

Per- en polyfluorverbindingen (PFAS)

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	5
3	Apparatuur en materiaal	5
4	Reagentia en standaarden	5
5	Monsterbewaring en -voorbehandeling	6
6	Analyseprocedure	7
6.1	<i>Extractie</i>	7
6.2	<i>Zuivering van het extract</i>	7
6.3	<i>LC-MS/MS analyse</i>	8
6.3.1	LC-condities	8
6.3.2	MS-condities	10
6.3.3	Identificatie en integratie	13
6.3.4	Kalibratie	13
7	Berekeningen	14
8	Kwaliteitscontrole	14
8.1	<i>Instrumentele detectielimiet</i>	15
8.2	<i>Procedureblanco</i>	15
8.3	<i>Controle van de geldigheid van de kalibratievergelijking</i>	15
8.4	<i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i>	15
8.5	<i>Controlemonster</i>	16
9	Prestatiekenmerken	16
10	Referenties	16

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure vervangt de procedure CMA/3/D van **november 2020** en beschrijft de kwantitatieve bepaling van per- en polyfluorverbindingen in bodem **en sediment**, ~~slib, baggerspecie, vast afval en bodemverbeterende middelen~~ met behulp van vloeistofchromatografie. **Voor de bepaling van PFAS in grondwater wordt verwezen naar WAC/IV/A/025.**

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 fluortelomeerverbindingen. De laatste verbindingen gelden ook als precursoren voor de eerste.

Deze methode beschrijft de extractie en analyse van volgende verbindingen:

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluoro-n-butaanzuur	PFBA	375-22-4
perfluor-n-pentaanzuur	PFPeA	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	PFUnDA	2058-94-8
perfluor-n-dodecaanzuur	PFDoDA	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	PFOSA	754-91-6
N-methylperfluor-octaansulfonamide	MePFOSA	31506-32-8
N-ethylperfluor-octaansulfonamide	EtPFOSA	4151-50-2
N-methylperfluor-octaansulfonamidoazijnzuur	MePFOSAA	2355-31-9
N-ethylperfluor-octaansulfonamidoazijnzuur	EtPFOSAA	2991-50-6
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
hexafluorpropyleenoxidedimeerzuur	HFPO-DA	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.

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-octadecaanzuur	PFODA	16517-11-6
perfluor-1-dodecaansulfonzuur	PFD _o DS	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
10:2 fluortelomeersulfonzuur	10:2 FTS	120226-60-0
perfluor-1-butaansulfonamide	PFBSA	30334-69-1
N-methylperfluorbutaansulfonamide	MePFBSA	68298-12-4
N-methylperfluorbutaansulfonamide acetaat	MePFBSAA	159381-10-9
perfluor-1-hexaansulfonamide	PFHxSA	41997-13-1

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	PFOSAA	2355-31-9 2806-24-8
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 staal 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.~~ In deze procedure wordt met PFOS, PFOA, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS de som van de lineaire en de vertakte vormen bedoeld van resp. PFOS, PFOA, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS.

2 PRINCIPE

Aan de ~~gedroogde~~ 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 extract~~ wordt opgenomen in een gekend volume mobiele fase en geanalyseerd met vloeistofchromatografie met tandem massaspectrometrische detectie. Het gehalte van de verschillende 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 Centrifugetoestel
- 3.6 Eenheid voor indampen onder stikstofstroom met regelbaar debiet
- 3.7 Polypropyleen centrifugebuizen van bv. 50 ml en 15 ml
- 3.8 ~~Aktieve kool SPE-patronen (bv. ENVI-Carb)~~
- 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 ~~Polyamidedfilters 0-20 µm Glasvezelfilters (bv. Pall Glass Acrodisc 1 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
- 3.13 HPLC of UPLC-kolom, bv. Waters Acquity UPLC BEH 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 Stock kalibratie-oplossingen van natieve PFAS in methanol: monocomponent- of mengstockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen
- 4.8 Stock controlestandaard van natieve PFAS: dit is een onafhankelijke mengstandaard in methanol
- 4.9 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFAS (inwendige standaarden): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt obv. individuele standaarden en verdund naar een concentratie van bv. 400 µg/l. De volgende isotoopgemerkte PFAS worden minimaal gebruikt:

Perfluor-n-[1,2,3,4- ¹³ C ₁]-butaanzuur	¹³ C ₄ -PFBA
Perfluor-n-[¹³ C ₅]-hexaanzuur	¹³ C ₅ -PFPeA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-hexaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxA
Perfluor-n-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-octaanzuur	¹³ C ₄ -PFOA
Perfluor-n-[1,2,3,4,5- ¹³ C ₅]-nonaanzuur	¹³ C ₅ -PFNA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-decaanzuur	¹³ C ₂ -PFDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-undecaanzuur	¹³ C ₂ -PUnDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-dodecaanzuur	¹³ C ₂ -PFDODA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-tetradecaanzuur	¹³ C ₂ -PFTeDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-hexadecaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxDA
Perfluor-1-hexaan[¹⁸ O ₂]sulfonaat	¹⁸ O ₂ -PFHxS
Perfluor-1-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-octaansulfonaat	¹³ C ₄ -PFOS
Natrium 1H,1H,2H,2H-perfluor-1-[1,2- ¹³ C ₂]-octaansulfonaat	¹³ C ₂ -6:2FTS
Perfluor-1-[¹³ C ₈]-octaansulfonamide	¹³ C ₈ -PFOSA
N-methyl-d ₃ -perfluor-1-octaansulfonamide	D ₃ -MePFOSA
N-methyl-d ₃ -perfluor-1-octaansulfonamidoazijnzuur	D ₃ -MePFOSAA
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 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 PFAS, lopende van bv. 0.1 tot 100 µg/l en constante concentraties aan isotoop aangerijkte PFAS van ca. 4 µg/l; deze oplossingen worden bij elke meetreeks opnieuw aangemaakt
- 4.11 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard (4.8) worden QC standaarden in 1/1 methanol/water aangemaakt op één of meer concentratieniveaus

5 MONSTERBEWARING EN -VOORBEHANDELING

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

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

De stalen worden vooraf gedroogd door middel van overnacht drogen aan de lucht bij 40°C, vriesdrogen of chemisch drogen.

Opmerkingen:

- Contact met teflon of andere fluorhoudende polymeren dient vermeden te worden
- Indien de stalen verkleind worden mbv een kogelmolen dan mag het staal enkel gedroogd worden aan de lucht bij 40°C.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE

- Weeg ~~ca 1 g~~ 1 tot 5 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. ~~Laat de interne standaarden ongeveer 15 min inwerken alvorens de extractievloeistof aan het staal toe te voegen.~~
- Voeg minstens 5 ml methanol toe per gram staalinname, vortex het staal en schud gedurende 60 min. op een schudtoestel. ~~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 polyamidedfilter van 0,20 µm.~~

Opmerking.:

Afhv. de matrix worden soms lagere extractierendementen bekomen voor MePFOSAA, EtPFOSAA en diPAPS; in dat geval kunnen betere extractierendementen bekomen worden ~~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 (6.1) wordt opgezuiverd door het over een ~~aktieve kool patroon 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.
- ~~Indien nodig wordt het opgezuiverde extract wordt vervolgens~~ ingedampt onder een stikstofstroom ~~tot een volume van 0.5 ml; daarbij moet vermeden worden dat het extract droog damp.~~
- Leng het extract desgewenst aan met ultra puur water en/of methanol. De meetoplossingen van de kalibratiestandaarden worden in hetzelfde solventmengsel aangemaakt als het meetextract van het staal. ~~tot een verhouding van 1 ml; deze meetoplossing wordt voor de analyse alleen~~

indien noodzakelijk gefiltreerd over een ~~polyamidefilter van 0,20 µm~~ glasvezelfilter of gecentrifugeerd.

~~6.2.2 Zuivering met SPE-WAX~~

- ~~— De SPE kolom (3.9) wordt achtereenvolgens geconditioneerd met:~~
 - ~~○ 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 0.5 ml~~
- ~~— 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 glasvezelfilter.~~

~~Opmerkingen:~~

- ~~— Met deze clean up werkwijze gaan PFOSA en de PFOSAA's verloren bij SPE wasstap met de aceton/acetonitrile/mierzuur wasoplossing~~
- ~~— Met deze clean up werkwijze gaan MePFOSA en EtPFOSA 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 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: 0.3 ml/min
- kolomtemperatuur: 40°C
- injectievolume: 10 µl

- gradiënt:

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:

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.

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			
PFUnDA	563	169	q	40	23	13C-PFUnDA	20.5	16.57
		519	Q	40	11			
PFDODA	613	319	q	40	20	13C-PFDODA	21.84	17.27

		569	Q	40	11			
PFTTrDA	663	319	q	40	23	13C-PFDoDA	22.97	17.87
		619	Q	40	14			
PFTTeDA	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			
PFDoDS	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			
PFOSA	498	78	Q	50	29	13C-PFOSA	19.99	14.67
		169	q	50	32			
MePFOSA	512	169	Q	40	25	D3-MePFOSA	22.64	15.84
		219	q	40	22			
EtPFOSA	526	169	Q	50	25	D3-MePFOSA	23.49	16.69
		219	q	50	25			
PFOSAA	556	419	q	86	26	D3-MePFOSAA	-	9.61
		498	Q	86	28			
MePFOSAA	570	419	Q	40	19	D3-MePFOSAA	19.7	16.05
		483	q	40	15			
EtPFOSAA	584	419	Q	40	20	D3-MePFOSAA	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 97	q Q	32 32	58 16	13C 8:2 PAP	-	8.62
6:2 diPAP	789	97 443	Q q	40 40	31 19	13C 8:2 diPAP	23.75	18.19
6:2/8:2 diPAP	889	97 443	Q q	40 40	30 20	13C 8:2 diPAP	25.18	19
8:2 diPAP	989	97 543	Q q	50 50	30 25	13C 8:2 diPAP	26.3	19.63
HFPO-DA	285	119 169	Q q	7 7	18 14	13C HFPO-DA	9.7	7.64
ADONA	376.97	84.95 250.96	q Q	8 8	26 12	13C HFPO-DA	12.54	9.31
PFECHS	461	99 381	q Q	40 40	24 24	13C-PFOA	14.84	13.47
PFBSA	298	78 64	q Q	50 50	29 32	13C-PFOA		
MePFBSA	312	219 65	q Q	40 40	25 22	13C-PFOA		
MePFBSAA	370	283 312	q Q	86 86	26 28	13C-PFOA		
PFHxSA	398	78 119	q Q	50 50	29 32	13C-PFOA		
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-PFUnDA	565	520	IS	50	14		20.5	16.57
13C-PFDoDA	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-PFOA	506	78	IS	50	40		19.99	14.68
D3-MePFOSA	515	169	IS	50	40		22.62	15.82
D3-MePFOSAA	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 PFAS en de overeenkomstige inwendige standaard wordt voor elke te bepalen PFAS 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 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.

~~De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren (voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar CMA/6/D) :~~

- ~~aan de hand van kalibratierechten. In dit geval worden aan het begin van de analysereeks minimaal 4 kalibratieoplossingen geanalyseerd met concentraties groter dan 0 en verspreid over het lineair gebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de natieve PFAS en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend. De afwijking van elk punt tot de rechte mag niet meer dan 20% bedragen.~~
- ~~aan de hand van kwadratische curven. Indien bij de lineariteitstest gebleken is dat er geen lineair maar een kwadratisch verband is tussen concentratie en respons, dan kunnen kwadratische~~

curven gebruikt worden voor de kalibratie. Daartoe worden aan het begin van de analysereeks minimaal 5 kalibratie-oplossingen geanalyseerd met concentraties verspreid over het meetgebied. De laagste concentratie mag niet hoger zijn dan 2 keer de ondergrens van het meetbereik. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de natieve PFAS en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt dmv kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend. De afwijking van elk punt tot de curve mag niet meer dan 15% bedragen.

7 BEREKENINGEN

De concentraties in het monster worden vervolgens berekend als volgt:

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

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

Voor de monsterextracten worden de transitie geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Uitgaande van de integratiewaarden voor het monster en de kalibratierechte/curve bepaald voor de kalibratiestandaard worden de gehalten van de verschillende verbindingen in het monster berekend. De bepalingsgrenzen van de methode bedragen voor de kwantitatieve PFAS in bodem ten hoogste 0.5 µg/kg ds per component

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, PFOA, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS 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 RRF-waarde van de lineaire vorm.
- Voor de bepaling van totaal PFAS wordt de som gemaakt van de concentraties van de kwantitatieve PFAS, waarbij het "lower bound" principe toegepast wordt.

8 KWALITEITSCONTROLE

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, controle op gevoeligheid, controlestaal, driftcontrole en onafhankelijke controlestandaard wordt verwezen naar CMA/6/D.

Opmerking:

- Voor de procedureblanco dient een blanco bodem (eventueel voorgespoeld met methanol) als staal ingenomen te worden. De procedureblanco dient de volledige voorbehandeling en opwerking te doorlopen, inclusief het drogen en homogeniseren van het staal.

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:

$$DL(instr) = 3 \cdot RG \cdot conc / PH$$

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 ¹³C-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

- 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)
- ~~Nederlandse Technische Afspraak (NTA): Analyse van PFAS in bodem, waterbodem en slib, met HPLC en massaspectrometrie.~~