

Perfluorverbindingen

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	3
3	Apparatuur en materiaal	4
4	Reagentia en standaarden	4
5	Monsterbewaring en -voorbehandeling	5
6	Analyseprocedure	5
6.1	<i>Extractie en opzuivering</i>	5
6.2	<i>LC-MS/MS analyse</i>	6
6.2.1	LC-condities	6
6.2.2	MS-condities	7
6.2.3	Identificatie en integratie	9
6.2.4	Kalibratie	9
7	Berekeningen	10
8	Kwaliteitscontrole	10
8.1	<i>Instrumentele detectielimiet</i>	10
8.2	<i>Procedureblanco</i>	10
8.3	<i>Controle van de geldigheid van de kalibratievergelijking</i>	11
8.4	<i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i>	11
8.5	<i>Controlemonster</i>	11
9	Prestatiekenmerken	11
10	Referenties	12

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode is nieuw en beschrijft de kwantitatieve bepaling van perfluorverbindingen in bodem, sediment, slib, baggerspecie, vast afval en bodemverbeterende middelen met behulp van vloeistofchromatografie.

De verbindingen worden veelvuldig gebruikt voor het water- en vuilafstotend maken van textiel (incl. tapijten), leder, papier en karton en in brandblusmiddelen. Deze verbindingen zijn schadelijk bij langdurige blootstelling, zijn persistent en bioaccumuleren.

De belangrijkste van deze verbindingen zijn perfluoralkaanzuren (bv. PFOA), perfluoralkaan-sulfonzuren (bv. PFOS) en fluortelomeeralcoholen. De laatste verbindingen gelden ook als precursor voor de eerste. In de regel gebeurt de bepaling van de eerste verbindingen met LC-MS en deze van de laatste met GC-MS.

Deze methode beschrijft de extractie en analyse van volgende verbindingen:

- 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-decane sulfonate	PFDS
- perfluoro-1-octanesulfonamide	PFOSA

Tegelijk kunnen ook de onderstaande verbindingen bepaald worden. Hiervoor worden echter 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	PFTrDA
- perfluoro-n-tetradecanoic acid	PFTeDA
- perfluoro-n-hexadecanoic acid	PFHxDA
- perfluoro-n-octadecanoic acid	PFODA

2 PRINCIPE

Aan de stalen worden gekende hoeveelheden isotoopgemerkte fluorverbindingen toegevoegd. De stalen worden vervolgens geëxtraheerd waarna het extract verder opgezuiverd en ingedampt wordt. Het ingedampte residu wordt opgenomen in een gekend volume mobiele fase en

geanalyseerd met vloeistofchromatografie met tandem massaspectrometrische detectie. Het gehalte van de verschillende PFC's wordt berekend met de interne standaard methode.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

- 3.1 Analytische balans met een afleesnauwkeurigheid van 0,1 mg
- 3.2 Bovenweger met een afleesnauwkeurigheid van 0,01 g
- 3.3 Schudtoestel
- 3.4 Vortexmenger
- 3.5 Centrifugestoestel
- 3.6 Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 3.7 Polypropyleen centrifugebuizen van 50 ml en 15 ml
- 3.8 Envicarb SPE-tubes
- 3.9 Polyamidefilters 0.20 µm
- 3.10 Meetvials van 1,5 ml
- 3.11 Vloeistofchromatograaf (HPLC of UPLC)
- 3.12 Tandem-massaspectrometer met mogelijkheid om transities in MRM-modus te meten, uitgerust met electrospray ionisatiebron
- 3.13 HPLC of UPLC-kolom, bv. Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18 1.7µm kolom, 2.1x100 mm

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

- 4.1 Methanol, acetonitrile: residukwaliteit
- 4.2 Water: ultrapuur (Milli-Q)
- 4.3 Ammoniumacetaat: Merck p.a.
- 4.4 Stock kalibratiestandaarden van PFC's: dit zijn aangekochte monocomponent oplossingen van bv. 50 mg/l
- 4.5 Stock kalibratieoplossingen van natieve PFC's: dit zijn monocomponentstandaarden aangemaakt in methanol vanuit de stock kalibratiestandaarden uit 4.4, in een concentratie van +/- 10 mg/l
- 4.6 Stock controlestandaard van natieve PFC's: dit is een mengstandaard in methanol van bv. 2 mg/l
- 4.7 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 PFC's zijn op dit ogenblik in gebruik :

¹³C₄-PFBA
¹³C₂-PFHxA
¹³C₄-PFOA
¹³C₅-PFNA
¹³C₂-PFDA
¹³C₂-PFUdA
¹³C₂-PFDoA
¹⁸O-PFHxS
¹³C₄-PFOS
¹³C₈-PFOSA

- 4.8 Natieve PFC-standaardreeks : maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van natieve PFC's (4.5) 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
- 4.9 Kalibratiestandaarden: maak uitgaande van de natieve PFC-standaardreeks (4.8) een reeks verdunningen 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 worden aangemaakt in methanol-water mengsel (1/1)
- 4.10 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard (4.6) worden twee QC standaarden aangemaakt op twee verschillende concentratieniveaus, laag en hoog, in methanol
- 4.11 QC meetstandaarden: van de twee QC standaarden (4.10) worden QC meetstandaarden aangemaakt door de isotoop aangerijkte PFC's eraan toe te voegen en ze 1/1 te verdunnen met ultra puur water
- 4.12 1 M NaOH-oplossing, los 40 g NaOH op in 1 liter ultra puur water;
- 4.13 1 M HCl-oplossing, leng 8.4 ml geconcentreerd HCl 37% aan tot 100 ml met ultra puur water;

5 MONSTERBEWARING EN -VOORBEHANDELING

Voor de monsterbewaring wordt verwezen naar CMA/1/B.

Voor de monstervoorbehandeling wordt verwezen naar CMA/5/B.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE EN OPZUIVERING

1. Weeg 1 g staal (droge stof) af in een polypropyleen (PP) centrifugebuis van 50 ml;

Opmerking : de minimale droge stof inname bedraagt 1 g. Indien nodig worden monsters ingedikt.

2. Voeg vervolgens aangewezen hoeveelheden interne standaard en eventueel natieve additie-standaard toe;
3. Voeg 1 ml NaOH-oplossing toe, bevochtig indien nodig het staal met ultra puur water om een betere menging met de NaOH-oplossing mogelijk te maken. Vervolgens worden de stalen 30 seconden gemengd op de vortexmenger en 30 minuten in het ultrasoonbad geplaatst. Laat daarna overnacht verder reageren;
4. De volgende dag wordt het NaOH geneutraliseerd door 1 ml 1 M HCl-oplossing toe te voegen, vortex om het geheel goed te mengen;
5. Voeg 10 ml 50:50 ACN:MeOH-mengsel toe. De centrifugebuizen worden vervolgens op het schudtoestel gedurende 30 minuten geschud. Hierna wordt gecentrifugeerd en het supernatans wordt in een tweede PP centrifugebuis van 50 ml gedecanteerd;
6. Bovenstaande extractie wordt nogmaals herhaald, de supernatansen worden samengebracht. Het totaalvolume extract bedraagt 20 ml;
7. Het extract wordt ingedampt onder een stikstofstroom tot een volume van 10 ml;

8. Het ingedamppte extract wordt opgezuiverd door het over een Envicarb SPE-tube te brengen (die voorafgaandelijk werd gespoeld met 10 ml acetonitrile). Het eluaat wordt opgevangen in een PP centrifugebuis van 15 ml. De Envicarb-tube wordt nagespoeld met twee maal 2,5 ml acetonitrile;
9. Het opgezuiverde extract wordt vervolgens ingedampt onder een stikstofstroom tot een volume van ongeveer 1,5 tot 2 ml;
10. Breng volledig over in een meetvial van 1,5 ml en damp verder in onder stikstof tot volledig droog;
11. Los opnieuw op met 500 µl methanol en 500 µl ultra puur water;
12. Deze meetoplossing wordt voor de analyse nog gefiltreerd over een polyamidefilter van 0,20 µm.

6.2 LC-MS/MS ANALYSE

6.2.1 LC-CONDITIES

Een UPLC-analyse gebeurt bv. op een UPLC BEH Shield RP18 kolom met gradiëntelutie.

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:

Time	A%	B%
min	%	%
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

De LC-analyse kan ook gebeuren op een HPLC installatie, op een C18 kolom met gradiëntelutie.

Typische HPLC instellingen zijn:

- mobiele fase:
 - A= methanol
 - B= water + 2 mM ammoniumacetaat
- debiet: 1 ml/min.
- kolomtemperatuur: 35°C

- injectievolume: 100 μ l
- gradiënt:

Time	A	B
min	%	%
0	50	50
15	100	0
16	100	0
17	50	50
23	50	50

6.2.2 MS-CONDITIES

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

Typische instellingen voor de MS-acquisitie zijn hieronder 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 inwendige 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
PFBA	ES -	MRM	213	169	Q	3.50	0.150	0.1	14	8	1	¹³ C-PFBA
PFPeA	ES -	MRM	263	219	Q	6.67	0.175	0.1	14	8	2	¹³ C-PFHxA
PFHxA	ES -	MRM	313	269	Q	9.54	0.150	0.1	14	8	4	¹³ C-PFHxA
	ES -	MRM		119	q		0.150	0.1	14	20	4	
PFHpA	ES -	MRM	363	319	Q	11.73	0.150	0.1	17	11	5	¹³ C-PFOA
	ES -	MRM		169	q		0.150	0.1	17	20	5	
PFOA	ES -	MRM	413	369	Q	13.43	0.150	0.1	17	11	7	¹³ C-PFOA
	ES -	MRM		169	q		0.150	0.1	17	17	7	
PFNA	ES -	MRM	463	419	Q	14.80	0.075	0.1	17	11	9	¹³ C-PFNA
	ES -	MRM		169	q		0.075	0.1	17	17	9	
PFDA	ES -	MRM	513	469	Q	15.96	0.100	0.1	17	11	11	¹³ C-PFDA
	ES -	MRM		219	q		0.100	0.1	17	20	11	
PFUdA	ES -	MRM	563	519	Q	16.96	0.100	0.1	17	11	12	¹³ C-PUdA
	ES -	MRM		169	q		0.100	0.1	17	23	12	
PFDoA	ES -	MRM	613	569	Q	17.80	0.150	0.1	20	11	14	¹³ C-PFDoA
	ES -	MRM		319	q		0.150	0.1	20	20	14	
PFTrDA	ES -	MRM	663	619	Q	18.53	0.175	0.1	17	14	15	¹³ C-PFDoA
	ES -	MRM		319	q		0.175	0.1	17	23	15	
PFTeDA	ES -	MRM	713	669	Q	19.15	0.150	0.1	20	14	16	¹³ C-PFDoA
	ES -	MRM		319	q		0.150	0.1	20	20	16	
PFHxDA	ES -	MRM	813	769	Q	20.17	0.150	0.1	20	14	17	¹³ C-PFDoA
	ES -	MRM		219	q		0.150	0.1	20	32	17	
PFODA	ES -	MRM	913	869	Q	20.96	0.150	0.1	23	17	18	¹³ C-PFDoA
	ES -	MRM		219	q		0.150	0.1	23	29	18	
PFBS	ES -	MRM	299	80	Q	7.48	0.150	0.1	44	41	3	¹⁸ O-PFHxS
	ES -	MRM		99	q		0.150	0.1	44	41	3	
PFHxS	ES -	MRM	399	80	Q	12.00	0.150	0.1	47	38	6	¹⁸ O-PFHxS
	ES -	MRM		99	q		0.150	0.1	47	32	6	
PFOS	ES -	MRM	499	80	Q	14.90	0.075	0.1	59	50	8	¹³ C-PFOS
	ES -	MRM		99	q		0.075	0.1	59	40	8	
PFDS	ES -	MRM	599	80	Q	16.97	0.100	0.1	65	50	13	¹³ C-PFOS
	ES -	MRM		99	q		0.100	0.1	65	50	13	
PFOSA	ES -	MRM	498	78	Q	16.04	0.100	0.1	41	29	10	¹³ C-PFOA
	ES -	MRM		169	q		0.100	0.1	41	32	10	
¹³ C-PFBA	ES -	MRM	217	172	IS	3.50	0.150	0.1	14	10	1	
¹³ C-PFHxA	ES -	MRM	315	270	IS	9.54	0.150	0.1	14	11	4	
¹³ C-PFOA	ES -	MRM	417	372	IS	13.43	0.150	0.1	17	8	7	
¹³ C-PFNA	ES -	MRM	468	423	IS	14.80	0.075	0.1	17	11	9	
¹³ C-PFDA	ES -	MRM	515	470	IS	15.96	0.100	0.1	17	11	11	
¹³ C-PFUdA	ES -	MRM	565	520	IS	16.96	0.100	0.1	17	14	12	
¹³ C-PFDoA	ES -	MRM	615	570	IS	17.80	0.150	0.1	20	14	14	

¹⁸ O-PFHxS	ES -	MRM	403	84	IS	12.00	0.150	0.1	47	40	6	
¹³ C-PFOS	ES -	MRM	503	80	IS	14.90	0.075	0.1	59	40	8	
¹³ C-PFOA	ES -	MRM	506	78	IS	16.04	0.100	0.1	41	36	10	

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.

6.2.4 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 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 inwendige standaard in de standaardoplossing

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

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

De verhouding van piekoppervlakten van de natieve PFC en de overeenkomstige inwendige standaard wordt voor elke te bepalen PFC uitgezet i.f.v. 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 > 0.995. Het werkgebied wordt bepaald door de concentraties waarvoor de residuele afwijking tot de rechte < 20%.

De berekening van de kalibratiecurve gebeurt bij elke analysereeks.

7 BEREKENINGEN

De concentraties in het monster worden vervolgens berekend als volgt:

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

met

$C_i(\text{monster})$	=	de concentratie van de fluorverbinding i in het monster in ng/g
A_i	=	de gemeten piekoppervlakte voor de natieve fluorverbinding i in het monsterextract
A_{is}	=	de gemeten piekoppervlakte voor de overeenkomstige inwendige standaard in het monsterextract
g_{is}	=	de aan het monster toegevoegde hoeveelheid inwendige standaard in ng
a en b	=	de coëfficiënten van de kalibratievergelijking
m_m	=	beginmassa monster in g

Opmerkingen:

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.

8 KWALITEITSCONTROLE

8.1 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 kleinste meetbare concentratie bepaald, gedefinieerd als:

$$DL(\text{instr}) = 3 * RG * \text{conc} / PH$$

met

$DL(\text{instr})$	=	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
C	=	concentratie van de fluorverbinding in de kalibratie-oplossing in ng/ml

De aldus bekomen $DL(\text{instr})$ mogen niet groter zijn dan de minimale waarden noodzakelijk voor het bekomen van de gevraagde rapporteergrenzen. Uitzonderingen hierop kunnen worden toegelaten voor zover dit de bruikbaarheid van de analyseresultaten niet in het gedrang brengt (bijv. in het geval van sterk met fluorverbindingen verontreinigde monsters).

8.2 PROCEDUREBLANCO

Bij elke analysereeks wordt een blanco extractie 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.

8.3 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.

8.4 TERUGVINDING VAN DE ISOTOOPGEMERKTE FLUORVERBINDINGEN

Voor elk monster wordt de terugvinding van isotoopgemerkte inwendige 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 verwacht 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}C -gemerkte fluorverbindingen minimaal 30 % en maximaal 200% te bedragen. Indien desgevallend (bv. indien geen monster meer beschikbaar is of indien heranalyse niet relevant is i.f.v. gebruik van het resultaat ...) toch resultaten worden gerapporteerd waarbij aan het criterium voor terugvinding niet voldaan is, dient dit als opmerking op het verslag vermeld te worden.

8.5 CONTROLEMONSTER

In elke analysereeks wordt een controlemonster meegenomen. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van blanco monster gedopeerd met fluorverbindingen in een concentratie relevant voor het beoogde toepassingsgebied.

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

9 PRESTATIEKENMERKEN

Voor de prestatiekenmerken wordt verwezen naar CMA deel 6.

10 REFERENTIES

- ISO-norm 25101 "Water Quality – Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) – Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry".
- Ma (2010), "Perfluorochemicals in wastewater treatment plants and sediments in Hong-Kong", Ruowei Ma, Environmental Pollution 158 (2010) 1354-1362
- Yoo (2009), "Analysis of perfluorinated chemicals in sludge: Method development and initial results", Hoon Yoo, Journal of Chromatography A, 1216 (2009) 7831-7839