

**RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU  
BILTHOVEN**

Briefrapport RIVM/LOC 453/01/AdJ

**EEN NIEUWE METHODIEK VOOR DE BEPALING VAN VRIJ-  
OPGELOSTE HYDROFOBE CONTAMINANTEN IN PORIEWATER**

A.P.J.M de Jong en E.A. Hogendoorn

November 2001

**SAMENVATTING**

Een nieuwe methode is ontwikkeld voor de scheiding en selectieve bepaling van de fractie vrij-opgeloste hydrofobe contaminanten in poriewater van sediment. De methode is gebaseerd op een snelle (milliseconden-seconden) selectieve extractie van hydrofobe stoffen uit poriewater tijdens het transport door een zogenaamde 'wall coated open tubular capillary' (WOTC, kort stuk gaschromatografie kolom). Een van de belangrijkste randvoorwaarde hierbij is dat de tijdschaal waarop de extractie plaatsvindt klein is ten opzichte van de tijdconstante van de reversibele binding aan dissolved organic carbon (DOC). Een voldoende snelle scheiding en extractie voorkomt in belangrijke mate nalevering van DOC gebonden analyten en daarmee de kans op een overschatting van de concentratie vrije opgelost, c.q. onderschatting van  $K_{DOC}$ . De detectiegrens van de methode voor polycyclische aromaten (PAK) ligt op het sub-nanogram per liter (ppt) niveau. De methode vereist kleine volumina poriewater (<1 mL).

**SUMMARY**

A new method has been developed for the separation and subsequent determination of truly free dissolved hydrophobic pollutants in porewater. The method is based on the fast (ms-s) and selective extraction of hydrophobic molecules from the water during the transport of the sample through a so called wall coated open tubular capillary (WOTC, a short piece gas chromatography column). An important factor in this process is the time scale in which the extraction takes place relative to the equilibrium time constant for the binding to dissolved organic carbon (DOC). The fast separation obtained by this method (down to 50 ms) between the free dissolved and bound fraction prevents to a significant extent for an overestimation of the free dissolved fraction, c.q. an underestimation of  $K_{DOC}$  due a shift in the equilibrium free-bound. The detection limit of the method for free dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons (PAKs) was at the low to sub nanogram per liter level (ppt) using relatively small pore water samples (<1 mL).

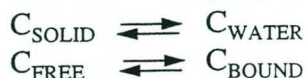
Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Advies- en Kenniscentrum van het Directoraat-Generaal Rijkswaterstaat (Kenmerk 394-99, 21 september 1999)



## INLEIDING

Blijkens discussies in de literatuur speelt de fractie vrij-opgelost van een contaminant in poriewater van bodems en sedimenten een toenemende rol in o.a. eco-toxicologische en mobiliteits risicoschattingen. Voor hydrofobe stoffen, zoals bijvoorbeeld p-dibenzodioxinen en -furanen (PCDD/F) en polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAKs), geldt dat het overgrote deel zal voorkomen gebonden aan de deeltjes. Het overige, in het porie of grondwater opgeloste gedeelte, is op zijn beurt verdeeld in twee te onderscheiden fasen. Een ervan betreft de vrij in water opgeloste moleculen, terwijl het andere deel is geassocieerd met het opgeloste organische materiaal (DOC). Er bestaan aanwijzingen voor het feit dat het niveau van blootstelling van organismen aan contaminanten voor een belangrijk deel wordt bepaald door de grootte (concentratie) van de vrije, moleculair in het poriewater opgeloste fractie. Deze concentratie is afhankelijk van de totale concentratie, de sorptie-eigenschappen van het sediment (organisch koolstof), de fysisch-chemische eigenschappen (o.a. hydrofobiciteit) van de contaminant alsmede van de concentratie aan dissolved organic carbon (DOC) in het poriewater (de zogenaamde derde fase). Een en ander kan met twee dynamische evenwichtsprocessen worden beschreven:

- (1) de verdeling tussen de vaste en de waterige fase en
- (2) de verdeling in de waterige fase tussen de vrije oplossing en de derde fase.



met als massabalans  $C_{\text{sediment}} = C_{\text{solid}} + C_{\text{water}}$  en  $C_{\text{water}} = C_{\text{free}} + C_{\text{bound}}$   
en partitiec коэффициenten  $K_p = C_{\text{sediment}}/C_{\text{water}}$  en  $K_{\text{DOC}} = C_{\text{bound}}/C_{\text{free}}$

In beide verdelingen speelt het organisch koolstof (organic carbon, OC) een belangrijke rol. Aan deeltjes wordt de binding van contaminanten zowel in kwalitatief (bindingssterkte) als in kwantitatief opzicht in belangrijke mate door het organisch koolstof (OC) gehalte bepaald. In analogie hieraan wordt de oplosbaarheid van hydrofobe stoffen in poriewater in belangrijke mate bevorderd door de concentratie van de derde fase. De grootste onzekerheden ten aanzien van de derde fase betreffen de aard (oorsprong), de molecuulgrootte, colloidvorming en daarmee samenhangende specifieke sorptie-eigenschappen.

In de literatuur worden diverse modellen voor deze verdelingsprocessen beschreven. Echter, de voorspellende waarde ervan zou tamelijk onzeker zijn. Zo bestaan er, bijvoorbeeld, aanwijzingen dat er een toename kan optreden in de binding van contaminanten aan deeltjes bij een toename van de contacttijd [Cornelissen, en referenties hierin]. Dit verschijnsel, ook wel aangeduid met de term aging, duidt op een tijdsafhankelijke toename van  $K_p$ . Een toename van  $K_p$  resulteert in een evenredige afname van de poriewaterconcentratie en daarmee samenhangend, het milieu toxicologisch risico en de mobiliteit van de contaminant.

Gelijksoortige problemen doen zich voor bij de schatting van de binding aan DOC ( $K_{\text{DOC}}$ ) [Krop et al., en referenties hierin]. Modelberekeningen hanteren vaak een eenvoudige relatie voor  $K_{\text{DOC}}$  en de octanol/water partitietiecoëfficiënt ( $K_{\text{OW}}$ ) van een stof.

Tegen deze achtergrond bestaat er een toenemende behoefte aan experimentele methoden waarmee de concentratie vrij-opgelost in poriewater kan worden bepaald. Het merendeel van de huidige methoden tracht een –fysische– scheiding aan te brengen tussen de vrij-opgeloste en DOC gebonden fractie, om vervolgens de concentraties ervan te kunnen bepalen. Voorbeelden zijn het gebruik van vloeistofchromatografie (hplc) [Landrum], ultracentrifuge [Burgers] en microdialyse [Landrum]. Een andere methode maakt gebruik van de solid phase micro extraction (SPME) techniek [Poerschmann].



De betrouwbaarheid van deze methoden is twijfelachtig. De scheiding met behulp van hplc introduceert een onbekend groot risico op verbreking van de binding aan DOC tijdens het fysieke contact van de DOC moleculen contact met de deeltjes in de kolom. Verondersteld wordt dat de kinetiek van de overgang van gebonden naar vrij stofafhankelijk is en wel omgekeerd evenredig met het molecuulgewicht van de verontreiniging [Wu et al]. Dezelfde auteurs hebben onderzoek gedaan naar de mogelijkheden van ultrafiltratie. Hun bevindingen waren negatief o.a vanwege adsorptieverliezen aan het filtermateriaal. Landrum et.al. hebben onderzoek verricht naar de scheiding opgelost/gebonden met behulp van dialyse. Dialyse is een langzaam proces, tijdens welke er nalevering mogelijk is vanuit de DOC gebonden fractie, hetgeen –in een niet oneindig groot systeem- zal resulteren in een overschatting van de vrij-opgeloste fractie. In feite is deze methodiek alleen bruikbaar indien de naleveringssnelheid significant lager is dan de dialysesnelheid, hetgeen niet het geval lijkt te zijn.

De spme-techniek vertoont enkele overeenkomsten met de dialysetechniek. Ook hier worden selectief vrij-opgeloste moleculen aan het water onttrokken, hier, door adsorptie aan een dunne gecoate naald welke gedurende een bepaalde periode in het waterige monster wordt geplaatst. In tegenstelling tot micro-dialyse, wordt bij de spme methode een te verwaarlozen deel van de totale hoeveelheid vrij-opgelost aan het water onttrokken, zodat nauwelijks of geen verstoring van de evenwichtligging zal plaatsvinden. Naar onze ervaring liggen de problemen met deze techniek meer op het vlak van de gevoeligheid, de slechte reproduceerbaarheid en nauwkeurigheid van kwantificering.

Gelet op bovenstaande beperkingen voor bestaande technieken wordt hier een nieuwe techniek voorgesteld. Teneinde te voldoen aan het beoogde doel worden in de opzet van de methode de volgende uitgangspunten gehanteerd:

1. De methode, inclusief alle noodzakelijke handelingen, mag geen of indien onvermijdbaar, een zeer beperkte en controleerbare invloed uitoefenen op het te onderzoeken systeem (vergelijk nalevering zoals bij de dialyse-techniek);
2. De methode moet vrij zijn van limiterende randvoorwaarden en definities. Dit betreft ondermeer (i) definities ten aanzien van DOC (deeltjesgrootte, -verdeling); (ii) aannames omtrent de partitietcoëfficiënten voor sediment/water en DOC/water en (iii) gehalte DOC in poriewater.
3. De methode is gericht op de **directe** meting van de concentratie vrij- opgeloste contaminant, waardoor afhankelijkheid van andere bepalingen (OC, DOC), de kwaliteit van scheiding sediment/poriewater en aannames omtrent de aard (moleculair, colloïdaal) van DOC worden vermeden.

## PRINCIPE VAN DE TECHNIEK

De voorgestelde methode berust op een snelle (milliseconden-seconden), selectieve extractie van vrij-opgeloste moleculen uit het waterige poriewatermonster. Hierbij wordt gebruikt gemaakt van een capillaire kolom waarin aan de binnenwand een dunne (sub- $\mu\text{m}$  schaal) film van een apolaire, viskeuze, niet-wateroplosbare vloeibaar polymeer is aangebracht (gas chromatografie kolom). In de beoogde toepassing, welke is aan te duiden met 'reversed' 'open tubular' vloeistof-vloeistofchromatografie, fungeert de vloeistoffilm als het oplos c.q extractie medium voor passerende moleculen. Hierin zullen hydrofobe moleculen in het grensvlak water/film de neiging ondervinden in de filmlaag op te lossen. Dit leidt tot een locale afname van de concentratie in de grenslaag, welke vervolgens op basis van diffusietransport vanuit het centrum van de vloeistofstroom zal worden aangevuld. Dit proces resulteert in een radiale concentratiegradiënt.



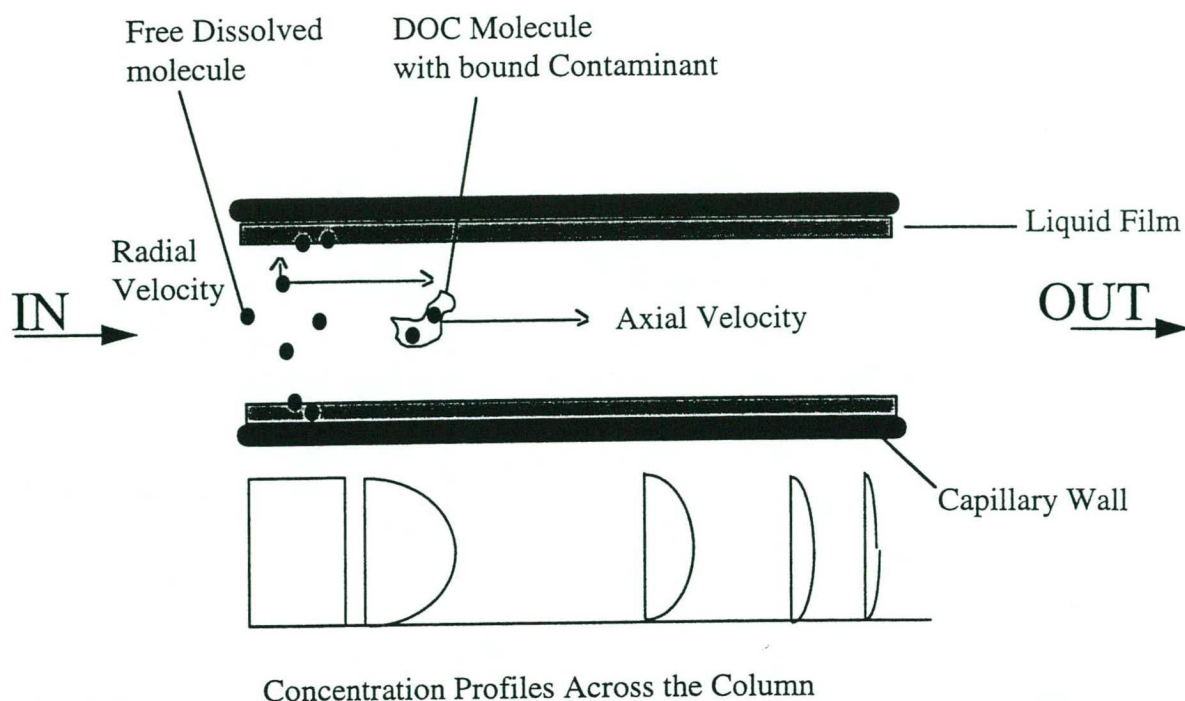


Fig.1: Schematische weergave van de scheiding van vrij opgeloste en DOC gebonden moleculen in kort stuk gaschromatografische kolom. Kleine, hydrofobe moleculen in de grenslaag zullen beter oplossen in de vloeistoffilm dan grote, polaire DOC moleculen. Tengevolge hiervan ontstaat er specifiek voor hydrofobe moleculen een radiaal gerichte drijvende kracht naar de grenslaag toe. De axiale snelheid representeert de stroomsnelheid van het water door de kolom.

Zoals valt in te zien resulteert het oplossen (ofwel: de partititie tussen de vloeistoffilm en het waterige monster) van contaminantmoleculen tot een radiale component in de bewegingsrichting voor individuele moleculen. De longitudinale snelheid correspondeert met de stroomsnelheid van het water door de kolom. De grootte van radiale snelheidscomponent is afhankelijk van de oplossnelheid in de film en de diffusiesnelheid. De verhouding tussen de radiaal en de axiaal gerichte snelheden ten opzichte van de verhouding tussen de diameter en de lengte van de kolom zijn bepalend of moleculen de kolom zullen passeren of niet. Voor standaard 0.32 en 0.25 mm interne diameter (ID) kolommen bedraagt de verhouding  $L/r$  resp. 6250 en 8000 per meter. De diffusiesnelheid in water is stofafhankelijk en omgekeerd evenredig met de wortel uit het molecuulgewicht (Stokes:  $D \sim c(MW)^{-0.5}$ ). Als gevolg hiervan zal de diffusiesnelheid voor relatief grote DOC moleculen (MW bijv 50.000) 1-2 orden van grootte kleiner in vergelijking tot die van kleine contaminantmoleculen (MW benzo[a]pyreen: 252).

Nagegaan is of het in de praktijk mogelijk is het voorgestelde mechanisme te realiseren. Een eerste randvoorwaarde hierbij is of er condities kunnen worden gevonden waarbij een volledige extractie kan worden bereikt. De verblijftijd (snelheid/lengte) lijkt hierbij de belangrijkste, te optimaliseren, grootte. De dikte van de vloeistoffilm lijkt van minder belang. Deze (hoeveelheid extractievloeistof per m) zal met name de capaciteit van de kolom bepalen. Een tweede te stellen randvoorwaarde is of en in welke mate er krachten op de DOC gebonden moleculen worden uitgeoefend tijdens de passage door de kolom. Naast de grootte van deze krachten, hangt de mate van de daarmee samenhangende nalevering mede af van de relatieve grootte van de afname van de concentratie vrij-opgelost en de tijdconstante van het evenwicht. In dit verband wordt het zinvol geacht om niet naar volledige extractie van de vrije fractie te streven, maar daar, indien nodig, zo ver mogelijk onder te blijven. Bovendien kan worden



opgemerkt dat er mogelijk grote verschillen bestaan in de bindingssterkte aan verschillende soorten DOC c.q. colloïdale deeltjes. Een dergelijk onderscheid noch het relatieve voorkomen van dergelijke DOC fracties zijn ons bekend.

## MATERIALEN EN METHODEN

1. Scheiding/isolatie vrij-opgelost contaminant (zie figuur 1).

Een aliquot (0.6 ml) van het te onderzoeken watermonster wordt in een puntvormige monstervial (1 ml, Hewlett Packard) gebracht en vervolgens in een drukvat geplaatst. Het drukvat is via een reduceerventiel en een drukregelaar (0- 70 psi) verbonden met een He-cylinder. De trapkolom wordt door een ferrule tot in de punt van het monstervat geplaatst en daarna vast gezet. Vervolgens wordt de toevoerkraan met het drukgas geopend zodat het monster door de kolom wordt gedrukt. Afhankelijk van de vraagstelling wordt de kolom op exact dezelfde wijze beladen met een hoeveelheid interne standaard (BaP-d12) in water. Na drogen (doorblazen met He) wordt de kolom in de oven van de GC/MS geplaatst voor detectie en kwantificering van de geëxtraheerde analyten .

2 Extractiekolom.

Experimenten zijn uitgevoerd met twee typen fused silica capillaire kolommen, beiden voorzien van een chemisch gebonden (cross linked) apolaire stationaire fase(Chrompack, Middelburg, Nederland):

kolom A: CpSil 19 CB; inwendige diameter 0.32 mm; filmdikte 1.2 µm

kolom B: CpSil 19 CB; inwendige diameter 0.25 mm, filmdikte 0.2 µm

**Tabel 1. Dimensies Extractiekolommen**

Kolom	ID [mm]	filmdikte [µm]	lengte [cm]	volume [µL]	filmvolume [nL]
A	0.32	1.2	57	46	687
B	0.25	0.20	60	29	95
			30	15	47
			15	7	24
			7,5	4	12

**Tabel 2: Overzicht van drukken, lineaire snelheden en verblijftijden in de wide bore (kolom A) en narrow bore kolom (kolom B) als functie van de flow**

Kolom	Lengte [cm]	ID [mm]	Druk [bar]	Flow [µL/min]	Snelheid cm/s	Verblijftijd [s]
A	57	0.32	0.07	250	5.2	11
			0.09	390	8.1	7.1
			0.21	800	16.5	3.4
			0.35	1290	26.6	2.1
			0.45	1640	33.9	1.7
			0.75	2250	46.5	1.2
			1.0	3600	74.3	0.77
B	60	0.25	1.0	1000	33.9	1.77
	30			2000	67.8	0.44
	15			4000	136	0.11
	7.5			8000	271	0.03



### 3. Gaschromatografie massaspectrometrie (GCMS)

Na belading en drogen wordt de extractiekolom met behulp van press-fit kolomkoppelstukken (Interscience artikelnummer 65512532) tussen de injector en de analytische GC kolom geplaatst. De eerste stap in de analyse bestaat uit het thermisch overbrengen van de inhoud van de extractiekolom naar de analytische kolom (ballistisch verhoging temperatuur van kamertemperatuur naar 275 °C). Tijdens deze stap wordt het begin van de analytische kolom (Hewlett-Packard, HP1701; 30 m x 0.25 mm ID; filmdikte 0.12 µm) buiten de GC oven geplaatst. De relatief koude plek veroorzaakt de condensatie van de componenten op de top van de kolom. Na afkoelen wordt de gehele kolom in de oven geplaatst en wordt de eigenlijk analyse gestart. De GC kolom werd geprogrammeerd van een begintemperatuur van 100° C (1 min isotherm) met een snelheid van 25°C/min tot een eindtemperatuur van 275°C (10 min isotherm). Detectie van de componenten vond plaats door middel van selected ion monitoring massaspectrometrie (SIM-GC/MS) op het moleculaire ion van natief B[a]P, m/z 252 en de interne standaard, d12-B[a]P, m/z 264. De ionisatiemodus was electron impact (35 eV, EI) bij een oplossend vermogen van 3000:1.

4. Standaarden. Standaard- en calibratieoplossingen in water werden bereid door verdunning van stockoplossingen van benzo[a]pyreen (B[a]P) en de gedeutereerde analoog [<sup>2</sup>H<sub>12</sub>]-B[a]P in aceton in water in een verhouding van 1:1000.

## RESULTATEN

**SELECTIE EXTRACTIEKOLOM.** Eerste, verkennende experimenten toonden aan dat de extractie van B[a]P in demiwater (deeltjes- en DOC-vrij) goed aan het theoretische model beantwoorde (tabel 3). Het extractierendement laat een duidelijke verband zien met de verblijftijd van het monster in de kolom. Volledige extractie (>99%) werd bereikt bij een verblijftijd van minmaal 7 s ofwel bij een lineaire snelheid van maximaal 8 cm/s.

De extractieduur ofwel verblijftijd (zie tabel 1 en 2) van het water in de kolom werd op twee verschillende manieren gevarieerd. In kolom A (wide bore, dikke film) werd de flow gevarieerd door verandering van de druk. In kolom B (narrow bore, dunne film) werd de lengte gevarieerd (range: 7.5-60 cm) bij een constante druk.

Het extractierendement als functie van de lineaire snelheid in kolom A is bepaald uit de analyse van een waterige oplossing van perdeutero Benzo[a]Pyreen (<sup>2</sup>H<sub>12</sub>)-BaP, kortweg BaP-d12). In dit experiment werd de niet geëxtraheerde hoeveelheid in de uitstromende vloeistof opgevangen en geanalyseerd. Hierbij werden de nodige maatregelen genomen ter voorkoming van adsorptieverliezen in het opvangvat. De belangrijkste voorzorgsmaatregel was dat het waterige monster werd opgevangen in een organisch oplosmiddel, zodanig dat de oplosbaarheidsgrens van BaP nimmer werd overschreden. Aldus werd de uitloop van de kolom (water) geleid in een mengsel van tolueen (1 mL) en aceton (1 mL) waarin zich een hoeveelheid Benzo[a]Pyreen (BaP) als kwantificeringsstandaard (36.6 ng) bevond. Vervolgens werd na extractie (tolueen niet mengbaar met water) de hoeveelheid BAP-d12 in de uitstroom bepaald (tabel 3).



**Tabel 3: Extractierendement (%) voor BaP in water tijdens passage door kolom a (l = 57 cm ID = 0.32 mm, filmdikte, 1.2 µm) als functie van de verblijftijd c.q. doorstroomsnelheid. De term  $C_f$  geeft de concentratie aan van de geëxtraheerde analyt in de film. De term  $P_{w-f}$  geeft de partititiec coefficient aan tussen de gemiddelde concentratie in de film en de beginconcentratie in het water (73.6 µg/L). nd: niet detecteerbaar.**

Verblijftijd [s]	Snelheid [cm/s]	B[a]B in uitstroom (%)	Extractie Opbrengst [%]	$C_f$ [mg/L]	$P_{w-f}$ [-]
0.77	74.3	66	34	2,19	43
1.22	46.5	47	53	3,40	95
1.68	33.9	29	61	3,92	132
2.14	26.6	29	61	3,92	132
3.45	16.5	5	95	6,11	1600
7.08	8.1	<0.5	>99,5	>6,39	>1676
11.04	5.2	nd	100	6,43	~

De resultaten in tabel 3 voldoen aan de verwachting. Zo wordt er een duidelijke toename geconstateerd van het extractierendement bij lagere lineaire snelheden van het water door de kolom. Een halvering van de snelheid resulteert, ruwweg, in een verdubbeling van het extractierendement.

Een analoog experiment werd uitgevoerd met behulp van kolom B. In dit experiment is bij een meer realistisch concentratieniveau gewerkt (400 ng BaP-d12 per liter). De resultaten worden in tabel 4 samengevat.

**Tabel 4. Extractie (%) voor BaP tijdens de passage bij constante druk (1 bar) van een waterige oplossing (0.6 mL, 400 ng/L) door kolom B (0.25 mm ID, filmdikte 0.20 µm) van verschillende lengte.**

Lengte [cm]	Verblijftijd [s]	Snelheid [cm/s]	Extractie % (N=3)	$C_f$ [mg/L]	$P_{w-f}$ [-]
7.5	0.028	271	2.0 +/- 0.3	0,53	1340
15	0.111	135	4.5 +/- 0.4	0,60	1569
30	0.443	68	11.8 +/- 1.4	0,81	2295
60	1.771	34	24.7 +/- 1.5	0,84	2774

Ook hier bestaat er een lineair verband tussen de extractie en de snelheid van het water door de kolom (verdubbeling snelheid, halvering extractierendement). Tevens valt op dat het rendement in deze kleiner gedimensioneerde kolom enigszins (factor 2-3) achterblijft bij die in kolom A. Dimensioneel gezien bevat kolom A een factor 7-8 meer vloeibare fase, hetgeen de capaciteit met deze factor zal doen toenemen. Ter illustratie hiervan wordt de berekende concentratie in de film, en de partititiec coefficient ( $P_{w-f}$ ) vergeleken (zie tabel 3 en 4) voor de analyse van een geconcentreerde oplossing (73.6 µg/L) met kolom A met de analyse van bijna 200 lagere concentratie met kolom B.

**BEPALING FRACTIE VRIJ-OPGELOST.** Uit voorgaande komt duidelijk naar voren dat de tijdconstante van de binding aan DOC van doorslaggevend belang is bij de scheiding tussen de vrije en gebonden fractie. De experimentele bewijsvoering van de beoogde werking van de methode is lastig. Een praktische methode voor het aantonen van een juiste kwantificering van de vrij-opgeloste fractie bestaat uit de analyse van een verdunningsreeks poriewater met een bekend DOC gehalte en bekende totaal concentratie van de contaminant.



De vergelijking totale hoeveelheid in water is gelijk aan de som van de vrij opgeloste fractie en de DOC gebonden fractie ( $C_{TOT} = C_{DOC} + C_{free}$ ) en de verdelingscoëfficiënt  $K_{DOC} = C_{DOC} / (m_{DOC} * C_{FREE})$  leidt met  $Y = C_{FREE}^{-1}$  en  $X = m_{DOC}$  tot

$$Y = aX + b; \text{ met } a = K_{DOC} / C_{TOT} \text{ en } b = 1 / C_{TOT}$$

Hieruit volgt dat bij een constante waarde van  $C_{TOT}$  de waarde van  $K_{DOC}$  kan worden berekend uit de helling van de curve. De resultaten van dit experiment zijn weergegeven in tabel 5.

**Tabel 5: Bepaling van  $K_{DOC}$  uit een verdunningsreeks van DOC houdend water waaraan een constante hoeveelheid van 1200 ng/L BaP is toegevoegd. Extractiecondities: kolom B, 5 cm. Verblijftijd in kolom 0.15 s.**

$m_{DOC}$	BaP Total	BaP vrij	$1/C_{FREE}$
[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]	[L/µg]
3000	1.2	0,397	2,52
6000	1.2	0,346	2,89
12000	1.2	0,316	3,16
24000	1.2	0,209	4,79

De relatie tussen  $X = m_{DOC}$  en  $Y = C_{FREE}^{-1}$  voldoet aan  $Y = 0,00012 X + 1.906$ ;  $r^2 = 0.7864$ . Hieruit volgt voor  $K_{DOC}$  een waarde van  $1.2 \cdot 10^{-4} * 1,906 * 10^9 = 228720$  ( $\log K_{DOC} = 5.36$ ). Deze waarde is in overeenstemming met verwachte waarde voor B[a]P, op basis waarvan geconcludeerd kan worden dat geen significante overschatting van de vrij-opgeloste fractie wordt gemaakt.

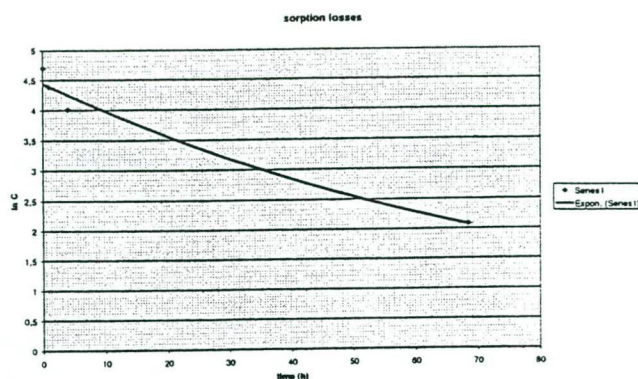
Een verdere indicatie met betrekking tot de validiteit van de methode is uit eenvolgende experiment verkregen. De vrije (extraheerbare) fractie contaminant (BaP-d12 (674 ng/L)) werd geanalyseerd in DOC houdend water (12 mg/kg) bij verschillende verblijftijden in de extractiekolom (tabel 7). Indien nalevering een rol speelt in de hoeveelheid vrij-opgelost, zal de mate hiervan een toename laten zien bij een langzamere extractie. De resultaten (tabel 6) geven constante waarden voor de berekende  $K_{DOC}$ , hetgeen de validiteit van de methodiek onderschrijft.

**Tabel 6: Analyse extraheerbaar BaP (Totaal concentratie 674 ng/L) in DOC houdend water (12 mg/L). Incubatietijd 18 h.**

Verblijftijd [ms]	BaP vrij [ng/L]	BaP vrij/totaal [%]	$\log(K_{DOC})$ [-]
34	110 +/- 31	14 +/- 4,0	5,71
135	132 +/- 6	17 +/- 0,8	5,61
540	164 +/- 50	21 +/- 6,4	5,50
2160	149 +/- 31	19 +/- 0,13	5,55
gemiddeld	139 +/- 33	18 +/- 4,2	5,58 +/- 0,13

**TOEPASSING OP MONSTERS PORIEWATER.** De kolom-extractiemethode is toegepast voor de analyse vrij-opgelost B[a]P in twee monsters poriewater van sediment van het Ketelmeer (RIZA, K3, West-1). De tijd tussen de winning van het poriewater en de analyse bedroeg circa 9 uur. De resultaten van de poriewater analyse worden in tabel 7 samengevat.





**Fig 2. Afname van de concentratie B[a]P tijdens bewaren in een glazen buis als functie van de tijd. Beginconcentratie 120 ng/L. De concentratie bedroeg na 68 h nog slechts 7.8 ng/L (6.5%)**

NB: Deze periode wordt expliciet vermeld daar eerder gebleken was dat hydrofobe stoffen opgelost in water, waaronder B[a]P, betrekkelijk snel aan de wanden van het vat (glazen testbuis) adsorberen. De kinetiek van deze verliezen is hierboven weergegeven in figuur 2. De datapunten ( $\ln[\text{concentratie}]$ ) tonen een niet lineair verloop in de tijd. In de eerste uren (0-4h,  $t_{1/2}$  circa 4 h) lijkt het verval sneller dan daarna ( $t_{1/2} = 20.5\text{h}$ ). Indien we dit onderscheid verwaarlozen kan een gemiddelde halfwaardetijd over de gehele bewaarperiode (68 h) van circa 15.2 uur worden berekend. Het experiment is uitgevoerd bij een beginconcentratie van 120 ng/L. Niet uitgesloten wordt dat verliezen in relatieve zin bij lagere concentraties zullen toenemen.

**Tabel 7: Resultaten van de analyse van vrij-opgelost B[a]P in poriewater uit sediment uit het Ketelmeer. Analyse: extractie 0.6 ml mbv 60 cm kolom B; verblijftijd, 2.16 sec. Kwantificering: 0.6 ml 25 ng/L BaP-d12 in water. Kwantificering totalen: op basis van toevoeging van 100 ng/L BaP-d12, incubatieduur 18 h. Extractie: als bij bepaling vrije fractie.**

Sediment-Locatie	DOC [mg/L]	Vrij [ng/L]	BaP Totaal [ng/L]	$K_{\text{DOC}}$ [-]
Aldriche Humic Acid	12	139 +/- 33	784 +/- 7	5.59
Ketelmeer-K3	21.5	8.51 +/- 0.43	8.54 +/- 1.04	
Ketelmeer-West 1	17	3.79 +/- 0.6	6.72 +/- 1.78	

**KINETIEK BINDING B[a]P AAN DOC.** De snelheid van de hier gepresenteerde methode maakt het mogelijk nader onderzoek te verrichten naar de kinetiek van de binding aan DOC. Eerder vonden Poerschman et al. dat evenwichtinstelling voor zowel naftaleen als anthraceen binnen 1 h werd bereikt. In het kader van de onderbouwing van de validatie van de methode is meer inzicht nodig in de snelheidsconstante van de binding. Meer gedetailleerde kennis van de kinetiek, met name voor het



eventuele snelle gedeelte tussen 0-1 h, kan het nodige inzicht verschaffen in het risico van nalevering tijdens de extractie van de vrije fractie. De resultaten van een kinetisch experiment, waarbij de vrij opgeloste fractie na toevoeging van B[a]P aan DOC houdend water als functie van de tijd is bepaald, zijn in tabel 8 en figuur 3 weergegeven.

**Tabel 8. Concentratie vrij-opgelost B[a]P in DOC houdend water (18 mg/L) als functie van de incubatietijd. Extractie: kolom B, L=10 cm, flow 0.25 mL/min**

Tijd (min)	Concentratie B[a]P		K <sub>DOC</sub>
	vrij	gebonden	
0	637	0	
2.5	382	255	4.57
19	297	340	4.80
34	263	374	4.90
53	264	373	4.90
750	102	535	5.46

Het resultaat (zie ook fig 3) toont een niet lineair verband tussen de logaritmische waarde van de concentratie DOC gebonden en de tijd. Dit niet lineaire logaritmisch verloop duidt op een tweede factor. Inderdaad wordt op dubbel logaritmische schaal (fig. 4) een lineair verband verkregen. Hieruit is een benadering afgeleid tussen binding als functie van de incubatietijd (h) volgens:

$$B[a]P_{\text{GEBONDEN}} = 1.8 \cdot t^{0.1285}$$

In werkelijk wordt niet de gebonden fractie maar de vrije fractie gemeten. Dit betekent dat de gebonden fractie (= totaal-vrij) meer omvat dan de binding aan DOC alleen. Gelet op de eerder gememoreerde verliezen aan glas lijkt het evident dat er in dit experiment spraken is van een overschatting van de gebonden hoeveelheid. Dit proces, waar twee factoren en rol spelen kan met een twee compartiment-model worden beschreven, waarvan een reversibel en een irreversibel. Deze bevinding onderstreept nogmaals de problemen die bij de (voor-)behandeling van monsters en de bepaling van hydrofobe (slecht wateroplosbare) stoffen hierin kunnen ontstaan.

**ANDERE GEBRUIKSMOGELIJKHEDEN KOLOMEXTRACTIEMETHODE.** Naast de hierboven beschreven toepassing voor de bepaling van *vrij-opgeloste fractie*, kan de methode ook worden gebruikt voor de analyse van de *totaalconcentratie* (vrij+gebonden) in water. Het verschil in werkwijze bestaat uit de keuze van het moment van toevoeging van de (stabiele isotoop gelabelde) interne standaard (IS). In de toepassing van de vrije fractie wordt de interne standaard niet aan het water toegevoegd maar als kwantificeringsstandaard c.q externe standaard op identieke wijze uit een deeltjes en DOC vrij water geëxtraheerd. In de een totaalanalyse wordt de interne standaard echter aan het monster toegevoegd en voldoende lang hiermee geïncubeerd. Daarbij ontstaat de situatie dat de standaard zich op identieke wijze als de natieve component over de verschillende fases zal verdelen (inclusief adsorptie aan de wand). Hoewel bij de sampling van het monster, er, afhankelijk van de snelheid, slechts een bepaald gedeelte wordt geëxtraheerd, zal dit sample vanwege de identieke fysisch-chemische eigenschappen van de IS representatief zijn voor de totale concentratie in het monster (principe van isotoop verdunningstechniek). Op basis hiervan wordt de verhouding tussen de responsies

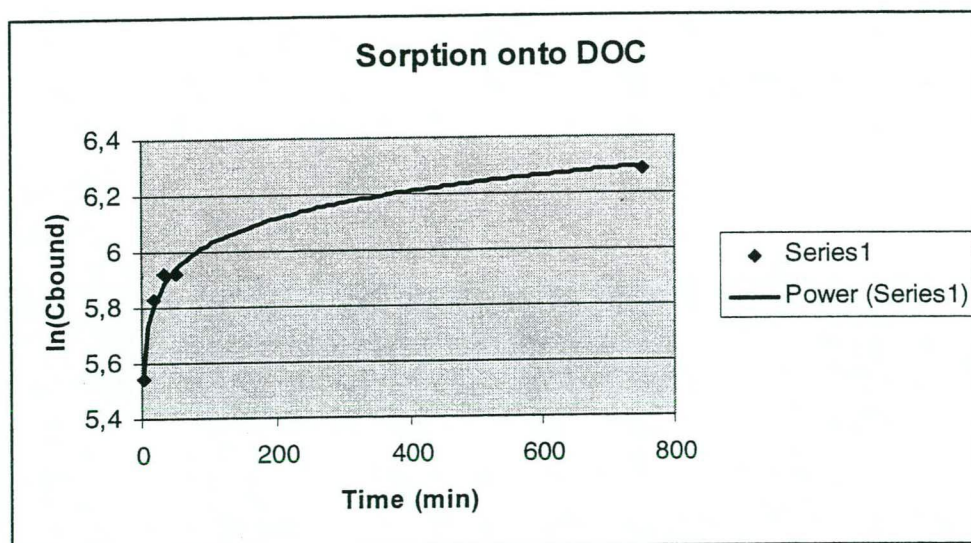


analyt/gelabelde standaard als een betrouwbare maat beschouwt voor de totale concentratie. Deze toepassing is uitgevoerd op de monsters poriewater Ketelmeer. (tabel 7)

Naast de goede gebruiksmogelijkheid (selectiviteit ten aanzien van vrij-opgelost) van de hier beschreven methode in het onderzoek van poriewater zijn enkele andere, meer algemene voordelen aan de ontwikkelde methode te noemen. De belangrijkste twee zijn:

(1) Gevoeligheid. In de toepassing van totaalanalyse kunnen zonder risico langere extractietijden worden toegepast. Langere extractietijden zullen leiden tot een grotere gevoeligheid. Een voorbeeld van de standaard gevoeligheid wordt getoond in fig 5. De response voor de interne standaard van 100 ng/L geeft een detectiegrens aan van <1 ng/L.

(2) Geen gebruik van organische oplosmiddelen. Alle in de loop van dit onderzoek onderzochte organische oplosmiddelen (aceton, hexaan en toluen) blijken verontreinigd te zijn met sporen B[a]P (en andere PAKs) tot 2 ng/L. Deze concentratie kan een niet verwaarloosbare achtergrond veroorzaken in de analyse van laag geconcentreerde poriewater monsters in methoden gebaseerd op vloeistof-vloeistof extractie.



**Fig 3. Verloop binding aan DOC als functie van de incubatietijd (enkelvoudig log schaal)**

De DOC gebonden fractie verkeert in een reversibel evenwicht met de vrij-opgeloste fractie (compartiment 1), terwijl de vrije fractie een aflopend evenwicht vertoont met adsorptie aan de wanden van het vat (compartiment 2)



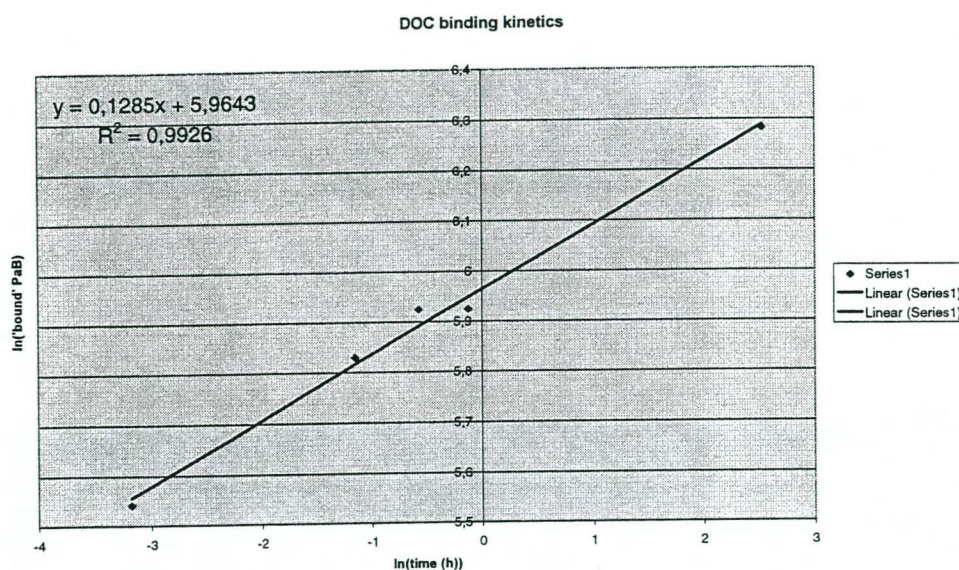


Fig 4. Weergave (ln-ln) van de binding van B[a]P aan DOC en glaswand als functie van de incubatie- en bewaartijd (h).

## DISCUSSIE

Een van de eerste kritiekpunten op methoden die claimen in staat te zijn tot het selectief bepalen van de vrij-opgeloste fractie in aanwezigheid van een gebonden fractie van een contaminant in water zal betrekking hebben op de juistheid van een dergelijke claim.

De resultaten in dit onderzoek indiceren op een discriminatie ten opzichte van de DOC gebonden fractie tijdens de kolom extractietechniek. De resultaten van het verdunnings-experiment in tabel 5 resulteren in een over-all  $\log K_{DOC}$  waarde van 5.36, een waarde die goed overeenstemt met literatuurgegevens [Krop et al.]. De resultaten uit het experiment waarin de extractieduur werd verkort van 2.16 sec tot 34 msec (tabel 6) duiden erop dat de extractie ruim binnen de tijdconstante van het sorptie-evenwicht ligt. Bovendien werd in dit onafhankelijk uitgevoerde experiment een  $\log K_{DOC}$  gevonden, welke met een gemiddelde waarde van  $5.58 \pm 0.13$



overeenstemt met de waarde uit het verdunningsexperiment. De resultaten (chromatogrammen) tonen bovendien geen enkel spoor van de co-extractie van DOC en verwante producten in het water. Aanwijzingen voor adsorptie van DOC aan de naald werden wel verkregen bij de toepassing van de zogenaamde SPME techniek.

Een wezenlijk ander probleem vormt de adsorptie tijdens bewaren aan de wanden van het vat. Dit op zich niet onbekend fenomeen introduceert echter een tijdsfactor in de bepaling, namelijk deze dat analyses van vrij-opgelost zo snel mogelijk na de winning van het poriewater zal plaatsvinden. Adsorptieverliezen aan de wand heeft betrekking op de vrij-opgeloste fractie, maar heeft, ondanks het feit dat deze fractie in evenwicht is met de gebonden fractie ook invloed op de uiteindelijk te bepalen  $K_{DOC}$  waarde. Immers de continue verlaging van de concentratie vrij leidt weliswaar tot een continue aanvulling vanuit de gebonden fractie, maar wel op een steeds afnemend niveau. Afhankelijk van de wijze waarop de totale concentratie (bijvoorbeeld in een analyse waarbij de glaswand wordt mee-geëxtraheerd) wordt uitgevoerd, bestaat er een gevaar op overschatting van de actuele, werkelijke totaal-concentratie in het water, hetgeen resulteert in een overschatting van  $K_{DOC}$ . Een effectieve bescherming tegen adsorptie kan worden verkregen door silylering (behandeling met dimethyldichlorosilane (10% DMCS in dichloromethaan)) van de glaswand. De afschermdende O-dimethylsilyl monolaag is resistent tegen water.

Het vraagstuk van de sorptie-eigenschappen van DOC is niet onderzocht. De resultaten in het Ketelmeer poriewater zijn in tegenspraak met de resultaten verkregen met humuszuur (Aldrich Humic Acid). De gemeten hoeveelheden DOC (21.5 en 17 mg/kg) zouden bij een sorptie-vermogen gelijk aan dat van humuszuur tot veel lagere concentraties vrij leiden. De discrepantie in het sorptievermogen is blijkbaar evident. Opgemerkt wordt dat in tegenstelling tot het gebruikte humuszuur het DOC in Ketelmeer poriewater nauwelijks of geen kleurverandering veroorzaakt, het minst in K3. Dit kan tot de speculatie leiden dat de DOC moleculen in dit poriewater mogelijk (veel) kleiner in chemische structuur zijn, een onderscheid dat geen rol speelt in de DOC bepaling. Indien deze speculatie juist is zou dat tot een conclusie kunnen leiden dat niet de concentratie DOC bepalend is voor de grootte van de gebonden fractie in poriewater, maar meer de moleculaire aard.

Hiermee kan het belang worden onderstreept van methoden welke gericht zijn op de directe analyse van de vrij-opgeloste fractie en daarbij onafhankelijk zijn van aard, grootte en wijze van voorkomen (moleculair of colloïdaal) van DOC. In verband met de relatie tussen het eco-toxicologisch risico en de concentratie vrij-opgelost contaminant, wordt de suggestie gemaakt dat de waarde van de concentratie vrij als met de hier beschreven methode wordt bepaald mogelijk een relevante maat is voor de biologisch beschikbare fractie.

## REFERENTIES

Advies Aanpassing Interventiewaarde PAK. Technische commissie Boedembescherming TCBA13, 1995

Burgess RM, RA Mickinny, WA Brown, JA Quin.. Environ Sci Technol 1996, 30: 1923-32

Brannon JM, Pennington JC, McFarland VA, Hayes C Chemosphere 1995, 31: 3465-73

Cornelissen G. Mechanism and consequences of slow desorption of organic compounds from sediments. Proefschrift, Universiteit van Amsterdam, 1999

Hermans JH, Smedes F, Hofstraat JW Cofine WP. Environ Sci Technol 1992, 26: 2028-2034

Krop, van Noort, Govers. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2001, 169: 1-122

Landrum RF, SR Nihart, BJ Eadle, WS Gardner.. Environ Sci Technol 1984, 18: 187-92

McGroddy SE, Farrington JW. Environ Sci Technol 1995, 29: 1542-1550

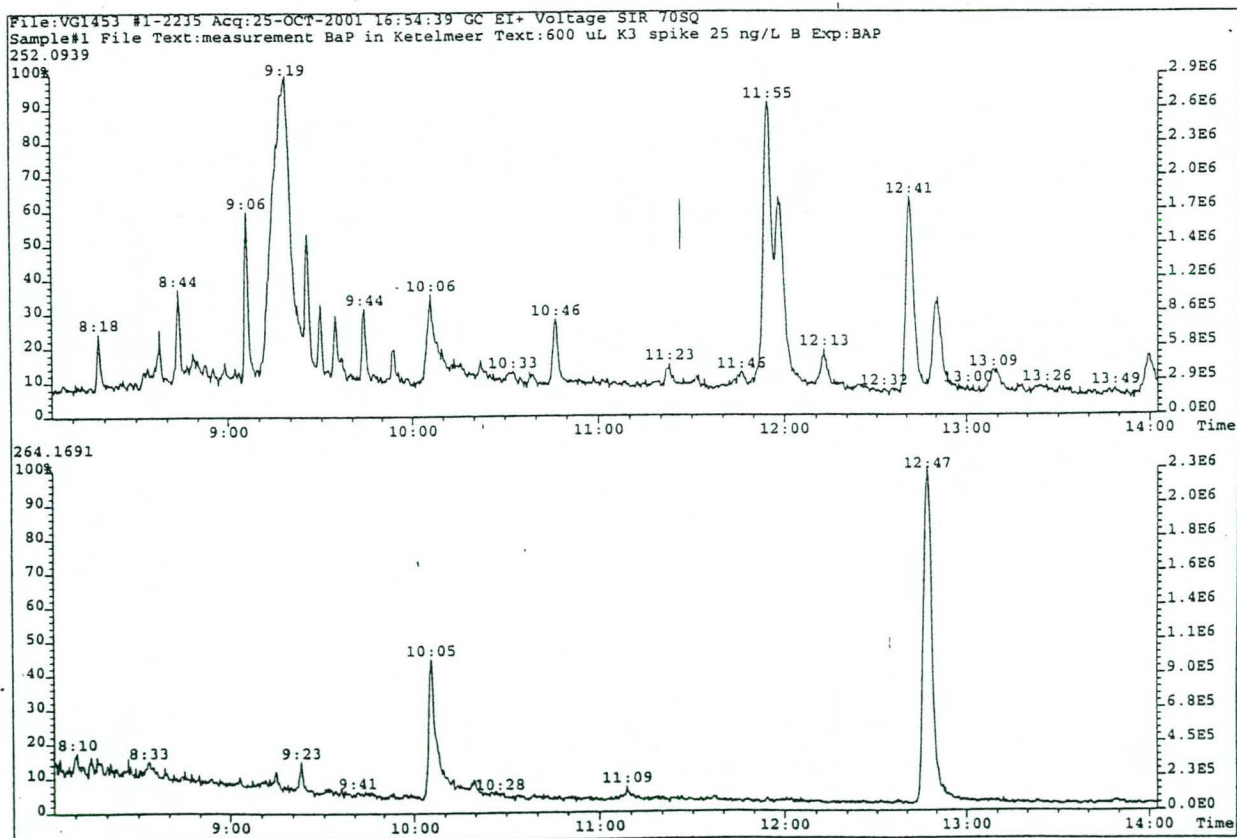
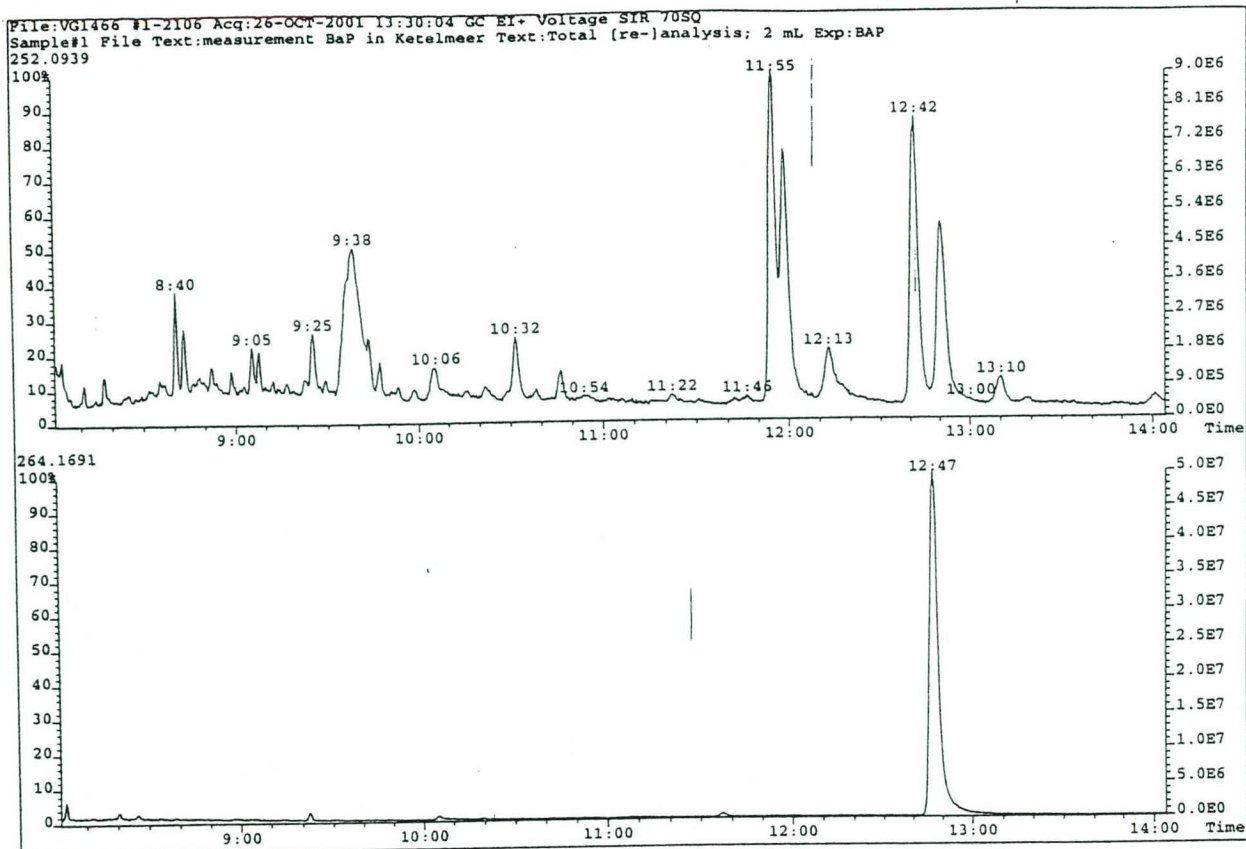


Poerschmann J, Zhang Z, Kopinke F-D, Pawliszyn J.. Anal Chem 1997, 69: 597-600

Sharp SM, Haller M, Opperhuizen. Environm Toxicol Chemistry 1995, 14: 219-228

Wu SC, PM Geswend. Environ Sci technol 1986, 20: 717





**Fig. 5. Analyse van vrij (beneden) en totaal (beneden) B[a]P in poriewater Ketelmeer (K3). Extractie: Vrij: kolom B, L=60 cm, flow 1100uL/min. Interne standaard 25 ng/L B[a]P-d12. Totaal: kolom B; 60 cm; flow 50 uL/min; interne standaard 100 ng/L met incubatietijd van 15 h. S/R verhouding interne standaard (beneden) >500:1. Het chromatogram m/z 252 toont naast B[a]P (tR 12:50) de isomere PAKs Benzo[b+j+k]Fluarantheen (tR11:55+11:59), Benzo[e]Pyreen (tR 11:41), Peryleen(tR13:10) en een onbekende isomeer bij tR 12:13.**







