

NN31545.1273

mei 1981

INSTITUUT voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding
Wageningen

**BIBLIOTHEEK
STARINGGEBOUW**

DE ANALYSE VAN POLYCYCLISCHE AROMATEN IN WATER

MET BEHULP VAN VLOEISTOFCHROMATOGRAPHIE

BIBLIOTHEEK DE HAAFF

Droevendaalsesteeg 3a

Postbus 241

6700 AE Wageningen

A.C. v.d. Peppel

Nota's van het Instituut zijn in principe interne communicatie-
middelen, dus geen officiële publikaties.

Hun inhoud varieert sterk en kan zowel betrekking hebben op een
eenvoudige weergave van cijferreeksen, als op een concluderende
discussie van onderzoeksresultaten. In de meeste gevallen zullen
de conclusies echter van voorlopige aard zijn omdat het onderzoek
nog niet is afgesloten.

Bepaalde nota's komen niet voor verspreiding buiten het Instituut
in aanmerking

1790306

16 FEB. 1998



0000 0941 3341

I N H O U D

	Blz.
VOORWOORD	
1. INLEIDING	1
2. VORMINGSREACTIE EN STRUKTUURFORMULES POLYCYCLISCHE AROMATEN	2
3. VLOEISTOFCHROMATOGRAFIE	4
3.1. Principe vloeistofchromatografie	4
3.2. Gebruikte apparatuur	4
3.3. Kolom	5
3.4. Voorkolom	6
4. INTEGRATOREN	7
4.1. Packard 602	7
4.2. Vista 401	7
5. METHODE	9
5.1. Analyse op de de HPLC	9
5.2. Extractie	12
6. RESULTATEN EN DISCUSSIE	14
6.1. Monster percolatiewater	14
6.2. Monster Rijnwater	15
6.3. Rendement extractie	19
7. TROUBLESHOOTING	21
8. SAMENVATTING EN CONCLUSIES	23
9. LITERATUUR	24
BIJLAGE	

VOORWOORD

Dit verslag is geschreven voor het stagejaar van de HBO-B opleiding analytisch chemische richting van de STOVA (Stichting Tot Opleiding Van Analisten) te Wageningen.

De stageperiode is doorgebracht op het Waterkwaliteitslaboratorium van het Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding (ICW) te Wageningen.

Door het instituut is dit verslag tevens als nota uitgegeven. Het onderzoeksprogramma van het instituut is van uiteenlopende aard. De hoofdafdeling Waterkwaliteit houdt zich bezig met de kwaliteit van grond-, oppervlakte- en afvalwater in de land- en tuinbouwgebieden in ons land, en met de eventuele schadelijke gevolgen van dit water op het milieu.

Het 'Waterkwaliteitslaboratorium' houdt zich bezig met de analyses van dat water. Deze monsters worden geanalyseerd op verschillende organische en anorganische bestanddelen. De bepalingen gebeuren veelal met behulp van titrimetrische- en colorimetrische technieken, atomaire absorptie spectrometrie, gas- en vloeistofchromatografie.

In dit verslag wordt het eerste onderzoek beschreven dat door mij is verricht op het laboratorium en is mede tot stand gekomen dankzij J. Harmsen die mij tijdens de stage heeft begeleid.

1. INLEIDING

In vervuild water kunnen polycyclische aromaten (PCA's) voorkomen. Dit zijn apolaire organische stoffen. De analyse van deze stoffen is de laatste jaren actueel geworden omdat er aan deze stoffen kankerverwekkende eigenschappen worden toegeschreven.

Polycyclische aromaten komen vrij bij verbrandingsprocessen (kolen, olie), uitlaatgassen van auto's en bij industriële processen. Met neerslag kunnen deze stoffen vanuit de lucht in het oppervlaktewater terechtkomen.

In deze nota is de analyse beschreven van polycyclische aromaten met behulp van een vloeistofchromatograaf (HPLC) en een UV- en een fluorescentie detector. Deze methode wordt gebruikt voor analyses in drink- en oppervlaktewater. Een aantal onderzoekers gebruiken voor de berekening vooral de UV-spectrofotometrische detectie (SORELL en REDING, 1979), anderen de fluorescentie detectie (NOORDSIJ, KLOK en FERNS).

2. VORMINGSREACTIE EN STRUKTUURFORMULES POLYCYCLISCHE AROMATEN

In de literatuur worden verschillende vormingsreacties van polycyclische aromaten vermeld. Een van deze reacties is de pyro-synthese van Benzo(a)pyreen volgens BADGER (1965) (fig. 1).

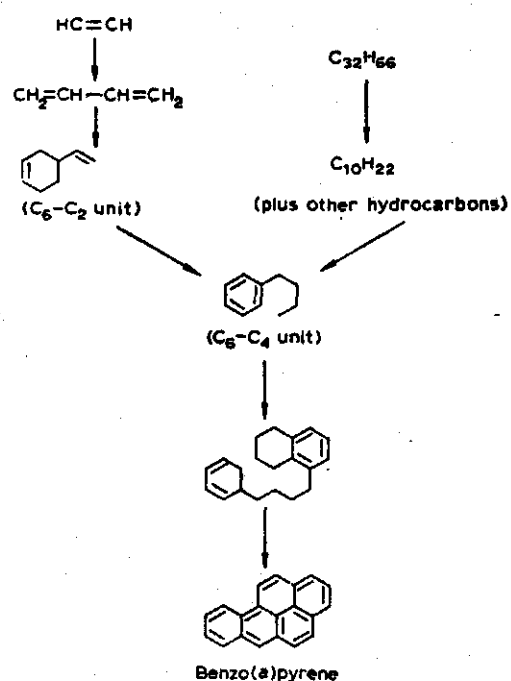


Fig. 1.

De andere elf onderzochte polycyclische aromaten (zie fig. 2) hebben soortgelijke vormingsreactie.

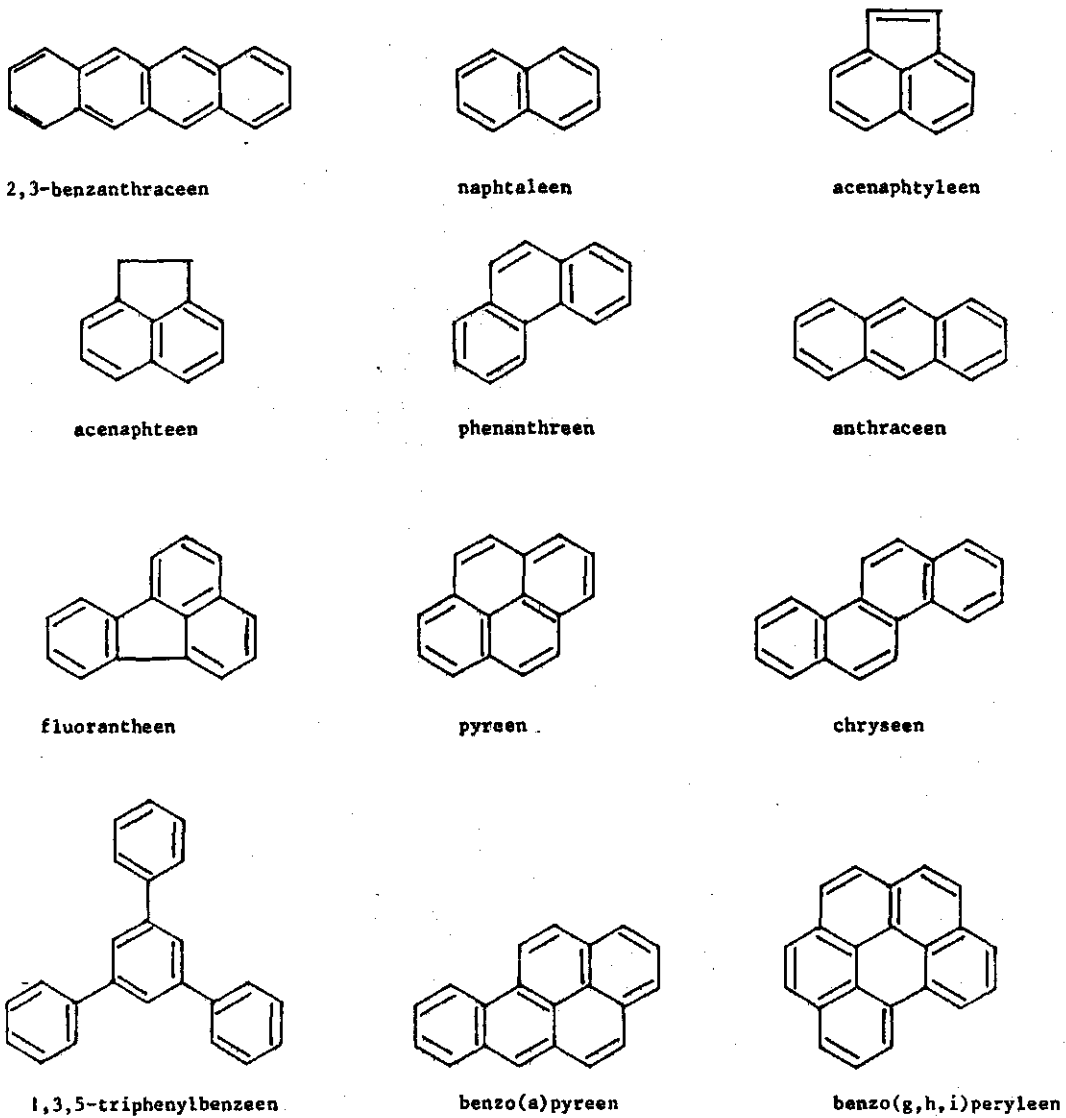


Fig. 2. Strukturformules onderzochte PCA's

3. VLOEISTOFCHROMATOGRAFIE

3.1. Principe vloeistofchromatografie

Het grondbeginsel van vloeistofchromatografie is de verdeling van een monster over twee fasen, namelijk de stationaire en de mobiele fase. De stationaire fase in het systeem is een vaste stof of een aan een vaste inerte stof (drager) gehechte vloeistof. De mobiele fase is een vloeistof of mengsel van vloeistoffen, die over een stationaire fase worden geleid.

Vloeistofchromatografie is jarenlang een techniek geweest met een beperkt scheidend vermogen. De scheiding kan worden verbeterd door de HETP kleiner te maken. De HETP wordt gegeven door de Van Deemter vergelijking:

$$\text{HETP} = A + \frac{B}{V} + C_v$$

Hierin zijn de factoren A (Eddy diffusie) en C_v (massa-transport) klein wanneer er als stationaire fase of als dragermateriaal kleine ronde deeltjes gebruikt worden (HARMSSEN, 1980). Voor dit soort chromatografie is een nieuwe naam ingevoerd, namelijk: HPLC = High Performance Liquid Chromatography. De P uit HPLC wordt vaak gelezen als pressure. Dit komt omdat er zeer hoge drukken nodig zijn (circa 100 atm.) om de vloeistof door de kolom te pompen.

3.2. Gebruikte apparatuur

Als vloeistofchromatograaf is de Varian 5020 Liquid Chromatograph gebruikt.

Bij de vloeistofchromatograaf bestaat de keuze uit drie vloeistoffen als mobiele fase, deze kunnen twee aan twee gemengd worden. De kleppen regelen de samenstelling van de mobiele fase. In de mengkamer worden de vloeistoffen zo gemengd, dat de samenstelling van de mobiele fase overal gelijk is. De pulsedemper zorgt ervoor dat de vloeistofsnelheid constant is en niet beïnvloed wordt door de pulsen van de pomp. De pulsedemper wordt gevolgd door de automatische loop injectiekraan.

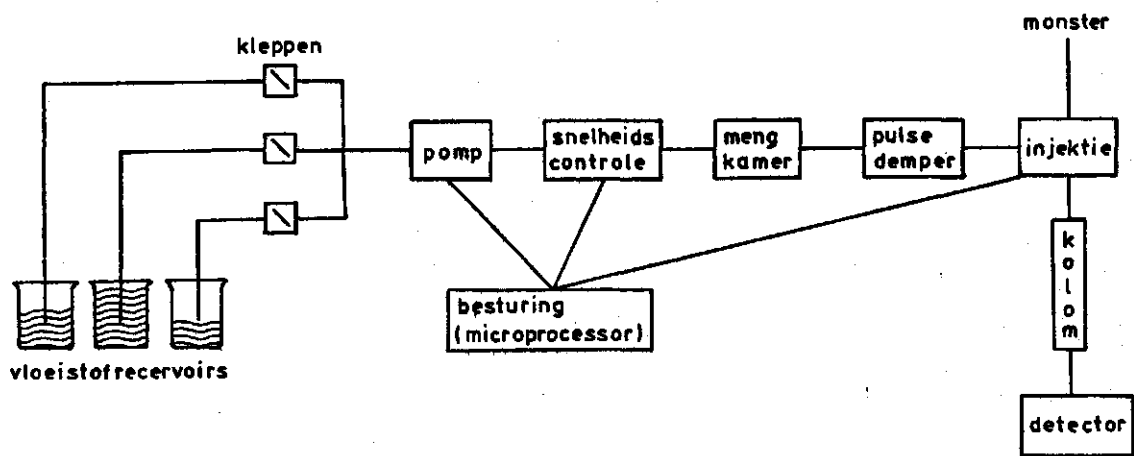


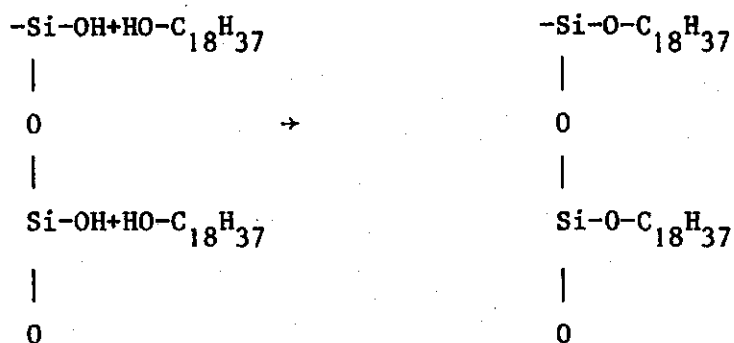
Fig. 3. Opbouw vloeistof chromatograaf (HARMSSEN, 1980)

Het monster gaat de kolom in, wordt gescheiden en als het de kolom uitkomt gedetecteerd door beide of een van beide detectoren. Deze detectoren zijn een UV-Spectrofotometer (VARIAN VARI-CHROM) en een fluorescentie meter (VARIAN Fluorichrom) beide uitgerust met een doorstroomcuvet. Beide detectoren kunnen aangesloten worden op een integrator, die retentietijden en piekoppervlakte meet, en na programmering het resultaat in bijvoorbeeld mg/l weergeeft. Het resultaat plus chromatogrammen wordt weergegeven door de recorder. De microprocessor regelt de werking van het gehele apparaat. De fluorescentiedetector is uitgerust met de excitatiefilters CS-7-60 en CS-7-54 (360 nm) en de emissiefilters CS-3-72 en CS-4-76 (boven 420 nm).

3.3. K o l o m

De kolom is van het type Lichrosorb 10 RP 18 (Chrompack). De scheiding vindt plaats op basis van verdelingschromatografie. De verdeling van het monster vindt plaats tussen de mobiele fase en het laagje 'vloeistof' dat is aangebracht op het dragermateriaal van

de kolom. Het beste resultaat wordt verkregen als de vloeistoflaag één molecuul dik is. Om dit te verkrijgen wordt de vloeistof chemisch gebonden aan de drager:



In dit geval is er een apolaire stof ($\text{C}_{18}\text{H}_{37}$) gebonden aan het dragermateriaal. Er wordt in dit geval gesproken van een reversed phase.

3.4. V o o r k o l o m

Voor de kolom bevindt zich nog een voorkolom (guardcolumn). Deze kolom is gevuld met 'Vydac Reverse Phase'. Dit is een poeder van ronde korreltjes met een poriegrootte van 20 μm . Deze vier cm lange kolom met een diameter van vier mm heeft als taak eventuele verontreinigingen in monster en loopvloeistof te absorberen. Het opvangen van de verontreinigingen in de voorkolom heeft als voordeel dat de grote kolom nu niet of nauwelijks in kwaliteit terugloopt. De voorkolom loopt wel in kwaliteit terug, maar deze kan in tegenstelling tot de grote kolom, als de kwaliteit te ver is teruggelopen, wel op het lab opnieuw gepakt worden. Er hoeft dan dus geen nieuwe dure kolom te worden aangeschaft.

4. INTEGRATOREN

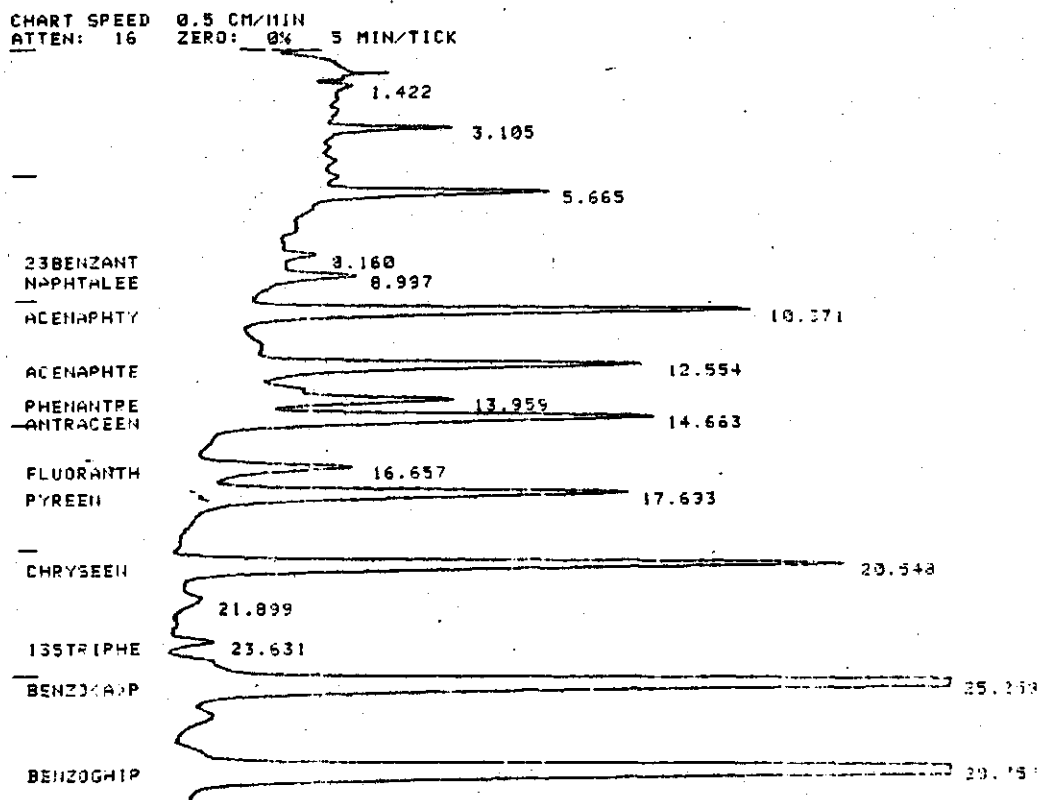
4.1. P a c k a r d 602

De integrator Packard model 602 (gebruikt bij analyse percolatie-water en fluorescentie detectie van het Rijnwater) meet de retentietijden en de piekoppervlaktes. Het chromatogram wordt weergegeven met een aparte recorder. Het uitzoeken welke stof bij welke piek behoort en het berekenen van het resultaat in concentraties moet met de hand worden gedaan.

4.2. V i s t a 401

De integrator Varian Vista CDS 401 (gebruikt voor de UV-spectrofotometrische detectie van het Rijnwater) kan naast het meten van retentietijden en het meten van piekoppervlaktes ook, na programmering, direct het resultaat in bijvoorbeeld mg/l weergeven. Er wordt dan een rapport bij het chromatogram gegeven zoals weergegeven in fig. 4 (standaard PCA's UV 300 nm).

1. Nummer van de gedetecteerde piek (berekend)
2. Naam van de geïdentificeerde piek (geprogrammeerd)
3. Concentratie in mg/l (berekend na calibratie)
4. Retentietijd in minuten (gemeten)
5. Afwijking van de geprogrammeerde retentietijd
6. Piekoppervlakte (gemeten)
7. Code die aangeeft op welke wijze de piek geïntegreerd is. Hierin is B baseline en V valley
8. Gemeten of berekende piekbreedte op halve hoogte (? is berekend door integrator)



PSCALC
 TITLE: ANALYSE POLYCYCLISCHE AROMATEN 11:44 6 FEB 3
 CHANNEL NO: 1 SAMPLE: STANDARD METHOD: PCA300

PEAK NO	PEAK NAME	RESULT MG/L	TIME (MIN)	TIME OFFSET	AREA COUNTS	SEP CODE	HL 2 (SEC)
4	23BENZANT	23.2000	8.160	0.003	10335	BV	? 11.50
5	NAPHTALEE	54.0000	8.997	-0.003	30360	VB	? 15.10
6	ACENAPHTY	33.2000	10.371	0.001	18331	BB	? 17.10
7	ACENAPHTE	32.0000	12.554	0.004	16327	BB	? 14.10
8	PHENANTRE	33.2000	13.958	-0.002	11290	VV	? 18.15
9	ANTRACEN	35.4000	14.662	0.012	20266	VB	? 21.75
10	FLUOPANTH	29.6000	16.657	-0.003	73515	BV	? 22.05
11	PYREEN	32.4000	17.692	0.002	20273	VB	? 22.35
12	CHRYSSEIN	38.8000	20.548	-0.002	28343	BB	? 21.75
14	13STRIPHE	34.0000	23.631	0.001	12399	BV	? 17.15
15	BENZOCAP	36.0000	25.259	-0.001	65432	VB	? 23.15
16	BENZOGHIP	34.4000	28.757	-0.003	90151	BB	? 24.10

TOTALS: 423.5830 0.006 2746330

UNIDENT AREA: 107047
 DETECTED PKS: 16 REJECTED PKS: 0
 DIVISOR: 1.00000 MULTIPLIER: 1.00000
 NOISE: 37.6 OFFSET: 1165

Fig. 4. Chromatogram en rapport van het standaardmonster gemeten bij 300 nm

5. METHODE

5.1. Analyse op de HPLC

Er is een standaardoplossing gemaakt van de twaalf te onderzoeken polycyclische aromaten in acetonitril (tabel 1).

Tabel 1. Onderzochte polycyclische aromaten

Naam	Conc. in mg/l	Kankerverwekkend	Literatuur
2,3 benzantraceen	29,2	niet bewezen	Merck Index
Naphtaleen	54,8	niet	
Acenaphtyleen	33,2	niet	
Acenaphteen	32,0	niet	
Phenantreen	33,2	waarschijnlijk	Merck Index
Anthraceen	36,0	niet	
Fluorantheen	29,6	niet	
Pyreen	32,4	wel	Merck Index
Chryseen	38,8	wel	Fishbein
1,3,5 triphenylbenzeen	34,0	niet	
Benzo(a)pyreen	36,0	wel	Merck Index
Benzo(g,h,i)peryleen	34,4	niet	

Opmerking: Als een stof niet kankerverwekkend is, betekent het niet dat deze stof niet schadelijk is

Van deze standaardoplossing is 10 µl geïnjecteerd op de vloeistofchromatograaf. Als mobiele fase is bij deze analyse een mengsel van water en acetonitril gebruikt. Aan het begin van de analyse zijn de percentages 50% water en 50% acetonitril (zie ook bijlage). Na de injectie is in deze percentages een gradiënt aangebracht waardoor op het tijdstip 30 minuten de percentages 0% water en 100% acetonitril worden bereikt. Deze gradiënt is aangelegd om zo de PCA's die aan het eind van het chromatogram uit de kolom komen naar voren te verschuiven. Dit gebeurt doordat ze beter in acetonitril dan in water oplossen.

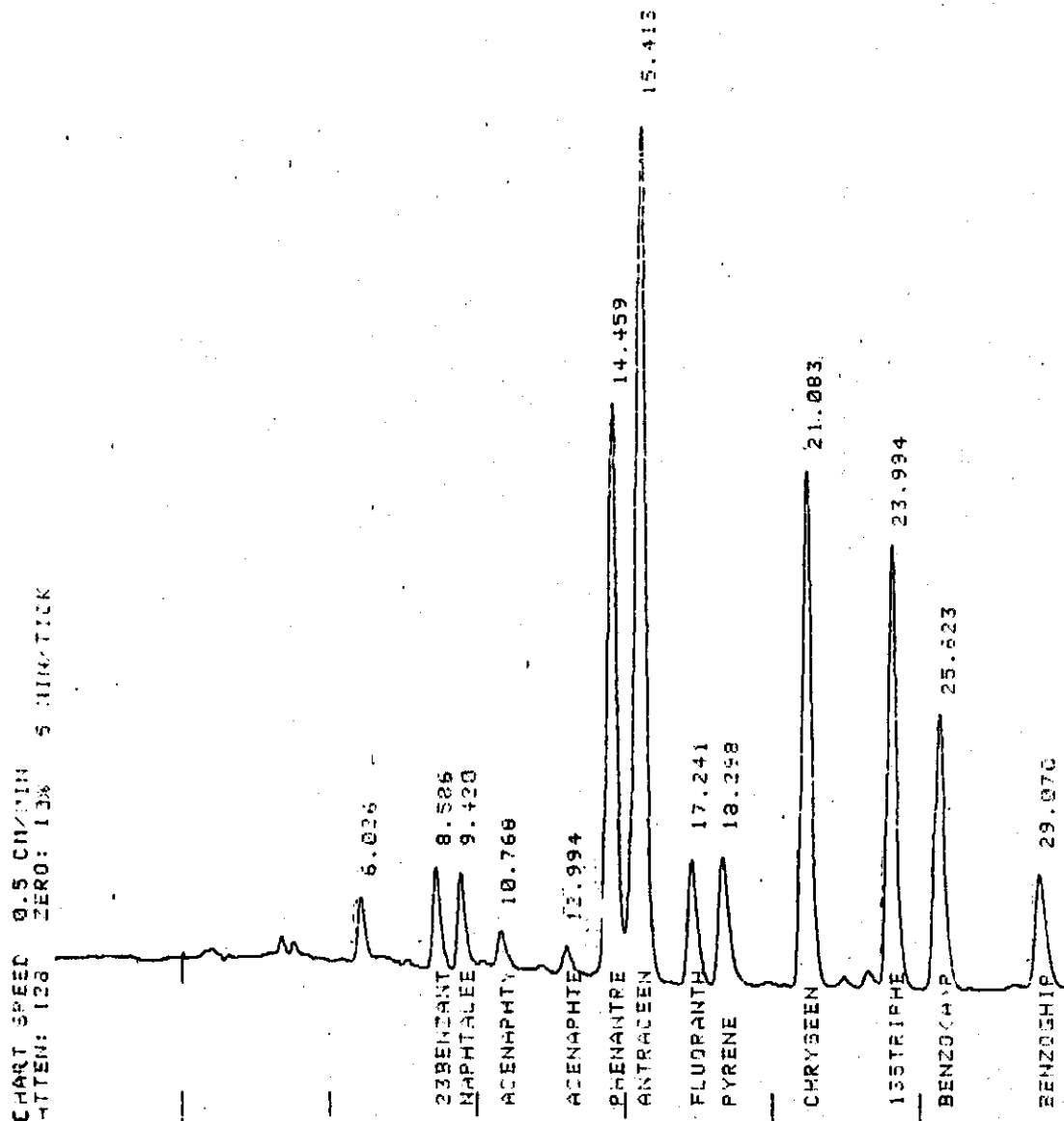


Fig. 5. Chromatogram standaardmonster bij 254 nm

Uit het verkregen chromatogram (fig. 5) is de piekoppervlakte per mg/l bepaald van elke stof. Hierna is de verhouding berekend tussen de piekoppervlakte per mg/l van phenantreen en de piekoppervlakte per mg/l van de andere elf PCA's en tussen die van fluorantheen en de elf andere PCA's (zie tabel 2).

Van phenantreen en fluorantheen is een standaardreeks in acetonitril gemaakt. Hiervan is bij UV 254 nm en bij UV 300 nm een ijklijn van phenantreen gemaakt en bij de fluorescentie een ijklijn van fluorantheen. (De ijklijn van fluorantheen bleek bij de UV-detectie niet reproduceerbaar te zijn).

Tabel 2. Factoren gebruikt bij de berekeningen van de PCA-concentraties uit de ijklijnen

	UV 254 nm	UV 300 nm	Fluorescentie
2,3 benzanthraceen	6,77	3,35	-
Naphtaleen	35,2	0,788	-
Acenaphtyleen	41,8	-	410
Acenaphteen	25,9	0,504	-
Phenanthreen	1	1	-
Anthraceen	0,551	0,607	10,8
Fluorantheen	4,14	1,34	1
Pyreen	4,18	0,446	-
Chryseen	1,27	0,376	-
1,3,5 triphenylbenzeen	1,42	1,65	-
Benzo(a)pyreen	1,88	0,147	1,77
Benzo(g,h,i)peryleen	4,26	0,115	5,87

Bij de berekening zijn alle piekoppervlaktes als phenanthreen pieken berekend. (Bij fluorescentie als fluorantheen pieken). Het resultaat is vermenigvuldigd met de eerder berekende factor. Zo kan van elke PCA de concentratie bepaald worden.

Deze methode is mogelijk omdat de ijklijnen van alle PCA's op de richtingscoëfficiënt na gelijk lopen (NOORDSIJ, KLOK en FERNS). De voordelen van deze methode zijn dat er niet met de zeer gevaarlijke stoffen hoeft te worden gewerkt en er met stoffen kan worden gewerkt die duidelijke pieken geven, zodat ook bij lagere concentraties een goede ijklijn kan worden gemaakt.

Bij de Rijnwateranalyse, waarbij gebruik gemaakt is van de Vista 401 integrator, is ook gebruik gemaakt van de phenanthreen ijklijn. De integrator bepaalt zelf de verhouding piekoppervlakte per mg/l. Door deze resultaten te vermenigvuldigen met de factoren uit tabel 2, en te programmeren in de integrator, worden direct de concentraties van alle PCA's in mg/l gegeven.

5.2. Extractie

Voor de extractie van de polycyclische aromaten uit het water is gebruik gemaakt van een continue extractie opstelling (HARMSSEN, 1980) (zie fig. 6).

In het vat is een aantal liters te onderzoeken watermonsters gedaan. Het vat is aangevuld met demiwater en aangezuurd tot pH 3. De drie liter kolf is gevuld met hexaan, dat na verwarmen begint over te destilleren. De hexaan komt via de buis onder in het vat terecht. Met behulp van een magneetroeder is de hexaan in kleine druppeltjes verdeeld die naar het wateroppervlak stijgen. Enkele centimeters boven het wateroppervlak is een overloop aangebracht, waardoor de geëxtraheerde hexaan terugvloeit in de destillatiekolf. De geëxtraheerde organische stoffen, waaronder de PCA's komen zo in de kolf terecht. Voor een goede extractie is het nodig dat de hexaan circa zestien uur blijft circuleren.

Na de extractie is de hexaan in de kolf ingedampt tot circa 200 ml. Nadat deze hoeveelheid enige malen is uitgeschud met 0,1 N NaOH, wordt de hexaan verder ingedampt boven een waterbad tot circa 5 ml. De laatste 5 ml is drooggedampt door stikstof door te leiden.

De droge stof is opgelost in 0,5 ml acetonitril, wat rechtstreeks op de vloeistofchromatograaf kan worden gebracht.

6. RESULTATEN EN DISCUSSIE

6.1. Monster percolatiewater

In eerste instantie is een monster van percolatiewater van de vuilstort te Wijster geanalyseerd. Vijf liter van dit monster is in het vat van de extractie-opstelling gedaan. Voor de berekening zijn de meetresultaten gebruikt van de UV-254 nm, UV-300 nm en de fluorescentie detectie. De UV-metingen zijn in duplo uitgevoerd, de fluorescentie meting kon wegens een defect aan het apparaat maar één keer worden uitgevoerd.

Tabel 3. Resultaten analyses percolatiewater

	Concentratie µg/L en fout in %		
	UV 254 nm	UV 300 nm	fluorescentie
2,3 benzanthraceen	-	-	-
Naphtaleen	-	-	-
Acenaphtyleen	-	-	-
Acenaphteen	-	-	-
Phenanthreen	6,5 ± 1 (14%)	-	-
Anthraceen	1,6 ± 0,2 (14%)	-	-
Fluorantheen	18,6 ± 2,6 (14%)	20,8 ± 3,6 (17%)	2,53
Pyreen	9,3 ± 1,2 (13%)	3,4 ± 0,2 (5%)	-
Chryseen	1,7 ± 0,4 (23%)	1,72 ± 0,04 (2%)	-
1,3,5 triphenylbenzeen	0,7 ± 0,1 (11%)	1,5 ± 0,2 (16%)	-
Benzo(a)pyreen	0,4 ± 0,1 (22%)	0,5 ± 0,2 (37%)	0,29
Benzo(g,h,i)peryleen	1,4 ± 0,8 (53%)	1,0 ± 0,3 (29%)	1,17

Uit de chromatogrammen is gebleken dat de eerste 4 à 6 PCA's die uit de kolom komen niet te analyseren zijn, omdat de pieken hiervan tussen te veel en te grote verontreinigingspieken liggen. Verontreinigingen beïnvloeden ook de andere pieken. Zo is voor fluorantheen bij de UV detectie een te grote piek gevonden in vergelijking tot die

bij de fluorescentie detectie (20 μg tegen 2,5 μg). Er is dus sprake van een verontreiniging met dezelfde retentietijd als fluorantheen, die absorbeert bij 254 nm en 300 nm maar niet of weinig fluoresceert. Bij pyreen is bij 254 nm een te grote piek gevonden in vergelijking tot die bij 300 nm (9,3 μg tegen 3,4 μg). Hier is sprake van een verontreiniging die goed absorbeert bij 254 nm, maar minder of niet absorbeert bij 300 nm.

Omdat er minder stoffen fluoresceren, dan die UV-licht absorberen, wordt er bij de fluorescentie detectie minder hinder ondervonden van de verontreinigingen dan bij de UV-detectie. Een ander voordeel van de fluorescentie detectie is dat de piekoppervlakten van de PCA's ten opzichte van de verontreinigingen groter zijn dan bij de UV-detectie. Een nadeel is echter dat maar vier van de twaalf te onderzoeken PCA's fluoresceren. Toch is het nuttig vooral de fluorescentie als meetmethode te gebruiken, omdat de hiermee verkregen resultaten het meest betrouwbaar lijken.

6.2. M o n s t e r R i j n w a t e r

In tweede instantie zijn enkele monster Rijnwater (monsterpunt Havenkanaal Wageningen) geanalyseerd. Voor de analyse hiervan is 10 liter monster geëxtraheerd volgens de continue extractiemethode. Deze extractie is drie maal uitgevoerd. De eerste maal zonder toevoeging, de tweede maal met toevoeging van 20,5 μg fluorantheen en 13,3 μg phenanthreen, de derde maal met toevoeging van 35,8 μg fluorantheen en 23,2 μg phenanthreen.

Met deze toevoegingen is nagegaan hoe groot het rendement van de extractie is.

Voor de berekening zijn de meetresultaten gebruikt van de UV-254 nm en de fluorescentie meting, terwijl de UV-300 nm meting gebruikt is als extra controle.

De analyse op de vloeistofchromatograaf geeft de volgende resultaten, uitgedrukt in ng per liter Rijnwater (tabel 4).

Tabel 4. Resultaten Rijnwater analyse in ng/l

UV 254 nm meting	Zonder toevoeging	+ 1,33 µg phenanthreen	+ 2,32 µg phenanthreen	+ 2,05 µg fluoranthreen	+ 3,58 µg fluoranthreen	Totaal gemiddeld	Fout in het gemiddelde
2,3 benzanthraceen	-	-	-	-	-	-	-
Naphtaleen	-	-	-	-	-	-	-
Acenaphtyleen	-	-	-	-	-	-	-
Acenaphteen	-	-	-	-	-	-	-
Phenanthreen	-	1200* ± 140	2035*	-	-	-	-
Anthraceen	0	17 ± 3	15 ± 2	11 ± 9	87%		
Fluoranthreen	550 ± 100	2080* ± 60	3495*	550 ± 100	17%		
Pyreen	210 ± 60	105 ± 135	26 ± 14	125 ± 110	84%		
Chryseen	130 ± 30	75 ± 50	190 ± 175	130 ± 90	69%		
1,3,5 triphenylbenzeen	250 ± 10	60 ± 50	47 ± 13	135 ± 115	84%		
Benzo(a)pyreen	38	26 ± 20	13 ± 2	27 ± 13	48%		
Benzo(g,h,i)peryleen	100 ± 50	0	0	33 ± 58	173%		
Fluorescentie meting							
Anthraceen	29	57	47	45 ± 14	31%		
Fluoranthreen	110 ± 4	1800* ± 100	3420* ± 35	110 ± 4	3%		
Benzo(a)pyreen	44 ± 2	33 ± 1	22 ± 1	33 ± 9	29%		
Benzo(g,h,i)peryleen	90 ± 20	95 ± 17	96 ± 6	94 ± 14	15%		

*Niet gebruikt voor de berekening van het gemiddelde aangezien er wat is toegevoegd

De gegeven fout is de standaarddeviatie van twee waarnemingen

De fout bij het totaal gemiddelde is de standaarddeviatie van alle waarnemingen

Opvallend is de grootte van de fout in de bepalingen. De oorzaak dat de fout, vooral bij de UV-bepalingen zo groot is moet gezocht worden in het feit dat er tegen de detectiegrens is gemeten (zie fig. 7 en fig. 8). De met een pijl gemerkte pieken zijn PCA's.

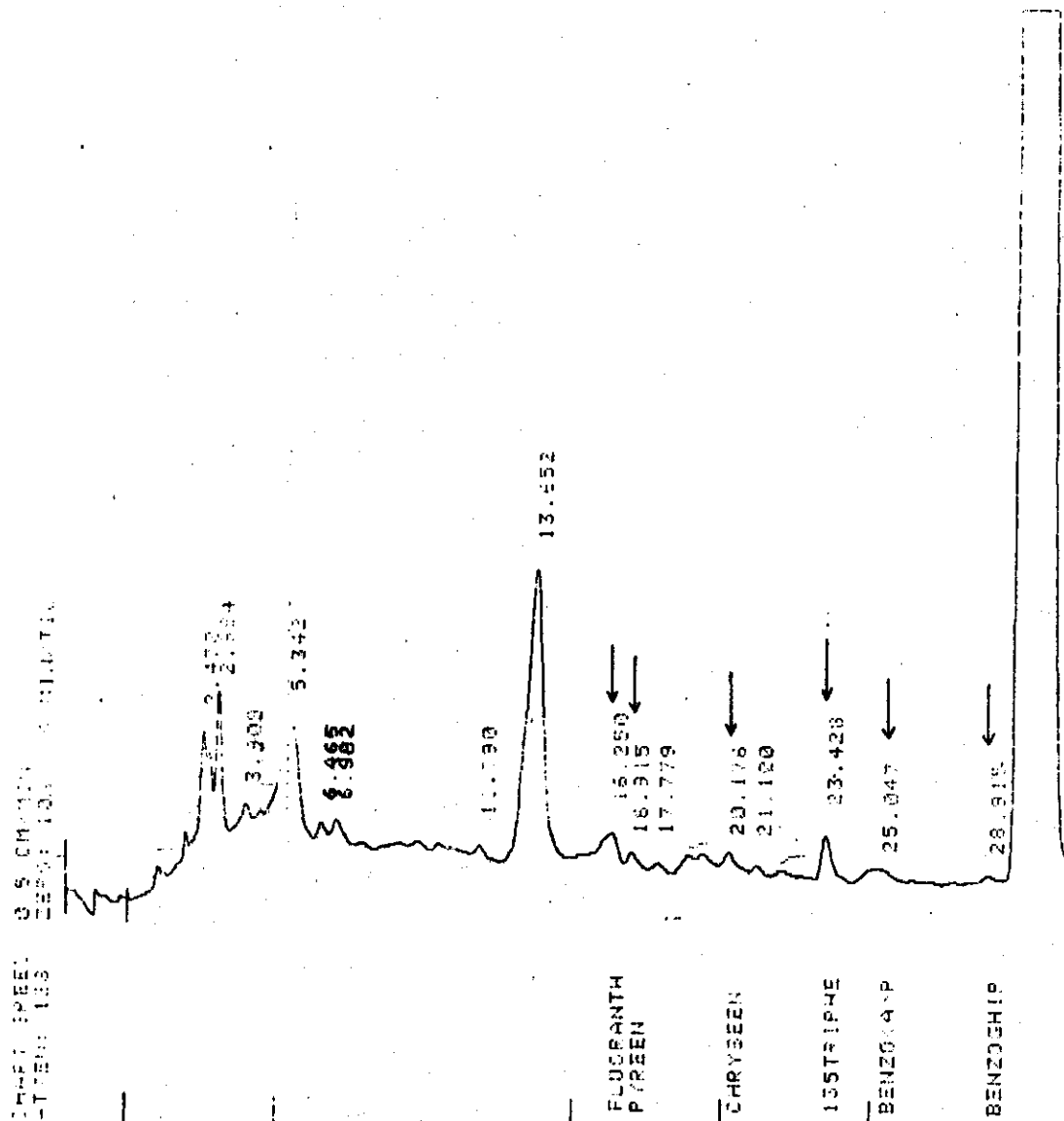


Fig. 7. Chromatogram Rijnwatermonster bij 254 nm

Uit deze bepalingen blijkt ook weer de storende werking van verontreinigingspieken, vooral bij de UV-254 nm detectie. Bij fluorantheen is, net als bij de percolatiewater analyse, met de UV-254 nm detectie een hogere concentratie gevonden dan met de fluorescentie detectie (550 ng/l tegen 110 ng/l). Hier is sprake van een verontreiniging die wel absorbeert bij 254 nm maar niet of nauwelijks

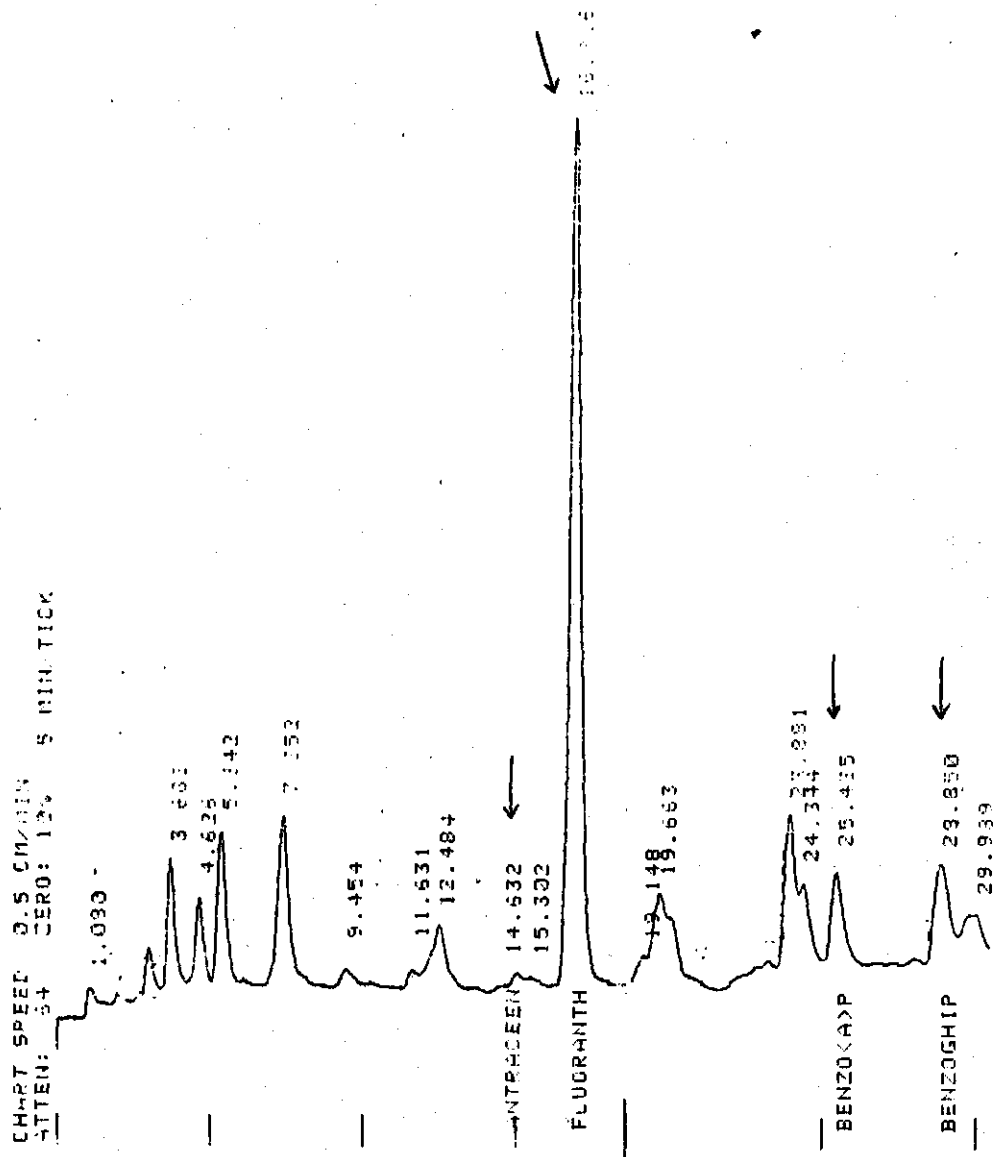


Fig. 8. Chromatogram Rijnwatermonster bij de fluorescentie detectie

fluoresceert. Bij anthraceen is bij de UV-254 nm meting een lagere concentratie gevonden in vergelijking tot de fluorescentie meting. De oorzaak hiervan zou een verontreiniging kunnen zijn die wel fluoresceert maar geen UV absorbeert. Waarschijnlijker is het dat de piek bij een van de metingen verkeerd geïntegreerd is. Door de geringe oppervlakte van de piek is deze fout niet te corrigeren.

Ook blijkt uit deze bepalingen weer dat omdat er minder stoffen fluoresceren dan er UV-absorberen er bij de fluorescentie minder hinder is ondervonden van verontreinigingspieken dan bij de UV-detectie. Uit de chromatogrammen (fig. 7 en fig. 8) blijkt dat de verhouding piekoppervlakte PCA: piekoppervlakte verontreiniging bij de

fluorescentie groter is dan bij de UV-detectie. Hierdoor is de detectiegrens van de fluorescentie meting kleiner dan die van de UV-meting. Een stof als benzo(g,h,i)peryleen is met de UV-254 nm meting moeilijk te bepalen, maar met de fluorescentie meting goed te bepalen (zie tabel 4). De concentraties gemeten met de fluorescentie detectie zijn ook beter betrouwbaar dan die gevonden met de UV-meting.

Hierom is het aan te raden in de toekomst alleen fluorescerende polycyclische aromaten te bepalen en dit als maat te laten gelden voor het totale PCA-gehalte.

De stoffen 2,3 benzanthraceen, naphhtaleen, acenaphhtyleen en acenaphhteen zijn niet te bepalen, omdat de verhouding piekoppervlakte: concentratie klein is. Alleen hoge concentraties zouden te bepalen zijn.

De verkregen resultaten zijn moeilijk te vergelijken met literatuurwaarden. Voor de analyse van percolatiewater is dit geheel onmogelijk, omdat deze gehalten per vuilstort veel kunnen verschillen. Voor de analyse van Rijnwater is alleen de orde van grootte aan te geven. Door verschil in waterstand en verschil in debiet van het water treedt een variatie van ca. 50% op.

De orde van grootte van de totale concentratie PCA's in Rijnwater is 800 ng/l (RIJKSWATERSTAAT, RID, RIV, 1980). De verkregen resultaten komen hiermee redelijk overeen.

Ter indicatie: Deze PCA-concentratie ligt 4 maal boven de maximaal toelaatbare hoeveelheid in drinkwater (200 ng/l) en 8 maal boven de algemeen gebruikte norm (100 ng/l) (BORNEFF, 1977).

6.3. R e n d e m e n t e x t r a c t i e

Bij de analyse van Rijnwater is aan twee van de drie monsters een hoeveelheid fluorantheen en phenanthreen toegevoegd (tabel 4). Hiermee is het rendement bepaald (tabel 5)

Tabel 5. Rendementen van de continue extractiemethode

Stof	Detectie- methode	Toegevoegde hoeveelheid	Gevonden gehalte	Rendement*
Phenanthreen	UV 254 nm	1,33 µg	1,20 µg	88 ± 11%
Phenanthreen	UV 254 nm	2,32 µg	2,035 µg	88%
Fluorantheen	UV 254 nm	2,05 µg	2,08 µg	96 ± 3%
Fluorantheen	UV 254 nm	3,58 µg	3,495 µg	95%
Fluorantheen	fluorescentie	2,05 µg	1,80 µg	83 ± 5%
Fluorantheen	fluorescentie	3,58 µg	3,42 µg	93 ± 1%

*het berekende rendement is het gevonden gehalte gedeeld door toegevoegde hoeveelheid plus de oorspronkelijke hoeveelheid

Het verkregen rendement is goed te noemen. Bij andere extractiemethoden zijn rendementen van dezelfde grootte gevonden. Ter vergelijking: Sorell en Reding vonden in 1979 met hun extractiemethode de volgende rendementen (tabel 6).

Tabel 6. Rendementen gevonden door
Sorell en Reding

Stof	Rendement
Phenanthreen	91 ± 7%
Chryseen	87 ± 3%
Benzo(a)pyreen	82 ± 20%
Benzo(g,h,i)peryleen	89 ± 19%

7. TROUBLESHOOTING

Om problemen, bij dit onderzoek voorgekomen, in de toekomst te vermijden, zijn hierbij de moeilijkheden beschreven.

Afwijking retentie tijden

- afvoerpijpje voor de pomp staat iets geopend. Door het trillen van de pomp kan dit pijpje langzaam draaien en opengaan
- afvoerkanaal voor het injectiegedeelte staat iets geopend. Het wielkje van de afsluiting moet goed aangedraaid zijn om het kanaal geheel af te sluiten
- lekkage in het systeem (vooral bij de pomp, mengkamer en injectiegedeelte)
- de eerste analyse op een dag geeft vaak retentietijden die afwijken van de retentietijden van de andere analyses op die dag. Het beste kan tijdens het opwarmen van de detectoren al een monster op de HPLC kolom worden gebracht. Wanneer de detectoren dan zijn opgewarmd kan meteen met de analyse worden begonnen.
- filter in een van de voorraadflessen, kleppen of leidingen is dichtgeslagen.

Afwijking piekoppervlaktes

- afvoerkanaal voor het injectiegedeelte staat iets geopend (zie ook afwijking retentietijden)
- gebruikmaking 10 µl-spuit. Het is gebleken dat de chromatogrammen niet reproduceerbaar zijn wanneer gebruik wordt gemaakt van de 10 µl-injectiespuit en een loop van 10 µl. Wanneer gebruik wordt gemaakt van de 1 ml injectiespuit, gevuld tot circa 50 µl, blijken de chromatogrammen wel reproduceerbaar te zijn.

Afwijking piekoppervlaktes bij de fluorescentie detectie

- intensiteit van de lamp kan per dag verschillen. Het is daarom nodig de ijklijn elke dag te controleren
- vervuiling van de contactpuntjes van de lamp zorgt voor een daling van de lampintensiteit
- bij attenuation 10 is het piekoppervlakte niet 1/10 van die bij attenuation 1. Als er dus met een andere attenuation wordt gemeten, moet er ook andere ijklijn worden gemaakt.

Afslaan van de vloeistofchromatograaf

- door het dichtslaan van een filter in de leiding wordt de druk te hoog, waardoor de pomp automatisch afslaat
- als de pomp geen vloeistof maar lucht oppompt wordt de druk te laag, waardoor deze automatisch afslaat.

Te lage pieken en geen ruis op de recorder

- door een te hoge nul-instelling op de detector wordt de onderkant van de pieken eraf gesneden.

Verkeerde integratie

- Bij de controle van de chromatogrammen (fluorescentie meting) bleek dat enkele pieken verkeerd waren geïntegreerd. Met de gebruikte integrator (Packard 602) is het niet mogelijk de chromatogrammen na afloop nog eens te integreren op de juiste manier. De piekoppervlaktes zijn nu gecorrigeerd door weging van de pieken op de analytische balans.

8. SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Een watermonster kan met behulp van vloeistofchromatografie (HPLC) goed op polycyclische aromaten worden onderzocht.

De extractie is verricht met hexaan in een continue extractieopstelling. Het rendement hiermee behaald (circa 90%) is goed te noemen in vergelijking met andere extractiemethoden.

De vloeistofchromatograaf is uitgerust met een kolom waarbij de scheiding berust op verdelingschromatografie. Als loopvloeistof is een mengsel van water en acetonitril gebruikt. Gezien de chromatogrammen is er een goede scheiding verkregen.

De detectie is uitgevoerd met een UV-spectrofotometer bij 254 nm en bij 300 nm en met een fluorescentie detector. In eerste instantie zijn alle drie detectiemethoden gebruikt voor de berekeningen. Bij nader inzien is dit veranderd en is in de eerste plaats de fluorescentie detectie voor de berekeningen gebruikt, in de tweede plaats de UV 254 nm detectie en als extra controle de UV 300 nm detectie. De reden hiervan is dat de detectiegrens, en hierdoor ook de fout in de bepalingen, bij de fluorescentie detectie veel lager ligt dan bij de UV 254 nm - en de UV 300 nm detectie.

Het is aan te raden om in de toekomst bij PCA-bepalingen zo mogelijk alleen de fluorescerende PCA's te bepalen en dit als maat te laten gelden voor het totale PCA-gehalte. Als detectiemethode kan dan met de fluorescentie meting worden volstaan, maar de resultaten zijn natuurlijk betrouwbaarder als er ook nog een andere detectiemethode (UV 254 nm, UV 300 nm) is gebruikt als extra controle. De resultaten met de UV detectie zijn gelijk aan die van de fluorescentie detectie als er geen storende pieken aanwezig zijn. Ze zijn hoger als er wel storende pieken aanwezig zijn.

De te bepalen fluorescerende PCA's zijn de zogenaamde Borneff-PCA's namelijk:

fluorantheen

benzo(b)fluorantheen

benzo(k)fluorantheen

benzo(a)pyreen

benzoperyleen

ideno(1,2,3-CD)pyreen

Dit zetal is representatief voor de totale PCA concentratie in water.

9. LITERATUUR

- BERG, C. VAN DE, 1980. De analyse van oliecomponenten in water met behulp van XAD-hars en gaschromatografie. Nota 1192 ICW
- BORNEFF, J. Fate of carcinogens in aquatic environments. Adv. Environ. Sci. Technol. 1977 8 (Fate Pollut. Air Water Environ. Pt.2), 393-408
- FISHBEIN, L., 1973. Chromatography of environmental hazards 2; metal, gaseous and industrial pollutants. Elsevier, Amsterdam
- HARMSSEN, J., 1980. Chromatografie. Nota 1224 ICW
- _____ 1980. Identification of organic compounds in the leachate tip of a waste tip. Nota 1227 ICW
- JOHNSON, E.L. and R. STEVENSON, 1978. Basic liquid chromatography. Varian.
- NOORDSIJ, A., A. KLOK en E. FERNS. Beschrijving van een eenvoudig te construeren vloeistofchromatograaf. KIWA
- RIJKSWATERSTAAT, RID en RIV, 1980. Kwaliteitsonderzoek in de rijkswateren; verslag van de resultaten over het eerste kwartaal 1980
- SORELL, R.K. and R. REDING. Analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons in environmental water by high-pressure liquid chromatography. J. Chrom. 1979 185 (1) 655-70.

PROGRAMMA VAN DE HPLC VOOR DE ANALYSE VAN POLYCYCLISCHE AROMATEN

TIME	CODE	VALUE	Betekenis
0,0	FLOW	2	vloeistofsnelheid 2 ml/min
0,0	%	50	percentage acetonitril 50%
0,0	RSVR	BC	water en acetonitril in reservoir
0,0	EVNT	0	geen relais bekrachtigd
0,1	EVNT	7	relais 1,2 en 4 bekrachtigd
0,2	EVNT	4	relais 4 bekrachtigd
1,0	%	50	percentage acetonitril 50%
1,0	EVNT	0	geen relais bekrachtigd
30,0	%	100*	percentage acetonitril 100%
35,0	%	50	percentage acetonitril 50%

Hierin staat B voor water en C voor acetonitril

relais 1 bekrachtigd is start integrator

relais 2 bekrachtigd is start recorder

relais 4 bekrachtigd is start injectie

TIME is gegeven in minuten

*tussen 1 minuut en 30 minuten is er een lineaire gradiënt van 50% tot 100%