

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEUHYGIENE
BILTHOVEN

Rapportnummer 692210001

Onderzoek naar de analyse en het voorkomen van
Ugilec 141 (dichloorbenzyldichloortoluenen) in
afvalolie.

Methodiekontwikkeling en onderzoek van
Nederlandse afvalolie.

juli 1994

E.G. van der Velde, S.H.M.A. Linders,
J.IJ. Wammes, H.D. Meiring, A.K.D. Liem

Aan dit onderzoek werkten verder mee:

R.S. den Hartog, G.R. van der Hoff,

E. van der Heeft

Dit onderzoek is verricht in opdracht en ten laste van de Hoofdinspecteur van de Volksgezondheid voor de Hygiëne van het Milieu in het kader van project Ondersteuning Handhaving (692210), zoals omschreven in de onderzoeksplannen 692210-92/01/00 en 692210-93/02/00.

VERZENDLIJST

- 1-10 Hoofdinspecteur van de Volksgezondheid voor de Hygiëne van het Milieu
- 11-12 Directie Voeding en Veiligheid van Produkten
 - 13 Plv. Directeur-Generaal Milieubeheer
- 14-15 Geneeskundige Hoofdinspectie van de Volksgezondheid⁶
- 16-17 Veterinaire Hoofdinspectie van de Volksgezondheid
 - 18 Hoofdinspecteur van de Inspectie Gezondheidsbescherming
 - 19 Directeur-Generaal Volksgezondheid
 - 20 Plv. Directeur-Generaal Volksgezondheid,
 - 21 Directie afvalstoffen
- 22-29 Regionale Inspecties van de Volksgezondheid voor de hygiëne van het milieu in de provincies Groningen, Friesland en Drenthe, Gelderland, Noord-Holland, Zuid-Holland, Zeeland en Noord-Brabant
 - 30 Depôt van Nederlandse Publicaties en Nederlandse Bibliografie
 - 31 Directie RIVM
 - 32 Ir. F. Langeweg
 - 33 Ir. A.H.M. Bresser
 - 34 Dr. F.J.J. Brinkmann
 - 35 Dr. H.A. van 't Klooster
 - 36 Drs. L.H.M. Kohsiek
 - 37 Dr. J.E.T. Moen
 - 38 Mw. Drs. J.A.M Lijdsman Schijvenaars
 - 39 Ir. J.J.G. Kliet
 - 40 Dr. A.P.J.M de Jong
 - 41 Dr. P. van Zoonen
- 42-49 Auteurs en medewerkers
 - 50 Documentatiecentrum ACT
- 51-52 Bibliotheek RIVM
 - 53 Bureau Projecten- en Rapportenregistratie
- 54-74 Reserve exemplaren

INHOUDSOPGAVE

VERZENDLIJST	ii	
INHOUDSOPGAVE	iii	
SUMMARY	vi	
SAMENVATTING	vii	
1	INLEIDING	1
2.	UGILEC 141	3
2.1	Ugilec 141 als PCB vervanger	3
2.2	Struktuur en naamgeving	3
2.3	Fysisch chemische eigenschappen	5
2.4	Toxicologische eigenschappen	5
2.5	Analysemethoden	6
2.5.1	Water	6
2.5.2	Sediment	6
2.5.3	Vis	6
2.6	Voorkomen	7
2.6.1	Oppervlaktewater en sediment	7
2.6.2	Vis	8
2.7	Conclusie	8
3	MATERIALEN EN METHODE	9
3 .1	Materialen	9
3 .1.1	Reagentia	9
3 .1.2	Referentie stoffen	9
3 .1.3	Glaswerk	9
3 .1.4	Apparatuur	10
3 .2	Methode beschrijving	10
3 .2.1	Principe van de methode	10
3 .2.2	Monstervoorbewerking	10
3 .2.3	Analyse	11
3 .2.4	Kwantificering en kwaliteitsborging	13
4	METHODE ONTWIKKELING	14
4 .1	Uitgangspunten	14
4 .2	HPLC kolomschakeling	15
4 .3	Kolomchromatografie	17

4 .3.1	Verschillende zuiveringsmethoden	17
4 .3.2	Combinatie van zuiveringsmethoden	19
4 .4	Interferentie van PCB's	22
4 .5	Referentiestoffen	23
4 .6	Analyse	24
4 .6.1	GC-ECD analyse	24
4 .6.2	GC-MS analyse	28
4 .7	Validatie	32
4.8	Conclusie	34
5	VOORKOMEN UGILEC 141 IN AFVALOLIE	35
5.1	Monstergegevens	35
5.2	Ugilec 141 in afvalolie in het kader van handhaving	36
5.3	Ugilec 141 in afvalolie in het kader van inspectie onderzoek	36
6	DISCUSSIE EN CONCLUSIES	41
6.1	Methode ontwikkeling	41
6.2	Voorkomen van Ugilec 141 in afvalolie in Nederland	42
	REFERENTIES	43
	BIJLAGEN	
1	Nummering van dichloorbenzyldichloortolueen isomeren volgens Ehmann en Ballschmiter [11].	45
2	Lijst met begrippen en afkortingen.	46
	FIGUREN	
1	Struktuur Ugilec 141 en PCB's	4
2	HPLC-chromatogram van 1) 0.5 µg Ugilec 141 standaard/ml hexaan en 2) 40 mg olie gespiked met 0.1 µg Ugilec 141 / ml hexaan.	16
3	Olie-residu na kolomschakeling van een injectie van 40 mg olie.	16
4	GC chromatogram van 1) 0.1 µg Ugilec 141 standaard / ml hexaan en 2) Ugilec-fractie van 6.0 - 7.5 min. van LC-scheiding.	16
5	GC-ECD chromatogram van standaardmengsels van 1) Ugilec 141 en 2) individuele PCB-congeneren.	26
6	Massaspektrum van Ugilec 141.	29
7	Ionchromatogram van Ugilec 141, interne standaard $^{13}\text{C}_6$ ESL 395 en injectie standaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141	30
8	Ugilec-extrakt van afvalolie gemeten met GC-ITD en GC-MS (quadrupool).	31

9	Procedure ijklijnen voor Ugilec 141 in afvalolie bepaald m.b.v. Regres V2.0.	32
10	Recovery bepaling van Ugilec 141 in olie: vergelijk van procedure en standaard ijklijn van Ugilec 141 over een concentratie gebied van 0.25 tot 8 mg/kg olie.	34
11	GC-ECD chromatogram van met Ugilec 141 verontreinigde afvalolie (...).	38
12	GC-MS chromatogram van met PCB's verontreinigde afvalolie (nr. 931477).	39

TABELLEN

1	Fysisch chemische eigenschappen van Ugilec 141 en PCB's	4
2	Toxicologische eigenschappen van Ugilec 141 en PCB's	5
3	Ugilec 141 in rode aal in de Nederlandse rivieren van 1984 tot 1991 [RIVO].	8
4	Overzicht van experimenten voor optimalisering van de zuiveringsmethode.	20
5	Olieresiduen in procenten na de verschillende zuiveringsstap(pen).	21
6	Invloed van de aanwezigheid van PCB's bij de analyse van Ugilec 141 in afvalolie.	22
7	Vergelijking van het elutiepatroon en de responses van Ugilec 141 met individuele PCB-congeneren met GC-ECD.	25
8	Gevoeligheid van individuele Ugilec en PCB congeneren bepaald mbv. GC-ECD analyse.	27
9	Retentietijden en responses van Ugilec 141 en individuele DBDT-isomeren m.b.v. GC-MS.	28
10	Werkgebied, nauwkeurigheid en bepalingsgrens van de diverse procedure ijklijnen berekend met Regres V2.0.	33
11	Terugvindbaarheid van toevoegingen van Ugilec 141 aan afvalolie.	33
12	Overzicht van bedrijven en typen oliebewerking t.b.v. monsterneming in het kader van handhaving.	35
13	Gegevens en analysesresultaten van Ugilec 141 in oliemonsters, genomen in 1990 en 1993 in het kader van handhaving.	37
14	Gegevens en analysesresultaten van Ugilec 141 in oliemonsters, genomen in juli 1993 in het kader van inspectie stoffen.	40

SUMMARY

In the seventies and eighties, the environmental and health risks of the application of polychlorinated biphenyls (PCBs) have been discerned, resulting in a restriction of the use of PCBs in most western countries. Several PCB substitutes, such as Ugilec 141 - a technical mixture of dichlorobenzylidichlorotoluenes (DBDTs) - with comparable physical and chemical properties, became commercially available for use in hydraulic systems. Ugilec 141 has been detected in sediments of rivers in mining areas in Germany and in fish in the boundary-crossing river Rur in The Netherlands. The production, import and use of Ugilec 141 is forbidden in The Netherlands. To control waste oil import and processing, it was requested to develop a method for the analysis of Ugilec 141 in waste mineral oils.

The method development was based on an extension and combination of known procedures for comparable components and matrices, e.g. the analysis of PCBs in oil. The column chromatography consists of a clean-up on activated carbon, followed by alumina, silicagel and again activated carbon to obtain purified extracts. Specific analysis was performed with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and not with electron capture detection, to prevent interferences by the simultaneous presence of Ugilec 141 and PCB-congeners in the oils, because of similar retention behaviour. Quantification was performed by comparison with the six most intensive peaks of an external Ugilec 141 standard. Results were corrected for the internal standard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 and controlled with the injection standard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141. The reproducibility of the method is 3 % with a limit of determination of 0.25 mg/kg of waste oil, and the recovery is about 65 %.

Besides a time consuming clean-up procedure, an accurate and adequate method is developed for the analysis of Ugilec 141 in waste oils. In practice, disturbances will be possible as a result of the variety in waste oils and possible contaminations.

In 1990 and 1993 oil samples were collected by several producers in the Netherlands, to control the occurrence of Ugilec 141 in Dutch waste oil. From 74 samples, only one sample was positive, containing 5.7 mg Ugilec 141/kg oil. On the other hand, during an inspection inquiry two samples with high concentrations were found of 45 and 116 g (!) Ugilec 141/kg of oil.

Concluding, there is no big import or processing of waste oils contaminated with Ugilec 141 in The Netherlands, but incidentally contaminations can occur.

SAMENVATTING

In de jaren zeventig en tachtig is het risico voor het milieu en de volksgezondheid van het gebruik van PCB's onderkend, wat heeft geresulteerd in een verbod op het gebruik van PCB's in de meeste westerse landen. Verschillende PCB vervangers met vergelijkbare fysisch-chemische, en daarmee helaas ook toxicologische, eigenschappen zijn vervolgens op de markt gebracht. Hiervan is met name Ugilec 141, een technisch mengsel van dichloorbenzyldichloortoluenen (DBDT's), toegepast in de mijnbouw. Ugilec 141 is aangetroffen in sedimenten van rivieren in gebieden met ondergrondse mijnbouw in Duitsland en in vis van grensoverschrijdende rivieren als de Roer. In Nederland is het volgens de Wet Milieugevaarlijke Stoffen verboden om Ugilec 141 te vervaardigen, in te voeren, ter beschikking te stellen of toe te passen, en daartoe is in het kader van handhaving een methode ontwikkeld om Ugilec 141 in afvalolie te kunnen bepalen om daarmee de import en verwerking van afvalolie te kunnen controleren.

De ontwikkelde kolomchromatografische methode is gebaseerd op een uitbreiding en combinatie van reeds bestaande toepassingen voor vergelijkbare componenten, danwel matrices. Dit resulteerde uiteindelijk in een zuiveringsmethode bestaande uit verschillende stappen over actieve kool, aluminiumoxyde en silicagel. Er wordt een specifieke analyse uitgevoerd met gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS) om interferentie met mogelijk tegelijkertijd voorkomende PCB's te vermijden. Kwantificering vindt plaats met behulp van een externe standaard van Ugilec 141 op de zes meest intensieve responses, waarbij wordt gecorrigeerd voor de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 en gecontroleerd m.b.v. een injectie standaard van $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141.

De nauwkeurigheid van de methode is 3 % over een concentratie gebied tot 8 mg Ugilec 141/kg olie, de bepalingsgrens is 0.25 mg Ugilec 141/kg olie en de recovery is ca. 65 %.

De ontwikkelde methode is - wat de monstervoorbewerking betreft - een bewerkelijke maar verder nauwkeurige en voldoende gevoelige methode voor de bepaling van Ugilec 141 in afvalolie met behulp van GC-MS. In de praktijk voldoet de methode redelijk, er zullen echter, als gevolg van de grote variëteit in afvaloliën en mogelijke verontreinigingen daarin, regelmatig verstoringen van het signaal blijven optreden.

Om een beeld te krijgen van de verspreiding en het voorkomen van Ugilec 141 in Nederlandse afvalolie, werden in 1990 en 1993 bij een aantal verwerkers oliemonsters genomen. In 74 monsters werd slechts in één geval een gehalte van 5.7 mg Ugilec 141/kg olie aangetroffen. Daarentegen werd in het kader van een inspectie onderzoek, éénmalig tweemaal monsters met een zeer hoge concentratie Ugilec 141 aangetroffen van resp. 45 en 116 g (!) /kg olie.

Hieruit mag geconcludeerd worden dat er geen grote stromen met Ugilec 141 verontreinigde afvalolie in Nederland ingevoerd en verwerkt worden, maar dat incidenteel een verontreinigde partij kan voorkomen.

1 INLEIDING

Door de wereldwijd onderkende potentiële milieu- en volksgezondheidsrisico's van polychloorbifenylen (PCB's) zijn grote inspanningen geleverd teneinde deze PCB's te vervangen door stoffen met vergelijkbare fysisch-chemische eigenschappen. Een groep van PCB-vervangers die in West-Duitsland op grote schaal in gesloten hydraulische vloeistofsystemen in de ondergrondse mijnbouw zijn toegepast betreft de dichloorbenzyldichloortoluenen (DBDT's), verkrijgbaar onder de namen Ugilec 141, Ugilec T, BP-Olex, HFDA en Hydrocor [1-3]. Ofschoon het hier gesloten toepassingen betreft is het risico aanwezig dat DBDT's in het milieu terecht kunnen komen door lekkages van hydraulische systemen en zodoende de voedselketen kunnen verontreinigen via percolatiewater, mijn-outputs en ventilatie-systemen [1-2].

In sedimenten van rivieren in twee mijnbouwgebieden in Duitsland worden hoge Ugilec 141 concentraties aangetroffen van maximaal 2500 µg/kg ds tot < 10 µg/kg ds stroomafwaarts [4-6]. Ook in Nederland wordt in sediment van de Roer Ugilec 141 aangetoond (328 µg/kg ds in 1989) [7]. Fürst *et al.* [1-2] en Rönnefahrt [3] hebben reeds in diverse vissoorten, bemonsterd op diverse lokaties in het Duitse rivierengebied, gehalten van Ugilec 141 aangetoond van 25 en 14.5 mg/kg vis. In Nederland wordt Ugilec 141 in rode aal met name gevonden in de Roer, waarbij de gehalten een afnemende trend vertonen (530 µg/kg produkt in 1991) [8].

Daarnaast is in Duitsland ook reeds Ugilec 141 aangetroffen in afgewerkte olie en in huisafval [9], een afvoerroute en contaminatie die eerder ook bij PCB's werd geconstateerd. Gezien de mogelijke vorming van dioxinen en vooral furanen, welke ook voor Ugilec 141 is aangetoond bij pyrolyse experimenten [6], kan dit bij (vuil)verbranding contaminatie opleveren.

In Nederland is het verboden om dichloorbenzyldichloortoluenen te vervaardigen, in te voeren, ter beschikking te stellen of toe te passen volgens de Wet Milieugevaarlijke Stoffen (WMS) [10]. In het verleden is het afvalolie circuit een belangrijke route gebleken bij het zich illegaal ontdoen van PCB's. In het kader van handhaving werd het daarom wenselijk geacht een analysemethode voor Ugilec 141 in het algemeen - en voor Ugilec 141 in afvalolie in het bijzonder - te ontwikkelen. Naar analogie met het PCB-besluit werd een bepalingsgrens van 0.5 mg/kg olie gevraagd. Met de ontwikkelde methode diende een aantal monsters afvalolie van een representatieve groep verwerkers geanalyseerd worden op Ugilec 141 om hiermee een beeld te verkrijgen van het voorkomen van Ugilec 141 in afvalolie in Nederland.

De bepalingsmethode voor de analyse van dichloorbenzyldichloortoluenen in afvalolie zal, in verband met de overeenkomstige eigenschappen met de PCB's, gebaseerd zijn op beschikbare PCB-methoden. Echter, door de mogelijkheid van gelijktijdige aanwezigheid van PCB's wordt een uiteindelijke bepaling met gaschromatografie met electroneninvang detectie (GC-ECD), een geëigende methode voor PCB's, uitermate bemoeilijkt. De toepassing van GC-ECD wordt door overlappende elutiepatronen van PCB's en DBDT's onmogelijk gemaakt. Massaspectrometrische detectie (MS) lijkt door het verschil in specifieke massa van PCB's en DBDT's de te prefereren techniek. Daarnaast zal een zwaar accent liggen op de

monstervoorbewerking om de beoogde bepalingsgrens van 0.5 mg Ugilec 141/kg olie te kunnen bewerkstelligen.

In dit rapport wordt de methode ontwikkeling voor de bepaling van Ugilec 141 in afvalolie en het onderzoek naar het voorkomen van Ugilec 141 in Nederlandse afvalolie beschreven. In hoofdstuk 2 wordt een overzicht gegeven van het toepassingsgebied, de regelgeving, de naamgeving, de eigenschappen, en de analyse en het voorkomen van Ugilec 141 in verschillende milieucompartimenten. In hoofdstuk 3 wordt de uiteindelijk vastgestelde methode voor de bepaling van Ugilec 141 in afvalolie beschreven. Hoofdstuk 4 is een vastlegging van het ontwikkelingstrajekt van de verschillende onderdelen van de bepalingsmethode. Tenslotte worden in hoofdstuk 5 de resultaten van het onderzoek naar het voorkomen van Ugilec 141 in Nederlandse afvalolie over de periode 1990 tot 1993 weergegeven.

2 UGILEC 141

2.1 Ugilec 141 als PCB vervanger

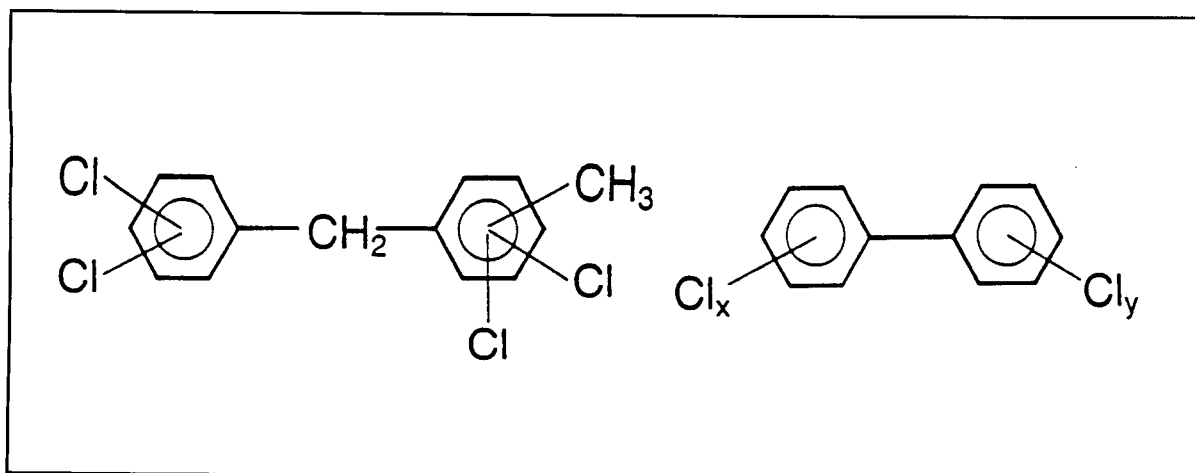
Polychloorbifenylen (PCB's) werden, gezien hun fysisch chemische eigenschappen als chemische stabiliteit, het goede warmtegeleidingsvermogen en diëlektrische eigenschappen, vanaf de 30-er jaren op grote schaal toegepast in onder andere condensatoren en transformatoren. Sinds 1972 is het gebruik van PCB's als diëlektrische vloeistof, vanwege hun persistentie, bio-akkumulatie en toxiciteit, in 'open' systemen in diverse Westerse landen verboden. In 1985-86 werd een EG-besluit van kracht met een verbod op het gebruik van nieuwe PCB-houdende transformatoren. Sinds het begin van de 80-er jaren zijn een aantal PCB vervangers op de markt, waaronder de dichloorbenzyldichloortoluenen (DBDT's), dibroombenzytoluenen (DBBT's) en dibutyltinboraat (DBB).

Dichloorbenzyldichloortoluenen worden onder de volgende handelsnamen op de markt gebracht: Ugilec 141 (100% DBDT's), Ugilec T (60% Ugilec 141 en 40% trichloorbenzeen), BP-Olex SF D 0207, Hydrocor 25-A3 en HFDA 46. Ugilec 141 wordt met name in de Duitse mijnbouw gebruikt vanwege de hoge brandveiligheidseisen aan ondergrondse mijnbouwinstallaties (700 ton per jaar). Net als bij PCB's treden bij Ugilec 141 lekkages op vanwege reactie met de flexibele afdichting van hydraulische systemen [9]. Ugilec 121 is een technische mengsel van monochloorbenzylmonochloortoluenen.

In Nederland is het verboden om Ugilec 121 en 141 alsook DBBT's te vervaardigen, al dan niet verwerkt in een preparaat of produkt in te voeren, ter beschikking te stellen of toe te passen middels een spoedbesluit van de Wet Milieugevaarlijke Stoffen (WMS) (resp. dd. 27 mei en 13 juni 1988; in werking op 18 juni 1988). De spoedmaatregelen zijn vervolgens overgenomen door een Algemene Maatregel van Bestuur Ugilec- en DBBT-besluit WMS van 13 december 1989 en per 1 februari 1990 in werking getreden [10]. Aangezien Ugilec 141 in zijn totaliteit verboden is zijn in deze wet geen normen opgenomen, in tegenstelling tot de wetgeving op het gebied van PCB's waarbij een norm van 0.5 mg/kg per congeneer is bepaald voor de Wet milieugevaarlijke stoffen en 50 mg/kg per congeneer voor de Wet Chemische Afvalstoffen. De EG heeft in januari 1990 een raadsvoorstel m.b.t. Ugilec 141 gepubliceerd [7, 9]; dit heeft geresulteerd in een Richtlijn van de Raad van de Europese Gemeenschappen van 18 juni 1991 (91/339/EEG, PbEG L 186). De exacte uitvoering hiervan is niet bekend. Op dit moment wordt in Nederland gewerkt aan een herziening en nadere precisering van het Ugilec 141-besluit.

2.2 Struktuur en naamgeving

Dichloorbenzyldichloortoluenen - ook wel aangeduid als tetrachloorbenzytoluenen (TCBT's), monomethyltetrachloordifenylnmethaan of dichloor((dichloorfenyl)methyl)methylbenzeen - zijn opgebouwd uit twee fenylgroepen, met een extra methylgroep aan één van beide ringen, welke verbonden zijn door een methylgroep (zie fig. 1). Het verschil met PCB's wordt gevormd door



Figuur 1. Structuur Ugilec 141 en PCB's

de twee extra methylgroepen. DBDT's (CAS-nummer 76253-60-6) volgen de systematische nummering op basis van de IUPAC-nomenclatuur voor de nummering van diphenylmethaan-derivaten. Theoretisch gezien zijn er 96 individuele isomeren mogelijk (zie bijlage 1). In Ugilec 141 zijn hiervan 70 verschillende isomeren met behulp van GC-FID/ECD/MS geïdentificeerd. De meest voorkomende DBDT-isomeren in Ugilec 141 zijn DBDT 22 (2,2',4,4'-Cl₄-5-Me), DBDT 25 (2,2',4,5'-Cl₄-5-Me), DBDT 31 (2,2',4',5'-Cl₄-4-Me), DBDT 32 (2,2',4',5'-Cl₄-6-Me), DBDT 35 (2,2',5,5'-Cl₄-3-Me), DBDT 36 (2,2',5,5'-Cl₄-4-Me) [11]. Het chloorsubstitutie patroon van deze DBDT's is gelijk aan dat van de persistente PCB congenere. In dit rapport zal de isomeer nummering volgens Ehman en Ballschmiter worden aangehouden (bijlage 1).

Tabel 1. Fysisch chemische eigenschappen van Ugilec 141 en PCB's [5, 7].

Fysisch chemische eigenschappen	PCB's	Ugilec 141
formule	C ₁₂ H ₍₀₋₉₎ Cl ₍₁₋₁₀₎	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₄
moleculgewicht	290 (tetra-CB)	318
dichtheid (20 °C)	1.40 - 1.63 g/cm ³	1.40 g/cm ³
brandpunt	170 -200 °C	225 °C
ontstekingstemperatuur	700 °C	> 300 °C
dampspanning (0 °C)	ca. 10 Pa	< 10 Pa
wateroplosbaarheid (20 °C)	1.6 * 10 ⁻⁵ g/l	1.7 * 10 ⁻⁴ g/l
Log P _{ow}	> 6	7 - 8

2.3 Fysisch chemische eigenschappen

Uit de molecuulstructuren van DDT's en PCB's blijkt reeds een duidelijke overeenkomst tussen beide verbindingen. Ook de fysisch chemische eigenschappen komen redelijk tot goed overeen (tabel 1); de technische eigenschappen blijken als gevolg daarvan ook goed overeen te komen met die van PCB's.

2.4 Toxicologische eigenschappen

De toxicologische eigenschappen van Ugilec 141 in vergelijking met PCB's zijn opgenomen in tabel 2. De aquatische toxiciteit voor Ugilec 141 is vergelijkbaar met die van PCB's. De bioconcentratie factor van Ugilec 141 bij vis is ongeveer 1000-2300 [7] en voor PCB's is dit 7000; volgens Friege *et al.* [4] ligt deze tussen de 300 en 10.000. De acute toxiciteit voor Ugilec 141 is, evenals voor PCB's, laag. De chronische toxiciteit van PCB's en de accumulatie in de voedselketen levert negatieve effecten op. Gezien de concentraties in het milieu en de bioconcentratie factoren voor Ugilec 141 is een vergelijkbare chronische toxiciteit denkbaar [7]. De bijdrage van structurele kenmerken hierbij - zoals de coplanariteit van PCB's, die bij DDT's ontbreekt - is nog onduidelijk.

Bij proefdieren en mensen veroorzaken PCB's een afname in de concentratie van de anti-lichamen immunoglobuline A en M en in het percentage T-lymfocyten en T-helper lymfocyten [5, 7]. Een onderzoek naar de toxicologische effecten van Ugilec 141 in Ah-responsieve en Ah-niet responsieve muizen toont aan dat Ugilec 141 vergelijkbare toxicologische veranderingen in levergewicht, cytochroom P450 niveau, EROD activiteit en andere parameters geeft als Aroclor 1254 [14].

Tabel 2. Toxicologische eigenschappen van Ugilec 141 in vergelijking met PCB's (meestal wordt hiertoe Clophen A30, wat dezelfde chloreringsgraad heeft, genomen) [7, 9].

Toxicologische eigenschappen	PCB's	Ugilec 141
NOEL (rat, 28 d)	< 10	0.5
IC-50, bacterie (mg/l)	?	> 1.67
LC 50, vis	?	>2.00
EC-50, alg zoet (mg/l)	< 1	5 - 25
EC-50, daphnia (mg/l)	0.046	0.024
NEL-aquatisch (μ g/l)	0.046	0.024
Biodegradatie (28dg)	geen	geen
Biodegradatie (anaeroob)	geen	30% in 30-60 dg.

2.5 Analysemethoden

Ehmann en Ballschmiter [11] hebben onderzoek gedaan naar het voorkomen van verschillende DBDT-isomeren in Ugilec 141 met behulp van gaschromatografie met verschillende detektiesystemen (FID, ECD en MSD), waarbij kolommen met verschillende polariteit (DB-5, DB-1701, CP-Sil 88) getest werden. Hieruit bleek dat DB-5 en DB-1701 een betere resolutie van de verschillende DBDT-isomeren gaven, waarbij 70 isomeren aangetoond konden worden. Retentie eigenschappen werden afgeleid op basis van structuur retentie relaties; de retentie tijden namen toe met toenemend aantal chloor-atomen op meta- en para-posities.

De analyse van Ugilec 141 wordt bemoeilijkt door het feit dat in vrijwel alle monsters die op Ugilec 141 onderzocht worden ook PCB's aanwezig zullen zijn. Door overeenkomst in polariteit is scheiding tijdens de voorbereiding vrijwel niet mogelijk. Gezien de overeenkomst in vluchtigheid zal ook tijdens de GC-analyse overlap van componenten plaatsvinden, wat de analyse met GC-ECD moeilijk tot onmogelijk zal maken. Meestal wordt dan ook gekozen voor analyse met GC-MS bij m/z 318.0 ($M^{+\bullet}$) en/of 320.0 ($(M+2)^{+\bullet}$) en eventueel bij 213.0, 283.0 en 285.0 [1, 2, 3, 5, 6, 11, 12].

Hieronder worden de principes van de analysemethoden voor water, sediment en vis weergegeven; voor een gedetailleerd overzicht wordt verwezen naar Leonards en De Voogt [7].

2.5.1 *Water*

De analysemethoden voor water zijn in het algemeen afgeleid van de analysemethoden voor PCB's in water [4-6]. Hierbij wordt 1 l water geëxtraheerd met hexaan, de extracten worden geconcentreerd en al dan niet onderworpen aan ontzweveling met tetrabutylammoniumwaterstofsulfiet (TBA-reagens). Vervolgens wordt een clean-up toegepast over Florisil, waarna geanalyseerd wordt met gaschromatografie met ECD of MS-detektie. De identifikatie en kwantificering vindt in het algemeen plaats tegen een externe standaard van Ugilec 141, waarbij over 4 of 5 meest intensieve pieken gesommeerd wordt. Rönnefahrt [3] extraheert 2 l water met cyclohexaan met γ -HCH als interne standaard, waarna wordt gedroogd over natriumsulfaat en geconcentreerd. Vervolgens vindt eventueel clean-up plaats over silicagel, waarna geanalyseerd wordt met GC-ECD of GC-MS.

2.5.2 *Sediment*

Sediment monsters worden eerst gedroogd en vervolgens geëxtraheerd middels soxhlet-extractie met hexaan [4-6]. Het extract wordt verder behandeld volgens dezelfde procedure als eerder beschreven voor de watermonsters.

2.5.3 *Vis*

Fürst *et al.* [1-2] extraheren gevriesdroogde visfilets met petroleumether, gevolgd door een kolomchromatografie over Bio-Beads S-X3 met cyclohexaan/ethylacetaat (1/1) voor de vetverwijdering en adsorptie chromatografie over silica voor de scheiding van Ugilec 141 van OC's en polaire componenten. Analyse vindt plaats met GC-MS (DB-5 kolom; ion trap detector; m/z 318 en 320) met kwantificering tegen een externe standaard, waarbij een

bepalingsgrens van 0.02 mg/kg filets wordt gehaald.

Wester en Van der Valk[12] homogeniseren de visfilets in een waring blender, waarna het mengsel verwreven wordt met sulfaat en vervolgens geëxtraheerd met behulp van soxhlet-extractie met pentaan/dichloormethaan (1/1). Vetverwijdering vindt plaats over een aluminiumoxyde kolom en verdere clean-up met behulp van silica chromatografie. Analyse wordt uitgevoerd met behulp van GC-MS (CP Sil 8 CB; EI; m/z 213.0, 283.0, 285.0 en 320.0), waarbij de som van vier ionen wordt gebruikt voor kwantificering en wordt uitgegaan van eenzelfde respons voor alle isomeren. De bepalinggrens is 15 µg/kg filet.

Mogelijke problemen bij de analyse van Ugilec 141 in vis en andere organismen kunnen voortkomen uit de verschillende patronen van Ugilec 141 in vis ten opzichte van de standaard Ugilec 141 waartegen gekwantificeerd wordt [3, 12]. In de meeste gevallen wordt gekwantificeerd door middel van een sommatie van de 4 of 5 hoofdkomponenten in Ugilec 141, welke maatgevend zijn voor het totaal gehalte aan Ugilec 141. In vis kan door metabolisme het isomeren-patroon veranderen, waardoor deze methode van kwantificering niet juist is. Echter het ontbreken van individuele standaarden van alle DBDT-isomeren laat geen andere keus voor de kwantificering.

Verder kan een storing optreden door p,p'-DDE, die in hetzelfde gebied elueert en bij dezelfde massa's als Ugilec 141 gedetekteerd wordt [1, 2, 12].

2.6 Voorkomen

2.6.1 *Oppervlaktewater en sediment*

In Duitsland zijn vooral gehalten van Ugilec 141 bepaald rond twee mijnbouwgebieden, die gelegen zijn langs de rivier de Lippe (uitstromend in de Rijn) en de Rur (uitstromend in de Roer). In de Lippe zijn in 1987 concentraties aan Ugilec 141 gemeten van < 0.1 tot 1.2 µg/l, terwijl in de Rhein alles beneden de bepalinggrens van 0.01 µg/l gemeten wordt [4].

In het sediment van de Lippe worden vanaf het mijnbouwgebied concentraties gemeten van maximaal 3500 µg/kg ds tot < 10 µg/kg ds stroomafwaarts bij de uitstroom in de Rijn. PCB's vertonen weliswaar een afname in het stroomgebied, echter niet van deze omvang [4-6].

In mijnwater en kolenwaswater worden hoge concentraties Ugilec 141 aangetoond tot 65 µg/l, vergelijkbaar met totaal PCB-gehalten in dit water [6]. Ook in bariumslib en afvalmateriaal worden hoge concentraties aangetroffen.

In Nederland zijn in 1988 en 1989 de gehalten aan Ugilec 141 bepaald in water en sediment van de rivier de Roer. De waterconcentraties lagen steeds onder de bepalinggrens van 0.1 µg/l. De sedimentconcentraties vertonen een oplopende tendens in de tijd voor beide lokaties (Roer Vlodrop van 68 naar 291 µg/kg ds; Roer voor stuw ECI van 48 naar 328 µg/kg ds) terwijl de PCB-gehalten een gelijkblijvende tot dalende trend vertonen (Roer Vlodrop van 182 naar 91 µg/kg ds; Roer voor stuw ECI van 96 naar 119 µg/kg ds) [7].

2.6.2 Vis

In de bovenloop van de Lippe worden in diverse vissoorten geen gehalten boven de bepalingsgrens van 0.02 mg/kg filet aangetroffen, terwijl verderop in de Lippe gehalten variëren van 0.05 tot 8.5 mg/kg filet [2]. In de Rijn en de Maas worden lage gehalten van < 0.02 tot 0.1 mg/kg filet gevonden [2, 3, 12]. Ook in de bovenloop van de Rur zijn de gehalten onder de detektieline, terwijl in het verdere stroomgebied de concentraties in diverse vissoorten variëren van 0.4 tot 25 mg/kg filet.

In Nederland wordt Ugilec 141 in 1985 voor het eerst in rode aal aangetroffen in de Roer (tabel 3). De hoogste gehalten worden gevonden in 1986; deze piek valt samen met hoge gehalten aan licht gechlloreerde PCB's (met name PCB 52) in aal uit de Roer. De laatste jaren neemt het gehalte aan Ugilec 141 in de grote rivieren in Nederland af [8].

In de meeste gevallen worden bij hoge concentraties Ugilec 141 ook verhoogde gehalten PCB's bepaald, wat zou wijzen op een vergelijkbare bio-akkumulatie [5].

Tabel 3. Ugilec 141 in rode aal ($\mu\text{g}/\text{kg}$ op produktbasis) in de Nederlandse rivieren van 1984 tot 1991 [8].

lokatie	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991
Roer, Vludrop	<5	3100	9400	1100	4800	1300	1300	530
Maas, Eijsden	nb	nb	nb	nb	<15	150	<25	<5
Maas, Heusden/Keizersveer	nb	nb	nb	200	100	230	42	22
Rijn, Lobith	nb	nb	nb	100	100	150	34	11

nb: niet bepaald.

In de vis wordt een afwijkend isomeer-patroon gevonden in vergelijking met Ugilec 141, wat wijst op verschillende metabolisme van de diverse DBDT-isomeren [1-3, 12]. Verder blijkt - naar analogie van PCB's en PCCD/F's - dat het isomeer-patroon in diverse vissoorten (voorn, snoek en aal) verschillend is, terwijl dit onafhankelijk is van de herkomst van de vis [2].

2.7 Conclusie

Concluderend kan gesteld worden dat Ugilec 141 op kleinere schaal (in verband met het gebruik) een vergelijkbaar verspreidingspatroon kent als PCB's. Gezien deze concentraties in het milieu en de bioconcentratie factor van Ugilec 141 is een vergelijkbare chronische toxiciteit denkbaar. In een proefdierstudie is een vergelijkbaar effect vastgesteld voor Ugilec 141 als voor een technisch PCB mengsel. In deze zin, is Ugilec 141 dus geen goed alternatief voor PCB's en is door het Ugilec- en DBBT-besluit in 1988 het gebruik, de invoer en verwerking van Ugilec 141 verboden.

3 MATERIAAL EN METHODE

3.1 Materiaal

3.1.1 *Reagentia*

- Water, bidest kwaliteit.
- Aceton p.a, Merck, Darmstadt, BRD, art. no. 14.
- Toluene p.a.
- n-Hexaan p.a, Merck, Darmstadt, BRD, art. no. 4367.
- Dichloormethaan p.a, Merck, Darmstadt, BRD, art. no. 6050.
- Actieve kool, carbosphere 80/100 mesh, Chrompack; specifiek oppervlak 1000 m²/g. De kool wordt gezuiverd door te refluxen met toluene gedurende 720 uur.
- Aluminiumoxyde W200 basisch, activiteit B-Super I, ICN. De aluminiumoxyde wordt gedurende 4 uur tenminste bij 200°C geactiveerd.
- Silicagel 60 reinst, 70-230 mesh, Merck. Artikelnummer 7745. De silicagel wordt geactiveerd door gedurende tenminste 4 uur bij 200°C te verwarmen en gedeactiveerd met water (5.6 g water op 94.4 g silicagel).
- Natriumsulfaat p.a. watervrij, Natriumsulfaat wordt tenminste 3 uur bij 500°C gedroogd.
- Kwartswol, met hexaan gewassen.
- Helium, zeer zuiver.

Alleen reagentia van analytische zuiverheid worden gebruikt. Deze stoffen dienen vrij te zijn van storende componenten. Hierop wordt vooraf gecontroleerd.

3.1.2 *Referentiestoffen*

- Standaard Ugilec 141 (dichloorbenzyl-dichloortoluenen), Promochem.
- Standaard ¹³C₆ DBDT 80 (2',3,4,6'-tetrachloor-6-methyl-difenylnmethaan (ESL 395)), Promochem.
- Standaard ¹³C₁₂ PCB 141 (2,2',3,4,5,5' hexachloorbifenyln), CIL.

3.1.3 *Glaswerk*

- Koolkolom met opzetstuk, gevuld met 0.6 g gezuiverde actieve kool tussen twee propjes kwartswol.
- Aluminiumoxyde chromatografiekolom, gevuld met een propje kwartswol, 5 ± 0.1 g actieve aluminiumoxyde en een klein schepje natriumsulfaat
- Silicagel chromatografiekolom, gevuld met een propje kwartswol, 1 g gedeactiveerde silicagel en een klein schepje natriumsulfaat.

Al het te gebruiken glaswerk moet volgens de normale reinigingsprocedure met behulp van een wasmachine worden behandeld, gevolgd door spoelen met aceton en daarna toluene.

3.1.4 Apparatuur

- Roterende filmverdamper (druk 120 mbar) met waterbad (waterbadtemperatuur 60°C).
- Mengapparaat/flessenrolapparaat, Van Doorn, de Bilt.
- Vortexmixer, Wilten & CO B.V, Etten-Leur.
- Analytische balans, nauwkeurig op 0.1 mg.
- Bovenweger, nauwkeurig op 10 mg.
- Isomantel, voor kolfjes van 50 ml en een vermogen van 65 W.
- Gaschromatograaf (Varian 3400, met split/splitless injector) met een massaspectrometer (INCOS 50B, Finnigan MAT, Veenendaal) als detector (quadrupool).

3.2 Methode beschrijving

3.2.1 *Principe van de methode*

Met de ontwikkelde methode kan Ugilec 141 (dichloorbenzyldichloortoluenen, DBDT's) kwantitatief worden bepaald met behulp van GC-MS in zowel onbewerkte als bewerkte afvalolie. De bepalingsgrens van de methode is 0.5 mg/kg.

Het oliemonster wordt visueel bekeken op de aanwezigheid van vaste deeltjes en water, welke eventueel eerst worden verwijderd, waarna de olie wordt gefiltreerd en gedroogd. Vervolgens wordt een oplossing in hexaan gemaakt.

Door scheiding en zuivering over actieve kool, aluminiumoxyde, silicagel en weer actieve kool wordt een extract verkregen waarin Ugilec 141 kan worden bepaald. De kwantificering is gebaseerd op het patroon van Ugilec 141 en op de isotoopverhouding van het moleculair ion M^{+o} en $(M+2)^{+o}$. De concentratie van Ugilec 141 wordt bepaald door de som van de piekhoogten van de 6 meest intensieve pieken in het monster te vergelijken met de som van de piekhoogten van dezelfde 6 pieken bij de procedure ijklijn. Correctie voor recovery en injectievolume vindt plaats middels de toegevoegde $^{13}C_6$ DBDT 80 standaard.

3.2.2 *Monstervoorbewerking*

Monstervoorbehandeling

De monsters worden, voordat ze in bewerking worden genomen, gehomogeniseerd door middel van schudden (handmatig en/of met behulp van een ultrasoontrilbad). Indien de aanwezigheid van water in het monster zichtbaar is, wordt dit water afgescheiden met behulp van een scheidtrechter. Daarna wordt de rest van het monster door schudden gehomogeniseerd, waarna een gedeelte van het monster (± 25 g) over watervrij natriumsulfaat wordt gefiltreerd. Hiervan wordt een oplossing in n-hexaan gemaakt (± 2 gram olie, op 10 mg nauwkeurig, en 1.0 ml van de interne standaard $^{13}C_6$ DBDT 80 oplossing (3.9 μ g/ml) in 20 ml n-hexaan). Hiervan wordt 1.0 ml in bewerking genomen.

Zuivering over actieve kool

De koolkolom wordt gespoeld met respectievelijk 5 ml toluen en 50 ml n-hexaan, waarna 1.0 ml monsterextract wordt opgebracht en nagespoeld met twee maal 1 ml n-hexaan. De kolom wordt gespoeld met 50 ml hexaan, welk eluaat verworpen wordt. Vervolgens wordt de kolom geëlueerd met 25 ml toluen. Het eluaat wordt opgevangen in een rondbodemkolf van 50 ml en

geconcentreerd met behulp van een roterende filmverdamer (waterbadtemperatuur 60°C) onder vacuüm (120 mbar) tot bijna droog. Het extract wordt ingedampt tot droog onder een zachte stikstofstroom onder verwarmen (60°C) op een isomantel, waarna het residu wordt opgelost in 1 ml n-hexaan.

Zuivering over aluminiumoxyde

Vooraf wordt elke nieuwe batch aluminiumoxyde opnieuw afgesteld met behulp van een Ugilec 141 standaard. Het extract wordt op de aluminiumoxyde kolom gebracht en twee maal nagespoeld met 1 ml n-hexaan. De kolom wordt geëluëerd met 18 ml n-hexaan en 5 ml 5% dichloormethaan in hexaan, welke fracties verworpen worden. Vervolgens wordt geëluëerd met 15 ml 5% dichloormethaan in hexaan; het eluaat wordt opgevangen en geconcentreerd onder verwarmen (60°C) en een zachte stikstofstroom op een indampblok tot droog. Het residu wordt opgelost in 1 ml n-hexaan.

Zuivering over silicagel

Vooraf wordt elke nieuwe batch silicagel opnieuw afgesteld met behulp van een Ugilec 141 standaard. Het extract wordt op de silicagelkolom gebracht en nagespoeld met twee maal 0.5 ml hexaan. De kolom wordt geëluëerd met n-hexaan, waarvan de eerste 5 ml n-hexaan opgevangen worden. De opgevangen fractie wordt geconcentreerd door onder verwarmen, op een indampblok (60°C), zachtjes stikstof over te leiden tot 1 ml.

Zuivering over actieve kool

De zuivering over actieve kool wordt herhaald zoals boven beschreven. Na indampen met behulp van de roterende filmverdamer wordt het extract met hexaan overgebracht in een puntbuis; het extract wordt onder verwarmen, op een indampblok (60°C) en een zachte stikstofstroom, ingedampt tot droog. Het residu wordt opgenomen in 50 µl toluen met injectiestandaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 (0.4 µg/ml) en gemengd met behulp van een vortexmixer. Het extract is nu gereed voor analyse.

3.2.3 Analyse

Gaschromatografie

De chromatografische scheiding van Ugilec 141 wordt uitgevoerd met behulp van een gaschromatograaf met een split/splitless injector en een capillaire kolom. Het uiteinde van de kolom is direct verbonden met de bron van de massaspectrometer (quadrupole). In figuur 2 is een chromatogram van een Ugilec 141 standaard met interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 en injectiestandaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 weergegeven.

Gaschromatografische condities.

Analytische kolom

stationaire fase	: Ultra 1 of vergelijkbaar type (cross-linked methylsilicone)
lengte	: 50 m
inw. diameter	: 0.32 mm
filmdikte	: 0.5 μ m

Temperatuurprogramma

begintemperatuur	: 80 °C gedurende 1 min.
programmering 1	: 50 °C/min tot 140 °C
programmering 2	: 6 °C/min tot 280 °C
eindtemperatuur	: 280 °C gedurende 10 min

Injectie

injectie	: splitless
kolomvoordruk	: 20 psi
splitless time	: 0.7 min
injectietemperatuur	: 250 °C
injectievolume	: 1 of 2 μ l
draaggas	: helium

Massaspectrometrie

De ionisatie van het analyt vindt plaats door middel van electron impact (EI) met 70 eV electronen. De brontemperatuur bedraagt 180 °C. De componenten worden gedetecteerd door selectie van de twee meest intensieve ionen van het moleculair ion cluster van Ugilec 141 (m/z 318 en 320) en de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 (m/z 324 en 326). Voor de injectiestandaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 wordt gemeten op het meest intensieve moleculaire ion (m/z 372).

Massaspectrometrische condities

ionisatietechniek	: electron impact (EI)
tuning	: FC-43
ionenbrontemperatuur	: 180 °C
separator temperatuur	: 275 °C
transferlinetemperatuur	: 250 °C
electronenenergie	: 70 eV
multiplier	: ca. 1200 V
sensitivity	: 10^{-8} A/V
scanmode	: selected ion monitoring (SIM)
massa's	: 318.0 en 320.0 voor Ugilec 141 324.0 en 326.0 voor $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 372.0 voor $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141

De apparatuur wordt optimaal ingesteld door middel van tuning met het calibratiegas FC-43. Hierbij wordt vooral gelet op de optimale tuning bij m/z 219 en 414.

De conditie van de apparatuur wordt getest aan de hand van het bepalen van de signaal/ruisverhouding (S/N-ratio) van methylstearaat. De S/N-ratio dient tenminste 5 te bedragen.

3.2.4 Kwantificering en kwaliteitsborging

Kwantificeringscriteria

Bij de kwantificering worden de volgende criteria gehanteerd:

- De aanwezigheid van het patroon van Ugilec 141. Kwantificering vindt plaats op de 6 meest intensieve pieken in het chromatogram (zie figuur 2).
- De isotoopverhouding van de twee meest intensieve ionen van het moleculair ion. Deze wordt berekend door de piekhoogte van m/z 318 te delen door de piekhoogte van m/z 320. Voor Ugilec 141 dient de isotoopverhouding 0.77 ± 0.15 te bedragen. Dit geldt ook voor de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80.

Procedure ijklijn

Berekening van de gehalten vindt plaats door gebruik te maken van een procedure ijklijn. Deze wordt gemaakt door aan een blanco afvalolie verschillende concentraties Ugilec 141, afhankelijk van de te verwachten concentraties in de monsters, en 1.0 ml interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 toe te voegen. Deze monsters worden op dezelfde wijze behandeld als de oliemonsters.

De gehalten van de monsters worden berekend door de som van de piekhoogten van de 6 meest intensieve pieken van de verschillende punten van de procedure ijklijn te vergelijken met de som van de piekhoogten van deze 6 meest intensieve pieken van de monsters. Voor verliezen tijdens de opwerking en het verschil in injectievolume, wordt gecorrigeerd op basis van de toegevoegde $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80.

Kwaliteitsborging

- De apparatuur wordt getest aan de hand van de S/N-ratio met behulp methylstearaat.
- De chromatografie wordt getest met behulp van een Ugilec 141 standaard.
- Alle oplosmiddelen en de actieve kool worden getest op eventuele storingsen.
- $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 wordt toegevoegd als interne standaard om te corrigeren voor eventuele verliezen bij de opwerking.
- De injectiestandaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 wordt gebruikt om de conditie van de chromatografische apparatuur te bekijken gedurende het meten van een serie monsters. Bij vervuiling van de bron kan de respons van de componenten en dus ook $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 teruglopen.

Deze methode is vastgelegd in SOP LOC/219.

4 METHODE ONTWIKKELING

4.1 Uitgangspunten

Doelstelling van de ontwikkeling van deze analysemethode is de specifieke bepaling van dichloorbenzyldichloortoluenen in afvalolie tot op een niveau van 0.5 mg Ugilec 141/kg olie in het kader van de handhaving van de Wet Milieugevaarlijke Stoffen.

Uitgangspunten bij de methode ontwikkeling zijn de volgende punten geweest:

- *Monstervoorbewerking*
Na inventarisatie van de bestaande analysemethoden voor Ugilec 141 in het algemeen, bleek dat een beperkt aantal methoden voor Ugilec 141 in water, sediment en vis gepubliceerd waren. Deze methoden zijn, vooral ten aanzien van de zuivering, gebaseerd op de analyse van PCB's; als analysemethode wordt gaschromatografie met elektroneninvang-detectie gebruikt [1-3].
Daarnaast beschikte het laboratorium over eigen expertise op het gebied van de analyse van PCB's in afvalolie en opwerkingsmethoden voor dioxinen in vethoudende matrices.
- *Interferentieprobleem*
Bij de gaschromatografische analyse met elektroneninvang-detectie kan door het overeenkomstige retentiegedrag, de gelijktijdige aanwezigheid van PCB's (en DDE) tot vals-positieve signalen leiden. GC-ECD levert als zodanig niet de vereiste specificiteit voor de bepaling van DBDT's. Een tweede factor waarmee rekening gehouden dient te worden is het type matrix. De oliematrix kan, evenals bij de analyse van PCB's met behulp van GC-ECD, voor een hoog achtergrondsignaal zorgen waardoor een lage bepalingsgrens niet bereikt zou kunnen worden.
Dit probleem kan worden ondervangen door gebruik te maken van een meer specifieke detektiemethode: gaschromatografie gecombineerd met massaselectieve detectie. Door de mogelijke verstoring van PCB's kan overigens betwijfeld worden of een GC-ECD methode toepasbaar is voor andere matrices.
- *Beschikbaarheid referentiestoffen*
Aangezien individuele referentiestoffen voor de DBDT's beperkt voorhanden zijn, kan de kwantificering van DBDT's voorlopig alleen plaatsvinden met een externe standaardoplossing van het corresponderende handelsproduct Ugilec 141.
- *Interne standaarden*
Onderzoek naar een geschikte, bij voorkeur ¹³C-gelabelde interne standaard, voor de GC-MS bepaling van DBDT's in afvalolie.
- *GC-MS condities*
Vaststellen van de juiste GC-MS condities, waarbij de minste verstoring optreedt. Fürst *et al.* [1] adviseren detectie van m/z 318.0 en 320.0, terwijl volgens Rönnefahrt [3] de GC/MS/SIM-methode met monitoring van m/z 283.0, 285.0 en 322.0 te prefereren is boven de methode waarbij monitoring van moleculaire ionen met m/z 318 en 320 plaatsvindt. Bij m/z 213.0 zou met name geen interferentie met p,p'-DDE optreden [12].
- *Kwantificering*
Onbekend was welke van de DBDT-isomeren in een gegeven matrix karakteristiek zijn en

als zodanig voor kwantificering van het totale Ugilec 141-gehalte kunnen worden gebruikt. Net als is gedaan bij de indicator-PCB-bepaling geldt dat hierbij een afgewogen keuze van afzonderlijk te bepalen componenten gemaakt dient te worden op basis van analytisch-chemische criteria als storingsgevoeligheid en de meest persistente componenten.

De methode ontwikkeling van een analysemethode voor Ugilec 141 is in eerste instantie via twee parallelle routes opgezet:

1. Clean-up met behulp van kolomchromatografie over actieve kool, aluminiumoxyde en silicagel, gevolgd door GC-MS (EI/SIM) (zie 3.3 - 3.7).
2. Clean-up met NP-HPLC in combinatie met column-switching en fraktie collectie, gevolgd door analyse met GC-ECD (zie 3.2).

4.2 HPLC kolomschakeling

Het onderzoek naar deze off-line LC-GC methode is gebaseerd op eerder onderzoek waarbij de organische contaminanten (van in dit geval PCB's in moedermelk) door middel van normal phase LC met kolomschakeling gescheiden worden van de vetfractie. Voordeel van een dergelijke methode boven een methode met kolomchromatografie zou zijn dat deze methode eenvoudiger te automatiseren is en dat bij een on-line koppeling een kleinere hoeveelheid olie (matrix) in behandeling genomen kan worden; in principe zou dit een tijdsbesparing en een methode met een vergelijkbare gevoeligheid op moeten kunnen leveren.

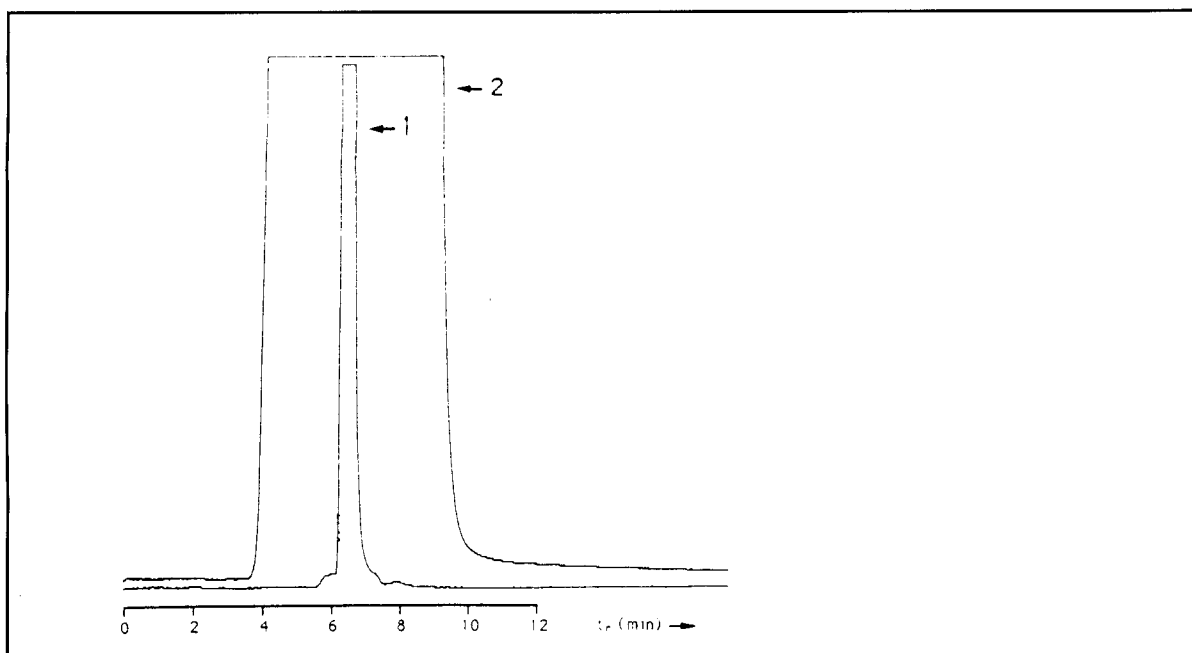
Bij de ontwikkeling van deze methode voor Ugilec 141 in afvalolie wordt getest of het mogelijk is om off-line met behulp van normal phase chromatografie met kolomschakeling de Ugilec componenten van de olie-matrix te scheiden. De off-line GC-analyse wordt uitgevoerd met ECD detectie.

Resultaten

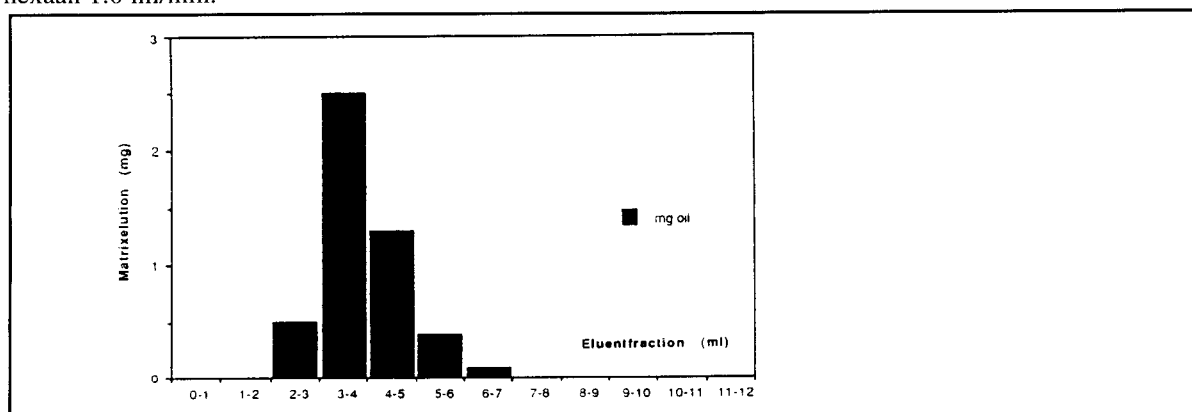
In een eerste experiment, waarbij 1 ml (0.5 µg Ugilec 141/ml en 40 mg olie/ml hexaan) geïnjecteerd wordt op een normal phase LC kolom (100*4.6 mm ID; Si60, 5 µm) zonder kolomschakeling, blijkt in de "Ugilec"-fractie teveel olie-residu aanwezig voor de GC-ECD analyse.

Vervolgens is 200 µl (0.1 µg Ugilec/ml en 200 mg olie/ml hexaan) geïnjecteerd op een voorkolom (100*4.6 mm ID gepakt met 5 µm Lichrosorb Si-60), waarna 2 ml overgebracht wordt naar de analytische kolom (150*4.6 mm, Lichrosorb Si-60, 5 µm). In figuur 2 is een HPLC-chromatogram van een Ugilec-standaard en een oliemengsel weergegeven; in figuur 3 is de verdeling van het olie-residu over de verschillende frakties aangegeven. Ugilec 141 bevindt zich in de fractie van 6.0 - 7.5 minuten, terwijl het grootste deel van de olie van 2 tot 6 minuten elueert. Echter in de Ugilec-fractie bevindt zich teveel olie om een goede GC-analyse te kunnen uitvoeren (figuur 4). Ook met behulp van een voorzuivering over een SO₃H-SPE-kolommetje van Baker is niet voldoende olie-residu te verwijderen.

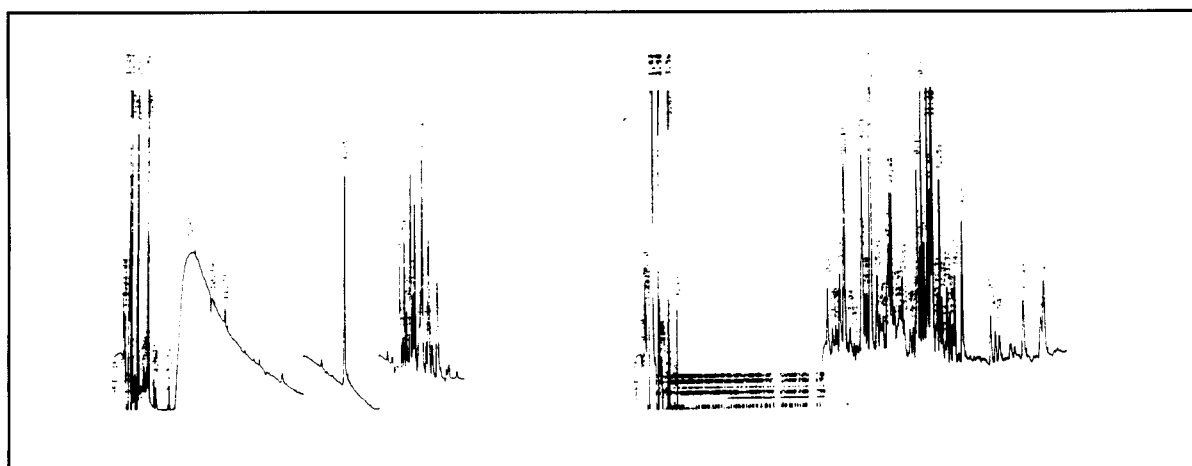
Gezien bovenstaande resultaten van de off-line LC-GC ontwikkeling en de betere resultaten van de clean-up met kolomchromatografie, is besloten deze weg niet verder voort te zetten.



Figuur 2. HPLC-chromatogram van 1) 0.5 μg Ugilec 141 standaard/ml hexaan en 2) 40 mg olie gespiked met 0.1 μg Ugilec 141 / ml hexaan. HPLC condities: voorkolom (100*4.6 mm ID, Lichrosorb Si-60, 5 μm); analytische kolom (150*4.6 mm, Lichrosorb Si-60, 5 μm); kolomschakeling 2 ml na 2 min.; mobiele fase hexaan 1.0 ml/min.



Figuur 3. Olie-residu na kolomschakeling van een injectie van 40 mg olie (zie figuur 2).



Figuur 4. GC chromatogram van 1) 0.1 μg Ugilec 141 standaard / ml hexaan en 2) Ugilec-fractie van 6.0 - 7.5 min. van LC-scheiding (zie figuur 2).

4.3 Kolomchromatografie

4.3.1 *Verschillende zuiveringsmethoden*

Voor de monstervoorbewerking voor de bepaling van diverse organische contaminanten in vethoudende matrices waren de volgende alternatieven beschikbaar:

- A. Methode volgens DIN: een zuivering over een benzeensulfonzuur- en silicagelkolom [16]. De methode wordt toegepast bij de analyse van PCB's in olie.
- B. Methode volgens IvM: een zuivering over een met loog beladen basische aluminiumoxydekolom en een met water gedesactiveerde silicagelkolom [17]. De methode wordt eveneens toegepast bij de analyse van PCB's in olie.
- C. De actieve koolmethode: een zuiveringsmethode over Carbosphere, gebaseerd op de retentie van vlakke moleculen. Deze methode wordt gebruikt bij de analyse van PCDD's en PCDF's in biologische matrices [18].

Verder waren eigen standaardmethoden beschikbaar, die bestaan uit een zuivering over al dan niet gedesactiveerde aluminiumoxyde en fractionering/zuivering over silica. Deze zuiveringsstappen worden onder meer toegepast bij de analyses van PCB's, OC's, PAK etc.

- D. zuivering over 2 gram 11% gedesactiveerde basische aluminiumoxyde.
- E. zuivering over actieve basische aluminiumoxyde.
- F. zuivering over twee typen silicagel volgens Roerden [15] . (0.8 gram silica 60, 70-230 mesh gedesactiveerd met 5.6 procent water en 0.2 gram silica 60, <230 mesh gedesactiveerd met 6.3 procent water).
- G. zuivering over 1 gram silicagel 60, 70-230 mesh gedesactiveerd met 5.6 procent water.
- H. zuivering over een met zwavelzuur (44%) beladen silicagelkolom.

Omdat van de matrix "olie" de grootste problemen werden verwacht, zijn eerst die zuiveringsmethoden getest, die ontwikkeld zijn voor de analyse van PCB's, maar specifiek zijn voor de analyse van oliemonsters.

Methode volgens DIN

Het zonder meer toepassen van de zuivering over een benzeensulfonzuur- en silicagelkolom leverde onbevredigende resultaten op. Er bleef een olieresidu achter waardoor een hoog achtergrondsignaal werd veroorzaakt. Een storingsvrij GC-ECD chromatogram kon derhalve niet worden verkregen. Na de zuivering volgens DIN werd nog slechts 40-80% Ugilec 141 teruggevonden.

Methode volgens IvM

Na de zuivering over een met loog beladen basische aluminiumoxydekolom en een met water gedesactiveerde silicagelkolom werd geen Ugilec 141 teruggevonden. Ook bleef er een olieresidu achter waardoor een hoog achtergrondsignaal werd veroorzaakt. Een storingsvrij GC-ECD chromatogram kon niet worden verkregen.

Zuivering volgens de IvM-methode gaf bij de analyses van PCB's het meest schone chromatogram in vergelijking met zuiveringsmethoden volgens de DIN-procedure en de zuivering over met water gedesactiveerde basische aluminiumoxyde. Storingen uit de

oliematrix werden met behulp van deze methode relatief het best verwijderd.

Daar echter geen Ugilec 141 in het extract werd aangetroffen werd de methode aangepast door het elutiemiddel te veranderen van hexaan in toluen. Dit leverde een chromatogram op waarin naast de waarschijnlijk aanwezige Ugilec-responses vele andere responses aanwezig waren.

Kwantificering noch identificatie was met behulp van GC-ECD mogelijk.

Ook met behulp van de GC-MS analyse werden dezelfde problemen geconstateerd. Een zeer regelmatig vervuilde bron maakte de methode ongeschikt om enigszins routinematig te kunnen worden toegepast. Een belangrijke constatering was verder wel dat toluen wellicht een goed elutiemiddel voor Ugilec 141 zou kunnen zijn.

Verdere optimalisatie van de IvM-methode ten aanzien van elutiemiddel, elutiehoeveelheden, fractionering etc. leverde geen verbetering op waardoor de GC-MS analyse redelijk kon worden uitgevoerd. Het grootste probleem bleef het constant aanwezige olieresidu in het uiteindelijke extract.

Actieve koolmethode

Bij de analyses van PCDD's en PCDF's in biologische matrices wordt een scheiding verkregen van de te bepalen componenten en de vet matrix, door het monsterextract over een actieve koolkolom (Carbosphere) te leiden. Door het adsorptievermogen van de kool in combinatie met de fysisch-chemische eigenschappen van de te bepalen componenten vindt een scheiding plaats tussen de componenten en de matrix op basis van het vlak zijn van de betreffende componenten. Ofschoon de matrix "olie" en de te bepalen component "Ugilec 141" niet dezelfde eigenschappen bezitten als het eerder geteste "vet" en de "PCDD's en PCDF's", werd verondersteld dat er toch enige retentieverschillen zouden optreden tussen de matrix en de te bepalen component waardoor de koolkolom een bruikbare zuiverings / fractioneringsstap zou kunnen zijn.

In een aangepaste vorm met een kleinere hoeveelheid adsorbens werd getracht de matrix olie te scheiden van de te bepalen Ugilec-componenten. Ugilec 141 bleek een behoorlijke retentie te hebben als alleen met hexaan werd geëluëerd. Door na deze spoelstap te elueren met toluen bleek Ugilec 141 in het eluaat aanwezig. Het residuprobleem was echter nog niet opgelost; in het verkregen extract bleef toch nog wat olieresidu aanwezig. De extracten werden, na de koolzuivering, getest met behulp van GC-ECD; naast Ugilec-responses bevatten de extracten nog vele andere responses.

Het bleek noodzakelijk de koolkolom voor elk monster te regenereren. Reflux met toluen gedurende 16 uur en voorelutie met toluen, was voldoende om de koolkolom voor een volgend extract wederom storingsvrij te kunnen gebruiken.

In eerste instantie werd de koolkolom in dezelfde stand gebruikt, daarnaast werden ook een aantal testen gedaan waarbij, na de hexaan-elutie, de kolom werd omgedraaid en Ugilec 141 met 10 ml toluen van de kolom werd geëluëerd. In deze kleinere toluenfractie was Ugilec 141 wel aanwezig, echter in het extract bleef ook residu aanwezig, terwijl het extract geel gekleurd was. Deze methode leverde uiteindelijk geen duidelijk voordeel op.

Optimaliseringstesten van de zuivering van de olie-extracten met behulp van de koolkolom werden in eerste instantie bekeken met GC-ECD, waarbij visueel werd vastgesteld of er een

reduktie van het residu had plaatsgevonden. Na optimalisatie ten aanzien van elutiemiddelen en fractionering moest toch worden vastgesteld dat de GC-MS analyse door interferenties ten gevolge van het nog aanwezige residu werd bemoeilijkt.

Ondanks dat het residu een probleem bij de analyse bleef, werd de zuivering over de koolkolom als basis genomen om verder te onderzoeken op welke wijze een storingsvrij extract verkregen zou kunnen worden. Een zuivering over de koolkolom, gevolgd door een zuivering en fractionering volgens de IvM-methode leverde, ondanks nog aanwezige residu, een redelijk chromatogram op 1 mg/kg niveau met behulp van GC-MS.

Met dit resultaat als basis werd een breed onderzoek gestart naar een zuiveringsmethode waarbij combinatie van verschillende stappen zou moeten leiden tot een methode waarbij Ugilec 141 kwantitatief kon worden bepaald.

4.3.2 *Combinatie van zuiveringsmethoden*

Als uitgangspunt bleef gehandhaafd om na een zuiveringsstap een monsterextract te verkrijgen met een zo laag mogelijk residugehalte, naast een redelijke opbrengst en een voldoende lage bepalingsgrens voor Ugilec 141. Door combinatie van verschillende zuiveringsmethoden werd getracht het olieresidu te verwijderen.

In tabel 4 wordt een overzicht gegeven van deze verschillende combinaties van zuiveringsmethoden. Voor de experimenten werd als monster een oplossing van olie in hexaan gebruikt; de concentratie was 2 gram olie in 50 ml hexaan en het oliemonster was gespiked met 5 mg Ugilec 141/kg. Er werden in de diverse experimenten verschillende hoeveelheden olie op de zuiveringskolom gebracht (zie tabel). De gezuiverde extracten waren opgelost in 50 µl hexaan en geanalyseerd met GC-MS. De resultaten zijn zowel kwalitatief (visuele beoordeling van de extracten) als waar mogelijk kwantitatief (opbrengst in % Ugilec 141) weergegeven.

In de meeste experimenten bleek de zuivering niet afdoende of er werd een zeer laag percentage Ugilec 141 teruggevonden. Van de experimenten 1 tot en met 9, die in één serie uitgevoerd zijn, leverde de combinatie van de koolmethode, gevolgd door basische aluminiumoxyde en silicagel (exp. 9), extracten op welke praktisch vrij waren van olieresidu waardoor een GC-MS analyse goed kon worden uitgevoerd. Het opbrengstpercentage van Ugilec 141 gebaseerd op de zes meest intensieve responses bedroeg ongeveer 100 %.

Tabel 4. Overzicht van de experimenten voor de optimalisering van de zuiveringsmethode, uitgaande van de onafhankelijk van elkaar geteste zuiveringsstappen

Experiment code / zuiveringsstap	hoeveelheid in bewerking genomen oliemonster	Elutie met	Resultaten		Opbrengst Ugilec 141	Opmerkingen
			kleur	Extract residu		
1 A	20 mg	hexaan	licht-geel	weinig	niet bepaald	hoog achtergrondsignaal
2 A+ B	20 mg	hexaan hexaan	bijna kleurloos	weinig	niet bepaald	laag achtergrondsignaal; Ugilec-patroon zwak herkenbaar
3 A+ B+ D	20 mg	hexaan hexaan hexaan	bijna kleurloos	weinig	niet bepaald	laag achtergrondsignaal; Ugilec-patroon zwak herkenbaar
4 C+ (C1)D (C2)D	200 mg	tolueen - fr 1 -> C1 tolueen - fr 2 -> C2 hexaan hexaan	licht-geel licht-geel	weinig weinig	34% 70%	1e tolueenfractie (ml 1+2); deze fractie is bruin van kleur 2e tolueenfractie (ml 3 tm.25)
5 C+ A+ D	200 mg	tolueen hexaan hexaan	kleurloos	bijna geen	60%	
6 C+ A+ B	200 mg	tolueen hexaan hexaan	kleurloos	weinig	niet bepaald	Ugilec-patroon nauwelijks herkenbaar
7 C+ B	200 mg	tolueen hexaan	kleurloos	weinig	± 5 %	Ugilec-patroon herkenbaar; kwantificering is moeilijk door lage nivo
8 C+ E	200 mg	tolueen 5% CH ₂ Cl ₂ in hexaan	kleurloos	weinig	niet bepaald	Ugilec-komponenten naast andere responses herkenbaar (GC/ECD-analyse)
9 C+ E+ F	200 mg	tolueen 5% CH ₂ Cl ₂ in hexaan hexaan	kleurloos	bijna geen	±100 %	Ugilec-komponenten detecteerbaar. Residuen: zie tabel 5
10 C+ E+ G+ H	20 mg	tolueen 5% CH ₂ Cl ₂ in hexaan hexaan hexaan	kleurloos	weinig	niet bepaald	
11 C+ E+ G C	20-100 mg	tolueen 5% CH ₂ Cl ₂ in hexaan hexaan tolueen	kleurloos	bijna geen	±65 %	Duidelijk Ugilec-patroon.

Naar aanleiding van de resultaten van deze eerste analyses werden de olieresiduen van een aantal monsters zowel na de koolzuiveringsstap alsook na de gehele zuiveringsmethode (drie stappen) gravimetrisch bepaald. De resultaten staan in tabel 5 vermeld.

Tabel 5. Olieresiduen in procenten na de verschillende zuiveringsstap(pen).

Uitgevoerde zuiveringsstap	In bewerking genomen hoeveelheid monster (mg olie)	Olie residue (in %)
Koolzuivering	100	11.24
	200	7.88 en 7.04
Kool-, alumiumoxyde- en silicagelzuivering	100	1.20
	200	1.25

De experimenten 10 en 11 (tabel 4) werden vervolgens uitgevoerd om resp. de methode te vereenvoudigen (G), en het testen van een andere (betere) zuiveringsmethode om een beter chromatogram te verkrijgen (H resp. herhaling van C). Deze zuiveringsstappen leverden voor standaarden geen verliezen op. In plaats van het reinigen van de kool in de individuele kolommen werd bij deze testen telkens uitgegaan van vers bereide koolkolommen.

Bij experiment 10 werd, na afstelling van alle chromatografie stappen met standaarden, een procedure ijklijn gemaakt, uitgaande van 20 mg olie. Bij de GC-MS analyse bleek dat de gewenste detectiegrens van 0.5 mg/kg hierbij niet gehaald kon worden, waarschijnlijk doordat toch residu achterblijft na opwerking, dat de analyse verstoort.

Bij experiment 11 werden verschillende hoeveelheden olie opgewerkt, te weten 20, 50 en 100 mg olie om hiermee de detectiegrens te verlagen. Bij opwerking van 20 mg olie kon de detectiegrens van 0.5 mg/kg niet gehaald worden; bij 100 mg was dat wel het geval. Wanneer 100 mg olie werd opgewerkt was niet zichtbaar meer residu waarneembaar in vergelijking met opwerking van 20 mg olie. De opbrengstpercentages van Ugilec 141 waren redelijk tot goed, maar konden niet exact bepaald worden door een verstoring van de interne standaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141.

De in experiment 11 gebruikte methode is uiteindelijk toegepast bij de analyse van de afvalolie monsters, met een bepalingsgrens van 0.5 mg/kg olie. Bij deze methode wordt 100 mg olie - opgelost in hexaan - in bewerking genomen en achtereenvolgens gescheiden en gezuiverd over actieve kool, aluminiumoxyde, silicagel en weer actieve kool. De invloed van interferenties en de toegepaste GC-analyse, alsmede de uiteindelijke validatie worden beschreven in de navolgende paragrafen.

4.4 Interferentie van PCB's

In principe zijn er, uitgaande van de molecuulmassa's, geen PCB's die kunnen storen op de sporen van Ugilec 141 (m/z 318 en 320). Echter, penta-CB's (m/z 324) storen op de sporen van de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 (m/z 324 en 326). Theoretisch is het dus mogelijk dat een penta-CB precies onder deze interne standaard valt. De isotoopratio (m/z 324/326) van penta-CB is niet vergelijkbaar met die van $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80. Deze isotoopverhouding is voor $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 0.77 en voor een penta-CB 0.62, zodat de isotoopratio naar 0.62 zal schuiven wanneer deze componenten samenvallen, afhankelijk van de concentratie penta-CB ten opzichte van de concentratie $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80.

Om de mogelijke interferentie van PCB's te onderzoeken, zijn aan een met Ugilec 141 gespiked oliemonster op drie niveaus PCB's toegevoegd. Hiervoor is een mengsel gemaakt van twee Aroclors (Aroclor 1254 en 1232) in de verhouding 1:1. De monsters zijn in duplo opgewerkt en geanalyseerd. De toevoegingen en resultaten zijn vermeld in tabel 6.

Tabel 6. Invloed van de aanwezigheid van PCB's bij de analyse van Ugilec 141 in afvalolie.

<i>toevoeging</i> *)		<i>teruggevonden</i> **)	
PCB's (mg/kg)	Ugilec 141 (mg/kg)	Ugilec 141 (mg/kg)	st.dev. (%)
0	5.82	4.98	0.29
0	5.82	5.15	0.29
12	5.82	5.31	0.30
12	5.82	5.04	0.30
122	5.82	5.30	0.30
122	5.82	5.28	0.28

*) oliemonster: LOCMONnummer 903514

***) De gehalten van deze monsters zijn berekend op procedure ijklijn I. (zie 3.7).

De aanwezigheid van hogere concentraties PCB's tot een niveau van 122 mg/kg heeft geen invloed op de teruggevonden hoeveelheid Ugilec 141 en de chromatografie. In dit experiment is ook geen verschuiving van de isotoopratio waargenomen. Bij de toevoeging van het Aroclor-mengsel aan het gespiked oliemonster verschijnen wel pieken op de sporen van de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80. Dit is ook waargenomen bij de oliemonsters waarvan bekend is dat er PCB's in aanwezig zijn (zie figuur 12). Bij hogere concentraties PCB's (80 %) kan wel een volledige verstoring van het signaal optreden (zie hoofdstuk 5).

4.5 Referentie stoffen

Dichloorbenzyldichloortolueen-isomeren

Er zijn zes dichloorbenzyldichloortolueen-isomeren commercieel leverbaar volgens de door Environmental Standard Laboratories (ESL) bijgevoegde informatie:

DBDT 21; 2,2',4,4'-tetrachloor-3-methyl-difenylmethaan (ESL 257).

DBDT 27; 2,2',4,6'-tetrachloor-3-methyl-difenylmethaan (ESL 273).

DBDT 28; 2,2',4,6'-tetrachloor-5-methyl-difenylmethaan (ESL 274).

DBDT 52; 2,3',4,4'-tetrachloor-5-methyl-difenylmethaan (ESL 337).

DBDT 74; 2',3,4,4'-tetrachloor-6-methyl-difenylmethaan (ESL 393).

DBDT 80; 2',3,4,6'-tetrachloor-6-methyl-difenylmethaan (ESL 395).

De komponent nummering komt overeen met Ehmann en Ballschmiter [11].

De individuele componenten zijn zowel met behulp van GC-ECD alsook met behulp van GC-MS geanalyseerd. Met behulp van GC-ECD zijn in het chromatogram de responses van de individuele componenten herkenbaar. Daar het verdere onderzoek zich gericht heeft op de analyse met behulp van GC-MS zijn verder geen analyses met behulp van GC-ECD uitgevoerd.

Tevens zijn Ugilec T (60% Ugilec 141 en 40% trichloorbenzeen) en Ugilec 141 leverbaar door ESL. Ugilec 141 is als referentiestandaard tijdens het verdere onderzoek gebruikt.

In het chromatogram van Ugilec 141 opgenomen met behulp van GC-MS zijn ongeveer 20 responses aanwezig. Voor identificatie en kwantificering worden hiervan de zes meest intensieve responses gebruikt. Van de geleverde zes individuele componenten, die met behulp van GC/MS zijn geanalyseerd, komen DBDT 27 en 21 overeen met resp. respons nr. 5 en 6 van de intensieve responses, waarmee de kwantificering wordt uitgevoerd.

Interne standaarden

Voor de keuze van een geschikte interne standaard bestaan twee mogelijkheden, er van uitgaande dat dit een dichloorbenzyldichloortolueen-isomeer zou moeten zijn. Een beschikbare isomeer die niet of op een laag niveau in Ugilec 141 voorkomt of - bij voorkeur - een ^{13}C -gelabelde isomeer.

DBDT 80 is op een laag niveau aanwezig in het Ugilec 141-mengsel. In eerste instantie is deze komponent gebruikt als interne standaard. De concentratie van DBDT 80 die wordt toegevoegd wordt zo gekozen dat de reeds aanwezige hoeveelheid in het Ugilec 141-mengsel een klein deel is van de hoeveelheid die wordt toegevoegd. De fout die hiermee wordt gemaakt, ongeveer tien procent, wordt als acceptabel aanvaard.

In een latere fase van het onderzoek zijn twee $^{13}\text{C}_6$ -gelabelde DBDT-komponenten beschikbaar gekomen met de volgende opgegeven specificaties:

$^{13}\text{C}_6$ DBDT 21 : hoeveelheid 40 mg; chem. pur. 95%; isotope ring $^{13}\text{C}_6$ - 99%

$^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 : hoeveelheid 25 mg; chem. pur. 98%; isotope ring $^{13}\text{C}_6$ - 99%

Deze twee componenten zijn onderzocht met behulp van GC-MS. Hieruit bleek dat het gebruik als interne standaard bij GC-MS analyses in principe mogelijk is. Echter, $^{13}\text{C}_6$ DBDT 21 bevat

één bijproduct en is voor minder dan 5% zuiver en $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 bevat vijf bijproducten en is voor 31% zuiver [19].

Er is besloten om $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 te gaan gebruiken. De interne standaard wordt aan het begin van de zuivering aan het oliemonster toegevoegd.

Gezien de lage zuiverheid van $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 en de hoge kostprijs is het voor laboratoria aan te bevelen gebruik te maken van de niet gelabelde DBDT 80.

Injectie standaard

Bij de keuze van een injectiestandaard is het niet perse noodzakelijk dat dit een dichloorbenzyldichloortolueen-isomeer betreft. Het is wel van belang dat deze component niet in het monster voorkomt en hetzelfde gedrag vertoont bij de analyse om zo te kunnen corrigeren voor injectie volume en eventuele discriminatie effecten bij de detectie.

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 is als injectiestandaard gebruikt.

4.6 Analyse

4.6.1 *GC-ECD analyse*

Het retentiegedrag en de gevoeligheid van Ugilec 141 en de dichloorbenzyldichloortolueen-isomeren is getest met behulp van gaschromatografie met ECD-detectie en vergeleken met PCB's. Onder condities, waarbij de analyse van PCB's in oliemonsters wordt uitgevoerd, zijn op twee kolommen (Ultra 1 en 2) de retentietijden en de responses bepaald. In tabel 7 is de vergelijking van het elutiepatroon en de responses van individuele PCB-congeneren en Ugilec 141 weergegeven voor één kolom (Ultra 2).

Ugilec 141 geeft onder deze condities een chromatogram, waarbij ongeveer 20 responses verantwoordelijk zijn voor het patroon. Deze responses van Ugilec 141 bevinden zich in het gebied waar PCB 136 tot PCB 138 elueren. De PCB congenen 136, 151, 149, 118, 143, 153, 141 en 138 worden slechts gedeeltelijk van de Ugilec-responses gescheiden danwel elueren bijna gelijktijdig met een van de Ugilec-responses. In figuur 5 zijn de ECD-chromatogrammen van de individuele PCB-congeneren en Ugilec 141 weergegeven.

In tabel 8 is een overzicht gegeven van de gevoeligheid van de ECD voor de diverse individuele PCB- en DBDT congenen. Hieruit blijkt dat de gevoeligheid van de DBDT congenen een factor twee lager is dan die van de overeenkomstige tetra- en hoger gechlorideerde PCB congenen.

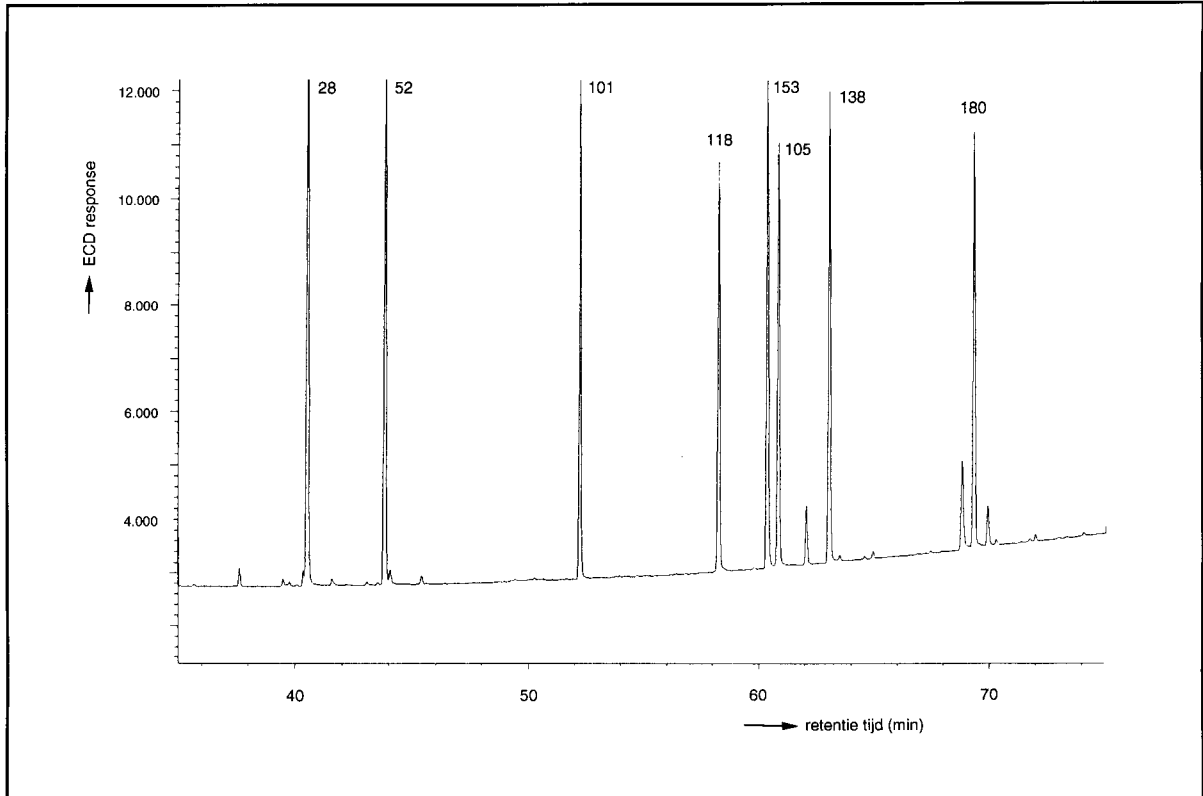
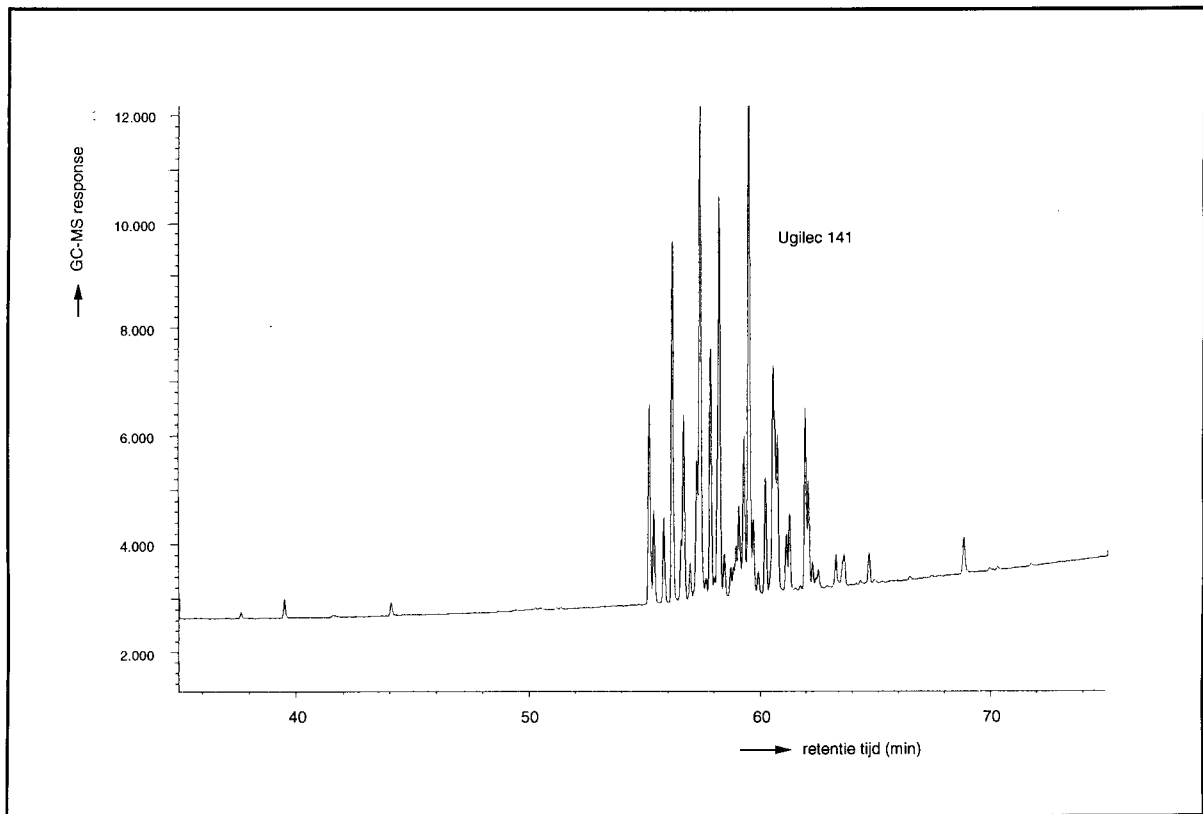
Echter, er moet rekening mee worden gehouden dat in praktijkmonsters zowel PCB's alsook Ugilec 141 aanwezig kunnen zijn. In de meeste technische PCB-mengsels komen de congenen 138, 153 en 118 voor. De analyse van Ugilec 141 met behulp van GC-ECD wordt door de aanwezigheid van PCB's bemoeilijkt.

Bij de analyse van PCB's in olie is een duidelijk achtergrondsignaal aanwezig. Gezien de intensiteitsverhoudingen zal een GC-ECD methode minder geschikt zijn voor de analyse van Ugilec 141 op een laag niveau.

Tabel 7: Vergelijking van het elutiepatroon en de responses van Ugilec 141 met individuele PCB-congeneren met GC-ECD.

PCB congeneren				Ugilec 141 (1 µg/ml)	
komponent	concentratie (µg/ml)	retentietijd (min)	response-hoogte	retentietijd (min)	response-hoogte
PCB 28	0.094	40.543	75053		
PCB 52	0.082	43.834	60755		
PCB 101	0.053	52.250	52821		
				55.201	22999
				55.395	9816
				55.822	9103
				56.189	37998
				56.566	4851
				56.674	20883
				56.958	3459
				57.252	16367
				57.393	57542
				57.839	27328
				58.216	51925
PCB118	0.043	58.262	43822		
				58.436	4442
				58.716	2598
				58.941	4893
				59.061	11590
				59.288	18385
				59.501	65083
				59.686	7163
				60.208	12484
PCB 153	0.051	60.376	54536		
				60.542	39033
				60.733	17007
PCB 105	0.04	60.840	45784		
				61.117	5541
				61.255	8194
				61.936	18560
				62.069	10267
PCB 138	0.043	63.044	50848		
				63.262	2986
				63.624	4768
				64.712	3324
				68.811	4590
PCB 180	0.037	69.319	46052		

Analyse op Ultra 2 met behulp van GC-ECD.



Figuur 5. GC-ECD chromatogram van 1) Ugilec 141 en 2) individuele PCB congenere.

Tabel 8. Gevoeligheid van individuele DDT en PCB congenere bepaald m.b.v. GC-ECD analyse (Ultra 2).

congeneer	concentratie (ng/ml)	piekhoogte (counts)	respons (piekh./conc.)
<i>PCB congenere</i>			
PCB 28	94	13948	1.5
PCB 52	82	11294	1.4
PCB 101	53	9376	1.8
PCB 118	43	7644	1.8
PCB 153	51	9477	1.9
PCB 105	40	7908	2.0
PCB 138	43	8792	2.0
PCB 180	37	7755	2.1
<i>DDT congenere</i>			
DDT 28	106	8378	0.8
DDT 27	114	9604	0.8
DDT 80	101	10932	1.1
DDT 21	110	9605	0.9
DDT 52	119	10343	0.9
DDT 74	102	12307	1.2

4.6.2 GC-MS analyse

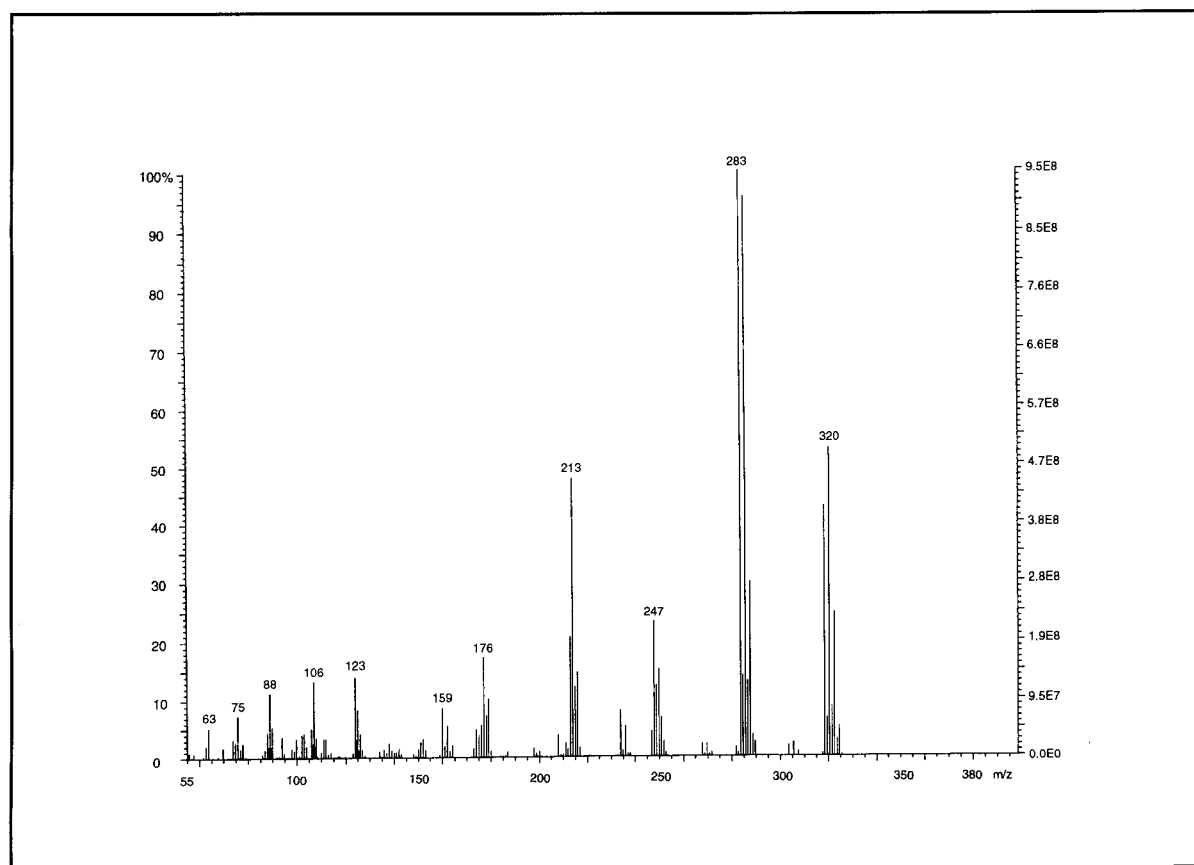
Ugilec 141 geeft met behulp van GC-MS (EI) op een apolaire kolom (60 m, DB-5) ongeveer 20 responses. In tabel 9 is een overzicht gegeven van de retentietijden en procentuele bijdragen van de individuele responses van Ugilec 141 en de retentietijden van de individuele DBDT standaarden. Gezien het feit dat er 70 DBDT-isomeren geïdentificeerd zijn in het technische mengsel Ugilec 141, betekent dit dat elke respons uit één of meer isomeren kan bestaan. De intensiteit per response van de individuele DBDT isomeren is vergelijkbaar met die van de individuele tetra-gechloreerde PCB-responses bij eenzelfde concentratie.

De verhoudingsgewijs lagere gevoeligheid van Ugilec 141 bij MS-detectie in vergelijking met ECD-detectie maakt een forse concentreringsstap en een geschikte zuiveringsmethode noodzakelijk om tot een redelijk lage bepalingsgrens te komen. Toch is voor een GC-MS analysemethode gekozen vanwege de specificiteit.

Tabel 9. Retentietijden en responses van Ugilec 141 en individuele DBDT isomeren m.b.v. GC-MS.

Ugilec 141 (10 µg/ml)				DBDT isomeren	
pieknr.	retentietijd (min)	piekhoogte (counts)	% bijdrage in Ugilec 141	DBDT isomeer	retentietijd (min)
1	21.35	1018880	7	DBDT 28	21.38
2	21.40	340480	2		
3	21.45	410112	3		
4	21.55	1708030	12		
5	22.03	993280	7		
6	22.09	77952	1		
7	22.22	2277380	16		
8	22.29	1038340	7		
9	22.36	1980420	14	DBDT 27	22.38
10	22.48	115982	1	DBDT 80	22.50
11	22.52	284406	2		
12	22.56	190540	1		
13	23.00	422912	3		
14	23.04	1603580	11	DBDT 21	23.06
15	23.15	225117	2	DBDT 52	23.17
16	23.21	387555	3		
17	23.24	382976	3	DBDT 74	23.26
18	23.35	210944	1		
19	23.51	599932	4		
20	23.58	33240	0		
21	24.14	52867	0		
22	24.21	44214	0		
totaal		14399139			

Analyse op Ultra 1 met behulp van GC-MS.

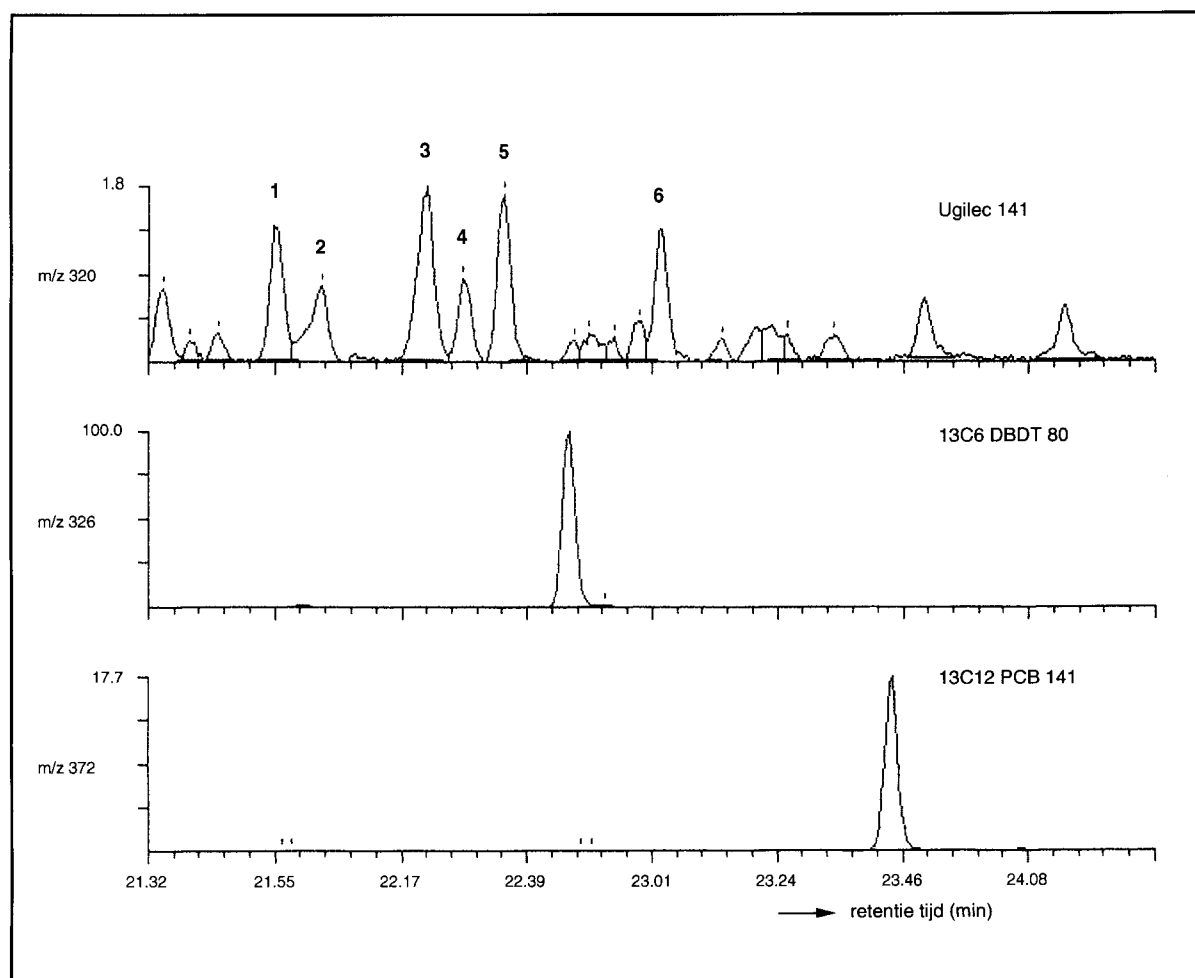


Figuur 6. Massaspektrum van Ugilec 141.

In figuur 6 is een massaspektrum weergegeven van Ugilec 141. In principe zijn de massa's 283 en 285 het meest intensief, maar omdat op die sporen veel storingen van olieresidu optreden is gekozen voor de massa's 318, 320 en 322. In een later stadium van de methode ontwikkeling is gekozen voor meting op alleen 318 en 320 om zodoende een hogere gevoeligheid te bereiken. Voor de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 wordt om dezelfde reden gemeten op m/z 324 en 326 i.p.v. op m/z 324, 326 en 328.

Kwantificering vindt plaats op de 6 meest intensieve pieken van de Ugilec 141 standaard bij m/z 320 (m/z 318 wordt gemeten om de piekverhouding te controleren), van de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 bij m/z 326 (met m/z 324 voor controle van de piekverhouding) en voor de injectie standaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 bij m/z 372. In figuur 7 zijn de verschillende ionchromatogrammen van een Ugilec 141 standaard, met daarnaast de interne standaard en de injectie standaard weergegeven.

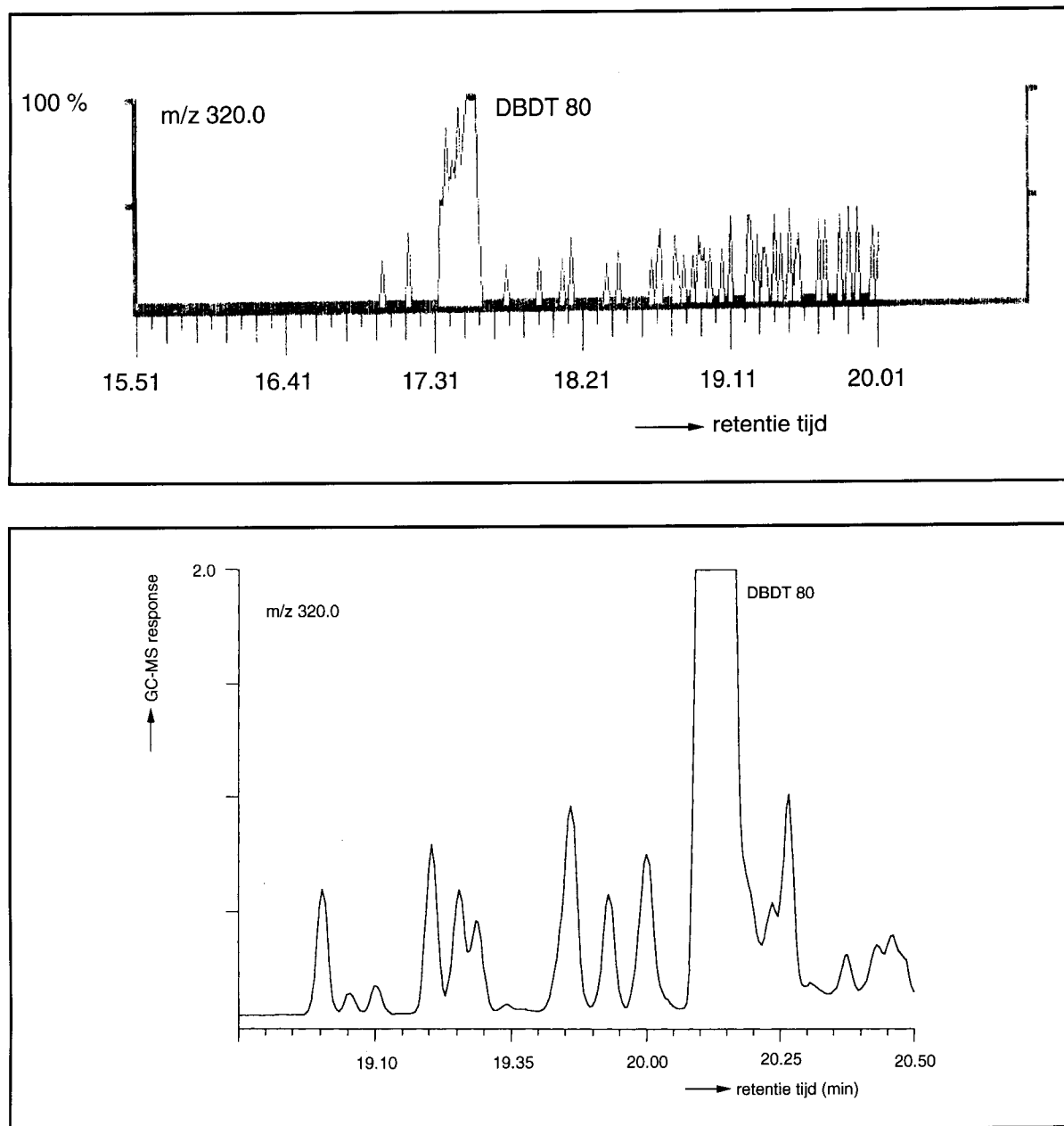
Het ontwikkelingsonderzoek is uitgevoerd op diverse Finnigan massaspectrometers, met zowel de quadropole als massafilter als het Ion Trap Detection System (ITD). Bij gebruik van de ITD dienen hogere eisen gesteld te worden aan het eindextract met betrekking tot de zuiverheid dan bij de quadropole instrumenten: immers, bij een hoge chemische achtergrond zal de gevoeligheid van het ITD-systeem sterk afnemen. Dit verschijnsel is inherent aan het principe van de ITD en zal niet of nauwelijks optreden bij de quadropole systemen.



Figuur 7. Ionchromatogram van Ugilec 141 (m/z 320; boven), de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 (m/z 326; midden) en voor de injectie standaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 (m/z 372; onder).

In figuur 8 zijn de chromatogrammen weergegeven van eenzelfde eindextract van een oliemonster, opgenomen op zowel de ITD als een quadropole systeem. Het Ugilec 141-patroon is bij gebruik van de ITD niet meer herkenbaar, in tegenstelling tot de quadropole MS. Ondanks de diverse zuiveringsstappen blijken de eindextracten nog zodanig verontreinigd, dat detectie van Ugilec 141 met een Ion Trap systeem niet mogelijk blijkt. Naast de keuze van het detectie-principe (ITD *vs.* quadropole), is tevens de ionisatie-methode onderzocht. Aangezien de Ugilec-componenten chloorhoudend zijn, is te verwachten dat deze verbindingen electron-captieve eigenschappen hebben. Dit biedt de mogelijkheid voor de toepassing van de Electron-Capture Negative Ion Chemical Ionization massaspectrometrie (ECNICI-MS) welke voor een groot aantal halogeen-houdende verbindingen een hogere gevoeligheid geeft dan de Electron Impact ionisatie techniek. Uit het directe vergelijk van de beide ionisatie-methoden blijkt echter de gevoeligheid van de diverse Ugilec 141-isomeren voor ECNICI-MS zeer verschillend: afhankelijk van de positionering van de 4 chlooratomen in het molecuul (*i.e.* het isomeer) varieert de gevoeligheid van nihil tot zeer gevoelig. Dit sterke gevoeligheidsverschil bij ECNICI-MS is reeds bekend bij de analyse van PCB's en de

massaspectrometrische detectie hiervan wordt in de regel dan ook uitgevoerd met de EI ionisatie techniek. Naar analogie hieraan heeft deze ionisatie techniek voor de analyse van Ugilec 141 dan ook de voorkeur boven de ECNICI methode.

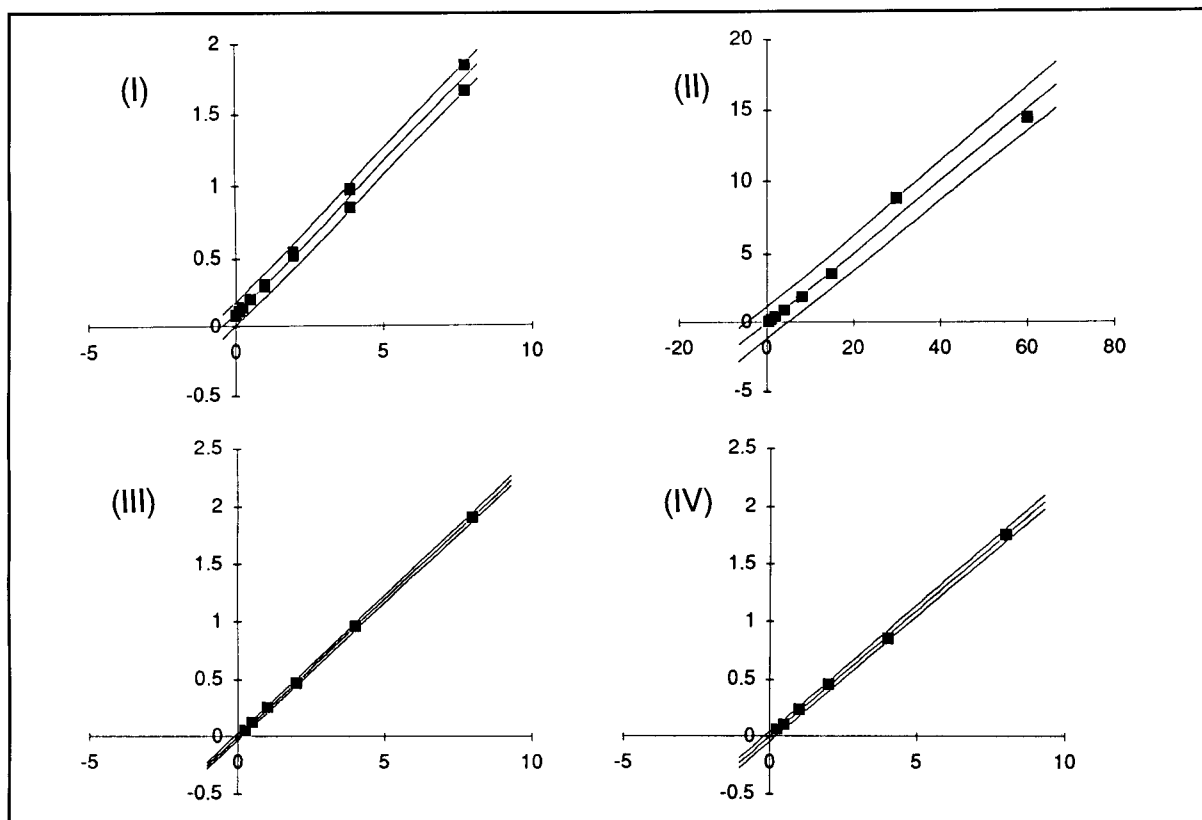


Figuur 8. Ugilec 141 extract van afvalolie gemeten met 1) GC-ITD en 2) GC-MS (quadrupool).

4.7 Validatie

Op basis van de hiervoor beschreven methode ontwikkeling, is de uiteindelijke methode vastgesteld (zie hiervoor hoofdstuk 3) en gevalideerd. In het validatie onderzoek zijn het rendement, de lineariteit, de bepalingsgrens en de nauwkeurigheid van de methode vastgesteld. In het onderzoek van de oliemonsters (hoofdstuk 5) zijn een viertal procedure ijklijnen gemaakt, waarbij telkens Ugilec 141 op tenminste 8 concentratieniveaus aan een afvalolie werd toegevoegd. Op deze wijze zijn vier procedure ijklijnen verkregen over een periode van twee jaar, hetgeen een maat is voor de reproduceerbaarheid van de methode. In figuur 9 zijn de verschillende lijnen weergegeven.

In tabel 10 zijn het werkgebied, de nauwkeurigheid en de bepalingsgrens van de diverse lijnen weergegeven. Procedure ijklijn I is de eerste ijklijn uit de reeks; de ijklijn is in duplo opgewerkt en geanalyseerd. Bij deze ijklijn zijn toevoegingen gedaan aan een oliemonster dat achteraf een lage concentratie Ugilec 141 bleek te bevatten. Als gevolg hiervan is de nauwkeurigheid van deze ijklijn lager dan die van de andere lijnen.



Figuur 9. Procedure ijklijnen voor Ugilec 141 in afvalolie (bepaald met behulp van Regres V2.0).

Lineariteit, nauwkeurigheid en bepalingsgrens

Uit deze ijklijnen is afgeleid dat de methode lineair is over een gebied van 0.25 tot 60 mg Ugilec 141/kg olie en dat de nauwkeurigheid 2 tot 3 % is voor de laatste twee lijnen over een beperkt concentratie gebied van 0.25 tot 8 mg/kg. De bepalingsgrens is 0.25 mg Ugilec 141/kg

olie, berekend volgens Regres V2.0, waarbij drie maal de standaard deviatie op het punt van 0 mg/kg wordt berekend. Als de bepalingsgrens onder het laagste punt van de ijklijn valt, wordt dit punt als zodanig voor de bepalingsgrens aangehouden.

Tabel 10. Toevoegingen, nauwkeurigheid en bepalingsgrens van de diverse procedure ijklijnen. (berekend met Regres V2.0).

ijklijn	toevoegingen (mg/kg olie)	nauwkeurigheid (%)	bepalingsgrens (mg/kg olie)	opmerking
I	0.21 - 7.77	8.9	0.6	in duplo uitgevoerd
II	0.25 - 60.0	15.0	6.0	
III	0.25 - 8.0	1.9	0.25	als II over beperkt gebied
IV	0.25 - 8.0	2.9	0.23	

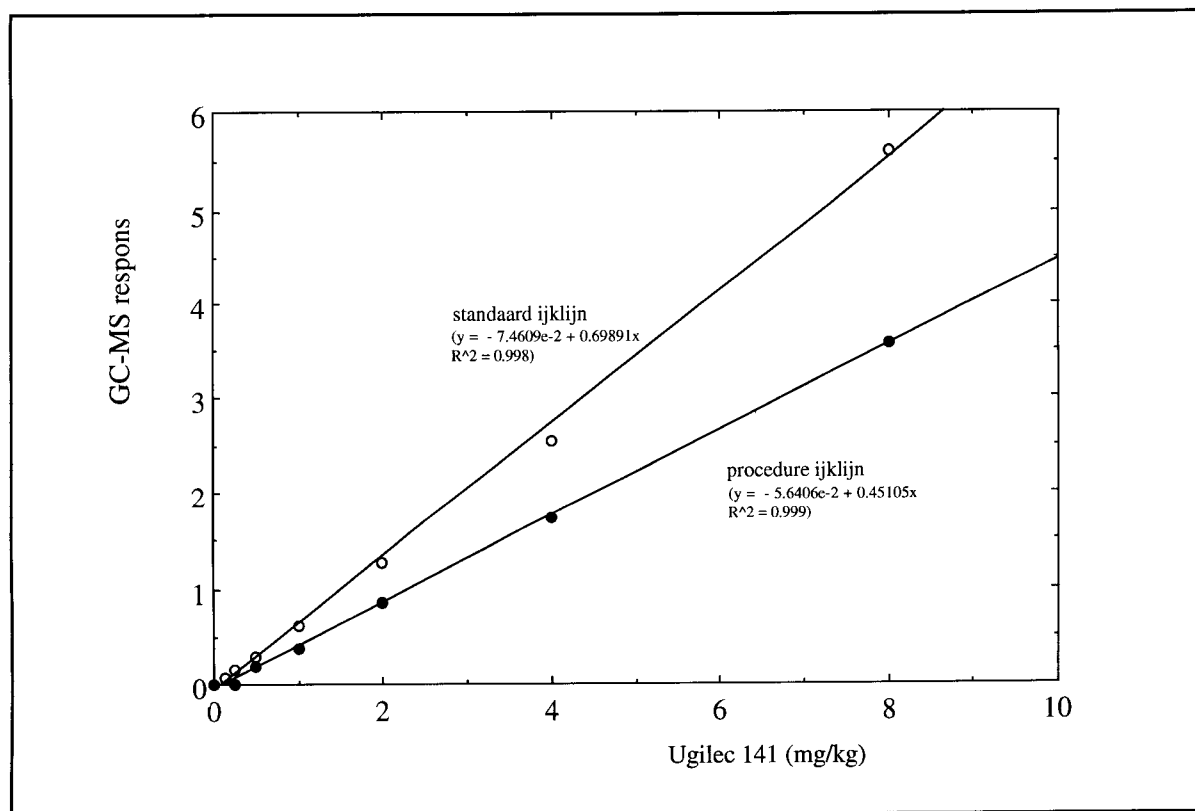
Daarnaast zijn bij de eerste serie monsters (ijklijn I) aan een aantal afvalolie monsters blinde spikes van Ugilec 141 toegevoegd. In tabel 11 zijn de resultaten hiervan weergegeven. De nauwkeurigheid en de juistheid van de resultaten wordt beïnvloed door de relatief grote fout in ijklijn I.

Tabel 11. Terugvindbaarheid van toevoegingen van Ugilec 141 aan afvalolie.

LOCMON nr.	monstercode	toevoeging Ugilec 141 (mg/kg)	gehalte Ugilec 141 (mg/kg)	SD (mg/kg)
903440	CB-Z3281E	5.35	5.99	0.28
903473	CB-N0306E	5.40	6.62	0.28
903476	CB-N0307A	5.39	6.92	0.27
903500	CB-W3017E	5.24	4.92	0.27
903512	CB-Z3311F	5.82	6.61	0.28

Rendement

Het rendement van de methode is bepaald door de procedure ijklijn te vergelijken met de standaard ijklijn van Ugilec 141 over hetzelfde concentratiegebied. In figuur 10 is dit weergegeven voor ijklijn IV. Het rendement van de methode is 65 %. Gezien de toevoeging van een ^{13}C gelabelde interne standaard bij de opwerking van de monsters, waarbij uitgegaan wordt van hetzelfde gedrag en mogelijke verliezen tijdens de opwerking als voor Ugilec 141, is de recovery niet van direct belang. Bij de berekening van monsters wordt direct gecorrigeerd voor recovery, omdat het gehalte in de monsters bepaald wordt op basis van de procedure ijklijn, gecorrigeerd voor de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80.



Figuur 10. Rendementsbepaling van Ugilec 141 in olie; vergelijk van procedure en standaard ijklijn van Ugilec 141 over een concentratie gebied van 0.25 tot 8 mg/kg olie.

4.8 Conclusie

De in dit hoofdstuk beschreven methode ontwikkeling voor Ugilec 141 in afvalolie heeft een lang ontwikkelingstrajekt gekend dat vooral werd bepaald door de opwerking van de olie tot een residu-vrij extract. De uiteindelijke methode bestaat uit een combinatie van verschillende kolomchromatografische zuiveringsstappen. De methode is lineair over een gebied van 0.25 tot 60 mg Ugilec 141/kg olie met een nauwkeurigheid van 3 % en een bepalingsgrens van 0.25 mg Ugilec 141/kg olie.

5 VOORKOMEN UGILEC 141 IN AFVALOLIE

Het is in Nederland verboden om Ugilec te vervaardigen, in te voeren, ter beschikking te stellen of toe te passen volgens de Wet Milieugevaarlijke stoffen. Uit het oogpunt van de handhaving van deze wet zijn daartoe in 1990 en 1993 oliemonsters genomen verspreid over Nederland om het voorkomen van Ugilec 141 te controleren.

5.1 Monstergegevens

De monsters zijn genomen door de Hoofdinspectie Milieuhygiëne (HIMH) in twee periodes. In 1990 zijn 48 monsters genomen in het kader van het project 'ondersteuning handhaving' in de periode van 2 oktober tot 6 december 1990. Deze monsters zijn, na ontwikkeling van de methode, uiteindelijk geanalyseerd in 1992. In 1993 is een serie van 21 monsters genomen en geanalyseerd in het kader van hetzelfde project. Tevens is in 1993 een serie van 11 monsters onderzocht in het kader van het inspectie project 'Ad hoc stoffen'. Alle monsters zijn aangeleverd in glazen potten, welke na aankomst op het RIVM bij 4 °C zijn bewaard. De monsters zijn (gedeeltelijk in duplo) genomen, waarvan steeds één monster in bewerking is genomen.

In tabel 12 is een overzicht gegeven van de bedrijven, waar de bemonstering in 1990 en 1993 heeft plaatsgevonden in het kader van de handhaving van de Wet Milieugevaarlijke Stoffen.

Tabel 12. Overzicht van bedrijven en typen oliebewerking t.b.v. monsterneming in het kader van handhaving.

Bedrijf	soort oliebewerking
Wubben Roosendaal	bewerken afgewerkte olie tot brandstof
OVA Amsterdam	bewerken afgewerkte olie tot brandstof
North Refinery Delfzijl	opwerken van afvalolie tot nafta en bunkerolie
Koewit Lelystad	bewerken afgewerkte olie tot brandstof
OZON Nijmegen	bewerken afgewerkte olie tot brandstof
Paktank Nederland b.v. PID Rotterdam	destileren van verontreinigde brandstoffen en preparaten
Fritank Dordrecht	blenden van diverse oliesoorten tot bunkerolie
Laura Maassluis	bewerken van afgewerkte olie tot afvalolie
Comos Amsterdam	op en overslag van olie en benzinesoorten t.b.v derden
Smid & Hollander Amsterdam	blenden van diverse oliesoorten tot bunkerolie; op en overslag; bitumen en asfaltfabriek

5.2 Ugilec 141 in afvalolie in het kader van handhaving

In het kader van handhaving zijn in 1990 en 1993 in totaal 74 monsters genomen en geanalyseerd. In tabel 13 wordt aangegeven de monstercode LOC, monstercode HIMH, productsoort, bemonsteringsdatum, het gehalte van Ugilec 141 met standaarddeviatie en eventuele opmerkingen.

Er bestaat een grote diversiteit in aangeboden monsters. De olie varieert van vloeibaar (benzine-achtig) tot vast (teer-achtig). De monsters 931870 en 931422 lossen niet op in hexaan; derhalve is van deze monsters een oplossing in dichloormethaan gemaakt. Alhoewel het residu van de verschillende oliën er op het oog hetzelfde uitziet, ontstaan er toch problemen bij de GC-MS analyse van verschillende monsters. Bij sommige monsters wordt het signaal volledig verstoord; soms valt de respons van alle sporen helemaal weg na de analyse van een monster, waarschijnlijk door een overbelasting van de bron van de GC-MS.

De monsters van 1990 zijn berekend met behulp van van de procedure ijklijn I en de monsters van 1993 zijn berekend met behulp van procedure ijklijn III van 0.25 tot 8 mg Ugilec 141/kg olie (zie 3.7).

Resultaten

In deze twee monsterseries, die een indruk geven van de afvalolie-verwerkers in Nederland, is slechts één positief monster met een gehalte van 5.7 mg Ugilec 141/kg olie aangetroffen, de overige monsters hebben een gehalte lager dan de bepalingsgrens van 0.5 mg Ugilec 141/kg olie. Uitgaande van een landelijk dekkende bemonstering, mag geconcludeerd worden dat er geen grote stromen met Ugilec 141 verontreinigde olie in Nederland ingevoerd of verwerkt worden.

5.3 Ugilec 141 in afvalolie in het kader van inspectie onderzoek

In het kader van twee verschillende inspectie onderzoeken, zijn oliemonsters onderzocht op het voorkomen van Ugilec 141.

Bij het eerste onderzoek van 6 monsters werd bij de reguliere analyse van PCB's een significant afwijkend patroon geconstateerd, wat in verband gebracht werd met Ugilec 141. De vraagstelling betrof zowel het gehalte aan Ugilec 141 als ook of de partijen bij de verwerker en transporteur van dezelfde oorsprong waren. De oliemonsters zijn in eerste instantie onderzocht op het voorkomen van PCB's met behulp van de IvM-methode en geanalyseerd met GC-ECD. Uit de chromatogrammen bleek duidelijk dat een aantal olies zwaar verontreinigd waren met Ugilec 141. In figuur 11 is een GC-ECD chromatogram van deze olie opgenomen. In oliemonster 931448 (wat overeenkomt met monster 931041 uit de eerste bemonsteringsronde) werden lage PCB-gehalten van <0.05 tot 0.17 mg congener/kg olie voor PCB 101 aangetroffen.

Op grond van de hoge Ugilec 141 verontreiniging is een tweede bemonstering uitgevoerd, welke monsters vervolgens onderzocht zijn op Ugilec 141 met de in dit rapport beschreven methode.

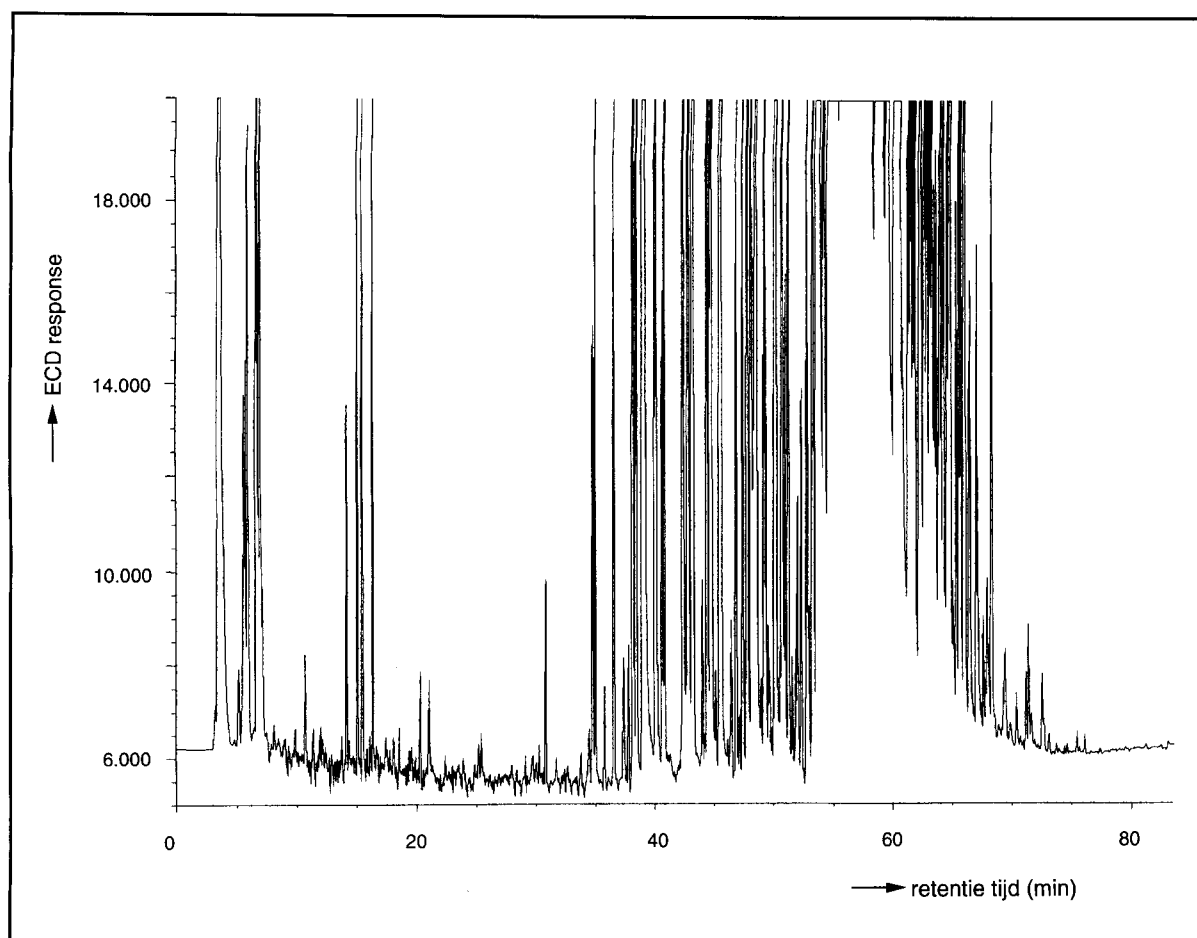
Tabel 13. Gegevens en analysesresultaten van Ugilec 141 in oliemonsters, genomen in 1990 en 1993 in het kader van handhaving.

LOC nr	Monstercode	Product soort	Monsterdatum	Gehalte (mg/kg olie)	Stand. deviatie (mg/kg)	Opmerking
903436	CB-Z3279E	afgewerkte olie onbewerkt	2/10/90	<0.5		
903438	CB-Z3280E	afgewerkte olie bewerkt	2/10/90	<0.5		
903340	CB-Z3281E	afgewerkte olie onbewerkt	2/10/90	<0.5		
903442	CB-Z3282E	afgewerkte olie bewerkt	2/10/90	<0.5		
903446	CB-W3013E	afgewerkte olie onbewerkt	3/10/90	<0.5		
903449	CB-W3014E	afgewerkte olie bewerkt	3/10/90	<0.5		
903452	CB-N0299E	afgewerkte olie onbewerkt	3/10/90	<0.5		
903458	CB-N0300E	afgewerkte olie bewerkt	3/10/90	<0.5		
903461	CB-N0304F	afgewerkte olie onbewerkt	4/10/90	<0.5		
903469	CB-N0305A	afgewerkte olie onbewerkt	4/10/90	<0.5		
903473	CB-N0306E	afgewerkte olie bewerkt	4/10/90	<0.5		
903476	CB-N0307A	afgewerkte olie bewerkt	4/10/90	<0.5		
903480	CB-N0308A	afgewerkte olie bewerkt	4/10/90	<0.5		
903482	CB-N0309A	afgewerkte olie bewerkt	4/10/90	<0.5		
903484	CB-Z3289E	afgewerkte olie bewerkt	9/10/90	<0.5		
903486	CB-Z3290E	afgewerkte olie bewerkt	9/10/90	<0.5		
903488	CB-Z3291E	afgewerkte olie bewerkt	9/10/90	<0.5		
903490	CB-Z3292E	afgewerkte olie bewerkt	9/10/90	<0.5		
903492	CB-Z3302E	afgewerkte olie onbewerkt	10/10/90	<0.5		
903494	CB-Z3305E	afgewerkte olie onbewerkt	11/10/90	<0.5		
903496	CB-W3015E	afgewerkte olie bewerkt	11/10/90	<0.5		
903498	CB-W3016E	afgewerkte olie onbewerkt	11/10/90	<0.5		
903500	CB-W3017E	afgewerkte olie bewerkt	11/10/90	<0.5		
903502	CB-W3018E	afgewerkte olie bewerkt	15/10/90	<0.5		extract after SAE 10
903504	CB-W3019E	afgewerkte olie bewerkt	15/10/90	<0.5		
903506	CB-W3020E	afgewerkte olie bewerkt	15/10/90	<0.5		
903508	CB-W3021E	afgewerkte olie bewerkt	16/10/90	<0.5		absorbent
903510	CB-Z3310E	afgewerkte olie onbewerkt	6/11/90	<0.5		
903512	CB-Z3311F	afgewerkte olie bewerkt	6/11/90	<0.5		
903514	CB-Z3313F	afgewerkte olie bewerkt	7/11/90	<0.5		
903516	CB-Z3314E	afgewerkte olie onbewerkt	7/11/90	<0.5		
903518	CB-Z3315E	afgewerkte olie onbewerkt	7/11/90	<0.5		bevat PCB's
903520	CB-Z3316D	afgewerkte olie onbewerkt	7/11/90	<0.5		bevat PCB's
903522	CB-Z3323E	afgewerkte olie bewerkt	8/11/90	<0.5		
903524	CB-Z3325F	afgewerkte olie bewerkt	8/11/90	<0.5		
903778	CB-Z3329E	afgewerkte olie bewerkt	15/11/90	<0.5		
903780	CB-Z3330E	afgewerkte olie bewerkt	15/11/90	<0.5		
903782	CB-Z3335E	afgewerkte olie onbewerkt	15/11/90	<0.5		
903784	CB-W3033E	afgewerkte olie onbewerkt	20/11/90	<0.5		
903786	CB-Z3034E	afgewerkte olie bewerkt	20/11/90	<0.5		
903788	CB-W3040E	afgewerkte olie bewerkt	21/11/90	<0.5		
903790	CB-W3041E	afgewerkte olie onbewerkt	21/11/90	<0.5		
903792	CB-N0315E	afgewerkte olie bewerkt	28/11/90	<0.5		
903794	CB-N0316E	afgewerkte olie onbewerkt	28/11/90	<0.5		
903796	CB-N0317D	afgewerkte olie bewerkt	28/11/90	<0.5		
903798	CB-N0323D	afgewerkte olie onbewerkt	29/11/90	<0.5		
903800	CB-Z3343E	afgewerkte olie bewerkt	4/12/90	<0.5		
903802	CB-Z3362E	afgewerkte olie onbewerkt	6/12/90	<0.5		
931221	HT-WV-3083-E	afgewerkte olie onbewerkt	19/5/93	<0.5		
931223	HT-WV-3103-E	afvalolie	19/5/93	<0.5		
931224	HT-WV-3104-E	afvalolie	19/5/93	<0.5		
931414	HT-WV-3105-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		
931415	HT-WV-3108-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		
931416	HT-WV-3155-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		
931417	HT-WV-3156-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		
931418	HT-WV-3157-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		
931419	HT-WV-3158-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		
931420	HT-WV-3159-D	pyrolyse	1/7/93	<0.5		
931421	HT-WV-3160-D	pyrolyse	1/7/93	<0.5		
931422	HT-WV-3161-E	bunkerstookolie	1/7/93	<0.5		opgelost in DCM
931423	HT-WV-3162-E	bunkerstookolie	1/7/93	<0.5		stroperige olie; niet gefiltreerd over Na2SO4
931424	HT-WV-3163-E	bunkerstookolie	1/7/93	<0.5		
391774	HT-WV-3183-E	afgewerkte olie bewerkt	27/7/93	<0.5		
931775	HT-WV-3184-E	afgewerkte olie onbewerkt	27/7/93	<0.5		
931780	HT-WV-3204-E	stookolie	9/8/93	<0.5		stroperige olie; niet gefiltreerd; opgelost in DCM
931781	HT-WV-3205-E	gasolie	9/8/93	<0.5		
931782	HT-WV-3206-D	stookolie	10/8/93	<0.5		stroperige olie; niet gefiltreerd over Na2SO4
931783	HT-WV-3207-D	afgewerkte olie bewerkt	10/8/93	5.69	0.09	
931784	HT-WV-3208-D	huisbrandolie	10/8/93	<0.5		

AOO = afgewerkte olie onbewerkt

AOB = afgewerkte olie bewerkt

BBO = bunkerstookolie



Figuur 11. GC-ECD chromatogram van met Ugilec 141 verontreinigde afvalolie (nr. 931222).

Het tweede onderzoek van 5 monsters betrof in meer of mindere mate met PCB-transformator olie verontreinigde olie, waarbij de vraag was of deze olie ook met Ugilec 141 verontreinigd was.

In tabel 14 wordt een overzicht gegeven van de monstergegevens en het gehalte Ugilec 141. De monsters 931447 en 931454 zijn eerst gehomogeniseerd door middel van roeren. Een gedeelte van het monster is afgewogen en gecentrifugeerd. De bovenstaande olielaag is afgescheiden en een gedeelte hiervan is in bewerking genomen. Monster 931447 bevat 24 % (gewichtsperscentage) olie, monster 931454 bevat 25 % (gewichtsperscentage) olie. De resultaten van deze twee monsters zijn uitgedrukt in mg/kg olie; een berekening naar product (= aangeleverd monster) kan eventueel nog plaatsvinden.

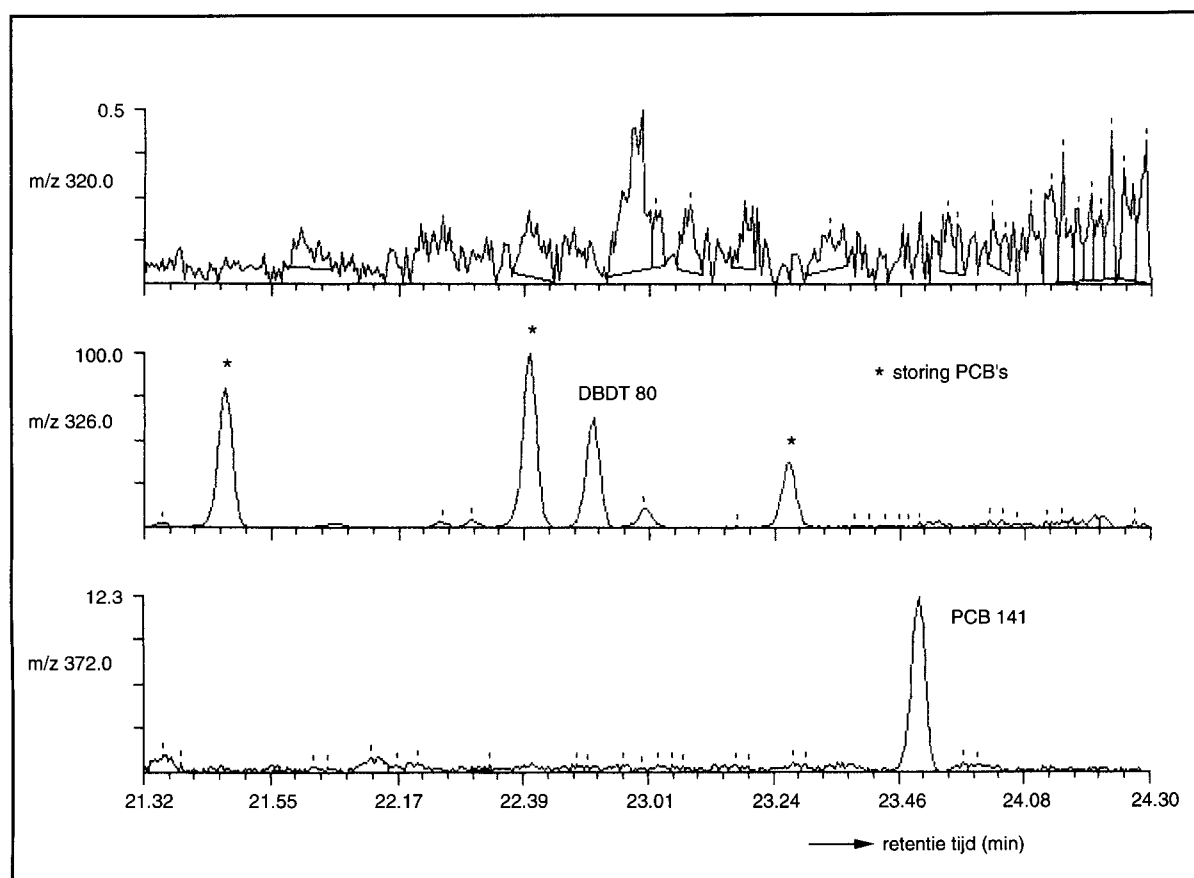
De monsters 931222 en 931447 zijn vooraf verdund (ongeveer 1000x) met "schone" olie, dit is gedaan omdat vooraf bekend was dat deze monsters erg hoge concentraties Ugilec 141 bevatten. De monsters van de tweede serie olies konden niet verdund worden, ondanks dat deze vervuild waren met hoge concentraties PCB's, gezien de lage te verwachten concentraties aan Ugilec 141.

De monsters zijn berekend met behulp van procedure ijklijn II van 0.125 tot 60 mg Ugilec 141/kg olie. Voor de lagere gehalten zijn de bovenste punten van deze procedure ijklijn vervallen. Bij de analyse van de twee hoogste punten van de ijklijn is het signaal van de GC-MS een factor 10 lager doordat in de bron te veel ionen aanwezig zijn. De punten van de procedure ijklijn vallen na correctie van de interne standaard niet buiten de ijklijn. Hierdoor is aangenomen dat dit bij de monsters 931222, 931447 en 931448, waarbij het signaal ook wegvalt, geen invloed heeft op het resultaat.

Resultaten

In het eerste onderzoek zijn een tweetal monsters met zeer hoge concentraties Ugilec 141 gevonden, te weten 45 en 116 g (!) / kg olie, terwijl in twee andere monsters eveneens Ugilec 141 werd aangetoond op een niveau van 0.94 en 1.9 mg/kg olie. In de overige monsters wordt geen Ugilec 141 aangetoond bij een bepalingsgrens van 0.5 mg/kg olie. Hoge concentraties Ugilec 141 in afvalolie kunnen ook geïdentificeerd worden bij voldoende interpretatie van de regulier uitgevoerde PCB-analyses.

Het patroon van Ugilec in deze oliën is onderling gelijk, ook aan dat van de gebruikte externe standaard Ugilec 141. Voor een Ugilec verontreiniging ligt dit voor de hand, omdat hier niet - zoals bij PCB's het geval is - met verschillende technische mengsels gewerkt wordt. Een uitspraak over de afkomst van deze olie kan dan ook niet met zekerheid gedaan worden.



Figuur 12. GC-MS chromatogram van met PCB's verontreinigde afvalolie (nr. 931477).

Tabel 14. Gegevens en analyseresultaten van Ugilec 141 in oliemonsters, in het kader van inspectie onderzoek.

LOC nr	Monstercode	Product soort	Monsterdatum	Gehalte (mg/kg olie)	Stand. deviatie (mg/kg)	Opmerking
931222	HTWV-3085-D	afvalolie/chemisch afval	1/6/93	45 g/kg	4 g/kg	verdund vóór analyse
931447	HTWV-3175-A	olie uit tankauto	9/7/93	116 g/kg **	9 g/kg	olie is vooraf gehomogeniseerd en afgescheiden (24 gew.% olie); verdund
931448	HTWV-3173-A	stookolie residu	9/7/93	0.94	0.08	
931450	HTWV-3174-A	stookolie residu/afgewerkte olie mengsel	9/7/93	<0.5		
931451	HTWV-3172-A	gasolie/afgewerkte olie mengsel	9/7/93	<0.5		
931454	HTWV-3177-A	olierestant	9/7/93	1.9 **	0.1	olie is vooraf gehomogeniseerd en afgescheiden (25 gew.% olie)
931412	HTWV-3092-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		olie met PCB's (ca. 1 ppm/congeneer)
931413	HTWV-3095-E	afvalolie	1/7/93	<0.5		olie met PCB's (ca. 1 ppm/congeneer)
931475	HMAW-938-AR	afgewerkte olie onbewerkt	12/5/93	<0.5		olie met PCB's (ca. 100 ppm/congeneer)
931476	HMAW-93-T6A	afgewerkte olie onbewerkt	12/5/93	*		PCB transformator olie
931477	HMAW-93-T5A	afgewerkte olie onbewerkt	12/5/93	<0.5		olie met PCB's (ca. 1 ppm/congeneer)

* : Ugilec 141 is niet te bepalen door hoge gehalte PCB's

** : in mg/kg olie (omrekening op produktbasis dient nog plaats te vinden).

In het tweede onderzoek, waarbij twee olies zwaar gecontamineerd zijn met PCB's, kon geen Ugilec 141 worden aangetoond bij een bepalingsgrens van 0.5 mg/kg olie, ook was geen patroon van Ugilec 141 aanwezig. Dit betrof dus alleen met PCB's verontreinigde afvalolie. Het signaal van de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 wordt in dit geval duidelijk gestoord door de aanwezigheid van PCB's (zie figuur 12). In één monster (931476), wat een PCB transformator olie betrof, kon vanwege de hoge gehalten PCB's geen Ugilec 141 meer bepaald worden.

Concluderend, kan gesteld worden dat de ontwikkelde methode voor Ugilec 141 in afvalolie met behulp van GC-MS in de praktijk redelijk voldoet. Echter, gezien de grote variëteit in afvalolies en mogelijke verontreinigingen daarin, treden regelmatig verstoringen van het signaal op.

6. DISCUSSIE EN CONCLUSIES

6.1 Methode ontwikkeling

De bepaling van Ugilec 141 in afvalolie is ontwikkeld met als doelstelling om te komen tot een methode met een bepalingsgrens van 0.5 mg Ugilec 141/kg olie in het kader van de handhaving van de Wet Milieugevaarlijke Stoffen.

Monstervoorbewerking

De monstervoorbewerking is in eerste instantie via twee verschillende routes opgezet. Met de ontwikkeling van de off-line LC-GC methode is reeds in een vroeg stadium gestopt, omdat teveel residu achterbleef in de LC-fractie om dit met behulp van GC te kunnen bepalen. De kolomchromatografische methode is ontwikkeld uitgaande van reeds bestaande toepassingen voor vergelijkbare componenten danwel matrices. De verschillende adsorbentia zijn onderzocht en uiteindelijk bleek een combinatie van verschillende chromatografie stappen noodzakelijk om voldoende olie residu te verwijderen. Hiertoe werd eerst een fraktionering op actieve kool toegepast, waarbij een verwijdering van de bulk aan olie plaatsvindt. Deze scheiding is gebaseerd op de retentie van Ugilec 141 op de kool op basis van fysisch-chemische parameters. Achtereenvolgens vindt een zuivering plaats over aluminiumoxyde, silicagel en nogmaals actieve kool om alle olie residu te verwijderen. Voorafgaand aan de monstervoorbewerking wordt $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 als interne standaard toegevoegd om te corrigeren voor verliezen tijdens de opwerking. Het is eveneens mogelijk om een niet-gelabelde DBDT 80 als interne standaard te gebruiken, aangezien deze DBDT isomeer slechts in lage concentratie in het technische mengsel Ugilec 141 voorkomt. Een dergelijke bewerkelijke clean-up bleek noodzakelijk, omdat het extract vergaand geconcentreerd dient te worden om de gewenste bepalingsgrens van 0.5 mg Ugilec 141/kg olie met behulp van GC-MS te kunnen bewerkstelligen.

Analyse

Om de interferentie met PCB's, die mogelijk ook in verontreinigde afvalolie voorkomen, te vermijden is gekozen voor een specifieke analyse met GC-MS. Bij GC-ECD analyse valt het cluster van Ugilec 141 samen met de PCB's 136, 151, 149, 118, 143, 153, 141 en 138. Scheiding bij de clean-up is gezien de overeenkomstige fysisch-chemische eigenschappen van PCB's en DBDT's niet mogelijk.

GC-MS analyse wordt uitgevoerd met de Electron Impact (EI) ionisatie techniek, omdat de gevoeligheid van Negative Chemical Ionization (NCI) voor de diverse Ugilec 141-isomeren sterk verschillend is. Er wordt gemeten bij m/z 320.0 met een controle bij m/z 318.0 – weliswaar niet de meest intensieve pieken uit het massaspectrum -, omdat hierbij de minste verstoring door eventueel olie-residu in het extract optreedt. De kwantificering wordt uitgevoerd met behulp van een externe standaard van Ugilec 141 op de zes meest intensieve responses, waarbij gecorrigeerd wordt voor de interne standaard $^{13}\text{C}_6$ DBDT 80 (m/z 326 en 324). Het signaal wordt gecontroleerd met behulp van de injectie standaard $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 141 (m/z 372).

Analyse met een quadrapool MS is noodzakelijk omdat de gevoeligheid van een ITD-systeem sterk beïnvloed wordt door chemische achtergrond als gevolg van olie residuen.

Validatie

De methode is lineair over een gebied van 0.25 tot 60 mg Ugilec 141/kg olie. De nauwkeurigheid over een beperkt concentratie gebied van 0.25 tot 8 mg Ugilec 141 /kg olie, waarbinnen de gehalten in de meeste monsters verwacht worden, is 3 %. Bij de beschreven in bewerking genomen hoeveelheid monster, opwerkingsmethode en GC-MS instrument, kan een bepalingsgrens van 0.25 mg Ugilec 141/kg olie gehaald worden. De recovery van de methode is ongeveer 65 %, maar is gezien de toepassing van een ¹³C gelabelde interne standaard niet van direct belang.

6.2 Voorkomen van Ugilec 141 in afvalolie in Nederland

In 1990 en 1993 zijn oliemonsters genomen verspreid over heel Nederland bij een aantal grote afvalolieverwerkers om te controleren of hierin Ugilec 141 voorkomt, in het kader van de Wet Milieugevaarlijke Stoffen. In 74 monsters werd slechts in één geval een gehalte van 5.7 mg Ugilec 141/kg olie aangetroffen.

In het kader van een inspectie onderzoek werd echter in een tweetal monsters een zeer hoge concentratie Ugilec 141 aangetroffen van resp. 45 en 116 g/kg olie. Dergelijke partijen olie kunnen ook geïdentificeerd worden, als daartoe bij de regulier uitgevoerde PCB-analyse, de chromatografie voldoende geïnterpreteerd wordt.

Uit deze gegevens mag geconcludeerd worden dat er geen grote stromen met Ugilec 141 verontreinigde afvalolie in Nederland ingevoerd en verwerkt worden, maar dat incidenteel een verontreinigde partij kan voorkomen.

Concluderend

De ontwikkelde methode is - wat de monstervoorbewerking betreft - een bewerkelijke maar verder nauwkeurige en voldoende gevoelige methode voor de bepaling van Ugilec 141 in afvalolie met behulp van GC-MS. In de praktijk voldoet de methode redelijk. Er zullen echter, als gevolg van de grote variëteit in afvaloliën en mogelijke verontreinigingen daarin, regelmatig verstoringen van het signaal blijven optreden.

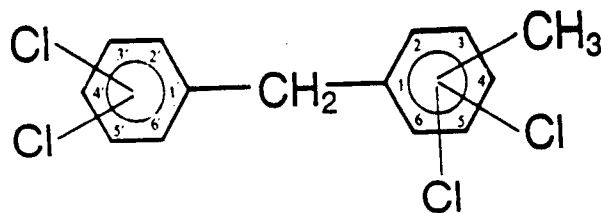
REFERENTIES

1. Fürst P., Krüger C., Meemken H.A., Groebel W.
Determination of the polychlorinated biphenyl substitute ugilec (tetrachlorobenzyltoluenes) in fish
J. Chromatogr. 405, 1987, 311-317
2. Fürst P., Krüger C., Meemken H.A., W. Groebel
Gehalte des PCB-Ersatzproduktes Ugilec (Tetrachlorobenzyltoluole) in Fischen aus Gebieten mit intensivem Bergbau
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 185, 1987b, 394-397
3. Rönnefahrt B.
Nachweis und Bestimmung des PCB-Ersatzproduktes Ugilec 141 in Wasserproben aund Fischen aus der Lippe
Deutsche Lebensm. Rundschau 7, 1987, 214-218
4. Friege H., Stock W., Alberti J., Poppe A., Juhnke I., Knie J., Schiller W.
Environmental behaviour of polychlorinated mono methyl-substituted diphenyl methanes (Me-PCDMs) in comparison with polychlorinated biphenyls (PCBs)
II: environmental residues and aquatic toxicity
Chemosphere 18, 1989, 1367-78
5. Poppe A., Alberti J., Friege H.
Ökotoxikologische Einschätzung des PCB-Ersatzstoffes Ugilec 141
Aachener Seminar 1988
6. Poppe A., Alberti J., Friege H., Rönnefahrt B.
Umweltgefährdung durch chlorierte Diphenylmethane (Ugilec).
Vom Wasser 70, 1988b, 33-42
7. Leonards P., De Voogt P.
Literatuurstudie gechlloreerde benzyltoluenen (Ugilecs)
ISBN 90-6256-882-3, 1989
8. Visserijonderzoek Jaarverslag 1991 (RIVO-DLO; LEI-DLO; IVP-TNO)
9. LAC workshop Ugilec, dec. 1990
Landbouwadviscommissie milieukritische stoffen, stuurgroep visverontreiniging
Uitgave Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, dec. 1990
10. Wet milieugevaarlijke stoffen Uitvoeringsvoorschriften (C-4.10)
BESLUIT van 13 december 1989, Stb. 560 tot vaststelling van een algemene maatregel van bestuur krachtens artikel 24 van de Wet milieugevaarlijke stoffen (Ugilec 121-, Ugilec 141- en DBBT-besluit Wet milieugevaarlijke stoffen)
11. Ehmann J., Ballschmiter K.
Isomer-specific determination of tetrachlorobenzyltoluenes (TCBT) in the technical mixture Ugilec 141 by capillary gas chromatography
Fres. Z. Anal. Chem. 332, 1989, 904-911
12. Wester P.G., Van der Valk F.
Tetrachlorobenzyltoluenes in eel from the Netherlands
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 45, 1990, 69-73

13. Brand H.
Superschnelle Analyse von PAK, PCB und Ugilec mittels hochauflösender Kapillargaschromatographie mit dem speichernden Massenspektrometerdetektor ITD 800.
Aachener Werkstattgespräch 1989
14. Murk A.J., Van den Berg J.H.J., Koeman J.H., Brouwer A.
The toxicity of tetrachlorobenzyltoluenes (Ugilec 141) and polychlorobiphenyls (Aroclor 1254 and PCB-77) compared in Ah-responsive and Ah-nonresponsive mice.
Environ. Poll. 72, 1991, 57-67
15. Roerden O., Reisinger K., Leymann W. and Frischkorn C.B.G.
A simple clean-up procedure for the quantitative determination of PCBs in complex materials
Fres. Z. Anal. Chem. 334, 1989, 413-417.
16. DIN 51 527 Testing of liquid petroleum products; determination of the content of polychlorinated biphenyls (PCBs); liquid chromatographic pre-separation and determination by gas chromatograph with electron capture detector. Jan. 1986
17. Wegener J.W.M., de Voogt P., Govers H. Voorschrift voor de bepaling van polychloorbifenylene in minerale oliën. IvM R-87/17. Nov. 1987
18. Liem A.K.D., de Jong A.P.J.M., Marsman J.A., den Boer A.C., Groenemeijer G.S., den Hartog R.S., de Korte G.A.L., Hoogerbrugge R., Kootstra P.R., van 't Klooster H.A.
A rapid clean-up procedure for the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in milk samples.
Chemosphere 20, 1990, 843-850.
19. Interne notities LOC.

BIJLAGE 1.

Systematische nummering van dichloorbenzyldichloortolueen isomeren volgens Ehmann en Ballschmiter [11].



No.	Structuur	No.	Structuur
1	2,2',3,3'-Cl ₄ -4-Me	49	2,3,3',5'-Cl ₄ -5-Me
2	2,2',3,3'-Cl ₄ -5-Me	50	2,3,3',5'-Cl ₄ -6-Me
3	2,2',3,3'-Cl ₄ -6-Me	51	2,3',4,4'-Cl ₄ -3-Me
4	2,2',3,4'-Cl ₄ -4-Me	52	2,3',4,4'-Cl ₄ -5-Me
5	2,2',3,4'-Cl ₄ -5-Me	53	2,3',4,5'-Cl ₄ -6-Me
6	2,2',3,4'-Cl ₄ -6-Me	54	2,3',4,5'-Cl ₄ -3-Me
7	2,2',3,5'-Cl ₄ -4-Me	55	2,3',4,5'-Cl ₄ -5-Me
8	2,2',3,5'-Cl ₄ -5-Me	56	2,3',4,5'-Cl ₄ -6-Me
9	2,2',3,5'-Cl ₄ -6-Me	57	2,3',4',5'-Cl ₄ -3-Me
10	2,2',3,6'-Cl ₄ -4-Me	58	2,3',4',5'-Cl ₄ -4-Me
11	2,2',3,6'-Cl ₄ -5-Me	59	2,3',4',5'-Cl ₄ -6-Me
12	2,2',3,6'-Cl ₄ -6-Me	60	2,3',4',6'-Cl ₄ -3-Me
13	2,2',3',4'-Cl ₄ -3-Me	61	2,3',4',6'-Cl ₄ -4-Me
14	2,2',3',4'-Cl ₄ -5-Me	62	2,3',5,5'-Cl ₄ -3-Me
15	2,2',3',4'-Cl ₄ -6-Me	63	2,3',5,5'-Cl ₄ -4-Me
16	2,2',3',5'-Cl ₄ -3-Me	64	2,3',5,5'-Cl ₄ -6-Me
17	2,2',3',5'-Cl ₄ -4-Me	65	2,3',5',6'-Cl ₄ -3-Me
18	2,2',3',5'-Cl ₄ -6-Me	66	2,3',5',6'-Cl ₄ -4-Me
19	2,2',3',6'-Cl ₄ -3-Me	67	2',3,3',4'-Cl ₄ -2-Me
20	2,2',3',6'-Cl ₄ -4-Me	68	2',3,3',4'-Cl ₄ -5-Me
21	2,2',4,4'-Cl ₄ -3-Me	69	2',3,3',4'-Cl ₄ -6-Me
22	2,2',4,4'-Cl ₄ -5-Me	70	2',3,3',5'-Cl ₄ -2-Me
23	2,2',4,4'-Cl ₄ -6-Me	71	2',3,3',5'-Cl ₄ -4-Me
24	2,2',4,5'-Cl ₄ -3-Me	72	2',3,4,4'-Cl ₄ -2-Me
25	2,2',4,5'-Cl ₄ -5-Me	73	2',3,4,4'-Cl ₄ -5-Me
26	2,2',4,5'-Cl ₄ -6-Me	74	2',3,4,4'-Cl ₄ -6-Me
27	2,2',4,6'-Cl ₄ -3-Me	75	2',3,4,5'-Cl ₄ -2-Me
28	2,2',4,6'-Cl ₄ -5-Me	76	2',3,4,5'-Cl ₄ -5-Me
29	2,2',4,6'-Cl ₄ -6-Me	77	2',3,4,5'-Cl ₄ -6-Me
30	2,2',4',5'-Cl ₄ -3-Me	78	2',3,4,6'-Cl ₄ -2-Me
31	2,2',4',5'-Cl ₄ -4-Me	79	2',3,4,6'-Cl ₄ -5-Me
32	2,2',4',5'-Cl ₄ -6-Me	80	2',3,4,6'-Cl ₄ -6-Me
33	2,2',4',6'-Cl ₄ -3-Me	81	2',3,4',5'-Cl ₄ -2-Me
34	2,2',4',6'-Cl ₄ -4-Me	82	2',3,4',5'-Cl ₄ -4-Me
35	2,2',5,5'-Cl ₄ -3-Me	83	2',3,5,5'-Cl ₄ -2-Me
36	2,2',5,5'-Cl ₄ -4-Me	84	2',3,5,5'-Cl ₄ -4-Me
37	2,2',5,5'-Cl ₄ -6-Me	85	2',3,5,6'-Cl ₄ -2-Me
38	2,2',5,6'-Cl ₄ -3-Me	86	2',3,5,6'-Cl ₄ -4-Me
39	2,2',5,6'-Cl ₄ -4-Me	87	3,3',4,4'-Cl ₄ -2-Me
40	2,2',5,6'-Cl ₄ -6-Me	88	3,3',4,4'-Cl ₄ -5-Me
41	2,2',5',6'-Cl ₄ -3-Me	89	3,3',4,4'-Cl ₄ -6-Me
42	2,2',5',6'-Cl ₄ -4-Me	90	3,3',4,5'-Cl ₄ -2-Me
43	2,2',6,6'-Cl ₄ -3-Me	91	3,3',4,5'-Cl ₄ -5-Me
44	2,2',6,6'-Cl ₄ -4-Me	92	3,3',4,5'-Cl ₄ -6-Me
45	2,3,3',4'-Cl ₄ -4-Me	93	3,3',4',5'-Cl ₄ -2-Me
46	2,3,3',4'-Cl ₄ -5-Me	94	3,3',4',5'-Cl ₄ -4-Me
47	2,3,3',4'-Cl ₄ -6-Me	95	3,3',5,5'-Cl ₄ -2-Me
48	2,3,3',5'-Cl ₄ -4-Me	96	3,3',5,5'-Cl ₄ -4-Me

BIJLAGE 2.

Lijst met begrippen en afkortingen.

DBDT	DichloorBenzylDichloorToluenen
DBBT	DiBroomBenzylToluenen
DIN	Duitse Norm
ds	droge stof
ECNICI (NCI)	Electron-Capture Negative Ion Chemical Ionization (bij MS)
ECD	Electron Captieve Detektie
EI	Electron Impact (bij MS)
GC	GasChromatografie
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IvM	Instituut voor Milieuvraagstukken (Amsterdam)
ITD	Ion Trap Detection
MS	MassaSpectrometrie
NP	Normal Phase (bij HPLC)
PCB	PolyChloorBifenyl
PCDD	PolyChloorDibenzo-p-Dioxine
PCDF	PolyChloorDibenzoFuraan
SIM	Selected Ion Monitoring
TCBT	TetraChloorBenzylToluenen
Ugilec 121	technisch mengsel van monochloorbenzylmonochloortoluenen
Ugilec 141	technisch mengsel van dichloorbenzyl dichloortoluenen
WMS	Wet Milieugevaarlijke Stoffen