



Rapport 609350001/2007

M.H. Broekman | M.R. Ramlal | W.C. Hijman | C.J. Berkhoff | E. Dijkman

Veldanalyse van aldehyden in lucht

Ontwikkeling van in-situ meetmethoden

RIVM rapport 609350001/2007

Veldanalyse van aldehyden in lucht
Ontwikkeling van in-situmeetmethoden

M.H. Broekman, M.R. Ramlal, W.C. Hijman,
C.J. Berkhoff, E. Dijkman

Contact:

M.H. Broekman

Centrum voor Inspectieonderzoek, Milieucalamiteiten en Drinkwater

Marcel.Broekman@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de RIVM-directie in het kader van MAP SOR project S/609350: 'Ontwikkeling in-situmeetmethoden voor de calamiteitenbestrijding'.

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Postbus 1, 3720 BA Bilthoven,
telefoon: 030-274 91 11, fax: 030-274 29 71

Rapport in het kort

Veldanalyse van aldehyden in lucht

Het RIVM heeft een methode ontwikkeld om bij milieurampen snel te kunnen meten hoeveel aldehyden er in de lucht aanwezig zijn. Aldehyden zijn stoffen die in bepaalde concentraties schadelijk kunnen zijn voor de gezondheid. Ze kunnen bij een brand gevormd worden en vrijkomen. De vorming en verspreiding van aldehyden kan ook ontstaan bij ongelukken met bepaalde chemicaliën. Te denken valt aan ongelukken bij het transport van gevaarlijke stoffen, bij opslagplaatsen met chemische stoffen of bij werkzaamheden in chemische laboratoria. Een bekende en voor mensen schadelijke aldehyde is formaldehyde.

De methode maakt het mogelijk om op locatie de concentratie aldehyden in de lucht te meten en te rapporteren. Daardoor is binnen drie kwartier bekend of er gevaar is voor mens en milieu. Op deze manier kunnen lokale overheden die bij calamiteiten bij de hulpverlening zijn betrokken snel van informatie worden voorzien. Voorheen nam een dergelijke analyse enkele dagen in beslag.

Trefwoorden: veldanalyse, in-situ metingen, aldehyden, formaldehyde, acroleïne, mobiel laboratorium, luchtanalyse, GC-MS, DNPH, derivatisering, kationkolom, brand, milieucalamiteit

Abstract

Field analysis of aldehydes in air

The National Institute of Health and Environment has developed a new method for the determination of the concentration of aldehydes in air. The method is suitable for fast measurements on site during environmental incidents.

Aldehydes, from which some components are gaseous, are hazardous in the air when they exceed human health limiting values. Aldehydes can be released from fires or accidents with chemicals. These organic substances are sometimes emitted from products such as chipboards (formaldehyde).

The method is applicable for the measurement of the air concentration of aldehydes on the spot. The measurement results are reported within one hour to evaluate the risk of exposure for human and environment. The RIVM is capable to inform the local authorities on the spot of the environmental incident, whereas it took several days in the past.

Key words: fires, aldehydes, environmental incidents, field analysis, on-site measurements, emergency response, air analysis

Inhoud

SAMENVATTING	7
1. INLEIDING	9
1.1 Doel	10
1.2 Projectbeschrijving	10
1.3 Leeswijzer	11
2. IN-SITUMEETMETHODE ALDEHYDEN IN LUCHT	13
3. LITERATUURONDERZOEK	15
4. VERKENNENDE EXPERIMENTEN	17
5. VALIDATIE VAN DE ONTWIKKELDE METHODE	21
6. CONCLUSIE	29
LITERATUUR	31
BIJLAGE 1 Standaardmethode RIVM	35
BIJLAGE 2 Aldehyden	53
BIJLAGE 3 Geoptimaliseerde GC-MS-condities	55
BIJLAGE 4 GC-MS chromatogram	57
BIJLAGE 5 Interieur en exterieur mobile laboratorium	59

Samenvatting

In opdracht van de RIVM-directie heeft het Centrum voor Inspectieonderzoek, Milieucalamiteiten en Drinkwater in samenwerking met het Laboratorium voor Milieumetingen een nieuwe methode ontwikkeld voor een snelle meting van de luchtconcentratie van aldehyden die vrij kunnen komen bij een milieucalamiteit zoals een brand. Bij lokale hulpverleningsorganisaties en het bevoegde gezag is er behoefte aan snelle rapportages van metingen, zodat het risico kan worden beoordeeld en er tijdig maatregelen kunnen worden getroffen.

De nieuwe meetmethode is beschikbaar voor de Milieuongevallendienst (MOD) van het RIVM en kan worden toegepast voor het meten van aldehyden in de buitenlucht.

De methode bestaat uit een luchtbemonstering van de aldehyden op cartridges die gevuld zijn met een geschikt adsorptiemateriaal waarin het derivatiseringsreagens, 2,4 dinitrophenylhydrazine is geïmpregneerd. Na de monsterneming worden de cartridges meteen overgedragen aan de analist in het mobiele laboratorium dat ter plaatse is gestationeerd. De voorbehandeling bestaat uit een elutie van de cartridges met acetonitril en een zuiveringsstap van de acetonitrileluaten voor het verwijderen van de overmaat aan 2,4 dinitrophenylhydrazine. De resulterende elutaten zijn geschikt voor de analyse van de gevormde aldehydederivaten met gaschromatografie, gekoppeld aan massaspectrometrie in het mobiele laboratorium.

Op basis van de validatie voldoen de prestatiekenmerken zoals juistheid, herhaalbaarheid selectiviteit, lineariteit van het meetgebied, blanco analyse en responstijd aan de wensen voor metingen bij de calamiteitenbestrijding. Hierbij is de juistheid getoetst aan de hand van recovery-experimenten, omdat referentiematerialen niet voorhanden waren. Verder zijn metingen vergeleken met die van de standaard meetmethode, waarbij de meting met hogedrukvloeistofchromatografie en ultraviolet detectie gebeurt. De juistheid is ook onderzocht door de luchtconcentratie van gasvormige aldehyden bij een inpanidige brand in een kunststofverwerkend bedrijf met de nieuwe meetmethode te bepalen en deze te vergelijken met de uitkomsten van overige ingezette meetmethoden. Het lineaire meetgebied van de aldehyden ligt in een concentratiegebied van 10 tot 1000 microgram per individuele aldehyde per kubieke meter. De selectiviteit en de blanco zijn goed, waarbij geen aanwijzingen zijn gevonden van interferenties.

1. Inleiding

De Milieuongevallendienst (MOD) van het RIVM heeft een belangrijke taak in de landelijke ondersteuning van lokale rampenbestrijdingsorganisaties bij milieucalamiteiten. De MOD verzamelt informatie om het humane en ecotoxicologische risico van de blootstelling van de mens en het milieu aan schadelijke stoffen te beoordelen. Tot die informatie behoren ook de resultaten van metingen in effectgebieden. Bij een grootschalige brand meet de MOD bijvoorbeeld de concentratie van schadelijke stoffen in de lucht en de depositie van schadelijke stofdeeltjes op de bodem zoals gewassen in volkstuinen of graslanden in agrarische gebieden.

De gebruikelijke werkwijze is, dat de MOD-monsters neemt in het veld en deze meeneemt naar het RIVM voor een chemische analyse. Deze logistiek van monsternamen en analyse kost veel tijd, terwijl er grote behoefte is bij hulpdiensten en bestuurders aan snelle informatie om goede voorlichting te kunnen geven en eventuele maatregelen te kunnen treffen.

Zowel nationaal als internationaal heeft de snelle informatiebehoefte geleid tot een ontwikkeling om meer in situ te kunnen meten. Met in situ meten kan een deel van de boven beschreven logistieke problemen worden opgelost, wat tot een aanmerkelijke tijdswinst kan leiden. Er komt steeds meer apparatuur op de markt waarmee ter plaatse analyses kunnen worden gedaan. Deze ontwikkelingen zetten zich, onder invloed van de dreiging van terreuraanslagen met chemische en biologische wapens, in versneld tempo door. Vooral in de Verenigde Staten worden in hoog tempo nieuwe meetconcepten onderzocht die tot een sterke strategiewijziging in het calamiteitenonderzoek kunnen leiden.

In 2004 heeft het Centrum voor Inspectieonderzoek, Milieucalamiteiten en Drinkwater (IMD) van het RIVM een inventarisatie gemaakt van de (veranderingen in de) behoeften van de klanten van IMD. Daarbij zijn zowel veldmeetmethoden als analysemethoden in het laboratorium meegenomen. De inventarisatie heeft zijn weerslag gekregen in een interne notitie, getiteld 'Gissen is missen' (M.H. Broekman). Uit de inventarisatie van relevante stoffen, methoden, technieken en toepassingen blijkt dat het nuttig is een aantal in-situmethoden te ontwikkelen om bij calamiteiten adequaat te kunnen opereren. De meetmethoden die de MOD al geruime tijd gebruikt voor de analyse van diverse organische contaminanten bevatten vaak een uitvoerige procedure van extractie, zuivering en concentrering van de aangeleverde veldmonsters in het RIVM-laboratorium. Deze voorbehandeling kan zonder groot verlies in prestaties sterk vereenvoudigd worden. Verder zijn er mogelijkheden om andere detectietechnieken te gebruiken die beter voldoen aan de wensen van snelheid, selectiviteit, nauwkeurigheid en confirmatiedoelinden. De technologische ontwikkelingen zoals de beschikbaarheid van compacte en robuuste meetapparatuur, middelen en apparatuur voor de opwerking van de monsters en de beschikbaarheid van een mobiel laboratorium maken de weg vrij voor de ontwikkeling van nieuwe in-situmeetmethoden.

In het kader van het strategisch onderzoek van het RIVM heeft IMD in de tweede helft van 2004 een voorstel ingediend voor een project met een looptijd van twee jaren. De directie van het RIVM heeft het projectvoorstel 'Ontwikkeling van in-situmeetmethoden voor de calamiteitenbestrijding' goedgekeurd en opdracht gegeven voor de realisatie.

1.1 Doel

Het belangrijkste doel van dit project is dat het RIVM meetmethoden ontwikkelt, waarmee de hulpdiensten en het bevoegde gezag bij milieucalamiteiten aanmerkelijk sneller dan voorheen geïnformeerd kunnen worden over de concentraties van schadelijke stoffen die bij een milieucalamiteit kunnen vrijkomen. De hulpdiensten kunnen dan sneller en vollediger geadviseerd worden over het risico van blootstelling van mensen en hun leefomgeving in het effectgebied.

Een bijkomend doel is dat de in-situmeetmethoden ook van nut zijn voor andere RIVM-taken. Dit is onder meer het ondersteunen van de VROM-inspectie en andere overheden – zoals de Inspectie Verkeer en Waterstaat, provincies, gemeentes, regionale milieudiensten en de milieupolitie – bij handhavingsactiviteiten zoals inspectiecontroles van bedrijven en afvaltransporten.

1.2 Projectbeschrijving

De projectleiding is verzorgd door het Centrum voor Inspectieonderzoek, Milieucalamiteiten en Drinkwater van het RIVM. De RIVM-directie heeft na goedkeuring van het projectvoorstel opdracht gegeven dit project uit te voeren in het kader van het speerpunt programma 'Vernieuwing meetmethoden/SOR' het project S/609350 'Ontwikkeling van in-situmeetmethoden voor de calamiteitenbestrijding' met een looptijd van twee jaren.

In het goedgekeurde projectvoorstel zijn vier bepalingen geprioriteerd, waarvoor een in-situmeetmethode ontwikkeld zou moeten worden. Dit zijn:

- bepaling van de concentratie van stofgebonden PAK¹ in lucht;
- bepaling van de concentratie van aldehyden² in lucht;
- bepaling van het gehalte PAK in vaste stoffen;
- bepaling van de identiteit en gehalte van onbekende organische stoffen in vaste stoffen.

Op basis van het projectvoorstel is een onderzoeksplan uitgewerkt waarin onder andere de doelstelling, het resultaat, de activiteiten, de planning en de benodigde capaciteit en middelen zijn beschreven. Dit onderzoeksplan vormde de basis voor de realisatie van de in-situmeetmethoden. In dit plan is per meetmethode de onderstaande volgorde van activiteiten aangehouden.

- Bestuderen van de literatuur over bestaande in-situmethoden of methoden die mogelijk 'mobiel zijn te maken'.
- Bepalen welke methoden geschikt zijn, gelet op de criteria waaraan een methode voor het doel (vaststellen van concentraties of gehalten aan schadelijke stoffen bij milieucalamiteiten) moet voldoen. Deze criteria (meetnauwkeurigheid, detectielimiet, responssnelheid, uitvoerbaarheid in MOD-verband, aansluiting bij bestaande methoden of instrumenten, en dergelijke) zijn omschreven in de eerder genoemde notitie 'Gissen is missen'. Op grond hiervan wordt de meest geschikte methode gekozen.

¹ Polycyclische Aromatische Koolwaterstoffen (PAK) betreft een stofgroep van meer dan honderd individuele PAK-componenten die gekenmerkt worden door twee of meer aan elkaar verbonden benzeenringen in de molecuulstructuur.

² Aldehyden zijn koolwaterstoffen die gekenmerkt worden door de aanwezigheid van de functionele (carbonyl) groep C=O in de molecuulstructuur. In dit onderzoek gaat de aandacht uit naar: formaldehyde, aceetaldehyde en acroleïne. Deze aldehyden zijn het meest toxisch en kunnen bij grootschalige branden worden gevormd.

- Uitvoeren van testen in het laboratorium met de gekozen methode.
- Uitvoeren van testen in het veld met de gekozen methode.
- Ontwikkelen en implementeren van een procedure om de in-situmeetmethode in te zetten bij milieucalamiteiten, passend in de bestaande MOD-procedures.
- Rapporteren van de methode in een RIVM-rapport.

Tijdens de uitvoeringsfase van het project bleek dat er voldoende literatuur en eigen kennis beschikbaar waren om snel de eerste laboratoriumexperimenten te kunnen starten. Het onderzoek naar een in-situmeetmethode voor de bepaling van aldehyden in lucht is succesvol gebleken. Helaas was er niet voldoende tijd om de gevalideerde methode ook als procedure al op te nemen in het standaardpakket van meetmethoden van de MOD van het RIVM.

1.3 Leeswijzer

In hoofdstuk 1 geeft dit rapport een toelichting van de achtergrond, de probleemstelling en het doel van het SOR-project 'Ontwikkeling van in-situmeetmethoden voor de calamiteitenbestrijding'. Vanaf hoofdstuk 2 is aangegeven op welke wijze de in-situmeetmethode voor de bepaling van aldehyden in lucht is ontwikkeld. In hoofdstuk 3 staan de bevindingen van het literatuuronderzoek. De experimentele onderzoeksresultaten van het verkennende onderzoek zijn gepresenteerd in hoofdstuk 4. De validatie van de methode staat beschreven in hoofdstuk 5. De conclusies van het onderzoek vinden we terug in hoofdstuk 6.

2. In-situmeetmethode Aldehyden in lucht

Aldehyden (ofwel alkanalen) is een verzamelnaam van koolwaterstoffen met als functionele groep één (of meer) eindstandige carbonylgroep(en) in de koolstofketen. In ketonen (ofwel alkanonen) bevindt de carbonylgroep zich op een koolstofatoom dat niet aan het uiteinde van een koolstofketen zit. Aldehyden en ketonen zijn in chemische structuur met elkaar verwant. Sommige aldehyden zoals formaldehyde en aceetaldehyde zijn bij normale omstandigheden van temperatuur en druk gasvormig. De overige aldehyden en ketonen zijn vloeistoffen. Aldehyden kunnen ontstaan door chemische reacties van organische antropogene stoffen en oxiderende stoffen (bijvoorbeeld ozon onder invloed van zonlicht) in de lucht en door onvolledige verbranding van organische materialen zoals bij branden. Ze komen in het milieu door de uitstoot van gassen van gemotoriseerd verkeer en door de emissie van gasvormige stoffen van industriële inrichtingen. Verder komen aldehyden in de lucht door uitdamping van deze stoffen in bouwmaterialen, verf-, lijm-, hout- en cosmeticaproducten. Aldehyden zijn bij blootstelling schadelijk voor de gezondheid van mensen. Formaldehyde, aceetaldehyde en acroleïne zijn (vermeend) kankerverwekkend. Bij blootstelling aan hoge luchtconcentraties van aldehyden en ketonen treden acute gezondheidseffecten op zoals irritaties aan de luchtwegen en ogen. Voor deze stoffen zijn gezondheidkundige grenswaarden en milieunormen vastgesteld. Zo is de acute MRL³, dit is de grenswaarde bij kortdurende inhalatoire blootstelling, van formaldehyde en acroleïne 50 respectievelijk 25 microgram per kubieke meter. De TCL⁴, dit is de grenswaarde bij levenslange inhalatoire blootstelling, is voor formaldehyde en acroleïne vastgesteld op 1,2 en 0,5 microgram per kubieke meter.

Bij milieu-incidenten meet het RIVM regelmatig de luchtconcentratie van aldehyden. Het gaat om formaldehyde, aceetaldehyde, aceton, acroleïne, propionaldehyde, butyraldehyde en benzaldehyde.

Huidige meetmethode⁵

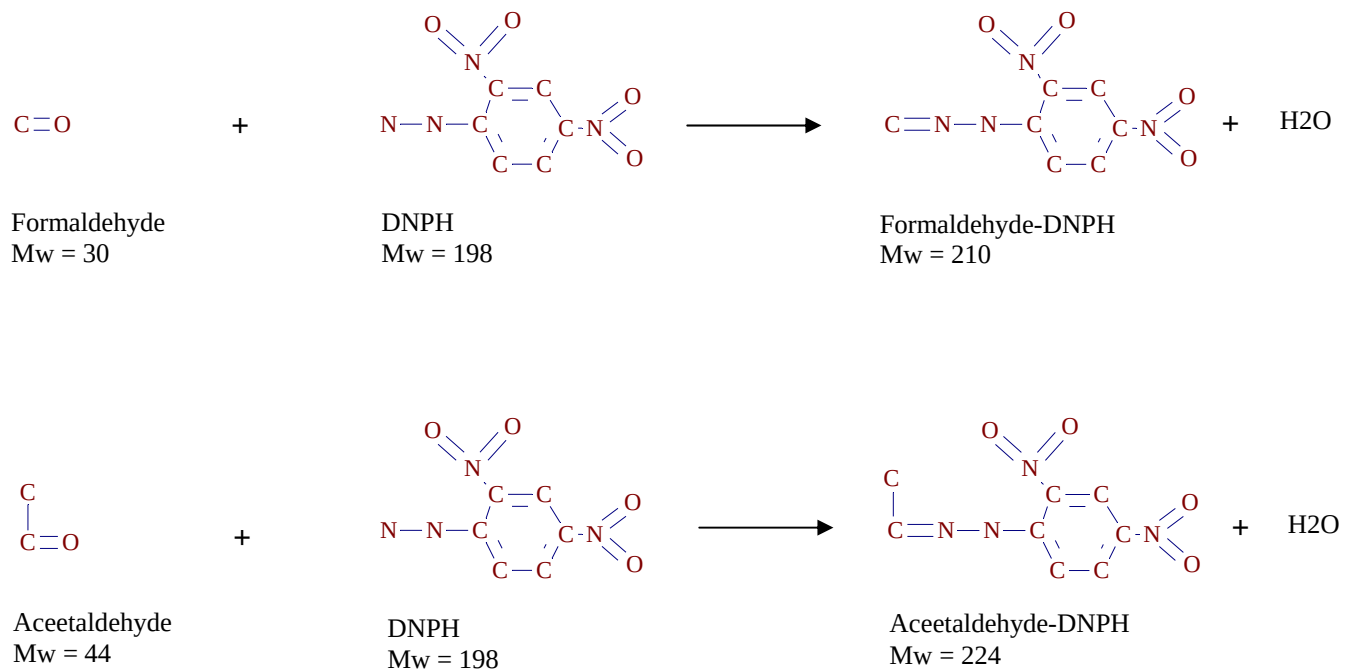
De MOD bemonstert de gasvormige aldehyden in de lucht actief met een pompje gedurende een afgemeten periode bij een constant debiet over een C₁₈-kolommetje. Het C₁₈-adsorbens is geïmpregneerd met het derivatiseringsreagens 2,4 dinitrophenylhydrazine (DNPH). De bemonsterde aldehyden reageren onmiddellijk tot de corresponderende DNPH-derivaten (hydrazonen) en blijven als derivaten op het adsorbens vastgehouden. De kolommetjes worden na de monsterneming luchtdicht verpakt, gecodeerd en geconserveerd. In het RIVM-laboratorium worden de C₁₈-kolommetjes met een geschikte organische vloeistof (acetonitril) geëluëerd. Hierbij desorberen de aldehyde DNPH-derivaten en lossen op in het eluaat. Een deelvolumen (20 microliter) wordt vervolgens met HPLC-UV geanalyseerd bij een golflengte van 360 nm. Door omrekening van de gemeten concentratie van de aldehyde DNPH-derivaten in de meetoplossing volgt een concentratie van de vrije aldehyden in de lucht.

In Figuur 1 zijn voorbeelden gegeven van de derivatiseringsreactie van formaldehyde en aceetaldehyde tot de corresponderende aldehyde DNPH-derivaten.

³ Acute MRL ofwel de acute Minimal Risk Level is de grenswaarde bij een blootstelling van 1 tot 14 dagen waarbij de mens geen verhoogd risico loopt op schadelijke gezondheidseffecten. Deze grenswaarde is vastgesteld door de ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

⁴ De TCL ofwel de Toelaatbare Concentratie in Lucht is de grenswaarde bij inhalatoire blootstelling van de algemene bevolking waarbij de mens geen verhoogd risico loopt op schadelijke gezondheidseffecten.

⁵ De standaardmethode van het RIVM staat beschreven in SOP LVM-AC-P434 (zie Bijlage 1)



Figuur 1. Derivatisering van aldehyden met DNPH

Prestatie-eisen bij calamiteiten

De te ontwikkelen in-situ meetmethode voor de bepaling van de concentratie van gasvormige aldehyden dient tegemoet te komen aan de volgende prestatiekenmerken:

- juistheid (minimale systematische afwijking van meetwaarde ten opzichte van de ware waarde);
- lineair meetgebied tussen 10 en 5000 microgram per m³ per aldehyde;
- bepalingsgrens vanaf 10 microgram per m³ per aldehyde;
- selectiviteit voor alle aldehyden, waaronder formaldehyde, acetaldehyde en acroleïne;
- korte analysetijd en responstijd bij voorkeur binnen 1 uur vanaf ontvangst van het monster in het mobiele laboratorium;
- robuustheid (mate van ongevoeligheid van het meetresultaat in relatie tot de meetomstandigheden);
- uitvoerbaarheid in het mobiel laboratorium, dat wil zeggen geschikt voor het gebruik van de daarin aanwezige meetapparatuur en hulpmiddelen.

3. Literatuuronderzoek

Uit publicaties van de laatste tien jaren (1995 tot 2005) zijn interessante in-situtechnieken beschreven voor de analyse van aldehyden in lucht. Enkele van deze technieken zijn:

- a) Open Path Fourier Transform InfraRed spectroscopy (OP-FTIR);
- b) Proton Transfer Reaction Massa Spectrometry (PTR-MS).

Deze technieken hebben het voordeel dat ze in het veld kunnen worden toegepast voor directe metingen (zonder monsterneming en monsteropwerking) en vallen daarmee onder de categorie van remotesensingtechnieken. Vanwege de hoge investeringskosten en praktische nadelen komen deze technieken voorsnog niet in aanmerking voor verder onderzoek. In de literatuur zijn andere meetmethoden gepubliceerd die vanwege lage investeringskosten wel interessant zijn. Deze methoden gaan verreweg allemaal uit van een derivatisering van de vrije aldehyden gevolgd door een fractionering en detectie van de afzonderlijke corresponderende aldehyde derivaten met vloeistofchromatografie (LC) of gaschromatografie (GC).

De meest vluchtige aldehyden en ketonen zoals formaldehyde, acetaldehyde, aceton en acroleïne zijn in meer of mindere mate reactief als gevolg van de functionele groep C=O in het molecuul. Deze reactiviteit maakt een nauwkeurige chemische analyse van de buitenluchtconcentratie van de vrije aldehyden vrijwel onmogelijk. Methoden maken van deze eigenschap gebruik door de vrije aldehyden tijdens de monsterneming te derivatiseren. Derivatisering van de vrije aldehyden heeft tot doel de stabiliteit en daarmee de chromatografische en detectie-eigenschappen van de aldehyden te bevorderen. In dit project ligt de uitdaging om een geschikt derivatiseringsreagens te vinden die de chemische eigenschappen van de vrije aldehyden na chemische modificatie gunstig beïnvloedt voor een GC-MS toepassing.

In januari 2000 (Vogel et al.) is een overzicht gepubliceerd van derivatiseringsreagentia en aanbevolen analysetechnieken. Hierbij komen drie categorieën van reagentia in aanmerking voor GC-MS analyse. Dit zijn;

- a) (gehalogeneerde) hydrazinen zoals dinitrophenylhydrazine (DNPH), trichloorphenylhydrazine (TCPH), pentafluorphenylhydrazine (PFPH) voor de vorming van hydrazone derivaten;
- b) o-alkyl-hydroxylaminen zoals methyloxylamine, benzyloxyamine en o-pentafluorbenzyloxyamine (PFBOA) voor de vorming van oximenderivaten;
- c) semicarbaziden voor de vorming van semicarbazonen.

In enkele gepubliceerde onderzoeken is geconcludeerd dat de DNPH-derivaten niet voldoende vluchtig zijn en ook niet voldoende thermostabiel voor toepassing in de gaschromatografie. Supelco heeft echter goede resultaten laten zien van een GC-MS-analyse van een acetonitril oplossing met DNPH-derivaten van aldehyden. Probleem voor goede detectie vormt evenwel de hoge concentratie van het vrije DNPH, zodat een zuiveringsstap noodzakelijk is. In laboratoriumtesten kunnen de mogelijkheden uitgezocht worden voor GC-MS-analyse van de aldehyde-DNPH-derivaten in acetonitril. Het grote voordeel is dat bij succes van de GC-MS-meting, de monsternemingsmethode in principe niet wijzigt. Wel is

minimaal een handeling nodig bij de monsteropwerking, te weten elutie van de C₁₈-kolommetjes met acetonitril.

Een publicatie in 1998 (Martos en Pawliszyn) beschrijft een zeer interessante meetmethode voor bepaling van de luchtconcentratie van formaldehyde (en overige lichte aldehyden). De methode betreft een solid phase micro extraction (SPME) op een dimethylsiloxane/divinylbenzeen fiber die geïmpregneerd is met PFBOA. De aldehyden in de lucht kunnen op basis van passieve bemonstering op het fiber worden geadsorbeerd in een afgemeten periode van 10 seconden tot maximaal enkele uren. Het fiber kan vervolgens direct in de injectiepoort van een GC-MS-systeem thermisch worden gedesorbeerd. De gedesorbeerde aldehyde oximenderivaten migreren naar het begin van de analytische capillaire kolom of kunnen cryogeen worden gefocusseerd. De hier beschreven meetmethode is zeer geschikt voor de toepassing in het calamiteitenonderzoek en voldoet aan een groot aantal gewenste prestatiekenmerken. Een bijkomend voordeel van de hier beschreven methode is, dat de kwantificering van de luchtconcentratie zonder kalibratiestandaarden mogelijk is. Dit hangt samen met de passieve monsterneming en de 1e orde reactiekinetiek van de aldehyden tot de corresponderende oximederivaten.

De conclusie van de literatuurstudie is dat er verschillende interessante methoden bestaan voor het in-situmeten van de luchtconcentratie van aldehyden. Goede mogelijkheden zijn er voor de toepassing van remotesensing-meettechnieken. Verder zijn er goede alternatieven voor het gebruik van instrumentele analysetechnieken, waarbij een derivatisering van de aldehyden noodzakelijk is. In de literatuur zijn voorbeelden te vinden van geschikte derivateringsreagentia voor de analyse van aldehyden.

Op basis van de bevindingen in het literatuuronderzoek en de eigen expertise heeft het RIVM gekozen om de huidige meetmethode van de MOD ten aanzien van de methode van monsterneming over te nemen en de HPLC-UV-analyse van de acetonitril-meetoplossingen (RIVM-laboratorium) te vervangen door een GC-MS-analyse (mobiel laboratorium). Dit betekent dat het onderzoek op twee vragen een antwoord moet geven:

- a) Zijn de laboratoriummonsters (DNPH-cartridges) in het mobiele laboratorium met een snelle en effectieve methode voor te behandelen?
- b) Zijn de verkregen meetoplossingen met GC-MS te analyseren?

De bovenstaande keuze hield ook samen met de beschikbare onderzoekstijd waarbij er geen ruimte was om het gebruik van SPME-fibers in voldoende omvang te onderzoeken.

Het experimentele onderzoek bestaat uit een verkennende fase en een validatiefase. Het doel is dat de te ontwikkelen in-situmeetmethode voldoet aan de prestatiekenmerken die in hoofdstuk 2 van dit rapport zijn benoemd. Leidraad hiervoor vormen de definities en het begrippenkader in NEN 7777.

4. Verkennende experimenten

In de eerste fase zijn verkennende experimenten uitgevoerd. Het RIVM heeft de standaard opwerkmethode toegepast, zoals die beschreven staat in hoofdstuk 2. Vervolgens zijn de resulterende extracten onderworpen aan een GC-MS-analyse en deze vergeleken met de HPLC-UV-analyse volgens de standaard MOD-meetmethode.

In de tweede fase van het experimentele onderzoek zijn op grond van de bevindingen in de eerste fase aanpassingen doorgevoerd. Vervolgens is tot validatie van de beoogde meetmethode over gegaan.

Chemicaliën, hulpmiddelen en apparatuur

Voor de experimenten zijn chemicaliën, hulpmiddelen en apparaten gebruikt die volgens de kwaliteitseisen van de procedure⁶ van het RIVM voldoen. Het gaat om de analytisch zuivere kwaliteit van chemicaliën en de specificatie eisen van hulpmiddelen en apparatuur.

Voor de standaardstoffen is gebruikgemaakt van een verdunning van een gecertificeerde oplossing van het DNPH-derivaat van formaldehyde in acetonitril of een verdunning van een gecertificeerd mengsel van de DNPH-derivaten van formaldehyde, aceetaldehyde, acroleïne, propionaldehyde, butyraldehyde en benzaldehyde met code 47649-U. Tevens is een interne standaard toegepast door bereiding van een 20%-oplossing van D2-formaldehyde in D₂O in acetonitril.

In het onderzoek zijn aldehydecartridges van het type Waters Sep-Pak Xposure Aldehyde Samplers gebruikt. Deze samplers gebruikt de MOD ook voor de standaard meetmethode. De samplers bevatten per cartridge circa 350 milligram silica. De silicadeeltjes hebben afmetingen van 500 en 1000 micrometer en zijn met aangezuurd 2,4 dinitrophenylhydrazine geïmpregneerd. Een cartridge heeft de capaciteit om circa 70 microgram formaldehyde te derivatiseren en te binden. Hierbij is aangenomen dat circa de helft van het totaal aanwezige DNPH voor de derivatisering is gebruikt.

De metingen zijn uitgevoerd met de Trace GC-MS van Thermo Finnigan. Het systeem is voorzien van een Autosampler AS800 van Carlo Erba.

Experimenten

De verkennende experimenten zijn gestart met GC-MS-metingen van standaardoplossingen van aldehyde-DNPH-derivaten opgelost in acetonitril. Hierbij zijn twee instellingen gebruikt, te weten de 'Full Scan'(FS) en de 'Single Ion Mode' (SIM). De kwantificering gebeurt op basis van metingen in de SIM-mode. De GC-MS-analyses zijn vergeleken met HPLC-UV-analyses volgens de standaard MOD-meetmethode. De condities van de HPLC-UV-meting staan beschreven in de standaardprocedure. Er is gekeken naar de bruikbaarheid van de FS-mode en de SIM-mode in relatie tot storingen, gevoeligheden en reproduceerbaarheid van de meting.

Bij de eerste metingen is gebleken dat de aldehyden niet met GC-MS geanalyseerd kunnen worden in aanwezigheid van vrije DNPH in de meetoplossing. De gevoeligheid van de GC-MS-detectie van de DNPH-derivaten blijkt sterk afhankelijk te zijn van de concentratie aan vrije DNPH in de meetoplossing. Een verklaring hiervoor is niet gevonden. Dit verschijnsel treedt niet op bij de HPLC-UV-analyse. Een zuiveringsstap voor verwijdering van het vrije DNPH is daarom noodzakelijk.

⁶ SOP LVM/AC/P434

Clean-upmethode van acetonitri extracten

Om de problemen met de sterk variërende gevoeligheid van het detectiesignaal van de massaspectrometer op te lossen, is een clean-up behandeling van de meetoplossingen getest. Kationkolommetjes Bakerbond Speedisk H2O-Philly SC-DVB (200 mg, 6 ml) blijken geschikt te zijn voor de verwijdering van het vrije DNPH.

Het kolommetje is eerst geconditioneerd met 2 ml methanol en 2 ml van een acetaatbuffer pH 5.5 waarbij het eluaat van een DNPH-cartridge door het kolommetje is gezogen. Het vrije DNPH wordt op het kolommetje vastgehouden en de aldehyde-DNPH-derivaten worden geëluëerd met 2 x 1 ml acetonitril. Het totale eluaat is opgevangen en is als zodanig geschikt voor GC-MS-analyse.

In drievoud zijn clean-up experimenten uitgevoerd met een verdunning van standaard 47649-U waaraan vrije DNPH is toegevoegd. De gezuiverde eluaten zijn zowel met GC-MS als met HPLC-UV geanalyseerd. De resultaten voor formaldehyde en aceetaldehyde staan vermeld in Tabel 1, de andere aldehyden zijn niet geanalyseerd.

Tabel 1. Recoveries van formaldehyde en aceetaldehyde in % na clean-up over een kationkolommetje.

Monster	HPLC-UV		GC-MS	
	Formaldehyde-DNPH	Aceetaldehyde-DNPH	Formaldehyde-DNPH-180	Aceetaldehyde-DNPH-180
Blanco cartridge	0,12	0,15	-	-
Standaard 47649-U 1	92	83	192	149
Standaard 47649-U 2	94	84	99	95
Standaard 47649-U 3	95	86	102	84
Gemiddelde recovery (%)	94	84	131	109
Standaarddeviatie (%)	1,3	1,0	53	35
RSD (%)	1,4	1,2	40	32

- De toegevoegde hoeveelheden zijn voor formaldehyde (als formaldehyde-DNPH) 5,3 µg absoluut en voor aceetaldehyde (als aceetaldehyde-DNPH) 4,9 µg absoluut.

Uit de berekende recovery van formaldehyde en aceetaldehyde blijkt, dat er geen significante verliezen optreden door de clean-up. De relatieve spreiding daarentegen is met 40% voor formaldehyde en 32% voor aceetaldehyde groot, omdat de GC-MS-condities niet geoptimaliseerd zijn. De relatieve spreiding van de HPLC-UV-analyse van beide componenten is met circa 1% duidelijk lager en constanter.

In Tabel 2 staan de recoveries van de clean-up van een standaardoplossing van formaldehyde-DNPH in acetonitril waarbij de invloed van de concentratie aan vrije DNPH is onderzocht. De recoveries zijn bepaald op basis van de GC-MS-analyse en de HPLC-UV-analyse, zodat de nieuwe methode met de standaardmethode is vergeleken.

Tabel 2. Recoveries van formaldehyde in % na clean-up over een kationkolommetje.

Monster	HPLC	GC-MS	
	Formaldehyde-DNPH	Formaldehyde-DNPH-180	Formaldehyde-DNPH-210
Blanco DNPH-cartridge	0,56	7,3	0,43
Standaard formaldehyde-DNPH + 0% DNPH	92,4	111	95,4
Standaard formaldehyde-DNPH + 33% DNPH	93,1	123	114
Standaard formaldehyde-DNPH + 66% DNPH	92,3	133	135
Standaard formaldehyde-DNPH + 83% DNPH	87,6	110	106
Gemiddelde recovery (%)	91,4	119	113
Standaarddeviatie (%)	2,5	10,7	16,9
RSD (%):	2,7	9,0	15

- De aanduiding ‘% DNPH’ is het percentage eluaat van een DNPH-cartridge, dat is toegevoegd aan een hoeveelheid standaardoplossing van formaldehyde-DNPH.
- De resultaten zijn niet gecorrigeerd voor de blanco.
- De toegevoegde hoeveelheid formaldehyde (als formaldehyde-DNPH) is 2,5 µg absoluut bij 0,33 en 66% DNPH en 1,25 µg absoluut bij 83% DNPH.
- Formaldehyde-DNPH-180 is een fragment van formaldehyde DNPH-210, waarbij de formaldehyde ontbreekt. Formaldehyde-DNPH-210 is het volledige derivaat (moederpiek ofwel parent peak).

De recoveries zijn goed en onafhankelijk van de geteste concentratie aan vrije DNPH in de uitgangsooplossing. De relatieve standaarddeviatie ligt op een meer acceptabele niveau tussen 9 en 15%.

Vervolgens zijn experimenten uitgevoerd waarbij de conditionering van het kationkolommetje achterwege is gelaten. Het eluaat van een DNPH-cartridge is rechtstreeks op een kationkolommetje gebracht, dat zonder voorbehandeling uit de verpakking komt. Na elutie met 2 x 1 ml acetonitril is het totale eluaat geanalyseerd met GC-MS. De prestaties van de clean-up blijken ten aanzien van de terugvinding en de spreiding vergelijkbaar te zijn met de clean-up waarbij conditionering wel een onderdeel vormt.

Het achterwege laten van de conditioneringstap levert aanzienlijke tijdwinst op en een verkleining van de kans op fouten bij de voorbehandeling van laboratoriummonsters tot analysemonsters.

Enkele conclusies

De verwijdering van de overmaat aan vrije DNPH in de acetonitrileluaten met daarin de DNPH-hydrasonderivaten is door het gebruik van kationkolommetjes van het type bakerbond Speeddisk H2O-Philly SC-DVB (200 mg, 6 ml) succesvol. De spreiding in de herhaalbaarheid van de GC-MS-metingen is met 10 en 40% in beginsel groot. Het RIVM heeft de spreiding terug kunnen brengen tot een niveau lager dan 10% door de instrumentinstellingen van de GC-MS te optimaliseren.

In Bijlage 2 is een overzicht gegeven van de optimale GC-MS-condities van twee meetsystemen.

Uitgezonderd het DNPH-derivaat van formaldehyde blijken de DNPH-derivaten van aceetaldehyde, propionaldehyde en butyraldehyde in het gaschromatogram te bestaan uit twee pieken. Dit verschijnsel is te verklaren uit het chemische evenwicht van de anti- en syn-isomerisatie van de aldehyde DNPH-derivaten. Dit evenwicht is afhankelijk van het oplosmiddel waarin de derivaten voorkomen, de deactivering van de capillaire GC-kolom en de injectie- en kolomtemperatuur. Dit vereist dat de condities van de capillaire gaschromatografie bij elke analyse voldoende beheersbaar zijn.

Op basis van de verkennende experimenten heeft het RIVM een analyseprocedure vastgesteld die het RIVM geschikt acht voor een onderzoek naar de prestatiekenmerken.

De methode van monsterneming van de vrije aldehyden in de lucht op DNPH-cartridges en de desorptie van de gederivatiseerde aldehyden van de DNPH-cartridges met acetonitril blijven ongewijzigd. De validatie van de analyseprocedure is daarom gericht op de clean-up van de acetonitril extracten en de GC-MS-meting van de gezuiverde acetonitril extracten.

5. Validatie van de ontwikkelde methode

In dit hoofdstuk volgt een toelichting van het onderzoek naar de validiteit van de in-situmeetmethode voor de bepaling van de concentratie van gasvormige aldehyden in de lucht.

Juistheid en precisie

Door het ontbreken van representatieve gecertificeerde referentiematerialen⁷, representatieve rondzendmonsters met consensuswaarden of referentiematerialen met referentiewaarden kunnen we de juistheid uitsluitend onderzoeken op basis van de terugvinding (recovery). De terugvinding is een geaccepteerde indicator⁸ voor het onderzoek naar de juistheid van de meetmethode. Bij het bepalen van de juistheid is uitsluitend gekeken naar de terugvinding van de nieuwe processtappen in de bestaande meetmethode, te weten de clean-up stap van de acetonitril extracten en de daaropvolgende GC-MS-analyse van de gezuiverde extracten.

De recovery-experimenten zijn met standaard 47649-U op twee niveaus en elk in vijfvoud uitgevoerd. De experimenten met standaard formaldehyde-DNPH zijn op een hoog concentratieniveau (50 µg absoluut) in drievoud gedaan. Hierbij zijn de clean-up stappen toegepast over een niet geconditioneerd kationkolommetje.

De experimenten zijn uitgevoerd door steeds een oplossing van niet-gederivatiseerde D2-formaldehyde in acetonitril als interne standaard op een DNPH-cartridge te brengen. Het doel hiervan is om de terugvinding van D2-formaldehyde na derivatisering met DNPH, elutie met acetonitril en de daaropvolgende clean-up in beeld te krijgen. Uit dit beeld is te beoordelen of D2-formaldehyde een geschikte interne standaard zou kunnen zijn voor de correctie van mogelijke verliezen van de aldehyden tijdens deze stappen van het analyseproces. De derivatisering van de interne standaard in een kleine hoeveelheid acetonitriloplossing is vermoedelijk de meest kritische stap, omdat deze methode afwijkt van de derivatisering van gasvormige aldehyden tijdens de monsterneming van lucht.

Na de toevoeging van de interne standaardoplossing zijn de DNPH-cartridges geëluëerd met 2 x 2 ml acetonitril. Aan de eerste 2 ml fractie van het eluaat zijn de aldehyde-DNPH derivaten toegevoegd. De beide eluaatfracties van elk 2 ml zijn apart gezuiverd over een kationkolommetje. Het volume van de eindoplossing is 5 ml.

De concentraties staan vermeld in Tabel 3 en de resultaten van de recovery-experimenten in Tabel 4.

Tabel 3. Concentraties aldehyden in µg absoluut toegevoegd aan eerste eluaat DNPH-cartridge.

Niveau	Form aldehyde	Aceet aldehyde	Acroleïne	Propion aldehyde	Butyr aldehyde	Benz aldehyde	D2-form aldehyde
Laag	1,0932	1,0020	0,6035	0,6195	0,7313	0,9456	6,44
Hoog	21,864	20,040	12,069	12,391	4,626	18,912	6,44

⁷ Referentiematerialen zijn bijvoorbeeld luchtmonsters waarvan de concentratie van de te bepalen analyten op basis van een meegeleverd certificaat met grote nauwkeurigheid bekend zijn. De juistheid kan dan getoetst worden op basis van de chemische analyse van de referentiematerialen door een vergelijking van de gemeten concentratie met de concentraties op het certificaat.

⁸ Bron: NEN 7777

Tabel 4. Overzicht resultaten recovery-experimenten op laag en hoog niveau.

Aldehyde DNPH-derivaten	Blanco		Toevoeging laag		Toevoeging hoog		Formaldehyde hoog	
	Gemiddelde recovery n=5	RSD (%)	Gemiddelde recovery n=5	RSD (%)	Gemiddelde recovery n=5	RSD (%)	Gemiddelde recovery n=3	RSD (%)
Formaldehyde	-	-	78	13,3	107	1,5	91	4,1
Acetaldehyde	-	-	104	12,1	107	4,5	-	-
Acroleïne	-	-	-	-	99	3,8	-	-
Propionaldehyde	-	-	82	9,9	97	4,4	-	-
Butyraldehyde	-	-	-	-	95	5,2	-	-
Benzaldehyde	-	-	-	-	123	5,6	-	-
D2-Formaldehyde	70	34	51	40	75	22,6	77	10,0

Uit het overzicht in Tabel 4 blijkt, dat de recoveries in een gebied tussen 78 en 123% liggen. De herhaalbaarheid van de toevoegingen op laag en hoog niveau is kleiner dan 15%. Deze resultaten zijn goed. Het beeld van de blanco analyse is positief. In de blanco's zijn geen interferenten aangetoond die de analyse verstoren. Het lage niveau is voor acroleïne, butyraldehyde en benzaldehyde te laag gekozen, waardoor deze componenten niet konden worden geanalyseerd.

Een correctie voor het toegevoegde D2-formaldehyde levert geen verbetering op van de relatieve standaarddeviatie. De recoveries van het vrije D2-formaldehyde blijken variabel en niet bruikbaar voor correctie bij verlies van de te bepalen analyten tijdens de analyseprocedure. De aangetoonde variabiliteit is waarschijnlijk veroorzaakt door een onvolledige derivatisering en wijkt zoals eerder is aangegeven af van de derivatisering van gasvormige aldehyde, zoals dat in de praktijk plaatsvindt tijdens de monsterneming van lucht. De goede reproduceerbaarheid leidt tot de conclusie dat er ook geen noodzaak is om D2-formaldehyde als interne standaard te gebruiken volgens de hier beproefde werkwijze.

Meetgebied, lineariteit en bepalingsgrenzen

Voor het onderzoek naar het meetgebied is een geschikte ijkreeks van standaard meetoplossingen gemaakt. Op 7 verschillende niveaus zijn oplossingen gemaakt met de 20 keer verdunde standaard 47649-U. Het concentratieniveau van formaldehyde, aceetaldehyde en butyraldehyde loopt globaal van 0,08 tot 8 µg/ml en van acroleïne, propionaldehyde en butyraldehyde globaal van 0,05 tot 5 µg/ml. De ijkstandaarden zijn elk in vijfvoud met

GC-MS geanalyseerd. Hierbij is gekeken naar de spreiding van de analyse en de lineariteit van het meetgebied. De lineariteit is onderzocht met behulp van het softwarepakket Calwer versie 3.0. Op basis van het lineaire regressie model $Y = a.X + b$ zijn de helling en de intercept bepaald. Hiervoor zijn de concentraties van de gemeten standaardoplossingen per aldehyde uitgezet tegen de piekoppervlakte.

Tevens is een interne standaardoplossing van D2-formaldehyde DNPH-derivaat in acetonitril gemaakt met een concentratie van 6,44 µg/ml. De concentratie van D2-formaldehyde is in alle meetoplossingen 1 µg/ml. Bij deze experimenten is de interne standaard in de meetoplossingen uitsluitend gebruikt om de variatie van de injectie en de meting in beeld te brengen. Bij grote variaties kan hiervoor worden gecorrigeerd. Een blanco bestaande uit een toevoeging van gederivatiseerd D2-formaldehyde aan acetonitril is in drievoud geanalyseerd.

Een overzicht van de in vijfvoud geanalyseerde ijkoplossingen en de spreiding (RSD in %) hiervan staan in Tabel 5 weergegeven.

Tabel 5. Overzicht concentraties van aldehyden en berekende standaarddeviaties (RSD) bij een analyse van kalibratiestandaarden in vijfvoud.

Ijkpunt	<i>Formaldehyde</i>			<i>Aceetaldehyde</i>			<i>Acroleïne</i>		
	$\mu\text{g/ml}$	RSD in % zonder correctie D2-form	RSD in % met correctie D2-form	$\mu\text{g/ml}$	RSD in % zonder correctie D2-form	RSD in % met correctie D2-form	$\mu\text{g/ml}$	RSD in % zonder correctie D2-form	RSD in % met correctie D2-form
1	9,11	2,26	4,27	8,35	3,20	2,10	5,03	4,61	3,74
2	4,56	2,01	2,71	4,18	2,87	1,48	2,51	5,59	3,14
3	1,82	5,37	3,02	1,67	6,72	2,78	1,01	10,1	8,55
4	0,91	4,99	3,88	0,84	6,39	5,14	0,50	10,8	9,80
5	0,46	2,35	3,81	0,42	6,21	6,76	0,25	6,07	8,50
6	0,18	7,54	2,16	0,17	17,4	11,6	0,10	21,1	15,1
7	0,09	2,54 *)	5,62 *)	0,08	13,8 *)	16,8 *)	0,05	-	-

Ijkpunt	<i>Propionaldehyde</i>			<i>Butyraldehyde</i>			<i>Benzaldehyde</i>		
	$\mu\text{g/ml}$	RSD in % zonder correctie D2-form	RSD in % met correctie D2-form	$\mu\text{g/ml}$	RSD in % zonder correctie D2-form	RSD in % met correctie D2-form	$\mu\text{g/ml}$	RSD in % zonder correctie D2-form	RSD in % met correctie D2-form
1	5,16	2,64	5,63	6,09	2,90	2,69	7,88	4,10	2,93
2	2,58	7,02	4,65	3,05	5,96	3,30	3,94	3,32	0,95
3	1,03	8,88	6,55	1,22	8,99	7,72	1,58	9,66	6,50
4	0,52	8,36	7,52	0,61	6,91	5,39	0,79	7,88	7,84
5	0,26	7,06	5,41	0,30	2,32	4,38	0,39	6,13	8,32
6	0,10	8,06	5,21	0,12	3,99	5,75	0,16	-	-
7	0,05	27,8 *)	23,2 *)	0,06	-	-	0,08	-	-

Opmerkingen bij de tabel:

- Bij de RSD's met *) zijn de resultaten voor 4 in plaats van 5 waarden.
- Bij de aanduiding zijn geen resultaten verkregen.
- In de blanco's zijn geen storingen, die boven de aantoonbaarheidsgrens uitkomen, aangetroffen.

Uit het overzicht blijkt dat de relatieve standaarddeviatie van de vijfvoudige analyse van de ijkstandaarden grotendeels lager is dan 10%. Dit is zeer acceptabel. Een correctie voor de variatie van de injectie en de GC-MS-meting door de toegevoegde interne standaardoplossing blijkt op enkele uitzonderingen na geen duidelijke verbetering op te leveren. Dit betekent dat de bijdrage van de injectie en de GC-MS-meting aan de totale spreiding marginaal is, wat een goede uitkomst is voor het GC-MS-meetsysteem.

Met de goede herhaalbaarheid van de analyse van de ijkoplossingen is op basis van de concentratie van de ijkstandaarden het meetgebied per aldehyde vastgesteld en zijn schattingen gemaakt voor onderste bepalingsgrenzen van de aldehyden. Hierbij is de concentratie van de aldehyde DNPH-derivaat in de meetoplossing omgerekend naar een buitenluchtconcentratie van de vrije aldehyde. Bij de berekening is aangenomen dat gedurende een periode van een halfuur lucht over een DNPH-cartridge is geleid met een

debiet van 1,5 liter/minuut. Tevens is de bovengrens berekend. De uitkomsten hiervan zijn in de laatste kolom weergegeven.

De onderste en bovenste bepalingsgrenzen zijn berekend op basis van de kalibratielij, waarbij is aangenomen dat het verband tussen de concentratie en de detectierespons het best met een lineair model kan worden beschreven. De grenswaarden zijn in de onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 6. Concentratiebereik en schatting van bepalingsgrenzen voor monsterneming van 45 liter lucht

<i>Aldehyde</i>	<i>Lineair meetgebied µg/ml</i>	<i>Bepalingsgrens µg/cartridge</i>	<i>Bepalingsgrens µg/m³</i>	<i>Bovengrens µg/m³</i>
Formaldehyde	0,09 - 9	0,45	10	1000
Aceetaldehyde	0,08 - 8	0,4	8,9	890
Acroleïne	0,1 - 5	0,5	11	555
Propionaldehyde	0,05 - 5	0,25	5,6	555
Butyraldehyde	0,1 - 6	0,5	11	666
Benzaldehyde	0,4 - 8	2	44	888

Uit de berekende buitenluchtconcentratie blijkt dat de in-situmeetmethode per aldehyde kan voldoen aan de prestatiewens. Zowel het gewenste meetgebied als de onderste bepalingsgrens blijken haalbaar. Deze grenzen zijn wel afhankelijk van de feitelijke luchtconcentratie, de periode van monsterneming en het debiet waarmee de te bemonsteren lucht door de DNPH cartridge wordt geleid. Lagere concentraties kunnen bepaald worden door langere bemonsteringstijden.

Selectiviteit

Volgens NEN 7777 wordt de selectiviteit gedefinieerd als *de afhankelijkheid van het meetresultaat van een andere grootte dan de meetgrootte*. Hierbij wordt zowel de interferent bedoeld die het signaal zelf veroorzaakt als het matrixeffect dat het signaal van de meetgrootte beïnvloedt.

Op basis van de GC-MS-analyse van standaardoplossingen met en zonder clean-up stap blijkt dat er geen twijfel is aan de goede selectiviteit per aldehyde. De selectiviteit is vooral gewaarborgd door de combinatie van de fractionering met gaschromatografie en de detectie met massaspectrometrie. Verder speelt de derivatisering ook een positieve rol, omdat uitsluitend aldehyden en ketonen een reactie aangaan met het DNPH. De selectiviteit wordt nog eens versterkt door het verschijnsel van de dubbele pieken in het GC-MS-chromatogram. In het rapport is eerder over dit verschijnsel gesproken, waarbij is verklaard dat isomeratie optreedt van de gevormde DNPH-derivaten in anti- en syn-isomeren. De formaldehyde- en aceton-DNPH zijn vanwege hun symmetrie hiervan uitgezonderd. In het chromatogram zijn voor deze derivaten daarom geen dubbele pieken te zien.

Op basis van de analyse van enkele praktijkmonsters zoals de analyse van formaldehyde in binnenlucht en de analyse van aceetaldehyde, acroleïne, propionaldehyde en butyraldehyde in tabaksrook, blijkt dat de goede selectiviteit wordt bevestigd. De kans op vals-positieve of vals-negatieve waarnemingen is nagenoeg uitgesloten, wat voor de beoogde toepassing van de in-situmeetmethode bij milieu-incidenten van groot belang is.

Robuustheid

Onder robuustheid wordt volgens NEN 7777 *de mate van ongevoeligheid van het meetresultaat verstaan voor afwijkingen in uitvoering, omstandigheden en hoedanigheid van materialen, zoals deze in de praktijk kunnen voorkomen.*

Het RIVM verwacht dat de nieuwe meetmethode voldoende robuust zal zijn. De GC-MS-analyses zijn grotendeels met het meetapparaat in het mobiele laboratorium uitgevoerd. De omstandigheden waarin met het andere meetsysteem was gewerkt, waren in dat opzicht vergelijkbaar. Hieruit blijkt dat er geen aanwijzingen zijn gevonden van onbeheerste kwaliteit door beïnvloeding van meetomstandigheden. De meetmethode is voldoende valide gebleken om in de praktijk te worden toegepast. Het meest kritische onderdeel van de meetmethode is de monstervoorbehandeling, waarbij chemicaliën, middelen en standaarden moeten worden gebruikt. Het mobiele laboratorium is daarom voorzien van een zuurkast om de elutie en clean-up stap zonder risico van contaminatie veilig te kunnen uitvoeren. De zuurkast betreft een 'Captair recirculerende afzuigkast, type 623 M/AS' geleverd door Labyrint Laboratorium Apparatuur Holland BV.

De analysetijd is circa 1 uur vanaf het moment dat een monster binnenkomt tot de rapportage van een GC-MS-uitslag. Voor elk volgend monster is de analysetijd circa 45 minuten. Hierbij moet rekening worden gehouden dat een éénpuntskalibratie door een GC-MS-analyse van een standaardmengsel van aldehyde DNPH-derivaten hieraan voorafgaat. De analysetijd komt daarmee overeen met de gewenste prestatie.

Analyse van praktijkmonsters

Om de nieuwe meetmethode te testen op enkele praktijkmonsters, zijn formaldehydemetingen gedaan van de binnenlucht van een RIVM-laboratorium. In deze ruimte wordt formaldehyde gebruikt als ontsmettingsmiddel. De metingen zijn nodig om te weten wanneer de binnenluchtconcentratie voldoende is gedaald. Verder is tabaksrook onderzocht op de concentratie van aldehyden. Hierbij zijn drie monsters van tabaksrook op DNPH-cartridges bemonsterd. Ofschoon de bemonsteringsmethode niet gevalideerd is voor tabaksrook kunnen de bemonsterde cartridges wel op juistheid van de nieuwe methode onderzocht door de uitkomsten van de GC-MS-analyse (na clean-up) te vergelijken met die van de HPLC-UV-analyse. Dit is beoordeeld door de verhouding van de gemeten concentraties van de GC-MS en de HPLC-UV-analyse in procenten uit te drukken. De resultaten staan vermeld in de Tabel 7 en Tabel 8.

Tabel 7. Concentraties formaldehyde in binnenlucht in microgram absoluut per cartridge.

Monster (ruimte NVI)	HPLC-UV		GC-MS	
	Zonder clean-up stap	Met clean-up stap	Formaldehyde -DNPH-210	Afwijking* (%)
Blanco cartridge	0,02	0,05	0,4	2000
Monster 1	16,6	15,9	14,8	89
Monster 2	8,04	7,49	4,7	58
Monster 3	15,6	14,4	12,6	81
Monster 4	8,35	7,58	5,4	65

* Afwijking is berekend uit de verhouding van de concentratie formaldehyde-DNPH-210 en de formaldehyde-DNPH gemeten met HPLC zonder clean-up

Tabel 8. Concentratie aldehyden in tabaksrook in microgram absoluut per cartridge.

	Bemonsterde rook in ml	Aceetaldehyde		Acroleïne		Propionaldehyde		Butyraldehyde	
		HPLC-UV	GC-MS	HPLC-UV	GC-MS	HPLC-UV	GC-MS	HPLC-UV	GC-MS
1	35	27,4	24,8	0,13	<	2,28	1,19	1,50	<
2	70	54,0	71,8	0,82	0,93	4,05	3,65	3,38	<
3	140	85,5	118	0,53	1,03	7,07	6,84	5,64	0,93

- Formaldehyde is niet boven de bepalingsgrens gedetecteerd. Deze lag op 0,35 µg, 0,7 µg en 1,4 µg absoluut per cartridge van respectievelijk cartridge 1, 2 en 3.

Uit de analyse van formaldehyde van de binnenluchtmonsters stellen we vast dat de concentraties gemeten met HPLC-UV en GC-MS in orde grootte goed vergelijkbaar zijn. De formaldehydeconcentraties gemeten met de GC-MS-methode liggen voor alle monsters systematisch lager. De procentuele verhouding voor de verschillende monsters ligt tussen 60 en 90 procent. Dit is heel acceptabel. Opvallend is dat de GC-MS-analyse van de blanco voor formaldehyde een hogere respons vertoont dan die van de HPLC-analyse.

Uit de analyse van de tabaksrook blijkt dat er geen formaldehyde boven de bepalingsgrens is aangetoond. Voor aceetaldehyde ligt de procentuele verhouding tussen 60 en 90%. Van de overige aldehyden en ketonen is de vergelijkbaarheid wisselend goed (propionaldehyde) en matig tot slecht (acroleïne en butyraldehyde). Van butyraldehyde is vastgesteld dat het DNPH-derivaat aanmerkelijk ongevoeliger is voor GC-MS-detectie dan voor HPLC-UV-detectie.

In-situmetingen bij een in pandige brand in een kunststofverwerkend bedrijf

Op woensdagochtend 29 november 2006 heeft de MOD-metingen verricht bij een in pandige brand in een kunststofverwerkend bedrijf te Haarlem. De brand is beperkt gebleven tot een gesloten ruimte. In deze ruimte zijn diverse grondstoffen opgeslagen, waaronder chemicaliën voor de bereiding van polyurethaanharsen. Het bedrijf maakt onder andere lijmp producten en kunststofonderdelen voor de bevestiging van bijvoorbeeld spoorrails op dwarsliggers. De MOD heeft voor het eerst gebruikgemaakt van de nieuwe in-situmeetmethode om gasvormige aldehyden in de binnenlucht te meten.

De bemonstering van aldehyden is op twee locaties in het pand uitgevoerd. Dit zijn de productiehal en het poederhok. In Tabel 9 is een overzicht gegeven van de meetwaarden. In de tabel hebben we tevens de beschikbare en relevante gezondheidkundige en arbeidskundige blootstellinggrenswaarden vermeld.

Tabel 9. Twee-uursgemiddelde aldehydemetingen uitgedrukt in milligram per kubieke meter.

Stofnaam	Cas.nr.	Productie hal	Poederhok	MAC	VRW	AGW	Acute MRL
Formaldehyde ^a	50-00-0	3,9	2,5	1,5	1	10	0,05
Aceetaldehyde	75-07-0	1,3	2,5	37	2	200	
Aceton	67-64-1	0,5	0,7	1210	500	5000	0,5
Acroleïne ^a	107-02-8	1,1	0,5	0,05	0,5	1	0,0005
Propionaldehyde	123-38-6		0,1		0,5	50	
Butyraldehyde	123-72-8	4,9	2,5				

- a) de kortdurende arbeidersblootstellingsgrenswaarde MAC TGG 15 minuten is voor formaldehyde en acroleïne vastgesteld op 3 respectievelijk 0,12 milligram per kubieke meter.

Uit de twee-uursgemiddelde metingen van aldehyden volgens de nieuwe methode blijkt dat er hoge binnenlucht concentraties zijn gemeten van formaldehyde, acroleïne en enkele verwante

aldehyden en ketonen. Deze metingen bleken consistent met de GC-MS-screeningsanalyse⁹ van luchtmonsters waarbij een grote diversiteit van stoffen is geïdentificeerd die tot dezelfde stofgroep van aldehyden en ketonen behoren.

De aard van de gemelde klachten van werknemers en hulpverleners die zich tijdens en direct na de brand in het pand bevonden komen overeen met symptomen die men bij kortdurende blootstelling aan deze stoffen en de gemeten concentraties kan verwachten. Er zijn acute effecten gemeld van irritaties aan de luchtwegen en ogen. Deze gezondheidseffecten vormen geen bewijs, maar zijn aanwijzingen die in verband gebracht kunnen worden met de blootstelling aan vrijgekomen aldehyden.

Formaldehyde en acroleïne ontstaan zoals eerder in dit rapport is vermeld bij onvolledige verbranding van organische materialen zoals kunststoffen en harsen. Dat is bij dit incident vermoedelijk ook gebeurd. Informatie over bronnen, blootstelling en gezondheidseffecten van aldehyden zijn onder andere ook te vinden in publicaties van het RIVM¹⁰ en de wereld gezondheidsorganisatie (WHO)¹¹.

Conclusie

De nieuwe in-situmeetmethode voor de bepaling van de luchtconcentratie van gasvormige aldehyden in lucht blijkt op basis van het onderzoek voldoende valide te zijn voor het beoogde gebruikersdoel. De methode gaat voor wat de monsterneming betreft uit van de standaard MOD-meetmethode. De desorptie van de aldehyde hydrazonderivaten van de beladen DNPH-cartidges gebeurt eveneens volgens de standaard MOD-meetmethode, te weten met acetronitril. De meetmethode is gevalideerd op de nieuwe elementen zoals de clean-up van de verkregen acetonitrileluaten en de daaropvolgende GC-MS-analyse in het mobiele laboratorium. Uit het onderzoek naar de prestatiekenmerken blijkt, dat de meetmethode voldoet.

⁹ MOD beschikt over een standaard screeningsmethode om onbekende organische componenten in lucht te analyseren. De luchtmonsters worden met tedlarbags (dit zijn inerte luchtzakken) in enkele seconden met behulp van een 'vacu-tube' verkregen. Een deelvolumen hiervan wordt met GC-MS geanalyseerd.

¹⁰ RIVM-rapport 650270003/2002 The health- and addictive effects due to exposure to aldehydes of cigarette smoke: Part 1; Acetaldehyde, formaldehyde, acroleïne and propionaldehyde.

¹¹ Environmental Health Criteria 127, acrolein. Geneva: World Health Organization, 1992

6. Conclusie

Het RIVM heeft voor de bepaling van de concentratie van gasvormige aldehyden in de buitenlucht een nieuwe in-situmeetmethode ontwikkeld. De methode is geschikt voor het meten van vrijgekomen aldehyden tijdens milieu-incidenten zoals een brand.

Literatuuronderzoek

In de literatuur zijn veelbelovende meetmethoden gevonden waarbij remotesensingtechnieken zoals Open Path Fourier Transform InfraRed spectroscopy (OP-FTIR) en Proton Transfer Reaction Massa Spectrometry (PTR-MS) toegepast worden.

Voor meetmethoden, waarbij de monsterneming een onlosmakelijk onderdeel vormt, zijn vooral chromatografische analysetechnieken beschikbaar om de aldehyden selectief te detecteren en te kwantificeren. De aldehyden worden vrijwel altijd gederiviseerd tot stabiele verbindingen. In de literatuur zijn talrijke voorbeelden te vinden van geschikte derivateringsreagentia zoals trichloorphenylhydrazine (TCPH), pentafluorphenylhydrazine (PFPH), dinitrophenylhydrazine (DNPH), methyloxylamine, benzyldroxyamine, o-pentafluorbenzyldroxyamine (PFOA) en smicarbaziden.

Het RIVM koos ervoor om de bestaande meetmethode van de MOD als uitgangspunt te nemen, waarbij de aldehyden tijdens de monsterneming op DNPH-cartridges worden opgevangen en met DNPH worden gederiviseerd tot hydrazonen derivaten.

Met succes is een methode gevonden om de derivaten van aldehyden na elutie van de DNPH-cartridges met acetonitril te analyseren met het GC-MS-meetsysteem in het mobiele laboratorium.

Validatieonderzoek

Na verkennend experimenteel onderzoek is de volgende procedure vastgesteld, waarbij de nieuwe (analyse) processtappen van de meetmethode zijn gevalideerd.

Het RIVM bepaalt de luchtconcentratie van aldehyden tijdens een milieu-incident door lucht actief met een pompje over een DNPH-cartridge te leiden volgens de standaardmethode van de MOD. De DNPH-cartridge brengt het RIVM direct na monsterneming voor chemische analyse naar het mobiele laboratorium ter plaatse van het milieu-incident. De chemische analist elueert de cartridge met 2,0 milliliter acetonitril. Het extract wordt vrijwel direct daarna gezuiverd over een kationkolommetje van Bakerbond Speedisk H2O-Philly SC-DVB (200 mg, 6ml). De overmaat aan DNPH wordt op deze wijze verwijderd, zodat het extract geschikt is voor een GC-MS-analyse. Het mobiele laboratorium is daarvoor uitgerust met een afzuigkast voor de monstervoorbehandeling en een GC-MS quadropool meetsysteem voor de meting van de extracten. De aldehyden-DNPH-derivaten worden gedetecteerd, geïdentificeerd en gekwantificeerd op basis van de GC-MS-analyse van een kalibratiestandaard van een mengsel van deze stoffen. De gemeten concentraties van de aldehyden als DNPH-derivaten rekent de analist om naar een luchtconcentratie uit de gegevens van de bemonsterde hoeveelheid lucht.

Prestatiekenmerken

De juistheid is getoetst aan de hand van de terugvinding van de clean-up en de GC-MS-analyse door toevoegingen van bekende hoeveelheden van aldehyde DNPH derivaten aan het acetonitrilextract (vóór de clean-up). Verder zijn analyses uitgevoerd van praktijkmonsters, waarbij de bestaande HPLC-UV (off-situ) en de GC-MS (in-situ)metingen met elkaar zijn vergeleken.

De terugvinding van de aldehyden ligt zonder onderscheid te maken in individuele aldehyden in een gebied tussen 78 en 123%. Het gaat om toevoegingen van aldehyden-DNPH-derivaten op een laag en hoog niveau.

De herhaalbaarheid blijkt lager te zijn dan 15%. Dit zijn goede uitkomsten. De systematische afwijking van de meting van praktijkmonsters op basis van de methodevergelijking is ook acceptabel. Voor formaldehyde en aceetaldehyde is de verhouding van de meetwaarde van de GC-MS-analyse en de HPLC-UV-analyse 60 tot 90%. Van de overige aldehyden en ketonen is de vergelijkbaarheid wisselend.

Uit de analyse van de blanco (test van chemicaliën, middelen en meetapparatuur) blijkt dat er geen interferenties zijn aangetoond die de GC-MS-analyse kunnen verstoren.

De selectiviteit van de GC-MS-analyse blijkt goed te zijn. Dit is aan te tonen aan de hand van de GC-MS-chromatogrammen. Uit de massaspectra zijn geen artefacten opgetreden die wijzen op co-elutie van interferenten. De selectiviteit voor de detectie van aldehyden wordt verhoogd door de derivatisering met DNPH.

Het meetgebied, de lineariteit en de bepalingsgrenzen blijken voldoende te zijn voor het beoogde doel. Het meetgebied komt overeen met het gewenste lineaire meetbereik, te weten een gebied tussen 10 en 1000 microgram per kubieke meter. Hierbij is voor de berekening aangenomen dat gedurende een halfuur met constante snelheid 45 liter lucht is bemonsterd. Dit zijn voor metingen tijdens milieucalamiteiten gebruikelijke kentallen.

Het RIVM verwacht dat de nieuwe meetmethode voldoende robuust zal zijn. De GC-MS-analyses zijn grotendeels met het meetapparaat in het mobiele laboratorium uitgevoerd. Hieruit blijkt dat er geen aanwijzingen zijn gevonden van onbeheerste kwaliteit door beïnvloeding van meetomstandigheden. De meetmethode is voldoende valide gebleken om in de praktijk te worden toegepast. Om zonder risico van contaminatie de DNPH-cartridges goed te kunnen voorbehandelen, is het mobiele laboratorium voorzien van een zuurkast.

De analysetijd vanaf het moment dat een monster binnenkomt tot de rapportage van een GC-MS-uitslag schat het RIVM op 1 uur en voor elke volgend monster circa 45 minuten. Dit komt overeen met de gewenste prestatie.

De samenvattende conclusie van dit onderzoek luidt dat het RIVM is geslaagd om een insitumeetmethode voor de bepaling van de concentratie gasvormige aldehyden in lucht te ontwikkelen. Het gaat vooral om de meest toxische componenten zoals formaldehyde, aceetaldehyde en acroleïne. De methode gaat uit van de bestaande methode van monsterneming. Nieuw is de behandeling van DNPH cartridges met een clean-up stap en de meting van de acetonitrileluaten met het GC-MS-instrument in het mobiel laboratorium.

Literatuur

- Aarnink AJA, Landman WJM, Melse RW, Gijssels de P, Thuy AHT en Fabri T; Voorkomen van verspreiding van ziektekiemen en milieuemissies via luchtreiniging
Rapport nr. 059, Wageningen-UR, Agrotechnology and Food Innovations (A&F) en Gezondheidsdienst voor Dieren (GD)
ISBN nr 90-6754-745-X, februari 2004
- Chiu KH, Wu BZ, Chang CC, Usha Sree, Lo JG; Distribution of volatile organic compounds over a semiconductor industrial park in Taiwan
Environ.Sci.Technol., 2005, 39, 973-983
- Christian TJ, Kleiss B, Yokelson RJ, Hozinger R, Crutzen PJ, Hao WM, Saharjo BH, Ward DE; Comprehensive laboratory measurements of biomass-burning emissions: Emissions from Indonesian, African, and other fuels
Journal of Geophysical Research, 2003, 108
- Christian TJ, Kleis B, Yokelson RJ, Hozinger R, Crutzen PJ, Hao WM, Shirai T, Blake DR; Comprehensive laboratory measurements of biomass-burning emissions: 2. First intercomparison of open-path FTIR, PTR-MS, and GC-MS/FID/ECD
Journal of Geophysical Research, 2004, 109
- Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air, January 1999
- Doskey PV, Bialk HM; Automated sampler for the measurement of non-methane organic compounds
Environ.Sci.Technol., 2001, 35, 591-594
- EPA; Compendium Method TO-11A; Determination of formaldehyde in ambient air using adsorbent cartridge followed by high performance liquid chromatography (HPLC)
US Environmental Protection Agency, January 1999
- Glaze WH, Koga M, Cancilla D; Ozonation Byproducts. 2. Improvement of an aqueous-phase derivatization method for the detection of formaldehyde and other carbonyl compounds formed by the ozonation of drinking water
Environ. Sci. Technol., 1989, 23, 838-847
- Hansel A, Jordan A, Holzinger R, Prazeller P, Vogel W, Lindinger W; Proton transfer reaction mass spectrometry: on-line trace gas analysis at the ppb level
International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, 1995, 149/150, 609-619
- Hogendoorn EA, Baumann RA, Broekman MH, Hoogerbrugge R, Mooibroek D, Groenemeijer GS, Boer den AC, Stoffelsen BHG, Berkhoff CJ, Hijman WC, Beuzekom AC; Fast sample preparation involving MASE and coupled column normal phase liquid chromatography for the rapid trace analysis of dioxins in air-dust samples from fire catastrophe emissions
Talanta, 2004, 63, 1183-1191
- Kobayashi K, Tanaka M en Kawai S; Gas chromatographic determination of low-molecular-weight carbonyl compounds in aqueous solution as their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) oximes
Journal of Chromatography, 187, 1980, 413-417
- Kragten J; Statistiek voor de chemische praktijk
Vakgroep Analytische Scheikunde UVA, 1992
- Lehmpuhl DW en Birks JW; New gas chromatographic-electron-capture detection method for the determination of atmospheric aldehydes and ketones based on cartridge sampling and derivatization with 2,4,6-trichlorophenylhydrazine
Journal of Chromatography A, 1996, 740, 71-81

- Levine SP, Harvey TM, waeghe TJ en Shapiro RH; O-alkyloxime derivatives for gas chromatographic and gas chromatographic-mass spectrometric determination of aldehydes
Anal. Chem., 1981, 53, 805-809
- Linders SHMA, Stil GH, Kootstra PR, Gort SM, Bos HP, Regts TA, Uiterwijk JW, Velde van der E; De analyse van aldehyden in lucht. Methodebeschrijving en validatieonderzoek
Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. RIVM rapportnr 723101029, 1997.
- Lindinger W, Hansel A, Jordan A; On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research
International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, 1998, 173, 191-241
- Magin DF; Preparation and gas chromatographic characterization of benzyloximes and p-nitrobenzyloximes of short-chain (C₁-C₇) carbonyls
Journal of Chromatography, 1979, 178, 219-227
- Martos PA en Pawliszyn J; Sampling and determination of formaldehyde using solid-phase microextraction with on-fiber derivatization
- McClenny WA, Oliver KD, Jacumin HH, Daughtrey EH; Ambient level volatile organic compounds (VOC) monitoring using solid adsorbents – Recent US EPA studies
J. Environ. Monit., 2002, 4, 695-705
- Mennen MG; Resultaten van metingen door de milieuongevallendienst bij branden
Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en milieu. RIVM rapportnr. 609100002/2002
- Mooibroek D en Hoogerbrugge R; CALWER 3.0 Revision 1,2. A user friendly spreadsheet program for calibration using weighted regression.
RIVM User's Guide (LACS345), january 2004
- Nawrocki J, Kalkowska I en Dabrowska A; Optimization of solid-phase extraction method for analysis of low-ppb amounts of aldehydes-ozonation by-products
Journal of Chromatography A, 1996, 749, 157-163
- NEN; Nederlandse norm NEN 7777, Milieu – Prestatiekenmerken van meetmethoden
juli 2003
- Nishikawa H en Hayakawa T en Sakai T; Determination of acrolein and crotonaldehyde in automobile exhaust gas by gas chromatography with electron-capture detection
Analyst, june 1987, vol 112, 859-862
- Nondek L, Rodler DR en Birks JW; Measurement of Sub-ppbv concentrations of aldehydes in a forest atmosphere using a new HPLC technique
Environ.Sci.Technol., 1992, 26, 1174-1178
- Ollett DG, Attygalle AB en Morgan ED; Microchemical method for determining formaldehyde, lower carbonyl compounds and alkylidene end groups in the nanogram range using the Keele micro-reactor
Journal of Chromatography, 367, 1986, 207-212
- Pereira EA, Olimpia O Rezende M, Marir; Analysis of low molecular weight aldehydes in air samples by capillary electrophoresis after derivatization with 4-hydrazinobenzoic acid
J. Sep.Sci., 2004, 27, 28-32
- RIVM; De analyse van aldehyden in diverse matrices met behulp van HPLC-UV
SOP-nr: LVM-AC-P434, 15 mei 2005
- RIVM; Projectbeschrijving - Ontwikkeling van mobiele meetmethoden voor de calamiteitenondersteuning
Projectnummer: S/609350, oktober 2005

- SKC; Determination of formaldehyde and other aldehydes in indoor air using a solid adsorbent trap
IP-6A method Update to EPA compendium Method, 2004
SKC inc, Eighty four PA 15330, USA
- Shirey R, Mani V en Betz W; Air sampling of VOCs using new SPME portable field sampler
Supelco, vol 16, no.4, 1997
- Stashenko EE, Ferreira MC, Sequeda LG, Martinez JR, Wong JW; Comparison of extraction methods and detection systems in the gas chromatographic analysis of volatile carbonyl compounds
Journal of Chromatography A, 1997, 779, 360-369
- Supelco; Alternative analysis of formaldehyde-DNPH and other carbonyl-DNPH Derivatives by capillary GC
note 107, Technical Service Department Supelco
- Takeda S, Wakida S, Yamane M, Higashi K; Analysis of lower aliphatic aldehydes in water by micellar electrokinetic chromatography with derivatization to 2,4 dinitrophenylhydrazones
Electrophoresis, 1994, 15, 1332-1334
- Uralets VP et al.; Syn-Anti isomerisation of 2,4 dinitrophenylhydrazones of volatile carbonyl compounds in capillary gas chromatographic-mass spectrometric analyses.
Journal of Chromatography, 194, 1980, 135-144
- Vogel M, Buldt A en Karst U; Hydrazine reagents as derivatizing agents in environmental analysis – a critical review.
Fresenius J Anal Chem, 2000, 366, 781-791

Bijlage 1: Standaardmethode RIVM

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 1 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

De analyse van aldehyden in diverse matrices m.b.v. HPLC-UV

INHOUDSOPGAVE	pagina
1 Inleiding	2
1.1 Doel en toepassingsgebied	2
1.2 Principe	2
1.3 Doelgroep	2
1.4 Wijzigingen t.o.v. de vorige versie	3
2 Chemicaliën	3
2.1 Grondstoffen en oplossingen	3
2.2 Oplossingen	4
3 Apparatuur en hulpmiddelen	5
4 Opwerking monsters	5
4.1 Spoelwater en vaccinoplossing	5
4.2 Lucht	6
5. HPLC-UV analyse	6
5.1 HPLC-condities	6
5.2 In gebruikname HPLC-UV methode	6
5.3 Analyse van monsteroplossingen	7
5.4 Recoveries	8
6 Kwaliteitscriteria	8
6.1 Algemeen	8
6.2 Blanco bepaling	8
6.3 Matrixstoringen	9
6.4 Voortgang analyse bij problemen	9
7 Opmerkingen	9
8 Verantwoordelijkheden	10
9 Samenhangende documenten	10
Fig. 1, HPLC-UV chromatogram van een Carb Carbonyl-DNPH mix	11
Fig. 2A, HPLC-UV chromatogram van een luchtmonster getrapt op een Sep-Pak XPoSure cartridge	12
Fig. 2B, HPLC-UV chromatogram van een monster acellulair kinkhoestvaccin met daaraan toegevoegd 0.1 mmol/l glutaaraldehyde	13
Bijlage 1: Formulier LVM-AC-F434A rev 014/15	

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 2 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

De analyse van aldehyden in diverse matrces m.b.v. HPLC-UV

1 INLEIDING

1.1 Doel en toepassingsgebied

Deze SOP beschrijft de analyse van aldehyden in diverse matrices met toepassing van HPLC met UV-detectie na derivatisering van de componenten met 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH).

De methode is toegepast voor formaldehyde en glutaaraldehyde in spoelwater afkomstig van endoscopen [1], voor formaldehyde en glutaaraldehyde in vaccinoplossingen [2, 3] en voor formaldehyde, aceetaldehyde, acroleïne en eventueel andere aldehyden in luchtmonsters [4, 5].

De onderste analysegrens voor de analyse van formaldehyde en glutaaraldehyde in spoelwater bedraagt ca. 0.03 mg aldehyde per liter water en voor vaccinoplossingen resp. 0.3 mg/l (=0.01 mmol/l) en 1 mg/l (0.01 mmol/l).

De onderste analysegrens voor aldehyden in luchtmonsters is ca. 0.03 µg aldehyde getrap op een Waters XPosure Aldehyde sampler cartridge beladen met DNPH.

1.2 Principe

Aan het spoelwatermonster (eventueel na verdunning) wordt DNPH-reagens in acetonitril (verhouding 1:1) toegevoegd, waarbij direct de aldehyde-DNPH-derivaten gevormd worden.

De vaccinoplossing wordt gecentrifugeerd, verdund (10 keer bij een concentratie van 0.3 mmol/l formaldehyde) en gederivatieerd met DNPH-reagens in acetonitril.

Voor de analyse van aldehyden in luchtmonsters wordt een hoeveelheid lucht geleid over een met DNPH-reagens beladen cartridge. Na elueren van het gevormde aldehyde-DNPH derivaat met acetonitril en toevoeging van een hoeveelheid water worden de extracten van deze luchtmonsters op dezelfde manier geanalyseerd als de watermonsters.

Een gedeelte van de eindoplossing (extract) wordt voor analyse in het HPLC-UV (360 nm) systeem geïnjecteerd. Vanwege de beperkte stabiliteit van voornamelijk het formaldehyde derivaat in mengsels van water-acetonitril wordt de instrumentele analyse binnen 12 uur na derivatisering uitgevoerd.

1.3 Doelgroep

Alle LVM-AC medewerkers die belast zijn met de bepaling van aldehyden.

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 3 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

1.4 Wijzigingen t.o.v. de vorige versie

De lay-out van de SOP is aangepast aan de lay-out van LVM.
Toegevoegd zijn 1.3 doelgroep, 1.4 wijzigingen, 8 verantwoordelijkheden.
De hoofdstukken chemicaliën (2.1) en oplossingen (2.2) zijn aangepast aan de LVM-AC layout.

2 CHEMICALIËN

De kwaliteit van de chemicaliën wordt gecontroleerd door het uitvoeren van blanco experimenten. Dit zijn analyses waarbij het achtergrondsignaal gemeten wordt van een analysegang zonder monster.

In de praktijk geldt dat in het chromatogram vaak een achtergrondsignaal van de aldehyde-derivaten op het niveau van ongeveer de onderste analysegrens aanwezig is. Hiervoor wordt een correctie uitgevoerd. Afwijkingen (bijv. hoge achtergrondsignalen) worden vermeld in de rapportage.

2.1	<u>Grondstoffen en oplossingen</u>	chem.nr., kwaliteit, fabrikaat, bestelnummer
2.1.1	Milli-Q water	Milli-Q Kwaliteit
2.1.2	Methanol	793, HPLC, Biosolve, 13680602
2.1.3	Acetonitril	786, HPLC-S, Biosolve, 01200701
2.1.4	Geconcentreerd ortho-Phosphorzuur	141, p.a., Merck, 1.00573
2.1.5	2,4-Dinitrophenylhydrazine (DNPH)	861, p.a., CAS nr.119-26-6; Fluka, 42210 Bewaarcondities: diepvries
2.1.6	Acetaldehyde, ca. 100 %	860, p.a., CAS nr.75-07-0, Fluka, 00070 Bewaarcondities: koelkast
2.1.7	Formaldehyde 36,5 % waterige/methanol oplossing	859, CAS nr.50-00-0, Riedel de Haen, 33220 Bewaarcondities: kamertemperatuur
2.1.8	Glutaaraldehyde 50 % waterige oplossing	2199, CAS nr. 111-30-8, Sigma, G-7651 Bewaarcondities: diepvries
2.1.9	Formaldehyde-DNPH in acetonitril	863, Supelco, gecertificeerd, 4-7177 individuele concentratie ca 100 µg/ml aldehyde Bewaarcondities: koelkast

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 4 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

- | | | |
|--------|--|---|
| 2.1.10 | Glutaaraldehyde-DNPH
oplossing in acetonitril | 864, Supelco, gecertificeerd, 47564-U
individuele concentratie ca 100 µg/ml aldehyde
Bewaarcondities: koelkast |
| 2.1.11 | CARB Carbonyl-DNPH
Mix in acetonitril | 865, Supelco, gecertificeerd, 47649-U
oplossing van DNPH-derivaten van een 7-tal
aldehyden/ketonen, concentratie ca. 100-200 µg/ml
aldehyde/keton
Bewaarcondities: koelkast |
| 2.1.12 | Aldehyded-/Keton-DNPH
Mix in acetonitril | 868, Supelco, gecertificeerd, 47285-U
oplossing TO11/IP6A van 15 DNPH-aldehyden,
concentratie ca 15 µg/ml aldehyde/keton
Bewaarcondities: koelkast |

De oplossing 2.1.11 of die van 2.1.12 kan (extra) gebruikt worden voor de controle van de juistheid van de concentraties van de gemaakte afzonderlijke DNPH-derivaat oplossingen of mengsels van DNPH-derivaten

- | | | |
|--------|--------------------------------|--|
| 2.1.13 | Aldehyde
Sampler cartridges | Waters, Sep-Pak XPoSure (Part No. WAT047205)
Bewaard bij 4 °C zijn de cartridges maximaal 6
maanden houdbaar en bewaard bij
kamertemperatuur maximaal 2 weken.
Geadviseerd wordt de bemonsterde cartridges bij 4
°C te bewaren en binnen twee weken te elueren. Het
eluaat is bij 4 °C nog een maand houdbaar. |
|--------|--------------------------------|--|

2.2 Oplossingen

- | | | |
|-------|--|--|
| 2.2.1 | Werkoplossing.
(= standaardoplossing voor de
HPLC-analyse) | <ul style="list-style-type: none">- In acetonitril (2.1.3) worden verdunningen gemaakt van de gecertificeerde individuele aldehyde-DNPH (2.1.9 of 2.1.10) derivaten of van een mengsel van aldehyde-DNPH (2.1.11 of 2.1.12) derivaten met een concentratie van ca. 1-10 µg aldehyde per ml.- Oplossingen in acetonitril zijn minimaal 3 maanden in de koelkast houdbaar.- Zo kort mogelijk voor het opstarten van de HPLC-analyse wordt de werkoplossing in acetonitril-water (50:50, v/v) bereid.- De eindconcentratie van de werkoplossing bedraagt ca 0.1 µg/ml voor de analyses van |
|-------|--|--|

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 5 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

spoelwater en ca 0.5 µg/ml voor de analyse van vaccinoplossingen en luchtmonsterextracten.

- Uit ervaring is gebleken dat de concentratie van vooral het formaldehyde-DNPH derivaat in acetonitril-water mengsel langzaam afneemt. De acetonitril-water oplossingen zijn in ieder geval 12 uur geschikt voor de HPLC-analyse.
- Houdbaarheid: 12 uur

2.2.2 DNPH-reagens

- Ongeveer 25 mg DNPH (2.1.5) afwegen in een klein bekersglasje en met ca. 20 ml acetonitril (2.1.3) kwantitatief overspoelen in een bruine maatkolf van 25 ml.
 - Na toevoegen van 0.5 ml ortho-fosforzuur (2.1.4) wordt de maatkolf met acetonitril (2.1.3) aangevuld tot 25 ml.
- Houdbaarheid: minstens 1 jaar
Bewaarcondities: in de koelkast

- #### 2.2.3 Standaardoplossingen voor indicatieve recovery-experimenten (optioneel).
- Voor deze experimenten worden de geconcentreerde oplossingen van formaldehyde (2.1.7) en glutaraaldehyde (2.1.8) gebruikt. Vanwege het feit dat de concentraties hierin semi-kwantitatief zijn, zijn de resultaten van de recovery-experimenten indicatief. Middels weging wordt een klein volume (ca 0.5 ml) van de geconcentreerde oplossing afgewogen in een maatkolf van 25 ml en op volume gebracht met Milli-Q water. Van deze oplossingen worden verdunningen gemaakt in Milli-Q water met een concentratie van de aldehyden liggend tussen het niveau van de onderste analysegrens (ca 0.03 µg/ml) en de te verwachten maximale concentratie in het watermonster.
- Recovery-experimenten t.b.v. lucht zijn niet uitvoerbaar, omdat voor de toevoeging van aldehyden aan de cartridge geen "oplossing" in lucht beschikbaar is.

3 APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

- 3.1 HPLC-systeem bestaande uit een autosampler, een gradiënt pomp, een UV-detector (360 nm), een kolomoven (30 °C) en een chromatografie datasysteem.
- 3.2 100 x 4,6 mm I.D. LC-kolom gepakt met 3 µm Microspher C18.
- 3.3 Centrifuge 12000 rpm

4 OPWERKING MONSTERS

4.1 Spoelwater en vaccinoplossing

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 6 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

De vaccinoplossing wordt eerst gecentrifugeerd, waarna de heldere bovenlaag in bewerking wordt genomen. Indien hoge concentraties worden verwacht in de monsters, worden eerst aangepaste verdunningen gemaakt met Milli-Q water.

Aan 1.0 ml van het watermonster/vaccinoplossing of de verdunning ervan wordt 1.0 ml DNPH-reagens in acetonitril toegevoegd. Na schudden wordt allereerst gekeken of er een neerslag ontstaat. Een neerslag wijst op een hoge concentraties aan aldehyde(n). In dit geval moeten verdunningen gebruikt worden. Na derivatisering worden de oplossingen overgebracht in een bruine autosampler-vial en geanalyseerd met HPLC-UV (zie 5).

4.2 Lucht

Op de met lucht bemonsterde cartridge wordt een plastic spuit van 2 ml bevestigd. Hierin wordt 2.0 ml acetonitril (2.1.3) gebracht en middels overdruk wordt de vloeistof door de cartridge gespoeld en het eluaat met derivaat opgevangen in een gecalibreerde buis. Van deze oplossing wordt 0.5 ml of 1.0 ml 1:1 verdund met Milli-Q water. Na mengen wordt (een deel van) deze oplossing overgebracht in een bruine autosampler-vial en vervolgens met HPLC –UV geanalyseerd (zie 5).

5 HPLC-UV ANALYSE

5.1 HPLC-UV condities

Voer de instrumentele analyse uit met behulp van een binaire gradiëntelutie (flow 1.0 ml/min) en UV detectie bij een golflengte van 360 nm.

De elutievloeistoffen voor de analyse van alle monstertypes zijn **A** (methanol-water (55:45; v/v) en **B** (methanol).

Het schema van de gradiënt is:

Tijd (min)	% A	%B
0.1	100	0
2.0	100	0
12.0	0	100
12.1	100	0
15.0	100	0

Onder deze condities zijn (indicatief) de retentietijden:

Formaldehyde: 3.8 min
Acetaldehyde: 5.6 min
Acroleïne: 7.2 min
Glutaaraldehyde: 10.5 min
Het injectievolume is 20 µl.

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 7 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

5.2 In gebruikname HPLC-UV methode

Het HPLC-systeem wordt opgestart met de analyse van de werkoplossing (zie 2.2.1). Deze wordt visueel beoordeeld en het piekenpatroon moet overeenkomen met standaardinjecties van voorgaande series. Een injectie van een oplossing met DNPH-reagens voorafgaand aan de standaardinjectie bevordert het verkrijgen van een stabiel chromatogram, dit geldt vooral voor de glutaaraldehyde-DNPH piek.

Controle van de rechtevenredigheid van het HPLC-UV systeem vindt plaats door injectie van twee verschillende standaardoplossingen bestaande uit de werkoplossing en een standaard met 5x verschil in concentratie t.o.v. de werkoplossing. De afwijking van de responsfactor tussen beide metingen moet kleiner zijn dan 10 %. De responsfactor is hierbij piekhoogte (eventueel omgerekend voor een zelfde gevoeligheidsinstelling) gedeeld door de concentratie.

Let op: de oplosbaarheid van het glutaaraldehyde-DNPH derivaat in acetonitril/water is beperkt tot (omgerekend) ca. 2 µg glutaaraldehyde per ml acetonitril/water 1:1.

5.3 Analyse van monsteroplossingen

Injecteer bij de HPLC-analyse minimaal één werkoplossing per serie van maximaal 5 monsters. De afwijking in retentietijd en piekhoogte van de geanalyseerde standaarden mag hierbij niet meer bedragen dan respectievelijk 2 en 5 %. Voor een positieve identificatie van de analieten op grond van de retentietijd mag de afwijking in retentie van de analieten in het monsterextract niet meer dan 2 % afwijken van de retentie van de analieten van de werkoplossing. Indien bovengenoemde criteria niet gehaald worden, wordt getracht de oorzaak ervan te achterhalen. Als herstel hiervan en/of heranalyse niet mogelijk is, wordt er overleg met de onderzoeksleider gepleegd. Afwijkingen komen in de rapportage tot uitdrukking.

Op basis van een visuele inspectie van het chromatogram wordt de piekvorm van de analiet (breedte en tailing) gecontroleerd; deze dient in standaardoplossing en monsterextract met elkaar overeen te komen. Achtergrondstoringen kunnen de integratie, met name op laag niveau, bemoeilijken. In dergelijke situaties worden integraties altijd achteraf visueel gecontroleerd en onjuistheden handmatig bijgesteld.

Indien de piekhoogte van het monster buiten het lineaire meetgebied valt wordt een verdunning gemaakt van het monster (of het eluaat in geval van lucht) welke opnieuw (instrumenteel) geanalyseerd wordt.

Kwantificering van de analieten in de oplossing vindt plaats middels éénpuntscalibratie. Hierbij wordt het signaal van een piek in het monsterextract vergeleken met de qua retentietijd overeenkomende piek van de standaardoplossing die zich in het lineaire gebied bevindt; meestal is dit de werkoplossing.

Een voorbeeld van een HPLC-UV chromatogram bij 360 nm van een mengsel van aldehyde-DNPH derivaten (400 maal verdunde Carb Carbonyl-DNPH mix; zie 2.1.11) is weergegeven in Fig. 1.

De onderste analysegrens van een analiet wordt bepaald door het achtergrondsignaal van een gederivatiseerd blanco monster: Milli-Q water in geval van spoelwater en

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 8 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

vaccinoplossing en bij de matrix lucht door het achtergrondsignaal van het eluaat van een blanco cartridge en de hoeveelheid (volume) bemonsterde lucht.

De onderste analysegrens wordt vastgesteld op basis van een chromatogram-inspectie. Vanwege de diversiteit van de combinaties monster/voorbewerking is de weergave in deze SOP van de formules voor de berekening van gehalten niet zinvol. Bij elk onderzoek is er altijd middels een collegiale toets een onafhankelijke controle van de berekening van een opgegeven gehalte.

Een voorbeeld van een chromatogram verkregen met HPLC-UV (360 nm) van de analyse van een luchtmonster (ter grootte van ca. 0,2 m³) met daarin aanwezig een hoeveelheid van 1,3 µg formaldehyde en 2,5 µg aceetaldehyde getrapt op een cartridge staat afgebeeld in Fig. 2A.

5.4. Recoveries

Validatie van de toegepaste methode wordt uitgevoerd middels recovery-experimenten. Hiertoe worden standaardoplossingen van de aldehyden toegevoegd aan Milli-Q water of aan blanco monstermateriaal en gederivatiseerd. Voor zowel formaldehyde als glutaraaldehyde zijn geen referentiestoffen beschikbaar. De recovery-experimenten worden uitgevoerd met gebruik van de geconcentreerde waterige oplossingen (zie 2.1.7 en 2.1.8). De opbrengsten voor deze verbindingen zijn dan ook indicatief, echter de spreiding ervan is representatief voor dat deel van de analysemethode.

Voor validatie van de methode worden minimaal drie recoveries uitgevoerd, bij voorkeur op twee niveaus.

De hoogte van de spreiding van de recovery-experimenten is afhankelijk van het niveau en het aantal metingen (n). Als richtlijn geldt dat bij n=3 op het niveau van de werkstandaard een RSD < 15% gehaald moet worden op het niveau van de onderste analysegrens een RSD < 30%.

Recovery-experimenten t.b.v. luchtmonsters worden niet uitgevoerd (zie 2.2.3).

6 KWALITEITSCRITERIA

6.1 Algemeen

Borging van de analyseresultaten berust vnl. op het juist uitvoeren van de instrumentele analyse van de monsterextracten (zie 5).

Middels de HPLC-analyse van gecertificeerde referentieoplossingen van mengsels van aldehyde-DNPH-derivaten (zie 2.1.11 en 2.1.12) kunnen extra controlestappen met betrekking tot identiteit en concentratie van de aldehyden worden ingevoerd.

Voor het bepalen van de spreiding van de onderzoeksresultaten worden "recovery-experimenten" uitgevoerd (zie 5.4).

Bij voldoende monstermateriaal kunnen, indien wenselijk, de monsters in duplo of meervoud worden geanalyseerd.

6.2 Blanco bepaling

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 9 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

De blanco waarde van de chemicaliën wordt bepaald door de gehele analyse uit te voeren zonder matrix of, indien aanwezig, met een blanco matrix in plaats van met een monster. Vaak zijn, met name voor formaldehyde en aceetaldehyde, in het chromatogram van de blanco bepaling achtergrondsignalen aanwezig op de plaatsen van de analieten op een concentratieniveau (meestal) van ongeveer de onderste analysegrens. De resultaten van de monsters worden voor het "blanco" signaal gecorrigeerd. Indien de achtergrondsignalen te hoog zijn voor een zinvolle correctie wordt overleg gepleegd met de onderzoeksleider. Afwijkingen/problemen worden in de rapportage vermeld.

6.3 Matrixstoringen

Matrixstoringen zijn per definitie alle (meegeëxtraheerde) bestanddelen van het analysemonster met uitzondering van de analiet(en). In een residu-analyse wordt de te halen onderste analysegrens in belangrijke mate bepaald door de hoogte van het achtergrondsignaal van de chromatografische analyse veroorzaakt door een overmaat aanwezige matrixstoringen. Met name voor milieumonsters geldt dat zowel de hoeveelheid als de geaardheid van de aanwezige matrixstoringen in een type monster (bijv. lucht n.a.v. een brand) onderling grote verschillen vertonen. Dit verschil in samenstelling kan tot gevolg hebben dat een gewenste onderste analyse- en/of rapportagegrens voor een type monster niet gehaald kan worden met de beschikbare methode. In een dergelijke situatie zal in eerste instantie geprobeerd worden dit probleem op te lossen door wijziging van chromatografische condities en/of de monstervoorbewerkingsprocedure. De doorgevoerde wijzigingen worden hierbij vastgelegd in het logboek van de uitvoerende onderzoeksmedewerker. Indien binnen de beschikbare tijd het probleem niet kan worden opgelost moet overleg gepleegd worden met de onderzoeksleider. Afwijkingen/problemen zullen in de rapportage worden vermeld.

6.4 Voortgang analyse bij problemen

Het is mogelijk dat aan de onder paragraaf 5.2 en 5.3 genoemde eisen niet kan worden voldaan. Bij analytisch-chemische afwijkingen (bijv. detectie, hardware, blanco's etc.) wordt getracht de oorzaak van deze problemen te achterhalen en worden de analyses opnieuw uitgevoerd. Indien binnen de beschikbare tijd deze problemen niet kunnen worden opgelost of indien beoogde onderste analysegrens niet verkregen kan worden door matrixproblemen (zie kwaliteitscriterium 6.3) dient overleg gepleegd te worden met de onderzoeksleider. Afwijkingen komen in de rapportage tot uitdrukking.

7 OPMERKINGEN

- 7.1 De opbrengsten van toevoegingen van formaldehyde en glutaraaldehyde aan water zijn door het ontbreken van referentiestoffen indicatief. Uit recovery-experimenten met de waterige oplossingen van deze aldehyden (zie 2.1.7 en 2.1.8) is gebleken dat de opbrengsten tussen de 95 en 100 % liggen [2, 3].

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 10 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

7.2 Voor de aanwezigheid van glutaaraldehyde in vaccinoplossingen wordt een rapportagegrens gehanteerd van 0.1 mmol/l. De grens is ca. 10 maal hoger dan de onderste bepalingsgrens en voldoet aan de wens van de opdrachtgever (NVI). In tot nu toe geanalyseerde monsters kinkhoestvaccin oplossing is glutaaraldehyde niet aangetoond boven deze rapportagegrens. Standaardadditie experimenten tonen aan dat de concentratie van glutaaraldehyde in deze oplossingen snel afneemt in de tijd.

In Fig. 2B staat een chromatogram afgebeeld van de analyse van een kinkhoestvaccin oplossing met daarin aanwezig 0.29 mmol/l formaldehyde en daaraan toegevoegd 0.1 mmol/l glutaaraldehyde, welke is verkregen met HPLC-UV (360 nm).

7.3 De beschreven analysemethode is toepasbaar voor alle soorten waterige oplossingen. Invloed van de matrix op het analyseresultaat kan, indien wenselijk en mogelijk, aan de hand van standaardtoevoegingen aan het monstermateriaal worden getoetst.

8 VERANTWOORDELIJKHEDEN

Het afdelingshoofd is verantwoordelijk voor de beschikbaarheid en naleving van deze SOP en een doelmatige inzet van het personeel en de middelen.

De competent bevonden medewerkers [6] zijn verantwoordelijk voor het voldoen aan de taken en voor het signaleren en melden van evt. tekortkomingen en afwijkingen betreffende deze SOP.

9 SAMENHANGENDE DOCUMENTEN

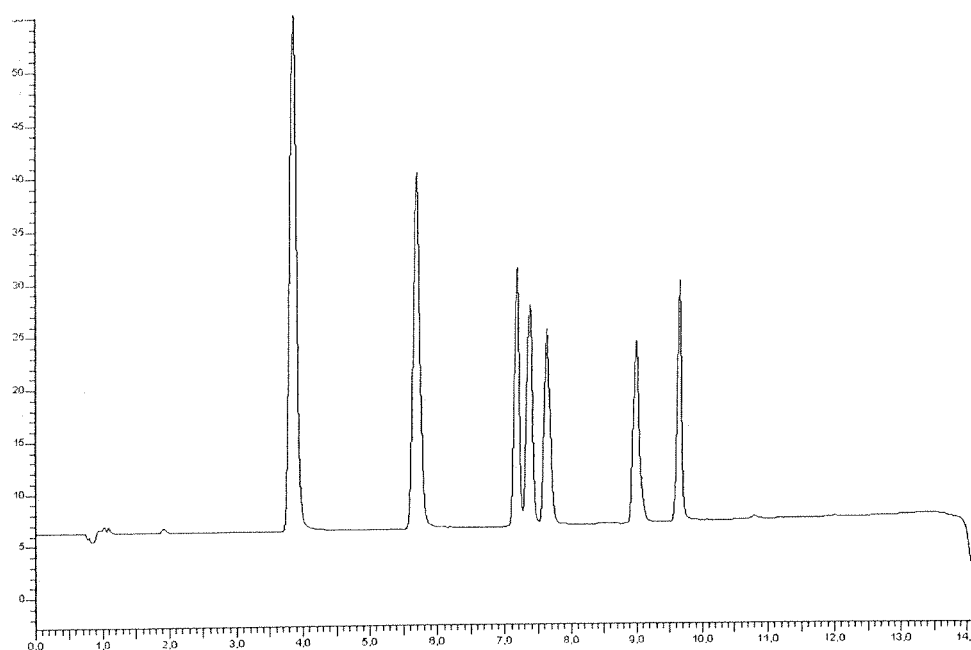
- [1] A.W. van Drongelen, T.J.H. Orzechowski, A.C.P. de Bruijn, E.A. Hogendoorn en C. Wassenaar, *Bepalingsmethode voor aldehyde-residuen in flexibele endoscopen*, RIVM-rapport 605148011 (2003).
 - [2] VRL: Validatie van de HPLC-UV methode voor de bepaling van formaldehyde in DaKTP vaccins. NVI RAP-20906
 - [3] VRL: Validatie van de HPLC-UV methode voor de bepaling van glutaaraldehyde in DaKTP vaccins. NVI RAP-20907
 - [4] Compendium methods for the determination of toxic organic compounds in ambient air, Method TO-11A, *Determination of formaldehyde in ambient air using adsorbent cartridge followed by HPLC*, EPA, second edition, Cinccianti, Ohio, USA, january 1999.
 - [5] P.R. Kootstra and H.A. Herbold, *Automated solid-phase extraction and coupled-column reversed-phase liquid chromatography for the trace-level determination of low-molecular-mass carbonyl compounds in air*, J. Chromatogr. A 697 (1995) 203-211.
 - [6] LVM-AL-D0006: Taakomschrijvingen.
- Bijlage 1: Formulier LVM-AC-F434A rev 0

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 11 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15



Tijd (min)	Aldehyde	Piekhogte	Concentratie (µg/ml)
3.84	Formaldehyde	49323	0.5479
5.68	Acetaldehyde	33785	0.5028
7.16	Acroleine	24706	0.3126
7.36	Aceton	21028	0.3102
7.62	Propionaldehyde	18623	0.3109
8.98	Butyraldehyde	17427	0.3638
9.63	Benzaldehyde	22505	0.4720

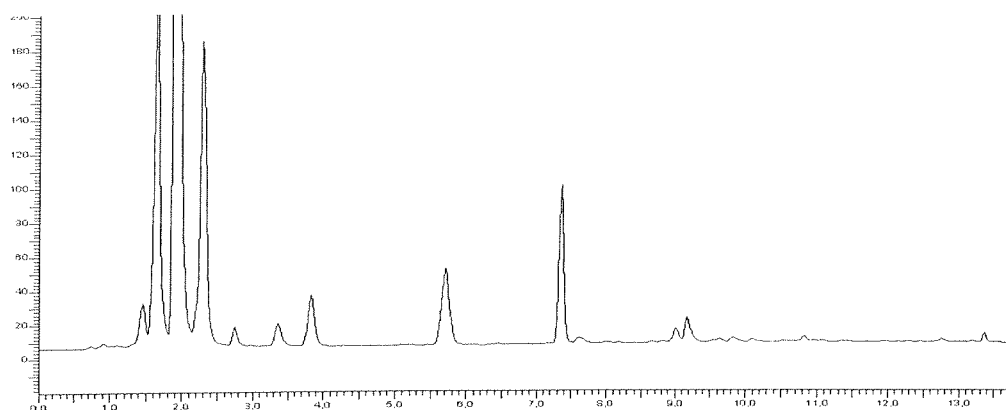
Fig.1: HPLC-UV chromatogram van een verdunde Carb Carbonyl-DNPH mix.

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 12 van 15

Revisie: 02

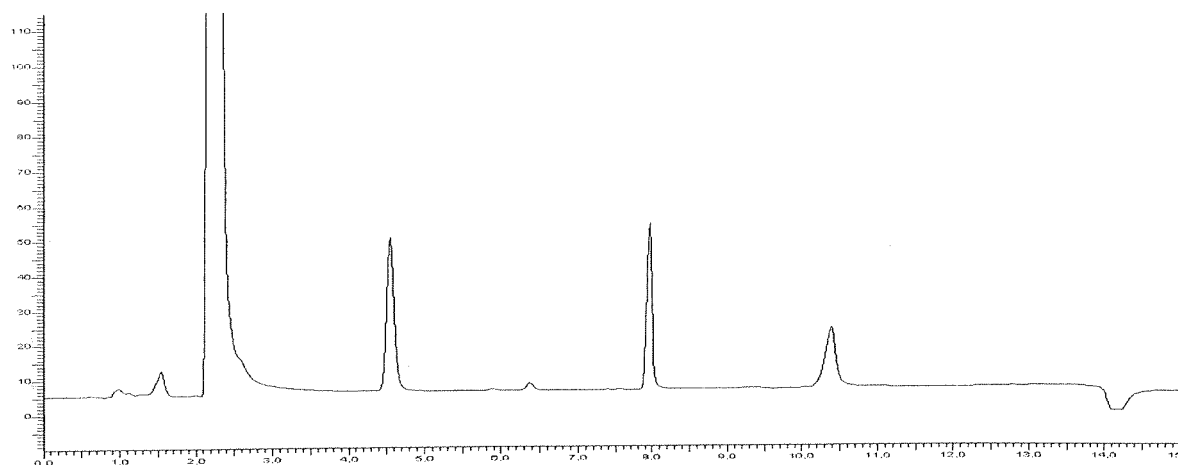
Ingangsdatum: 2005-05-15



Tijd (min)	Aldehyde	Piekhoogte	Concentratie (µg per cartridge)	Concentratie (µg/m ³)
3.83	Formaldehyde	29481	1.26	5.49
5.71	Acetaldehyde	44791	2.45	11.4

Fig.2A: HPLC-UV chromatogram van een luchtmonster getrapt op een Sep-Pak XPOSure cartridge.

SOP-nr: LVM-AC-P434
Pagina 13 van 15
Revisie: 02
Ingangsdatum: 2005-05-15



Tijd (min)	Aldehyde	Piekhoogte	Concentratie (mmol/l)
4.55	Formaldehyde	44049	0.29
10.38	Glutaaraldehyde	17450	0.1

Fig.2B: HPLC-UV chromatogram van een monster acellulair kinkhoestvaccin met daaraan toegevoegd 0.1 mmol/l glutaaraldehyde.

SOP-nr: LVM-AC-P434

Pagina 14 van 15

Revisie: 02

Ingangsdatum: 2005-05-15

Bijlage 1: Formulier LVM-AC-F434A rev 0

(Elektronisch is de meest recente versie van dit formulier beschikbaar onder Q:\Kwaliteitssysteem\documenten\afdeling AC\Formulieren).

Controleformulier

Behorend bij de analyse van aldehyden in diverse matrices m.b.v. HPLC-UV

LVM projectnummer

SOP nummer

Persoonlijk logboek

MONSTER(S)

Productnaam NVI

Charge/partij

Omschrijving

ANALYSEMETHODE

<u>Standaarden</u>	<u>Concentratie aldehyde</u>	<u>Datum bereiding</u>
Stockoplossing Formaldehyde-DNPH		
Stockoplossing Glutaaraldehyde-DNPH		
<u>Overige middelen</u>		<u>Datum bereiding</u>
DNPH-reagens		

Checklist monstervoorbewerking

Mengmonster bereid ☐

Mengmonster gecentrifugeerd ☐

Verdunning mengmonster gemaakt ☐

HPLC-ANALYSE**Controle werkstandaard**

Aantal injecties	n =		
RSD retentietijd	Formaldehyde ☐ <2%	Glutaaraldehyde ☐ <2%	Opmerkingen
RSD piekhoogte	☐ <5%	☐ <5%	

SOP-nr: LVM-AC-P434
Pagina 15 van 15
Revisie: 02
Ingangsdatum: 2005-05-15

Controle rechtevenredigheid HPLC

	Formaldehyde	Glutaaraldehyde	Opmerkingen
Responsfactor	☐ <10%	☐ <10%	

Monster(s)

Controle retentietijden aldehyden t.o.v. de werkstandaard

	Formaldehyde	Glutaaraldehyde	Opmerkingen
Afwijking	☐ <2%	☐ <2%	

Blanco bepaling (Milli-Q water en DNPH-reagens 1:1)

	Formaldehyde	Glutaaraldehyde	Opmerkingen
Achtergrondsignaal	☐ ja ☐ nee	☐ ja ☐ nee	
Correctie uitgevoerd	☐ ja ☐ nee	☐ ja ☐ nee	

Voldoen alle criteria van de HPLC-analyse aan die gesteld in de SOP?

☐ ja ☐ nee

Opmerkingen:

.....

.....

Naam uitvoerder: Paraaf:

Lab/afdeling:

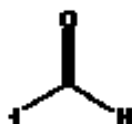
Datum:

Controle eindresultaat: ☐

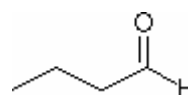
Naam controleur: Paraaf:

Bijlage 2: Aldehyden

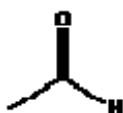
Formaldehyde
Casnr: 50-00-0
MW: 30,03



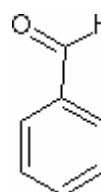
Butyraldehyde
Casnr: 123-72-8
MW: 72,10



Aceetaldehyde
Casnr: 75-07-0
MW: 44,05



Benzaldehyde
Casnr: 100-52-7
MW: 106,12



Acroleïne
Casnr: 107-02-8
MW: 56,06



Bijlage 3: Geoptimaliseerde GC-MS-condities

Aldehyde analyse met behulp van GCMS

Kolom: RTX-1, 30m * 0.25mm; df=0.25 um

Autosampler (AS800)

Sample volume: 1.0 uL

Air volume: 1.0 uL

Injection delay: 0 sec

Pull out delay: 0 sec

injection speed: 100 uL/sec

Pull-up speed: 3 uL/sec

Sample cleans: 3

Pull-ups pumps: 3

Pull-ups volume: 2.0 uL

Pull-ups delay: 3.0 sec

Pre-injection washes: 5

Pre-injection volume: 5.0 uL

Pre-injection solvent: B = acetonitril

Post-injection washes: 5

Post-injection volume: 5.0 uL

Post-injection solvent: B = acetonitril

GC (Trace 2000)

Programma : 82°C(2') ---15°C/min---> 300°C(1')

Injector temperatuur: 300 °C

Injector mode: CT splitless

Splitless time: 0.75 min.

Splitflow: 30 mL/min

Kolomflow: 1 mL/min (constant flow)

MS (Trace)

Ionisatie mode: EI

Brontemperatuur: 250 °C

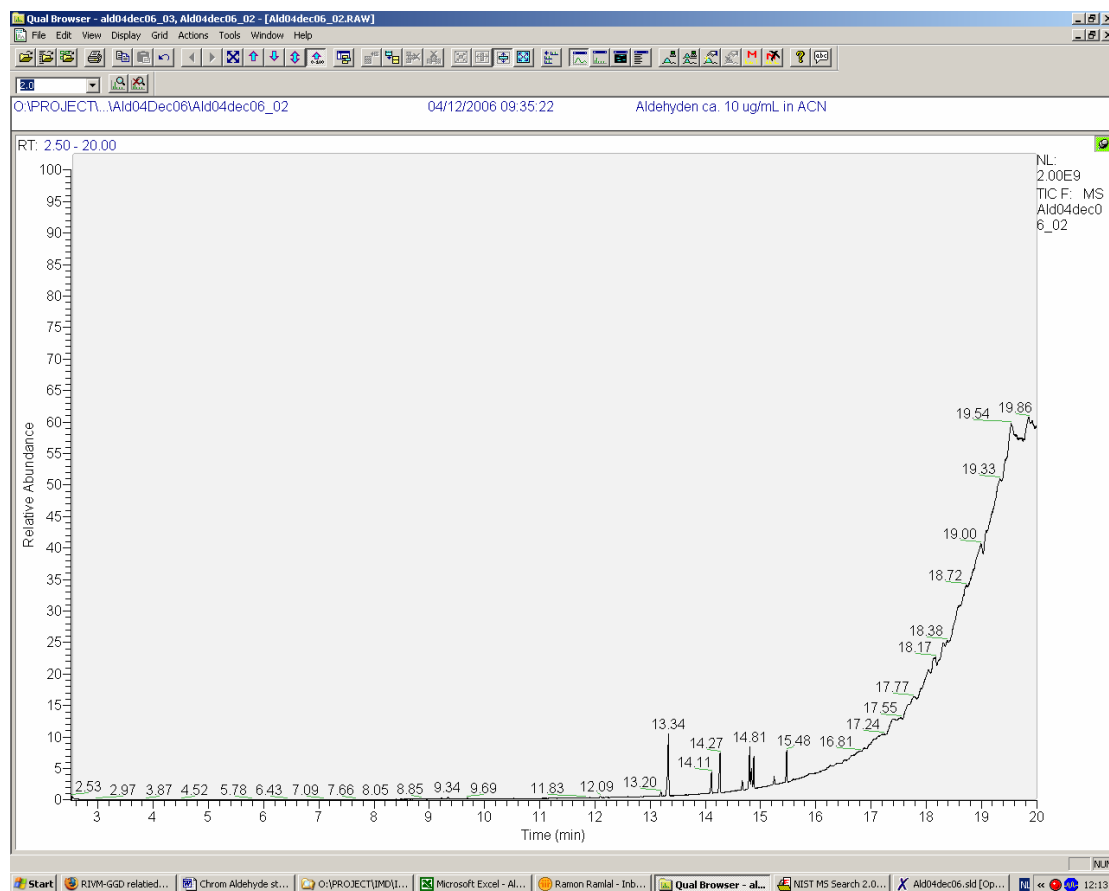
Interface temperatuur: 300 °C

Scanrange: 50 - 600 amu

Scantime: 0.2 sec

Multiplier : 300 V

Bijlage 4: GC-MS chromatogram



Standaardmix van aldehyde DNPH derivaten in acetonitril

DNPH-aldehyde-mix (Supelco 47649 -U)		
Component	RT	ug/mL
Formaldehyde-2,4-DNPH	13,34	16
Acetaldehyde1-2,4-DNPH	14,11	16
Acetaldehyde2-2,4-DNPH	14,27	16
Acetone-2,4-DNPH	14,81	17
Acrolein-2,4-DNPH	14,84	17
Propionaldehyde-2,4-DNPH	14,88	17
Butyraldehyde-2,4-DNPH	15,48	17

Bijlage 5: Interieur en exterieur mobiel laboratorium



foto 1: Interieur mobiel laboratorium ML2, GC-MS Trace 2000 Thermo Finnigan
Bron: RIVM



foto 2: Exterieur mobiel laboratorium ML2
Bron: RIVM

A solid yellow horizontal bar spanning the width of the page.

RIVM

Rijksinstituut
voor Volksgezondheid
en Milieu

Postbus 1
3720 BA Bilthoven
www.rivm.nl