



Vlaanderen
is materiaalbewust



ONDERZOEK ANALYSETECHNIEK MINERALE OLIE IN SEDIMENT

VERWIJDERING BIOGENE INTERFERENTEN

SAMEN MAKEN WE
MORGEN MOOIER

OVAM

WWW.OVAM.BE

////////////////////////////////////

ONDERZOEK
ANALYSETECHNIEK
MINERALE OLIE IN
SEDIMENT

Verwijdering biogene interferenten
publicatiedatum / 31.12.2020

////////////////////////////////////

DOCUMENTBESCHRIJVING

- | | |
|---|--|
| 1 <i>Titel van publicatie:</i>
Onderzoek analysetechniek minerale olie in sediment | 2 <i>Verantwoordelijke Uitgever:</i>
OVAM |
| 3 <i>Wettelijk Depot nummer:</i> D/2020/5024/24 | 4 <i>Trefwoorden:</i>
Minerale olie, sediment, biogeen, petrogeen, clean-up |
| 5 <i>Samenvatting:</i>
Er wordt een procedure gevalideerd zodat waterbodemstalen niet onterecht als verontreinigd worden geclassificeerd. Indien er een overschrijding van de normen voor minerale olie wordt vastgesteld, dan kan dit veroorzaakt worden doordat biogene minerale olie wordt gemeten i.p.v. petrogeene minerale olie. De clean-up-techniek voor minerale olie in sedimenten en de verwijdering van biogene interferenten is onderzocht. | |
| 6 <i>Aantal bladzijden:</i> 56 | 7 <i>Aantal tabellen en figuren:</i> 22 T / 48 F |
| 8 <i>Datum publicatie:</i>
31 december 2020 | 9 <i>Prijs*:</i> / |
| 10 <i>Begeleidingsgroep en/of auteur:</i>
Servaco nv
Sertius cvba
PIH
OVAM | 11 <i>Contactpersonen:</i>
Benny Heirman (Servaco)
Bart Meyns (Sertius)
Donald Vergauwe (PIH)
Dirk Dedecker (OVAM) |
| 12 <i>Andere titels over dit onderwerp:</i> / | |

U hebt het recht deze brochure te downloaden, te printen en digitaal te verspreiden. U hebt niet het recht deze aan te passen of voor commerciële doeleinden te gebruiken.

De meeste OVAM-publicaties kunt u raadplegen en/of downloaden op de OVAM-website:

<http://www.ovam.be>

* Prijswijzigingen voorbehouden.

INHOUD

Deel I – Validatie analysetechniek.....	7
1 Doel.....	7
2 Onderzoek.....	8
3 Werkwijze	9
3.1 Vooronderzoek	9
3.1.1 Type materiaal voor clean-up	9
3.1.2 Toepassingswijze	9
3.1.3 Detectiemethode	10
3.2 Eerste indicatief onderzoek	10
3.2.1 Onderzoek	10
3.2.2 Resultaten	10
3.2.3 Conclusie	11
3.3 Validering van de gekozen procedure	11
3.3.1 Surrogaat	12
4 Resultaten	15
4.1 Vergelijkend onderzoek tussen bestaande procedure en nieuwe procedure met clean-up	15
4.2 Berekening van reproduceerbaarheid en juistheid	16
4.2.1 Reproduceerbaarheid	17
4.2.2 Juistheid	17
5 Algemene conclusie	18
Deel II – Bijkomende validatie analysetechniek	19
6 Doel.....	19
7 Overzicht onderzoek	20
8 Werkwijze	21
8.1 Overzicht van de gebruikte monsters	21
8.2 Validatieplan	23
8.3 Vergelijkend onderzoek tussen bestaande procedure en nieuwe procedure met Clean-up	23
8.4 Bepaling van de statistische kerngetallen	27
8.4.1 Herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt CVr	28
9 Algemene conclusie	30
Bijlage 1: Overlay van de chromatogrammen van de huidige en de nieuwe procedure	31
Staal-01	31
Staal-02	32
Staal-03	33
Staal-04	34
Staal-05	35
Staal-06	36
Staal-07	37
Staal-08	38

Bijlage 2.1: Overlay van chromatogrammen – petrogene verontreiniging	39
Staal-1942361-01	39
Staal-1942361-01 duplo	39
Staal-1942361-02	40
Staal-1942361-02 duplo	40
Staal-1942361-03	41
Staal-1942361-03 duplo	41
Staal-1942361-04	42
Staal-1942361-04 duplo	42
Staal-1942361-05	43
Staal-1942361-05 duplo	43
Staal-1942361-06	44
Staal-1942361-06 duplo	44
Bijlage 2.2: Overlay van chromatogrammen – biogene verontreiniging	45
Staal-1942361-07	45
Staal-1942361-07 duplo	45
Staal-1942361-08	46
Staal-1942361-08 duplo	46
Staal-1942361-09	47
Staal-1942361-09 duplo	47
Staal-1942361-10	48
Staal-1942361-10 duplo	48
Staal-1942361-11	49
Staal-1942361-11 duplo	49
Staal-1942361-12	50
Staal-1942361-12 duplo	50
Bijlage 2.3: Overlay van chromatogrammen – Gemengde verontreiniging	51
Staal-1942361-13	51
Staal-1942361-13 duplo	51
Staal-1942361-1	52
Staal-1942361-14 duplo	52
Staal-1942361-15	53
Staal-1942361-15 duplo	53
Staal-1942361-16	54
Staal-1942361-16 duplo	54
Staal-1942361-17	55
Staal-1942361-17 duplo	55
Staal-1942361-18	56
Staal-1942361-18 duplo	56

DEEL I – VALIDATIE ANALYSETECHNIEK

1 DOEL

Vanuit de VMM (resultaten waterbodemmeetnet) werd in het verleden het signaal gegeven dat er vaak een overschrijding van de normen voor minerale olie (cfr. [CMA/3/R.1](#)) wordt vastgesteld in sedimenten en dat dit kan veroorzaakt worden doordat biogene minerale olie wordt gemeten i.p.v. petrogene minerale olie. Om een antwoord te formuleren heeft OVAM als partner in het Europees Interreg project Sullied Sediments (Interreg VB Nort Sea Region Programme) een procedure laten onderzoeken zodat waterbodemstalen niet onterecht als verontreinigd worden geclassificeerd door de aanwezigheid van biogene minerale olie.

De voorgeschreven methode voor het bepalen van het gehalte aan minerale olie C10-C40 is de methode via GC/FID ([CMA/3/R.1](#)). Deze methode is evenwel niet specifiek in die zin dat zowel koolwaterstoffen van biogene als petrogene oorsprong zonder onderscheid bepaald worden en het totaalresultaat uitmaken. In overleg met het erkend laboratorium Servaco (Wevelgem) is nagegaan welke methodes op vandaag beschikbaar zijn voor de bepaling van minerale olie, alsook welke gewijzigde of aangepaste werkwijze eventueel gehanteerd zou kunnen worden om valse positieven ten gevolge van koolwaterstoffen van biogene oorsprong te vermijden.

2 ONDERZOEK

- Vooronderzoek:
 - Type materiaal voor clean-up
 - Toepassingswijze
 - Detectiemethode

- Eerste indicatief onderzoek:
 - Selectie voor werkwijze van vervolgonderzoek

- Validering van de gekozen procedure:
 - Selectie van de stalen:
 - ④ 6 stalen met hoge biogene belasting;
 - ④ 2 stalen met gemengde biogene en petrogene belasting;
 - Validatie procedure:

Op de 8 geselecteerde stalen wordt volgend onderzoek uitgevoerd:

 - ④ Dag 1: Bepaling minerale olie bestaande procedure en nieuwe procedure
 - ④ Dag 2: Duplo nieuwe procedure
 - ④ Dag 3: Doperen met minerale olie (min. 4 uur verouderen en bepaling minerale olie nieuwe procedure)
 - Vergelijkend onderzoek tussen bestaande procedure en nieuwe procedure met clean-up.
 - Berekening van reproduceerbaarheid en juistheid.;

- Algemene conclusie.

3 WERKWIJZE

3.1 VOORONDERZOEK

3.1.1 Type materiaal voor clean-up

Er worden drie types clean-up onderzocht die mogelijk een positieve invloed hebben op het verwijderen van biogene interferenten:

- Silica clean-up (gebaseerd op CMA/3/R.3);
- Florisil clean-up:
 - Batch florisil clean-up overmaat florisil (gebaseerd op [CMA/3/R.1](#));
 - Florisil clean-up via cartridges (2 g florisil) (gebaseerd op ISO16703:2004).

3.1.2 Toepassingswijze

3.1.2.1 Silica clean-up (gebaseerd op CMA/3/R.3)

- Spoel een glazen chromatografiekolom met dichloormethaan;
- vul de kolom met achtereenvolgens 3 g geactiveerde silica en 0,5 cm Na₂SO₄;
- spoel met x ml dichloormethaan en verwijder het eluaat;
- spoel met y ml n-hexaan en verwijder het eluaat;
- breng het n-hexaanextract op de kolom en vang op in een ASE vial;
- spoel na met 3 ml n-hexaan en elueer met 12 ml n-hexaan;
- elueer vervolgens met 15 ml dichloormethaan/hexaan (50/50);
- vang alles samen op en damp in onder een zachte stikstofstroom tot 1 ml.

3.1.2.2 Florisil clean-up

a. **Batch florisil clean-up (gebaseerd op CMA/3/R.1):**

Voor de minerale olie bepaling wordt rekening gehouden met een florisil verhouding van 3 g florisil per 10 gram nat monster (CMA/3/R.1). Bij grote concentraties aan biogene interferenten kan het zijn dat deze hoeveelheid niet volstaat om alle biogene interferenten te verwijderen. Er wordt gewerkt met een overmaat florisil (6 g florisil per 10 g nat monster) om meer biogene interferenten te verwijderen uit het extract. In de vial van het extract wordt florisil toegevoegd en 10 min op het schudtoestel (300 rpm) geplaatst. Na bezinken (en eventueel centrifugeren wordt de bovenstaande fase overgebracht in een nieuwe AS vial.

b. **Florisil clean-up via cartridges (gebaseerd op ISO16703/2004):**

Cfr. ISO16703 is het heel belangrijk dat het extract vrij is van aceton (< 0.1vol%), daartoe wordt het extract een 2^{de} maal gewassen met MgSO₄-water alvorens de clean-up uit te voeren:

- spoel een Florisil cartridge voor met 2 x 3 ml hexaan;
- breng het n-hexaanextract (1 ml) op de kolom en vang op in een ASE vial - Elueer met 3 x 3 ml n-hexaan;
- damp in onder een zachte stikstofstroom tot 1 ml.

3.1.3 Detectiemethode

De detectie gebeurt a.d.h.v. GC/FID (Flame Ionisation Detector) om de bekomen waarden beter te kunnen vergelijken met het initiële minerale olie resultaat.

3.2 EERSTE INDICATIEF ONDERZOEK

3.2.1 Onderzoek

Verkennend onderzoek van de vooropgestelde types clean-up aan de hand van:

- 6 types minerale olie (verspreid over het volledige kookpunttraject):
 - Mengsel alifatische en aromatische verbindingen (cfr CMA/3/R.3).
 - Alkanenreeks van C₁₀ tot en met C₄₄.
 - RIVM-olie (mengsel mazout/smeerolie 50/50).
 - Motorolie SAE-30.
 - Afgedraaide motorolie.
 - Paraffine.
- 3 reële veenverontreinigingen.

Veenstalen	Concentratie minerale olie C10-C40 (mg/kg DS)
Staal A	343
Staal B	376
Staal C	748

Tabel 1: Concentratie minerale in veenstalen

3.2.2 Resultaten

3.2.2.1 % Terugvinding van minerale olietypes bij Florisil-cartridge en Silica clean-up t.o.v. batch Florisil

Type minerale olie	% Terugvinding Florisil-cartridge t.o.v. batch Florisil clean-up	% Terugvinding Silica Clean-up t.o.v. batch Florisil clean-up
Mengsel alifatische en aromatische verbindingen (cfr. CMA/3/R.3)	110	167
KWST	93	92
STMO (RIVM-olie)	105	109
Motorolie SAE-30	104	111
Afgedraaide motorolie	98	105
Paraffine	91	87

Tabel 2: % Terugvinding van minerale olietypes

3.2.2.2 % Terugvinding van minerale olie in veenstalen bij Florisil-cartridge, Silica clean-up en overmaat batch Florisil clean-up t.o.v. gangbare batch Florisil clean-up

Veenstalen	% Terugvinding Florisil-cartridge t.o.v. batch Florisil clean-up	% Terugvinding Silica clean-up t.o.v. batch Florisil clean-up	% Terugvinding overmaat Florisil-batch t.o.v. batch Florisil clean-up
Staal A (343 mg/kgDS)	30	50	54
Staal B (376 mg/kgDS)	36	46	62
Staal C (748 mg/kgDS)	16	41	38

Tabel 3: % Terugvinding van minerale olie in veenstalen

Voorgaande resultaten geven aan dat:

- De terugvinding van minerale olie bij gebruik van de Florisil-cartridge ligt voor alle onderzochte types tussen 90 en 110% t.o.v. clean-up via de bestaande procedure voor minerale olie bepaling.
- Bij gebruik van de silica clean-up is er een te hoge terugvinding voor het mengsel van alifatische en aromatische verbindingen. Dit is te verklaren door het feit dat de aromatische verbindingen met de dichloormethaan mee-elueren. De biogene interferenten (die we willen verwijderen) worden dan echter ook een voor een deel mee geëluëerd.
- Er is een duidelijk verschil tussen de clean-up via Florisil-cartridge en de Silica clean-up van de reële veen stalen. De Florisil-cartridge verwijdert meer biogene interferenten dan de Silica-cartridge;
- De overmaat Florisil-batch clean-up kan niet evenveel biogene interferenten verwijderen als bij het gebruik van de Florisil-cartridge.

3.2.3 Conclusie

Er wordt geopteerd om verder te werken met de Florisil-cartridge (2 g florisil) als extra clean-up voor de verwijdering van biogene interferenten.

3.3 VALIDERING VAN DE GEKOZEN PROCEDURE

Er worden 8 stalen geselecteerd waarvan 6 met hoofdzakelijk biogene verontreiniging en 2 met gemengde (biogene/petrogene) verontreiniging. Er wordt gekozen voor stalen met een concentratie > 300 mg/kg DS. Volgende stalen worden gekozen:

	Matrix	Oorsprong	Verontreiniging	Range minerale olie C10-C40 (mg/kg DS)	Voordrogen
STAAL01	Waterbodem	Kustpolder	Biogeen	± 300	JA
STAAL02	Waterbodem	Onbekend	Biogeen	± 300	JA
STAAL03	Waterbodem	Ampsin	Biogeen	± 500	JA
STAAL04	Waterbodem	IJzerpolder	Biogeen	± 1000	JA
STAAL05	Waterbodem	Onbekend	Biogeen	± 1000	NEE
STAAL06	Waterbodem	Onbekend	Gemengd	± 750	NEE
STAAL07	Waterbodem	IJzerpolder	Biogeen	± 750	JA
STAAL08	Waterbodem	Onbekend	Gemengd	± 1000	JA

Tabel 4: Geselecteerde stalen

3.3.1 Surrogaat

Om aan te tonen dat de Florisil clean-up efficiënt verlopen is wordt een biogene component (bijvoorbeeld: stearyl stearaat) als surrogaat gespiked net voor de Florisil opzuivering. Stearyl stearaat vertoont een piek in het chromatogram op een retentietijd overeenkomend met de retentietijd van C₃₇. Deze mag in het eindextract niet meer aanwezig zijn.

Op de 8 geselecteerde stalen wordt volgend onderzoek uitgevoerd:

– Dag 1: Bepaling minerale olie bestaande procedure (BCMO) en nieuwe procedure (CU):

BCMO-procedure	Nieuwe procedure
BI-01	BI-01CU
QC-01	QC-01CU
STAAL01-01 BCMO	STAAL01-01CU
STAAL02-01 BCMO	STAAL02-01CU
STAAL03-01 BCMO	STAAL03-01CU
STAAL04-01 BCMO	STAAL04-01CU
STAAL05-01 BCMO	STAAL05-01CU
STAAL06-01 BCMO	STAAL06-01CU
STAAL07-01 BCMO	STAAL07-01CU
STAAL08-01 BCMO	STAAL08-01CU

Tabel 5: Dag 1 - Onderzochte stalen

– Dag 2: Bepaling minerale olie nieuwe procedure (CU):

Nieuwe procedure
BI-02CU
QC-02CU
STAAL01-02CU
STAAL02-02CU
STAAL03-02CU
STAAL04-02CU
STAAL05-02CU
STAAL06-02CU
STAAL07-02CU
STAAL08-02CU

Tabel 6: Dag 2 - Onderzochte stalen

- Dag 3: **50 µl R463** (± 250 mg/kg DS op basis van 10 g monster en 100%DS) (min 4 uur verouderen en bepaling minerale olie nieuwe procedure):

Nieuwe procedure
BI-03CU
QC-03CU
STAAL01-03CU
STAAL02-03CU
STAAL03-03CU
STAAL04-03CU
STAAL05-03CU
STAAL06-03CU
STAAL07-03CU
STAAL08-03CU

Tabel 7: Dag 3 - Onderzochte stalen

4 RESULTATEN

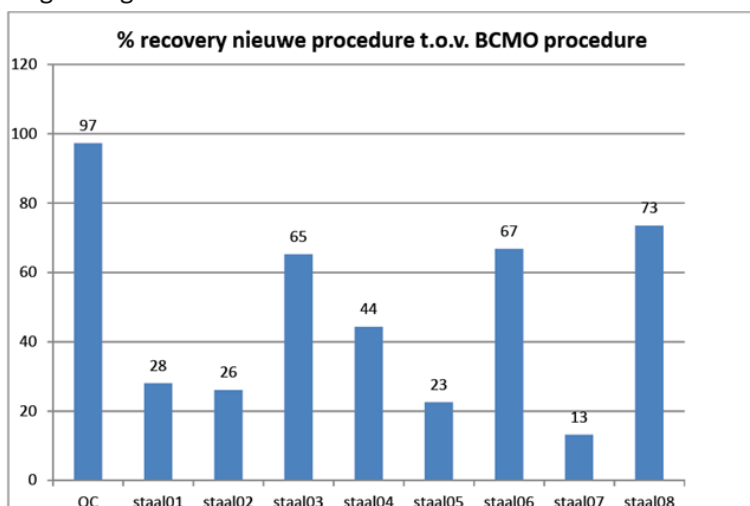
4.1 VERGELIJKEND ONDERZOEK TUSSEN BESTAANDE PROCEDURE EN NIEUWE PROCEDURE MET CLEAN-UP

De 8 stalen worden na extractie afgewerkt via de bestaande en de nieuwe procedure. Het minerale olie gehalte wordt gemeten via GCFID. De resultaten van het minerale olie gehalte worden weergegeven in volgende tabel:

	BCMO-procedure (mg/kg DS)	Nieuwe procedure CU (mg/kg DS)
BL (< 25 mg/kg DS)	24	19
QC (500 mg/kg DS)	510	496
staal01	318	89
staal02	280	73
staal03	686	447
staal04	1041	461
staal05	1269	286
staal06	688	459
staal07	814	107
staal08	1040	764

Tabel 8: Analyseresultaten

Het % terugvinding van de nieuwe procedure (na clean-up) t.o.v. de bestaande procedure wordt uitgezet in volgende grafiek:



Figuur 1: % terugvinding van de nieuwe procedure

Een overlay van de chromatogrammen van de huidige procedure en de nieuwe procedure zijn voor de 8 stalen in bijlage 1 toegevoegd.

Uit de chromatogrammen en bovenstaande resultaten wordt geconcludeerd:

- De QC (petrogeen mengsel van diesel en smeerolie) wordt volledig terug gevonden.
- De piek van stearylstearaat is nog aanwezig in het extract bij de huidige procedure. Dit betekent dat de huidige procedure niet alle biogene interferenten uit het extract kan verwijderen. Bij de nieuwe procedure met clean-up is deze piek volledig weg. Dit geeft aan dat de clean-up efficiënt is verlopen.
- Stalen die voornamelijk bestaan uit biogene individuele pieken worden met meer dan 70% gereduceerd. (bijvoorbeeld: staal 01, 02, 05, 07).
- Bij stalen die bestaan uit biogene individuele pieken gelegen op een bult wordt opgemerkt dat de biogene individuele pieken worden verwijderd door de clean-up, de bult blijft aanwezig. Het is vooralsnog onduidelijk of deze KWS-bult als biogeen of petrogeen beoordeeld dient te worden. Ondanks het initiële vermoeden van 'biogene origine' hebben we hier mogelijks ook te maken met een gemengde verontreiniging. De terugvinding bij deze stalen ligt dus ook iets hoger (bijvoorbeeld staal 03 en 04).
- Bij stalen die bestaan uit een gemengde verontreiniging blijft de petrogeene fractie aanwezig, de biogene individuele pieken worden verwijderd door de extra clean-up. Dit verklaart ook de hogere terugvinding bij deze stalen (bijvoorbeeld staal 06 en 08).

4.2 BEREKENING VAN REPRODUCEERBAARHEID EN JUISTHEID

Er worden 8 verschillende stalen in duplo geanalyseerd onder reproduceerbaarheidscondities (dag 1 en dag 2). Op dag 3 worden de 8 stalen gedopeerd met RIVM olie (± 250 mg/kg DS op basis van 10 g monster en 100% DS).

De stalen worden volgens de nieuwe procedure afgewerkt en in reproduceerbaarheid geanalyseerd. De resultaten van het minerale olie gehalte worden weergegeven in volgende tabel:

	Dag 1 mg/kg DS	Dag 2 Duplo mg/kg DS	Dag 3 Spike mg/kg DS	Dag 3 Spike mg/kg DS
Staal 01	89	93	304	99
Staal 02	73	79	283	95
Staal 03	447	430	657	84
Staal 04	461	451	676	101
Staal 05	286	309	595	93
Staal 06	459	538	682	72 ¹
Staal 07	107	117	300	86
Staal 08	764	799	1010	107

Tabel 9: Reproduceerbaarheid

¹ Staal 06 ligt verder van de rest maar is geen significante uitschieter (cfr. Grubbs-test). Dit staal wordt dus ook verder mee in rekening gebracht bij de verdere verwerking van de resultaten

4.2.1 Reproduceerbaarheid

$$CV_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{x_{i1} - x_{i2}}{0.5(x_{i1} + x_{i2})} \right)^2}{2n}} * 100\%$$

CV = variatiecoëfficiënt, in %

n = aantal monsters in duplo geanalyseerd

x_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

x_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

De CV moet kleiner zijn dan 15%.

Variatiecoëfficiënt CV %	
MO C ₁₀ - C ₄₀	6

Tabel 10: variatiecoëfficiënt

Besluit: De vooropgestelde CV van 15% wordt behaald.

4.2.2 Juistheid

De gemiddelde recovery en bias worden bepaald.

De absolute waarde van de bias moet kleiner zijn dan 20%.

	Juistheid	
	% Recovery	Bias b ²
MO C ₁₀ – C ₄₀	92.2%	-7.8

Tabel 11: Juistheid

Besluit: De absolute waarde van de juistheid (bias) is kleiner dan 20%

² b = Avg(terugvinding)-100%

5 ALGEMENE CONCLUSIE

De huidige methode voor analyse van minerale olie is niet in staat om alle biogene interferenten te verwijderen. Met behulp van een extra clean-up kunnen de biogene interferenten verwijderd worden zonder dat de petrogene fractie verloren gaat. De Florisil-cartridge is het meest geschikt voor deze clean-up. Stalen met een hoofdzakelijk biogene verontreiniging geven een reductie van 70 % door toepassing van de clean-up. Na validatie blijkt de procedure te voldoen aan het beoogde gebruik en vooropgestelde eisen voor reproduceerbaarheid en juistheid.

Verdere optimalisatie met gebruik van MS-detector kan overwogen worden voor monsters die bestaan uit biogene individuele pieken gelegen op een bult. De biogene individuele pieken worden verwijderd door de clean-up, de bult blijft aanwezig. Het is voornamelijk onduidelijk of deze KWS-bult als biogeen of petrogeen beoordeeld dient te worden.

DEEL II – BIJKOMENDE VALIDATIE ANALYSETECHNIEK

6 DOEL

In deel I is een procedure opgesteld zodat (water)bodemstalen (sediment) niet onterecht als verontreinigd worden geclassificeerd (zie opdracht 1934661). De bekomen procedure van deel I wordt verder gevalideerd.

7 OVERZICHT ONDERZOEK

- 1 Minerale olie procedure voor de verwijdering van de biogene interferenten:
 - Extractie van het monster volgens CMA/3/R.1.
 - Florisil clean-up via cartridge (gebaseerd op ISO16703:2004).
 - Detectiemethode: GC/FID (Flame Ionisation Detector).

- 2 Bijkomende validering van de geselecteerde procedure:
 - Selectie van de monsters:
 - 6 bodemmonsters die een petrogene verontreiniging (mazout) bevatten in een variabele concentratie.
 - 6 bodem- en waterbodemonsters die vermoedelijk voornamelijk biogene individuele interferenten bevatten met een variabele concentratie.
 - 6 bodem en bodem-slibmonsters die vermoedelijk een gemengde verontreiniging bevatten (biogene individuele interferenten op een KWS-bult) met een variabele concentratie.
 - Validatieprocedure:
 - 18 geselecteerde stalen worden in duplo geëxtraheerd, vervolgens wordt elk extract afgewerkt volgens de standaard procedure (= [CMA/3/R.1](#)) en bovenstaande nieuwe procedure met de bijkomende opzuivering ter verwijdering van de biogene interferenten.
 - Vergelijkend onderzoek tussen bestaande procedure en nieuwe procedure met clean-up.
 - Berekening van statistische kengetallen.

- 3 Algemene conclusie.

8 WERKWIJZE

1 Minerale olie procedure voor de verwijdering van de biogene interferenten

- Extractie van het monster volgens [CMA/3/R.1](#):
 - Bodem- en waterbodemonsters met voldoende hoog droge stof gehalte worden eerst vermengd met natriumsulfaat (Na₂SO₄) als droogmiddel en nadien aan een PLE-extractie ('Pressurized Liquid Extraction') met een n-hexaan/acetone mengsel (50/50) onderworpen. Indien de PLE-extractie praktisch moeilijk uitvoerbaar is of onvoldoende monsterinname toelaat, omwille van het te laag droge stofgehalte (< 70%DS) wordt een soxhlet-extractie uitgevoerd.
- Florisil clean-up via cartridge (gebaseerd op ISO16703:2004):
 - Volgens ISO16703 is het heel belangrijk dat het extract vrij is van acetone (<0.1vol%), daartoe wordt het extract een 2de maal gewassen met MgSO₄-water alvorens de clean-up uit te voeren:
 - ④ Spoel een Florisil cartridge (6ml / 2000mg) voor met 2X 3 ml hexaan.
 - ④ Breng het n-hexaanextract (1 ml) op de kolom en vang op in een ASE vial.
 - ④ Elueer met 3 x 3 ml n-hexaan.
- Damp in onder een zachte stikstofstroom tot 1 ml.
- Detectiemethode:
 - De detectie gebeurt a.d.h.v. GC/FID (Flame Ionisation Detector).

2 Bijkomende validering van de geselecteerde procedure.

8.1 OVERZICHT VAN DE GEBRUIKTE MONSTERS

Er worden 18 monsters geselecteerd:

- 6 bodemonsters die een petrogene verontreiniging (mazout) bevatten in een variabele concentratie:

Monsternr	Matrix	Oorsprong	Range minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ (mg/kg DS)	Voordrogen	Extractie
1942361-01	Bodem	Onbekend	± 900	Neen	PLE
1942361-02	Bodem	Onbekend	± 700	Neen	PLE
1942361-03	Bodem	Onbekend	± 3200	Neen	PLE
1942361-04	Bodem	Onbekend	± 1200	Neen	PLE
1942361-05	Bodem	Onbekend	± 1300	Neen	PLE
1942361-06	Bodem	Hasselt	± 500	Neen	PLE

Tabel 12: Bodemonsters met petrogene verontreiniging

- 6 bodem- en waterbodemonsters die vermoedelijk voornamelijk biogene individuele interferenten bevatten met een variabele concentratie:

Monsternr	Matrix	Oorsprong	Range minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ (mg/kg DS)	Voordrogen	Extractie
1942361-07	Waterbodem	Haven van Brussel	± 300	Ja	PLE
1942361-08	Bodem	Aalst	± 150	Neen	PLE
1942361-09	Waterbodem	Haven van Brussel	± 600	Ja	PLE
1942361-10	Waterbodem	Onbekend	± 300	Ja	PLE
1942361-11	Waterbodem	Onbekend	± 300	Neen	Soxhlet
1942361-12	Bodem	Onbekend	± 1400	Neen	Soxhlet

Tabel 13: Bodemonsters met biogene interferenten

- 6 bodem en bodem-slibmonsters die vermoedelijk een gemengde verontreiniging bevatten (biogene individuele interferenten op een KWS-bult) met een variabele concentratie:

Monsternr	Matrix	Oorsprong	Range minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ (mg/kg DS)	Voordrogen	Extractie
1942361-13	Bodem	Onbekend	± 350	Neen	PLE
1942361-14	Bodem	Onbekend	± 350	Neen	soxhlet
1942361-15	Bodem	Onbekend	± 250	Neen	PLE
1942361-16	Waterbodem	Onbekend	± 300	Ja	PLE
1942361-17	Waterbodem	Onbekend	± 1400	Ja	PLE
1942361-18	Bodem	Vichte	± 600	Ja	PLE

Tabel 14: Bodemonsters met gemengde verontreiniging

8.2 VALIDATIEPLAN

Alle 18 monsters worden in duplo geëxtraheerd (analyse A en B). Elk extract wordt afgewerkt volgens de standaardprocedure (= CMA/3/R.1) en de nieuwe procedure met de bijkomende clean-up (CU), ter verwijdering van de biogene interferenten:

Monsternr	Standaardprocedure (= CMA/3/R.1)		Nieuwe procedure	
1942361-01	1942361-01 A	1942361-01 B	1942361-01 A CU	1942361-01 B CU
1942361-02	1942361-02 A	1942361-02 B	1942361-02 A CU	1942361-02 B CU
1942361-03	1942361-03 A	1942361-03 B	1942361-03 A CU	1942361-03 B CU
1942361-04	1942361-04 A	1942361-04 B	1942361-04 A CU	1942361-04 B CU
1942361-05	1942361-05 A	1942361-05 B	1942361-05 A CU	1942361-05 B CU
1942361-06	1942361-06 A	1942361-06 B	1942361-06 A CU	1942361-06 B CU
1942361-07	1942361-07 A	1942361-07 B	1942361-07 A CU	1942361-07 B CU
1942361-08	1942361-08 A	1942361-08 B	1942361-08 A CU	1942361-08 B CU
1942361-09	1942361-09 A	1942361-09 B	1942361-09 A CU	1942361-09 B CU
1942361-10	1942361-10 A	1942361-10 B	1942361-10 A CU	1942361-10 B CU
1942361-11	1942361-11 A	1942361-11 B	1942361-11 A CU	1942361-11 B CU
1942361-12	1942361-12 A	1942361-12 B	1942361-12 A CU	1942361-12 B CU
1942361-13	1942361-13 A	1942361-13 B	1942361-13 A CU	1942361-13 B CU
1942361-14	1942361-14 A	1942361-14 B	1942361-14 A CU	1942361-14 B CU
1942361-15	1942361-15 A	1942361-15 B	1942361-15 A CU	1942361-15 B CU
1942361-16	1942361-16 A	1942361-16 B	1942361-16 A CU	1942361-16 B CU
1942361-17	1942361-17 A	1942361-17 B	1942361-17 A CU	1942361-17 B CU
1942361-18	1942361-18 A	1942361-18 B	1942361-18 A CU	1942361-18 B CU

Tabel 15: Validatieplan

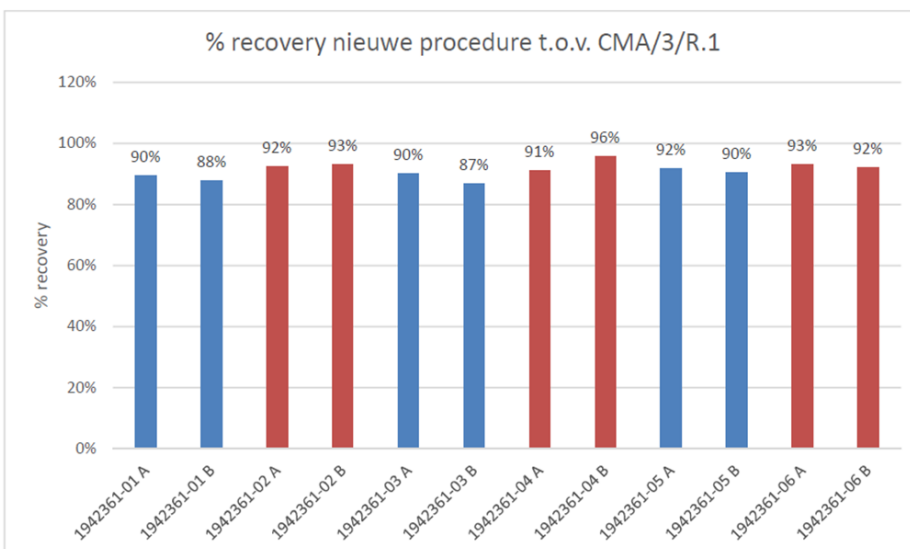
8.3 VERGELIJKEND ONDERZOEK TUSSEN BESTAANDE PROCEDURE EN NIEUWE PROCEDURE MET CLEAN-UP

De 18 monsters worden in duplo geëxtraheerd. De extracten worden afgewerkt via de standaard en de nieuwe procedure. Het minerale olie gehalte wordt telkens gemeten via GC/FID. De resultaten van het minerale olie gehalte worden weergegeven in onderstaande tabellen:

Petrogene verontreiniging (stookolie)			
Monsternr	Standaardprocedure (CMA/3/R.1) Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	Nieuwe procedure Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	% Recovery nieuwe procedure t.o.v. standaardprocedure
1942361-01	893	800	90%
1942361-01 duplo	986	865	88%
1942361-02	713	659	92%
1942361-02 duplo	764	712	93%
1942361-03	3220	2900	90%
1942361-03 duplo	3480	3020	87%
1942361-04	1440	1310	91%
1942361-04 duplo	1190	1140	96%
1942361-05	1450	1330	92%
1942361-05 duplo	1240	1120	90%
1942361-06	490	457	93%
1942361-06 duplo	522	481	92%

Tabel 16: % terugvinding van de nieuwe procedure t.o.v. de standaardprocedure voor petrogene verontreinigingen

Voor petrogene verontreinigingen wordt de % terugvinding van de nieuwe procedure (na clean-up) t.o.v. de standaardprocedure uitgezet in volgende grafiek:

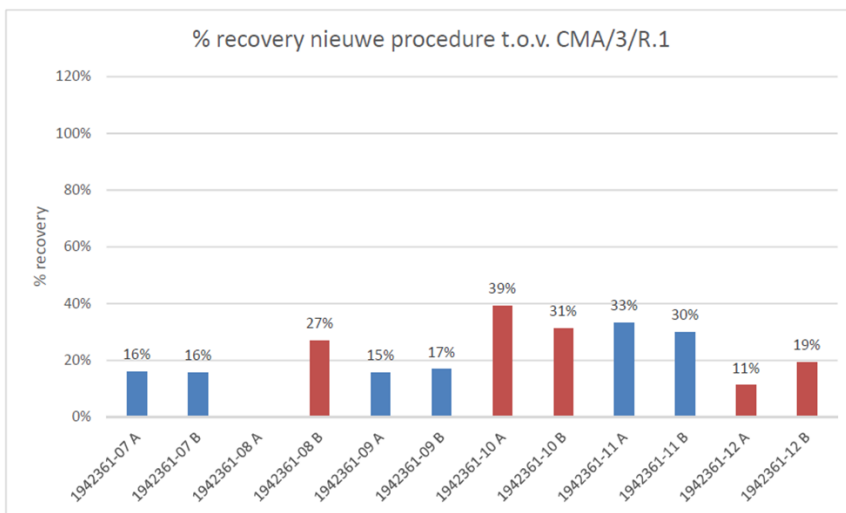


Figuur 2: % terugvinding van de nieuwe procedure t.o.v. de standaardprocedure voor petrogene verontreinigingen

Biogene verontreiniging			
Monsternr	Standaardprocedure (CMA/3/R.1) Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	Nieuwe procedure Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	% Recovery nieuwe procedure t.o.v. standaardprocedure
1942361-07	284	45	16%
1942361-07 duplo	295	46	16%
1942361-08	131	<40	/
1942361-08 duplo	183	49	27%
1942361-09	621	96	15%
1942361-09 duplo	572	96	17%
1942361-10	220	86	39%
1942361-10 duplo	395	123	31%
1942361-11	290	96	33%
1942361-11 duplo	317	95	30%
1942361-12 ³	1740	194	11%
1942361-12 duplo	1090	210	19%

Tabel 17: % terugvinding van de nieuwe procedure t.o.v. de standaardprocedure voor biogene verontreinigingen

Voor biogene verontreinigingen wordt de % terugvinding van de nieuwe procedure (na clean-up) t.o.v. de standaardprocedure uitgezet in volgende grafiek:



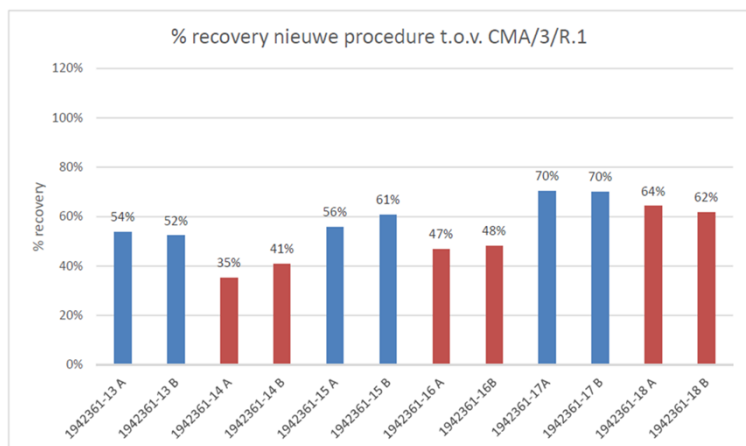
Figuur 3: % terugvinding van de nieuwe procedure t.o.v. de standaardprocedure voor biogene verontreinigingen

³ Het chromatogram geeft de indruk dat de fractie minerale olie grotendeels biogeen is en dit wordt bevestigd door clean-up. Dit bodemonster is geen standaardbodem maar heeft een % organische stof van 70%.

Gemengde verontreiniging (Biogene individuele interferenten op een KWS-bult)			
Monsternr	Standaardprocedure (CMA/3/R.1) Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	Nieuwe procedure Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	% Recovery nieuwe procedure t.o.v. standaardprocedure
1942361-13	347	186	54%
1942361-13 duplo	358	187	52%
1942361-14	342	120	35%
1942361-14 duplo	321	131	41%
1942361-15	244	136	56%
1942361-15 duplo	255	155	61%
1942361-16	304	142	47%
1942361-16 duplo	293	141	48%
1942361-17 ⁴	1350	950	70%
1942361-17 duplo	1440	1010	70%
1942361-18	625	401	64%
1942361-18 duplo	591	364	62%

Tabel 18: % terugvinding van de nieuwe procedure t.o.v. de standaardprocedure voor gemengde verontreinigingen

Voor gemengde verontreinigingen (biogene individuele interferenten op een KWS-bult) wordt de % terugvinding van de nieuwe procedure (na clean-up) t.o.v. de standaardprocedure uitgezet in volgende grafiek:



Figuur 4: % terugvinding van de nieuwe procedure t.o.v. de standaardprocedure voor gemengde verontreinigingen

⁴ Dit bodemonster werd mee opgenomen om aan te tonen dat de methode ook bruikbaar is bij iets hogere concentraties. In de praktijk zal clean-up voor dit bodemonster slechts zinvol zijn als waarden lager dan 1000 mg/kg ds (norm bouwstof) aangetoond kunnen worden voor petrogene minerale olie.

Een overlay van de chromatogrammen van de huidige procedure en de nieuwe procedure wordt voor de 18 monsters in bijlage 2.1, 2.2, 2.3 toegevoegd.

Uit de chromatogrammen en bovenstaande resultaten kunnen we volgende concluderen:

- De gemiddelde % terugvinding van de nieuwe procedure ten opzichte van de standaardprocedure (CMA/3/R.1) bedraagt 91%⁵ voor de monsters met een petrogene verontreiniging (stookolie);
- Monsters die voornamelijk bestaan uit biogene individuele pieken worden minstens voor 60% gereduceerd na toepassing van de nieuwe clean-up;
- Bij de monsters met de gemengde verontreiniging, die bestaan uit biogene individuele pieken gelegen op een KWS-bult, worden de biogene individuele pieken verwijderd door de clean-up, de onderliggende KWS-bult blijft aanwezig.n

8.4 BEPALING VAN DE STATISTISCHE KERNGETALLEN

Er worden 3 x 6 verschillende monsters in duplo geanalyseerd onder herhaalbaarheidscondities. De stalen worden volgens de nieuwe procedure afgewerkt. De resultaten van het minerale olie gehalte worden weergegeven in onderstaande tabellen:

Petrogene verontreiniging (stookolie)			
Monsternr	Nieuwe procedure Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	Nieuwe procedure (duplo) Minerale olie C ₁₀ -C ₄₀ mg/kg DS	% Afwijking van de duplomonsters
1942361-01 CU	800	865	-8%
1942361-02 CU	659	712	-8%
1942361-03 CU	2900	3020	-4%
1942361-04 CU	1310	1140	14%
1942361-05 CU	1330	1120	17%
1942361-06 CU	457	481	-5%

Tabel 19: Resultaten analyses onder herhaalbaarheidscondities voor petrogene verontreinigingen

⁵ Bij de opwerking wordt een verlies van ca. 9% vastgesteld aan petrogene minerale olie. Dit zou het gevolg van een verlies aan meer vluchtige bestanddelen bij de indampstap kunnen zijn. Voor de verschillende bodemonsters met petrogene verontreiniging wordt quasi eenzelfde verlies vastgesteld waardoor vermoed wordt dat de lagere recovery niet zozeer het gevolg is van een verlies tijdens de indampstap (want dan zou er meer spreiding op de resultaten vastgesteld moeten worden), maar is wellicht eerder eigen aan de procedure 'an sich'. Bij eerdere validatie op zuivere referentiestalen werd dit niet vastgesteld. Dit vormt geen probleem als deze methode of opzuivering gebruikt wordt als aanvulling bij een analyse conform de huidige CMA/3/R.1.

Mogelijk is er ook enig verlies aan petrogene minerale olie als het verouderde verontreinigingen betreft waarbij afbraak ontstaan is; de tijdens de afbraak ontstane meer polaire verbindingen kunnen bij clean-up samen met de biogene minerale olie verloren gaan. In dat geval zal het oorspronkelijke chromatogram niet op dat van een monster met biogene minerale olie lijken waardoor deze bij screening herkend en ondervangen kunnen worden.

Biogene verontreiniging			
Monsternr	Nieuwe procedure Minerale olie C₁₀-C₄₀ mg/kg DS	Nieuwe procedure (duplo) Minerale olie C₁₀-C₄₀ mg/kg DS	% Afwijking van de duplomonsters
1942361-07 CU	45	46	-2%
1942361-08 CU	<40	49	/
1942361-09 CU	96	96	0%
1942361-10 CU ⁶	86	123	-35%
1942361-11 CU	96	95	1%
1942361-12 CU	194	210	-8%

Tabel 20: Resultaten analyses onder herhaalbaarheidscondities voor biogene verontreinigingen

Gemengde verontreiniging (biogene individuele interferenten op een KWS-bult)			
Monsternr	Nieuwe procedure Minerale olie C₁₀-C₄₀ mg/kg DS	Nieuwe procedure (duplo) Minerale olie C₁₀-C₄₀ mg/kg DS	% Afwijking van de duplomonsters
1942361-13 CU	186	187	-1%
1942361-14 CU	120	131	-9%
1942361-15 CU	136	155	-14%
1942361-16 CU	142	141	1%
1942361-17 CU	950	1010	-6%
1942361-18 CU	401	364	10%

Tabel 21: Resultaten analyses onder herhaalbaarheidscondities voor gemengde verontreinigingen

8.4.1 Herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt CVr

$$CVr = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{x_{i1} - x_{i2}}{0.5(x_{i1} + x_{i2})} \right)^2}{2n}} * 100\%$$

CVr = herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt, in %

n = aantal monsters in duplo geanalyseerd

xi1 = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

xi2 = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

De CVr moet kleiner zijn dan 15%.

⁶ de grotere % afwijking van de duplomonsters is hoogstwaarschijnlijk ten gevolge van het onvoldoende homogeen zijn van het monster. Ook bij de standaardmethode werden duplowaarden bekomen die grote verschillen vertoonden. (waarde mee opgenomen in de statistische verwerking).

MO C10-C40	Herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt CVr %
Petrogene verontreinigingen	7.4%
Biogene verontreinigingen	11.5%
Gemengde verontreinigingen	5.7%

Tabel 22: Herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt

Besluit: De vooropgestelde CVr van 15% wordt behaald.

9 ALGEMENE CONCLUSIE

De huidige methode voor analyse van minerale olie ([CMA/3/R.1](#)) is niet in staat om alle biogene interferenten te verwijderen. Met behulp van een extra clean-up over een Florisil-cartridge kunnen deze biogene interferenten verwijderd worden zonder significant verlies van de petrogene fractie. Uit het onderzoek blijkt dat voor monsters die verontreinigd zijn met een petrogene fractie zoals mazout het verlies minder is dan 10%.

Monsters met een hoofdzakelijk biogene verontreiniging geven een reductie van minstens 60% door toepassing van de clean-up. Na validatie blijkt de nieuwe procedure te voldoen aan het beoogde gebruik en de vooropgestelde eis voor de herhaalbaarheidsvariatiëcoëfficiënt.

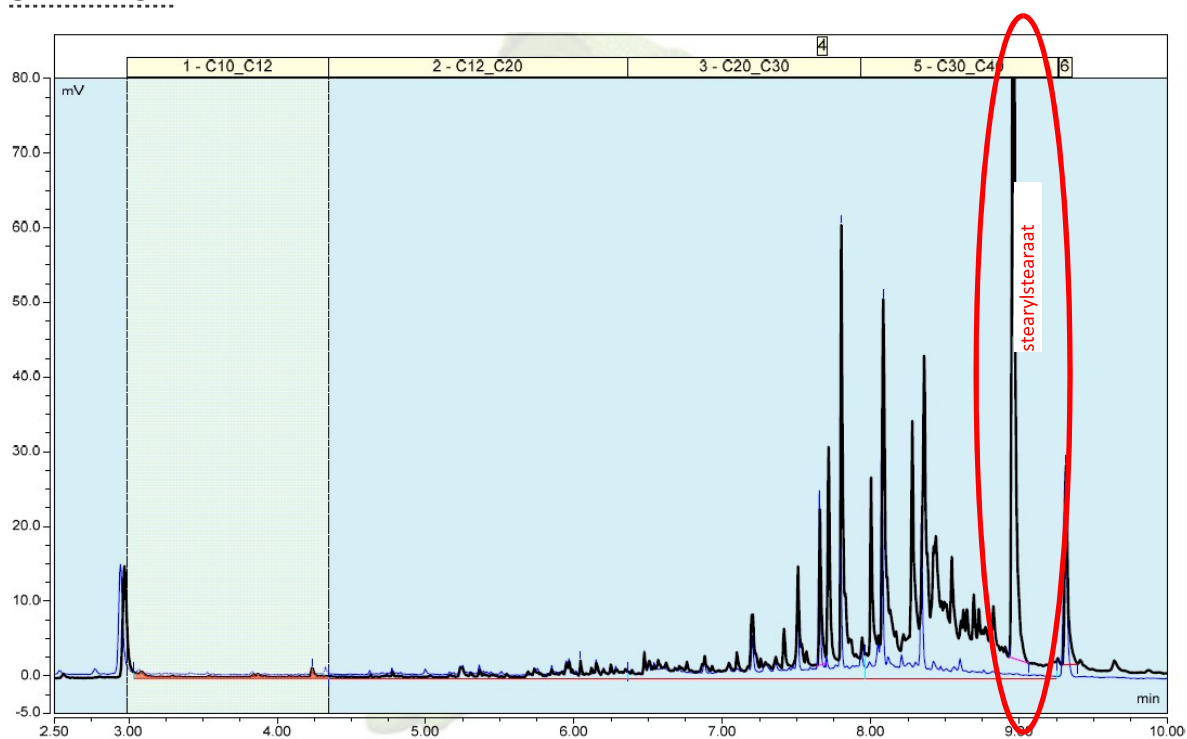
De procedure lijkt geschikt voor analyse van (water)bodemmonsters met (licht) verhoogde gehalten aan minerale olie (cfr. [CMA/3/R.1](#)) afkomstig van plaatsen waar verontreiniging met minerale olie van petrogene oorsprong zeer onwaarschijnlijk is. Door toepassing van de voorgestelde methode met clean-up kan aangetoond worden dat de minerale olie van biogene oorsprong is.

BIJLAGE 1: OVERLAY VAN DE CHROMATOGRAMMEN VAN DE HUIDIGE EN DE NIEUWE PROCEDURE

Overlay van de chromatogrammen van de huidige en de nieuwe procedure:

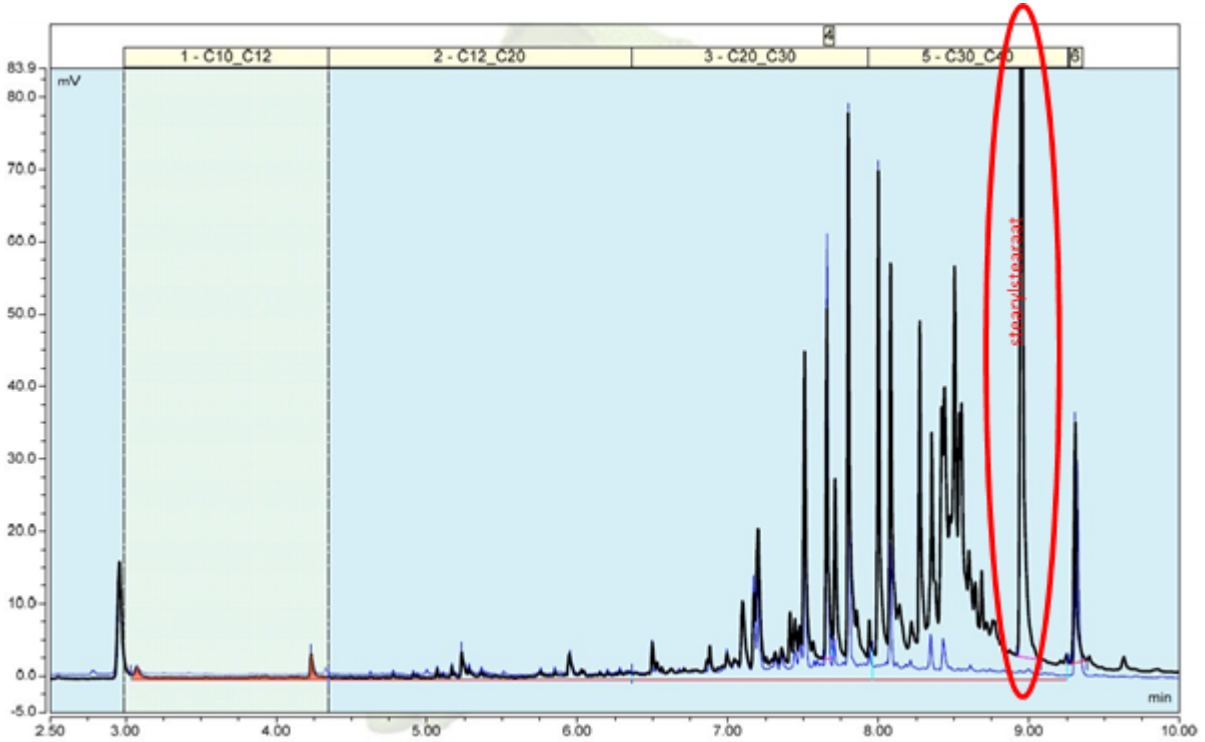
- Nieuwe procedure met clean-up
- Bestaande procedure

STAAL-01



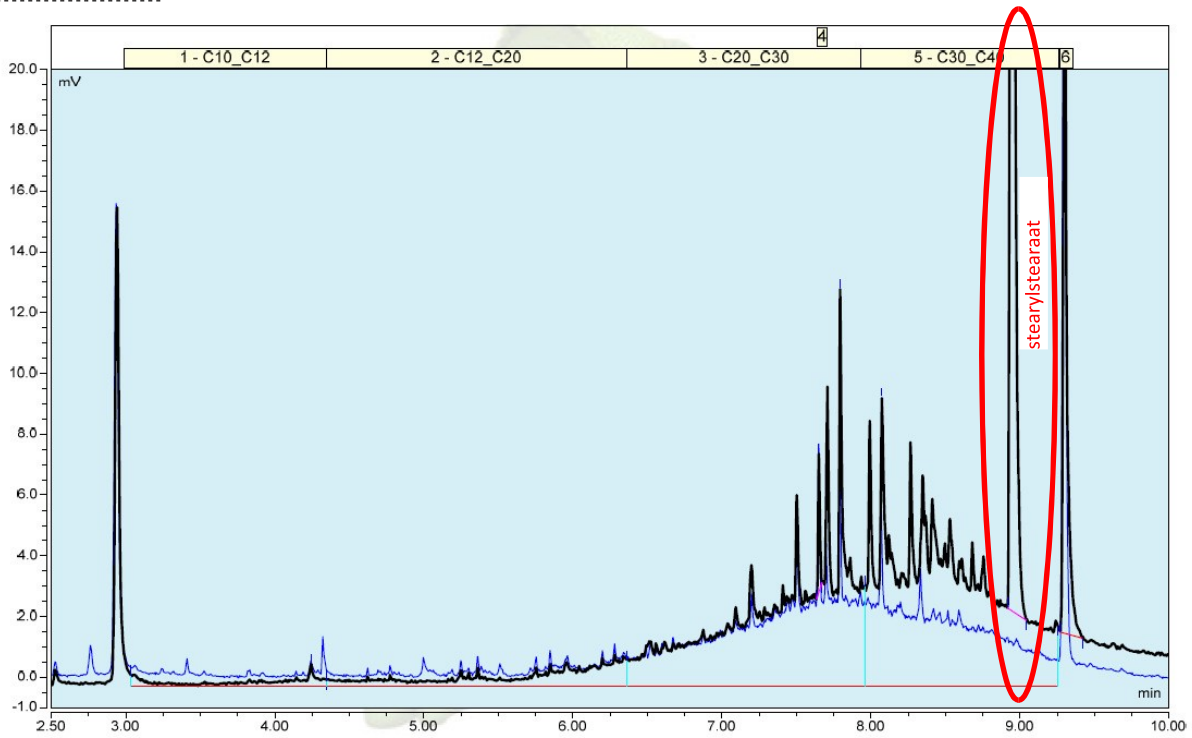
Figuur 5. STAAL-01

STAAL-02



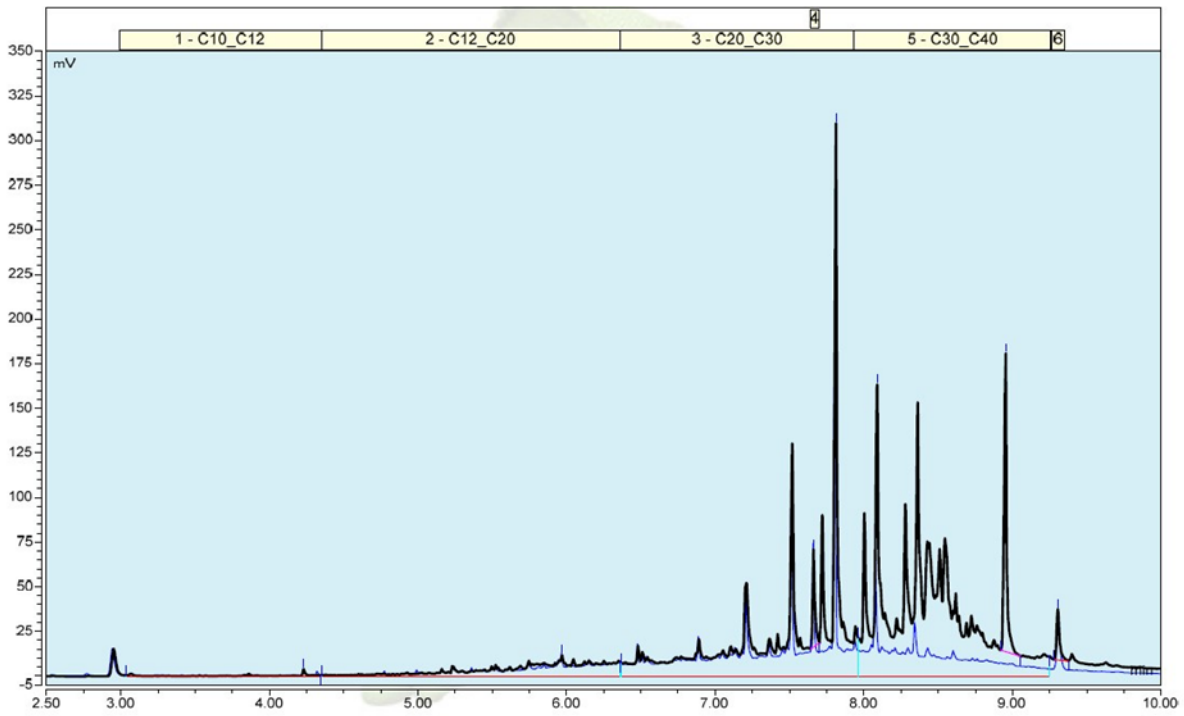
Figuur 6. STAAL-02

STAAL-03



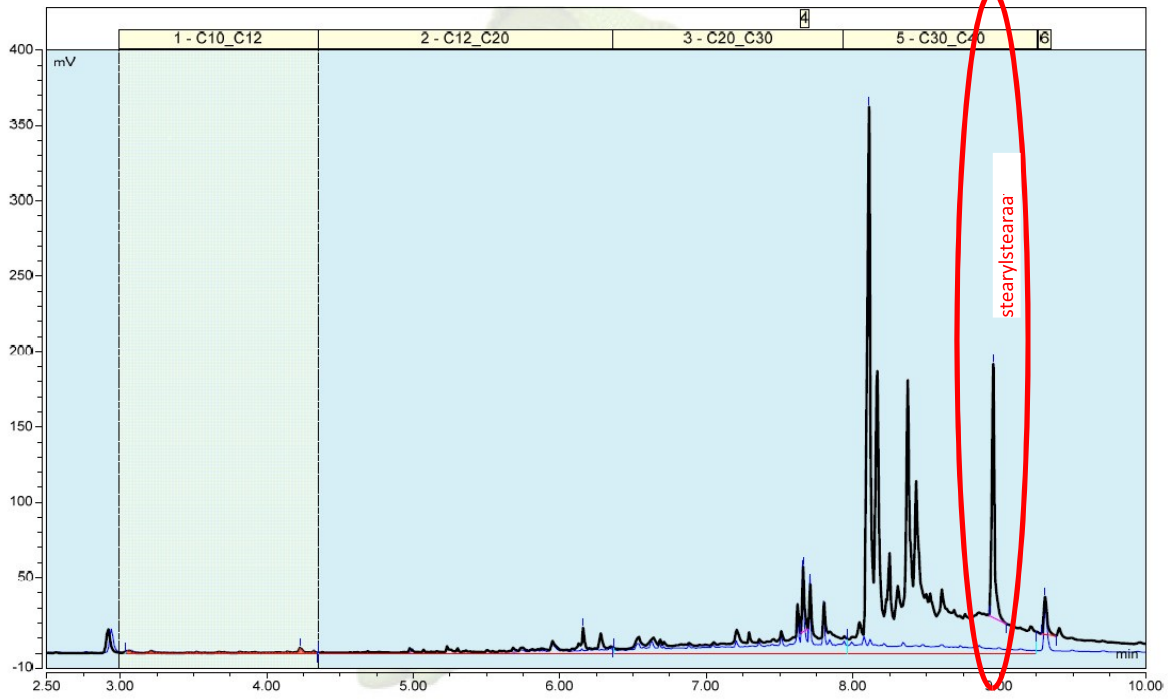
Figuur 7. STAAL-03

STAAL-04



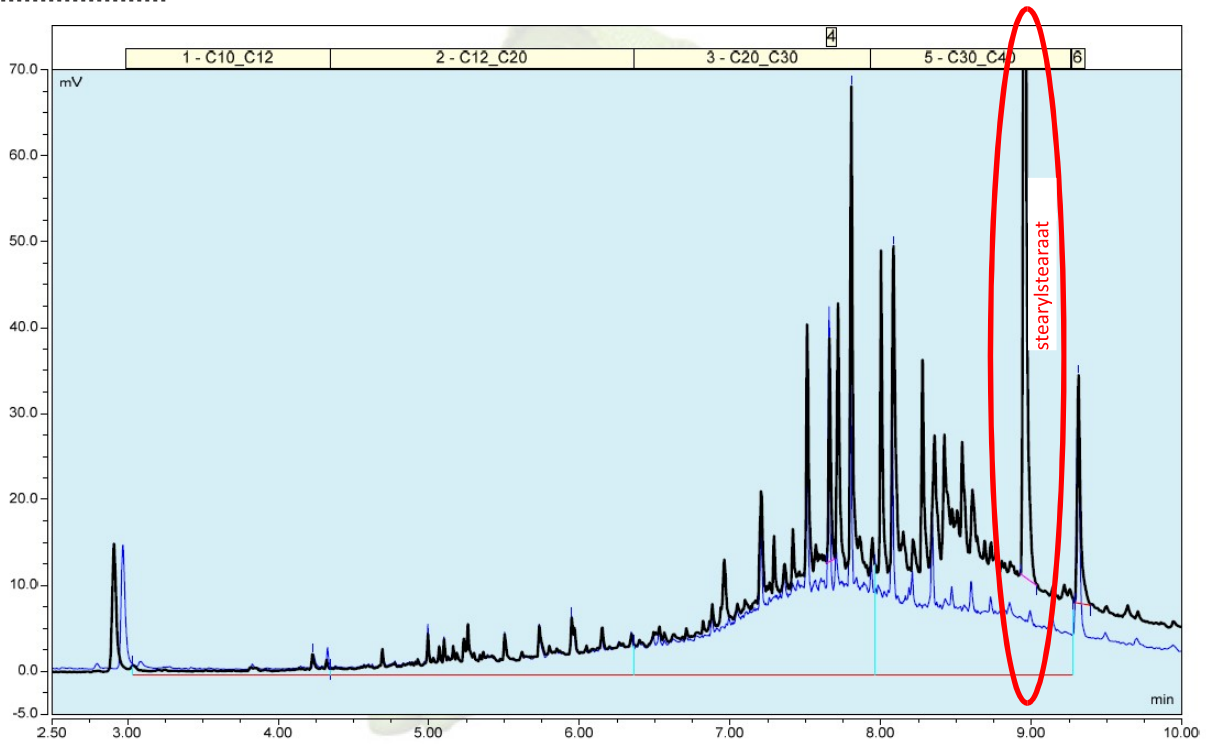
Figuur 8. STAAL-04

STAAL-05



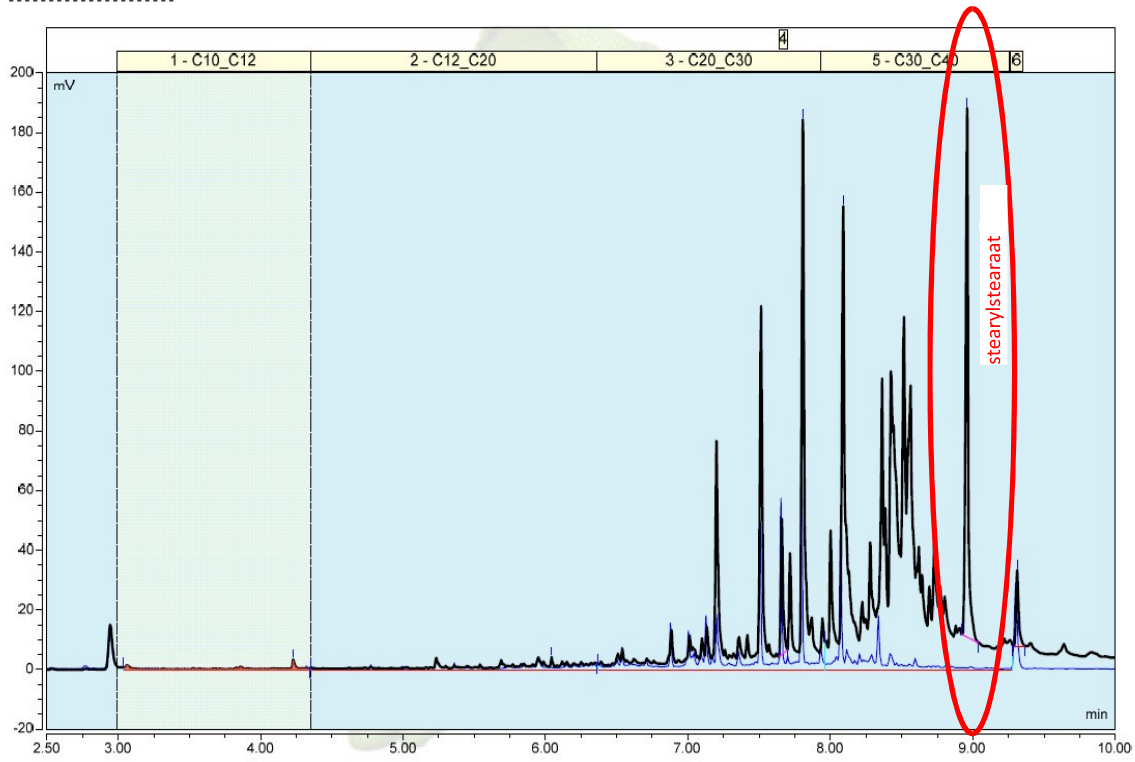
Figuur 9. STAAL-05

STAAL-06



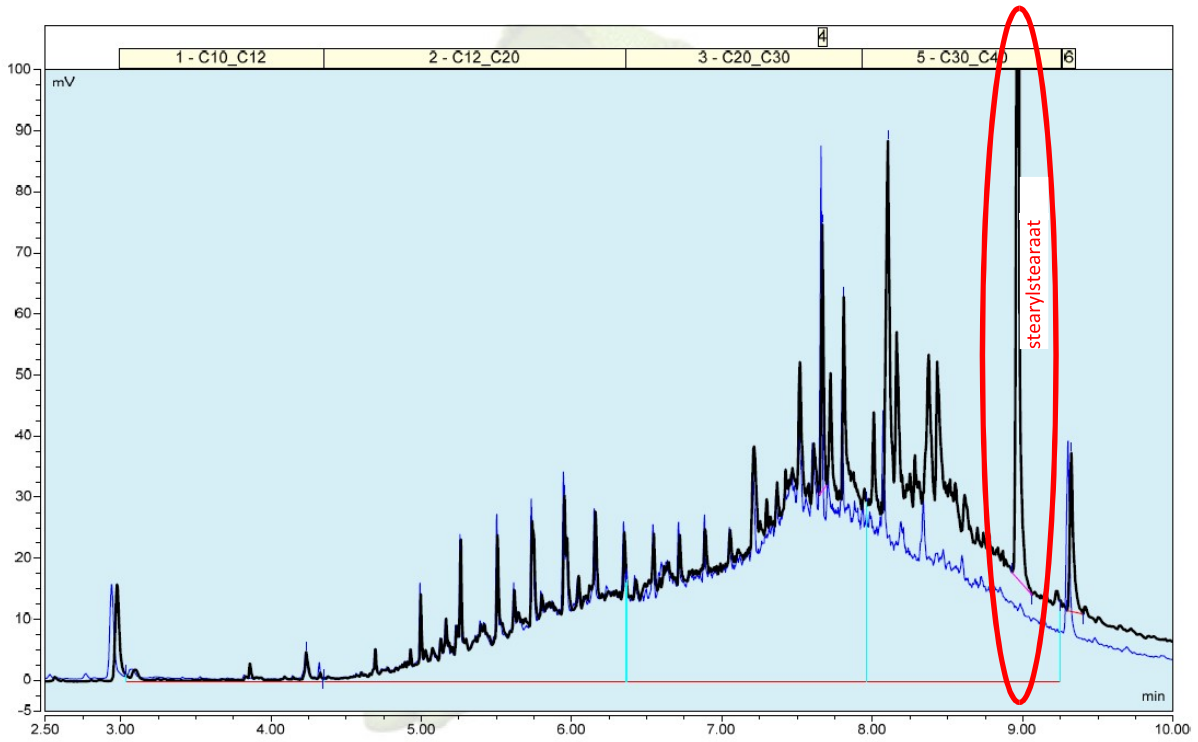
Figuur 10. STAAL-06

STAAL-07



Figuur 11. STAAL-07

STAAL-08



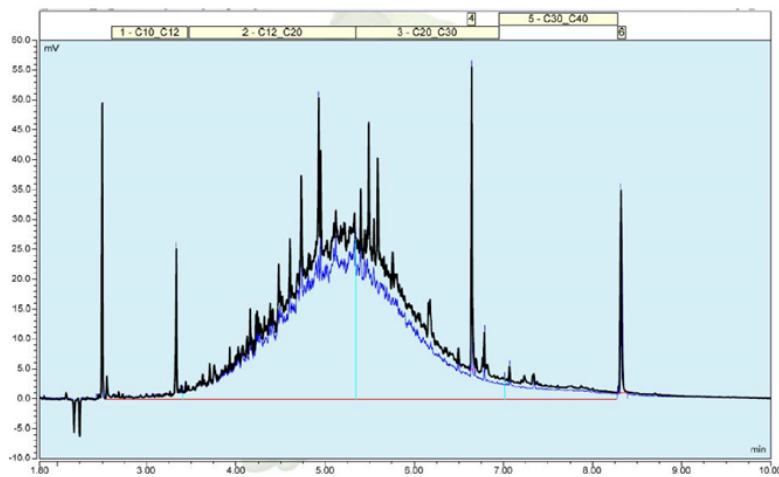
Figuur 12. STAAL-08

BIJLAGE 2.1: OVERLAY VAN CHROMATOGRAMMEN – PETROGENE VERONTREINIGING

Overlay van de chromatogrammen van de huidige en de nieuwe procedure:

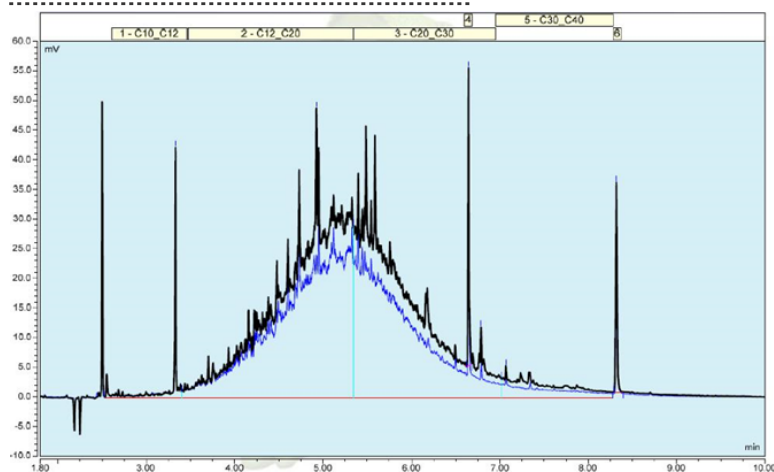
- [Nieuwe procedure met clean-up](#)
- Bestaande procedure

STAAL-1942361-01



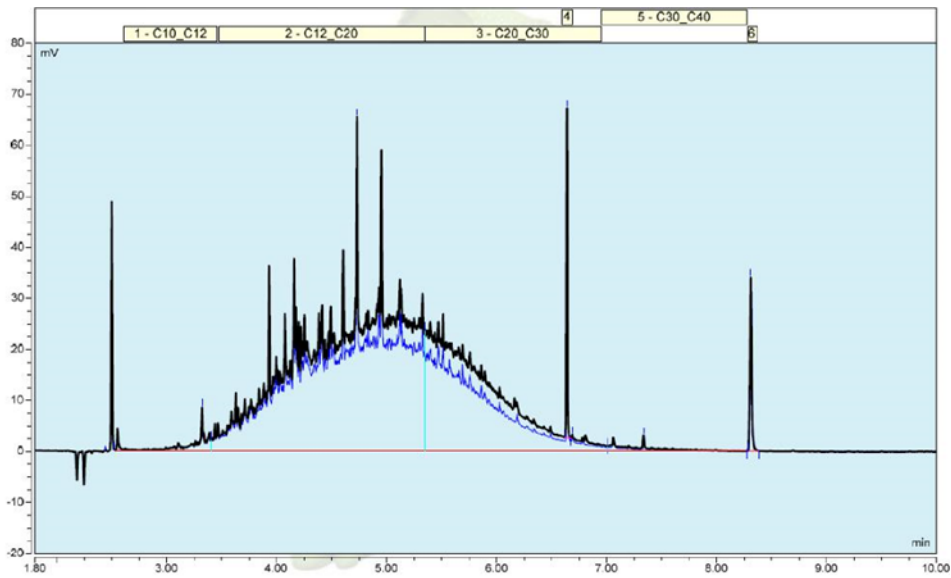
Figuur 13. STAAL-1942361-01

STAAL-1942361-01 DUPLO



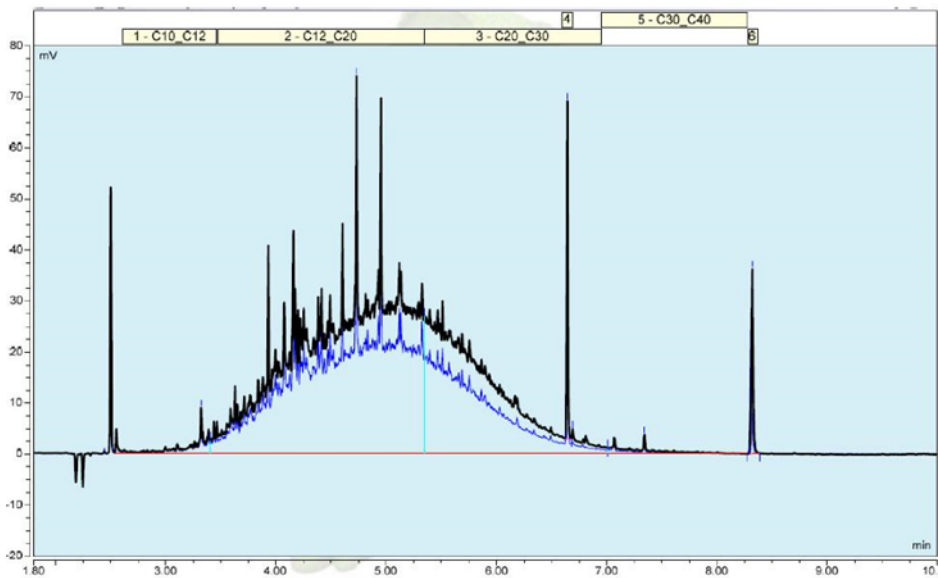
Figuur 14. STAAL-1942361-01 DUPLO

STAAL-1942361-02



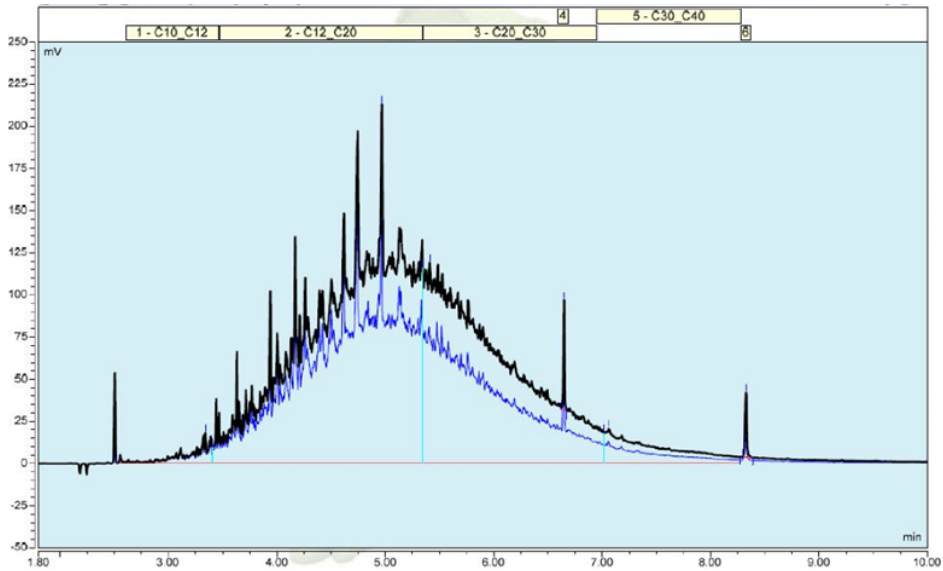
Figuur 15. STAAL-1942361-02

STAAL-1942361-02 DUPLO



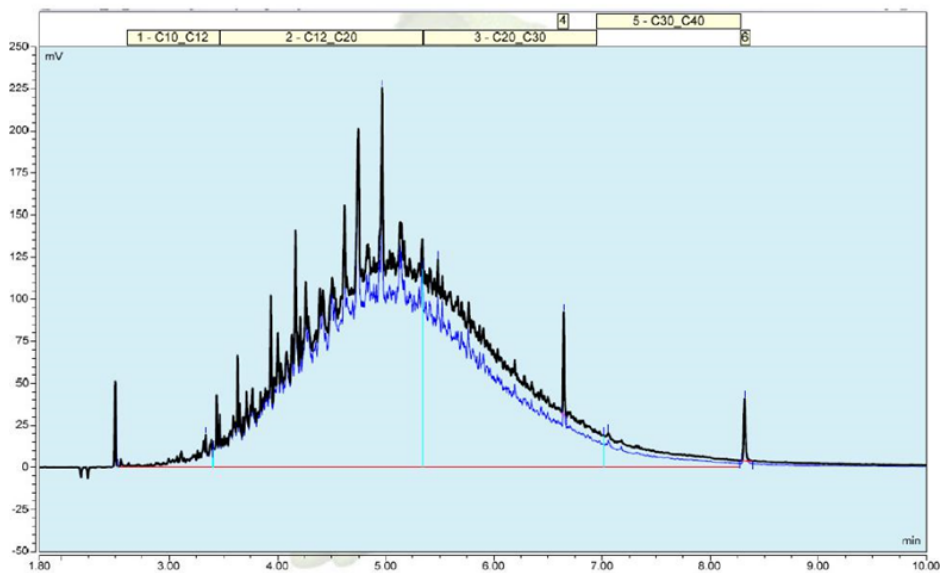
Figuur 16. STAAL-1942361-02 DUPLO

STAAL-1942361-03



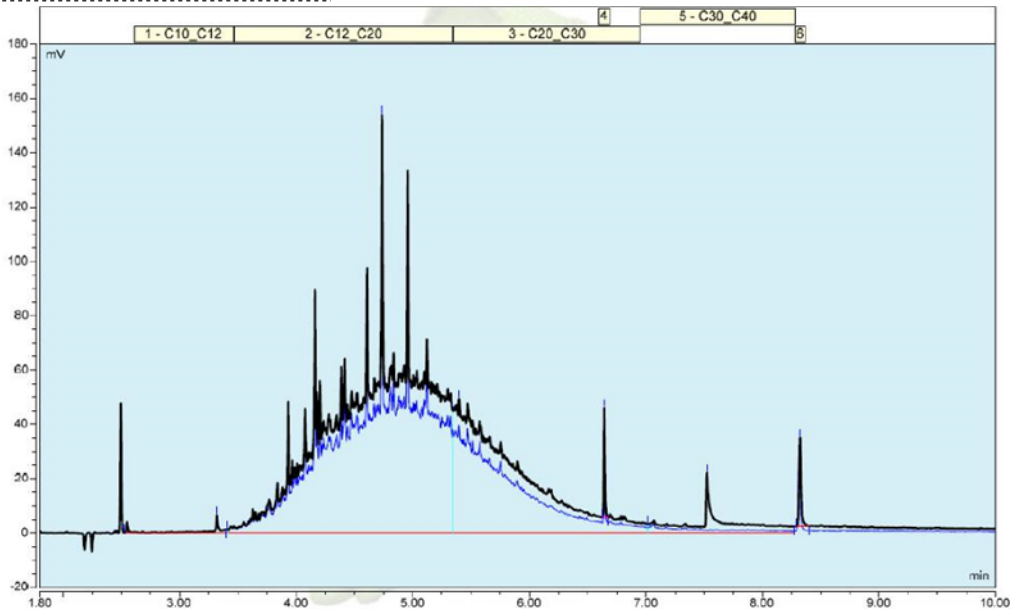
Figuur 17. STAAL-1942361-03

STAAL-1942361-03 DUPLO



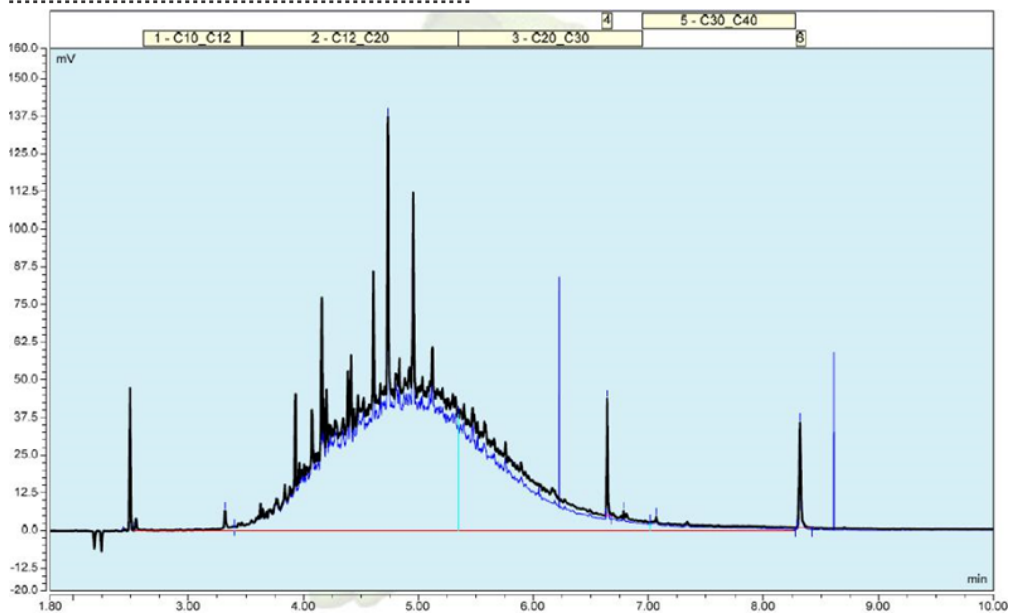
Figuur 18. STAAL-1942361-03 DUPLO

STAAL-1942361-04



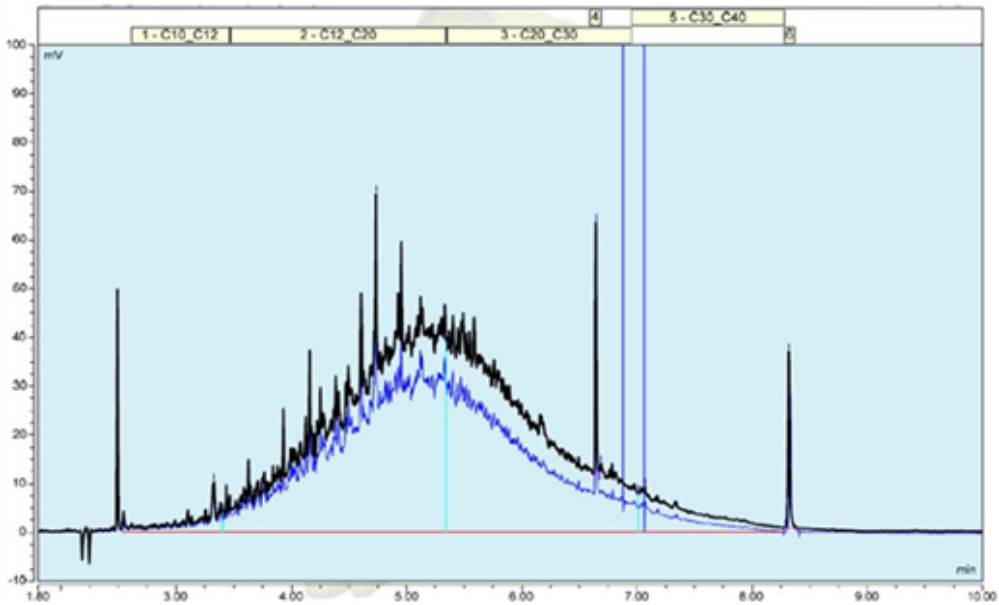
Figuur 19. STAAL-1942361-04

STAAL-1942361-04 DUPLO



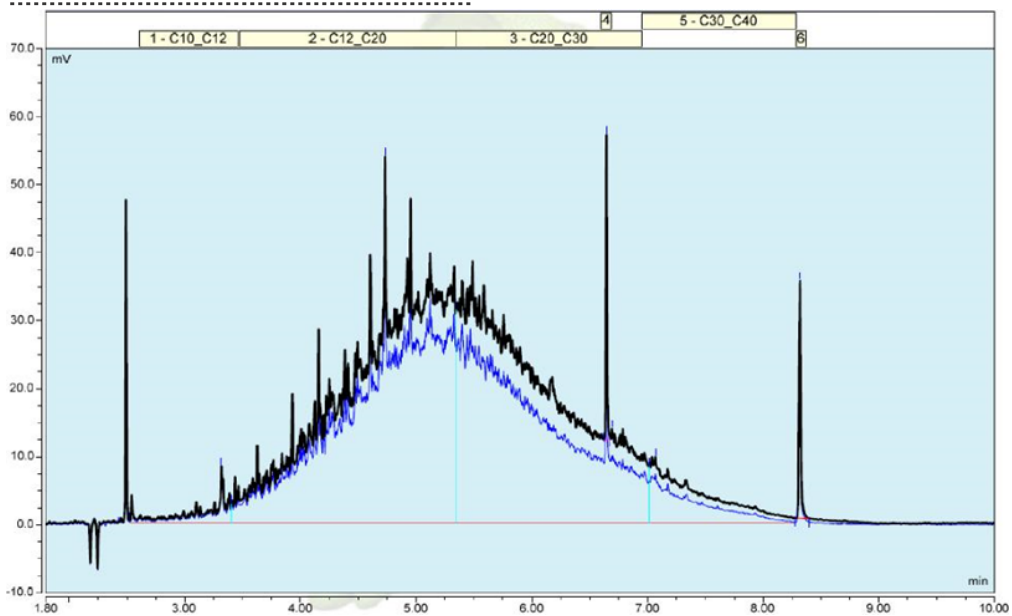
Figuur 20. STAAL-1942361-04 DUPLO

STAAL-1942361-05



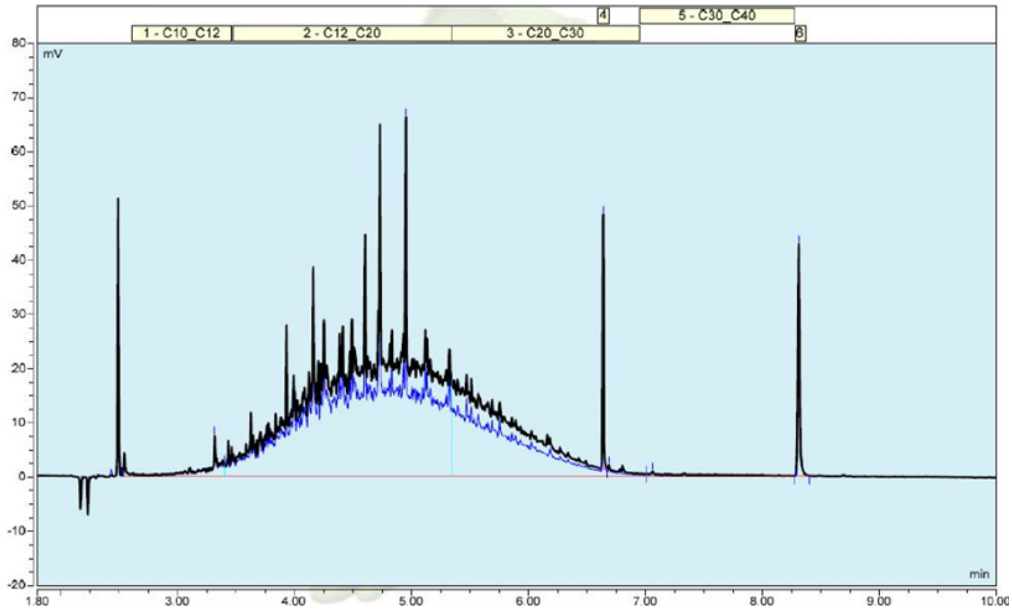
Figuur 21. STAAL-1942361-05

STAAL-1942361-05 DUPLO



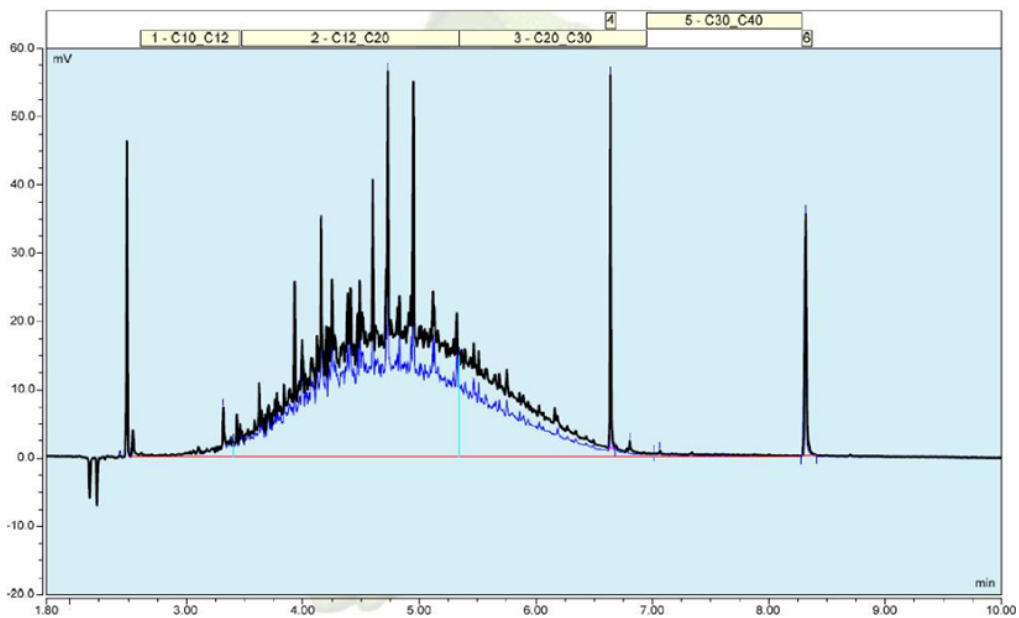
Figuur 22. STAAL-1942361-05 DUPLO

STAAL-1942361-06



Figuur 23. STAAL-1942361-06

STAAL-1942361-06 DUPLO



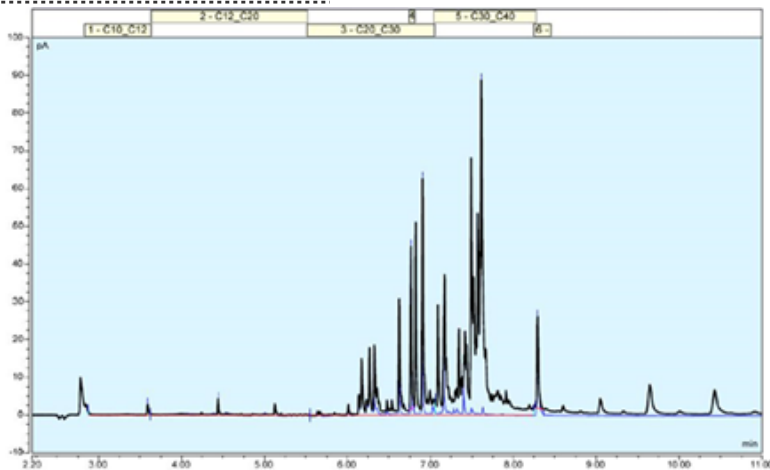
Figuur 24. STAAL-1942361-06 DUPLO

BIJLAGE 2.2: OVERLAY VAN CHROMATOGRAMMEN – BIOGENE VERONTREINIGING

Overlay van de chromatogrammen van de huidige procedure en de nieuwe procedure:

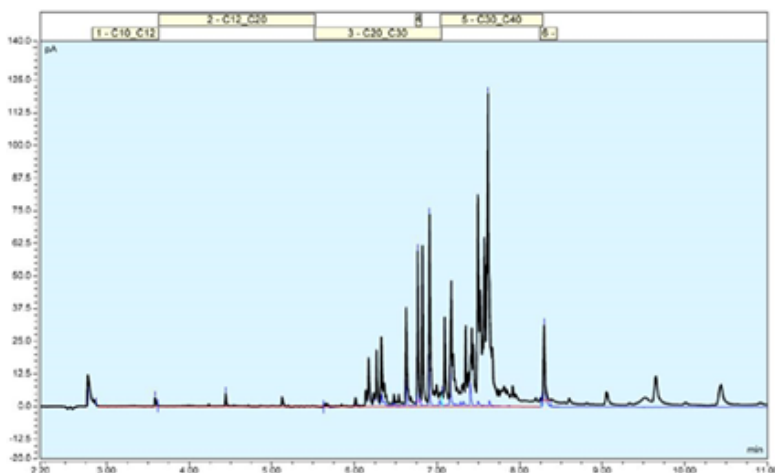
- [Nieuwe procedure met clean-up](#)
- Bestaande procedure

STAAL-1942361-07



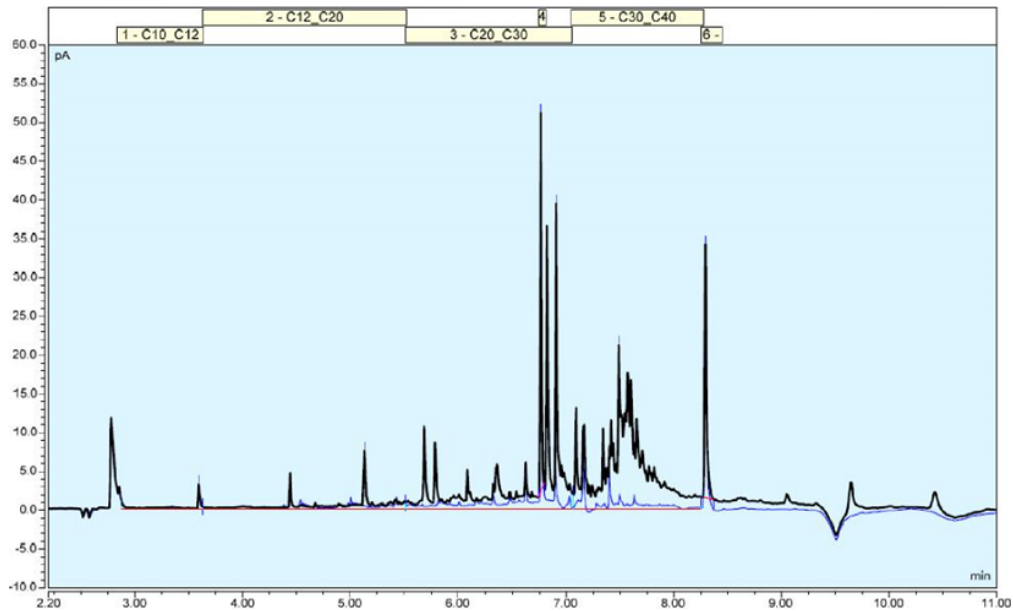
Figuur 25. STAAL-1942361-07

STAAL-1942361-07 DUPLO



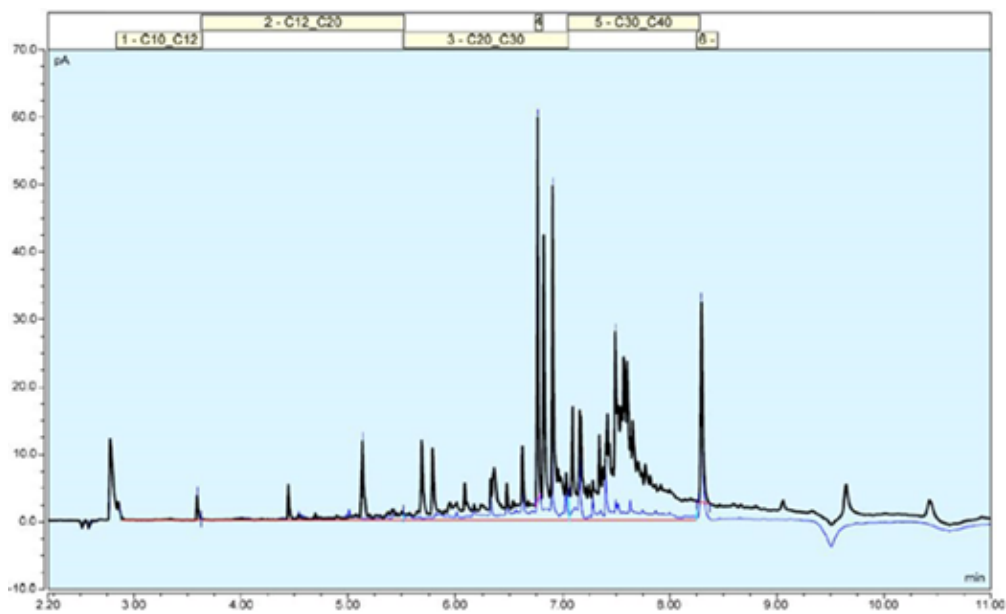
Figuur 26. STAAL-1942361-07 DUPLO

STAAL-1942361-08



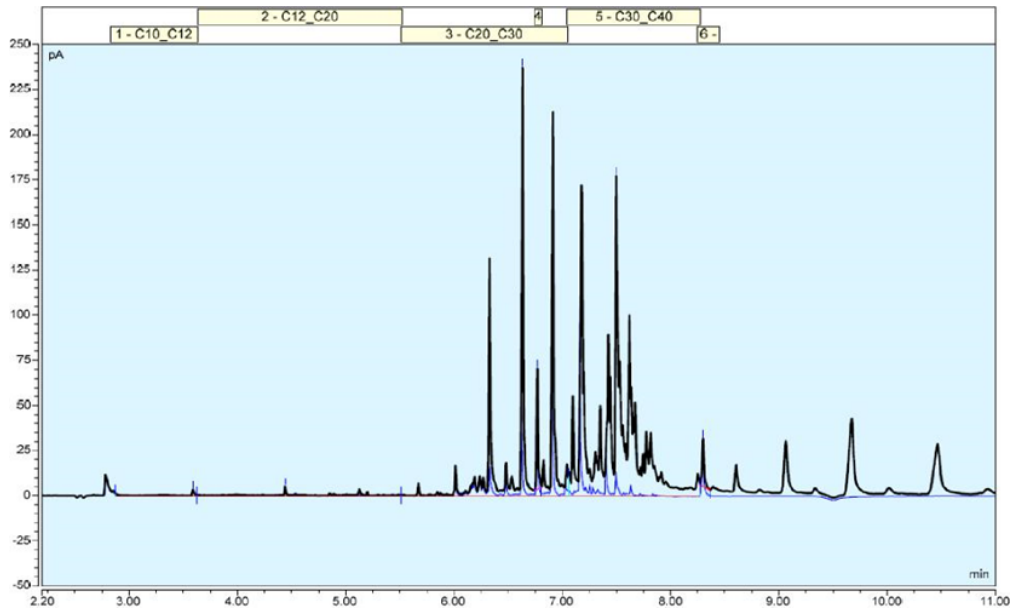
Figuur 27. STAAL-1942361-08

STAAL-1942361-08 DUPLO



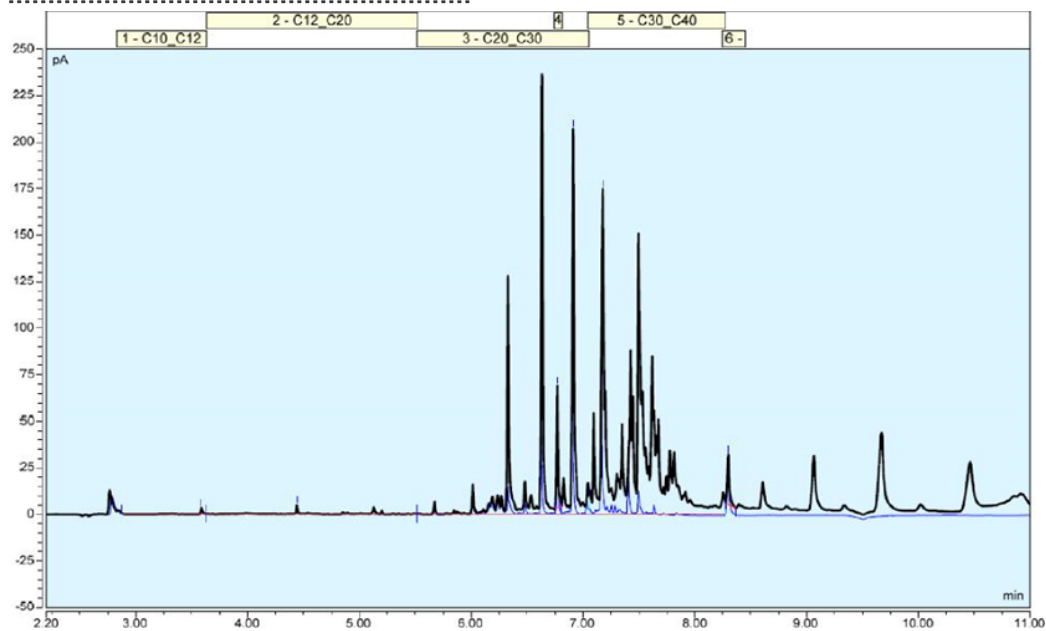
Figuur 28. STAAL-1942361-08 DUPLO

STAAL-1942361-09



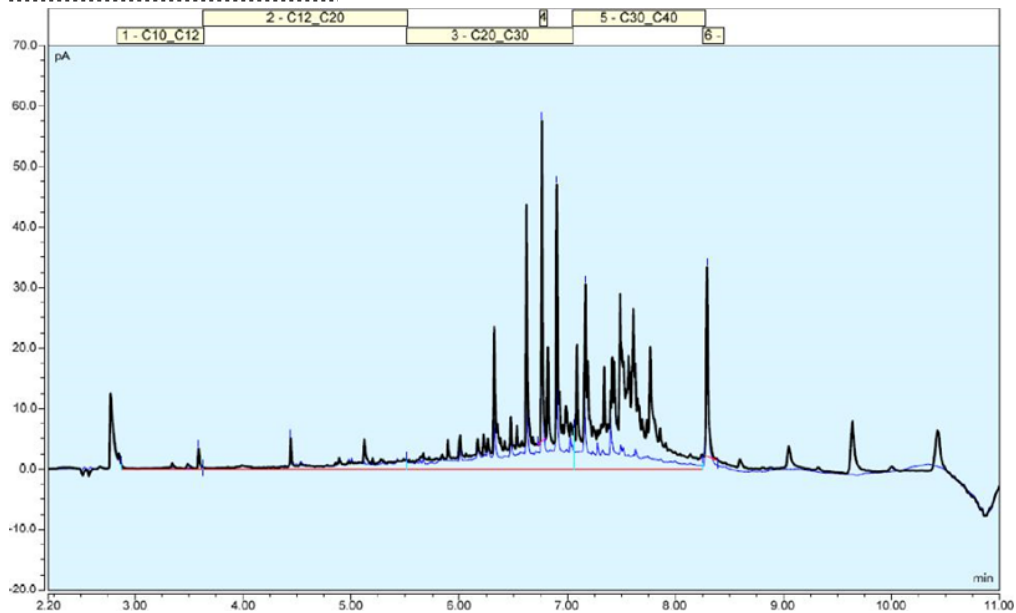
Figuur 29. STAAL-1942361-09

STAAL-1942361-09 DUPLO



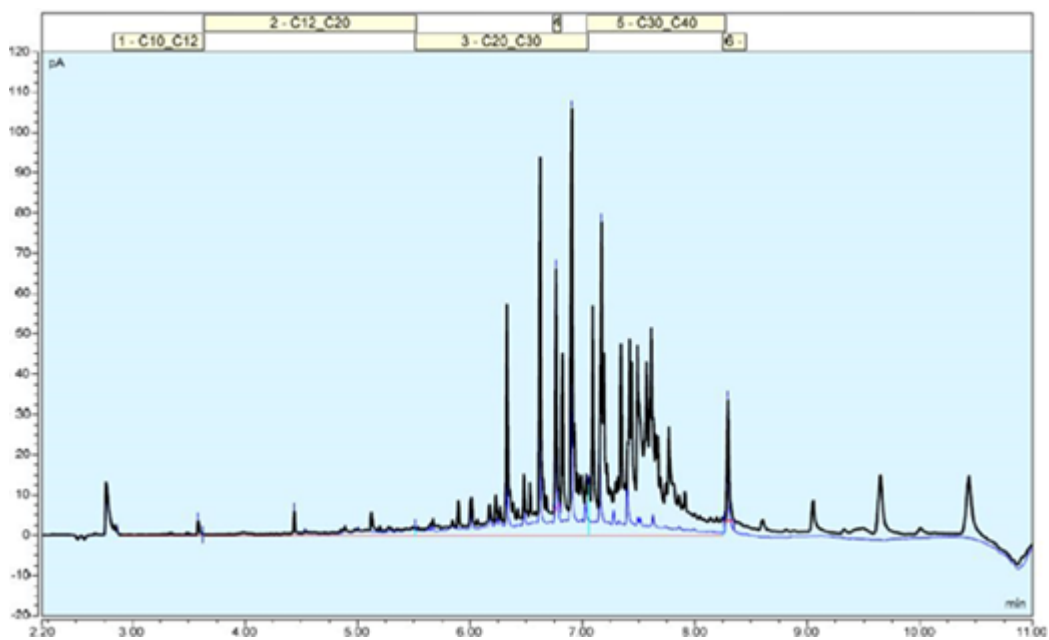
Figuur 30. STAAL-1942361-09 DUPLO

STAAL-1942361-10



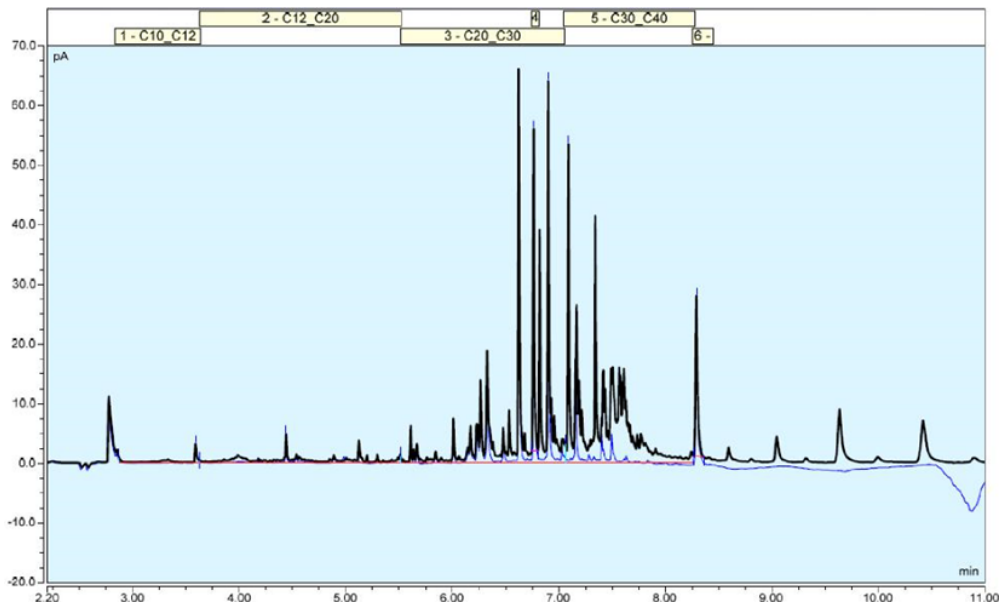
Figuur 31. STAAL-1942361-10

STAAL-1942361-10 DUPLO



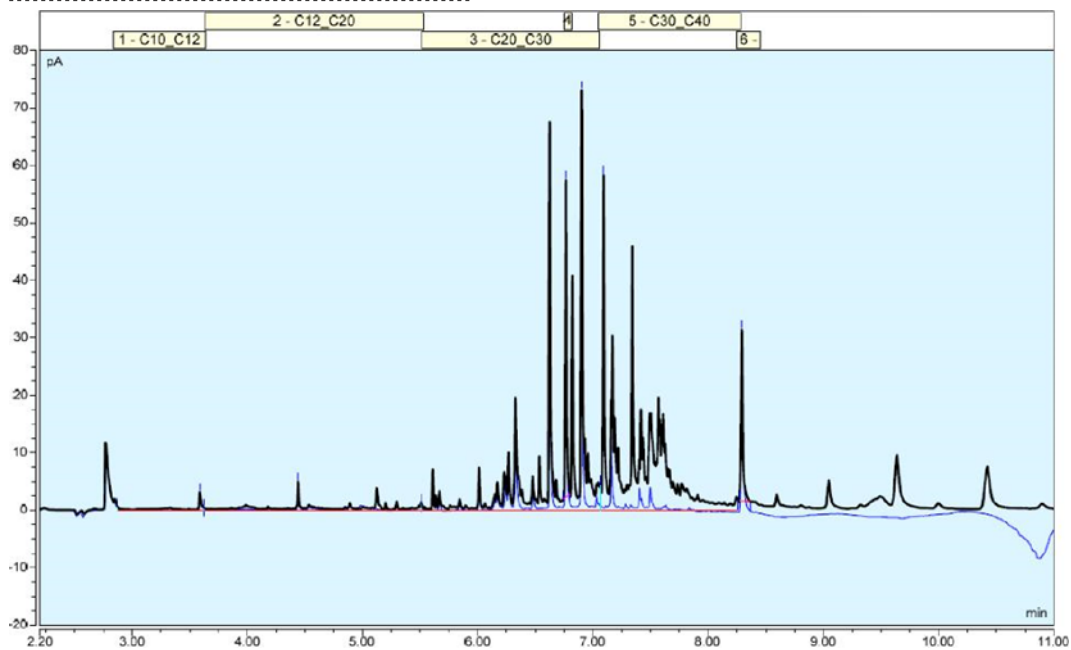
Figuur 32. STAAL-1942361-10 DUPLO

STAAL-1942361-11



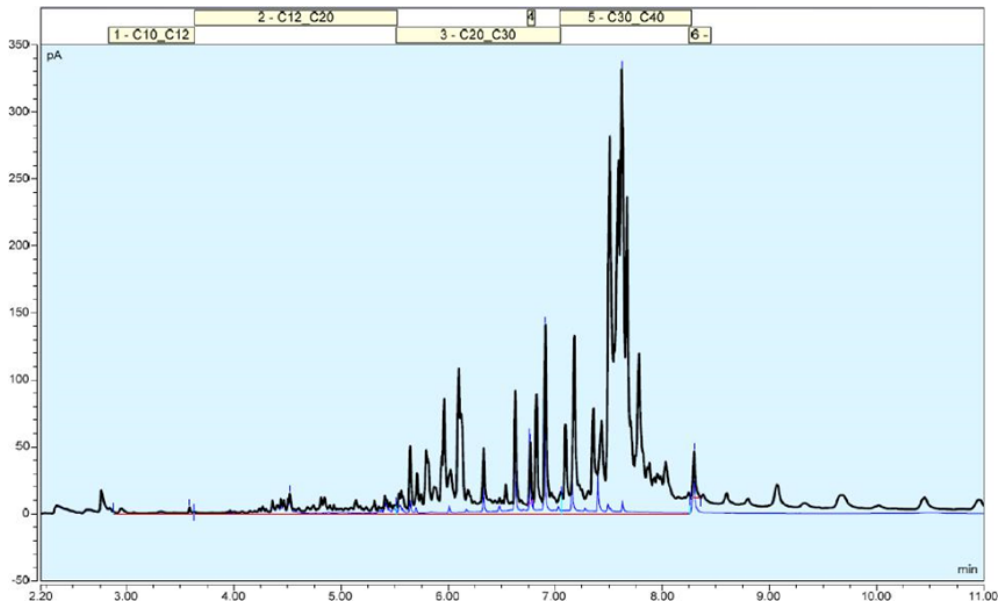
Figuur 33. STAAL-1942361-11

STAAL-1942361-11 DUPLO



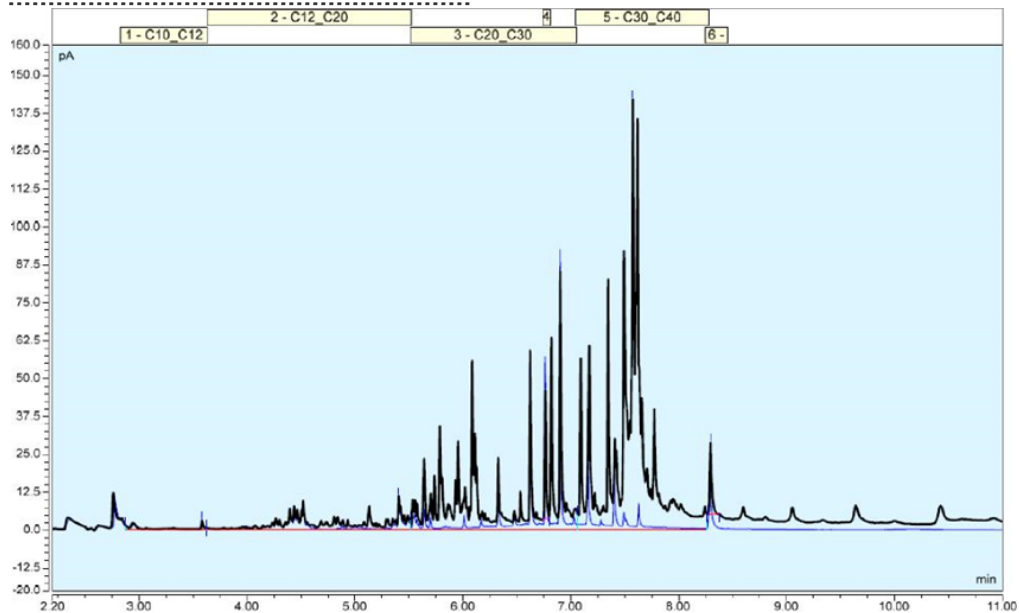
Figuur 34. STAAL-1942361-11 DUPLO

STAAL-1942361-12



Figuur 35. STAAL-1942361-12

STAAL-1942361-12 DUPLO



Figuur 36. STAAL-1942361-12 DUPLO

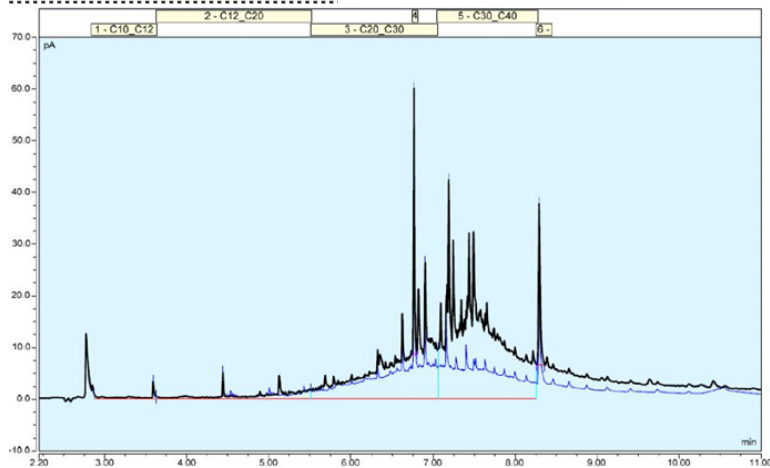
BIJLAGE 2.3: OVERLAY VAN CHROMATOGRAMMEN – GEMENGDE VERONTREINIGING

Overlay van de chromatogrammen van de huidige procedure en de nieuwe procedure:

[Nieuwe procedure met clean-up](#)

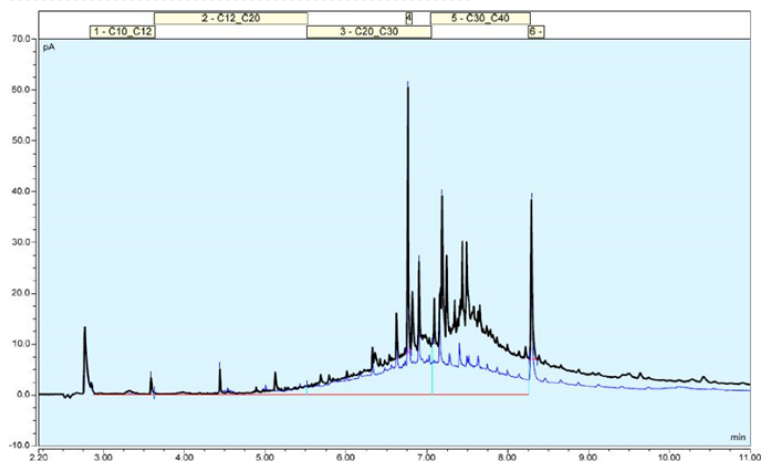
Bestaande procedure

STAAL-1942361-13



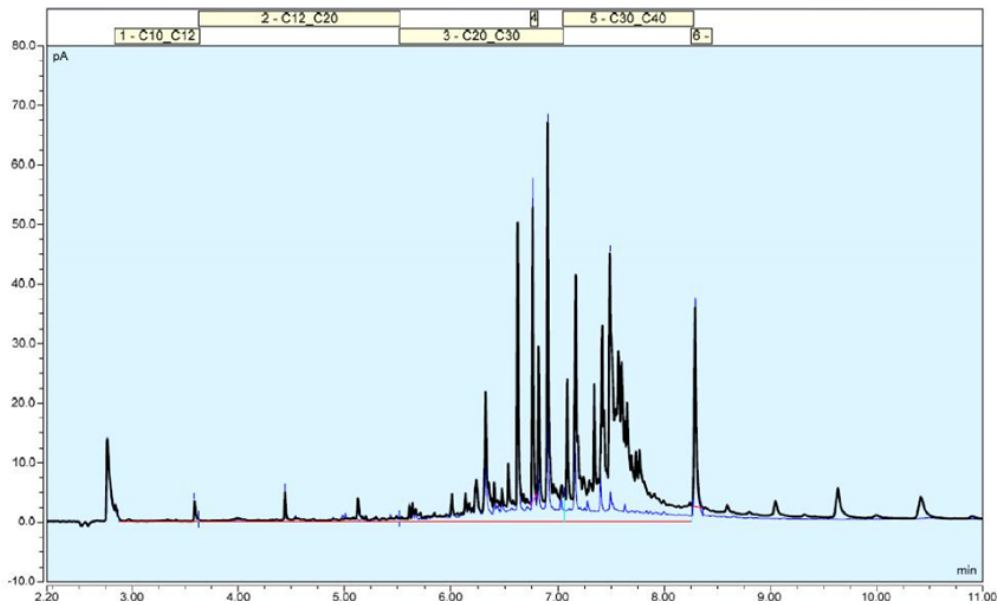
Figuur 37. STAAL-1942361-13

STAAL-1942361-13 DUPLO



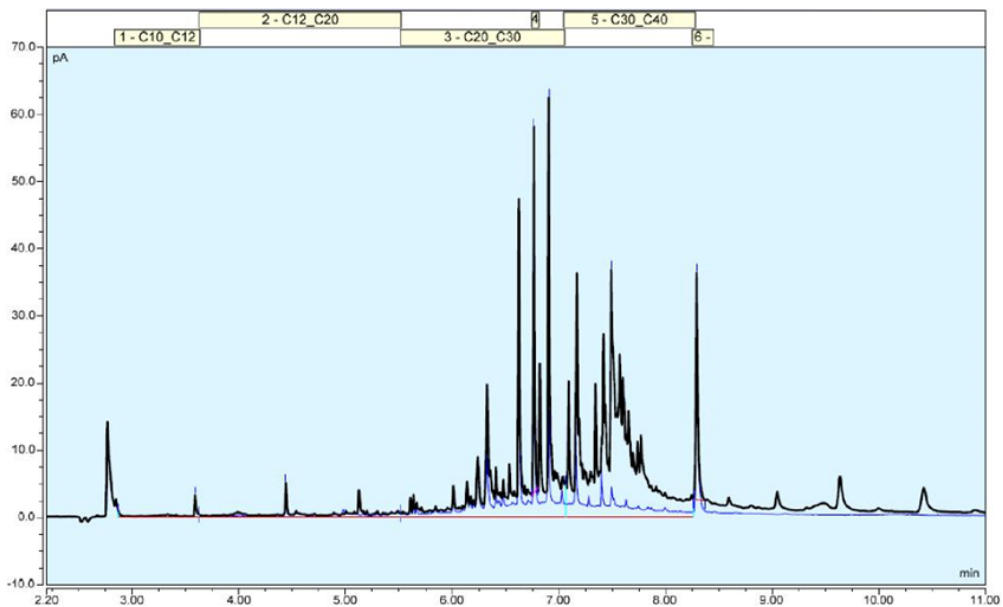
Figuur 38. STAAL-1942361-13 DUPLO

STAAL-1942361-1



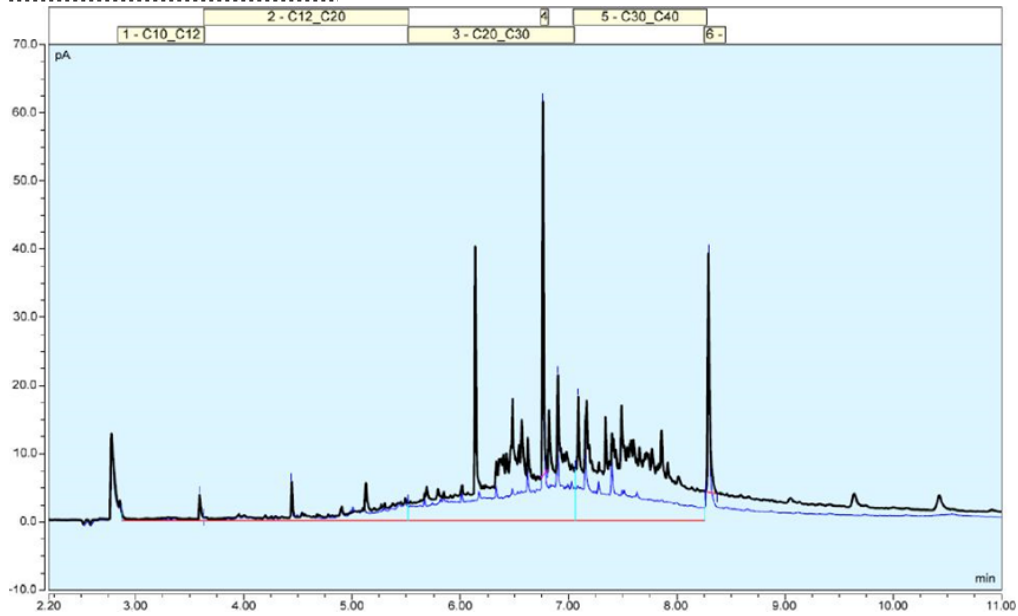
Figuur 39. STAAL-1942361-1

STAAL-1942361-14 DUPLO



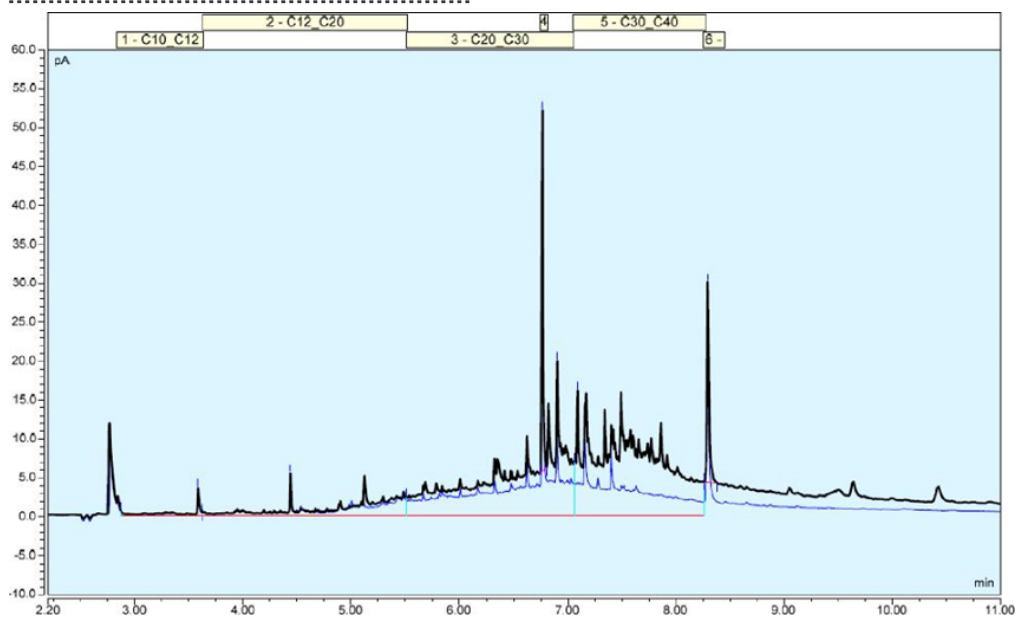
Figuur 40. STAAL-1942361-14 DUPLO

STAAL-1942361-15



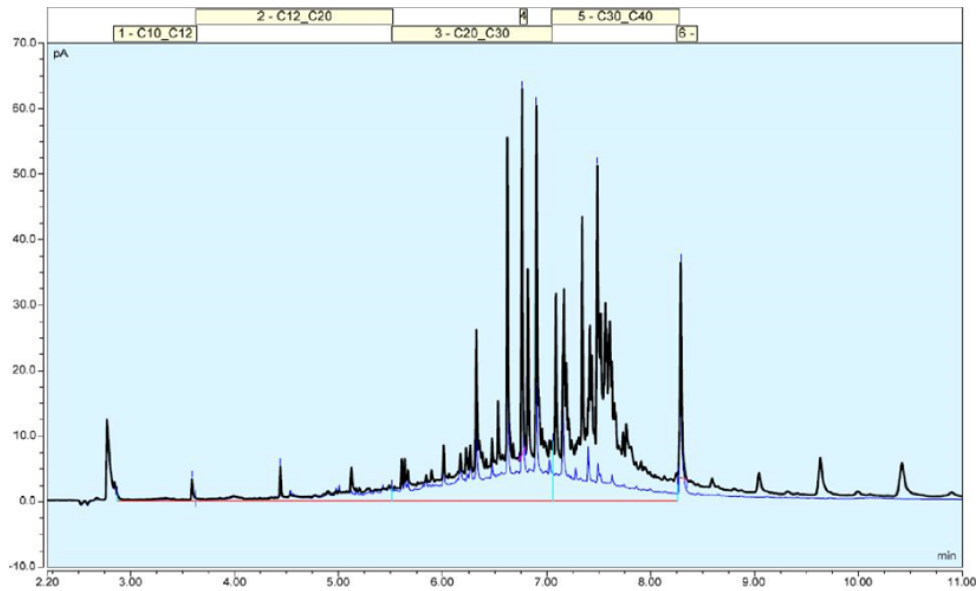
Figuur 41. STAAL-1942361-15

STAAL-1942361-15 DUPLO



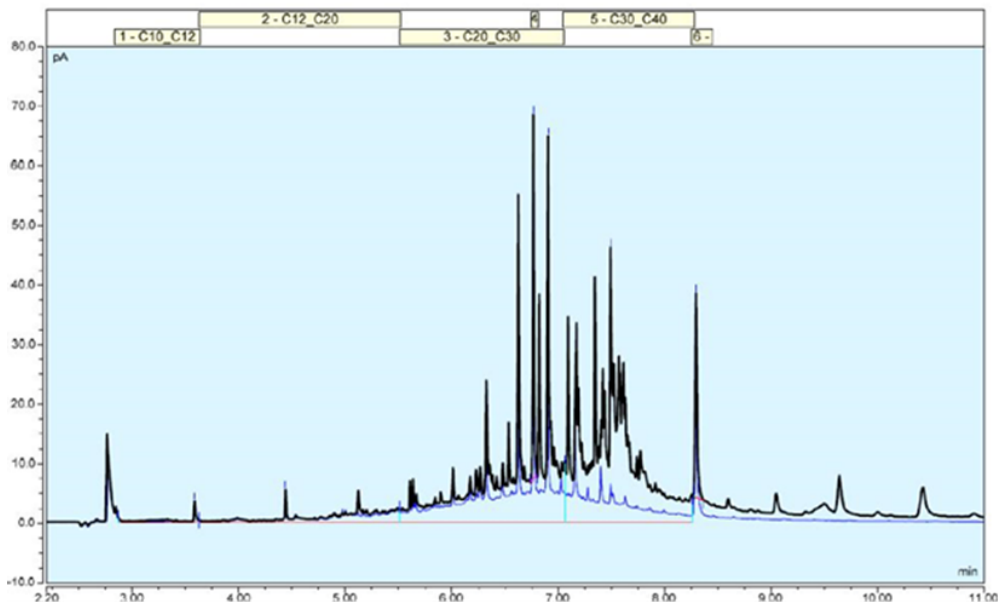
Figuur 42. STAAL-1942361-15 DUPLO

STAAL-1942361-16



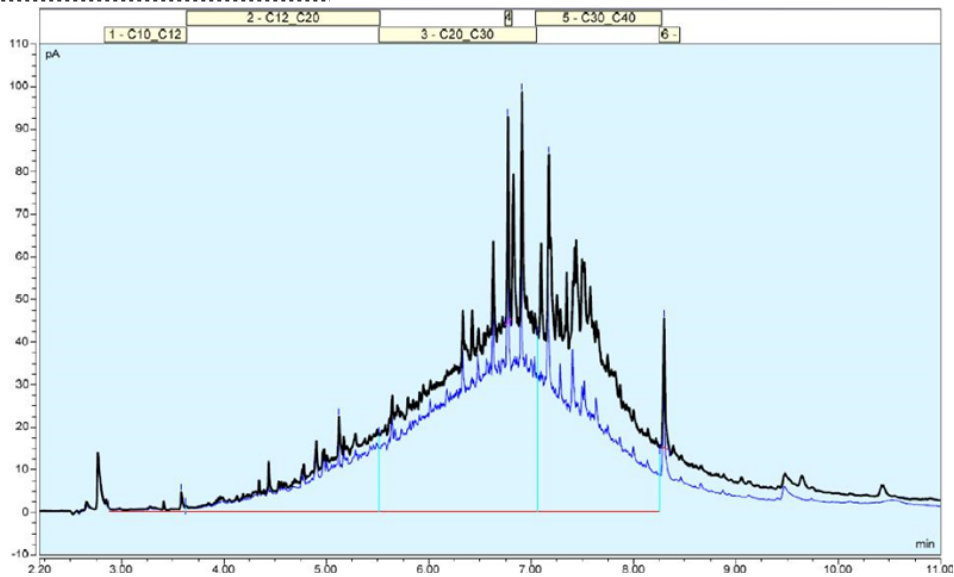
Figuur 43. STAAL-1942361-16

STAAL-1942361-16 DUPLO



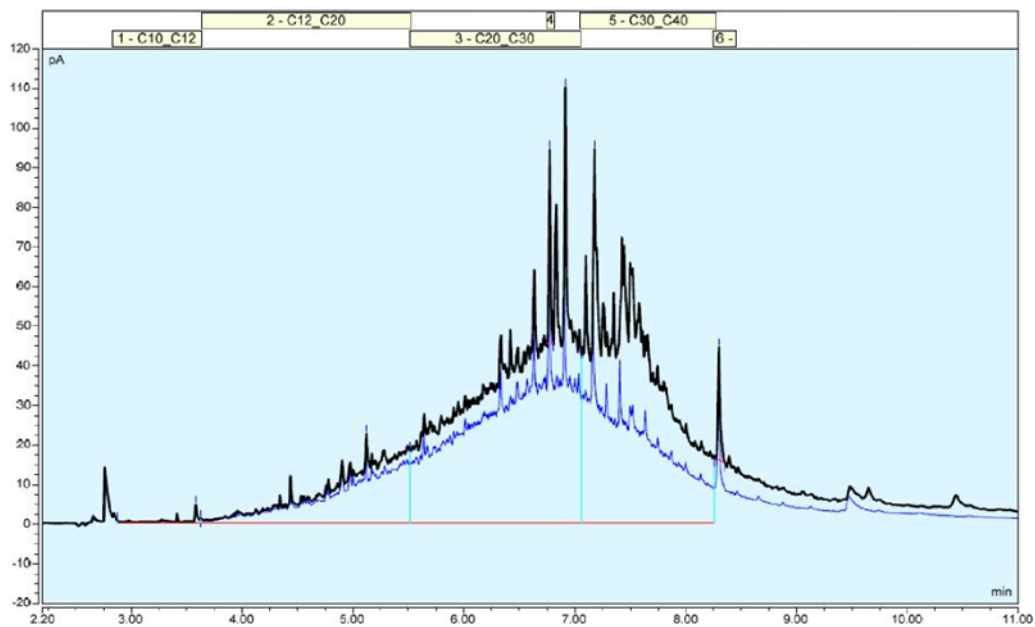
Figuur 44. STAAL-1942361-16 DUPLO

STAAL-1942361-17



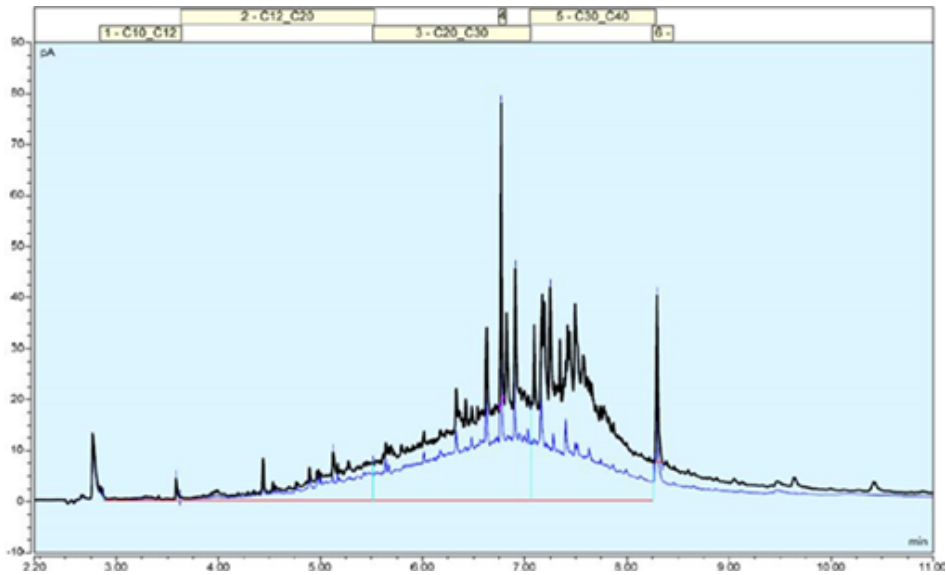
Figuur 45. STAAL-1942361-17

STAAL-1942361-17 DUPLO



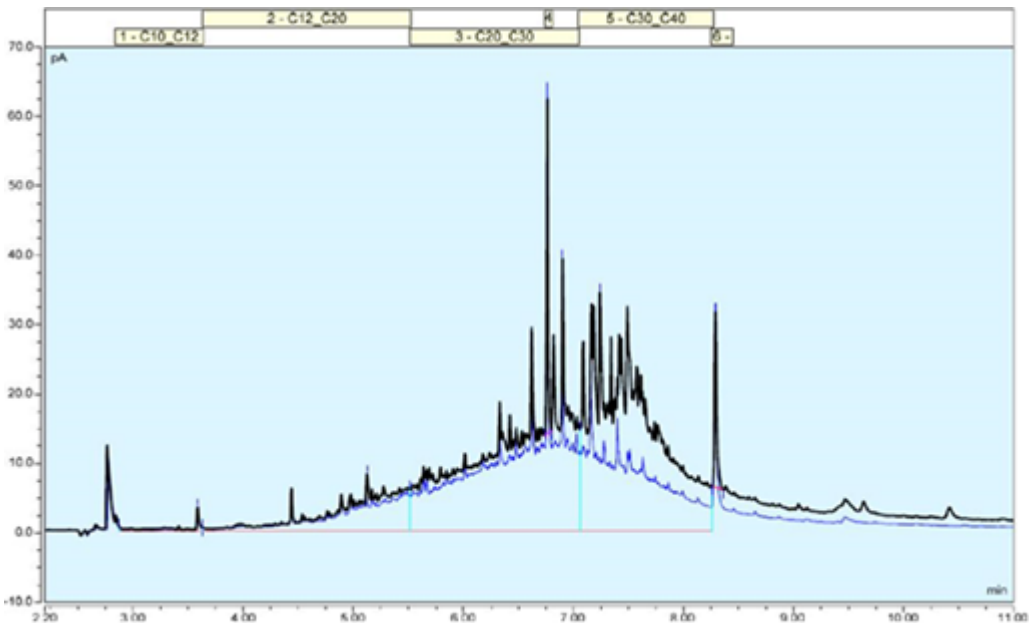
Figuur 46. STAAL-1942361-17 DUPLO

STAAL-1942361-18



Figuur 47. STAAL-1942361-18

STAAL-1942361-18 DUPLO



Figuur 48. STAAL-1942361-18 DUPLO