

## Per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS) in bodemverbeterende middelen

---

**INHOUD**

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| <b>1</b>  | <b>Doel en toepassingsgebied</b>                             | <b>3</b>  |
| <b>2</b>  | <b>Principe</b>  | <b>5</b>  |
| <b>3</b>  | <b>Apparatuur en materiaal</b>                               | <b>5</b>  |
| <b>4</b>  | <b>Reagentia en standaarden</b>                              | <b>5</b>  |
| <b>5</b>  | <b>Monsterbewaring en -voorbehandeling</b>                   | <b>7</b>  |
| <b>6</b>  | <b>Analyseprocedure</b>                                      | <b>7</b>  |
| 6.1       | <i>Extractie</i>   | 7         |
| 6.2       | <i>LC-MS/MS analyse</i>                                      | 8         |
| 6.2.1     | LC-condities   | 8         |
| 6.2.2     | MS-condities   | 9         |
| 6.2.3     | Identificatie en integratie                                  | 12        |
| 6.2.4     | Kalibratie   | 12        |
| <b>7</b>  | <b>Berekeningen</b>  | <b>13</b> |
| <b>8</b>  | <b>Kwaliteitscontrole</b>                                    | <b>14</b> |
| 8.1       | <i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i> | 15        |
| <b>9</b>  | <b>Prestatiekenmerken</b>                                    | <b>15</b> |
| <b>10</b> | <b>Referenties</b>   | <b>15</b> |

## 1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure **vervangt CMA/3/O van juni 2024** en beschrijft de kwantitatieve bepaling van per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS) in bodemverbeterende middelen (BVM) met behulp van vloeistofchromatografie. De methode kan ook gebruikt worden voor de bepaling van PFAS in organische afvalstoffen.

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), perfluoralkaansulfonzuren (bv. PFOS), perfluoralkaanamides (bv. PFOSA) en fluortelomeerverbindingen (bv. 6:2 FTS).

Deze methode beschrijft de extractie en analyse van volgende verbindingen:

Tabel 1: kwantitatieve PFAS

| 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-tridecaanzuur              | PFTTrDA   | 72629-94-8  |
| 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-octaansulfonamide          | PFOSA     | 754-91-6    |
| N-methylperfluor-n-octaansulfonamide  | MePFOSA   | 31506-32-8  |
| 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  |
| 4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur       | DONA      | 919005-14-4 |
| perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur | PFECHS    | 646-83-3    |
| perfluor-n-hexaansulfonamide          | PFHxSA    | 41997-13-1  |

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.

Tabel 2: indicatieve PFAS

| PFAS   | Afkorting     | CAS nr      |
|--|---------------|-------------|
| perfluor-n-octadecaanzuur                        | PFODA         | 16517-11-6  |
| perfluor-n-decaansulfonzuur                      | PFDS          | 335-77-3    |
| perfluor-n-dodecaansulfonzuur                    | PFDoDS        | 79780-39-5  |
| 10:2 fluortelomeersulfonzuur                     | 10:2 FTS      | 120226-60-0 |
| perfluor-2-propoxypropaanzuur                    | HFPO-DA       | 13252-13-6  |
| 6:2 fluortelomeerfosfaat diester                 | 6:2 diPAP     | 57677-95-9  |
| 8:2 fluortelomeerfosfaat diester                 | 8:2 diPAP     | 678-41-1    |
| 6:2/8:2 fluortelomeerfosfaat diester             | 6:2/8:2 diPAP | 943913-15-3 |
| perfluor-n-butaansulfonamide                     | PFBSA         | 30334-69-1  |
| N-methylperfluor-n-butaansulfonamide             | MePFBSA       | 68298-12-4  |
| N-methylperfluor-n-butaansulfonylamide azijnzuur | MePFBSAA      | 159381-10-9 |
| N-ethylperfluor-n-octaansulfonamide              | EtPFOSA       | 4151-50-2   |
| N-methylperfluor-n-octaansulfonamidoazijnzuur    | MePFOSAA      | 2355-31-9   |
| N-ethylperfluor-n-octaansulfonamidoazijnzuur     | EtPFOSAA      | 2991-50-6   |
| perfluor-n-undecaansulfonzuur                    | PFUnDS        | 749786-16-1 |
| perfluor-n-tridecaansulfonzuur                   | PFTrDS        | 791563-89-8 |

*Opmerkingen:*

- Van de meeste PFAS komt uitsluitend de lineaire vorm voor; de beschikbare standaarden zijn ook lineair. Van een aantal perfluorverbindingen (PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS) kunnen ook vertakte vormen teruggevonden worden. In deze procedure worden voor PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS zowel de lineaire vormen als het totaal van de lineaire en vertakte vormen bepaald. Het totaal van de lineaire en vertakte vormen wordt gerapporteerd als resp. PFOAtotaal, PFOSStotaal, PFOSAtotaal, MePFOSAtotaal, EtPFOSAtotaal en PFHxStotaal.
- Stalen met minder dan 2% droge stof worden behandeld als een waterstaal. De analyse wordt uitgevoerd volgens WAC/IV/A/025 en de resultaten worden uitgedrukt in ng/l staal.

## 2 PRINCIPE

Stalen met een droge stof gehalte van minder dan 2% worden behandeld als een afvalwaterstaal. De overige stalen worden vooraf overnacht gedroogd bij 40 °C en aan het gedroogd staal wordt een hoeveelheid water toegevoegd (de hoeveelheid is afhankelijk van het droge stof gehalte van het staal na drogen). Er worden interne standaarden (IS) toegevoegd en het staal wordt geëxtraheerd door te schudden met acetonitrile (ACN). Na uitzouten wordt een deel van de organische fase afgezonderd en gezuiverd door middel van dispersieve vaste fase extractie (Quechers). Als adsorbentia wordt een combinatie van primair secundair amine met C18 gebruikt. Een deel van het gezuiverd extract wordt aangelengd met methanol en gemeten met LC-MS/MS.

## 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 Glasvezelfilters (bv. Pall Glass Acrodisc 1 µm)
- 3.9 Meetvials van 1,5 ml
- 3.10 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
- 3.11 HPLC of UPLC-kolom, bv. Waters Acquity UPLC BEH C18 1.7µm kolom, 2.1x100 mm

*Opmerking:*

Van PFECHS komen 2 isomeren voor (cis- en trans-), die op een C18-kolom niet gescheiden zijn. Er zijn echter kolomfases waarop deze wel gescheiden zijn. In beide gevallen wordt onder PFECHS het totaal van de 2 isomeren verstaan.

- 3.12 Ultrasoonbad
- 3.13 SPE vacuum- of drukeenheid

## 4 REAGENTIA EN STANDAARDEN

- 4.1 Methanol, acetonitrile, isopropanol: residukwaliteit
- 4.2 Water: ultrapuur (Milli-Q)
- 4.3 Methylpiperidine: p.a.
- 4.4 Ammoniak 25% p.a.

- 4.5 Quechers zoutmengsel: meng 1 g NaCl met 4 g MgSO<sub>4</sub>; dit mengsel is ook klaargemaakt beschikbaar in de handel (bv. Agilent 5982-7550,... )
- 4.6 Quechers dSPE mengsel: meng 25 mg primary secondary amine (PSA) met 25 mg C18EC (end capped); dit mengsel is ook beschikbaar in de handel (bv. Agilent 5982-5121, Thermo 60105-220, Restek 26216,... )
- 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-[1,2,3,4-13C1]-butaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFBA      |
| perfluor-n-[13C5]-pentaanzuur   | <sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFPeA     |
| perfluor-n-[1,2-13C2]-hexaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFHxA     |
| perfluor-n-[1,2,3,4-13C4]-octaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOA      |
| perfluor-n-[1,2,3,4,5-13C5]-nonaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFNA      |
| perfluor-n-[1,2-13C2]-decaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFDA      |
| Perfluor-n-[1,2-13C2]-undecaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PUnDA     |
| perfluor-n-[1,2-13C2]-dodecaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFDoDA    |
| perfluor-n-[1,2-13C2]-tetradecaanzuur   | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFTeDA    |
| perfluor-n-[1,2-13C2]-hexadecaanzuur  | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFHxDA    |
| perfluor-n-hexaan[18O <sub>2</sub> ]sulfonyl  | <sup>18</sup> O <sub>2</sub> -PFHxS     |
| perfluor-n-[1,2,3,4-13C4]-octaansulfonaat   | <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOS      |
| Natrium-1H,1H,2H,2H-perfluor-1-[1,2-13C2]-n-octaansulfonaat                         | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -6:2FTS    |
| perfluor-1-[13C8]-n-octaansulfonamide   | <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOSA     |
| N-methyl-d <sub>3</sub> -perfluor-n-octaansulfonamide                               | D <sub>3</sub> -MePFOSA                 |
| N-methyl-d <sub>3</sub> -perfluor-n-octaansulfonamidoazijnzuur                      | D <sub>3</sub> -MePFOSAA                |
| natrium bis(1H,1H,2H,2H-[1,2-13C2]perfluordecyl)fosfaat                             | <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -8:2 diPAP |
| 2,3,3,3-Tetrafluor-2-(1,1,2,2,3,3,3-heptafluorpropoxy)-13C <sub>3</sub> -propanzuur | <sup>13</sup> C <sub>3</sub> -HFPO-DA   |

Opm. :

- Van sommige isotoop gemerkte verbindingen zijn ook varianten beschikbaar (bv. <sup>13</sup>C<sub>3</sub>-PFHxS, <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS,...)
- Voor de kwantificering van PFDoDS en 10:2 FTS dienen verplicht respectievelijk <sup>13</sup>C-PFOS en <sup>13</sup>C-10:2 FTS als interne standaard gebruikt te worden
- <sup>13</sup>C<sub>3</sub>-HFPO-DA is mogelijk niet stabiel in acetonitrile en oplossingen worden beter aangemaakt in methanol

- 4.10 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. 0.05 tot 50 µg/l en constante concentraties aan isotoop aangerijkte PFAS van bv. 4 µg/l; deze oplossingen worden bij elke meetreeks opnieuw aangemaakt
- 4.11 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard 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.

*Opmerking:*

- Het staal wordt gedroogd bij 40 °C (overnacht, of langer indien nodig, bv. voor zeer natte stalen) alvorens de extractie uit te voeren. Na droging bij 40 °C dient het monster vermalen te worden tot op 0.5 mm.
- Om de staalinname te bepalen (§6.1) dient het droge stof gehalte van het hierboven gedroogd monster bepaald te worden bij 105°C conform CMA/2/II/A.1. Dit droge stof gehalte wordt ook gebruikt om de staalinname (§6.1) om te rekenen naar g droge stof bij de berekening van de resultaten.
- Contact met teflon of andere fluorhoudende polymeren dient vermeden te worden

## 6 ANALYSEPROCEDURE

### 6.1 EXTRACTIE

- weeg 2 tot 20 g van het bij 40°C gedroogd staal in een PP-buis van 50 ml en voeg ultrapuur water toe. De staalinname en de hoeveelheid water is afhankelijk van het gehalte droge stof van het gedroogd staal:
  - o stalen met DS van 2% tot 5%: 10 g staalinname, geen water toevoegen
  - o stalen met DS van 5% tot 20%: 8 g staalinname, 5 ml water toevoegen
  - o stalen met DS van 20% tot 50%: 4 g staalinname, 8 ml water toevoegen
  - o stalen met DS >50 %: 2 g staalinname, 10 ml water toevoegen
- voeg **na de additie van water** de IS toe en laat 15 min equilibreren
- voeg 10 ml ACN toe en schud hevig gedurende 1 min
- vortex gedurende 30 sec
- voeg het zoutmengsel toe ( 1 g NaCl + 4 g MgSO<sub>4</sub>)
- schud gedurende 1 min
- vortex gedurende 30 sec
- centrifugeer 5 min bij 3500 tr/min
- neem ongeveer 1.5 ml van de bovenstaande fase af en breng over naar een PP-centrifugebuisje dat de dSPE adsorbentia bevat (PSA en C18EC). Indien nodig kan het extract ingedampt worden onder een N<sub>2</sub>-stroom bij 40 °C alvorens toe te voegen aan de dSPE adsorbentia.
- schud hevig gedurende 5 min
- centrifugeer 5 min bij 8000 tr/min
- damp de bovenstaande fase in bij 40-45°C (niet laten droog dampen)
- neem het residu op in 0.5 ml MeOH en vortex gedurende 30 sec
- voeg 0.5 ml ultrapuur water toe en vortex gedurende 30 sec

*Opmerking:*

*stalen met een DS gehalte lager dan 2% worden behandeld als een afvalwaterstaal: na homogeniseren (dmv een mixer) wordt een deelstaal genomen dat 1:1 gemengd wordt met methanol. Het deelstaal wordt voor analyse 5 keer verdund. De analyse gebeurt zoals beschreven in WAC/IV/A/025 voor afvalwater (50 ml staalinname). Stalen die verstopping van de SPE-kolom veroorzaken mogen ook dmv directe injectie geanalyseerd worden.*

## 6.2 LC-MS/MS ANALYSE

*Opm.:* De houdbaarheid van preparaten bedraagt, bij bewaring in de koelkast, 1 maand. Preparaten die in de koelkast hebben gestaan dienen grondig gevortex te worden vooraleer deze in de injectieautomaat te plaatsen.

### 6.2.1 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 + NH<sub>3</sub> (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<sup>-</sup>).

Typische instellingen voor de MS-acquisitie zijn hieronder voor een Waters Xevo TQ-S gegeven:

|                           |                      |
|---------------------------|----------------------|
| Ion Mode :                | ES <sup>-</sup>      |
| 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.

Tabel 3: ionentransities van de PFAS

| Compound | Parent (m/z) | Daughter (m/z) | (Q/q) | Cone (V) | Collision (V) | IS          | Rt NH <sub>4</sub> Ac (min) | Rt NH <sub>3</sub> (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            |             |                             |                          |
| PFTrDA   | 663          | 319            | q     | 40       | 23            | 13C-PFDoDA  | 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            |             |                             |                          |
| 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-10:2FTS   | 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     | 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    | 185    | Q  | 7  | 18 | 13C HFPO-DA   | 9.7   | 7.64  |
|               |        | 169    | q  | 7  | 14 |               |       |       |
| DONA          | 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 |               |       |       |
| PFBSA         | 298    | 78     | q  | 50 | 29 | 13C-PFOSA     |       |       |
|               |        | 64     | Q  | 50 | 32 |               |       |       |
| MePFBSA       | 312    | 219    | q  | 40 | 25 | 13C-PFOSA     |       |       |
|               |        | 65     | Q  | 40 | 22 |               |       |       |
| MePFBSAA      | 370    | 283    | q  | 86 | 26 | 13C-PFOSA     |       |       |
|               |        | 312    | Q  | 86 | 28 |               |       |       |
| PFHxSA        | 398    | 78     | q  | 50 | 29 | 13C-PFOSA     |       |       |
|               |        | 119    | Q  | 50 | 32 |               |       |       |
| 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

### 6.2.3 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.

### 6.2.4 KALIBRATIE

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

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. Voor stalen met minder dan 2% droge stof worden de concentraties uitgedrukt in ng/l.

### Opmerkingen:

- Bij overschrijding van de bovenste grens van het werkgebied:
  - o wordt het extract maximum 10 keer verdund en opnieuw gemeten;
  - o als de terugvinding van de interne standaarden hoger ligt dan 70% mag meer dan 10 keer verdund worden met extra additie van interne standaard;
  - o alternatief wordt het staal opnieuw opgewerkt met minder staalinname en/of meer extractiesolvent.
- Voor de rapportering van de “som van gemeten kwantitatieve PFAS” wordt de “lower bound” som gemaakt van de kwantitatieve PFAS (zie tabel 1)
- Voor de rapportering van de “som van gemeten indicatieve PFAS” wordt de “lower bound” som gemaakt van de indicatieve PFAS (zie tabel 2)
- Voor PFOS, PFOA, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS 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 PFOA, PFOS, PFOSA, MePFOSA, EtPFOSA en PFHxS worden zowel de lineaire vormen als het totaal van de lineaire en vertakte vormen bepaald. Het totaal van de lineaire en vertakte vormen wordt gerapporteerd als resp. PFOAtotaal, PFOSStotaal, PFOSAtotaal, MePFOSAtotaal, EtPFOSAtotaal en PFHxStotaal.
- 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.
- Voor stalen met minder dan 2% droge stof worden de concentraties uitgedrukt in ng/l; de rapportagegrens bedraagt ten hoogste 100 ng/l per component. De rapportagegrenzen voor de kwantitatieve PFAS in stalen met een droge stof gehalte van 2% tot 100% mogen niet hoger liggen dan deze in onderstaande tabel. Voor de indicatieve PFAS geldt een bepalingsgrens van ten hoogste 4 µg/kg ds.

|               | Rapportagegrens<br>µg/kg ds |
|---------------|-----------------------------|
| PFBA          | 3                           |
| PFPeA         | 3                           |
| PFHxA         | 2                           |
| PFHpA         | 2                           |
| PFOA          | 2                           |
| PFNA          | 1                           |
| PFDA          | 1                           |
| PFUnDA        | 1                           |
| PFDoDA        | 1                           |
| PFTTrDA       | 1                           |
| PFTeDA        | 1                           |
| PFHxDA        | 2                           |
| PFBS          | 1                           |
| PFPeS         | 1                           |
| PFHxS         | 1                           |
| PFHpS         | 1                           |
| PFOS          | 3                           |
| PFNS          | 1                           |
| 4:2 FTS       | 1                           |
| 6:2 FTS       | 3                           |
| 8:2 FTS       | 1                           |
| PFOSA         | 1                           |
| MePFOSA       | 1                           |
| DONA          | 1                           |
| PFECHS        | 1                           |
| PFHxSA        | 3                           |
| PFOAtotaal    | 2                           |
| PFOSStotaal   | 3                           |
| PFOSAtotaal   | 1                           |
| MePFOSAtotaal | 1                           |
| EtPFOSAtotaal | 3                           |
| PFHxStotaal   | 1                           |

## 8 KWALITEITSCONTROLE

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

### Opmerking:

De procedureblanco dient de volledige monstervoorbehandeling en opwerking te doorlopen, inclusief het drogen, verkleinen en homogeniseren van het staal.

### 8.1 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 native 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 native verbinding). De terugvinding wordt gegeven door:

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

Het terugvindingsrendement is afhankelijk van sorptiefenomenen, signaalsuppressie/versterking door matrixbestanddelen en extractie/clean up rendement. Voor een verantwoorde kwantificering dient het terugvindingsrendement van de  $^{13}\text{C}$  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.

## 9 PRESTATIEKENMERKEN

Voor de prestatiekenmerken wordt verwezen naar CMA deel 6.

## 10 REFERENTIES

- Determination of 16 Per and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Processed Food using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS), Susan Genualdi and Lowri deJager, FDA Foods Program Compendium of Analytical Laboratory Methods (2021)
- Method Development and Validation of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Foods from FDA's Total Diet Study Program, Susan Genualdi et al., J. Agric. Food Chem. 2021, 69, 5599–5606
- 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)