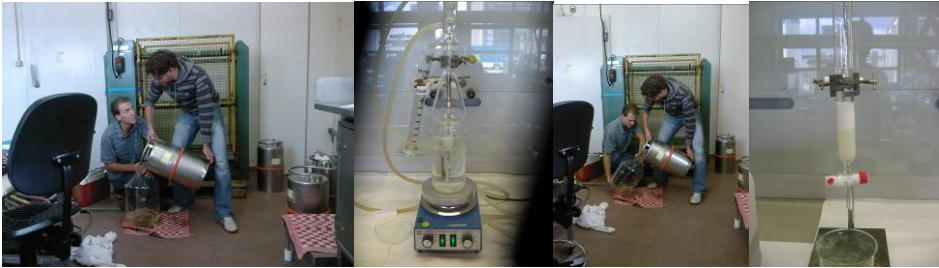


Het concentreren en opwerken van waterige monsters volgens de XAD procedure

Drs. I. Velzeboer en Dr. P. Korytar

Rapport C130/07



Institute for Marine Resources and Ecosystem Studies

Wageningen *IMARES*

Vestiging IJmuiden

Opdrachtgever: Rijkswaterstaat Waterdienst
T.a.v. de heer S.G.P. Rotteveel
Postbus 17
8200 AA Lelystad

Publicatiedatum: 14-12-2007

- Wageningen **IMARES** levert kennis die nodig is voor het duurzaam beschermen, oogsten en ruimte gebruik van zee- en zilte kustgebieden (Marine Living Resource Management).
- Wageningen **IMARES** is daarin de kennispartner voor overheden, bedrijfsleven en maatschappelijke organisaties voor wie marine living resources van belang zijn.
- Wageningen **IMARES** doet daarvoor strategisch en toegepast ecologisch onderzoek in perspectief van ecologische en economische ontwikkelingen.

© 2007 Wageningen **IMARES**

Wageningen IMARES is een samenwerkingsverband tussen Wageningen UR en TNO.
Wij zijn geregistreerd in het Handelsregister Amsterdam nr. 34135929,
BTW nr. NL 811383696B04.



A_4_3_1-V4

De Directie van Wageningen IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van Wageningen IMARES; opdrachtgever vrijwaart Wageningen IMARES 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	3
1. Inleiding	4
2. Analyselijst opgewerkte monsters	5
Bijlage 1	7
Verantwoording	11

1. Inleiding

In opdracht van RWS-RIZA is het project “Het concentreren en opwerken van waterige monsters volgens de XAD procedure” uitgevoerd. De XAD procedure is uitgevoerd volgens een protocol dat is gebaseerd op methoden ontwikkeld bij het RIVM, Laboratorium voor Ecotoxicologie te Bilthoven. Het protocol “monstervoorbewerking voor toepassing in toxiciteit testen” is opgenomen in Bijlage 1.

Maadjeda Tjon Atsoi, analist van IMARES heeft bij het RIVM een training XAD gevolgd, om de procedure vervolgens bij IMARES zelfstandig uit te kunnen voeren.

De monsters zijn in batches van 4 tot 8 monsters binnengekomen en bewerkt. De opwerking bestaat uit 2 stappen, de concentratie van de monsters met XAD en de opwerking van de XAD-extracten tot waterige monsters. Daarna zijn de waterige monsters naar TNO IMARES in Den Helder gegaan voor beoordeling van de toxiciteit.

2. Analyserijst opgewerkte monsters

In de onderstaande tabel (tabel 1) zijn alle monsters weergegeven die zijn voorberekt volgens de XAD procedure. In de eerste kolom staan het aantal monsters dat is voorberekt. In de tweede kolom is de monstercode van binnenkomst vermeld. In de derde kolom zijn de LIMS nummers gegeven, dat zijn de monstercodes zoals die bij Wageningen IMARES in het systeem staan. In de vierde kolom is de ontvangstdatum van de monsters weergegeven. In de vijfde kolom is de datum dat de XAD voorberekte monsters naar TNO IMARES in Den Helder zijn gegaan, voor beoordeling van de toxiciteit. De laatste acht monsters zijn niet naar Den Helder gegaan, maar naar Rijkswaterstaat Waterdienst in Lelystad.

Tabel 1. Overzicht van de opgewerkte monsters.

Nr.	Monstercode	LIMS nummer	Ontvangstdatum	naar Den Helder
1	Nabezinktank	2007/0854	12-09-2007	23-10-2007
2	Continue zandfilter	2007/0855	12-09-2007	23-10-2007
3	Actiefkool	2007/0856	12-09-2007	23-10-2007
4	Vastbedfilter	2007/0857	12-09-2007	23-10-2007
5	FR lelystad-10-10	2007/0924	10-10-2007	23-10-2007
6	FR grou-10-10	2007/0925	10-10-2007	23-10-2007
7	FR joure-10-10	2007/0926	10-10-2007	23-10-2007
8	FR effluent-10-10	2007/0927	10-10-2007	23-10-2007
9	FR lelystad-17-10	2007/0964	17-10-2007	30-10-2007
10	FR grou-17-10	2007/0965	17-10-2007	30-10-2007
11	FR joure-17-10	2007/0966	17-10-2007	30-10-2007
12	FR effluent-17-10	2007/0967	17-10-2007	30-10-2007
13	B-7106 (HSF)	2007/0968	18-10-2007	30-10-2007
14	B-7105 (HAJ + o)	2007/0969	19-10-2007	30-10-2007
15	IM951-26-10	2007/0979	26-10-2007	12-11-2007
16	IM952-26-10	2007/0980	26-10-2007	12-11-2007
17	IM953-26-10	2007/0981	26-10-2007	12-11-2007
18	IM954-26-10	2007/0982	26-10-2007	12-11-2007
19	IM955-26-10	2007/0983	26-10-2007	12-11-2007
20	IM956-26-10	2007/0984	26-10-2007	12-11-2007
21	IM957-26-10	2007/0985	26-10-2007	12-11-2007
22	IM958-26-10	2007/0986	26-10-2007	12-11-2007
23	HM-NB	2007/1014	08-11-2007	27-11-2007
24	HM-VB	2007/1015	08-11-2007	27-11-2007
25	HM-IS	2007/1016	08-11-2007	27-11-2007
26	HM-UF	2007/1017	08-11-2007	27-11-2007
27	ITCV1 23-11	2007/1110	23-11-2007	-
28	ITCV2 23-11	2007/1111	23-11-2007	-
29	ITCV3 23-11	2007/1112	23-11-2007	-
30	ITCV4 23-11	2007/1113	23-11-2007	-
31	ITCV5 23-11	2007/1114	23-11-2007	-
32	ITCV6 23-11	2007/1115	23-11-2007	-
33	ITCV7 23-11	2007/1116	23-11-2007	-
34	ITCV8 23-11	2007/1117	23-11-2007	-

De monsters die naar Rijkswaterstaat Waterdienst in Lelystad zijn gegaan volledig volgens de XAD procedure bewerkt. Het was de bedoeling om van die monsters de aceton-extracten te versturen. Dan zouden op deze monsters analyses kunnen worden verricht om meer inzicht te verkrijgen in het rendement van de extractie zonder KD (Kuderna-Dänish destillatie). IMARES biedt aan, om voor dit doel, van dezelfde hoeveelheid nieuwe monsters aceton-extracten te maken, zonder extra kosten in rekening te brengen.

Bijlage 1

Monstervoorbewerking voor toepassing in toxiciteitstesten

Trefwoorden : XAD, extracten, concentreren, eluaat, microverontreinigingen, monitoring, oppervlaktewater

1. Onderwerp

Dit protocol beschrijft de methoden die gehanteerd dienen te worden bij het opwerken van oppervlaktewatermonsters voor toepassing in toxiciteitstesten. Het opwerken bestaat uit drie onderdelen, waarbij uiteindelijk een geconcentreerd watermonster verkregen wordt waarmee toxiciteitstesten kunnen worden uitgevoerd. Het protocol is gebaseerd op methoden ontwikkeld bij het RIVM, Laboratorium voor Ecotoxicologie te Bilthoven.

2. Toepassingsgebied

Het protocol zoals hier beschreven, is primair opgezet voor oppervlaktewater, maar kan in principe voor ieder watermonster gebruikt worden.

3. Termen en definities

XAD	:	Polyaromatische adsorberende kunsthars (Amberlite)
Vaste fase extractie	:	extractie van vloeistoffen m.b.v. een vaste extractiemiddel.
Eluaat	:	organische fractie die na elueren over XAD kolom opgevangen wordt.
Waterconcentraat	:	waterig monster waarin microverontreinigingen in geconcentreerde vorm aanwezig zijn.
Concentreringsfactor	:	Waarde die de mate van concentrering van het uitgangsmontser aangeeft.

4. Principe opwerking watermonster

Bij het opwerken van watermonsters wordt er gestart met een concentrering van het monster m.b.v. XAD harsen. Hiertoe wordt het watermonster gemengd met de XAD harsen, waarbij apolaire en zwak polaire stoffen worden geïsoleerd. De harsen worden vervolgens geëluëerd met een organisch oplosmiddel, om vervolgens te worden opgewerkt tot een geconcentreerd watermonster. Hiertoe wordt het monster gedestilleerd, waarbij uiteindelijk een sterk geconcentreerd waterig monster overblijft. Dit monster kan vervolgens verdund worden ten behoeve van toxiciteitstesten.

5. Reagentia en hulpstoffen

Natronloog (4% v/v)
Perchlorzuur (HClO₄)
Methanol p.a.
Aceton p.a.
Milli-Q water
XAD-4 hars (Rohm & Haas, Antwerpen, België)
XAD-8 hars (Supelite DAX-8, Supelco, Aldrich, Zwijndrecht)
DSW (Dutch Standard Water), bestaande uit 1,36 mM CaCl₂; 0,50 mM MgSO₄; 1,14 mM NaHCO₃; 0,20 mM KHCO₃, pH= 8,2 ± 0,2
Stikstof
Cyclohexaan p.a.
Ethanol

6. Apparatuur en hulpmiddelen

Borosilicaat glazen flessen (bv. 10 liter) met dop met teflon inleg
Bekerglazen
Maatcilinders

Trechters

Elutiekolommen, □ 1,05 cm, 30 cm lang, glas met slijpstuk aan bovenkant en onderin glasfilter.

Verdeelpipet glas met wijde punt

Monstervials (30 en 60 ml) met crimpcap (Chrompack,, Bergen op Zoom)

Zeef, 50 µm, RVS

Diepvriezer

Rollerbank of eventueel magneetroerder

Glazen petrischalen

Analytische balans

Crimptang

Waterbad

Kuderna Danish (Mini opstelling) destillatie glaswerk (puntbuis64723 (2 ml), KD-kolf64729 (250 ml),

condensor/koeler64839, Supelco, Aldrich, Zwijndrecht)

Thermometer (min. 100□C)

Kooksteentjes

Aluminiumfolie

Digitale flowmeter (Alltech, Digital Flow Check, Breda)

Soxhlet extractie apparatuur

7. Voorbewerking XAD harsen

Alvorens de XAD harsen te kunnen gebruiken worden deze eerst gezuiverd. Hiertoe worden de harsen gespoeld met natronloog 4% (10 x herhalen) en vervolgens met perchloorzuur 4% (10 x herhalen). Hierna worden de harsen gewassen met Milli-Q (10 x herhalen) en vervolgens met methanol (2 x herhalen). De wasprocedure wordt vervolgd door een Soxhlet extractie met methanol (24 uur) en vervolgens een wasstap met ethanol (3 x herhalen). Vervolgens worden de harsen nogmaals met Soxhlet extractie behandeld met een mengsel van ethanol en cyclohexaan (30,5/69,5 V/V%). Als laatste worden de harsen met methanol gespoeld (5 x herhalen). De harsen worden hierna opgeslagen in methanol p.a. in het donker bij kamertemperatuur tot gebruik. Gezuiverde XAD hars (XAD-4 en XAD-8) is ook verkrijgbaar bij KIWA, Nieuwegein.

8. Werkwijze

Bij de beschrijving van de werkwijze is de opwerking in drie onderdelen opgesplitst : XAD extractie, elutie met aceton en opwerking aceton extract tot water concentraat.

8.1 XAD extractie

1 Neem per 60 liter watermonster 7,5 ml XAD-4 en 7,5 ml XAD-8.

2 Giet de XAD via een glazen trechter in een elutiekolom, zorg ervoor dat de XAD onder de methanol blijft. Begin met de XAD-4.

3 Spoel de XAD nu achtereenvolgens met :

2 x bedvolume methanol (=30ml)

2 x bedvolume aceton (=30 ml)

2 x bedvolume methanol (=30 ml)

6 x bedvolume water (=90 ml)

- Breng het XAD m.b.v. water en een schoon bekeerglas over in het watermonster (60 liter). Pas per 10 liter monsterfles steeds 2,5 ml XAD-4/8 af. Sluit de fles luchtdicht af, gebruik evt. parafilm.

- Plaats de fles nu op een rollenbank (of magneetroerder) en meng het monster met het hars minimaal 48 uur bij kamertemperatuur (adsorptie).

- Zeef na minimaal 48 uur het XAD af over een 50µm zeef. Droog het XAD m.b.v. tissues aan onderzijde van zeef.

4 Breng het XAD over in een petrischaal (□ 10 cm) waarvan het leeggewicht bepaald is, en verdeel de XAD zo goed mogelijk over het gehele oppervlak van de petrischaal. Schud tijdens het drogen de petrischaal enige malen op.

5 Droog de XAD gedurende minimaal 18 uur in een werkende zuurkast.

6 De XAD (15 ml op methanol basis) is voldoende droog indien het gewicht < 4,5 gram is.

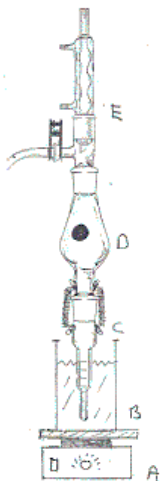
8.2 Elutie XAD met aceton

- Breng de droge XAD over in een schone elutiekolom (L=30 cm, □ 1.05 cm). Zie apparatuur

- Voeg zoveel aceton toe zodat alle XAD onder de vloeistof staat.
- Verwijder eventuele luchtbellen door de kolom enige malen te zwenken.
- Elueer met 25 ml aceton. Elueer langzaam om het elutieproces goed te laten verlopen (ca. 30 min.).
- Vang het eluaat op in een monstervial van 30 ml. Noteer volume op monsterformulier (bijlage 1).
- Sluit de monstervial af en bewaar deze in de diepvriezer.

8.3 Opwerking aceton eluaat tot waterconcentraat (KD-destillatie)

- Stel een Kuderna-Dänish (KD) destillatieopstelling op in een zuurkast. Hiertoe wordt de puntbuis in het waterbad gehangen. Hierop wordt de kolf aangekoppeld, die aangesloten wordt op de condensor/bolkoeler (zie figuur 1).
- Breng de temperatuur van het waterbad op 65-70 °C, en zet het koelwater aan.
- Breng het acetoneeluaat kwantitatief over in de KD-opstelling.
- Voeg een kooksteentje en 0,5 ml Milli-Q toe.
- Start de destillatie door de opstelling in het waterbad te plaatsen. Pak de kolf in met aluminiumfolie.
- Stop met destilleren zodra het residu niet meer kookt, ca. 0.2 ml (let op dat er niet te lang wordt door gedestilleerd).
- Verwijder direct de puntbuis, en sluit deze af. Noteer kleur residu op monsterformulier (bijlage 1).
- Breng het residu m.b.v. DSW kwantitatief over in een monstervial van 60 ml en vul deze tot een gewicht van 60 gram.
- Sluit de vial af en bewaar deze in koelkast tot gebruik.



- Noteer gegevens op Monsterformulier (bijlage 1)

Figuur 1. Opstelling KD-destillatie: a) verwarmingsplaat, b) waterbad, c) puntbuis, d) KD-kolf, e) condensor/koeler.

9. Berekening concentreringsfactor

De concentreringsfactor van een monster is als volgt te berekenen:

$$\frac{\text{uitgangsvolume van het monster (ml)}}{\text{volume waterconcentraat (ml)}} = \text{concentreringsfactor}$$

Bij de beschreven procedure is de concentreringsfactor : 1000 x

10. Rapportage

De rapportage van de resultaten van de opwerkingsprocedures zullen plaatsvinden op het bijbehorende formulier, die in de bijlage is bijgevoegd.

Bijlage 1 : Monstergegevens XAD procedure, aceton elutie en KD-destillatie

11. Kwaliteitsborging

Om de kwaliteit van de opwerkingstechniek te waarborgen, dienen van de techniek de recovery en reproduceerbaarheid bekend te zijn. Hieronder zijn voor een tweetal type stoffen de recovery met standaarddeviatie gegeven (RIVM, 1997):

XAD concentrering (methode 1997, 3 maal elueren met aceton)

2,4 dichlooraniline

(in mengsel van 12 narcotiserende stoffen) 108 ± 7 % recovery (n=6)

diuron

(in mengsel van 6 pesticiden) 99 ± 6% recovery (n=6)

Waterconcentraat (methode 1997, zonder N2 purging)

2,4 dichlooraniline

(in mengsel van 12 narcotiserende stoffen) 61 ± 7 % recovery (n=3)

diuron (pesticide)

(in mengsel van 6 pesticiden) 55 ± 3% recovery (n=3)

12. Veiligheid

- Draag tijdens het uitvoeren van de testen gepaste veiligheidskleding (laboratoriumjas veiligheidsbril en handschoenen).
- Beschouw de monsters als chemisch afval en voer het zodanig af.
- Werk in de zuurkast, aangezien er met organische oplosmiddelen gewerkt wordt.
- Lees voor gebruik de toxiciteitsgegevens en veiligheidsvoorschriften van te gebruiken oplosmiddelen.

13. Onderhoud

De specifieke apparatuur die gebruikt wordt bij de opwerking van de watermonsters zijn niet onderhavig aan periodiek onderhoud of calibraties.

14. Bijlagen

Bijlage 1 : Monstergegevens XAD procedure, aceton elutie en KD-destillatie

15. Literatuur

RIVM (1999) Document ECO/303/01. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Laboratorium voor Ecotoxicologie, februari 1999.

RIVM (1999) Document ECO/310/01. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Laboratorium voor Ecotoxicologie, februari 1999.

Beveren, J. van (1989) Voorschrift voor de XAD isolatie in watermonsters van 50 tot 300 liter, deel 2: de opwerking; KIWA Nieuwegein, juni 1989.

M.Collombom, R. van de Kamp, J. Struijs (1997). Procedures for extracting organic micro-pollutants from water samples to monitor toxicological stress. RIVM rapport nr. 607042 008.

Penders, E.J.M., Hoogeboezem, W. (2000) Biotesten, een bruikbaar instrument voor de kwaliteitsbewaking van oppervlaktewater. RIWA.

BIJLAGE 1: Monstergegevens XAD procedure, aceton elutie en KD-destillatie

Datum

Code monster Volume monster (l) Kleur destillatie residu Volume water concentraat

(ml) Opslag Opmerkingen

Verantwoording

Rapport C130/07
Projectnummer: 199.73013.01

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en beoordeeld door of namens het Wetenschapsteam van Wageningen IMARES.

Akkoord: Drs. J.H.M. Schobben
Hoofd afdeling Milieu



Handtekening:

Datum: 14-12-2007

Aantal exemplaren:	6
Aantal pagina's:	11
Aantal tabellen:	1
Aantal figuren:	1
Aantal bijlagen:	1