

Bepaling van per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS) in water met LC-MS/MS

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	5
3	Materiaal	5
4	Reagentia en standaarden	6
5	Monsterbewaring	7
6	Analyseprocedure	8
6.1	<i>Extractie</i>	8
6.2	<i>Meting</i>	9
6.2.1	LC-condities	9
6.2.2	MS-condities	10
6.2.3	Identificatie en integratie	15
6.3	<i>Kalibratie</i>	15
6.4	<i>Kwantificatie</i>	16
7	Kwaliteitscontroles	17
7.1	<i>Chromatografische scheiding</i>	18
7.2	<i>Instrumentele detectielimiet</i>	18
7.3	<i>Procedureblanco</i>	18
7.4	<i>Controle van de geldigheid van de kalibratievergelijking</i>	18
7.5	<i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i>	18
7.6	<i>Controlemonster</i>	19
8	Rapportering	19
9	Referenties	19

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De hieronder beschreven analysemethode **vervangt de procedure WAC/IV/A/025 van september 2016** en wordt gebruikt voor het bepalen van **per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS) (PFC)**:

in drink-, grond- en oppervlaktewater
in afvalwater

en is gericht op de kwantificering van volgende componenten:

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-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-tetradecaanzuur	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-n-decaansulfonzuur	PFDS	335-77-3
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
Perfluor-n-octaansulfonamide	PFOSA	754-91-6
N-methylperfluor-n-octaansulfonamide	MePFOSA	31506-32-8
N-ethylperfluor-n-octaansulfonamide	EtPFOSA	4151-50-2
N-methylperfluor-n-octaansulfonamido-azijnzuur	MePFOSAA	2355-31-9
N-ethylperfluor-n-octaansulfonamido-azijnzuur	EtPFOSAA	2991-50-6
8:2 fluortelomeerfosfaat diester	8:2 diPAP	678-41-1
perfluor-2-propoxypropaanzuur	HFPO-DA	13252-13-6
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur	DONA	919005-14-4
perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur	PFECHS	646-83-3

* in DW, GW en OW

— perfluorpentaanzuur — PFPA
— perfluorhexaanzuur — PFHxA
— perfluorheptaanzuur — PFHpA

perfluorooctaanzuur	PFOA
perfluornonaan	PFNA
perfluordecaan	PFDA
perfluorundecaan	PFUdA
perfluordodecaan	PFDoA
perfluorbutaansulfonaat	PFBS
perfluorhexaansulfonaat	PFHxS
perfluorooctaansulfonaat	PFOS
perfluorooctaansulfonamide	PFOSA

De verbindingen kunnen bepaald worden vanaf een concentratie van 10 ~~tot 20~~ ng/l voor drink-, grond- en oppervlaktewater en ~~100~~ 20 ng/l voor afvalwater.

Opmerkingen:

- 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. **Deze verbindingen kunnen bepaald worden vanaf 50 ng/l.**

perfluorbutaan	PFBA
perfluortridecaan	PFTrDA
perfluortetradecaan	PFTeDA
perfluorhexadecaan	PFHxDA
perfluoroctadecaan	PFODA
perfluordecaansulfonaat	PFDS

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-tridecaan	PFTrDA	72629-94-8
perfluor-n-octadecaan	PFODA	16517-11-6
perfluor-n-dodecaansulfonzuur	PFDoDS	79780-39-5
perfluor-n-undecaansulfonzuur	PFUnDS	749786-16-1
perfluor-n-tridecaansulfonzuur	PFTrDS	791563-89-8
10:2 fluortelomeersulfonzuur	10:2 FTS	120226-60-0
6:2 fluortelomeerfosfaat diester	6:2 diPAP	57677-95-9
6:2/8:2 fluortelomeerfosfaat diester	6:2/8:2 diPAP	943913-15-3
6:2 fluortelomeersulfonzuur*	6:2 FTS	27619-97-2
perfluor-n-butaansulfonamide	PFBSA	30334-69-1
N-methylperfluor-n-butaansulfonamide	MePFBSA	68298-12-4
N-methylperfluor-n-butaansulfonamide azijnzuur	MePFBSAA	159381-10-9
perfluor-n-hexaansulfonamide	PFHxSA	41997-13-1

* in AW

- 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
perfluor-n-octaansulfonamidoazijnzuur	PFOSAA	2806-24-8
6:2 fluortelomeerfosfaat monoester	6:2 PAP	57678-01-0

8:2 fluortelomeerfosfaat monoester	8:2 PAP	57678-03-2
------------------------------------	---------	------------

- Van de meeste perfluorverbindingen komt uitsluitend de lineaire vorm voor; de beschikbare standaarden zijn ook lineair. Van een aantal perfluorverbindingen (PFOA, PFOS en PFOSA) kunnen ook vertakte vormen teruggevonden worden, die al dan niet afhankelijk van regelgeving en aard van het water mee gekwantificeerd wordt (zie 6.4). In deze procedure worden voor PFOS, PFOA en PFOSA zowel de lineaire vormen als de som van de lineaire en vertakte vormen bepaald. De som, gerapporteerd als PFOS totaal, PFOA totaal respectievelijk PFOSA totaal, kan bepaald worden vanaf 50 ng/l.

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 PFAS wordt berekend met de interne standaard methode.

Opmerkingen:

- ~~In bepaalde gevallen kan,~~ Afhankelijk van de aard van de monsters, de toestelgevoeligheid en de gewenste rapportagelimiten, kan 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").~~
- Voor sommige PFAS kan geen isotoopdilutie toegepast worden omdat de identieke isotoopgemerkte verbinding niet beschikbaar is. Deze PFAS worden gekwantificeerd aan de hand van een zo goed mogelijk gelijkende isotoopgemerkte verbinding (zie ook tabel onder 6.2.2). Alternatief mag voor deze componenten de externe standaardmethode toegepast worden (met controle op de aanwezigheid van matrixeffecten), ofwel kwantificatie aan de hand van standaard additie, op voorwaarde dat aangetoond wordt dat daarmee betere resultaten bekomen worden. 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 met een zwakke anionenwisselaar fase, bv OASIS WAX 6cc cart, 150mg. Andere

- patronen kunnen ook gebruikt worden mits gevalideerd.
- 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
Opm.: met het oog op de reductie van de systeemblanco wordt een isolator of delay 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
- 3.9 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 NH₃-oplossing, p.a.: bv. 25 %
- ~~4.5 Azijnzuur 100 %, p.a.~~
- 4.6 Ammoniak/methanol oplossing: 0,4 ml van een 25 % NH₃-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 kalibratiestandaardenoplossingen van PFC's natieve PFAS in methanol: 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 PFAS: dit is een onafhankelijke mengstandaard in methanol
- 4.11 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFC's PFAS (inwendige standaarden): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt mbv individuele standaarden in een concentratie van bv. 400 µg/l. ± 2000 µg/l en verdund naar een concentratie van ± 400 µg/l. De volgende isotoopgemerkte PFC's PFAS worden minimaal gebruikt :

Perfluor-n-[1,2,3,4- ¹³ C]-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[18O 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 bis(1H,1H,2H,2H-[1,2- ¹³ C ₂]perfluorodecyl)fosfaat	¹³ C ₄ -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

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

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

- 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 Kalibratiestandaarden: maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van natieve PFAS en de standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFAS 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
- 4.15 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard worden ~~twee~~ QC standaarden in 1/1 methanol/water aangemaakt ~~op twee verschillende op één of meer~~ concentratieniveaus
- ~~4.16 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~~ **bv.** 50 µg/l in 1/1 methanol-water gemaakt

5 MONSTERBEWARING

Voor de monsterconservering en -bewaring wordt verwezen naar WAC/I/A/010.

Grondwaterstalen (gewoonlijk bemonsterd in het kader van bodemonderzoek) worden bij aankomst in het labo opgeschud en men laat de stalen gedurende minstens 4 uur rusten zodat de deeltjes kunnen uitzakken. Aansluitend worden de stalen voorzichtig gedecanteerd. Niet meer dan de helft

van de bovenstaande waterlaag wordt gedecanteerd om zo weinig mogelijk deeltjes in bewerking te nemen. Waterstalen die geanalyseerd worden in het kader van menselijke consumptie worden niet gedecanteerd.

Opmerkingen:

- Contact met teflon of andere fluorhoudende polymeren dient vermeden te worden.
- De concentratie van >C10 PFAS in waterstalen neemt af bij toenemende bewaartijd, door sorptie aan recipientwand of neerslaan.
- Het is belangrijk om het volledige monster (voor grondwater: het volledig monster na decantatie) in bewerking te nemen, gevolgd door naspoelen van monsterfles met methanol; afhankelijk van de laboratoriumwerkwijze, toestelgevoeligheid en aard van het staal worden de watermonsters genomen in recipiënten van geschikt volume; de flessen worden volledig gevuld om de verhouding specifiek oppervlak/volume zo klein mogelijk te houden.
- In geval van analyse via directe injectie is het toevoegen van een organisch solvent aan het watermonster in de monsterfles noodzakelijk (50% methanol) ofwel wordt de monsterfles in het laboratorium geledigd en vervolgens gespoeld met voldoende methanol, waarna het water en de methanol samengevoegd worden vooraleer een deelmonster te nemen.
- In geval omwille van concentratieredenen of de organische belading van het water het monster niet in zijn volledigheid kan opgewerkt worden en verdunning van een deelmonster noodzakelijk blijkt, dan zal de monsterfles eerst geledigd worden en vervolgens gespoeld met voldoende methanol, waarna het water en de methanol samengevoegd worden vooraleer een deelmonster te nemen. Het laboratorium vermeldt in dit geval op het verslag dat de analyse uitgevoerd werd op een deelmonster.

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. Andere patronen kunnen ook gebruikt worden mits gevalideerd.~~

~~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 N₂-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.

- Weeg de monsterfles met stop en inhoud.
- Voeg een geschikte hoeveelheid van de standaardoplossing van isotoop gemerkte PFAS toe, zodat de theoretische concentratie van de IS in het meetextract gelijk is aan deze in de kalibratiestandaarden.
- Schud het geheel krachtig op.
- Voor de extractie wordt gebruik gemaakt van een SPE-patroon (3.6). 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; let erop om het patroon niet droog te laten komen;
 - breng het volledige staal over het SPE-patroon;
 - spoel de monsterfles met 4 ml methanol en elueer hiermee het SPE-patroon; vang deze fractie op;
 - spoel de monsterfles met 4 ml methanol/ammoniak oplossing (4.6) en elueer hiermee het SPE-patroon; combineer deze fractie met de voorgaande;
 - damp indien nodig het extract in onder een N₂ stroom tot 500 µl; laat het extract daarbij niet droggdampen;
 - leng het extract desgewenst aan met ultrapuur water en/of methanol; de kalibratiestandaarden dienen in hetzelfde solventmengsel aangemaakt te worden als de meetextracten;
 - breng over in een meetvial;
 - bepaal het volume van het opgebrachte staal door herweging van de monsterfles met stop.

Van het extract wordt typisch 10 µl in de LC-MS geïnjecteerd.

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.

6.2 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~~ 0.3 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	70	30
0.5	70	30
25	10	90
27	10	90
28	1	99
30	70	30

Opmerkingen:

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

6.2.2 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~~ Waters Xevo TQ-S, typische instellingen voor de MS-acquisitie gegeven:

Ion Mode :	ES-
Capillary 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 :	0.20 ml/min
Collision energy:	componentafhankelijk

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

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. 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	119 269	q Q	40 40	20 8	13C-PFHxA	8.72	7.24
PFHpA	363	169 319	q Q	40 40	20 11	13C-PFHxA	12.21	8.75
PFOA	413	169 369	q Q	40 40	17 11	13C-PFOA	14.94	11.81
PFNA	463	169 419	q Q	40 40	17 11	13C-PFNA	17.13	14.48
PFDA	513	219 469	q Q	40 40	20 11	13C-PFDA	18.95	15.69
PFUnDA	563	169 519	q Q	40 40	23 11	13C-PFUnDA	20.5	16.57
PFDODA	613	319 569	q Q	40 40	20 11	13C-PFDODA	21.84	17.27
PFTTrDA	663	319 619	q Q	40 40	23 14	13C-PFDODA	22.97	17.87
PFTeDA	713	319 669	q Q	40 40	20 14	13C-PFTeDA	23.96	18.4
PFHxDA	813	219 769	q Q	40 40	32 14	13C-PFHxDA	25.56	19.24
PFODA	913	219 869	q Q	50 50	29 17	13C-PFHxDA	26.79	19.89
PFBS	299	80 99	Q q	50 50	41 41	13C-PFHxS	5.76	6.84
PFPeS	349	80 99	Q q	50 50	32 30	18O2-PFHxS	9.53	8.09
PFHxS	399	80 99	Q q	50 50	38 32	18O2-PFHxS	12.7	10.4
PFHpS	449	80 99	Q q	50 50	41 36	13C-PFHxS	15.23	13.8
PFOS	499	80 99	Q q	60 60	50 40	13C-PFOS	17.29	15.26
PFNS	549	80 99	Q q	60 60	46 45	13C-PFOS	19.04	16.2
PFDS	599	80 99	Q q	65 65	50 50	13C-PFOS	20.53	16.94
PFDOS	699	80 99	Q q	65 65	49 47	13C-PFOS	22.95	18.11
PFUnDS	649	80 99	Q q	65 65	49 47	13C-PFOS		
PFTTrDS	749	80 99	Q q	65 65	49 47	13C-PFOS		
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	80.7 406.9	q Q	40 40	28 30	13C 6:2 FTS	14.8	10.83
8:2 FTS	527	80.7 506.9	q Q	40 40	32 34	13C 6:2 FTS	18.92	15.44
10:2 FTS	627	80.7 606.9	q Q	40 40	37 30	13C 6:2 FTS	21.87	17.14
PFOSA	498	78 169	Q q	50 50	29 32	13C-PFOSA	19.99	14.67
MePFOSA	512	169 219	Q q	40 40	25 22	D3-MePFOSA	22.64	15.84
EtPFOSA	526	169 219	Q q	50 50	25 25	D3-MePFOSA	23.49	16.69
PFOSAA	556	419 498	q Q	86 86	26 28	D3-MePFOSAA	-	9.61
MePFOSAA	570	419 483	Q q	40 40	19 15	D3-MePFOSAA	19.7	16.05
EtPFOSAA	584	419 526	Q q	40 40	20 20	D3-MePFOSAA	20.44	16.45
6:2 PAP	443	79 97	q Q	28 28	46 18	13C 8:2 PAP	-	6.5
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
DONA	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-PFOSA		
MePFBSA	312	219 65	q Q	40 40	25 22	13C-PFOSA		
MePFBSAA	370	283 312	q Q	86 86	26 28	13C-PFOSA		
PFHxSA	398	78 119	q Q	50 50	29 32	13C-PFOSA		
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-PFOSA	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

komponente #	mode		Parent-ion	Daughter-ion		Retentietijd (min)	dwelltime(s)	span	coneV	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	
PFUnDA	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	
PFTeDA	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-PFOSA
	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-PFOSA	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 per- en polyfluoralkylverbindingen en de interne standaarden worden geïdentificeerd op basis van de criteria voor retentietijden en ionenratio's zoals vermeld in WAC/VI/A/003.

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 PFAS en de overeenkomstige interne standaard wordt voor elke te bepalen PFC PFAS uitgezet ifv 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.

Opmerking:

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

De kalibratie kan op een aantal verschillende manieren gebeuren (voor de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar WAC/VI/A/003) :

- 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 maximum 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 maximum 15% bedragen.

6.4 KWANTIFICATIE

De concentraties in het monster worden vervolgens berekend als volgt:

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

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

Voor de monsterextracten worden de transities 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.

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, PFOA 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, zowel de lineaire als de vertakte vormen gebruikmakend van de MRM-transitie en de RRF-waarde bekomen voor de lineaire vorm.
- Voor PFOA, PFOS en PFOSA worden zowel de lineaire vormen als de som van de lineaire en vertakte vormen bepaald. Deze som wordt gerapporteerd als resp. PFOAtotaal, PFOS totaal en PFOSAtotaal.
- Voor de bepaling van totaal PFAS wordt de som gemaakt van de concentraties van de kwantitatieve PFAS, waarbij het "lower bound" principe toegepast wordt.
- Indien de vertakte PFAS afzonderlijk gerapporteerd dienen te worden dan worden deze berekend als het verschil van het resultaat voor de lineaire en vertakte vormen en het resultaat van de lineaire vorm.

7 KWALITEITSCONTROLES

Voor de kwaliteitseisen ivm kalibratie, procedureblanco, controle op gevoeligheid, controlestaal, driftcontrole en onafhankelijke controlestandaard wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

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 ($100 \times \text{hoogte vallei} / \text{hoogte hoogste piek}$) 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 kleinste meetbare concentratie bepaald, gedefinieerd als:

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

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
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.

7.4 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.

7.5 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:

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

Het terugvindingsrendement is afhankelijk van sorptiefenomenen, signaalsuppressie/versterking door matrixbestanddelen en extractierendement. Voor een verantwoorde kwantificering dient het terugvindingsrendement van de ¹³C-gemerkte fluorverbindingen minimaal 30 % en maximaal 200% te bedragen.

Opmerking:

Als voor een bepaalde interne standaard in praktijk systematisch te hoge of te lage terugvindingen bekomen worden, dan hoeft dit niet als afwijking op het analyserapport vermeld te worden op voorwaarde dat aan de hand van validatiegegevens aangetoond werd dat dit geen negatieve invloed heeft op het resultaat.

7.6 **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 analyseverslag het gehalte van elke component in µg/l of ng/l. Vermeld op het verslag ook eventueel 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~~

~~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)~~