

Bepaling van gebromeerde brandvertragers in bodem en sediment

INHOUD

1	Toepassingsgebied	3
2	Principe	3
3	Apparatuur en materiaal	3
3.1	<i>Apparatuur</i>	3
3.2	<i>Materiaal</i>	4
4	Reagentia en standaarden	4
4.1	<i>Reagentia</i>	4
4.2	<i>Standaarden en standaardoplossingen</i>	5
5	MonsterBEWARING en -VOORBEHANDELING	6
6	ANALYSEPROCEDURE	6
6.1	<i>extractie</i>	6
6.2	<i>Zuivering van het extract</i>	7
7	METING EN BEREKENING	7
7.1	<i>Meting van het GC-extract</i>	7
7.2	<i>Meting van het LC-extract</i>	7
7.3	<i>Identificatie</i>	8
7.4	<i>Kalibratie</i>	8
7.5	<i>Kwantificering</i>	9
8	Kwaliteitscontrole	10
8.1	<i>Gaschromatografische scheiding</i>	10
9	Rapportering	10
10	Referenties	10

1 TOEPASSINGSGEBIED

Deze procedure is nieuw en beschrijft een methode voor de extractie, zuivering en analyse van een aantal gebromeerde brandvertragers (BFR) in bodem en sediment. De volgende verbindingen kunnen met deze methode bepaald worden:

- BDE-28 (2,4,4'-tribroomdifenyl ether)
- BDE-47 (2,2',4,4'-tetrabroomdifenyl ether)
- BDE-66 (2,3',4,4'-tetrabroomdifenyl ether)
- BDE-85 (2,2',3,4,4'-pentabroomdifenyl ether)
- BDE-99 (2,2',4,4',5-pentabroomdifenyl ether)
- BDE-100 (2,2',4,4',6-pentabroomdifenyl ether)
- BDE-153 (2,2',4,4',5,5'-hexabroomdifenyl ether)
- BDE-154 (2,2',4,4',5,6'-hexabroomdifenyl ether)
- BDE-183 (2,2',3,4,4',5',6-heptabroomdifenyl ether)
- BDE-205 (2,3,3',4,4',5,5',6-octabromodifenyl ether)
- BDE-209 (decabroomdifenyl ether)
- α -, β - en γ -HBCDD (hexabroomcyclododecaan)
- TBBP-A (tetrabromobisfenol A)

De BDE-verbindingen worden geanalyseerd met GC-MS/MS; HBCDD en TBBP-A worden geanalyseerd met LC-MS/MS.

2 PRINCIPE

Bodem en sediment worden gedroogd en geëxtraheerd met aceton/hexaan (50/50) d.m.v. soxhletextractie of d.m.v. versnelde solvent extractie (PLE). Het extract wordt gezuiverd door kolomchromatografie met zure silica. De BFR worden geëluëerd met dichloormethaan. Het gezuiverd extract wordt opgesplitst in 2 delen. Het eerste deelextact (in dichloormethaan of hexaan) wordt gebruikt voor de analyse van de BDE's met GC-MS/MS. Het tweede deelextact (in acetonitrile) wordt geanalyseerd met LC-MS/MS voor de overige BFR (HBCDD en TBBP-A).

De kwantificering gebeurt aan de hand van isotoop gemerkte interne standaarden die bij het begin van de staalopwerking toegevoegd worden. Met behulp van een recoverystandaard die vlak voor de instrumentele meting wordt toegevoegd kunnen de recuperatierendementen van de interne standaarden bepaald worden.

3 APPARATUUR EN MATERIAAL

3.1 APPARATUUR

- analytische balans met afleesnauwkeurigheid van 0,1 mg
- bovenweger met afleesnauwkeurigheid van 0,01 g
- eenheid voor indampen onder vacuum of stikstofstroom met regelbaar debiet of met vortex luchtstroom

- GC-MS/MS bestaande uit een capillaire gaschromatograaf met PTV, on-column of split/splitless injector, een autosampler, een tandem quadrapool massaspectrometer.
- fused silica GC-kolom met apolaire stationaire fase, fenylmethylpolysiloxaan of overeenkomstige carboraancopolymer (bvb. HT-5, HT-8, DB5-HT, CP-Sil 8, ...) met maximale kolomlengte van 30 m, maximale filmdikte van 0.1 µm en typische inwendige diameter van 0.22-0.25 mm. Om afbraak van BDE-209 te vermijden is een kolom van 15 meter lengte aanbevolen, bv. een RTX1614 15m x 0.25mm ID x 0.1 µm. Ook geschikt zijn kolommen met een interne diameter van 0.53 mm (vacuum outlet kolommen) zoals bv. CP-Sil 8 Rapid MS; voorwaarde is dat de capillaire inlaat van de MS voldoende is voor de montage van dit type kolom
- een LC-MS/MS bestaande uit een HPLC of UPLC vloeistofchromatograaf met injectie-automaat, vloeistofpomp, gethermostatiseerde kolom en ontgassingseenheid, een tandem quadrapool massaspectrometer met electrospray ionisatiekamer. Alternatief kan gebruik gemaakt worden van een ion trap of een hoge resolutie accurate massa (time-of-flight (TOF) of Fourier Transform) massaspectrometer.
- LC-kolom: bv. Acquity UPLC BEH C18, 1.7µm, 2.1 x 100 mm

3.2 MATERIAAL

- een mortier en stamper (porcelein)
- in geval van soxhletextractie: een soxhletopstelling met extractiehulzen
- in geval van PLE-extractie: PLE-toestel, bv. Dionex ASE 200 accelerated solvent extractor met extractiecellen van 11 tot 33 ml en opvangvials van 40 tot 60 ml
- glazen chromatografiekolommen, interne diameter 10-15 mm, met gefritteerde basis en teflonkraan
- injectiespuiten van bv. 50 - 250 µl voor het doperen van de interne standaarden en recovery-standaard
- gebruikelijk laboratorium glaswerk (erlenmeyers, maatcilinders, pasteurpipetten...)

4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

4.1 REAGENTIA

- n-hexaan of een ander vluchtig alkaan (bvb. isohexaan): p.a.
- aceton: p.a.
- dichloormethaan: p.a.
- acetonitrile: p.a.
- natriumsulfaat (watervrij): p.a.
- diatomeeënaarde: korrelgrootte 0,01-0,04 mm (bv. Merck Celite 545)
- zeezand: met zuur gereinigd en gegloeid (bv. Merck p.a.)
- zwavelzuur (95-97 % p.a.)
- silica: een laag van ongeveer 25 mm silicagel 100 mesh wordt in een schaal verwarmd gedurende minstens 16 u op 130 °C. Voor gebruik laat men de schaal in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen
- zure silica (H₂SO₄ 44%): giet 28 g geactiveerde silica en 22 g geconcentreerd zwavelzuur in een erlenmeyer en schud het geheel tot alle klonters verdwenen zijn; bewaar in een afgesloten recipiënt

4.2 STANDAARDEN EN STANDAARDOPLOSSINGEN

4.2.1 Stock kalibratieoplossingen van natieve BDE's in bv. hexaan, octaan, toluen of een ander geschikt solvent: monocomponent- of mengstockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen. Deze oplossingen bevatten bv. 20 mg/l per component.

Opmerkingen:

- BDE-209 heeft een veel lagere respons dan de overige BDE's. Daarom dient de concentratie van BDE-209 in de standaarden hoger te liggen dan de overige BDE's (typisch een factor 20 tot 50 hoger).
- Broomverbindingen zijn lichtgevoelig; gebruik amberkleurige recipiënten en bewaar de standaardoplossingen in het donker.

4.2.2 Stock kalibratieoplossingen van natieve HBCDD's en TBBP-A in bv. acetonitril of een ander geschikt solvent: monocomponent- of mengstockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen. Deze oplossingen bevatten bv. 20 mg/l per component.

4.2.3 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte BDE's (interne standaarden GC): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt vanuit individuele standaarden en verdund naar een concentratie van bv. 1 mg/l per BDE (behalve ¹³C-BDE-209: bv. 10 tot 25 mg/l). De volgende interne standaarden worden gebruikt:

- ¹³C-BDE-28
- ¹³C-BDE-47
- ¹³C-BDE-99
- ¹³C-BDE-153
- ¹³C-BDE-183
- ¹³C-BDE-209

4.2.4 Standaardoplossingen van isotoop aangerijkte HBCDD's en TBBP-A BDE's (interne standaarden LC): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt vanuit individuele standaarden en verdund naar een concentratie van bv. 1 mg/l per component. De volgende interne standaarden worden gebruikt:

- ¹³C-α-HBCDD
- ¹³C-β-HBCDD
- ¹³C-γ-HBCDD
- ¹³C-TBBP-A

4.2.5 Recoverystandaard (injectiestandaard) voor GC: gebruik hiervoor een verbinding die niet interfereert met de te bepalen verbindingen en die zelf niet geïnterfereerd wordt door matrixcomponenten, bv. ¹³C-PCB-209.

4.2.6 Kalibratiestandaarden GC: maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van natieve BDE's en van de standaardoplossing van isotoop aangerijkte BDE's een reeks verdunningen in hexaan, octaan, toluen of een ander geschikt solvent. De kalibratieoplossingen bevatten oplopende concentraties aan natieve BDE's (bv. van bv. 0.1 tot 100 µg/l, behalve BDE-209: bv. 2 tot 2000 µg/l) en een constante concentratie aan isotoop aangerijkte BDE's (bv. 20 µg/l, behalve ¹³C-BDE-209: bv. 400 µg/l). Voeg aan elke kalibratiestandaard de recoverystandaard toe in een concentratie vergelijkbaar met deze van de interne standaarden.

4.2.7 Kalibratiestandaarden LC: maak uitgaande van de stock kalibratieoplossingen van de natieve HBCDD's en TBBP-A en van de standaardoplossing van isotoop aangerijkte componenten een reeks

verduunningen in acetonitrile met oplopende concentraties aan natieve BFR (bv. van bv. 0.1 tot 100 µg/l) en constante concentraties aan isotoop aangerijkte BFR (bv. 20 µg/l).

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 drogen aan de lucht bij 40°C (tot minimum 50% droge stof), vriesdrogen of chemisch drogen. Chemisch drogen wordt uitgevoerd door een hoeveelheid staal in een mortier te mengen met minstens een gelijke hoeveelheid watervrij natriumsulfaat (in geval van soxhletextractie) of diatomeeënaarde (in geval van PLE).

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE

Werkwijze voor soxhletextractie

- spoel vóór extractie van een monster de soxhletopstelling (inclusief de te gebruiken extractiehuls en glaswolprop) door refluxen van een mengsel aceton/hexaan gedurende minstens een half uur; ledig vervolgens de opstelling en droog de extractiehuls en glaswolprop in een droogstoof
- weeg in de soxhlethuls bv. 5 tot 10 g gedroogd staal af
- voeg met behulp van een injectiespuit een geschikte hoeveelheid van de interne standaard oplossingen toe (4.2.3 en 4.2.4) en laat de interne standaarden ongeveer 15 min inwerken
- breng de huls over in het soxhletapparaat en voeg het extractiesolvent (aceton:hexaan 50:50) toe (ipv hexaan kan ook petroleumether, isohexaan, cyclohexaan of een ander alkaan gebruikt worden)
- extraheer gedurende 16 uur
- damp het extract in onder stikstofstroom tot ongeveer 1 ml met solventwissel naar dichloormethaan

Werkwijze voor PLE-extractie

- breng in de extractiecel een cellulosefiltertje en weeg vervolgens in de extractiecel bv. 5 tot 10 g van het gedroogd staal af
- voeg met behulp van een injectiespuit een geschikte hoeveelheid van de interne standaard oplossingen toe (4.2.3 en 4.2.4) en laat de interne standaarden ongeveer 15 min inwerken.
- vul de extractiecel verder op met zeezand
- sluit de bovenkant van de extractiecel handdicht af met een 'cap'
- voer de extractie uit met onderstaande PLE-instellingen (ipv hexaan kan ook petroleumether, isohexaan, cyclohexaan of een ander alkaan gebruikt worden)

HEAT	5 min	PRESSURE	70-100 bar
STATIC	5 min	TEMPERATURE	100 °C
FLUSH%	60 vol	SOL # 1	aceton 50 %
PURGE	150 sec	SOL # 2	n-hexaan 50 %
CYCLES	1	SOL # 3	- %

- damp het extract in onder stikstofstroom tot ongeveer 1 ml met solventwissel naar dichloormethaan

6.2 ZUIVERING VAN HET EXTRACT

Een glazen chromatografiekolom wordt gevuld met achtereenvolgens 10 g zure silica (H_2SO_4 44%) en 1 cm Na_2SO_4 . De kolom wordt gewassen met 12 ml dichloormethaan (de kolom mag niet droog komen). Vervolgens wordt het extract op de kolom gebracht en worden de BFR geëluëerd met 60 ml dichloormethaan. Het eluaat van de kolomzuivering wordt in 2 gelijke delen gesplitst. Het eerste deel (voor de GC-bepaling van BDE's) wordt onder een stikstofstroom ingedampt tot 1 ml, eventueel met solventwissel naar hexaan. Het tweede deel (voor de LC-bepaling van de HBCDD's en TBBP-A) wordt ingedampt naar 1 ml met solventwissel naar acetonitrile. Aan beide extracten wordt een geschikte hoeveelheid recoverystandaard toegevoegd.

Opmerking:

In geval van zwavelinterferentie wordt de zwavel verwijderd d.m.v. koperpoeder (of koperplaatjes):

- het koperpoeder wordt voor gebruik geactiveerd door een behandeling met verdund salpeterzuur, gevolgd door overvloedig wassen met water en nadien aceton. De aceton wordt verwijderd door droogblazen met stikstof.
- geactiveerd koperpoeder is 2 maanden houdbaar indien bewaard onder een apolair solvent.
- ongeveer 2 g koperpoeder wordt toegevoegd per ml extract en het geheel wordt gedurende 1 minuut geschud. Onmiddellijk hierna wordt met behulp van een wegwerppipet het extract van het koperpoeder gescheiden.

7 METING EN BEREKENING

7.1 METING VAN HET GC-EXTRACT

De extracten en de meetstandaarden worden geanalyseerd met een gaschromatograaf gekoppeld aan een tandem quadrupool massaspectrometer (GC-MS/MS). De scheiding gebeurt op een apolaire korte kolom (zie 3.1). Het is belangrijk de verblijftijd in de kolom kort te houden om afbraak van de BDE te vermijden. De detectie gebeurt in de SRM-mode waarbij specifieke ionentransities geregistreerd worden. Typische GC-MS/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van de BDE's zijn opgenomen in Bijlage 1.

7.2 METING VAN HET LC-EXTRACT

De extracten en de meetstandaarden worden geanalyseerd met een vloeistofchromatograaf (HPLC of UPLC) gekoppeld aan een tandem quadrupool massaspectrometer (LC-MS/MS). De detectie

gebeurt in de MRM-mode waarbij specifieke ionentransities geregistreerd worden. Typische LC-MS/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van de HBCDD's en TBBP-A zijn opgenomen in Bijlage 2.

7.3 IDENTIFICATIE

De aanwezigheid van de BFR in de stalen wordt bevestigd op basis van de criteria voor retentietijden en ionenratio's zoals vermeld in procedure CMA/6/D.

7.4 KALIBRATIE

De kwantitatieve bepaling van de BFR gebeurt volgens de interne standaard-methode. Hierbij wordt elke component gekwantificeerd t.o.v. een bepaalde isotoopgemerkte verbinding die bij het begin van de extractie aan het monster werd toegevoegd.

De kwantificatie 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 de relatieve responsfactor (RRF), bepaald met minstens één kalibratie-oplossing. Deze werkwijze kan gevolgd worden indien de RRFen binnen bepaalde grenzen constant zijn over het meetgebied. De RRF van elke te bepalen verbinding wordt vervolgens bepaald uit de verhouding van de oppervlakten en concentraties van de natieve verbinding en de overeenkomstige interne standaard:

$$RRF_i = \frac{A_i \cdot C_{IS}}{A_{IS} \cdot C_i}$$

met

RRF_i	=	relatieve responsfactor van de broomverbinding i
A_i	=	piekoppervlakte van de broomverbinding i bij injectie van de kalibratie-oplossing
C_i	=	concentratie (in ng/ml) van de broomverbinding i in de kalibratie-oplossing
C_{IS}	=	concentratie (in ng/ml) van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing
A_{IS}	=	piekoppervlakte van de overeenkomstige interne standaard in de kalibratie-oplossing

De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 kalibratie-oplossingen waartussen het staal geïnjecteerd werd.

- aan de hand van 'bracketing'. De kalibratiereeks wordt geïnjecteerd minstens bij het begin en bij het einde van de meetreeks. De berekening van de concentraties in een staal gebeurt aan de hand van de gemiddelde RRF van de 2 injecties van de 2 punten waartussen het staal begrepen is.
- 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. Op de X-as en de Y-as worden de verhoudingen uitgezet van resp. de concentraties en de piekoppervlakten van de natieve component en de overeenkomstige

interne standaard. Vervolgens wordt dmv lineaire regressie de vergelijking van de kalibratierechte berekend.

- 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 te bepalen verbindingen en de overeenkomstige interne standaard. Vervolgens wordt d.m.v. kwadratische curve fitting de vergelijking van de curve berekend.

Opmerking:

Voor de berekening van de terugvinding van de interne standaarden wordt doorgaans de RRF-methode toegepast, waarbij de RRF van een interne standaard bepaald wordt t.o.v. de recovery-standaard met onderstaande formule:

$$RRF_{is} = \frac{A_{is} \cdot C_{RS}}{A_{RS} \cdot C_{is}}$$

met

RRF_{is} = relatieve responsfactor van de interne standaard

A_{is} = piekoppervlakte van de interne standaard bij injectie van de kalibratie-oplossing

C_{is} = concentratie (in ng/ml) van de interne standaard in de kalibratie-oplossing

C_{RS} = concentratie (in ng/ml) van de overeenkomstige recoverystandaard in de kalibratie-oplossing

A_{RS} = piekoppervlakte van de overeenkomstige recoverystandaard bij injectie van de kalibratie-oplossing

7.5 KWANTIFICERING

Voor de monsterextracten worden de transitieën geregistreerd op identieke wijze als hierboven beschreven voor de standaardoplossingen. Van de geïdentificeerde componenten worden de piekoppervlakten behorende bij het meest intense ion berekend. Uitgaande van de integratiewaarden voor het monster en de relatieve responsfactoren of kalibratierechte/curve bepaald voor de kalibratiestandaard worden de gehalten van de verschillende verbindingen in het monster berekend.

De terugvindingen van de interne standaarden worden berekend aan de hand van hun relatieve responsfactor.

Opmerking:

Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied:

- wordt het extract maximum 10 keer verdund en opnieuw gemeten;
- als de terugvinding van de interne standaarden hoger ligt dan 70% mag meer dan 10 keer verdund worden met extra additie van interne standaard;

- alternatief wordt het staal opnieuw opgewerkt met minder staalinname en/of een groter volume van het eindextract.

8 KWALITEITSCONTROLE

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

8.1 GASCHROMATOGRAFISCHE SCHEIDING

De kwaliteit van de GC-kolom kan geverifieerd worden aan de hand van de scheiding van een kritisch paar in het chromatogram van de kalibratie-oplossing. Een voorbeeld van een kritisch paar is BDE-47 en BDE-66. Het gaschromatografisch scheidingspercentage (hoogte vallei / hoogte laagste piek) dient hiervoor kleiner te zijn dan 10% (beide componenten dienen in ongeveer gelijke concentraties aanwezig te zijn in het kalibratiemengsel). De keuze van het kritisch paar en het scheidingscriterium zijn afhankelijk van de gekozen kolom.

Alternatief kan de kolomkwaliteit van een GC- of LC-kolom geverifieerd worden aan de hand van het aantal theoretische platen, berekend op basis van de piekarakteristieken voor een gekozen verbinding in het chromatogram van de kalibratiestandaard. Het aantal platen N_{th} wordt gegeven door :

$$N_{th} = 5.54 * \left(\frac{t_{R_i}}{w_{1/2}} \right)^2$$

Hierbij is t_{R_i} de waargenomen retentietijd voor de verbinding i en $w_{1/2}$ de piekbreedte op halve hoogte, uitgedrukt in dezelfde tijdseenheid.

Om een continue controle te hebben over de kolomkwaliteit is het zinvol de scheidingskarakteristieken uit te zetten in een controlekaart.

9 RAPPORTERING

Vermeld in het analyseverslag het gehalte van elke component in $\mu\text{g/kg ds}$.

10 REFERENTIES

ISO/DIS 22032:2004 Water quality – Determination of selected polybrominated diphenyl ethers in sediment and sewage sludge – method using extraction and gas chromatography/mass spectrometry

EPA 1614: Brominated diphenyl ethers in water, soil, sediment and tissue by HRGC-HRMS, draft 2003

Bijlage 1: Typische GC-MS/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van de BDE's

Kolom: bv. Rtx-1614, 15 m x 0.25 mm x 0.1 µm

Voorkolom (optioneel): bv. Siltek deactivated guard kolom 2 m x 0.53 mm

Draaggas en druk : Helium, constant flow 1.3 ml/min

Injectie :

Modus : splitless
 Injectietemperatuur : 250 °C
 Injectievolume : 1 µl

GC-oven programmatie :

60 °C (hold 1 min) → 320°C (20°C/min, hold 3.5 min)

MS-instellingen:

Transfer line temperatuur: 310 °C
 Brontemperatuur : 250 °C
 EI energie: 70 eV
 Emission current: 50 µA
 Collision gas pressure: 1.3 mTorr

SRM-transities:

De onderstaande ionentransities worden geregistreerd. Tegelijk zijn typische retentietijden van de BFR 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.

Component	Moederion (m/z)	Dochterionen (m/z)	(Q/q)	Collision Energy (V)	IS	RT (min)
BDE-28	406	246	Q	30	¹³ C BDE-28	6.21
	408	248	q	30		
BDE-47	486	326	Q	30	¹³ C BDE-47	7.29
	484	324	q	30		
BDE-66	486	326	Q	30	¹³ C BDE-99	7.43
	484	324	q	30		
BDE-99	564	404	Q	30	¹³ C BDE-99	8.06
	566	406	Q	30		
BDE-100	564	404	Q	30	¹³ C BDE-99	8.27
	566	406	Q	30		
BDE-85	564	404	Q	30	¹³ C BDE-99	8.66
	566	406	q	30		
BDE-154	644	484	Q	30	¹³ C BDE-153	8.87
	646	486	q	30		

BDE-153	644	484	Q	30	¹³ C BDE-153	9.16
	646	486	q	30		
BDE-183	723	564	Q	30	¹³ C BDE-183	9.98
	721	562	q	30		
BDE-205	799	482	Q	40	¹³ C BDE-209	11.26
	644	484	q	40		
BDE-209	800	640	Q	40	¹³ C BDE-209	13.58
	802	642	q	40		
Interne standaarden						
¹³ C BDE-28	418	258	Q	30	¹³ C PCB-209	6.22
	420	260	q	30		
¹³ C BDE-47	498	338	Q	30	¹³ C PCB-209	7.30
	496	336	q	30		
¹³ C BDE-99	576	416	Q	30	¹³ C PCB-209	8.28
	578	418	q	30		
¹³ C BDE-153	656	496	Q	30	¹³ C PCB-209	9.17
	654	494	q	30		
¹³ C BDE-183	733	574	Q	40	¹³ C PCB-209	9.99
	733	576	q	40		
¹³ C BDE-209	812	652	Q	40	¹³ C PCB-209	13.58
	814	654	q	40		
Recoverystandaard						
¹³ C PCB-209	510	440	Q	30	-	8.62
	512	442	q	30		

Opmerking:

BDE-183 en BDE-205 kunnen ook in SIM-modus gemeten worden met onderstaande instellingen

BDE-183	562	562	Q	2	¹³ C BDE-183	9.98
	564	564	q	2		
BDE-205	644	644	Q	2	¹³ C BDE-209	11.26
	642	642	q	2		
¹³ C BDE-183	574	574	Q	2	¹³ C PCB-209	9.99
	576	576	q	2		

Bijlage 2: Typische LC-MS/MS werkvoorwaarden voor de bepaling van de BFR

UPLC-kolom bv. Acquity UPLC BEH C18, 1.7µm, 2.1 x 100 mm

UPLC-instellingen

mobile fase: A = 95/5 water/ACN + 0.1% Acetic acid
 B = 95/5 ACN/water + 0.1% Acetic acid

debiet: 0.3 ml/min

kolomtemperatuur: 40 °C

injectievolume: 5 µl

gradiënt:

Tijd	A%	B%
min	%	%
0	70	30
1.5	70	30
3.0	1.0	99.0
6.20	1.0	99.0
7.0	70	30
10	70	30

MS-instellingen zijn

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

Ion Mode :	ES-
Capillary Voltage :	1kV
Cone Voltage :	componentafhankelijk
Source Offset :	30 V
Desolvation Temperature :	400 °C
Source Temperature :	150 °C
Desolvation :	800 L/Hr
Cone :	150 L/Hr
Nebuliser :	7 Bar
Ion Energy1 :	0.9
Ion Energy2 :	1.1
Collision gas flow :	0.20 ml/min
Collision energy:	componentafhankelijk

De onderstaande ionentransities worden geregistreerd. Tegelijk zijn typische UPLC retentietijden van de BFR 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.

Component	Moederion (m/z)	Dochterion (m/z)	(Q/q)	Cone (V)	Collision (V)	IS	RT (min)
α-HBCDD	640.65	79.0	Q	10	15	13C- α-HBCDD	5.47
	640.65	81.0	q	10	15		
β-HBCDD	640.40	79.0	Q	24	19	13C- β -HBCDD	5.58
	640.40	81.0	q	24	19		
γ -HBCDD	640.40	79.0	Q	24	19	13C- γ -HBCDD	5.94
	640.40	81.0	q	24	19		
TBBP-A	542.7	79	Q	25	60	13C- TBBPA	4.92
	542.7	81	q	25	60		
Interne standaarden							
13C-α-HBCDD	652.5	79	Q	15	30		5.47
	652.5	81	q	15	30		
13C-β-HBCDD	652.5	79	Q	15	30		5.59
	652.5	81	q	15	30		
13C-γ -HBCDD	652.5	79	Q	15	30		5.93
	652.5	81	q	15	30		
13C-TBBPA	554.4	79	Q	25	70		4.92
	554.4	81	q	25	70		