De betekenis van verschillende isolatietechnieken voor toepassing in de praktijk

Voordracht gepresenteerd op het vijfde KIWA/VWN-colloquium, Methodenontwikkeling II



A. NOORDSIJ
KIWA NV
Nieuwegein



J. VAN BEVEREN
KIWA NV
Nieuwegein



A. BRANDT
KIWA NV
Nieuwegein

Inleiding

Analyse van organische microverontreinigingen in water is meestal alleen mogelijk wanneer die verontreinigingen uit het water geïsoleerd en daarna geconcentreerd zijn. Wanneer de analyse zich richt op een bekende stof of groep van verbindingen, kan een daarvoor geschikte isolatiemethode toegepast worden.
Moeilijker wordt het, wanneer onderzoek gedaan wordt naar onbekende verontreinigingen en naar mengsels van stoffen met uiteenlopende fysische eigenschappen. Bij de keuze en de toepassing van een isolatietechniek zal steeds weer de vraag gesteld dienen te worden in hoeverre de isolatie volledig is.
Vooral bij de meting van totaalparameters is het gewenst een zo goed mogelijke isolatie te realiseren van een zo groot mogelijk scala van organische stoffen.

Het onderzoek naar de waterkwaliteit zoals dat in het VEWIN-speurprogramma is geformuleerd, heeft als één van haar uitgangspunten dat een biologische parameter direct in verband moet kunnen worden gebracht met één of meer chemische parameters.
Dat betekent dat in het uit water geïsoleerde organisch materiaal zowel de Amestest als de verschillende chemische analyses moeten kunnen worden uitgevoerd.

Isolatietechnieken

In de dagelijkse praktijk van het onderzoek naar organische microverontreinigingen in water beschikken we over een aantal isolatietechnieken die veelvuldig worden toegepast zoals:
– de headspacetechniek voor de analyse van vluchtige verbindingen [1];
– de gasstriptechniek volgens Bertsch e.a. [2, 3] en varianten op deze techniek zoals door enkele GC-fabrikanten op de markt gebracht;
– de Grob-purgetechniek [4];
– de vloeistofextractie met petroleum-ether of hexaan [5, 6]en de isolatie door middel van XAD-adsorptie [7, 8, 9].
De voorwaarde, dat zowel chemisch als biologisch onderzoek in het geïsoleerde materiaal moet kunnen worden uitgevoerd, stelt speciale eisen aan de te volgen isolatieprocedure en legt beperkingen op aan de te gebruiken chemicaliën en het medium waarin de geïsoleerde verbindingen zich uiteindelijk bevinden.

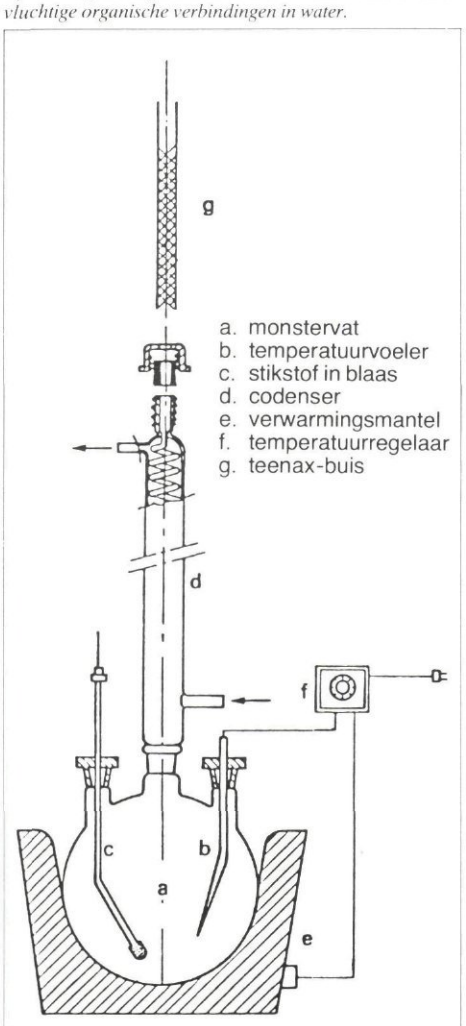
De meettechnieken, die toegepast worden zijn:
– de mutageniteitstest volgens Ames;
– bepaling van de somparameters organochloor, -stikstof, -zwavel en -fosfor;
– hoge druk vloeistofchromatografie;
– capillaire gaschromatografie gecombineerd met massaspectrometrie.
Door deze meettechnieken worden de volgende voorwaarden gesteld aan het monstermedium:
– de gebruikte oplosmiddelen mogen niet toxisch of mutageen zijn voor de teststammen van de Amestest en moeten met water mengbaar zijn;
– ze mogen geen chloor, broom, stikstof, fosfor of zwavel bevatten;
– ze mogen geen adsorptie vertonen bij de meetgolflengte van de HPLC-detector;
– het geïsoleerde materiaal moet zich in een watervrij organisch oplosmiddel bevinden. Dit oplosmiddel moet een laag kookpunt hebben om indampen mogelijk te maken.
In de literatuur is geen enkele isolatieprocedure beschreven die aan al deze voorwaarden voldoet.
De gasstriptechniek volgens Bertsch e.a. [2] en de XAD-adsorptie [7, 8, 9] bieden de meeste mogelijkheden voor zowel chemisch als biologisch onderzoek.

Deze beide technieken zijn dan ook in het KIWA-laboratorium uitgebreid bestudeerd, aangepast en vervolgens geautomatiseerd.

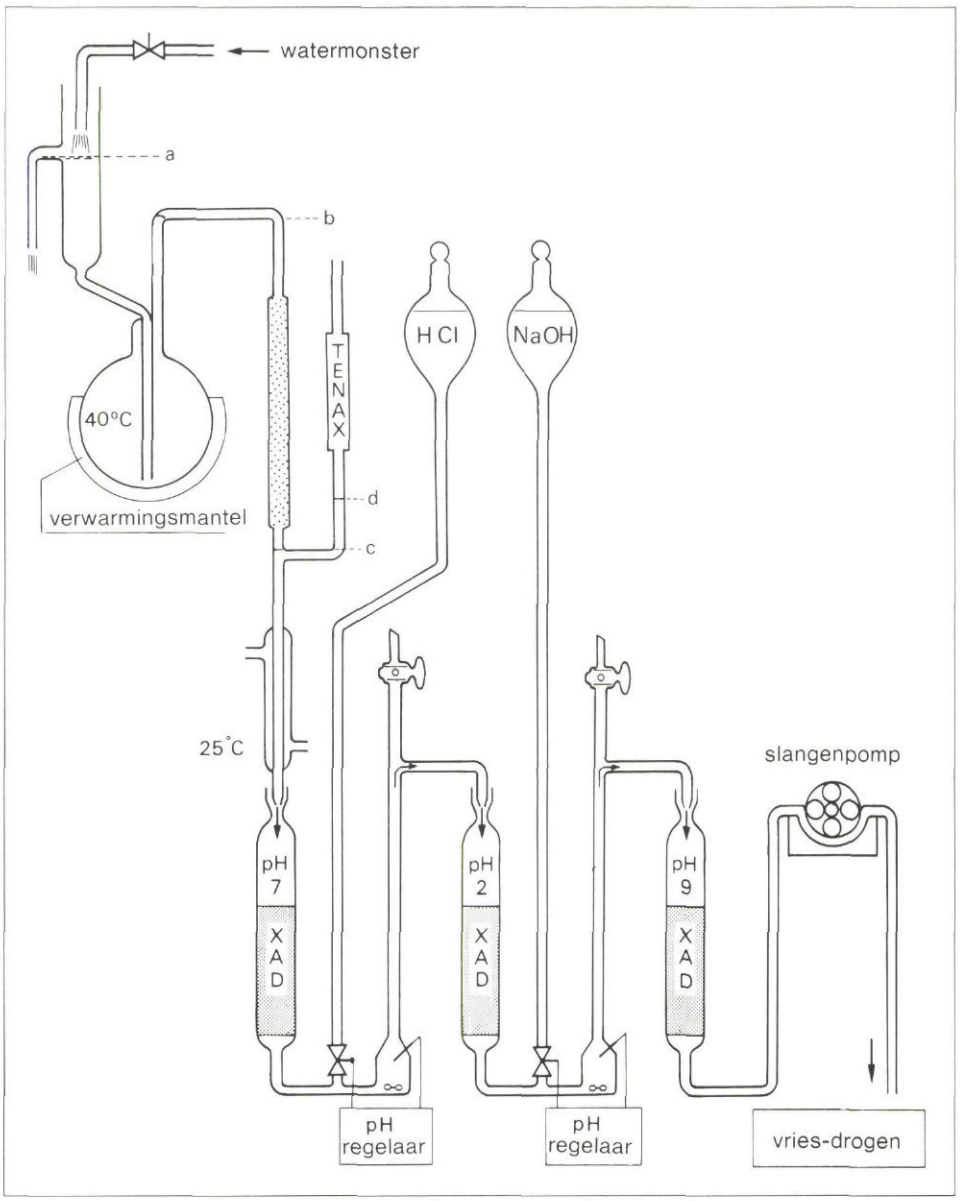
Organische stoffen in water

Om te weten op welke wijze een optimale isolatie van organische stoffen uit water bereikt kan worden is het gewenst zich een voorstelling te maken over de wijze waarop die stoffen zich in het water bevinden.
Afhankelijk van het lipofiel-hydrofiel karakter van een molecuul, is dat molecuul in min of meer opgeloste vorm in water aanwezig.
Een lipofiel molecuul heeft geen binding met water door middel van waterstofbruggen, of polaire bindingen. Het molecuul is als het ware ingesloten in een kooi van watermoleculen. De aantrekkingskracht die de omringende watermoleculen op elkaar uitoefenen vormt een soort oppervlaktespanning rondom het lipofiele molecuul.
Wanneer een andersoortig hydrofoob materiaal aanwezig is, waartoe het lipofiele molecuul zich aangetrokken voelt, wordt dat molecuul vanuit de watermoleculen-ring uitgestoten naar dat andere materiaal.
Het hydrofiele molecuul heeft een min of meer hechte binding met het omringende water, hetzij door middel van waterstofbruggen (als bij alcoholen) hetzij door een heteropolaire binding zoals bij gedissocieerde moleculen.
De meeste organische stoffen bestaan uit een lipofiel en een hydrofiel deel, waarbij de grootteverhouding van deze delen sterk kan variëren.
Aangezien de adsorptie van een organische verbinding aan XAD-hars altijd via het lipofiele molecuuldeel gebeurt, moet dat deel bereikbaar, 'zichtbaar' zijn voor het isolatiemedium.
Een verbinding als bijvoorbeeld inositol, een hexa-hydroxy-cyclohexaan, waarbij het lipofiele molecuul-deel volledig is afge-

Afb. 1 - Opstelling voor het uitblazen en adsorberen van vluchtige organische verbindingen in water.



schermd door hydroxylgroepen laat zich niet door middel van XAD isoleren. Fenoxy-azijnzuur daarentegen zal met de fenylring geadsorbeerd worden, terwijl de azijnzuur-groep in de waterfase blijft. De oplosbaarheid van een organisch molecuul in water, en de isoleerbaarheid van dat molecuul door middel van XAD-adsorptie, worden bepaald door de resultante van de aantrekkende en afstotende krachten die het water erop uitoefent.
De wateroplosbaarheid kan beïnvloed worden door temperatuurverhoging en door verandering van de zuurgraad van het water. Bij *temperatuurverhoging* wordt de beweeglijkheid van de watermoleculen groter, waardoor de kracht waarmee lipofiele moleculen worden ingesloten kleiner wordt, en deze moleculen gemakkelijker uit water verdreven kunnen worden.
Hydrofiele moleculen vormen bij temperatuurverhoging met water een azeotropisch mengsel, waardoor zij bij betrekkelijk lage temperatuur in dampvorm overgaan en het watermilieu verlaten.
Bij de door Bertsch [2] geïntroduceerde gasstriptechniek voor de analyse van vluchtige verbindingen, wordt temperatuur-verhoging toegepast om vluchtige stoffen uit het water te verdrijven. Door het KIWA is deze techniek overgenomen en aangepast (afb. 1). De temperatuur van het water-monster wordt op 95 °C gebracht.
Met stikstof worden vluchtige verbindingen uit het water gestript. De uitgeblazen stoffen worden samen met de gevormde waterdamp door een koeler geleid waar waterdamp en de hydrofiele vluchtige stoffen condenseren.
De apolaire stoffen worden aan een TENAX-kolom geadsorbeerd. Voor de verschillende watertypes en meettechnieken kunnen verschillende watervolumina gekozen worden. De stripgashoeveelheid is 40 ml per minuut, de striptijd is 1 uur per liter water.
Door verhitting van de TENAX-kolom in een helium-gasstroom kunnen de organische stoffen worden vrijgemaakt voor analyse met GCMS en microcoulometer (VOCl) of voor de Amestest.
Door *verandering van de zuurgraad* van een watermonster is het mogelijk om de dissociatie van een zure of basische verbinding terug te dringen. De heteropolaire binding van het ion met de watermoleculen gaat daarbij over in een veel zwakkere waterstofbrug tussen het niet gedissocieerde molecuul en water.
Hierdoor wordt de invloed van het lipofiele molecuuldeel groter en de isolatie beter uitvoerbaar.



Afb. 2 - Opstelling voor de isolatie van grote hoeveelheden (30 - 300 l) water met behulp van XAD bij verschillende pH-waarden.

De consument als isolatiemedium

In het spijsverteringskanaal van mens en dier vindt enige malen een verandering van zuurgraad plaats. Stoffen die via de mond worden opgenomen, meestal bij pH 7, passeren de maag bij pH 2 en de 12-vingerige en dunne darm bij pH 8,7. Natuurlijk spelen allerlei enzymatische processen een grote rol bij de opname van de stoffen door het lichaam. Maar de organische stoffen die via het drinkwater het lichaam binnenkomen, zullen bij verschillende pH's met dat lichaam in contact komen. Er is dan ook aanleiding om de isolatie van organische stoffen uit water achtereenvolgend bij pH 7, pH 2 en pH 9 (8,7) uit te voeren.
Dit kan gebeuren door een watermonster bij deze drie pH-waarden over drie XAD-kolommen te leiden, waarbij dan na elkaar de lipofiel-neutrale, de zuur-reagerende en basisch reagerende verbindingen geadsorbeerd worden.

Desorptie

Nadat organische stoffen vanuit een watermonster aan de oppervlakte van de XAD-hars zijn geadsorbeerd, dienen die stoffen weer vrij gemaakt te worden van de hars, zodat ze beschikbaar zijn voor de verschillende biologische en chemische analyses. Met andere woorden: de geadsorbeerde stoffen moeten in contact gebracht worden met een elutiemiddel waarvoor een grotere affiniteit bestaat dan voor de hars.
Voorwaarde voor een goede elutie is dat het elutiemiddel alle delen van het harsoppervlak goed kan bereiken, zodat een optimale uitwisseling kan plaatsvinden.
Wanneer een apolair elutiemiddel gebruikt wordt, waarin water niet of moeilijk opgenomen wordt, zal het inwendige van de harsporiën onbereikbaar blijven voor het

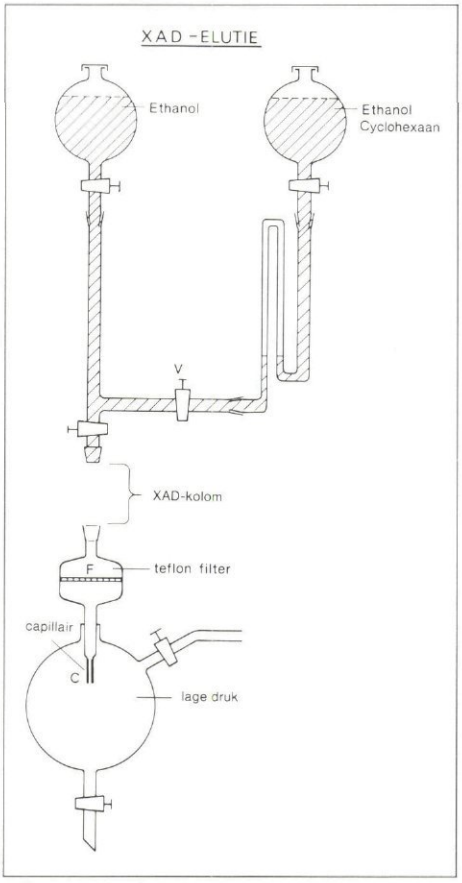
elutiemiddel vanwege het in die poriën aanwezige water. Een onvolledige elutie is daarvan het gevolg.
Om zowel polaire als apolaire organische stoffen optimaal te elueren, wordt de hars eerst uitgewassen met een polair oplosmiddel, waardoor zowel het water als ook polaire organische stoffen geëlueerd worden. Daarna wordt geëlueerd met een apolair oplosmiddel dat goed mengbaar is met het polaire elutiemiddel. Dit apolaire elutiemiddel kan dan in de diepste poriën binnendringen en alle apolaire (lipofiele) stoffen desorberen.

XAD-isolatieprocedure en automatisering

Uitgaande van de in de inleiding genoemde doelstelling dat zowel chemisch als biologisch onderzoek in hetzelfde geïsoleerde materiaal moet kunnen worden uitgevoerd, en rekening houdend met de specifieke voorwaarden die iedere meettechniek stelt aan de monstervoorbehandeling is een XAD-isolatie en concentratieprocedure ontwikkeld die het mogelijk maakt zowel de Amestest als de verschillende somparameterbepalingen en chromatografische analysetechnieken in één en hetzelfde concentraat uit te voeren.
De totale procedure bestaat uit de volgende onderdelen:
– isolatie bij 2 verschillende pH's, 7 en 2 (de hoge pH-isolatie wordt nog ontwikkeld);
– uitwassen van organische bestanddelen uit de XAD-kolommen;
– elutie van de XAD-kolommen met ethanol en cyclohexaan;
– filtratie van het eluaat over een 0,2 μ teflonfilter;
– droging, verwijdering van cyclohecxaan en concentratie door indampen tot enige milliliters.
Aan de zuiverheid van de te gebruiken XAD-hars worden zeer hoge eisen gesteld. Daarom is een uitgebreide harszuiveringsprocedure ontwikkeld.
De isolatie-, opwerking- en harszuiveringsprocedure zijn zeer gecompliceerd en tijdrovend. Om deze procedures toch op routinematige wijze te kunnen uitvoeren, zijn de diverse onderdelen van de procedures zoveel mogelijk geautomatiseerd.

Isolatie

Met de in afb. 2 weergegeven opstelling kan 30 tot 300 liter water bij verschillende pH's over XAD geleid worden. Het monsterwater stroomt vanuit het tappunt in een overloopvat met een constant niveau a. Vervolgens wordt het water verwarmd tot 40 °C en daarna in een glazen kolom K, gevuld met rashigringen ontgast. Deze ontgassing is nodig om gasvorming in de XAD-kolommen tegen te gaan.



Afb. 3 - XAD-elutie- en filtratie-opstelling.

De kolom K is niet geheel met water gevuld, maar het water stroomt over de rashigringen omlaag.
De kolom kan dan ook beschouwd worden als een luchtkolom. Vanaf niveau c is de opstelling geheel met water gevuld. In de stijgbuis naast kolom K bevindt zich een waterkolom c-d, die in hoogte gelijk is aan het niveauverschil b-a.
Wanneer in K ontgassing optreedt, zal de luchtkolom in grootte toenemen waardoor niveau c daalt. Het gevormde gas zal via de stijgbuis ontsnappen. Vluchtige organische stoffen kunnen geadsorbeerd worden aan de in de stijgbuis aanwezige TENAX-kolom.
Het water wordt na de ontgassing gekoeld tot 25 °C. Bij deze temperatuur treedt optimale adsorptie op. Daarna stroomt het water door een aantal XAD-kolommen bij verschillende pH's. Een slangenpomp regelt de waterstroomsnelheid op 1 bedvolume per minuut. De XAD-kolominhoud is 1 ml hars per liter water. Een totale isolatieprocedure duurt 1.000 minuten (16,7 uur). De isolatie bij pH 7 en 2 is operationeel, de isolatie bij hoge pH wordt nog ontwikkeld.

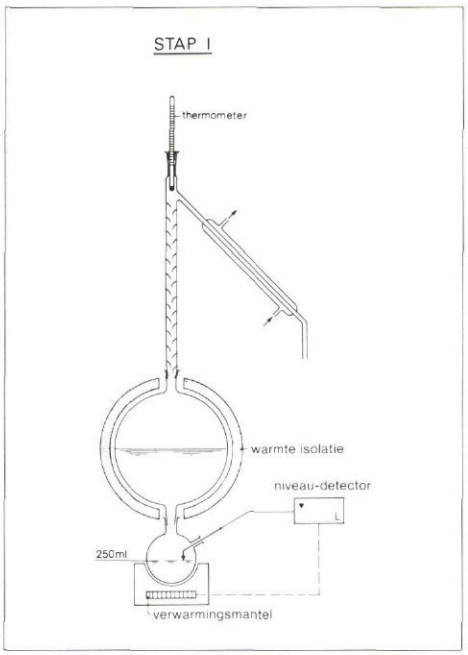
Elutie

Na de isolatiestap worden de XAD-kolommen uitgewassen om anorganische zouten te verwijderen. Deze zouten storen de metingen van de somparameters organochloor, -stikstof, -zwavel en -fosfor.
De pH-7-kolom wordt gewassen met 10 bedvolumina gedestilleerd demiwater, de pH-2-kolom met 10 bedvolumina van een salpeterzuuroplossing (pH 2).
De ON-meting is in dit monster niet mogelijk. Ervaringen met deze somparameter leren, dat het organostikstofgetal in de zure XAD-fractie waarschijnlijk gevormd wordt door hoog moleculaire stikstofverbindingen van natuurlijke herkomst.
De XAD-kolommen worden vervolgens drooggeblazen met stikstofgas en geëlueerd met achtereenvolgend 5 bedvolumina ethanol en 5 bedvolumina van een mengsel ethanol-cyclohexaan in de verhouding 30:70. Optimale elutie van polaire en apolaire stoffen wordt hierdoor bereikt.

Bacterie-sporen

In sommige watermonsters kunnen sporevormende bacteriën aanwezig zijn. De sporen hechten zich tijdens de isolatie aan de XAD-hars en worden bij de elutie meeuitgewassen.
Gebleken is dat een deel van deze sporen de gehele opwerkingsprocedure kan overleven. Bij de Amestest worden op de voedingsbodems uit deze sporen weer bacteriën gevormd die de Amestest verstoren.
De XAD-eluaten worden daarom gefiltreerd over een 0,2 μ teflonfilter om de sporen te verwijderen. (Filtreren van het watermonster vóór de isolatie dient vermeden te worden, omdat daarmede ook veel apolaire organische stoffen uit het water verwijderd worden).

Met behulp van de in afb. 3 getekende opstelling kunnen de elutie en de filtratie volledig automatisch uitgevoerd worden.
De opstelling bestaat uit twee eluentvaten, waarvan er één direct en de andere via een omgekeerde U-buis met de XAD-kolom verbonden is. Een filterhouder F met een 0,2 μ teflonfilter is via een capillair C verbonden met een glazen opvangbol die geëvacueerd is.
Door de beide eluentvaten te vullen met respectievelijk ethanol en het ethanol-cyclohexaan-mengsel terwijl kraan V is gesloten, ontstaat er in de U-buis een luchtslot, dat na openen van kraan V de beide elutiemiddelen van elkaar gescheiden houdt. Ten gevolge van de lage druk in de opvangbol stroomt het elutiemiddel door de XAD-kolom, het filter en de capillaire restrictie C. Zodra de vloeistof in de geëvacueerde bol arriveert, stelt de druk zich in de bol in op de dampdruk van het elutiemiddel. Wanneer de inhoud van de opvangbol voldoende ruim is gekozen, blijft de druk in de bol constant gedurende de elutie. Deze constante druk en de capillaire restrictie zorgen voor een constante vloeistofstroom door de XAD-kolom van 0,1 bedvolume per minuut.



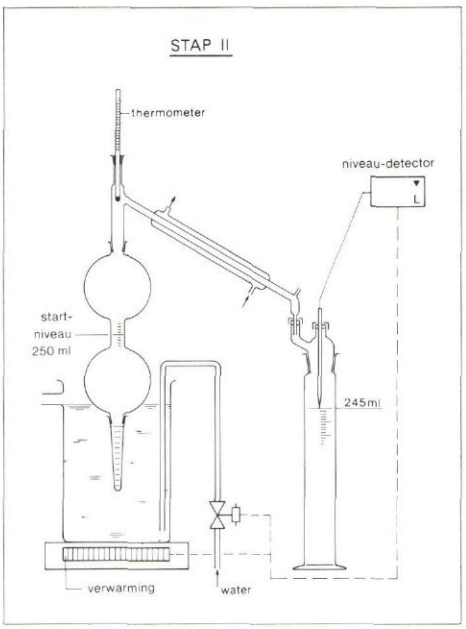
Afb. 4 - Eluaatconcentrering (stap I).

Zodra de ethanol verbruikt is, stroomt het ethanol-cyclohexaanmengsel in de U-buis over, en wordt de XAD-kolom vervolgens met dat mengsel geëlueerd.
Wanneer het elutiemiddel volledig verbruikt is, droogt het teflonfilter, waardoor de poriën worden afgesloten. Het eluaat bevindt zich dan in een afgesloten ruimte. Een complete elutie en filtratie duurt 100 minuten.

Opwerking van de eluaten

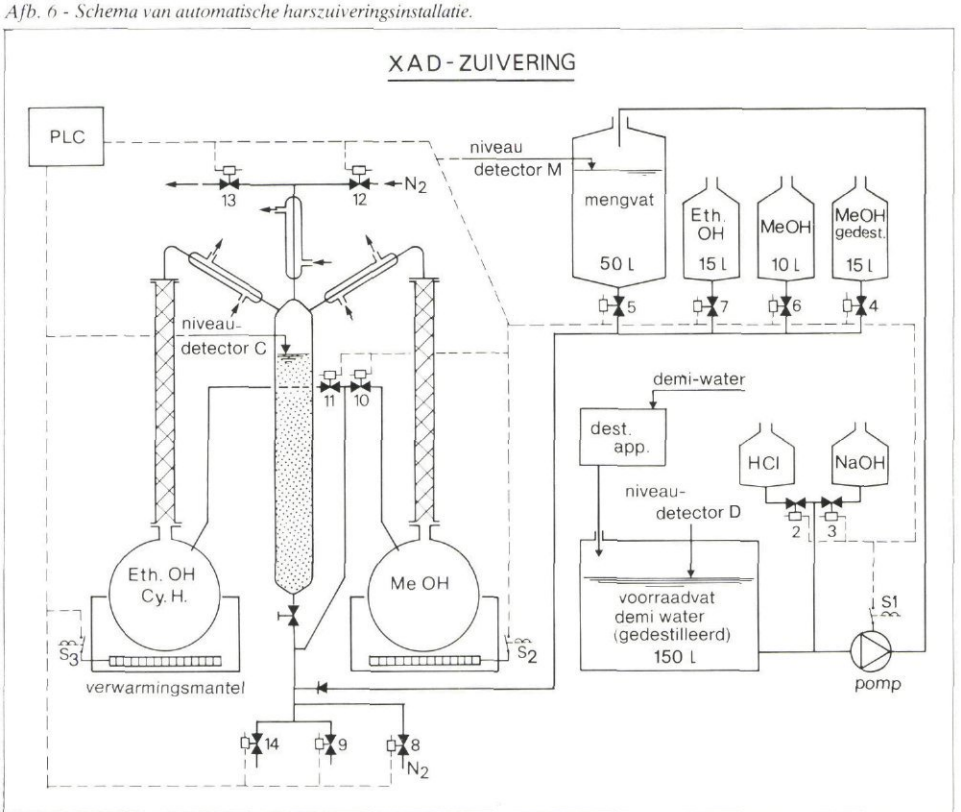
Het eluaat van een XAD-kolom bevat water, cyclohexaan en ethanol. Het water en de cyclohexaan moeten daaruit verwijderd worden, zodat alleen een droge ethanol-oplossing overblijft die tot het gewenste volume kan worden ingedampt.
Voor het verwijderen van water mogen geen adsorptiemiddelen gebruikt worden, omdat daaraan ook polaire organische stoffen adsorberen.
Droging van het eluaat en verwijdering van de cyclohexaan gebeurt met behulp van een tweetal azeotropische destillaties. Eerst wordt via het ternaire systeem ethanol-cyclohexaan-water, met azeotropische samenstelling van 17:76:7 bij een temperatuur van 62 °C al het water en een deel van de cyclohexaan verwijderd. Daarna wordt bij 64,9 °C via het binaire systeem ethanol-cyclohexaan in een verhouding van 30,5:69,5 de rest van de cyclohexaan verwijderd. Door een juiste keuze van de hoeveelheden cyclohexaan en ethanol kan bereikt worden, dat de concentratie-procedure voor het grootste deel bij de lage azeotroopkookpunten (62 en 64,9 °C) verloopt.
Het overblijvende ethanolconcentraat wordt tot enige millimeters ingedampt. Daarin kunnen de verschillende analyses worden uitgevoerd.
Deze opwerkingsprocedure is eveneens zoveel mogelijk geautomatiseerd. Aangezien het in de praktijk niet realiseerbaar bleek de complexe indampprocedure in één programma uit te voeren, is gekozen voor een automatisering in twee stappen.
In afb. 4 wordt stap I van de procedure weergegeven. Het eluaat dat een volume van enige liters kan hebben (afhankelijk van de monstergrootte) wordt in een destillatie-opstelling geconcentreerd, totdat een vloeistofniveau bereikt is dat overeenkomt met 250 ml. Een niveaudetector schakelt de verwarming van de destillatieopstelling uit. Doordat de verwarmingsmantel langzaam afkoelt, gaat de destillatie nog korte tijd door, waardoor uiteindelijk ongeveer 240 ml vloeistof overblijft.
Na afkoelen wordt deze vloeistof overgebracht in de opstelling van stap II, waarmede de azeotropische destillatie wordt voortgezet (afb. 5). Het monster (circa 240 ml) wordt aangevuld met ethanol-cyclohexaan tot exact 250 ml.

Deze 250 ml wordt vervolgens gedestilleerd in een gethermosteerd waterbad waarvan het waterniveau tijdens de destillatie constant gehouden wordt. Het destillaat wordt opgevangen in een maatcylinder met een instelbare niveaudetector, die bijvoorbeeld is ingesteld op 245 ml.
De opstelling is zodanig geconstrueerd dat ontwijking van destillaatdamp wordt voorkomen.
Zodra in de maatcylinder het niveau van 245 ml wordt bereikt, wordt de verwarming van het waterbad uitgeschakeld en het warme water van de bodem af vervangen door koud water.
De destillatie stopt daardoor onmiddellijk, terwijl ook de dampen in de glazen bol condenseren.
In de puntbuis van de opstelling blijft een



Afb. 5 - Eluaatconcentrering (stap II).

Afb. 6 - Schema van automatische harszuiveringsinstallatie.



hoeveelheid van 5 ml over.
De gehele concentratieprocedure duurt, afhankelijk van de grootte van het monster, 5 à 10 uur. Uitgaande van een 300 l watermonster, wordt zodoende een concentratiefactor bereikt van 300.000 naar 5 (= 60.000 x).

Harszuivering
Om de XAD-hars met goede resultaten te kunnen toepassen, dient de hars bij de isolatie- en elutieprocedure geen stoffen af te geven die mutageen zijn in de Amestest en die kunnen storen bij de diverse chemische analyses.
Ook moet de hars een optimale adsorptiecapaciteit bezitten. De via de handel verkrijgbare harsen voldoen niet aan deze voorwaarden. Er is daarom een harszuiveringsprocedure ontwikkeld en geautomatiseerd, waarbij diverse wassingen en warme extracties worden uitgevoerd. In tabel I worden de verschillende zuiveringsstappen weergegeven.
Als ruwe hars wordt een technisch produkt van de leverancier Rohm en Haas gebruikt. Deze hars wordt gedurende 2 weken in een alcoholische loogoplossing bewaard.
In afb. 6 wordt het schema weergegeven van de automatisch werkende harszuiveringinstallatie.
De in tabel I genoemde procedure wordt met behulp van deze installatie in ongeveer 90 uur uitgevoerd. De sturing van het proces gebeurt volledig met behulp van een PLC (Programmable Logic Controller). Per procedure wordt een hoeveelheid van 5 liter hars gezuiverd, voldoende voor de isolatie van 5.000 liter water bij één pH, 2.500 liter water bij 2 pH's en 1.600 liter water bij 3 pH's.

De XAD-isolatie in de praktijk

Doordat de verschillende onderdelen van de procedure zijn geautomatiseerd is het mogelijk geworden meerdere monsters gelijktijdig te behandelen. Daarbij heeft de automatisering het voordeel dat alle bewerkingen steeds op dezelfde wijze worden uitgevoerd, en dat bijvoorbeeld de harszuivering zeer uitgebreid kan worden gedaan. De kwaliteit van de analyse is daardoor veilig gesteld.

TABEL I – *Procedure voor de zuivering van XAD-4-hars.*

10 x wassen met verdunde loog
10 x wassen met verdund zuur
10 x wassen met gedestilleerd water
2 x wassen met methanol
24 uur extractie met warme methanol
3 x wassen met ethanol
24 uur extractie met een mengsel van ethanol-cyclohexaan wassen met methanol (dubbel gedestilleerd) totdat alle cyclohexaan verwijderd is.

TABEL II – *Benodigde tijdsduur voor de verschillende onderdelen van de XAD-isolatieprocedure.*

	Totaal tijdsduur*	Menstijd
Isolatie	20 uur	3 uur
Elutie en filtratie	2 uur	1 uur
Monsterconcentratie	10 uur	2 uur
XAD-zuivering 5 l hars voor 2.500 l water bij 2 pH's	4 x 24 uur	8 uur

* Tijden exclusief reiniging glaswerk en eventuele reistijden en apparatuur-opstelwerkzaamheden.

De automatisering ontlast de medewerkers aan een onderzoeksproject van veel geestdodend routinewerk. In tabel II wordt een indruk gegeven van de tijdsduur van de verschillende onderdelen van de procedure en de hoeveelheid reële mantijd die voor één monsterbehandeling nodig is. Hierbij is uitgegaan van de veronderstelling dat drie monsters gelijktijdig behandeld worden en dat de medewerkers ervaring hebben met de technieken.
Per watertype is ongeveer 1 mandag nodig voor een complete isolatie en opwerking, inclusief harszuivering, wanneer de isolatie in een laboratoriumopstelling gebeurt.
Wanneer een isolatieopstelling op een verwijderde locatie moet worden opgebouwd, zullen reistijden en plaatselijke omstandigheden van invloed zijn op de benodigde werktijd.

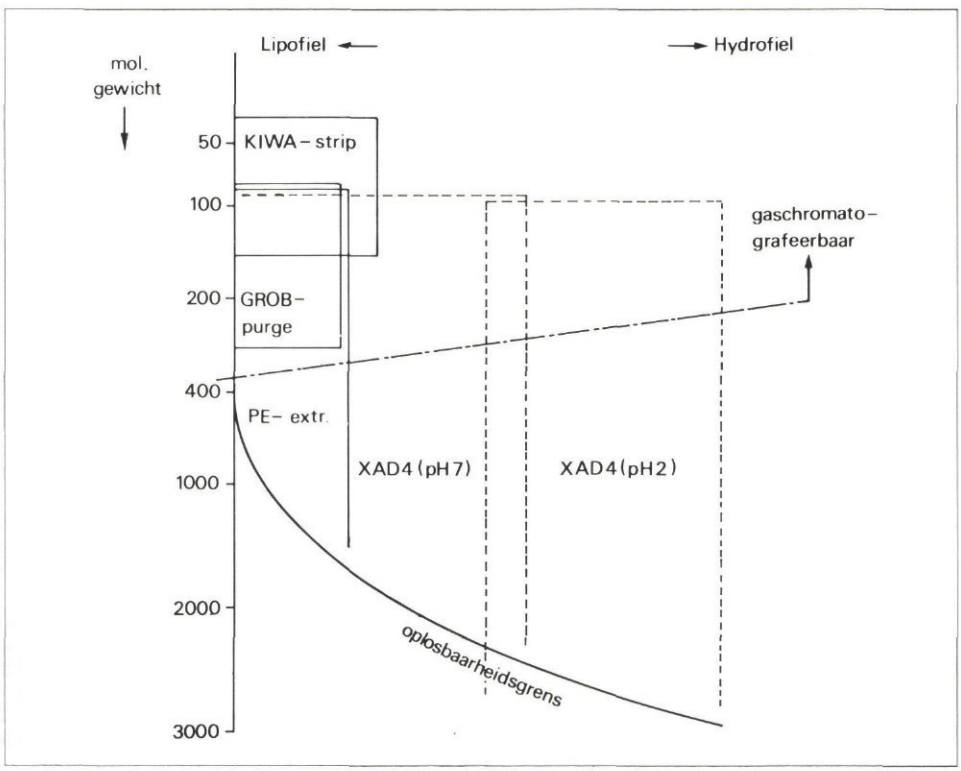
Rendementen
In tabel III worden enkele resultaten gegeven van rendementsproeven voor een aantal zeer verschillende stoffen.
De invloed van de pH op de isolatie is duidelijk zichtbaar voor een aantal verbindingen.
Overigens dient bij de beoordeling van isolatierendementen rekening gehouden te worden met de wijze waarop organische stoffen in water aanwezig moeten zijn. Bij een aantal experimenten waarbij watermonsters voor en na een langzame zandfiltratie met elkaar vergeleken werden, is gebleken dat na het filter voor een groot aantal verbindingen consequent hogere concentraties gemeten werden dan vóór de filtratie, zonder dat er sprake was van een doorslageffect.
Eenzelfde verschijnsel werd waargenomen bij de accumulatie van pesticiden in visorganen: bij vissen die in water na een zandfilter zwommen werden hogere concentraties in het vetweefsel gemeten dan bij vissen die in het niet-gefiltreerde water verkeerden.
Een mogelijke verklaring voor deze waarnemingen kan zijn dat moeilijk of niet in water oplosbare verbindingen opgelost zijn in organisch materiaal dat wel goed in water oplosbaar is. Dit zou 'cosolvatie' kunnen worden genoemd. In een zandfilter kan wellicht een splitsing optreden van deze lipofiele en hydrofiele stoffen, doordat deze laatste in het filter worden afgebroken. Hierdoor komen de lipofiele stoffen vrij, waarna ze beter in het vetweefsel van een dier of in het isolatiemedium opgenomen kunnen worden.

TABEL III – *Rendementen van de XAD-4-isolatie bij verschillende pH-waarden gemeten met behulp van gaschromatografie (– = niet gemeten).*

Verbinding	pH 2	7	12
fluorantheen	89	88	96
acetofenon	68	73	63
heptanol-1	89	83	100
trichloorethylfosfaat	80	81	66
2,4-dichlooraniline	86	85	90
2,3-dichlooraniline	84	91	85
3,4-dichlooraniline	39	95	89
2,6-dichlooraniline	84	91	88
2-methyl, 4-nitroaniline	73	90	100
tributylamine	0	81	79
dibenzylamine	5	94	97
dodecylamine	0	25	42
2,2,6,6-tetramethyl-piperidine	0	0	73
dibutylftalaat	89	100	9
3,5-dichloorfenol	98	85	1
dichloorfenoxyazijnzuur	> 70	0	–
p-nitrofenol	47	3	0

Vergelijking van verschillende isolatiemethoden
Om de verschillende isolatietechnieken van zowel vluchtige als niet-vluchtige organische stoffen met elkaar te kunnen vergelijken, is een vijftal watertypes enige malen geanalyseerd, waarbij verschillende isolatietechnieken zijn toegepast.
De vluchtige verbindingen zijn geïsoleerd met behulp van de Grob-purgetechniek en de door het KIWA gemodificeerde gasstriptechniek met Tenax-adsorptie.
Voor de isolatie van matig- en niet-vluchtige stoffen zijn de petroleum-ether-extractie en de XAD-adsorptie bij pH 7 en pH 2 toegepast.
Iedere isolatietechniek heeft een toepassingsgebied waarin een optimaal effect bereikt wordt.

In afb. 7 worden de werkingsgebieden van de genoemde isolatietechnieken schematisch weergegeven, waarbij de geïsoleerde verbindingen zijn ingedeeld volgens moleculair gewicht en het lipofiel-hydrofiel karakter. Ook is getracht de grens aan te geven tussen het wel en niet gaschromatografeerbare deel van het geïsoleerde materiaal.
De getekende oppervlakken hebben alleen betrekking op de genoemde fysische karakterisering, zij suggereren geen enkele informatie over de hoeveelheden van de betreffende verbindingsklassen.
Met de gasstriptechniek worden voornamelijk de meer vluchtige verbindingen geïsoleerd waaronder de vluchtige halogeenkoolwaterstoffen. De Grob-purgetechniek isoleert vooral lipofiele verbindingen zoals alkanen, alkylbenzenen, chlooraromaten, alkylanilines

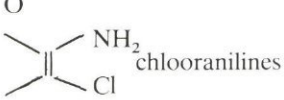


Afb. 7 - Werkingsgebieden van de verschillende isolatietechnieken.

en nitro-aromaten tot een moleculair gewicht van 200 à 250.
Met de PE-extractie worden lipofiele verbindingen geïsoleerd, waaronder pesticiden, alkylbenzenen, polyaromaten, chloor-, nitro- en aminoaromaten en naftenen tot een moleculair gewicht van circa 1.500. De PE-extractie kan voor wat betreft de geïsoleerde verbindingen beschouwd worden als een equivalent van de

Grob-purgetechniek, maar met een groter moleculair-gewichtsbereik. Technisch is de Grob-techniek veel eenvoudiger uit te voeren.

De XAD-isolatie bij pH 7 richt zich voornamelijk op lipofiele verbindingen en zwak hydrofiele stoffen bestaande uit een alifatische of aromatische koolwaterstof met een zwakpolaire substitutie.

$=N-$	pyridines en chinolines
$-NO_2$	nitroverbindingen
$-C\equiv N$	nitrillen
$-OH$	alcoholen (C> 4) en alkylfenolen
$-COR$	ethers
$>C=O$	aldehyden, ketonen
$-C(=O)-OR$	esters
$O=P(-OR)_3$	alkylfosfaten
	chlooranilines

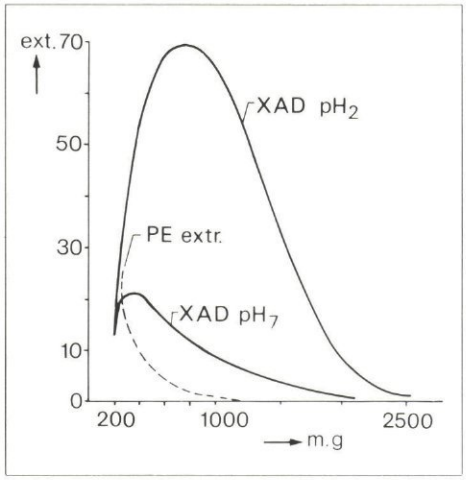
Bij pH 2 worden met XAD vooral matig hydrofiele verbindingen uit water geïsoleerd die bestaan uit een alifatische of aromatische koolwaterstof met meerdere zwakpolaire of één of meer sterk polaire substituties.

$-C(Cl)-OH$	chlooralcoholen
$-C(C-OR)-OH$	hydroxyethers
$-C(=O)-OH$	zuren
$-(C_n-O)_m-$	poly-olen

Uit afb. 7 blijkt dat naarmate het hydrofiele karakter van de organische stoffen toeneemt, verbindingen met een hoger moleculair gewicht in water aanwezig kunnen zijn.
In afb. 8 wordt een moleculair gewichtsverdeling getoond van de verschillende isolaten van één watermonster. Deze grafieken zijn verkregen met behulp van Gel Permeation Chromatografie (GPC).
De gebruikte kolom was Mikrogel 50 Å. Elutiemiddel: dioxaan. De detector was een UV-fotometer (265 nm). De piekhoogten komen overeen met de hoeveelheid van de gedetecteerde stoffen. De detectie met UV bij 265 nm beperkt zich evenwel slechts tot verbindingen die bij die golflengte een adsorptie vertonen. Aangenomen mag worden dat met deze detectie, die allerlei verbindingen waarin een cyclische onverzadigde structuur aanwezig is kan aantonen, een representatief deel van de organische bestanddelen gemeten wordt.
De afbeelding laat zien dat bij pH 2 met XAD relatief veel hoogmoleculaire verbindingen geïsoleerd worden, waarvan het maximum ligt bij een moleculair gewicht van 700-800, terwijl de PE-extractie het minst de hoogmoleculaire stoffen isoleert.
Aangezien de neutrale en zure XAD-isolatie na elkaar in hetzelfde watermonster hebben plaatsgevonden, mogen de resultaten bij elkaar opgeteld worden. Dan blijkt heel duidelijk dat met XAD een veelvoud geïsoleerd wordt van het PE-extract.
Uit de afbeelding blijkt verder dat het overgrote deel van het geïsoleerde materiaal een moleculair gewicht heeft dat groter is dan 400 à 500. Dat betekent dat het grootste deel, wellicht meer dan 90% niet met de momenteel beschikbare gaschromatografische technieken gemeten kan worden.
Wanneer bovendien in beschouwing genomen wordt dat een nog onbekend maar waarschijnlijk groot deel van het organische materiaal in water niet met XAD wordt

TABEL IV – *Analyseplan voor verschillende onderzoektypen.*

Gewenste informatie	ANALYSEPLAN Isolatietechniek	Meting
SPECIFIEKE ANALYSE PCA's, PCB's, Pesticiden olie, somparameters EOX	Extractie	Somparameter GC (-MS) IR-spectrometer HPLC
SNELLE ORIËNTERENDE ANALYSE Lozing in bodem of water, vluchtige stoffen somparameters VOX	Gasstriptechniek	Somparameter GC (-MS)
UITGEBREIDE EFFECTMETING (Totaal meting) Ook meer polaire stoffen, hoogmoleculaire verbindingen, Genotoxisch effect (Amestest) Somparameters $X_7OX, X_2OX, (X_9OX)$	XAD-adsorptie bij pH 7, 2 (en 9)	Somparameter GC (-MS) HPLC CPP-GC-MS Amestest



Afb. 8 - Moleculairgewichtsverdeling van de door middel van verschillende isolatietechnieken verkregen isolaties van één watertype.

geïsoleerd, wordt duidelijk dat op dit moment nog slechts een zeer klein gedeelte van het totaal organisch materiaal in water binnen het gezichtsveld valt.

Selectieve isolatie

Iedere isolatietechniek berust op specifieke fysische gegevens en richt zich dan ook op een door die isolatietechniek gedefinieerde groep van verbindingen.
Deze selectiviteit kan enerzijds als een nadeel uitgelegd worden, omdat immers het streven bestaat een zo volledig mogelijk beeld te krijgen van de organische verontreinigingen in water. Anderzijds kan deze selectiviteit bij de isolatie ook als een voordeel beschouwd worden omdat met de selectiviteit van de isolatie informatie verkregen wordt over het fysische karakter van de geïsoleerde verbindingen.
Deze karakterisering van de isolaten op grond van fysische eigenschappen biedt dan ook een extra gegeven bij een eventuele identificatie van individuele verbindingen.

De selectieve werking van een isolatietechniek biedt mogelijkheden om een probleemgerichte isolatie toe te passen. Afhankelijk van de te meten parameter, van de gewenste informatie en van de aard van het probleem kan een isolatie in combinatie met één of meer meettechnieken gekozen worden. In tabel IV wordt een voorbeeld getoond van een analyseplan, waarbij voor een aantal analysetypen een globaal voorstel is gegeven welke isolatiemethode gekozen kan worden.

De selectiviteit van een isolatietechniek biedt dus mogelijkheden voor een probleemgerichte aanpak, maar ze biedt eveneens de mogelijkheid tot misinterpretatie van waarnemingen. De afwezigheid van een bepaalde stof of groep verbindingen in het geïsoleerde materiaal kan wijzen op afwezigheid ervan in het watermonster. Maar ook kan de verklaring liggen in de keuze van een minder geschikte isolatie- of monsteropwerkingsprocedure.

Het behoeft dan ook geen betoog dat de keuze van de isolatiemethode van doorslaggevende betekenis is voor de gehele analysetechniek.

Literatuur

1. Rook, J. J. (1971). *Headspace analysis in water.* H_2O 17, 385.
2. Bertsch, W. e.a. *Trace analysis of organic volatiles in water by gaschromatography, mass-spectrometry with glass capillary columns.* J. of Chrom. 112 (1975), p. 701-718.
3. Bellar, T. A. and Lichtenberg, J. J. *Determining volatile organics at microgram per liter levels by gaschromatography.* JAWWA december (1974), p. 739-744.
4. Grob, K. and Zürcher, F. *Stripping of trace organic substances from water; equipment and procedure.* J. of Chrom. 117 (1976), p. 285-294.
5. Keith, L. H. *Sci.*Total Environ. 3 (1974), 87.
6. Meyers, A. P. *Organische microverontreinigingen in Rijn en Maas.* H_2O 6 (1973), p. 244-249.
7. Noordsij, A., Beveren, J. van and Brandt, A. *Isolation of Organic Compounds from Water for Chemical Analysis and Toxicological Testing.* Intern. J. Environ. Anal. Chem. 13 (1983), pp. 205-217.
8. Junk, G. A. e.a. *Use of macroreticulair resins in the analysis of water trace contaminants.* J. of Chrom. 99 (1974), p. 745-762.
9. Rossum, P. van e.a. *Isolation of Organic Water pollutants by XAD-resins and Carbon.* J. of Chrom. 150 (1978), p. 381-392.

● ● ●

Geen ontzouter op Ameland

De EG-commissie heeft een verzoek om subsidie voor een waterontzoutingsinstallatie aangedreven door wind-energie op het eiland Ameland afgewezen, zo heeft de NV Waterleiding Friesland medegedeeld. Het verzoek was gedaan omdat een groep onderzoekers naar mogelijke toepassingen van windenergie voorstelden om een vermeend drinkwater-tekort op het eiland in het toeristen-seizoen op te heffen door zout water te ontzouten in een installatie waarvoor windmolens de energie zouden kunnen leveren. Het moest een milieuvriendelijk alternatief voor de grondwaterwinning op het eiland worden. Nu de EG het subsidieverzoek heeft afgewezen, zijn de plannen van de baan, zo laat de WLF weten.

Agenda

13 - 14 juni 1984, Karlsruhe, BRD: Symposium: Die Flockung in der Wasseraufbereitung. Inl.: VDGW-Hauptgeschäftsführung, Postfach 5240, Frankfurter Allee 27-29, 6236 Eschhorn 1, BRD.

18 - 21 juni 1984, Gothenburg, Zweden: World Conference and Exhibition BioEnergy 84. Inl.: The Swedish Bio-Energy Association (SVEBIO), Essingestråket 11, S-112 66 Stockholm, Zweden.

12 - 14 september 1984, Reading, UK: International Conference on the planning, construction, maintenance & operation of sewerage systems. BHRA-WRC, University of Reading, UK. Inl.: Conference Organiser Sewerage Systems, BHRA, The Fluid Engineering Centre, Cranfield, Bedford MK43 OAJ, England.

12 - 14 september 1984, Cardiff, UK: Seminar on freshwater biological monitoring. IAWPRC en Univ. of Wales. Inl.: Dr. David Pascoe, Dept. of Applied Biology, Univ. of Wales, Institute of Science and Technology, Kind Edward VII Avenue, Cathays Park, Cardiff CF1 3NU, UK.

12 - 14 september 1984, Kopenhagen, Denemarken: Degradation, Retention and Dispersion of Pollutants in Groundwater - pre-conference seminar associated with 12th IAWPRC biennial, conference. Inl.: Prof. E. Arvin, Dept. of Environmental Engineering Building 115C, Technical Univ. of Denmark, DK-2800 Lyngby, Denemarken.

17 - 20 september 1984, Amsterdam: 12th IAWRC Biennial International Conference of Water Pollution Research and Control. Inl. IAWPRC, Alliance House, 29/30 High Holborn, London WC1V 6BA, UK.

18 - 22 september 1984, Amsterdam: Aquatech '84. Inl.: Industrial Presentations (Europe) BV, Aquatech '84, Waalhaven ZZ 44, 3088 HJ Rotterdam.

24 - 25 september 1984, Antwerpen, België: Advanced Treatment Technologies for Removal and Disposal of Micropollutants - post-conference seminar associated with 12th IAWPRC biennial Int. Conference. Inl.: ir. G. Bury, secretaris Belgisch Nationaal Comité van de IAWPRC, Waterloosesteenweg 255-Bus 6, B-1000 Brussel, België.

24 - 25 september 1984, Parijs, Frankrijk: Enhanced Biological Phosphate Removal from Waste Water - post-conference seminar associated with 12th biennial IAWPRC Intern. Conference. Inl.: dr. M. Florentz, Phosphorus Seminar, Anjou-Recherche 52 rue d'Anjou, 75384 Paris Cedex 08, France.

● ● ●