



NOVANA

Teknisk anvisning for marin overvågning

Teknisk appendiks –
miljøfarlige stoffer

Martin M. Larsen
Britta Pedersen †
Jens Jacobsen
Afdeling for Marin Økologi

Marianne Clemann
Afdeling for Miljøkemi

Miljøministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser

Teknisk appendiks – miljøfarlige stoffer

TA1 Teknisk appendiks 1: Metaller	4
TA1.1 Kilder og miljøkemi	4
TA1.2 Kontamineringsproblemer	5
TA1.3 Analysen	5
TA1.3.1 Rensning af udstyr	5
TA1.3.2 Kemikalier	5
TA1.3.3 Tørstofbestemmelse	6
TA1.3.4 Kvantitativ bestemmelse af metalkoncentrationen	6
TA1.3.4.1 Homogenisering og frysetørring	6
TA1.3.4.2 Oplukning	6
TA1.3.4.3 Kvantisering	6
TA1.4 Kvalitetskontrol	7
TA1.4.1 Referencemateriale	7
TA1.4.2 Kalibrering	7
TA1.4.3 Blankprøver og dobbeltbestemmelser	7
TA1.4.4 Præstationsprøvninger	8
TA1.4.5 Referencer	8
TA2 Teknisk appendiks 2: Organiske klorforbindelser	9
TA2.1 Analysekomponenter	9
TA2.2 Kilder og miljøkemi	9
TA2.3 Kontamineringsproblemer ved prøvehåndtering og analyse	10
TA2.4 Analysemetode	10
TA2.4.1 Rensning af udstyr	11
TA2.4.2 Kemikalier	11
TA2.4.2.1 Lipid og tørvægtsbestemmelse	11
TA2.4.2.2 Ekstraherbart lipid	11
TA2.4.2.3 Total lipid efter Bligh & Dyer	11
TA2.4.3 Tørstof	11
TA2.4.4 Homogenisering	11
TA2.4.4.1 Biologiske prøver	11
TA2.4.4.2 Sediment prøver	11
TA2.4.5 Ekstraktion	12
TA2.4.5.1 Biologiske prøver	12
TA2.4.5.2 Sediment	12
TA2.4.6 Oprensning	12
TA2.4.6.1 Biologiske prøver	12
TA2.4.6.2 Sediment	12
TA2.4.7 Kvantisering	13
TA2.4.7.1 Kalibreringsstandarder	13
TA2.4.7.2 Kalibrering	13
TA2.4.7.3 Interne standarder (alias kvantiserings standarder)	13

TA2.5	Kvalitetskontrol	14
	TA2.5.1 Genfinding, blankprøver, dobbelt bestemmelser	14
	TA2.5.2 Referencematerialer	14
	TA2.5.2.1 Præstationsprøvninger	15
TA2.6	Referencer	15
TA2.7	Bilag 1	16
TA3	Teknisk appendiks 3: Organotin-forbindelser	18
TA3.1	Kilder og miljøkemi	18
TA3.2	Kontamineringsproblemer ved prøvehåndtering og analyse	18
TA3.3	Analysen	18
	TA3.3.1 Rensning af udstyr	18
	TA3.3.2 Kemikalier	19
	TA3.3.3 Tørvægtsbestemmelse	19
	TA3.3.4 Kvantitativ bestemmelse af koncentrationen	19
TA3.4	Kvalitetskontrol	19
	TA3.4.1 Referencemateriale	19
	TA3.4.2 Kalibrering	19
	TA3.4.3 Blankprøver	19
	TA3.4.4 Præstationsprøvninger	20
TA3.5	Referencer	20

Teknisk appendiks – miljøfarlige stoffer

TA1 Teknisk appendiks 1: Metaller

Dette tekniske appendiks er beregnet som supplement til de Tekniske Anvisninger for Marin Overvågning af miljøfarlige stoffer i biota og sediment vedr. forhold, der specifikt vedrører metaller. De metaller, der skal analyseres i det marine overvågningsprogram, er Cd, Cu, Hg, Pb, Zn og Ni .

Al skal desuden analyseres i sedimentprøver til brug for en normalisering af koncentrationen i sediment.

Dette er ikke en fuldstændig beskrivelse af en analysemetode og kan derfor ikke bruges som en detaljeret beskrivelse af fremgangsmåden ved bestemmelse af metaller i biota eller sediment. De råd og anvisninger, der gives i dette tekniske appendiks, skal derfor bruges som vejledning til de laboratorier, der ønsker at implementere eller optimere en analysemetode til bestemmelse af metaller i biota og sediment, således at metoden kan opfylde de krav, der er stillet i de Tekniske Anvisninger.

TA1.1 Kilder og miljökemi

Metaller har altid forekommet naturligt i miljøet. De frigøres f.eks. fra bjergrunden og fra jordlagen gennem forvitnings-erosion og udvaskningsprocesser. Havet tilføres imidlertid også store mængder metaller på grund af den antropogene belastningen. I Sverige har beregninger vist, at den antropogene del af tilførslen til i stort set samtlige svenske farvande er større end den naturlige tilførsel.

Metaller tilføres det marine miljø dels fra diffuse kilder som luften, ferskvandstilstrømningen, forurenet sediment i forbindelse med klapning, skibe (f.eks. Cu fra antibegroningsmiddel) og dels via hus- og industrispildevand, også selv om betydningen af de sidstnævnte kilder imidlertid er aftagende på grund af de forbedrede rensningsprocedurer ved vores rensningsanlæg.

Metallers forskellige affinitet til partikler samt evne til kompleksbinding påvirker i høj grad deres skæbne og effekt. Visse metaller har en meget høj affinitet for partikler (f.eks. Pb, Cr, Hg). Dette giver en mindre biologisk tilgængelighed og herved udgør de en mindre risiko for miljøet. De transporteres i høj grad som partikler for til sidst at sedimentere ud fra vandsøjlen til bunden, hvor de opkoncentreres. Andre metaller, som f.eks. Cu og Cd, kan kompleksbindes til organiske forbindelser (specielt Cu) eller kloridioner (specielt Cd), hvorved deres affinitet til partikler kan formindskes og de bliver mere vandopløselige. Ved kompleksbinding forandres desuden disse metallers toksicitet.

TA1.2 Kontamineringsproblemer

Metaller forekommer overalt i vores miljø. Det er derfor meget svært at undgå at en prøve bliver kontamineret ved prøvehåndteringen og analysen, hvis man ikke tager specielle forbehold.

Det er næsten altid kontamineringsproblemer og ikke selve metoden, der er den afgørende faktor for hvilken detektionsgrænse et laboratorium kan opnå.

Alt materiale/udstyr der kommer i kontakt med prøven skal være specialrenset og rensningsproceduren skal jævnligt kontrolleres med blankprøver (se rensning af udstyr), for at sikre at det ikke afgiver noget metal der skal analyseres.

En stor forureningskilde er luften, der indholder en stor mængde partikelbundne metaller, f.eks. fra rygning og andre forbrændingsprocesser. Alle prøvbeholdere skal derfor hurtigt tildækkes/lukkes for at undgå at enkelte partikler falder ned i dem og man skal prøve at holde så støvfrit som muligt i arbejdsområdet. Bedst er, hvis man har tilgang til en såkaldt "laminar flow-bænk", dvs. et skab/område hvor luften bliver filteret for partikler gennem et filter. Der findes små transportable s.k flow-bænke.

TA1.3 Analysen

TA1.3.1 Rensning af udstyr

Der anvendes fortrinsvis Rilsan poser til transport, da disse erfaringsmæssigt ikke kræver rensning før brug, og ikke giver afsmitning af andre stofgrupper der sædvanligvis analyseres i prøverne.

Alt glas og teflon udstyr skal vaskes i HNO_3 p.a. /demineraliseret vand af høj kvalitet i forholdet 1 +1, hvorefter det skylles grundigt med demineraliseret vand af høj kvalitet.

Ikke alle plast materialer kan tåle en så høj syrekonzentration. Det kan derfor være nødvendigt at fortynde HNO_3 yderligere afhængig af materialet, f.eks. i forholdet 1 + 6.

Udstyr, der er syrerenset, skal opbevares, så det ikke yderligere kan kontamineres, f.eks. i lukkede beholdere eller plastposer.

TA1.3.2 Kemikalier

De kemikalier, der bruges ved analysen, må ikke indeholde de metaller, der skal analyseres for.

Der tilsættes ofte en relativt stor syremængde til prøven, når denne skal opløses/destrueres. Det betyder, at det er særdeles vigtigt, at denne indholder mindst muligt metaller. En syre af suprapure kvalitet bør derfor bruges.

TA1.3.3 Tørstofbestemmelse

Se de tekniske anvisninger.

TA1.3.4 Kvantitativ bestemmelse af metalkoncentrationen

TA1.3.4.1 Homogenisering og frysetørring

Hele prøven skal homogeniseres med f.eks. en blender eller stavblender, inden delprøver udtages. Friske biologiske prøver skal homogeniseres grundigt for at sikre, at al væske og fedtstoffer, der evt. er separeret fra den faste væv, bliver inkluderet i prøven. Blenderen skal være af et materiale, så den ikke afgiver nogen af de metaller, der skal analyseres for. Dette skal kontrolleres, inden den tages i brug. Kontroller også at prøven er homogen i hele den periode, hvor der skal udtages delprøver. Hvis ikke, skal prøven re-homogeniseres mellem hver udtagning af delprøver.

Hele prøven kan også frysetørres og derefter homogeniseres ved, at den knuses i en kuglemølle.

Kuglemøllen skal kontrolleres, så den ikke afgiver nogen af de metaller der skal analyseres for.

TA1.3.4.2 Oplukning

Forskellige metoder kan bruges til at oplukke prøven. Som minimum skal man sikre sig at

- alt materiale bliver destrueret og prøven mineraliseret
- ikke noget metal forsvinder (speciel kritisk for Hg)
- kontaminering undgås

Oplukningen kan foregå i et åbent eller lukket system, f.eks. i en varmeblok eller i en mikrobølgeovn alternativt i en trykbombe. De lukkede system har den store fordel, at prøven beskyttes effektivt mod kontaminering under oplukningen.

Det er nødvendigt at bruge en syre blanding, der indholder flussyre, hvis et sediment skal kunne opløses fuldstændigt.

TA1.3.4.3 Kvantisering

Flere metoder kan bruges til at bestemme koncentrationen i prøven, f.eks. forskellige atomabsorptionsmetoder (AAS)(flamme, hydrid og grafitovn) induktiv koblet plasma massespektrometri (ICP-MS) og induktiv koblet plasma atom emissions spektrometri (ICP-AES), afhængig af metal og niveau.

Der findes også enkelte ikke destruktive metoder som f.eks. neutron aktiverings analyser der også har en tilstrækkelig følsomhed.

TA1.4 Kvalitetskontrol

TA1.4.1 Referencemateriale

Prøverne analyseres ofte i en samlet analyseserie. En analyseserie skal bestå af max 15 prøver.

Der skal i hver analyseserie medtages 1-2 kontrolprøver.. Disse skal så vidt muligt være af samme type som selve prøven. Kontrolprøven kan fremstilles af det enkelte laboratorium (IRM) eller kan være et der er kommercielt tilgængeligt, et certificeret reference materiale (CRM). Kontrolprøver skal anvendes til at fremstille såkaldte kontrolkort (x, r-kort), hvor man løbende kan notere ned resultatet af en kontrolanalyse for at kunne dokumentere at analysen er i statistisk kontrol. Laboratoriet skal derfor også have fastlagt nogle kontrolgrænser for acceptable værdier.

Egnede certificerede reference materialer kan erholdes fra National Research Council (NRCC), Canada, BCR (EU) og NIST i USA.

Disse er f.eks. for,

Sediment

Fra NRCC: BCSS, MESS og PACS

Biota

Fra NRCC: DORT, DOLM og TORT

Andre referencematerialer kan være under produktion, og man bør derfor holde sig orienteret løbende om nye materialer.

NIST: National Institute of Standards and Technology, Standard Reference Materials Program, Room 204, Building 202, Gaithersburg, MD 20899-0001, USA..

BCR: Institute for Reference Materials and Measurements, Management of Reference Materials Unit, Retieseweg, B-2440 Geel, Belgium

NRCC: National Research Council, Canada, Montral Road, Ottawa, Ontario, Canada

TA1.4.2 Kalibrering

Kommercielle stamopløsninger indeholdende 1000 mg/l metal bør bruges.

Evt. matrix-interferenser i prøven bør/kan kontrolleres ved at udføre et genfindingsforsøg, dvs. ved at tilsætte "spike" en prøve med et lavt indhold af metaller, analysere prøven og herefter beregne genfindingen. Hvis der kan konstateres matrix-effekter bør analysen kalibreres med en standard-additionsmetode og ikke en eksten kalibrering.

TA1.4.3 Blankprøver og dobbeltbestemmelser

Der skal for hver analyseserie analyseres en blank prøve der tilsættes de samme kemikalier som en rigtig prøve og derefter tages gennem

TA-7

hele analysen inklusive oplukningen. Derved kan eventuel forurening fra laboratoriets glasvarer og kemikalier samt luften opdages.

Der skal i hver analyseserie (<15 prøver) medtages en dobbeltbestemmelse af een af prøverne, eller gentages en analyse af en tidligere analyseret prøve.

TA1.4.4 Præstationsprøvninger

Det analyserende laboratorium skal deltage i en egnet præstationsprøvning 1-2 gange om året, dvs., en præstationsprøvning, hvor prøverne er af samme type og har samme koncentration som de prøver, der skal analyseres for. For øjeblikket arrangeres den eneste egnede præstationsprøvning af QUASIMEME (se referencelisten). Dette er et europæisk program, som beskæftiger sig med marine prøver (biologiske, sediment og vand) i koncentrationer, der er relevante for danske farvande. Foretrækker man at deltage i andre præstationsprøvninger, bør dette på forhånd diskuteres med fagdatacenteret for at sikre, at de opfylder oven nævnte krav.

TA1.4.5 Referencer

JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Sediments. Oslo and Paris Commission (in print)

JAMP Biota Monitoring Guidelines, Oslo and Paris Commissions, (in print)

QUASIMEME program. The Scottish Office Marine Laboratory, P.O. Boks 101 Victoria Road, Aberdeen, AB 119DB. Fax: +44 1224 29 55 11.

TA2 Teknisk appendiks 2: Organiske klorforbindelser

TA2.1 Analysekomponenter

Der skal i det marine overvågningsprogram analyseres for følgende organiske klorforbindelser:

Polyklorerede biphenyler (PCB):

CB-28, CB-31, CB-52, CB-101, CB-105, CB-118, CB-138, CB153, CB-156, CB-180,

Lindan (gamma-HCH),

Hexachlorbenzen (HCB),

pp'-DDT og pp'-DDE,

aldrin, dieldrin, endrin, isodrin (kun i det udvidede program)

TA2.2 Kilder og miljökemi

De nævnte organiske klorforbindelser hører til de persistente, tungt nedbrydelige stoffer, der er tungt opløselige i vand og let opløselige i fedt, og som derfor opkoncentreres i de højere led af fødekæden f.eks. i pattedyr. Stofferne virker generelt hæmmende på reproduktionen og på immunforsvaret.

PCB

Der er produceret i alt ca. 1,2 millioner tons PCB fra 1929 til 1977. PCB er distribueret over hele verden, og har været brugt som isolator i kondensatorer og transformere, samt i maling, tryksvæerte, skærelolie, hydrauliske systemer, blødgøre i plast og i lysstofrør. Kilderne til PCB er diffuse, f.eks. de store europæiske floder og sedimentaflejringerne udfør disses udløb, gamle lossepladser og huse, hvor PCB har været anvendt i bygningsmaterialerne. I Nordsøen PCB målt (som sum af enkelt congenere) i koncentrationer i blåmuslinger på 5-200 µg/kg ww og i fiskelever på 150-1200 µg/kg ww. Sedimentkoncentrationer fra Nordsøen ligger mellem 0,1 og 40 µg/kg dw, højest ved udløbene af store floder som Rhinen, Meuse, Ems, Elben og Göta elven, (North Sea Quality Status Report, 1993).

Lindan

Lindan er et insekticid, der bruges i Nordamerika, Japan, Kina og Europa til bejdsning af frø og sprøjtning af grøntsager og frugt. Lindan er sammenlignet med andre organiske klorforbindelser forholdsvis flygtigt og transporteres let med luft og vand over lange afstande. I Nordsøen er lindan fundet i blåmuslinger i koncentrationer

TA-9

ner på 0,2-7 µg/kg ww og i fiskelever på 2-20 µg/kg ww. Der findes kun få sediment data, som viser koncentrationer på 0,001-5 µg/kg dw; de højeste koncentrationer findes i kystnære områder, (North Sea Quality Status Report, 1993).

Hexachlorbenzen (HCB)

Hexachlorbenzen er produceret som biprodukt ved forskellige pesticider og har selv været anvendt som fungicid i 1960'erne. HCB er målt i fiskelever i Nordsøen på 20-40 µg/kg ww og i sediment på 0,01-4 µg/kg dw, (North Sea Quality Status Report, 1993).

DDT

DDT er et insekticid, der har været anvendt siden 1940'erne, (1944-1970 produceredes 2 millioner tons). Det er forbudt i Nordamerika og Vesteuropa, men bruges stadig i Asien, Afrika og Central- og Sydamerika, samt muligvis i Kina og Rusland. Det anvendes i skov- og landbrug og til bekæmpelse af malaria (myg) og tyfus (lus).

DDT og dets nedbrydningsprodukter DDD og DDE er fundet i muslinger i Nordsøen i koncentrationer på 0,3-70 mg/kg ww, i fiskelever på 5-1000 µg/kg ww, og i sediment på 1-15 µg/kg dw, (North Sea Quality Status Report, 1993).

Aldrin, dieldrin, endrin, isodrin.

Aldrin og dieldrin er produceret og anvendt som insekticid siden 1940'erne; det bruges nu i mindre udstrækning. Dieldrin er målt i fiskelever fra Nordsøen i koncentrationer på 2-160 µg/kg ww. Dieldrin er kun analyseret i få tilfælde i sediment; værdierne fra de åbne farvande i Nordsøen ligger på <0,05-13 µg/kg dw, (North Sea Quality Status Report, 1993).

TA2.3 Kontamineringsproblemer ved prøvehåndtering og analyse

De organiske klorforbindelser, der skal analyseres for, har mange diffuse kilder, hvorfor prøverne skal behandles med størst mulig omhu. Olie, fedtstof og blødgørere fra plastik vil genere analyserne, hvorfor disse stoffer skal undgås.

Anvendes Rilsan poser til opbevaring efter prøvetagning kræver de erfaringsmæssigt ikke rensning før brug, og giver ikke afsmitning af generende stoffer til prøverne.

TA2.4 Analysemetode

Detaljerede retningslinier for analyse af PCB og klorerede pesticider er givet i Joint Assessment and Monitoring Programme (JAMP) Biota Monitoring Guidelines (in press), JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Sediments (in press) og i ICES tekniske rapport af Smedes og De Boer (in press). I det efterfølgende vil kun blive nævnt

de vigtigste krav til metoderne beskrevet i de nævnte guidelines. Såfremt man ønsker af anvende nyere metoder, som f.eks. Supercritical Fluid Extraction (SFE), skal disse være fuldstændig dokumenterede og kvalitetsikrede på linie med det her beskrevne.

TA2.4.1 Rensning af udstyr

I bilag 1 til dette appendiks beskrives, hvordan emballage og glasvarer rengøres i forbindelse med PCB analyser.

For at undgå problemer med forurenede prøver anbefales det at lade det laboratorium, der skal analysere prøverne, rengøre den emballage, der skal bruges ved prøveindsamlingen. Alternativt anvendes Rilsan poser (se 18.2.3)

TA2.4.2 Kemikalier

Opløsningsmidler og kemikalier må ikke indeholde stoffer, der kan forstyrre analysen af de nævnte organiske klorforbindelser, hvorfor alle anvendte opløsningsmidler og kemikalier kontrolleres for interfererende stoffer og eventuelt renses, inden de anvendes.

TA2.4.2.1 Lipid og tørvægtsbestemmelse

Indholdet af lipid i prøverne skal bestemmes ved følgende to metoder:

TA2.4.2.2 Ekstraherbart lipid

En kvotadel af ekstraktet inddampes til tørhed og vejes; den afvejede mængde beregnes som lipid procent af den tilsvarende mængde prøve.

TA2.4.2.3 Total lipid efter Bligh & Dyer

Total lipid bestemmelsen udføres på en del af homogenatet, som ikke anvendes til analyse for organiske klorforbindelser. Vedrørende en detaljeret beskrivelse af metoden henvises til Bligh & Dyer (1959).

TA2.4.3 Tørstof

Tørstof bestemmes ved tørring af prøven til konstant vægt ved 105°C.

TA2.4.4 Homogenisering

TA2.4.4.1 Biologiske prøver

Hele prøven homogeniseres med blender eller stavblender inden delprøver udtages. Såfremt prøven afblander hurtigt, skal prøven homogeniseres mellem hver udtagning af delprøver.

TA2.4.4.2 Sediment prøver

Sediment prøver kan med fordel tørres inden homogenisering, f.eks. ved tilsætning af tørret natriumsulfat. Bedst er frysetørring, hvor prøven kan dækkes til med et låg med et lille hul under frysetørringen for at undgå kontaminering. Anvendes tørring ved stuetempe-

ratur bør man kontrollere om der er risiko for kontaminering via laboratorieluften; tørring ved forhøjede temperaturer bør undgås p.g.a. risiko for tab af letflygtige komponenter.

TA2.4.5 Ekstraktion

TA2.4.5.1 Biologiske prøver

Prøverne skal ekstraheres med organisk opløsningsmiddel, der ikke er fuldstændigt apolært. Eventuelt kan bruges en blanding af opløsningsmidler, f.eks. hexan+ acetone (4+1). Såfremt soxhlet ekstraktion anvendes, skal prøverne være tørret, f.eks. ved rivning med tørret natriumsulfat og henstand hermed i mindst 4 timer.

Hvis der ikke anvendes soxhlet skal det dokumenteres at ekstraktionen har en effektivitet der svarer til soxhlet inden metoden anvendes. Uanset metoden skal genfinding af certificerede reference prøver demonstreres, alternativt genfinding gennem deltagelse i QUASIMEME.

TA2.4.5.2 Sediment

Tørre sediment prøver ekstraheres oftest ved soxhlet, bedst med en blanding af apolært og polært ekstraktionsmiddel. Vådt sediment kan ekstraheres ved rystning med først polært siden apolært ekstraktionsmiddel; mindst 3 på hinanden følgende ekstraktioner er nødvendig, og 24 timers kontakt med ekstraktionsmiddelet er tilstrækkelig.

Hvis der ikke anvendes soxhlet skal det dokumenteres at ekstraktionen har en effektivitet der svarer til soxhlet inden metoden anvendes. Uanset metoden bør genfinding demonstreres gennem deltagelse i QUASIMEME.

TA2.4.6 Oprensning

TA2.4.6.1 Biologiske prøver

Inden oprensning på søjle, fjernes fedtstoffet fra prøveekstraktet enten ved hjælp af koncentreret svovlsyre, ved søjleoprensning eller ved gel permeation chromatography (GPM). Aldrin, dieldrin, endrin og isodrin nedbrydes ved behandling med koncentreret svovlsyre. Når fedtet er fjernet, skal ekstraktet oprenses på søjle (kiselgel, aluminiumoxid eller florisil). Da forskellige produktionsbatche af samme type søjlemateriale kan have forskellige egenskaber, skal elueringsvolumenet testes for hver ny batch søjlemateriale.

Eluaterne opkoncentreres til ca. 1 ml, idet inddampning til tørhed skal undgås.

TA2.4.6.2 Sediment

Svovl skal fjernes fra sediment ekstraktet, hvilket kan gøres på flere måder bl.a. ved tilsætning af kobberpulver, se Jacobs et al. (1992) og Smedes og de Boer (in press). Ekstraktet renses derefter som angivet for biologiske prøver.

TA2.4.7 Kvantisering

De opkoncentrerede eluater tilsættes interne standarder og analyseres på gaschromatograf med kapillarkolonner. Detektoren kan være electron capture detector (ECD) eller masse-spektrometer (MS). Kolonnerne skal være mindst 50 m med en indre diameter på ca. 0,25 mm og en filmtykkelse på 0,2-0,4 µm. Ved anvendelse af GC-ECD skal prøverne analyseres på to kolonner af forskellig polaritet, og resultatet skal opgives som gennemsnit af resultaterne fra de to kolonner, (med mindre der forekommer interferens på den ene kolonne). Ved anvendelse af GC-MS bruges foruden retentionstiden et fast forhold mellem to ion-masser som identifikation af de enkelte stoffer, der derefter kan kvantiseres på een ion alene, idet der anvendes deuterium- eller C¹⁴-mærkede standarder.

TA2.4.7.1 Kalibreringsstandarder

Kalibreringsstandarderne fremstilles ved afvejning af rene stoffer. To parallelle stamopløsninger fremstilles for at kontrollere afvejsningerne, eller nye opløsninger sammenlignes med gamle, der har vist sig stadig at fungere tilfredsstillende ved præstationsprøvninger.

Der kan købes færdige opløsninger af PCB'er af en tilfredsstillende kvalitet. Usikkerheden på den angivne koncentration skal være angivet og af acceptabel størrelse. Eksempel på forhandler: QUASIMEME (se referenceliste).

TA2.4.7.2 Kalibrering

PCB'er og klorerede pesticider har som regel ikke lineære kalibreringskurver i de relevante koncentrationsområder (0,5-200 ng/ml). Der skal derfor kalibreres med mindst fem forskellige koncentrationer, og den bedste kalibreringsfunktion skal vælges, (andengrads ligningen, eksponentialfunktionen eller punkt-til-punkt kalibrering har hidtil været de foretrukne). Som alternativ kan det lineære stykke af kalibreringskurven fastlægges (Wells et al. 1998; de Boer et al. 1992). Der må ikke kvantiseres over henholdsvis under kalibreringsstandardernes højeste henholdsvis laveste koncentration.

TA2.4.7.3 Interne standarder (alias kvantiseringsstandarder)

Ved kvantisering foretrækkes tophøjder fremfor arealer. Alle tophøjder regnes relativt overfor den interne standards tophøjde. Som intern standard kan vælges en PCB, der ikke i forvejen forekommer i den oprensede prøve eller som interfererer med andre PCB'er; CB-40, CB-53, CB-155, CB-198 og CB-207 kan være fornuftige valg.

Det kontrolleres, at den valgte interne standard ikke interfererer med andre stoffer i de aktuelle prøver ved at analysere prøverne uden interne standarder. Da interferenser kan forekomme, er det en god ide at tilsætte flere interne standarder, så man i givet fald har flere at vælge imellem. De ikke anvendte interne standarder kan anvendes som tidsreferencer.

TA2.5 Kvalitetskontrol

TA2.5.1 Genfinding, blankprøver, dobbeltbestemmelser

Prøverne inddeles i serier af passende størrelse, og for hver prøveserie bestemmes genfindingsprocenterne. Dette kan enten gøres ved at spike en prøve med lavt indhold med samtlige analysekomponenter og bestemme genfindingen heraf. Eller det kan gøres ved at tilsætte samtlige prøver udvalgte PCB'er, der vides ikke at interferere med stoffer i prøverne. Hertil kan anvendes CB-3 og de ovenfor nævnte PCB'er, for så vidt de ikke anvendes som interne standarder. Anvendelse af udvalgte genfindingsstandarder tilsat alle prøver kræver, at man har vist ved forsøg med de pågældende matricer, at disse standarders genfindingsprocenter stemmer overens med de øvrige komponenters genfindingsprocenter.

Der skal for hver analyseserie analyseres en blank prøve, d.v.s. hele analysen inklusiv ekstraktion og oprensning gennemføres uden tilsætning af prøve. Derved fastlægges eventuel forurening fra laboratoriets glasvarer, kemikalier og opløsningsmidler.

Der skal i hver analyseserie medtages en dobbeltbestemmelse af een af prøverne, eller gentages en analyse af en tidligere analyseret prøve.

TA2.5.2 Referencematerialer

Der skal i hver analyseserie medtages 1 eller 2 kontrolprøver. Som kontrolprøver skal anvendes et materiale, der så vidt muligt minder om de aktuelle prøver. Kontrolprøver kan være fremstillet af det enkelte laboratorium, eller det kan være et hjemkøbt (certificeret) referencemateriale. Kontrolprøverne skal anvendes til fremstilling af x-kort, idet der skal fastlægges grænser for acceptable værdier samt konsekvenser for analyseseriens prøver, såfremt kontrolprøvernes resultater falder uden for de fastsatte grænser.

Certificerede referencematerialer kan desuden anvendes med mellemrum for at sikre analysekvaliteten. Egnede certificerede referencematerialer er for øjeblikket:

NIST¹ SRM 1588(Klorerede pesticider i fiskeolie)

NIST SRM 2261 (Klorerede pesticider i n-hexan)

BCR² CRM 350 (PCB'er i makrelolie)

BCR CRM 365(PCB'er i iso-oktan)

Det har ikke været muligt p.t. at finde et egnet certificeret referencemateriale for sedimenter indeholdende de pågældende stoffer i relevante koncentrationer.

¹ NIST: National Institute of Standards and Technology, Standard Reference Materials Program, Room 204, Building 202, Gaithersburg, MD 20899-0001, USA..

² BCR: Institute for Reference Materials and Measurements, Management of Reference Materials Unit, Retieseweg, B-2440 Geel, Belgium

Nye referencematerialer er under forberedelse, f.eks. i øjeblikket organiske stoffer i muslinger. Man bør derfor løbende holde sig orienteret om nye referencematerialer.

TA2.5.2.1 Præstationsprøvninger

Det er en forudsætning for at afrapportere data om organiske klorforbindelser til det marine overvågningsprogram, at det analyserende laboratorium deltager i en egnet præstationsprøvning 1-2 gange om året, dvs., en præstationsprøvning, hvor prøverne er af samme type og har samme koncentration som de prøver, der skal analyseres for. For øjeblikket arrangeres den eneste egnede præstationsprøvning af QUASIMEME (se referencelisten), der er et europæisk program, som beskæftiger sig med marine prøver (biota og sediment) i koncentrationer, der er relevante for danske farvande. Foretrækker man at deltage i andre præstationsprøvninger, bør dette på forhånd diskuteres med fagdatacenteret for at sikre at de opfylder oven nævnte krav og i øvrigt er af acceptabel kvalitet

TA2.6 Referencer

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.*, 37, 911-917.

Boer, J. de; Duinker, J.C.; Calder, J.A.; Meer, J. van der (1992) A Interlaboratory study on the analysis of chlorobiphenyl congeners. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 75, 1054-1062.

Jacobs, M.W.; Delfino J.J.; Bilton, G. (1992) The toxicity of sulphur to microtox from acetonitrile extracts of contaminated sediments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 1137-1143

JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Sediments. Oslo and Paris Commission (in press)

JAMP Biota Monitoring Guidelines, Oslo and Paris Commissions, (in press)

North Sea Quality Status Report (1993), Oslo and Paris Commissions, London. Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark.

Smedes, F. & Boer, J. de (in press), Chlorobiphenyls in Marine Sediments: Guidelines for determinations. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences, no. 21, ICES, Palægade 2-4, 1261 København K.

Wells, D.E.; Doer, J. de; Tuinstra, L.G.M.T.; Reutergårdh, L.; Griepink, B. (1988) Improvements in the analysis of chlorobiphenyls prior to the certification of seven CBs in two fish oils., *Fres. Z. Anal. Chem.*, 332, 591-597.

QUASIMEME program. The Scottish Office Marine Laboratory, P.O. Box 101, Victoria Road, Aberdeen, AB 119DB. U.K.

Fax: +44 1224 29 55 11.

TA2.7 Bilag 1

Almindelig opvaskeprocedure i forbindelse med analyser af organiske stoffer på lavt niveau

1. Glasvarer

1.1 Brugte glasvarer

Den person, der har brugt glasvarerne, skyller disse i vand og eller ethanol og acetone. Snavsede glasvarer lægges i blød i 2% RBS i 1-2 døgn, hvorefter de skylles inden de går videre i den almindelige vaskprocedure, startende med iblødsætning.

1.2 Iblødsætning

Glasvarerne lægges i blød i 2 % RBS-vand i minimum 12 timer, hvorefter de skylles i

- 3 gange vand fra hanen og
- 3 gange i demineraliseret vand (millipore-vand eller tilsvarende kvalitet).

Glasvarerne tørres i ovn ved 105°C i 2 timer.

1.3 Varmebehandling

Glasvarerne varmebehandles ved 450°C i minimum 6 timer. Efter afkøling dækkes alle åbninger med alufolie. Flasker med skruelåg forsynes med rengjorte låg.

2. Skruelåg

Skruelågene skal være forsynede med teflonindlæg, der skal tages ud af lågene ved opvask. Låg og indlæg lægges i metal-kurve med låg og vaskes i opvaskemaskine ved 80°C. Låg og indlæg tørres efterfølgende i ovn ved 105°C, hvorefter de samles og skrues på rene flasker.

3. Aluminiums folie forme

Der bruges kun nye aluminiumsfolie forme. Formene varmebehandles adskilte i varmeovn ved 450°C i minimum 6 timer. Derefter pakkes formene sammen f.eks. i pakker af 5 stk. indpakket i alufolie.

Lågene til formene indpakkes i alufolie, og deres underside aftørres i hexan eller heptan. Derefter pakkes disse låg i alufolie med de rene sider mod hinanden, to og to.

4. Teflonbeholdere

Teflonbeholdere gøres rene som glasvarer, idet varmebehandling i ovn ved 450°C undlades.

5. Glaspipetter

Carlsbergpipetter

Pipetterne sættes i blød i 1,5% RBS vand i minimum 12 timer, hvorefter de skylles med 3 gange vand fra hanen og 3 gange millipore

vand. De tørres i varmeovn ved 105°C i 2 timer. Pipetter må ikke varmebehandles i ovn ved 450°C.

Fuldpipetter og målepipetter

Pipetterne sættes i blød i 1,5% RBS vand i minimum 12 timer, hvorefter de behandles med ultralyd i 20 minutter. Pipetterne skylles 3 gange med vand fra hanen og 3 gange med millipore vand. De tørres i varmeovn ved 105°C i 2 timer og varmebehandles i ovn ved 450°C.

TA3 Teknisk appendiks 3: Organotinforbindelser

TA3.1 Kilder og miljøkemi

Organotinforbindelser anvendes til en lang række industri processer. Af miljømæssig interesse er især de der anvendes som biocider til skibsmaling og træbeskyttelse. I havmiljøet er det især TBT der frigives fra skibes bundmalinger. I de seneste 30 år har TBT været anvendt og de lange nedbrydningstider har medført at der sandsynligvis er en ophobning af TBT i havmiljøet især i sedimenter og derved i bundlevende biota. Især muslinger er gode til at opkoncentrere TBT i deres væv.

TA3.2 Kontamineringsproblemer ved prøvehåndtering og analyse

Ved prøvehåndteringen skal der især tages hensyn til at organotinforbindelser anvendes til en lang række industrielle processer såsom PVC stabilisering, accelerator i polyurethanskum og i plexiglas. Der ved kan der forekomme en kontaminering af prøverne. Biota, som muslinger, er dog naturligt emballerede i deres skal og kan derfor transporteres i plastikspande uden omkringstående væske.

Alternativt kan der anvendes Rilsan poser til transport, da disse erfaringsmæssigt ikke kræver rensning før brug.

TA3.3 Analysen

Analysemetoden skal kunne analysere for de enkelte organotinforbindelserne tri-n-butyltin og triphenyltin samt nedbrydningsprodukter di-n-butyltin og mono-n-butyltin, (diphenyltin og monophenyltin) i blåmusling (*Mytilus edulis*) og i sediment.

Det er desuden en fordel hvis metoden også kan analysere for de enkelte organotinforbindelserne i ialmindelig konk (*Buccinum undatum*) og dværgkonk (*Hinia reticulata*) i forbindelse med specialundersøgelser.

Det er vigtigt for genfindingen at der anvendes en direkte derivatisering ved prøveekstraktion.

TA3.3.1 Rensning af udstyr

Der anvendes kun glasvarer. Disse skal renses ved organisk ekstraktion, EDTA kompleksbinding samt sur (1 % HNO₃) vask (Modificeret efter DS 259. Efterfølgende udglødes glasvarerne ved 450 °C i 2 timer.

TA3.3.2 Kemikalier

Der anvendes analyserene destillerede reagenser såsom n-pentan p.a. Merck og metahnol p.a. Merck.

TA3.3.3 Tørvægtsbestemmelse

Der bestemmes normalt ikke tørvægt på organismer (biota) men på sediment. Se også Teknisk Anvisning for sediment

TA3.3.4 Kvantitativ bestemmelse af koncentrationen

Prøven vejes og homogeniseres ved ultraturax. Intern standard tilsættes og prøven omrøres ved whirlymixer og henstår i mere end 1 time. Prøvenoplukning foregår ved sur ekstraktion med HCl og methanol samt ultralydsbehandling i 1 time. Prøven pH justres til 5 (± 0.5) og derivatiseres og ekstraheres gentagne gange *in-situ*.

Kvantificering foregår ved kalibrering til intern standard efter de omregningsprincipper for standard tilsætning til

Responsfaktorer skal beregnes ud fra metoder beskrevet i Jacobsen *et al.* 1997, hvor, der også findes yderligere information om en relevant metode.

TA3.4 Kvalitetskontrol

TA3.4.1 Referencemateriale

Der findes et certificeret referencemateriale for tributyltin, TBT, i sediment:

PACS-1 fra National Research Council, Canada, der er et havnesediment med en forholdsvis høj koncentration af TBT.

Der eksisterer ikke certificeret referencemateriale for organotin forbindelser i biota, der er dog tiltag til en høj koncentration biota reference hos BCR (ca 1 $\mu\text{g/g}$ TS).

TA3.4.2 Kalibrering

Kalibrering foretages ved absolutte standarder i instrumenterne og ved interne standarder såsom tri-n-propyltin, og injektionsstandard som tetra-n-butyltin. Kalibreringen er f.eks. lineær over 4 decader (Jacobsen *et al.* 1997) for GC-PFPD metoden.

Ydermere skal der foreligge en kvalitetssikret identifikation af de enkelte komponenter ved eksempelvis massespektrometrisk detektion (GC-ICPMS eller GC-MS). Ydermere anbefales en deuterium mærket intern standard metode til brug ved MS detektion og identifikation.

TA3.4.3 Blankprøver

Der anvendes prøver fremstillet af homogeniseret oksekød med 10-15

TA-19

% fedtindhold tilsat intern standard. Disse prøver medtages i hver analyseserie.

TA3.4.4 Præstationsprøvninger

Der har ikke været organiseret nationale organotin præstationsprøvning i Danmark d.d. I QUASIMEME regi arrangeres det i 1997-1998 en præstationsprøvning for første gang som forsøg.

TA3.5 Referencer

Jacobsen, JA; Stuer-Lauridsen, F; Pritzl, G (1997): Organotin Speciation in Environmental Samples by Capillary Gas Chromatography and Pulsed Flame Photometric Detection (PFPD). Appl. Organometal. Chem. 11, 737-741.

QUASIMEME program. The Scottish Office Marine Laboratory, P.O. Boks 101 Victoria Road, Aberdeen, AB 119DB. Fax: +44 1224 29 55 11.