

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

INHOUD

1	Doel en toepassingsgebied	3
2	Principe	5
3	Materiaal	6
4	Reagentia en standaarden	6
5	Monsterbewaring	8
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	14
6.3	<i>Kalibratie</i>	14
6.4	<i>Kwantificatie</i>	14
7	Kwaliteitscontroles	15
7.1	<i>Chromatografische scheiding</i>	15
7.2	<i>Terugvinding van de isotoopgemerkte fluorverbindingen</i>	16
8	Rapportering	16
9	Referenties	16

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De hieronder beschreven analysemethode vervangt de procedure WAC/IV/A/025 van mei 2025 en wordt gebruikt voor het bepalen van per- en polyfluoralkylverbindingen (PFAS):

- in drink-, grond- en oppervlaktewater
- in afvalwater

en is gericht op de kwantificering van volgende componenten:

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	PFTDA	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-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
10:2 fluortelomeersulfonzuur	10:2 FTS	120226-60-0
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-propoxypropanzuur	HFPO-DA	13252-13-6
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur	DONA	919005-14-4
perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur	PFECHS	646-83-3
perfluor-n-butaansulfonamide	PFBSA	30334-69-1
N-methylperfluor-n-butaansulfonamide	MePFBSA	68298-12-4

N-methylperfluor-n-butaansulfonylamide azijnzuur	MePFBSAA	159381-10-9
perfluor-n-hexaansulfonamide	PFHxSA	41997-13-1

* in DW, GW en OW

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

Tabel 2: indicatieve PFAS

PFAS	Afkorting	CAS nr
perfluor-n-tridecaanzuur	PFTrDA	72629-94-8
perfluor-n-octadecaanzuur	PFODA	16517-11-6
perfluor-n-dodecaansulfonzuur	PFDoDS	79780-39-5
perfluor-n-undecaansulfonzuur	PFUnDS	749786-16-1
perfluor-n-tridecaansulfonzuur	PFTTrDS	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
3-perfluoropentyl propaanzuur (5:3)	5:3FTCA	914637-49-3
2-perfluorhexyl azijnzuur (6:2)	6:2FTCA*	53826-12-3
3-perfluorheptyl propaanzuur (7:3)	7:3FTCA	812-70-4
2-perfluoroctyl azijnzuur (8:2)	8:2FTCA	27854-31-5
3-perfluorpropyl propaanzuur (3:3)	3:3FTCA	356-02-5
2H-perfluor-2-octeenzuur (6:2)	6:2FTUCA	70887-88-6
2H-perfluor-2-deceenzuur (8:2)	8:2FTUCA	70887-84-2
6:2 fluortelomeer sulfonamide alkylbetaine	6:2FTAB	34455-29-3
bisfenol AF	BPAF	1478-61-1
7H-dodecafluorheptaanzuur	7H-PFHpA	1546-95-8
perfluor-3-methoxypropaanzuur	PFMPA	377-73-1

* in AW

- Van de meeste perfluorverbindingen 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, die al dan niet afhankelijk van regelgeving en aard van het water mee gekwantificeerd wordt (zie 6.4). 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, gerapporteerd als respectievelijk PFOAtotaal, PFOS-totaal, PFOSAtotaal, MePFOSAtotaal, EtPFOSAtotaal en PFHxStotaal, kan bepaald worden vanaf 10 ng/l voor drink-, grond- en oppervlaktewater en 20 ng/l voor afvalwater.

- Met deze methode kunnen ook andere weinig voorkomende PFAS gemeten worden. Deze "optionele" PFAS worden niet routinematig gemeten. Het gaat om volgende optionele PFAS:

N-2-hydroxyethyl, N-methyl-, 1,1,2,2,3,3,4,4,4-nonafluoro-1-butanefosfonamide	MePFBS	34454-97-2
9-chloorhexadecafluor-3-oxanonaansulfonzuur	9Cl-PF3ONS	756426-58-1
11-chloorperfluor-3-oxaundecaansulfonzuur	11Cl-PF3OUnDS	763051-92-9
perfluor-3,7-dimethyloctaanzuur	P37DMOA	172155-07-6
2-perfluordecyl azijnzuur (10:2)	10:2FTCA	53826-13-4
2H-perfluor-2-dodeceenzuur (10:2)	10:2FTUCA	70887-94-4
perfluor-4-methoxybutaanzuur	PFMBA	863090-89-5
perfluor-3,6-dioxaheptaanzuur	NFDHpA	151772-58-6
perfluor(2-ethoxyethaan)sulfonzuur	PFEESA	113507-82-7
perfluorhexylfosfonzuur	PFHxPA	40143-76-8
perfluorooctylfosfonzuur	PFOPA	40143-78-0
perfluordecylfosfonzuur	PFDPA	52299-26-0
bis(perfluorhexyl)fosfinzuur	6:6PFPI	40143-77-9
perfluorhexylperfluorooctylfosfinzuur	6:8PFPI	610800-34-5
bis(perfluorooctyl)fosfinzuur	8:8PFPI	40143-79-1
perfluordecaansulfonamide	PFDSA	4262-70-8

De optionele PFAS-verbindingen kunnen bepaald worden vanaf een concentratie van 10 ng/l voor drink-, grond- en oppervlaktewater en 20 ng/l voor afvalwater, met uitzondering van MePFBS (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 ingedampd. 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:

- Afhankelijk van de aard van de monsters, de toestelgevoeligheid en de gewenste rapportagelimiten, kan de meting rechtstreeks gebeuren zonder voorafgaandelijke opwerking.
- 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
Opmerking: 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
Opmerking: 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*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.

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 Ammoniak/methanol oplossing: 0,4 ml van een 25 % NH₃-oplossing in 99,6 ml methanol
- 4.6 Stock kalibratieoplossingen van natieve PFAS in methanol: monocomponent stockoplossingen, aangekocht of zelf aangemaakt vanuit de zuivere stoffen
- 4.7 Stock controlestandaard van natieve PFAS: dit is een onafhankelijke mengstandaard in methanol
- 4.8 Standaardoplossing van isotoop aangerijkte PFAS (inwendige standaarden): deze wordt als mengstandaardoplossing aangekocht of aangemaakt mbv individuele standaarden in een

concentratie van bv. 400 µg/l. De volgende isotoopgemerkte PFAS worden minimaal gebruikt :

Perfluor-n-[1,2,3,4- ¹³ C ₁]-butaanzuur	¹³ C ₄ -PFBA
Perfluor-n-[¹³ C ₅]-pentaanzuur	¹³ C ₅ -PFPeA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-hexaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxA
Perfluor -n-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-octaanzuur	¹³ C ₄ -PFOA
Perfluor-n-[1,2,3,4,5- ¹³ C ₅]-nonaanzuur	¹³ C ₅ -PFNA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-decaanzuur	¹³ C ₂ -PFDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-undecaanzuur	¹³ C ₂ -PUnDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-dodecaanzuur	¹³ C ₂ -PFDoDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-tetradecaanzuur	¹³ C ₂ -PFTeDA
Perfluor-n-[1,2- ¹³ C ₂]-hexadecaanzuur	¹³ C ₂ -PFHxDA
Perfluor-1-hexaan[¹⁸ O ₂]sulfonaat	¹⁸ O ₂ -PFHxS
Perfluor-1-[1,2,3,4- ¹³ C ₄]-octaansulfonaat	¹³ C ₄ -PFOS
Natrium 1H,1H,2H,2H-perfluor-1-[1,2- ¹³ C ₂]-octaansulfonaat	¹³ C ₂ -6:2FTS
Perfluor-1-[¹³ C ₈]-octaansulfonamide	¹³ C ₈ -PFOSA
N-methyl-d ₃ -perfluor-1-octaansulfonamide	D ₃ -MePFOSA
N-methyl-d ₃ -perfluor-1-octaansulfonamidoazijnzuur	D ₃ -MePFOSAA
Natrium bis(1H,1H,2H,2H-[1,2- ¹³ C ₂]perfluordecyl)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
d ₄ -10:2 fluortelomeersulfonzuur	D ₄ -10:2 FTS

Opmerkingen :

- van sommige isotoop gemerkte verbindingen zijn ook varianten beschikbaar (bv. ¹³C₃-PFHxS, ¹³C₈-PFOS, ¹³C-10:2FTS,...). Deze varianten mogen ook gebruikt worden in plaats van bovenstaande.
- ¹³C₃-HFPO-DA is mogelijk niet stabiel in acetonitrile en oplossingen worden beter aangemaakt in methanol

- 4.9 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
- 4.10 QC standaarden: uitgaande van de stock controlestandaard worden ~~twee~~ QC standaarden in 1/1 methanol/water aangemaakt op één of meer concentratieniveaus
- 4.16 PFOS standaard voor de controle van de chromatografische scheiding: uitgaande van technische PFOS wordt een oplossing van 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 (bv. 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.
- De staalnamerecipiënten dienen bij in gebruikname van een nieuwe batch gecontroleerd te worden op contaminatie met PFAS.
- Lage terugvindingen van de interne standaarden (vooral van de kortere ketens zoals PFBA) kunnen verbeterd worden door het waterstaal voor analyse aan te zuren, bv. naar pH 3.

6 ANALYSEPROCEDURE

6.1 EXTRACTIE

- 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 bij 40 – 65 °C tot 500 µl; laat het extract daarbij niet droggdampen; (voeg eventueel een keeper toe, bv. 50 µl DMF);
- 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.

Opmerkingen:

- De terugvindingen van de IS van MePFOSAA, EtPFOSAA en de diPAP liggen soms te laag. De terugvindingen kunnen verhoogd worden door het watergehalte van de meetextracten te beperken. De beste resultaten worden bekomen bij meetextracten met minder dan 25% water (dus minimum 75% methanol).
- Verstopping van de SPE kolom door zwevende deeltjes in het staal kan meestal voorkomen worden door een laagje zilverzand of glaswol aan te brengen boven op de SPE-kolom. Als dit niet helpt mag het staal gecentrifugeerd worden. Het residu na centrifugatie (de "pellet") dient apart geëxtraheerd te worden door twee keer te soniceren met methanol en de methanolextracten te gebruiken bij de elutie van de SPE-kolom.

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: 0.3 ml/min
- kolomtemperatuur: 40°C
- injectievolume: 10 µl
- gradiënt:

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.

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 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

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.

Tabel 3: ionentransities van de PFAS

Compound	Parent (m/z)	Daughter (m/z)	(Q/q)	Cone (V)	Collision (V)	IS	Rt NH ₄ Ac (min)
PFBA	213	169	Q	30	8	13C-PFBA	2.33
PFPeA	263	219	Q	30	8	13C-PFPeA	4.74
PFHxA	313	119	q	40	20	13C-PFHxA	7.97
		269	Q	40	8		
PFHpA	363	169	q	40	20	13C-PFHpA	10.95
		319	Q	40	11		
PFOA	413	169	q	40	17	13C-PFOA	13.41
		369	Q	40	11		
PFNA	463	169	q	40	17	13C-PFNA	15.45
		419	Q	40	11		
PFDA	513	219	q	40	20	13C-PFDA	17.18
		469	Q	40	11		
PFUnDA	563	169	q	40	23	13C-PFUnDA	18.64
		519	Q	40	11		
PFDoDA	613	319	q	40	20	13C-PFDoDA	19.89
		569	Q	40	11		
PFTrDA	663	319	q	40	23	13C-PFDoDA	20.98
		619	Q	40	14		
PFTeDA	713	319	q	40	20	13C-PFTeDA	21.92
		669	Q	40	14		
PFHxDA	813	219	q	40	32	13C-PFHxDA	23.47
		769	Q	40	14		
PFODA	913	219	q	50	29	13C-PFHxDA	24.67
		869	Q	50	17		
PFBS	299	80	Q	50	41	13C-PFBS	5.49
		99	q	50	41		
PFPeS	349	80	Q	50	32	13C-PFHxS	8.64
		99	q	50	30		
PFHxS	399	80	Q	50	38	13C-PFHxS	11.39
		99	q	50	32		
PFHpS	449	80	Q	50	41	13C-PFHxS	13.69
		99	q	50	36		
PFOS	499	80	Q	60	50	13C-PFOS	15.62
		99	q	60	40		
PFNS	549	80	Q	60	46	13C-PFOS	17.28
		99	q	60	45		
PFDS	599	80	Q	65	50	13C-PFOS	18.69
		99	q	65	50		
PFDoS	699	80	Q	65	49	13C-PFOS	20.96
		99	q	65	47		
PFUnDS	649	80	Q	65	49	13C-PFOS	19.9
		99	q	65	47		
PFTrDS	749	80	Q	65	49	13C-PFOS	21.89
		99	q	65	47		

4:2 FTS	327	80.5 306.9	q Q	40 40	26 20	13C 4:2 FTS	7.49
6:2 FTS	427	80.7 406.9	q Q	40 40	28 30	13C 6:2 FTS	13.11
8:2 FTS	527	80.7 506.9	q Q	40 40	32 34	13C 8:2 FTS	16.99
10:2 FTS	627	80.7 606.9	q Q	40 40	37 30	13C-2H-10:2 FTS	19.79
PFOSA	498	78 169	Q q	50 50	29 32	13C-PFOSA	17.71
MePFOSA	512	169 219	Q q	40 40	25 22	D3-MePFOSA	20.12
EtPFOSA	526	169 219	Q q	50 50	25 25	D5-EtPFOSA	20.98
MePFOSAA	570	419 483	Q q	40 40	19 15	D3-MePFOSAA	17.67
EtPFOSAA	584	419 526	Q q	40 40	20 20	D5-EtPFOSAA	18.41
6:2 diPAP	789	97 443	Q q	40 40	31 19	13C 6:2 diPAP	22.22
6:2/8:2 diPAP	889	97 443	Q q	40 40	30 20	13C 6:2 diPAP	23.56
8:2 diPAP	989	97 543	Q q	50 50	30 25	13C 8:2 diPAP	24.61
HFPO-DA	285	185 169	Q q	7 7	18 14	13C HFPO-DA	9.06
DONA	376.97	84.95 250.96	q Q	8 8	26 12	13C HFPO-DA	11.38
PFECHS	461	99 381	q Q	40 40	24 24	13C-PFOA	13.42
PFBSA	298	78 64	q Q	50 50	29 32	13C-PFOSA	7.23
MePFBSA	312	219 65	q Q	40 40	25 22	13C-PFOSA	12.09
MePFBSAA	370	283 312	q Q	86 86	26 28	13C-PFOSA	8.9
PFHxSA	398	78 119	q Q	50 50	29 32	13C-PFOSA	13.52
5:3FTCA	341	217 237	q Q	15 15	14 10	13C-PFHpA	11.00
6:2FTCA	377	293 313	Q q	15 15	15 5	13C-6:2FTCA	11.44
7:3FTCA	441	317 337	q Q	20 20	18 12	13C-PFNA	15.64
8:2FTCA	477	393 413	Q q	15 15	15 5	13C-8:2FTCA	15.88
3:3FTCA	241	63 177	q Q	15 15	7 7	13C-PFPeA	4.48

6:2FTUCA	357	243 293	q Q	15 15	30 10	13C-6:2FTUCA	11.28
8:2FTUCA	457	343 393	q Q	15 15	30 10	13C-8:2FTUCA	15.78
6:2FTAB	569	223 549	q Q	20 20	15 10	13C-PFOA	12.9
BPAF	335	265	Q	20	25	13C-BPAF	14.53
7H-PFHpA	345	131 281	q Q	20 20	24 10	13C-PFHxA	7.00
PFMPA	229	85 185	Q q	12 12	6 5	13C-PFBA	3.06
13C-6:2FTCA	379	294	IS	15	15		
13C-8:2FTCA	479	394	IS	15	15		
13C-10:2FTCA	579	494	IS	65	20		
13C-6:2FTUCA	359	294	IS	15	12		
13C-8:2FTUCA	459	394	IS	15	12		
13C-10:2FTUCA	559	494	IS	15	14		
13C-PFBA	217	172	IS	30	8	-	
13C-PFPeA	268	223	IS	30	8	-	
13C-PFHxA	315	270	IS	40	11	-	
13C-PFHpA	367	322	IS	40	8		
13C-PFOA	417	372	IS	40	8	-	
13C-PFNA	468	423	IS	40	11	-	
13C-PFDA	515	470	IS	50	11	-	
13C-PFUnDA	565	520	IS	50	14	-	
13C-PFDoDA	615	570	IS	50	14	-	
13C-PFTeDA	715	670	IS	50	14	-	
13C-PFHxDA	815	770	IS	50	14	-	
13C-PFBS	302	80	IS	50	30		
13C-PFHxS	403	84	IS	50	40		
1802-PFHxS	403	84	IS	50	40	-	
13C-PFOS	503	80	IS	60	40	-	
13C 4:2 FTS	329	309	IS	40	18		
13C 6:2 FTS	429	409	IS	10	24	-	
13C 8:2 FTS	529	81	IS	40	35		
13C-2H-10:2 FTS	633	612	IS	40	30		
13C-PFOSA	506	78	IS	50	40	-	
D3-MePFOSA	515	169	IS	50	40	-	
D5-EtPFOSA	531	169	IS	40	24		
D3-MePFOSAA	573	419	IS	40	20	-	
13C-8:2 PAP	545	97	IS	32	16	-	
D5-EtPFOSAA	589	419	IS	40	18		
13C-6:2 diPAP	793	445	IS	25	20		
13C 8:2 diPAP	993	97	IS	25	20	-	
13C HFPO-DA	287	119	IS	10	18	-	
D4-10:2 FTS	633	612	IS	40	30	-	

- Q: transitie voor kwantificatie van de component
q: transitie ter bevestiging (kwalificatie) van de kwantificatietransitie

Opmerking:

Voor 8:2 diPAP is de quantifier transitie (Q) soms geïnterfereerd. Voor deze PFAS mag ook de qualifier transitie (q) gebruikt worden als quantifier.

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

Voor de kalibratie en de kwaliteitseisen waaraan de kalibratie moet voldoen wordt verwezen naar WAC/VI/A/003.

~~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 native 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 kalibratieoplossingen 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 native 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

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. Het extract mag daarbij maximum 10 keer verdund worden. Indien dit niet volstaat mag verder verdund worden met toevoeging van verse interne standaard, op voorwaarde dat de terugvinding van de betrokken IS in het oorspronkelijk extract tussen 30% en 200% ligt; op het analyseverslag dient dit vermeld te worden.
- Voor een aantal perfluorverbindingen (PFOA, PFOS, 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 de RRF-waarde bekomen voor 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, PFOS totaal, PFOSAtotaal, MePFOSAtotaal, EtPFOSAtotaal en PFHxStotaal.
- Als er een som van PFAS gemaakt wordt dan dient het “lower bound” principe toegepast te worden.
- 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 een kritisch paar, bv. PFOS(vertakt)-PFOS(lineair) of 2 pieken van vertakte PFOS in het chromatogram van de oplossing met technische PFOS (zie 4.16).

De scheiding kan op 3 maniere gecontroleerd worden:

- o aan de hand van de piekresolutie. De resolutie dient minsten 0.5 te bedragen. De resolutie wordt gedefinieerd als de verhouding van de afstand tussen de maxima van twee pieken enerzijds en hun gemiddelde piekbreedte aan de basis anderzijds;
- o aan de hand van de piekhoogte en de valleihogte. De verhouding tussen de valleihogte enerzijds en de hoogte van de piek met de laagste respons dient kleiner te zijn dan 0.5;
- o alternatief kan gebruik gemaakt worden van de verhouding tussen enerzijds (piekhoogte laagste piek – valleihogte) en anderzijds de piekhoogte van de laagste piek, deze verhouding dient groter te zijn dan 0.5.

7.2 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 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:

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

Het terugvindingsrendement is afhankelijk van sorptiefenomenen, signaalsuppressie/versterking door matrixbestanddelen en extractierendement. Voor een verantwoorde kwantificering dient het terugvindingsrendement van de ^{13}C -gemerkte fluorverbindingen minimaal 30 % en maximaal 200% te bedragen, met uitzondering van 13C-8:2diPAP en 13C-PFHxDA waar de ondergrens 10% bedraagt.

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.

8 RAPPORTERING

Vermeld op het analyseverslag het gehalte van elke component in $\mu\text{g/l}$ of ng/l . Vermeld op het verslag ook eventueel vastgestelde afwijkingen.

9 REFERENTIES

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)*