport 97.25

april 1997

LITERATUURSTUDIE NAAR METHODEN VOOR DE BEPALING VAN
BESTRIJDINGSMIDDELEN, POLYCHLOORBIFENYLEN EN POLYGECHLOREERDE
DIBENZO-P-DIOXINEN, DIBENZOFURANEN IN GROND

W.A. Traag, T. Zuidema

afdeling: Natuurlijke Inhoudstoffen, Residuen en Contaminanten

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 0317-475400

Telefax 0317-417717

Copyright 1997, DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwproducten (RIKILT-DLO)
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur RIKILT-DLO

auteur(s)

programmaleiders (2x)

in- en externe communicatie (2x)

bibliotheek RIKILT-DLO (4x)

bibliotheek SC-DLO (1x)

leesplanken (2x)

EXTERN:

Dienst Landbouwkundig Onderzoek

Directie Wetenschap en technologie

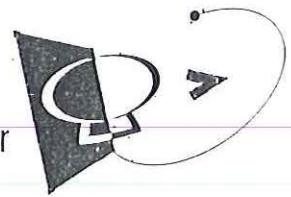
DHV (20x)

rikilt-dlo



AKZO NOBEL

— proefstation voor de *champignon*cultuur



Directoraat-Generaal Rijkswaterstaat

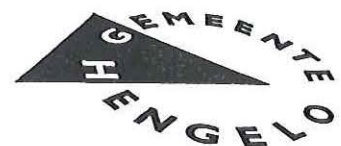


sc-dlo

BION OVERIJSSSEL

BIOLOGISCHE GRONDREINIGING

Gemeenschappelijk Orgaan Baggerspecie
Zuid Holland



28. A. di Muccio, A. Ausili, I. Camoni, R. Dommarco, M. Rizzica, F. Vergori
Journal of Chromatography, 1988, vol 456, p. 149-153
29. M.A. Luke, J.E. Froberg, G.M. Doose, H.T. Masumoto; J. Assoc. Off. Anal. Chem, 1981, p.1187-1195
30. R.A. Baumann, G.F. Ernst, J.T.A. Jansen, A. de Kok, L.G.M.Th. Tuinstra, W. Verwaal, P. van Zoonen, F. Herandez; Fresenius J. Anal. Chem., 1991, vol 339, p. 357-364
31. M. Monsour, D. Borcelo, J. Albouiges; The Science of Total Environment, 1992, vol 123/124, p . 4556.
32. G.C. Mattern, G.M. Singer, J. Louis, M. Robson, J.D. Rose; J. of Agricultural- and Food Chemistry, 1990, Vol 38(2), p. 402-407
33. L.G.M.Th Tuinstra, A.H. Roos, A.M. Matser, W.A. Traag, J.A. van Rhijn (1991); Fresenius J. Anal Chem., 1991, vol 339, p.384-386
34. W.A. Traag, W. Kulik; RIKILT-DLO rapport 93.04
35. B. J. Millard, Quantitative mass spectrometry, 1979, Heyden and Sons
London(UK) ISBN 0-85501-156-4
36. J.A.A. Jockheer, A.P. de Leenheer, Para Medica (1981) 1,2-5
37. J.F. Pickup, K. McPherson, Anal Chem. 48 (1976) 1885-1890
38. D. Picart, F. Jacolot, F. Berthon, H.H. Floch, Quantitative mass spectrometry in life science II
June 13-16, Ghant Belgium.
39. Van de Wjfel, M.A.F.P. van Rooij, H. Janssens; Prestatiekenmerken voor meetmethoden in h e t kader van actieprogramma normalisatie en validatie van milieumethoden

WOORD VOORAF

Het NOBIS-project "Biodegradatie van microverontreinigingen met behulp van schimmeltechnologie" wordt uitgevoerd door een consortium waarin deelnemen:

- AKZO NOBEL Chemicals, locatie Hengelo
- AKZO NOBEL Organon Teknika
- BION Overijssel BV
- DHV Milieu en Infrastructuur BV
- Proefstation voor de Champignoncultuur/Katholieke Universiteit Nijmegen
- RIZA
- DLO-Staringcentrum.

DHV is penvoerder van het consortium dat wordt gesponsord door:

- Gemeente Hengelo
- Gemeenschappelijk Orgaan Baggerspecie Zuid-Holland
- RIKILT-DLO
- Rijkswaterstaat directie Noord-Holland.

Het voorliggende deelonderzoek is uitgevoerd door het Rijks-kwaliteitsinstituut voor Land- en Tuinbouwproducten (RIKILT). Het onderzoek maakt deel uit van spoor II-fase 1: bepaling van analysemethoden van gechloreerde verbindingen in grond/compostmengsels en bereidt daarmee het laboratoriumonderzoek in spoor II fase 1b voor. In onderstaand schema is de plaats van het deelonderzoek in het totale project gegeven:

Biodegradatie van microverontreinigingen met schimmeltechnologie			
Spoor I Olie en PAK		Spoor II PCB's, HCH, DDT en dioxines	
Fase 1. Pilotonderzoek en toetsing		Fase 1. Oriëntatie en selectie schimmels	
1a	Pilotonderzoek: <ul style="list-style-type: none">- Tunnelproeven- Halproeven- Landfarmproeven	1a	Literatuuronderzoek Bepaling van analysemethoden
1b	Toetsing aan andere biologische technieken	1b	Laboratoriumonderzoek: <ul style="list-style-type: none">- Biologisch- Chemisch analytisch

Biodegradatie van microverontreinigingen met schimmeltechnologie	
Fase 2. Praktijkproeven: - Tunnelproeven - Halproeven - Landfarmproeven	Fase 2. Pilotonderzoek: - Tunnelproeven - Halproeven - Landfarmproeven
	Fase 3. Praktijkproeven
Fase 3. Evaluatie 3a Opschalings- en uitvoeringsaspecten 3b Eindrapportage	

Het deelonderzoek is uitgevoerd aan de hand van een literatuurstudie en vat onderzoek samen naar huidige en op korte termijn operationele methoden voor ontsluiting en detectie van gechloreerde verbindingen. Omdat gewerkt gaat worden met mengsels van grond en compost vergt de ontsluiting specifieke aandacht.

COLOFON

Project : Biodegradatie van microverontreinigingen met behulp van
schimmeltechnologie

Status : Definitief

Versie : 1

Projectnummer NOBIS : 960108

Registratienummer : ML-TE19970373

DHV-Dossier : K0676-71-007

Omvang rapport : 17 pagina's

Auteur : W.A. Traag

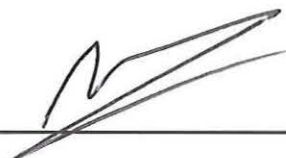
Bijdragen : T. Zuidema

Projectleider : ing. L.A. van der Kooij

Projectmanager : ir. R.T.H. Schuurs

Datum : 19 juni 1997

Accordering : W.A. Traag



ABSTRACT

Ontwerpen van (multi)residumethoden voor de opsporing en identificatie van milieucontaminanten

Literature research of residue methods for the determination of several pesticides and organic compounds in soil (in Dutch)

Report 97.25

April 1997

W.A. Traag, T. Zuidema

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)

P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

17 pages, 39 references

For the determination of methods for the analysis of several pesticides and organic compounds in soil in connection with the NOBIS project concerning biodegradation of these compounds in soil a study is carried out. In general for the analysis of (semi)volatile pollutants gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) is considered to be the most suitable method. Therefore GC-MS is chosen as a prerequisite for the deskstudy. Further the deskstudy is mainly focussed on extraction methods of the compounds of interest. Finally regulations concerning the levels of the particular compounds are studied.

Keywords: Pesticides, organic contaminants, soil, gas chromatography-mass spectrometry

INHOUD	<u>blz</u>
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 REGELGEVING EN NORMSTELLING	8
2.1 Interventiewaarden	8
2.2 Streefwaarden	9
2.3 Standaardbodem	9
3 ANALYSE METHODIEK	9
3.1 Extractiemethoden	10
3.2 Opzuivering	12
3.3 Meting	12
3.3.1 Algemeen	12
3.3.2 Isotoopverdünningsmethode	13
4 DISCUSSIE EN CONCLUSIES	14
5 PLAN VAN AANPAK	15
LITERATUUR	16

SAMENVATTING

Ten behoeve van het ontwikkelen van analysemethoden voor het bepalen van een aantal bestrijdingsmiddelen en organische contaminanten in grond is een beperkte literatuurstudie uitgevoerd.

Voor de analyse van residuen van (vluchtige) milieukritische componenten wordt gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS) in het algemeen beschouwd als optimale "detectie-methode". Daarom is toepassing van GC-MS bij het uitvoeren van de studie als uitgangspunt genomen.

Deze literatuurstudie heeft zich gericht op de extractie en eventuele opzuivering van de te bepalen componenten. Voor specifieke gaschromatografische-massaspectrometrische meting zal worden uitgegaan van de expertise aanwezig bij RIKILT-DLO. Aangezien het doel van het onderzoek is om afbraak in de tijd te kunnen volgen is het van belang om methoden te ontwikkelen waarbij de nadruk ligt op het kwantitatieve aspect. Dit geldt voor zowel de uitgangskoncentratie, welke voor de bestrijdingsmiddelen kan liggen op enkele tientallen mg/kg, als voor het nagestreefde einddoel. Dit einddoel, de zgn streef- en interventiewaarden, liggen op het sub mg/kg niveau. Voor dioxinen liggen deze niveaus een factor 10^3 tot 10^6 lager. Om dit kwantitatieve aspect zo goed mogelijk uit te voeren dient er gebruik gemaakt te worden van de zogenaamde isotoop verdunningsmethode. Hierbij wordt aan het te onderzoeken monster een exact bekende hoeveelheid van een gelabelde verbinding toegevoegd. Aangenomen wordt dat deze gelabelde verbinding zich fysisch/chemisch identiek gedraagt aan de te onderzoeken verbinding.

1 INLEIDING

Ten gevolge van onder andere industriële processen en agrarische activiteiten kan de bodem en het grondwater op talrijke plaatsen verontreinigd zijn met giftige stoffen. Vanwege deze verontreiniging zijn deze bodems niet zonder meer te gebruiken. Het saneren van deze bodems door b.v. biologische processen is een onzekere en vaak kostbare aangelegenheid. In het kader van het Nederlands Onderzoeksprogramma Biotechnologische In situ Sanering (NOBIS) wordt gekeken of het toepassen van schimmeltechnologie een oplossing kan brengen. Hierbij wordt een tweesporen aanpak gevolgd. Het eerste spoor betreft de opschaling van de schimmeltechnologie voor de afbraak van polycyclische aromatische koolwaterstoffen en minerale oliën. Het tweede spoor, waarbij RIKILT-DLO verantwoordelijk is voor de analytiek en de interpretatie, is gericht op verbreding van de eerder ontwikkelde technologie voor de afbraak van HCH, PCB's, DDT en dioxinen. In de eerste fase van dit tweede spoor dienen een aantal componenten kwalitatief en kwantitatief bepaald te worden. Het betreft DDT (inclusief intermediären), HCH (inclusief intermediären), PCB's en dioxinen. Deze organische microverontreinigingen m.u.v. dioxinen zijn te bepalen met bestaande NEN-normen. Deze methodieken zijn in het algemeen zowel tijdrovend als beperkt in capaciteit. Voor de analyse van residuen van (vluchtige) organische microverontreinigingen is gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS) algemeen aanvaard als de meest geëigende "detectie-methode". Daarom wordt dit gegeven bij de uitvoering van het beperkte literatuuronderzoek als uitgangspunt genomen. Van groot belang bij de te ontwikkelen methoden is de detectiegrens en de juistheid en nauwkeurigheid van het berekende gehalte per de te onderzoeken component. Immers uit het onderzoek moet blijken of er een significante afbraak van de te onderzoeken componenten plaats vindt. Voor een groot aantal organische microverontreinigingen zijn streefwaarden vastgesteld voor zowel bodem als water (1). De streefwaarden geven het uiteindelijk te bereiken kwaliteitsniveau voor de bodem aan. Bij de opstelling van streefwaarden is rekening gehouden met een aantal reeds van kracht zijnde eisen, zoals normen drink- en oppervlakte-water, (ontwerp)normen Warenwet. Ook is bij het opstellen van streefwaarden rekening gehouden met achtergrondgehalten in relatief onbelaste gebieden. Om het kwantitatieve aspect zo goed mogelijk uit te voeren dient er gebruik gemaakt te worden van de zogenaamde isotoop verdunningsmethode. Hierbij wordt aan het te onderzoeken monster een exact bekende hoeveelheid van een gelabelde verbinding toegevoegd. Aangenomen wordt dat deze gelabelde verbinding zich fysisch/chemisch identiek gedraagt aan de te onderzoeken verbinding waardoor er, per monster, aan de hand van de respons van de gelabelde verbinding éénvoudig gecorrigeerd kan worden voor eventuele verliezen van het te bepalen analyt. Het onderzoek zal gericht zijn op de in onderstaande tabel genoemde verontreinigde gronden en baggerspecie:

Tabel 1: Te onderzoeken gronden en analyten

MATRIX	ANALYT
Baggerspecie uit Zuid-Holland en grond uit Boxtel	DDT
Grond/baggerspecie langs Noordzeekanaal	Dioxinen
Grond in de omgeving van Hengelo	HCH
Grond van (voormalige) energieproductie bedrijven	PCB

2 REGELGEVING EN NORMSTELLING

Bij het bodembeleid t.a.v. milieukritische stoffen wordt om de eigenschappen te beschrijven die de bodem heeft voor mens, dier en plant, interventie- en streefwaarden voor deze stoffen als criterium gehanteerd. De interventiewaarde geeft hierbij aan dat bij overschrijding van de norm de eigenschappen van de desbetreffende grond ernstig gevaar voor de volksgezondheid of het milieu kan opleveren.

De streefwaarden geven het niveau aan waarbij sprake is van duurzame bodemkwaliteit.

Deze waarden moeten bereikt worden om de functionele eigenschappen die de bodem voor mens, dier en plant heeft volledig te herstellen.

2.1 Interventiewaarden

De interventiewaarden geven het verontreinigingsniveau aan waarboven sprake is van ernstige bodemverontreiniging. Deze interventiewaarden zijn gebaseerd op een door het RIVM uitgevoerde studie (2,3,4,5,6,7,8,9) naar toxicologische effecten van bodem verontreinigende stoffen. Toxicologische effecten bij de mens kunnen optreden wanneer het maximaal toelaatbare humane risiconiveau overschreden wordt. Ecotoxicologische effecten treden op wanneer 50% van de in de grond aanwezige organismen schade ondervindt. De door het RIVM gestelde interventiewaarden (9) zijn onder meer gebaseerd op de resultaten van de RIVM studie en het advies van de Technische Commissie Bodembescherming, waarbij zowel de humane als de ecotoxicologische effecten in beschouwing zijn genomen.

Voor een aantal stoffen is geen interventiewaarde gedefinieerd. Voor de beoordeling van deze stoffen wordt een vergelijking gemaakt met verwante componenten (8). Voor alifatische chloorkoolwaterstoffen geldt in ieder geval een bovengrens voor de interventiewaarde in grond/sediment van 50 mg/kg droge stof. Voor individuele organochloorbestrijdingsmiddelen geldt als bovengrens in grond/sediment 5 mg/kg droge stof. Voor individuele niet chloor houdende bestrijdingsmiddelen geldt als bovengrens in grond/sediment 10 mg/kg droge stof.

2.2 Streefwaarden

Voor een groot aantal verontreinigende stoffen zijn streefwaarden vastgesteld voor zowel bodem als water (8). De streefwaarden geven het uiteindelijk te bereiken kwaliteitsniveau voor de bodem aan. Bij de opstelling van streefwaarden is rekening gehouden met een aantal reeds van kracht zijnde eisen, zoals normen drink- en oppervlakte-water, (ontwerp)normen Warenwet en in het verleden beschreven normen ten aanzien van nitraat en fosfaat. Ook is bij het opstellen van streefwaarden rekening gehouden met achtergrondgehalten in relatief onbelaste gebieden. Voor zover mogelijk zijn de streefwaarden bodem afgestemd op de streefwaarden oppervlaktewater.

2.3 Standaardbodem

De streef- en interventiewaarden voor microverontreinigingen zijn gegeven voor een standaardbodem met 10% organische stof en 25% lutum. Bij een afwijkend bodemtype (afwijkende lutum- en/of organische-stofgehalte) moet er een omrekening gemaakt worden met behulp van de volgende correctieformule.

Bodemtypecorrectieformule voor organische componenten (8):

$$Ib = Ist * \frac{\% \text{org.stof}}{10}$$

waarin:

Ib = interventiewaarde geldend voor de te beoordelen bodem (mg/kg)

Ist = interventiewaarde standaardbodem (mg/kg)

% org.stof = gemeten percentage org.stof in de bodem.

Voor bodems met gemeten organische stofgehalten in de bodem van meer dan 30% respectievelijk minder dan 2% worden gehalten van respectievelijk 30% en 2% aangehouden.

Voor toepassing van de bodemtypecorrectie bij streefwaarden wordt in de formule de interventiewaarde (Ib en Ist) vervangen door de streefwaarde.

3 ANALYSEMETHODIEK

Ten behoeve van het vaststellen met welke methoden de analyses in het kader van het NOBIS project toegepast gaan worden is de gangbare literatuur bestudeerd. Vanwege de beschikbare tijd en vanwege de in het algemeen aanwezige faciliteiten zijn niet alle varianten meegenomen. Bij het analyseren van grondmonsters is het isoleren van de te bepalen componenten de eerste stap (10,11,12,13). Bij deze stap is het doel de te bepalen component of groep van componenten op kwantitatieve wijze te onttrekken aan de matrix. De fysisch-chemische eigenschappen van enerzijds

de matrix en anderzijds de component(en) bepalen welke methode het meest geschikt is. In het kader van het uit te voeren project is bekend welke stoffen onderzocht dienen te worden, het betreft de groep van gechlorideerde koolwaterstoffen. Gezien de chemische en fysische eigenschappen van de te onderzoeken stoffen kunnen zij als één groep beschouwd worden. Na een extractie met een organisch oplosmiddel eventueel gevolgd door een opzuivering wordt een gaschromatografische-massaspectrometrische meting uitgevoerd. Bij het uit te voeren onderzoek zullen, naast gegevens uit de algemene literatuur, de procedures zoals vastgelegd in een aantal NEN voorschriften (14,15,16,17) voor zover mogelijk gevolgd worden.

3.1 Extractiemethoden

Voor de extractie van vaste monsters werd in het verleden de soxhlet-extractiemethode (SE) veelvuldig toegepast. Tijdens dit proces wordt de concentratie aan de te bepalen component in het oplosmiddel steeds hoger terwijl het monster uitgeloozd wordt. Het rendement van de extractie wordt bepaald door de fysisch-chemische eigenschappen van zowel de component(en) als het oplosmiddel en de mate en wijze van binding van de component(en) aan de matrix. Van groot belang is derhalve de extractietijd, hetgeen kan leiden tot een lange extractieperiode. Minimaal is 8 tot 48 uur noodzakelijk. Ook de grote hoeveelheid benodigd oplosmiddel en de daarmee gepaard gaande noodzakelijke concentratiestap maken deze methode minder gewenst. In bepaalde gevallen wordt de soxhlet methode nog wel gebruikt. Recent uitgevoerd onderzoek in sediment met soxhlet extractie door middel van hexaan/acetone leverde een 90% recovery voor gamma-HCH (18). Daarnaast is een ringtest uitgevoerd voor de soxhlet-extractie van PCB's uit sedimenten (19). De reden voor het toch nog veelvuldige gebruik van de soxhlet methode is vooral gelegen in de geringe kosten wat betreft apparatuurinvesteringen en de grote variatiemogelijkheden in de vloeistofsystemen. Bij een afwijkende soxhlet methode gebruik makende van methyleenchloride voor de extractie van PAK's, PCDD en PCDF uit sedimenten is een recovery van meer dan 70% in deze stap behaald (20). Andere onderzoekers zijn pessimistischer over de recoveries van de soxhlet extractie. Met name bestaan er twijfels over de bereikbaarheid van de verontreiniging voor het oplosmiddel in bodem-aggregaten. Bij een soxhletextractie bepaalt alleen het oplosmiddel de bereikbaarheid. Schudden en/of mechanisch verkleinen van de grond vergroot de bereikbaarheid (21).

Een snellere methode is het continu in contact brengen van de matrix en het oplosmiddel. Door het te analyseren monster in contact te brengen met het oplosmiddel zal in de tijd een uitloging van het monster ontstaan en afhankelijk van de oplosbaarheid van de te bepalen component(en) in het gekozen oplosmiddel zal er een bepaald rendement behaald kunnen worden. In 1975 is door Luke (12) reeds een methode beschreven waarin een aantal apolaire en een aantal polaire componenten konden worden geëxtraheerd met behulp van acetone gevolgd door dichloormethaan. Deze methode is verbeterd door Luke et al (22). In het algemeen kan het rendement verhoogd worden of in kortere tijd bereikt worden door het contact tussen monster en oplosmiddel te intensiveren. Dit kan plaats vinden door het geheel ultrasoon te trillen of krachtig te roeren door middel van een "Warring Blendor" of een "Ultra Turrax".

Bij de extractie met aceton van zowel polaire als apolaire componenten is de vervolgstap van groot belang (12, 23). Na de acetoneextractie kan een partitie plaats vinden met een mengsel van dichloormethaan en hexaan of petroleumether. De apolaire componenten gaan relatief gemakkelijk over naar de organische fase terwijl een gedeelte van de polaire componenten in de waterige fase achterblijft. De verdeling kan beïnvloed worden door het water met natriumchloride te verzadigen (23). Deze methodiek kan dus in geval van de aanwezigheid van polaire interferenties tevens beschouwd worden als een opzuivering.

In het algemeen wordt gestreefd naar extractiemethoden die minder arbeid vereisen, minder chemische afvalstromen veroorzaken en ook geschikt te maken zijn voor de extractie van analyten uit sterk adsorberende bodems. Micro-stoomdestillatie is een techniek die voor bovenstaand doel zeer geschikt lijkt. Stoomdestillatie (SDE) is de meest gebruikte methode voor het isoleren van de vluchtige componenten uit plantaardig materiaal (24) b.v. etherische oliën. Uit onderzoek door Godefroot et al. (25) is gebleken dat de micro-SDE ook geschikt is voor het bepalen van organochloorpesticiden en PCB's. Een recoverytest van een modelsysteem met een aantal pesticiden (o.a. HCH, HCB en DDT; in de concentratie van 0,4 tot 4 ug/kg) gaf het een gemiddelde recovery van 99,7% bij een onafhankelijke duplo. Het bleek dat een langere extractietijd geen hogere recovery gaf. Een recoverytest met PCB's (10 ug/kg Arochlor 1030) gaf een gemiddelde recovery van 94,9% bij een onafhankelijke duplo.

Een groot nadeel van micro stoomdestillatie is dat de techniek niet gemakkelijk is te automatiseren.

De belangrijkste trend die is waar te nemen in de extractie van organische componenten uit bodems is de ontwikkeling van superkritische fase extractie (SFE). Superkritische fase extractie is een techniek die de laatste jaren steeds meer wordt toegepast waarbij een superkritisch medium wordt gebruikt. Door de lage viscositeit van een superkritisch medium, vergelijkbaar met een gas, kan het medium het monster gemakkelijk binnendringen. Door de hoge diffusie-coëfficiënt vindt er een snelle massa-overdracht plaats in superkritische media. SFE is niet alleen toepasbaar voor vaste monsters. Met SFE is het mogelijk om pesticiden in grond met een zeer lage detectiegrens te bepalen. Lopez-Avila et al. (26) onderzochten, voor de bepaling in grond, de ontwikkeling van simultane SFE en derivatisering van een aantal herbiciden (fenoxycarbonsuren). SFE met superkritische CO₂ voldeed hierbij optimaal. Het betrof hierbij enkele goed gedefinieerde bodems met organische stofgehalten van resp. 0,1% en 1,8%. door. De ontwikkelingen binnen SFE bestaan uit het modificeren van de CO₂, door bijvoorbeeld het toevoegen van methanol of dichloormethaan, zodat een grotere range van analyt-polariteiten kan worden onderzocht. CO₂ is de meest gebruikte SFE 'vloeistof' wegens de lage toxiciteit, de lage kosten en vooral de lage kritische temperatuur en druk die nodig zijn voor de SFE (80°C en 400 atm). Naast de opkomst van SFE zijn er nog twee technieken in opkomst te weten ASE (Accelerated Solvent Extraction) en MSPS (Microwave Sample Preparation System). Bij Ase wordt het extractiemiddel (organisch oplosmiddel) onder hoge druk en een relatief hoge temperatuur in aanraking gebracht met het te analyseren monster. Na verloop van tijd wordt het oplosmiddel met behulp van stikstof uit het monster in een vial geperst.

Vervolgens kan het extract gezuiverd worden of indien mogelijk direct gemeten worden. De eerste resultaten over de analyse van polycyclische aromatische koolwaterstoffen zijn reeds in 1995 gepubliceerd (27) en zijn bijzonder bemoedigend. Ook zijn methoden voor de extractie van gechloroerde bestrijdingsmiddelen, gebaseerd op ASE, door de US EPA (United States Environmental Protection Agency) geaccepteerd. Net als bij SFE is ook ASE gemakkelijk te automatiseren. Bij MSPS wordt het monster in een afsluitbaar vaatje van teflon gebracht, het organisch oplosmiddel wordt toegevoegd en het vaatje wordt afgesloten. Vervolgens wordt het vaatje in een microwave geplaatst en de temperatuur van het oplosmiddel wordt snel op een hoge temperatuur gebracht. Extractietijden en extractie volumina kunnen zeer sterk gereduceerd worden. Het grote voordeel van MSPS ten opzichte van SFE en ASE is dat de extractie hier batchgewijs gaat. Per extractie cyclus kunnen circa tien monsters opgewerkt worden.

3.2 Opzuivering

Afhankelijk van de matrix en het gewenste detectieniveau kan een opzuivering na extractie nodig zijn. In de literatuur zijn een groot aantal systemen beschreven (10,11,28) waarbij gebruik gemaakt wordt van vloeistof-vloeistof partitie en/of kolomchromatografie. De door Luke beschreven methode (12) is sterk verbeterd door toepassing van petroleumether bij de extractie (29), waardoor de cleanup met florisil kon vervallen. Alhoewel de beschreven methode ontwikkeld is voor de bepaling van pesticiden in groenten en fruit is het principe mogelijk ook van toepassing voor grond.

Een veel gebruikte methode bij de analyse van groenten, fruit en biologisch materiaal is gelpermeatie-chromatografie (23,30). Bij deze methode vindt een scheiding plaats op grond van molecuulgewicht. Relatief grote moleculen zoals vetten en kleurstoffen kunnen gemakkelijk verwijderd worden. Bij de door Luke beschreven methode (12) kan een opzuivering vrij gemakkelijk uitgevoerd worden door de organische fase (aceton/petroleumether/dichloormethaan) uit te schudden met water. Er ontstaan op deze wijze twee fracties namelijk een water/acetonfractie en een petroleumether/dichloormethaanfractie. Mogelijk storende polaire componenten uit het monster gaan naar de waterige fase terwijl de meer apolaire bestrijdingsmiddelen zich in de organische fase bevinden.

3.3 Meting

3.3.1. Algemeen

In de afgelopen jaren is gaschromatografie/massaspectrometrie (GC/MS) één van de steunpilaren geworden voor de zgn. "multiresidu pesticiden screenings-methoden" (31,32) en voor kwantitatieve metingen op laag niveau. De GC/MS combinatie kan worden gebruikt voor screening met de mogelijkheid van simultane detectie en confirmatie (33). Het massabereik van de massaspectrometer wordt zodanig ingesteld dat alle in aanmerking komende componenten gemeten kunnen worden (Full Scan (FS)).

In een database worden per component criteria vastgelegd die betrekking hebben op o.a. de relatieve retentietijd, het massaspectrum, de signaal/ruis-verhouding en de ionen nodig voor kwantificering. Een automatische procedure zorgt voor een vergelijking van per component vastgestelde

gaschromatografische en massa-spectrometrische criteria met de geregistreerde spectra van gevonden componenten (34). Wanneer er voorkennis is over de te meten componenten dan kan de massaspectrometer zodanig worden ingesteld dat per component één of meerdere ionen gemeten worden die kenmerkend zijn voor de te meten componenten (Selective Ion Recording (SIR)). Vindt SIR plaats met een hoog oplossend vermogen massaspectrometer, waarbij de exacte massa van de te meten ionen kan worden ingesteld, dan kan er, dank zij de hoge selectiviteit, op een zeer laag niveau gemeten worden. Een belangrijk criterium voor de kwaliteit van een analysesysteem is de mate waarin de door het systeem gegenereerde resultaten reproduceerbaar zijn, m.a.w. hoe betrouwbaar is een verkregen uitkomst. Een aantal grootheden welke de validiteit van een methode beschrijven, zijn samengevat door Van de Wiel (39). Voor screeningsdoeleinden is het in de eerste plaats van belang dat de identificatie van de stoffen redelijk betrouwbaar is (d.w.z. geen vals negatieven), terwijl een beperkt aantal vals positieven acceptabel is. In de tweede plaats is het van belang een redelijke schatting te kunnen maken van het gehalte aan geïdentificeerde componenten. Voor kwantificeringsdoeleinden is het van belang om te weten dat het kwantificeringsion vrij is van interferentie. Afhankelijk van het ingestelde oplossend vermogen neemt de selectiviteit toe en daarmee de kans op interferenties af. Globaal vindt de identificatie van onbekende componenten plaats op grond van een vergelijking van de gemeten retentietijden en massaspectra in het te onderzoeken monster ten opzichte van een referentiestandaard. De reproduceerbaarheid van deze parameters is derhalve van wezenlijk belang voor een eenduidige identificatiemethode. De gehaltebepaling van de verschillende componenten is gebaseerd op de bepaling van het piekoppervlakte van geselecteerde ionen in het "Reconstructed Ion Chromatogram" (RIC). Nadat een verbinding als zodanig is geïdentificeerd wordt de respons gemeten door de intensiteit van slechts een aantal (voor deze verbinding) geselecteerde ionen in de tijd te meten: het RIC wordt weergegeven voor een beperkt aantal ionen en het oppervlakte van de piek in dit RIC wordt bepaald. Deze bepaling wordt eerst uitgevoerd voor de interne standaard en vervolgens voor "positieven". Met de relatieve respons (piekoppervlakte component gedeeld door piekoppervlakte interne standaard) wordt op grond van een (op overeenkomstige wijze bepaalde) ijklijn het gehalte berekend.

3.3.2 Isotoopverduunningsmethode

Voor het uitvoeren van kwantitatieve massaspectrometrie is de toepassing van isotoopverduunning de geëigende methode (35,36,37). Gebruikt wordt een stabiel gelabelde isotoop, van de te onderzoeken component, welke als interne standaard bij de gehele analysegang wordt gebruikt. De isotoop wordt aan het te onderzoeken monster toegevoegd alvorens de opwerking wordt gestart. Aangenomen wordt, dat de isotoop zich chemisch en fysisch identiek gedraagt aan de niet gelabelde verbinding. Gedurende de gehele analysegang zal de verhouding van de ongelabelde verbinding en de gelabelde verbinding zich dan ook niet wijzigen.

Na de massaspectrometrische meting met b.v. SIR kan de verhouding van de intensiteiten van de massaspectrometrische pieken van de gelabelde verbinding ($I(l)$) en de ongelabelde verbinding ($I(u)$) bepaald worden. Uit deze verhouding kan, wanneer het verband tussen de massaspectrometrisch gemeten $I(u)/I(l)$ en de bekende concentratie verhouding $C(u)/C(i)$ bepaald is, het gehalte van de ongelabelde verbinding in het monster berekend worden. Het verband tussen $I(u)/I(l)$ en $C(u)/C(l)$ wordt

verkregen door het maken van een ijklijn. De bekende concentratieverhouding wordt verkregen door standaarden te maken met een vaste hoeveelheid gelabelde verbinding en een variabele hoeveelheid van de ongelabelde verbinding. Aansluitend wordt de verhouding van de massaspectrometrische signalen i_u/i_l grafisch uitgezet tegen de concentratie verhouding $C(u)/C(1)$. Wanneer er een rechte lijn verkregen wordt welke door de oorsprong gaat (lineaire functie: $y = ax$) kan geconcludeerd worden dat er geen interferentie is (37,38).

In het algemeen dient er rekening mee gehouden te worden, dat er wel interferenties optreden b.v. doordat de gelabelde verbinding nog wat ongelabeld materiaal bevat.

Bovendien kan er een massaspectrometrische interferentie ontstaan b.v. van de ^{13}C natuurlijke isotoop van de ongelabelde verbinding met een enkelvoudige deuterium label van de gelabelde verbinding.

Van belang is het dan ook om te weten of de gelabelde componenten vrij zijn van ongelabeld materiaal en welke fragmentionen van de gelabelde verbinding de fragmentionen van de ongelabelde verbinding interfereren en/of welke fragmentionen van de ongelabelde verbinding de fragmentionen van de gelabelde verbinding interfereren.

Voorbeelden van ijklijnen bij verschillende interferenties zijn gegeven in bijlage 1.

Voor de kwantitatieve bepaling van de te onderzoeken componenten zijn gelabelde verbindingen aangeschaft.

4 DISCUSSIE EN CONCLUSIES

De toe te passen methodiek dient er op gericht te zijn om een zo'n nauwkeurige mogelijk kwantificatie van de te onderzoeken componenten te kunnen verrichten met een groot dynamisch bereik. Aangezien het aantal componenten welke kwantitatief bepaald moeten worden redelijk beperkt is, kan gekozen worden voor een zgn "Target Compound" benadering.

Voor de bepaling van bestrijdingsmiddelen en organische componenten in grond, met voor de te bepalen pesticiden gelijke fysisch-chemische eigenschappen, zijn een aantal extractiemethoden geschikt. Op grond van tijdsduur en verbruik aan milieu belastende chemicaliën is toepassing van de Soxhletmethode voor het uitvoeren van screeningsonderzoek minder wenselijk.

Micro-stoomdestillatie heeft als grootste nadeel dat het proces tijdrovend is en beperkt in toepassingsgebied.

Het continu in contact brengen van de te extraheren monsters met een geschikt oplosmiddel is een zeer geschikte methode voor het gewenste onderzoek. Afhankelijk van de fysisch/chemische eigenschappen van de te bepalen componenten kan een oplosmiddel of een mengsel van oplosmiddelen geselecteerd worden om de extractie zo optimaal mogelijk uit te voeren. In het algemeen kan het rendement verhoogd worden of in kortere tijd bereikt worden door het contact tussen monster en oplosmiddel te intensiveren. Dit kan plaats vinden door het geheel ultrasoon te trillen of krachtig te roeren door middel van een "Warring Blendor" of een "Ultra Turrax", waarbij het gebruik van de Ultra Turrax in zeer korte tijd voor de meeste componenten een hoog rendement oplevert.

Toepassing van SFE, ASE en MSPS lijkt theoretisch goed mogelijk, echter een kostbare investering is noodzakelijk. De extractietijd bij SFE is per monster relatief kort. Bij het opwerken van meerdere monsters is, doordat SFE sequentieel uitgevoerd wordt, de totale opwerkijd voor één serie aanzienlijk. Onder standaardconditie is SFE geschikt voor de extractie van apolaire componenten die niet al te sterk gebonden zijn aan het organische materiaal in de monsters. Wanneer sterk gebonden componenten geanalyseerd moeten worden zijn extreme omstandigheden zoals hoge druk, hoge temperatuur en toevoeging van een polaire modifier nodig. Bij MSPS wordt de extractie batchgewijs uitgevoerd. Afhankelijk van de configuratie van de apparatuur kunnen zes tot tien monsters tegelijkertijd worden geëxtraheerd. Een nadeel van MSPS is dat de monster grootte beperkt is.

Voor de meting van de uitgangsstoffen alsmede voor een aantal bekende intermediaire zal GC-MS gebruikt worden in de SIR mode waarbij het oplossend vermogen zodanig ingesteld is dat er geen interferenties optreden. De kwantificering zal plaatsvinden door middel van de isotoopverduunningstechniek. Voor het opsporen van mogelijke afbraakproducten is GC-MS gebaseerd op Ion Trap technologie de beste methode.

5 PLAN VAN AANPAK

Door het Proefstation voor de Champignoncultuur zullen een aantal gronden en/of baggerspecies verzameld worden in voldoende hoeveelheid met verontreinigingen zoals vermeld in tabel 1. Deze monsters zullen opgewerkt worden met de standaard NEN methode en indien mogelijk met SFE, ASE en MSPS. Elk monster zal met de hierboven genoemde opwerkingsmethode in vijfvoud worden geëxtraheerd. Ter controle van de analysegang zullen gespikte monsters meegenomen worden. Hierbij wordt uitgegaan van grond uit een onverdacht gebied welke wordt gemengd met schone champost. De exacte uitvoering zal vastgelegd worden in een protocol.

Vervolgens zullen de extracten met GC-MS gemeten worden waarna de gehalten berekend worden. Op deze wijze wordt niet alleen informatie verkregen welke extractie methode te prefereren is maar ook wordt informatie verkregen over de gehalten. De aldus verkregen gehalten zullen gebruikt worden voor het maken van een mengmonster waarmee de laboratorium experimenten door het Proefstation voor de Champignoncultuur in samenwerking met de Katholieke Universiteit van Nijmegen en RIKILT-DLO zullen worden uitgevoerd.

De informatie welke wordt verkregen uit de verschillende extractiemethoden zal gerapporteerd worden en afhankelijk van de resultaten zal er gekozen worden voor een methodiek welke bij het vervolgonderzoek zal worden gebruikt. Bij de keuze zullen naast analytische aspecten ook economische aspecten meegenomen worden.

LITERATUUR

1. Bijlage 6, Behorend bij conceptcirculaire d.d. 28 april 1994, artnr. 2, Leidraad Bodembescherming 3e Nota Waterhuishouding en MilBoWa
2. C.A.J. Denneman, C.A.M. van Gestel; RIVM rapport no 72501001, 1990
3. P. Lagas, H. Snelting, R. van de Berg; RIVM rapport no 72501002, 1990
4. J.B.H.J. Linders; RIVM rapport no 72501003, 1990
5. J.J.C. Kliest; RIVM rapport no 725201004, 1991
6. T.G. Vermeire, M.E. van Apeldoorn, J.C. de Fouw, P.J.C.M. Janssen; RIVM rapport no 725201005, 1991
7. R. van de Berg; RIVM rapport no 725201006, 1994
8. R. van de Berg, J.M. Roels; RIVM rapport no 725201007, 1991
9. C.A.J. Denneman, C.A.M. van Gestel; RIVM rapport no 725201008, 1991
10. J. Sherma; Anal. Chem., 1989, vol 61, p. 153-165
11. J. Sherma; Anal. Chem., 1993, vol 65, p. 40-54
12. M.A. Luke, J.E. Froberg, H.T. Masumoto; J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1975, vol 58, p. 1020-1026
13. D. Sawyer; Research in Pesticides, Appendix B, Pesticide Analytical Manual (1987) vol I, II, Food and Drug Administration, Washington DC
14. BODEM: Gaschromatografische bepaling van het gehalte aan vluchtige aromatische koolwaterstoffen en vluchtige gehalogeneerde koolwaterstoffen met behulp van de "purge and trap" methode en thermische desorptie NVN 5732
15. BODEM: Monstervoorbehandeling voor de bepaling van organische parameters in grond. NVN 5730
16. BODEM: Bepaling van de gehalten aan organochloorbestrijdingsmiddelen, chloorbenzenen en polychloorbifenylen in waterbodem met behulp van gaschromatografie. NEN 5718
17. BODEM: Bepaling van de gehalten aan organochloorbestrijdingsmiddelen, chloorbenzenen en polychloorbifenylen in grond. NEN 5734
18. G.H. Tan, K. Vijayaletchumy; Pestic. Sci., 1994, vol 40, p. 121-126
19. A.L. Alford-Stevens, Environ. Sci. Technol 1987, 20, 1194-1199
20. Y.L. Tan, A. Kong, Y.O. Chiu; Estuaries, 1993, vol 16, p. 427-432
21. J. Harmsen, P.F.M. Frintrop, F. Lamé; (publikatie in voorbereiding)
22. M.A. Luke, H.T. Masumoto, T. Cairns, H.K. Hundley; J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1988, vol 71, p. 415-433
23. J.J. Blaha, P.J.J. Jackson; J. Assoc. Off. Anal. Chem, 1985, vol 68, p. 1095-1099
24. Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd edition (1978), volume 16, p. 307-329
25. M. Godefroot; Journal of HRC&CC, 1982, p. 75-79
26. V. Lopez-Avila, N.S. Dodhiwala; J. Agric. Food Chem., 1993, vol 41, p. 2038-2044
27. B.E. Richter, J.L. Ezzell, D. Felix, K.A. Roberts and D.W. Later, American Laboratory 1995, February