

~~~~~  
***Bepaling van perfluorverbindingen in water  
met LC-MS/MS***



**Ontwerp**

**Inhoudsopgave**

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED .....                                  | 3  |
| 2. PRINCIPE .....                                                  | 3  |
| 3. MATERIAAL .....                                                 | 4  |
| 4. REAGENTIA EN STANDAARDEN .....                                  | 4  |
| 5. MONSTERBEWARING .....                                           | 5  |
| 6. ANALYSEPROCEDURE .....                                          | 6  |
| 6.1 Extractie .....                                                | 6  |
| 6.2 Meting .....                                                   | 6  |
| 6.2.1 LC-condities .....                                           | 6  |
| 6.2.2 MS-condities .....                                           | 7  |
| 6.2.3 Identificatie en integratie .....                            | 10 |
| 6.3 Kalibratie .....                                               | 10 |
| 7. KWALITEITSCONTROLES .....                                       | 12 |
| 7.1 Chromatografische scheiding .....                              | 12 |
| 7.2 Instrumentele detectielimiet .....                             | 12 |
| 7.3 Procedureblanco .....                                          | 12 |
| 7.3 Controle van de geldigheid van de kalibratievergelijking ..... | 12 |
| 7.4 Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen .....    | 13 |
| 7.5 Controlemonster .....                                          | 13 |
| 8. RAPPORTERING .....                                              | 13 |
| 9. REFERENTIES .....                                               | 13 |

## 1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De hieronder beschreven analysemethode wordt gebruikt voor het bepalen van perfluorverbindingen (PFC):

in drink-, grond- en oppervlaktewater  
in afvalwater

en is gericht op de kwantificering van volgende componenten:

|                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| - perfluoro-n-pentanoic acid    | PFPA  |
| - perfluoro-n-hexanoic acid     | PFHxA |
| - perfluoro-n-heptanoic acid    | PFHpA |
| - perfluoro-n-octanoic acid     | PFOA  |
| - perfluoro-n-nonanoic acid     | PFNA  |
| - perfluoro-n-decanoic acid     | PFDA  |
| - perfluoro-n-undecanoic acid   | PFUDA |
| - perfluoro-n-dodecanoic acid   | PFDoA |
| - perfluoro-1-butane sulfonate  | PFBS  |
| - perfluoro-1-hexane sulfonate  | PFHxS |
| - perfluoro-1-octane sulfonate  | PFOS  |
| - perfluoro-1-octanesulfonamide | PFOSA |

Voor deze verbindingen zijn nog geen normwaarden in de Vlaamse of Europese milieuregelgeving opgenomen. De verbindingen kunnen bepaald worden vanaf een concentratie van 10 tot 20 ng/l voor drink- en oppervlaktewater en 100 ng/l voor afvalwater.

### *Opmerking:*

Tegelijk kunnen de onderstaande verbindingen bepaald worden. Afhankelijk van de toegepaste methode kunnen hiervoor minder betrouwbare gehalten bekomen als gevolg van onvoldoende terugvinding, verlies door adsorptie of mogelijke interferentie. De gemeten gehalten kunnen in dat geval enkel gerapporteerd worden als indicatief.

|                                  |         |
|----------------------------------|---------|
| - perfluoro-n-butanoic acid      | PFBA    |
| - perfluoro-n-tridecanoic acid   | PFTTrDA |
| - perfluoro-n-tetradecanoic acid | PFTeDA  |
| - perfluoro-n-hexadecanoic acid  | PFHxDA  |
| - perfluoro-n-octadecanoic acid  | PFODA   |
| - perfluoro-1-decane sulfonate   | PFDS    |

## 2. PRINCIPE

Aan waterstalen worden gekende hoeveelheden isotoopgemerkte fluorverbindingen toegevoegd. De waterstalen worden vervolgens geëxtraheerd met vaste fase extractie. De vaste fase wordt geëluëerd met methanol en het methanolextract wordt ingedampt. Het residu

wordt opgenomen in een gekend volume mobiele fase en geanalyseerd met vloeistofchromatografie met massaspectrometrische detectie. Het gehalte van de verschillende PFCs wordt berekend met de interne standaard methode.

*Opmerkingen:*

- In bepaalde gevallen kan, afhankelijk van de aard van de monsters en van de gewenste rapportagemethoden, de meting rechtstreeks gebeuren zonder voorafgaandelijke opwerking.
- Alternatief aan de interne standaardmethode kan gekozen worden voor de externe standaardmethode, met controle op de aanwezigheid van matrixeffecten, ofwel kwantificatie aan de hand van standaard additie. In geval de meetreeks steeds hetzelfde type monster omvat dan kan de kalibratiereeks aangemaakt worden in het monster of het monsterextract (“matrix matched calibration”).

### 3. MATERIAAL

- 3.1 Gebruikelijk laboratoriumglaswerk
- 3.2 Injectiespuiten van 25 tot 100 µl voor het doperen van isotoopgemerkte fluorverbindingen of matrixaddities
- 3.3 Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0.1 mg
- 3.4 Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0.01 g
- 3.5 Opstelling voor elutie van de SPE patronen
- 3.6 SPE patronen: OASIS WAX 6cc cart, 150mg
- 3.7 Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 3.8 LC-MS systeem bestaande uit:
  - een HPLC of UPLC vloeistofchromatograaf met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatiseerde kolom en ontgassingseenheid
  - een tandem quadrupool massaspectrometer met electrospray ionisatiekamer  
*Opn.:* Alternatief kan gebruik gemaakt worden van een ion trap of een accurate massa (time-of-flight (TOF) of Fourier Transform) massaspectrometer
  - een datastation voor de instelling van de instrumentele settings, de data-acquisitie en de data-analyse
- 3.9 LC-kolom:
  - bv. voor UPLC: Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18, 1.7µm, 2.1 x 100 mm kolom en bijhorende prekolom
  - bv. voor HPLC: Altima C18, 5 µm, 4 x 150 mm en bijhorende prekolom

### 4. REAGENTIA EN STANDAARDEN

- 4.1 Methanol, p.a.
- 4.2 Water, ultrapuur
- 4.3 Ammoniumacetaat, p.a.
- 4.4 NH<sub>3</sub>-oplossing, p.a.: bv. 25 %
- 4.5 Azijnzuur 100 %, p.a.

- 4.6 Ammoniak/methanol oplossing: 0,4 ml van een 25 % NH<sub>3</sub>-oplossing in 99,6 ml methanol
- 4.7 Acetaatbufferoplossing: los 0,286 ml azijnzuur op in 200 ml ultrapuur water (oplossing 1). Los 0,097 g ammoniumacetaat op in 50 ml ultrapuur water (oplossing 2). Voeg oplossing 1 en oplossing 2 samen, eindvolume is 250 ml.
- 4.8 Stock kalibratiestandaarden van PFCs: monocomponent stockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen
- 4.9 Stock kalibratieoplossingen van natieve PFC's: dit zijn monocomponentstandaarden aangemaakt in methanol vanuit de stock kalibratiestandaarden uit 4.8, in een concentratie van +/- 10 mg/l
- 4.10 Stock controlestandaard van natieve PFC's: dit is een onafhankelijke mengstandaard in methanol
- 4.11 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFC's: deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht in een concentratie van ± 2000 µg/l en verdund naar een concentratie van ± 400 µg/l. De volgende isotoopgemerkte PFCs worden gebruikt :
- <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFBA
  - <sup>13</sup>C<sub>2</sub>-PFHxA
  - <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA
  - <sup>13</sup>C<sub>5</sub>-PFNA
  - <sup>13</sup>C<sub>2</sub>-PFDA
  - <sup>13</sup>C<sub>2</sub>-PFUDA
  - <sup>13</sup>C<sub>2</sub>-PFD<sub>o</sub>A
  - <sup>18</sup>O-PFH<sub>x</sub>S
  - <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS
- 4.12 Natieve PFC-standaardreeks : maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van natieve PFC's (4.9) een mengsel van alle natieve PFC's en hieruit een reeks verdunningen met wisselende concentraties aan natieve PFC's, lopende van ca 2 tot 500 µg/l; deze worden aangemaakt in methanol
- 4.13 Kalibratiestandaarden: maak uitgaande van de natieve PFC-standaardreeks (4.12) een reeks verdunningen in 1/1 methanol-water met wisselende concentraties aan natieve PFC's, lopende van ca 1 tot 250 µg/l, en constante concentraties aan isotoop aangerijkte PFC's van ca. 4 µg/l; deze oplossingen worden bij elke meetreeks opnieuw aangemaakt
- 4.14 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard (4.10) worden twee QC standaarden in methanol aangemaakt op twee verschillende concentratieniveaus
- 4.15 QC meetstandaarden: van de twee QC standaarden (4.14) worden QC meetstandaarden aangemaakt door ze 1/1 te verdunnen met ultra puur water
- 4.16 PFOS standaard voor de controle van de chromatografische scheiding: uitgaande van technische PFOS wordt een oplossing van ca 50 µg/l in 1/1 methanol-water gemaakt

## 5. MONSTERBEWARING

De monsters worden genomen in glazen, polyethyleen of polypropyleen flessen. Het gebruik van teflon of viton inleg in de afsluitdoppen dient vermeden te worden. Aangezien de

verbindingen persistent zijn dienen geen bewaarmiddelen toegevoegd te worden. De monsters worden koel bewaard (max. 7°C) en zijn enkele maanden houdbaar.

## 6. ANALYSEPROCEDURE

### 6.1 Extractie

Het watermonster wordt gehomogeniseerd door opschudden en hiervan wordt een deelmonster genomen van 25 ml (indien afvalwater) of 50 ml (indien drink-, grond- of oppervlaktewater). Aan dit deelmonster worden de interne standaarden gedopeerd (10 µl van een 400 µg/l oplossing of 4 ng absoluut; dit resulteert bij een eindextract van 1 ml in een theoretische concentratie die gelijk is aan deze van de kalibratiestandaarden).

Voor de extractie wordt gebruik gemaakt van een 6-ml patroon met 150 mg Oasis WAX.

De procedure omvat volgende stappen:

- conditioneer het SPE-patroon met 4 ml ammoniak/MeOH oplossing
- conditioneer het SPE-patroon met 4 ml MeOH
- spoel het SPE-patroon met 4 ml ultrapuur water
- breng het staal over de SPE-cartridge
- spoel met 4 ml acetaatbufferoplossing
- droog de cartridges door 15 minuten te centrifugeren aan 3000 rpm
- elueer met 4 ml MeOH, gevolgd door 4 ml ammoniak/MeOH oplossing
- damp het extract in onder een N<sub>2</sub> stroom tot 500 µl
- leng aan met 500 µl ultrapuur water
- breng over in een meetvial van 1,5 ml

Hiervan wordt 10 µl in de LC-MS geïnjecteerd.

De houdbaarheid van preparaten bedraagt, bij bewaring in de koelkast, 1 maand.

### 6.2 Meting

#### 6.2.1 LC-condities

Een voorbeeld van een geschikte kolom voor de UPLC bepaling van perfluorverbindingen is Acquity UPLC BEH Shield RP18, 1.7µm, 2.1 x 100 mm.

Typische UPLC-instellingen zijn:

- mobiele fase:
  - A= Water + 5 % MeOH en 2 mM ammoniumacetaat
  - B= MeOH + 2 mM ammoniumacetaat
- debiet: 0.25 ml/min
- kolomtemperatuur: 40°C
- injectievolume: 10 µl

- gradiënt:

| <b>Time</b> | <b>A%</b> | <b>B%</b> |
|-------------|-----------|-----------|
| <b>min</b>  | <b>%</b>  | <b>%</b>  |
| 0,00        | 75        | 25        |
| 0,50        | 75        | 25        |
| 20,00       | 10        | 90        |
| 22,00       | 10        | 90        |
| 22,20       | 1         | 99        |
| 23,00       | 1         | 99        |
| 23,20       | 75        | 25        |
| 25,00       | 75        | 25        |

*Opmerking:*

De LC-analyse kan ook gebeuren met een HPLC configuratie, gebruikmakend van een C18 kolom en gradiëntelutie.

### 6.2.2 MS-condities

Alle opnamen worden met Multiple Reaction Monitoring (MRM) uitgevoerd, met ionisatie via electrospray in negatieve modus (ES-).

Hieronder zijn bij wijze van voorbeeld, voor een Waters Quattro Premier XE, typische instellingen voor de MS-acquisitie gegeven:

|                              |                      |
|------------------------------|----------------------|
| Polarity                     | ES-                  |
| Calibration                  | Static 2             |
| Capillary (kV)               | 3.00                 |
| Cone (V)                     | componentafhankelijk |
| Extractor (V)                | 3.00                 |
| RF Lens (V)                  | 0.1                  |
| Source Temperature (°C)      | 120                  |
| Desolvation Temperature (°C) | 350                  |
| Cone Gas Flow (L/Hr)         | 49                   |
| Desolvation Gas Flow (L/Hr)  | 799                  |
| LM 1 Resolution              | 14.0                 |
| HM 1 Resolution              | 14.0                 |
| Ion Energy 1                 | 1.0                  |
| Entrance                     | 0                    |
| Collision                    | componentafhankelijk |
| Exit                         | 1                    |
| LM 2 Resolution              | 14.0                 |
| HM 2 Resolution              | 14.0                 |
| Ion Energy 2                 | 1.0                  |
| Multiplier (V)               | 650                  |

De onderstaande ionentransities worden geregistreerd. Tegelijk zijn typische UPLC retentietijden aangegeven. Deze kunnen verschuiven afhankelijk van de gebruikte kolom. In de tabel is ook aangegeven welke isotoop gemerkte interne standaard gebruikt kan worden voor de kwantificatie van de natieve verbinding.



| komponenten           | mode |     | Parent ion | Daughter ion |    | Retentietijd (min) | dwell time (s) | span | cone V | Collision E | Functie n° | IS                    |
|-----------------------|------|-----|------------|--------------|----|--------------------|----------------|------|--------|-------------|------------|-----------------------|
| <b>PFBA</b>           | ES - | MRM | 213        | 169          | Q  | 3.50               | 0.150          | 0.1  | 14     | 8           | 1          | <sup>13</sup> C-PFBA  |
| <b>PFPeA</b>          | ES - | MRM | 263        | 219          | Q  | 6.67               | 0.175          | 0.1  | 14     | 8           | 2          | <sup>13</sup> C-PFHxA |
| <b>PFHxA</b>          | ES - | MRM | 313        | 269          | Q  | 9.54               | 0.150          | 0.1  | 14     | 8           | 4          | <sup>13</sup> C-PFHxA |
|                       | ES - | MRM |            | 119          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 14     | 20          | 4          |                       |
| <b>PFHpA</b>          | ES - | MRM | 363        | 319          | Q  | 11.73              | 0.150          | 0.1  | 17     | 11          | 5          | <sup>13</sup> C-PFOA  |
|                       | ES - | MRM |            | 169          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 17     | 20          | 5          |                       |
| <b>PFOA</b>           | ES - | MRM | 413        | 369          | Q  | 13.43              | 0.150          | 0.1  | 17     | 11          | 7          | <sup>13</sup> C-PFOA  |
|                       | ES - | MRM |            | 169          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 17     | 17          | 7          |                       |
| <b>PFNA</b>           | ES - | MRM | 463        | 419          | Q  | 14.80              | 0.075          | 0.1  | 17     | 11          | 9          | <sup>13</sup> C-PFNA  |
|                       | ES - | MRM |            | 169          | q  |                    | 0.075          | 0.1  | 17     | 17          | 9          |                       |
| <b>PFDA</b>           | ES - | MRM | 513        | 469          | Q  | 15.96              | 0.100          | 0.1  | 17     | 11          | 11         | <sup>13</sup> C-PFDA  |
|                       | ES - | MRM |            | 219          | q  |                    | 0.100          | 0.1  | 17     | 20          | 11         |                       |
| <b>PFuDA</b>          | ES - | MRM | 563        | 519          | Q  | 16.96              | 0.100          | 0.1  | 17     | 11          | 12         | <sup>13</sup> C-PUdA  |
|                       | ES - | MRM |            | 169          | q  |                    | 0.100          | 0.1  | 17     | 23          | 12         |                       |
| <b>PFDoA</b>          | ES - | MRM | 613        | 569          | Q  | 17.80              | 0.150          | 0.1  | 20     | 11          | 14         | <sup>13</sup> C-PFDoA |
|                       | ES - | MRM |            | 319          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 20     | 20          | 14         |                       |
| <b>PFTrDA</b>         | ES - | MRM | 663        | 619          | Q  | 18.53              | 0.175          | 0.1  | 17     | 14          | 15         | <sup>13</sup> C-PFDoA |
|                       | ES - | MRM |            | 319          | q  |                    | 0.175          | 0.1  | 17     | 23          | 15         |                       |
| <b>PFTeDA</b>         | ES - | MRM | 713        | 669          | Q  | 19.15              | 0.150          | 0.1  | 20     | 14          | 16         | <sup>13</sup> C-PFDoA |
|                       | ES - | MRM |            | 319          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 20     | 20          | 16         |                       |
| <b>PFHxDA</b>         | ES - | MRM | 813        | 769          | Q  | 20.17              | 0.150          | 0.1  | 20     | 14          | 17         | <sup>13</sup> C-PFDoA |
|                       | ES - | MRM |            | 219          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 20     | 32          | 17         |                       |
| <b>PFODA</b>          | ES - | MRM | 913        | 869          | Q  | 20.96              | 0.150          | 0.1  | 23     | 17          | 18         | <sup>13</sup> C-PFDoA |
|                       | ES - | MRM |            | 219          | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 23     | 29          | 18         |                       |
| <b>PFBS</b>           | ES - | MRM | 299        | 80           | Q  | 7.48               | 0.150          | 0.1  | 44     | 41          | 3          | <sup>18</sup> O-PFHxS |
|                       | ES - | MRM |            | 99           | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 44     | 41          | 3          |                       |
| <b>PFHxS</b>          | ES - | MRM | 399        | 80           | Q  | 12.00              | 0.150          | 0.1  | 47     | 38          | 6          | <sup>18</sup> O-PFHxS |
|                       | ES - | MRM |            | 99           | q  |                    | 0.150          | 0.1  | 47     | 32          | 6          |                       |
| <b>PFOS</b>           | ES - | MRM | 499        | 80           | Q  | 14.90              | 0.075          | 0.1  | 59     | 50          | 8          | <sup>13</sup> C-PFOS  |
|                       | ES - | MRM |            | 99           | q  |                    | 0.075          | 0.1  | 59     | 40          | 8          |                       |
| <b>PFDS</b>           | ES - | MRM | 599        | 80           | Q  | 16.97              | 0.100          | 0.1  | 65     | 50          | 13         | <sup>13</sup> C-PFOS  |
|                       | ES - | MRM |            | 99           | q  |                    | 0.100          | 0.1  | 65     | 50          | 13         |                       |
| <b>PFOSA</b>          | ES - | MRM | 498        | 78           | Q  | 16.04              | 0.100          | 0.1  | 41     | 29          | 10         | <sup>13</sup> C-PFOS  |
|                       | ES - | MRM |            | 169          | q  |                    | 0.100          | 0.1  | 41     | 32          | 10         |                       |
| <sup>13</sup> C-PFBA  | ES - | MRM | 217        | 172          | IS | 3.50               | 0.150          | 0.1  | 14     | 10          | 1          |                       |
| <sup>13</sup> C-PFHxA | ES - | MRM | 315        | 270          | IS | 9.54               | 0.150          | 0.1  | 14     | 11          | 4          |                       |
| <sup>13</sup> C-PFOA  | ES - | MRM | 417        | 372          | IS | 13.43              | 0.150          | 0.1  | 17     | 8           | 7          |                       |
| <sup>13</sup> C-PFNA  | ES - | MRM | 468        | 423          | IS | 14.80              | 0.075          | 0.1  | 17     | 11          | 9          |                       |

|                                    |      |     |     |     |    |       |       |     |    |    |    |  |
|------------------------------------|------|-----|-----|-----|----|-------|-------|-----|----|----|----|--|
| <sup>13</sup> C-PFDA               | ES - | MRM | 515 | 470 | IS | 15.96 | 0.100 | 0.1 | 17 | 11 | 11 |  |
| <sup>13</sup> C-PFUdA              | ES - | MRM | 565 | 520 | IS | 16.96 | 0.100 | 0.1 | 17 | 14 | 12 |  |
| <sup>13</sup> C-PFD <sub>o</sub> A | ES - | MRM | 615 | 570 | IS | 17.80 | 0.150 | 0.1 | 20 | 14 | 14 |  |
| <sup>18</sup> O-PFH <sub>s</sub>   | ES - | MRM | 403 | 84  | IS | 12.00 | 0.150 | 0.1 | 47 | 40 | 6  |  |
| <sup>13</sup> C-PFOS               | ES - | MRM | 503 | 80  | IS | 14.90 | 0.075 | 0.1 | 59 | 40 | 8  |  |

Q: transitie voor kwantificatie van de component

q: transitie ter bevestiging (kwalificatie) van de kwantificatietransitie

### 6.2.3 Identificatie en integratie

De aanwezigheid van natieve fluorverbindingen in de monsters wordt bevestigd op basis van de onderstaande gegevens en criteria:

- de registratie van een piek bij de karakteristieke m/z van het product-ion, met piekhoogte groter dan 3 keer de ruishoogte ('peak-to-peak' ruis);
- de retentietijd in het monster t.o.v. de laatste kalibratie-oplossing, waarbij een maximale afwijking van 15 sec wordt gehanteerd.

De identificatie van de isotoop aangerijkte verbindingen is eveneens gebaseerd op de karakteristieke m/z, de signaal/ruis verhouding en de retentietijd.

De geïdentificeerde pieken worden geïntegreerd met behulp van de software van de apparatuur en manueel geverifieerd.

### 6.3 Kalibratie

De kalibratie omvat de injectie van minstens 5 standaardoplossingen die de te bepalen fluorverbindingen bevatten in oplopende concentraties en de isotoopgemerkte verbindingen in een constante concentratie. De kalibratievergelijking heeft gewoonlijk een lineair verloop:

$$\frac{A_i}{A_{is}} = a \frac{C_i}{C_{is}} + b$$

met

$A_i$  = de gemeten piekoppervlakte voor de natieve fluorverbinding i in de standaardoplossing

$A_{is}$  = de gemeten piekoppervlakte voor de overeenkomstige interne standaard in de standaardoplossing

$C_i$  = de concentratie van de fluorverbinding i in ng/ml in de standaardoplossing

$C_{is}$  = de concentratie van de interne standaard i in ng/ml in de standaardoplossing

De verhouding van piekoppervlakten van de natieve PFC en de overeenkomstige interne standaard wordt voor elke te bepalen PFC uitgezet ivf van de verhouding van de concentraties van beide verbindingen. De coëfficiënten a (helling of relatieve reponsfactor) en b

(afgesneden stuk) worden bepaald door lineaire regressie met inbegrip van het punt (0,0) en met 1/X weging.

De correlatiecoëfficiënt dient > 0.990. Het werkgebied wordt bepaald door de concentraties waarvoor de residuele afwijking tot de rechte < 20%.

De berekening van de kalibratiecurve gebeurt bij elke analysereeks.

Opm.: Indien het verloop van de kalibratiecurve niet aan de lineariteit voldoet dan kan gebruik gemaakt worden van een kwadratische of andere functie.

#### 6.4 Kwantificatie

De concentraties in het monster worden vervolgens berekend als volgt:

$$C_i(\text{monster}) = \left( \frac{\frac{A_i - b}{A_{is}}}{a} \right) * \frac{g_{is}}{V}$$

met

|                       |   |                                                                                            |
|-----------------------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| $C_i(\text{monster})$ | = | de concentratie van de fluorverbinding i in het monster in ng/l                            |
| $A_i$                 | = | de gemeten piekoppervlakte voor de natieve fluorverbinding i in het monsterextract         |
| $A_{is}$              | = | de gemeten piekoppervlakte voor de overeenkomstige interne standaard in het monsterextract |
| $g_{is}$              | = | de aan het monster toegevoegde hoeveelheid interne standaard in ng                         |
| $V$                   | = | het ingenomen volume van het monster in l                                                  |
| a en b                | = | de coëfficiënten van de kalibratievergelijking                                             |

*Opmerkingen:*

- Het eindextract bedraagt in de regel 1 ml, het monstervolume 50 ml voor drink- en oppervlaktewater en 25 ml voor afvalwater.
- Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied dient voor de bepaling van de betrokken fluorverbinding het extract verdund te worden met mobiele fase en opnieuw gemeten.
- Voor een aantal perfluorverbindingen zoals PFOS en PFOSA bestaan de technische mengsels uit zowel lineaire als vertakte isomeren. De standaarden daarentegen zijn zuiver lineaire vormen. Kwantificeer, in afwachting van geschikte standaarden en duidelijke regelgeving/internationale afspraken, voor oppervlaktewater enkel de lineaire vorm, voor afvalwater zowel lineaire als vertakte vormen gebruikmakend van de RRF-waarde bekomen voor de lineaire vorm.

## 7. KWALITEITSCONTROLES

### 7.1 Chromatografische scheiding

De kolomkwaliteit wordt geverifieerd aan de hand van de scheiding van het kritische paar PFOS(vertakt)-PFOS(lineair) in het chromatogram van de oplossing met technische PFOS (zie 4.16). Het scheidingspercentage (100 x hoogte vallei / hoogte hoogste piek) dient kleiner te zijn dan 30 %.

### 7.2 Instrumentele detectielimiet

De instrumentele detectielimiet is een maat voor de gevoeligheid van het apparaat. Aan de hand van het chromatogram van de laagste kalibratie-oplossing wordt voor elke fluorverbinding de kleinst meetbare concentratie bepaald, gedefinieerd als:

$$DL(instr) = 3 * RG * conc/PH$$

met

|           |                                                                                         |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| DL(instr) | de instrumentele detectielimiet in ng/ml                                                |
| RG        | de "peak-to-peak" ruishoogte aan de voet van de chromatogrampiek van de fluorverbinding |
| PH        | de piekhoogte van de fluorverbinding                                                    |
| conc      | concentratie van de fluorverbinding in de kalibratie-oplossing in ng/ml                 |

De aldus bekomen DL(instr) mogen niet groter zijn dan de minimale waarden noodzakelijk voor het bekomen van de gevraagde rapporteergrenzen.

### 7.3 Procedureblanco

Bij elke analysereeks wordt blancowater met de bovenstaande procedure opgewerkt en gemeten. M.b.t. de blancobijdrage worden volgende regels gehanteerd:

- voor monsterwaarden groter dan 5 maal de rapporteergrens: de chromatogrammen dienen vrij te zijn van pieken in een concentratie groter dan 10%
- voor monsterwaarden kleiner dan 5 maal de rapporteergrens: de chromatogrammen dienen vrij te zijn van pieken in een concentratie groter dan de helft van de rapporteergrens.

### 7.3 Controle van de geldigheid van de kalibratievergelijking

Vlak na de kalibratiestandaarden, op het einde van de meetreeks en om de 12 injecties worden de twee QC meetstandaarden geïnjecteerd en de concentraties worden bepaald a.h.v. de

kalibratievergelijking. De berekende concentraties worden genoteerd in de respectievelijke controlekaarten van de QC standaarden en moeten binnen de aangegeven grenzen vallen.

#### 7.4 Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen

Voor elk monster wordt de terugvinding van de isotoopgemerkte interne standaarden bepaald, d.i. de experimenteel teruggevonden hoeveelheid van elk van de bij het begin van de analyse toegevoegde standaarden. Dit gebeurt door vergelijking van de oppervlakte van de isotoop aangerijkte verbinding bekomen voor het monster ( $A_{is}(\text{monster})$ ) t.o.v. de oppervlakte bekomen voor een kalibratiestandaard ( $A_{is}(\text{kalibratiestandaard})$ ) waarin ongeveer dezelfde concentratie aan natieve verbinding aanwezig is als gemeten in het monsterpreparaat (dit om rekening te houden met de onderdrukking van het signaal van de isotoopgemerkte verbinding door de coëluerende natieve verbinding). De terugvinding wordt gegeven door:

$$R\% = A_{is}(\text{monster}) * 100 / A_{is}(\text{kalibratiestandaard})$$

Voor een verantwoorde kwantificering dient het terugvindingsrendement van de  $^{13}\text{C}$ -gemerkte fluorverbindingen minimaal 30 % en maximaal 200% te bedragen.

#### 7.5 Controlemonster

In elke analysereeks wordt een controlemonster meegenomen. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van blancowater gedopeerd met fluorverbindingen in een concentratie relevant voor het beoogde toepassingsgebied (bv. 20 ng/l voor drink- en oppervlaktewater en 1000 ng/l voor afvalwater).

De terugvindingen worden genoteerd op de respectievelijke controlekaart van het controlemonster en dienen gelegen te zijn tussen de controlegrenzen van deze kaarten.

### 8. RAPPORTERING

Voor rapportering worden de gehalten afgerond tot op twee beduidende cijfers.

Vermeld op het verslag ev. vastgestelde afwijkingen.

Streefwaarden voor de rapporteergrenzen zijn 10 ng/l voor drink-, grond- en oppervlaktewater en 100 ng/l voor afvalwater

### 9. REFERENTIES

ISO 25101:2009: Water quality – Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) – Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry