

Per- en polyfluorverbindingen (PFAS)

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	5
3	Apparatuur en materiaal	5
4	Reagentia en standaarden	6
5	Monsterbewaring en -voorbehandeling	7
6	Analyseprocedure	7
6.1	<i>Extractie en-opzuivering</i>	7
6.2	<i>Zuivering van het extract</i>	8
6.3	<i>LC-MS/MS analyse</i>	9
6.3.1	LC-condities	9
6.3.2	MS-condities	11
6.3.3	Identificatie en integratie	15
6.3.4	Kalibratie	15
7	Berekeningen	16
8	Kwaliteitscontrole	16
8.1	<i>Instrumentele detectielimiet</i>	16
8.2	<i>Procedureblanco</i>	17
8.3	<i>Controle van de geldigheid van de kalibratievergelijking</i>	17
8.4	<i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i>	17
8.5	<i>Controlemonster</i>	18
9	Prestatiekenmerken	18
10	Referenties	18

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure vervangt de procedure CMA/3/D van **november 2018** en beschrijft de kwantitatieve bepaling van per- en polyfluorverbindingen 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 -amides en fluortelomeeralcoholenverbindingen. De laatste verbindingen gelden ook als precursoren voor de eerste.

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

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluoro-n-butaanzuur	PFBA	375-22-4
perfluor-n-pentaanzuur	PFPA	2706-90-3
perfluor-n-hexaanzuur	PFHxA	307-24-4
perfluor-n-heptaanzuur	PFHpA	375-85-9
perfluor-n-octaanzuur	PFOA	335-67-1
perfluor-n-nonaanzuur	PFNA	375-95-1
perfluor-n-decaanzuur	PFDA	335-76-2
perfluor-n-undecaanzuur	PFUdA	2058-94-8
perfluor-n-dodecaanzuur	PFDoA	307-55-1
perfluor-n-tridecaanzuur	PFTTrDA	72629-94--8
perfluor-n-tetradecanoic acid	PFTeDA	376-06-7
perfluor-n-hexadecaanzuur	PFHxDA	67905-19-5
perfluor-n-butaansulfonzuur	PFBS	375-73-5
Perfluor-n-pentaansulfonzuur	PFPeS	2706-91-4
perfluor-n-hexaansulfonzuur	PFHxS	355-46-4
perfluor-n-heptaansulfonzuur	PFHpS	375-92-8
perfluor-n-octaansulfonzuur	PFOS	1763-23-1

perfluor-n-nonaansulfonzuur	PFNS	68259-12-1
perfluor-1-decaansulfonzuur	PFDS	335-77-3
perfluor-1-octaansulfonamide	FOSA	754-91-6
4:2 fluortelomeersulfonzuur	4:2 FTS	757124-72-4
6:2 fluortelomeersulfonzuur	6:2 FTS	27619-97-2
8:2 fluortelomeersulfonzuur	8:2 FTS	39108-34-4
10:2 fluortelomeersulfonzuur	10:2 FTS	120226-60-0
8:2 fluortelomeerfosfaat diester	8:2 diPAP	678-41-1
hexafluorpropyleenoxid dimeerzuur	HFPO-DA (GenX)	13252-13-6
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur	ADONA	919005-14-4
perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur	PFECHS	646-83-3

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

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-octadecaanzuur	PFODA	16517-11-6
perfluor-1-dodecaansulfonzuur	PFDoS	79780-39-5
N-methylperfluorooctaansulfonamide	MeFOSA	31506-32-8
N-ethylperfluorooctaansulfonamide	EtFOSA	4151-50-2
N-ethylperfluorooctaansulfonamidoazijnzuur	MeFOSAA	2355-31-9
N-methylperfluorooctaansulfonamidoazijnzuur	EtFOSAA	2991-50-6
6:2 fluortelomeerfosfaat diester	6:2 diPAP	57677-95-9
6:2/8:2 fluortelomeerfosfaat diester	6:2/8:2 diPAP	943913-15-3

Daarnaast kunnen optioneel (wanneer de aanwezigheid vermoed wordt), de onderstaande verbindingen bepaald worden; de bepaling hiervan maakt echter gebruik van een LC-MS methode met een andere mobiele fase.

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluorooctaansulfonamidoazijnzuur	FOSAA	2355-31-9
6:2 fluortelomeerfosfaat monoester	6:2 PAP	57678-01-0
8:2 fluortelomeerfosfaat monoester	8:2 PAP	57678-03-2

Opmerkingen:

- Voor de bepaling van per- en polyfluorverbindingen in grondwater wordt verwezen naar procedure WAC/IV/A/025 van het Compendium voor Analyse van Water.
- Van de meeste perfluorverbindingen komt uitsluitend de lineaire vorm voor; de beschikbare standaarden zijn ook lineair. Van een aantal perfluorverbindingen kan ook de vertakte vorm teruggevonden worden, die al dan niet afhankelijk van regelgeving en aard van het water

mee gekwantificeerd wordt (zie 7). Voor technische PFOA en PFOS gesynthetiseerd via telomerisatie geldt dat enkel de lineaire vorm voorkomt. Voor PFOA gesynthetiseerd via electrochemische fluorering geldt een typische samenstelling van 78% lineair en 22% vertakt; voor PFOS is dit 70% lineair en 30% vertakt.

2 PRINCIPE

Aan de stalen worden gekende hoeveelheden isotoopgemerkte fluorverbindingen toegevoegd. De stalen worden vervolgens geëxtraheerd waarna het extract indien nodig 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 PFAS 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 bv. 50 ml en 15 ml
- 3.8 ENVI-Carb SPE-patronen
- 3.9 SPE patronen met een zwakke anionenwisselaar fase: bv. OASIS WAX 6cc cart, 150mg.
Andere patronen kunnen ook gebruikt worden mits gevalideerd
- 3.10 Polyamidefilters 0.20 µm
- 3.11 Meetvials van 1,5 ml
- 3.12 LC-MS systeem bestaande uit:
 - Een HPLC of UPLC vloeistofchromatograaf met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatiseerde kolom en ontgassingseenheid.
Opm.: met het oog op de reductie van de systeemblanco wordt een *isolator* kolom, die geplaatst wordt tussen LC-pomp en injector, sterk aanbevolen
 - Een tandem quadrupool massaspectrometer met electrospray ionisatiekamer
Opm.: Alternatief kan gebruik gemaakt worden van een ion trap of een hoge resolutie 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
- Vloeistofchromatograaf (HPLC of UHPLC)
- 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~~-C18 1.7µm kolom, 2.1x100 mm
- 3.14 Ultrasoonbad
- 3.15 SPE vacuum- of drukeenheid

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

- 4.1 Methanol, acetonitrile: residukwaliteit
- 4.2 Water: ultrapuur (Milli-Q)
- 4.3 Ammoniumacetaat p.a.
- 4.4 Mierezuur p.a.
- 4.5 Ammoniak/methanol oplossing (0.1%): voeg 0,4 ml van een 25 % NH₃-oplossing toe aan 99,6 ml methanol
- 4.6 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
- 4.7 Stockkalibratiestandaarden van PFC's: dit zijn aangekochte monocomponent oplossingen van bv. 50 mg/l-Stock kalibratie-oplossingen van natieve PFAS in methanol: monocomponent- of mengstockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen
Stockkalibratieoplossingen van natieve PFC's: dit zijn monocomponentstandaarden aangemaakt in methanol vanuit de stock kalibratiestandaarden uit 4.4, in een concentratie van +/- 10 mg/l
- 4.8 Stock controlestandaard van natieve PFC's/PFAS: dit is een onafhankelijke mengstandaard in methanol van bv. 2 mg/l
- 4.9 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFC's/PFAS (inwendige standaarden): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt obv. individuele standaarden in een concentratie van bv. 2000 µg/l en verdund naar een concentratie van ±bv. 400 µg/l. De volgende isotoopgemerkte PFC's/PFAS zijn op dit ogenblik in gebruik worden minimaal gebruikt:

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

Perfluor-n-[1,2,3,4- ¹³ C1]-butaanzuur	¹³ C ₄ -PFBA
Perfluor-n-[¹³ C5]-hexaanzuur	¹³ C ₅ -PFPeA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-hexaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxA
Perfluor -n-[1,2,3,4- ¹³ C4]-octaanzuur	¹³ C ₄ -PFOA
Perfluor-n-[1,2,3,4,5- ¹³ C5]-nonaanzuur	¹³ C ₅ -PFNA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-decaanzuur	¹³ C ₂ -PFDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-undecaanzuur	¹³ C ₂ -PUdA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-dodecaanzuur	¹³ C ₂ -PFDoA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-tetradecaanzuur	¹³ C ₂ -PFTeDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C2]-hexadecaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxDA
Perfluor-1-hexaan[¹⁸ O ₂]sulfoaat	¹⁸ O ₂ -PFHxS
Perfluor-1-[1,2,3,4- ¹³ C4]-octaansulfoaat	¹³ C ₄ -PFOS
Natrium 1H,1H,2H,2H-perfluor-1-[1,2- ¹³ C2]-octaansulfoaat	¹³ C ₂ -6:2FTS
Perfluor-1-[¹³ C8]-octaansulfonamide	¹³ C ₈ -FOSA

N-methyl-d3-perfluor-1-octaansulfonamide	D ₃ -MeFOSA
N-methyl-d3-perfluor-1-octaansulfonamidoazijnzuur	D ₃ -MeFOSAA
Natrium 1H,1H,2H,2H-[1,2- ¹³ C ₂]perfluordecylfosfaat	¹³ C ₂ -8:2 PAP
Natrium bis(1H,1H,2H,2H-[1,2- ¹³ C ₂]perfluordecyl)fosfaat	¹³ C ₂ -8:2 diPAP
2,3,3,3-Tetrafluor-2-(1,1,2,2,3,3,3-heptafluorpropoxy)- ¹³ C ₃ -propaanzuur	¹³ C ₃ -HFPO-DA

Opm. : Van sommige isotoop gemerkte verbindingen zijn ook varianten beschikbaar (bv. ¹³C₃-PFHxS)

- 4.10 ~~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~~
 Kalibratiestandaarden: maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van natieve PFAS (4.7) en de standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFAS (4.9) een reeks verdunningen in 1/1 methanol/water met wisselende concentraties aan natieve ~~PFC's~~PFAS, lopende van ~~ca 1 tot 250~~ bv. 0.1 tot 100 µg/l en constante concentraties aan isotoop aangerijkte ~~PFC's~~PFAS van ca. 4 µg/l; ~~deze worden aangemaakt in methanol-water mengsel (1/1)~~ deze oplossingen worden bij elke meetreeks opnieuw aangemaakt
- 4.11 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard (4.8) worden ~~twee~~ QC standaarden in 1/1 methanol/water aangemaakt op ~~twee verschillende één of meer~~ concentratieniveaus
~~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~~

5 MONSTERBEWARING EN -VOORBEHANDELING

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

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

Opmerkingen: Contact met teflon of andere fluorhoudende polymeren dient vermeden te worden

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE ~~EN OPZUIVERING~~

- ~~Weeg 1 g staal (droge stof) af in een polypropyleen (PP) centrifugebuis van 50 ml~~
Opm.: de minimale droge stof inname bedraagt 1 g. Indien nodig worden monsters ingedikt.
- ~~Voeg vervolgens aangewezen hoeveelheden interne standaard en eventueel natieve additie-standaard toe;~~
- ~~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;~~
- Weeg ca 1 g gedroogd en gehomogeniseerd staal af in een polypropyleen (PP) centrifugebuis
 - Voeg de aangewezen hoeveelheid van de interne standaard oplossing (4.9) toe, zodanig dat de concentratie van de inwendige standaarden in het eindextract gelijk is aan deze van de kalibratiestandaarden
 - Voeg minstens 5 ml methanol toe en soniceer het mengsel gedurende 60 min bij 40°C met tussentijds opschudden
 - Laat de vaste fase bezinken, al dan niet met behulp van centrifugatie, en neem het supernatans af
 - Damp indien geen opzuivering dient te gebeuren het extract in tot 0.5 ml met behulp van een stikstofstroom. Leng aan met ultrapuur water tot 1 ml; deze meetoplossing wordt voor de analyse alleen indien noodzakelijk gefiltreerd over een polyamidefilter van 0,20 µm.

Opmerking.:

Afhv. de matrix worden soms lagere extractierendementen bekomen voor MeFOSAA, EtFOSAA en diPAPS; betere extractierendementen gelden bij aanwending van alkalische methanol (bv. 50 mM NaOH) als extractiesolvent.

6.2 ZUIVERING VAN HET EXTRACT

Opm.: Extracten van bodemstalen dienen in de regel niet opgezuiverd te worden

6.2.1 Zuivering met EnviCarb

- ~~Het extract wordt ingedampt onder een stikstofstroom tot een volume van 10 ml;~~
- Het ~~ingedampte~~ extract (6.1) wordt opgezuiverd door het over een Envicarb SPE-patroon (3.8) te brengen, die voorafgaandelijk werd gespoeld met 10 ml acetonitrile. Het eluaat wordt opgevangen in een PP-centrifugebuis van 15 ml. Het Envicarb-patroon wordt nagespoeld met twee maal 2,5 ml acetonitrile
- Het opgezuiverde extract wordt vervolgens ingedampt onder een stikstofstroom tot een volume van ~~ongeveer 1,5 tot 2~~ 0.5 ml
- ~~Breng volledig over in een meetvial van 1,5 ml en damp verder in onder stikstof tot volledig droog 0.5 ml;~~
- ~~Los opnieuw op met 500 µl methanol en 500 µl~~ Leng aan met ultra puur water tot 1 ml; deze meetoplossing wordt voor de analyse ~~alleen indien noodzakelijk nog~~ gefiltreerd over een polyamidefilter van 0,20 µm.

6.2.2 Zuivering met SPE-WAX

- De SPE-kolom (3.9) wordt achtereenvolgens geconditioneerd met:
 - o 4 ml methanol (0.1 % mierzuur)

- 4 ml methanol
- 4 ml ultrapuur water
- Een deel van het extract (6.1) wordt 1:1 verdund met water dat 0,1% mierzuur bevat en vervolgens op de SPE kolom gebracht
Opm.: bij een volume-aandeel van 50% methanol mag de hoeveelheid methanol maximaal 2 ml per 60 mg SPE adsorbens bedragen om verlies van korte keten PFAS agv. doorbraak te vermijden
- De SPE-kolom wordt achtereenvolgens gewassen met:
 - 4 ml H₂O
 - 4 ml wasoplossing (aceton/acetonitrile/mierzuur 50/50/1)
 - 4 ml methanol
- Elueer vervolgens de verbindingen 2 maal met 5 ml methanol (0.1% NH₃)(4.5) en vang op
Opm.: het elutievolume bedraagt 2 ml per 60 mg adsorbens
- Het opgezuiverde extract wordt vervolgens ingedampt onder een stikstofstroom tot een volume van ~~ongeveer 1,5 tot 2~~ 0.5 ml
- ~~Breng volledig over in een meetvial van 1,5 ml en damp verder in onder stikstof tot volledig droog 0.5 ml;~~
- ~~Los opnieuw op met 500 µl methanol en 500 µl Leng aan met ultra puur water tot 1 ml; deze meetoplossing wordt voor de analyse alleen indien noodzakelijk gefiltreerd over een polyamidefilter van 0,20 µm.~~

Opmerkingen:

- Met deze clean up werkwijze gaan FOSA en de FOSAA's verloren bij SPE wasstap met de aceton/acetonitrile/mierzuur wasoplossing
- Met deze clean up werkwijze gaan MeFOSA en EtFOSA verloren bij de SPE wasstap met methanol

6.3 LC-MS/MS ANALYSE

Opm.: De houdbaarheid van preparaten bedraagt, bij bewaring in de koelkast, 1 maand. Preparaten die in de koelkast hebben gestaan worden best gevortext vooraleer deze in de injectie-automaat te plaatsen.

6.3.1 LC-CONDITIES

Een UPLC-analyse gebeurt bv. op een UPLC BEH ~~Shield~~-C18 kolom, 1,7µm, 2.1 x 100 mm, met gradiëntelutie.

Typische UPLC-instellingen zijn:

- mobiele fase:
 - A= Water + 5 % MeOH en 2 mM ammoniumacetaat
 - B= MeOH + 2 mM ammoniumacetaat
- debiet: ~~0-250.3~~ 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

Tijd	A%	B%
min	%	%
0,00	70	30
0,50	70	30
25,00	10	90
27,00	10	90
28,00	1	99
30,00	70	30

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 µl
- gradiënt:

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

Voor de detectie van FOSAA, 6:2 PAP en 8:2 PAP is een alkalische mobiele fase nodig; een voorbeeld van UPLC-instellingen is hieronder gegeven:

- mobiele fase:
 - A = Water + 2 mM ammoniumacetaat + NH₃ (pH 10.5)
 - B = ACN/MeOH 1/1 + 5 mM methylpiperidine
 - C = Water/MeOH/ACN/isopropanol 25/25/25/25
- debiet: 0.3 ml/min
- kolomtemperatuur: 40°C
- injectievolume: 10 µl
- gradiënt:

Tijd	A	B	C
	(%)	(%)	(%)
0.0	90	10	0
0.5	90	10	0

5	55	45	0
10	55	45	0
20	0	95	5
23	0	95	5
25	90	10	0

6.3.2 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 voor een Waters Xevo TQ-S gegeven:

Polarity	ES-
Calibration	Statie-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

Ion Mode :	ES-
Cappillary Voltage :	1kV
Cone Voltage :	componentafhankelijk
Source Offset :	30V
Desolvation Temperature :	450°C
Source Temperature :	150°C
Desolvation :	800L/Hr
Cone :	150L/Hr
Nebuliser :	7Bar
Ion Energy1 :	0.9
Ion Energy2 :	1.1
Collision gas flow :	0.20ml/min
Collision energy:	componentafhankelijk

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. **Om zoveel mogelijk problemen van geringe terugvinding of spreiding van resultaten te vermijden (agv. sorptie aan recipiëntwand of injector en/of matrixonderdrukking/versterking), dient ernaar gestreefd te worden om een zo groot mogelijk aantal overeenkomstige inwendige standaarden te gebruiken.**

komponenten	mode		Parent ion	Daughter ion		Retentietijd (min)	dwell time (s)	scan	cone V	Collision E	Functie n°	is
PFBA	ES-	MRM	213	169	Q	3.50	0.150	0-1	14	8	4	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	

Compound	Parent (m/z)	Daughter (m/z)	(Q/q)	Cone (V)	Collision (V)	IS	Rt NH ₄ Ac (min)	Rt NH ₃ (min)
PFBA	213	169	Q	30	8	13C-PFBA	2.01	3.91
PFPeA	263	219	Q	30	8	13C-PFPeA	4.78	5.96
PFHxA	313	119	q	40	20	13C-PFHxA	8.72	7.24
		269	Q	40	8			
PFHpA	363	169	q	40	20	13C-PFHxA	12.21	8.75
		319	Q	40	11			
PFOA	413	169	q	40	17	13C-PFOA	14.94	11.81
		369	Q	40	11			
PFNA	463	169	q	40	17	13C-PFNA	17.13	14.48
		419	Q	40	11			
PFDA	513	219	q	40	20	13C-PFDA	18.95	15.69
		469	Q	40	11			
PFUdA	563	169	q	40	23	13C-PFUdA	20.5	16.57
		519	Q	40	11			
PFDoA	613	319	q	40	20	13C-PFDoA	21.84	17.27
		569	Q	40	11			
PFTrDA	663	319	q	40	23	13C-PFDoA	22.97	17.87
		619	Q	40	14			
PFTeDA	713	319	q	40	20	13C-PFTeDA	23.96	18.4
		669	Q	40	14			
PFHxDA	813	219	q	40	32	13C-PFHxDA	25.56	19.24
		769	Q	40	14			
PFODA	913	219	q	50	29	13C-PFHxDA	26.79	19.89
		869	Q	50	17			
PFBS	299	80	Q	50	41	13C-PFHxS	5.76	6.84
		99	q	50	41			
PFPeS	349	80	Q	50	32	18O2-PFHxS	9.53	8.09
		99	q	50	30			
PFHxS	399	80	Q	50	38	18O2-PFHxS	12.7	10.4
		99	q	50	32			
PFHpS	449	80	Q	50	41	13C-PFHxS	15.23	13.8

		99	q	50	36			
PFOS	499	80	Q	60	50	13C-PFOS	17.29	15.26
		99	q	60	40			
PFNS	549	80	Q	60	46	13C-PFOS	19.04	16.2
		99	q	60	45			
PFDS	599	80	Q	65	50	13C-PFOS	20.53	16.94
		99	q	65	50			
PFDoS	699	80	Q	65	49	13C-PFOS	22.95	18.11
		99	q	65	47			
4:2 FTS	327	80.5	q	40	26	13C 6:2 FTS	8.37	7
		306.9	Q	40	20			
6:2 FTS	427	80.7	q	40	28	13C 6:2 FTS	14.8	10.83
		406.9	Q	40	30			
8:2 FTS	527	80.7	q	40	32	13C 6:2 FTS	18.92	15.44
		506.9	Q	40	34			
10:2 FTS	627	80.7	q	40	37	13C 6:2 FTS	21.87	17.14
		606.9	Q	40	30			
FOSA	498	78	Q	50	29	13C-PFOSA	19.99	14.67
		169	q	50	32			
MeFOSA	512	169	Q	40	25	D3-MeFOSA	22.64	15.84
		219	q	40	22			
EtFOSA	526	169	Q	50	25	D3-MeFOSA	23.49	16.69
		219	q	50	25			
FOSAA	556	419	q	86	26	D3-MeFOSAA	-	9.61
		498	Q	86	28			
MeFOSAA	570	419	Q	40	19	D3-MeFOSAA	19.7	16.05
		483	q	40	15			
EtFOSAA	584	419	Q	40	20	D3-MeFOSAA	20.44	16.45
		526	q	40	20			
6:2 PAP	443	79	q	28	46	13C 8:2 PAP	-	6.5
	443	97	Q	28	18			
8:2 PAP	543	79	q	32	58	13C 8:2 PAP	-	8.62
		97	Q	32	16			
6:2 diPAP	789	97	Q	40	31	13C 8:2 diPAP	23.75	18.19
		443	q	40	19			
6:2/8:2 diPAP	889	97	Q	40	30	13C 8:2 diPAP	25.18	19
		443	q	40	20			
8:2 diPAP	989	97	Q	50	30	13C 8:2 diPAP	26.3	19.63
		543	q	50	25			
HFPO-DA	285	119	Q	7	18	13C HFPO-DA	9.7	7.64
		169	q	7	14			
ADONA	376.97	84.95	q	8	26	13C HFPO-DA	12.54	9.31
		250.96	Q	8	12			
PFECHS	461	99	q	40	24	13C-PFOA	14.84	13.47
		381	Q	40	24			
13C-PFBA	217	172	IS	30	8		2.01	3.9
13C-PFPeA	268	223	IS	30	8		4.77	5.96

13C-PFHxA	315	270	IS	40	11		8.72	7.24
13C-PFOA	417	372	IS	40	8		14.95	11.8
13C-PFNA	468	423	IS	40	11		17.13	14.47
13C-PFDA	515	470	IS	50	11		18.95	15.69
13C-PFUdA	565	520	IS	50	14		20.5	16.57
13C-PFDoA	615	570	IS	50	14		21.84	17.27
13C-PFTeDA	715	670	IS	50	14		23.96	18.4
13C-PFHxDA	815	770	IS	50	14		25.56	19.25
18O2-PFHxS	403	84	IS	50	40		12.7	10.41
13C-PFOS	503	80	IS	60	40		17.28	15.26
13C 6:2 FTS	429	409	IS	10	24		14.8	10.82
13C-FOSA	506	78	IS	50	40		19.99	14.68
D3-MeFOSA	515	169	IS	50	40		22.62	15.82
D3-MeFOSAA	573	419	IS	40	20		19.69	16.03
13C 8:2 PAP	545	97	IS	32	16			8.62
13C 8:2 diPAP	993	97	IS	25	20		23.75	18.19
13C HFPO-DA	287	119	IS	10	18		9.7	7.64

Q: Transitie voor kwantificatie van de component

q: Transitie ter bevestiging (kwalificatie) van de kwantificatietransitie

6.3.3 IDENTIFICATIE EN INTEGRATIE

De aanwezigheid van natieve fluorverbindingen in de monsters wordt bevestigd op basis van de criteria voor retentietijden en ionenratio's zoals vermeld in CMA/6/D.

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

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

6.3.4 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 **PFCPFAS** en de overeenkomstige inwendige standaard wordt voor elke te bepalen **PFCPFAS** 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:

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

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.
- Voor een aantal perfluorverbindingen zoals PFOS en PFOA 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, zowel de lineaire als de vertakte vormen gebruikmakend van de MRM transitie en bekomen RRF-waarde voor de lineaire vorm.**

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(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(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:

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

Het terugvindingsrendement is afhankelijk van sorptiefenomenen, signaalsuppressie/versterking door matrixbestanddelen en extractie/clean up rendement. 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~~
- DIN 38414-14 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Schlamm und Sedimente (Gruppe S) - Teil 14: Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen (PFC) in Schlamm, Kompost und Boden - Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (S 14)
- ISO 21675:2019: Water quality — Determination of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in water — Method using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)
- C.R. Powley, S.W. George, T.W. Ryan, R.C. Buck, Matrix Effect-Free Analytical Methods for Determination of Perfluorinated Carboxylic Acids in Environmental Matrixes, Analytical Chemistry 2005, 77 (19)