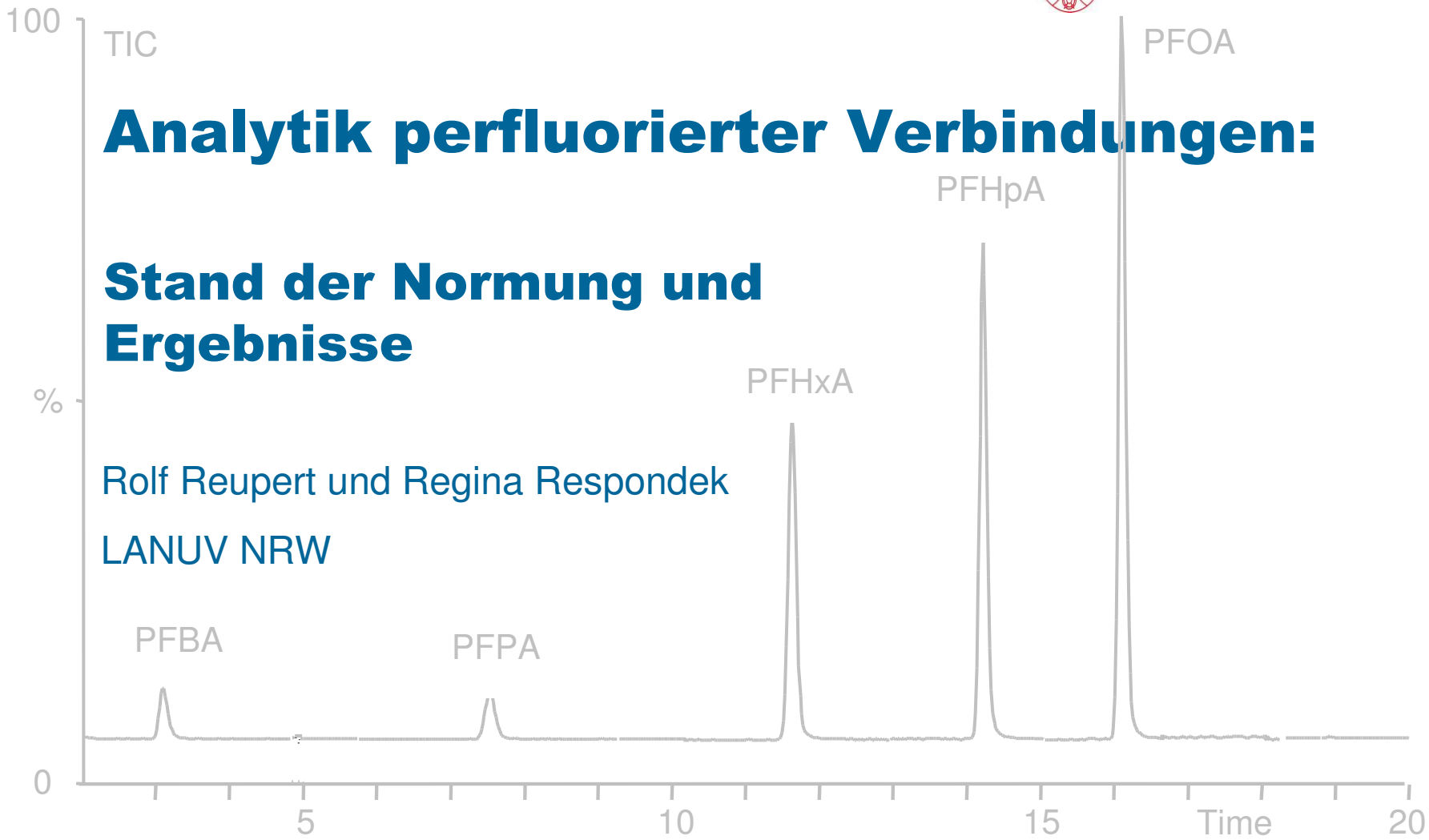
Landesamt für Natur,
Umwelt und Verbraucherschutz
Nordrhein-Westfalen

Analytik perfluorierter Verbindungen:

Stand der Normung und Ergebnisse

Rolf Reupert und Regina Respondek

LANUV NRW



Inhalt

- **Genormtes Verfahren und weiterer Bedarf**
  - ISO 25101, Ergebnisse des LÜRV-2008
- **DIN-Arbeitskreis für PFC-Analytik und Normungsaufträge**
- **Auftrag DIN 38407-42: Bestimmung von PFC in Wasser**
  - Extraktion und Robustheit, Wiederfindungsraten, Störungen
  - Chromatographische Trennung, verzweigte Isomere
  - Quantifizierung und Bestätigung, Messunsicherheit
  - Ergebnisse des Validierungsringversuches
- **Zusammenfassung**

Genormte Verfahren und weiterer Bedarf

ISO 25101 (03-2009):

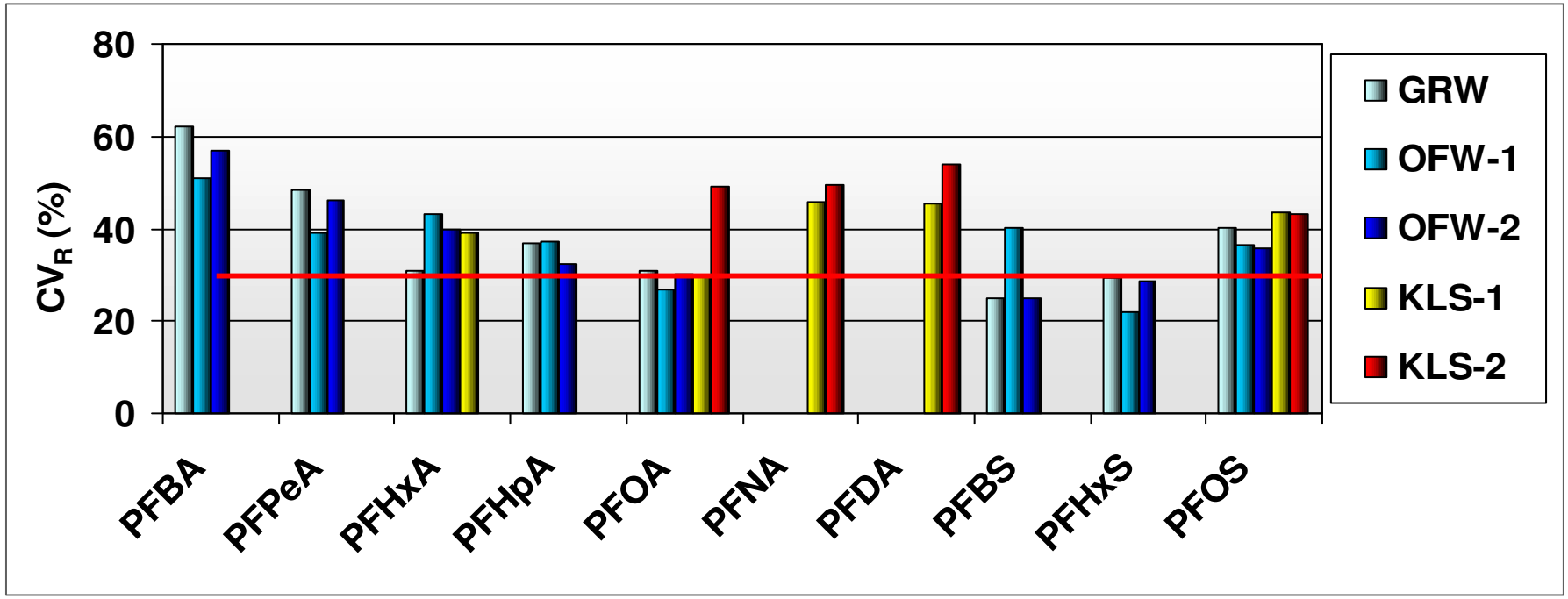
Water quality — Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) — Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry

- Verfahren für PFOA und PFOS, nur lineare (unverzweigte) Isomere
- Ergebnisse des Ringversuches nicht zufriedenstellend, Ausreißeranteil bei Proben im Mittel 50 %

⇨ Bedarf für die Bestimmung weiterer PFC, einschließlich kurzkettiger Verbindungen und einer Regelung für die Quantifizierung verzweigter Isomere.

Normungsbedarf

Ergebnis des länderübergreifender Ringversuch PFT (LANUV NRW), April 2008



- Nur 19 von 37 Laboren erfolgreich (rel. s_{soll} mit 50 % hoch limitiert)

⇨ Ergebnis unterstreicht die Notwendigkeit der Validierung und Normung eines Analysenverfahrens

DIN-AK für PFC-Analytik und Normungsaufträge

- **NA 119-01-03-02-19AK „PFC in Wasser“**
  Gründung: 01.04.2008
- **NA 119-01-02-02-52AK „PFC in Schlamm und Boden“**
  Gründung: 15.12.2008
- **NA 119-01-03-02-19AK „PFC in Wasser, Schlamm und Boden“**
  Zusammenlegung der Aufgaben: 15.12.2008, 1. Sitzung 21.04.2010

Aufträge: 2 Normvorlagen für die Bestimmung von PFC

⇨ *in Wasser*

⇨ *in Klärschlamm und Boden (Gewässersediment, Kompost)*

durch HPLC und massenspektrometrische Detektion (HPLC-MS/MS)

NA 119-01-03: Arbeitsausschuss Wasseruntersuchungen
NA 119-01-02: Arbeitsausschuss Abfall und Bodenuntersuchungen

Auftrag DIN 38407-42

Bestimmung ausgewählter Polyfluorierter Chemikalien (PFC) in Wasser mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) nach Fest-Flüssig-Extraktion

Planung:

- 11.03.10 – Verabschiedung zum Normentwurf
- 10.05.10 – Veröffentlichung Normentwurf
- 17.07.10 – Ende der Einspruchsfrist
- 25.08.10 – Einspruchsberatung AK19
- 09.09.10 – Verabschiedung zur Norm

Stoffauswahl und Anwendungsbereiche

- 10 Einzelverbindungen, ausschließlich perfluorierte Verbindungen
- Carbonsäuren: C_4 – C_{10}, Sulfonsäuren: C_4, C_6, C_8

Substanzname	*Abkürzung*	*Substanzname*	*Abkürzung*
Perfluorbutansäure	*PFBA*	*Perfluornonansäure*	*PFNA*
Perfluorpentansäure	*PFPeA*	*Perfluordekansäure*	*PFDA*
Perfluorhexansäure	*PFHxA*	*Perfluorbutansulfonsäure*	*PFBS*
Perfluorheptansäure	*PFHpA*	*Perfluorhexansulfonsäure*	*PFHxS*
Perfluoroktansäure	*PFOA*	*Perfluoroktansulfonsäure*	*PFOS*

- Trink-, Grund- und Oberflächenwasser, UAWG 0,01 µg/l
- Gereinigtes Abwasser, UAWG 0,025 µg/l

UAWG = Untere Anwendungsgrenze, festgelegt nach den bestehenden GOW bzw. Orientierungswert (NRW) bei Abwasser

Grundlagen und Möglichkeiten der Erweiterung

- Anreicherung und Isolierung der PFC durch Festphasen-Extraktion an einem schwachen Anionenaustauscher (MixMode Phase)
- Bestimmung durch HPLC-MS/MS

- Stoffe müssen über eine acide Gruppe im Molekül verfügen, um unter den Bedingungen der SPE isoliert werden zu können,

  z.B. PFUdA, PFDoA, PFHpS, PFDS, H4PFOS

⇨ PFOSA und Telomeralkohole (FTOH) können mit dem Verfahren nicht erfasst werden.

- Die Anwendung des Verfahrens auf andere Wasserarten, z.B. ungereinigtes Abwasser ist grundsätzlich möglich, muss im Einzelfall jedoch geprüft werden.

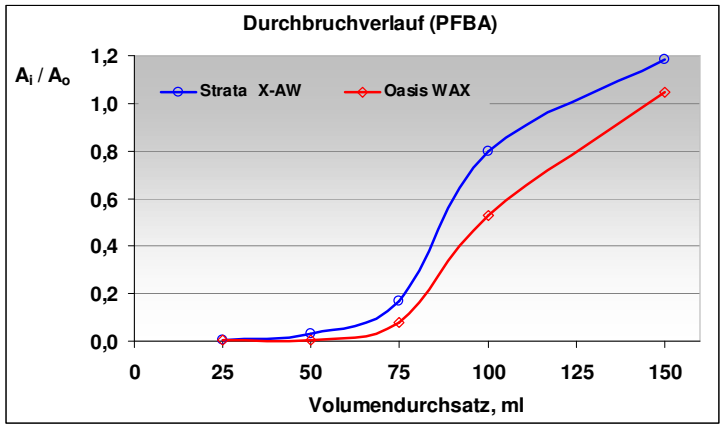
Probenvorbereitung

- Anreicherung und selektive Isolierung der PFC durch SPE an einem schwachen Anionenaustauscher auf Polymerbasis

Konditionierung	2 ml 0,1 % NH_3 in MeOH, 2 ml MeOH, 2 ml Wasser
Probenaufgabe	Probevolumen 10 -50 ml, pH 7-8 (60 mg Festphase)
Waschen	1. 2 ml Wasser 2. 2 ml 1 % HCOOH in Acetonitril – Aceton 1:1 3. 2 ml MeOH
Elution	2 ml 0,1 % NH_3 in MeOH
Aufarbeitung	Abblasen mit N_2 zur Trockene, Lösen des Rückstands, ggf. Filtration über reg. Cellulose 0,45 µm

Untersuchungen zur Probenvorbereitung

- Durchbruchversuche mit dotiertem Abwasser zur Festlegung des Phasenverhältnisses (Direktmessung)



Phasenverhältnis ≥ 1,2 mg/ml, z.B. 60 mg Sorbens für Vp =50 ml

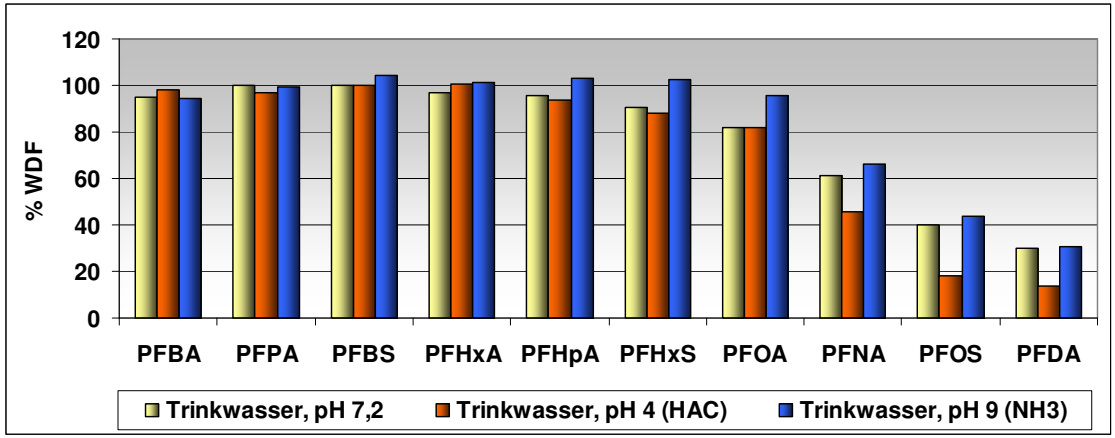
⇨ *Kapazität wird durch PFBA bestimmt, keine weiteren PFC im Ablauf*

⇨ *auch bei hochdotierten Proben kein Durchbruch*

- Prüfung der Robustheit (Waschschritte, Einfluss Säurekonzentration, Elutionsvolumen und NH_3-Konzentration
- Prüfung der Aufarbeitung (Abblasen mit N_2, Filtration der Messlösung)
- Wiederfindungsraten mit verschiedenen Handelsprodukten: Strata X-AW, Oasis WAX, Chromabond HR-XAW

Störungen

☝ Wiederfindungsraten für PFNA, PFDA und PFOS teilweise nur 40 – 60 % (Reinstwasser, TRW)



Direktinjektion von dotiertem Trinkwasser bei verschiedenen pH-Werten

⇨ Deutliche Minderbefunde bei PFNA, PFOS und PFDA

⇨ Störungen sind <u>nicht</u> auf die Probenvorbereitung zurückzuführen

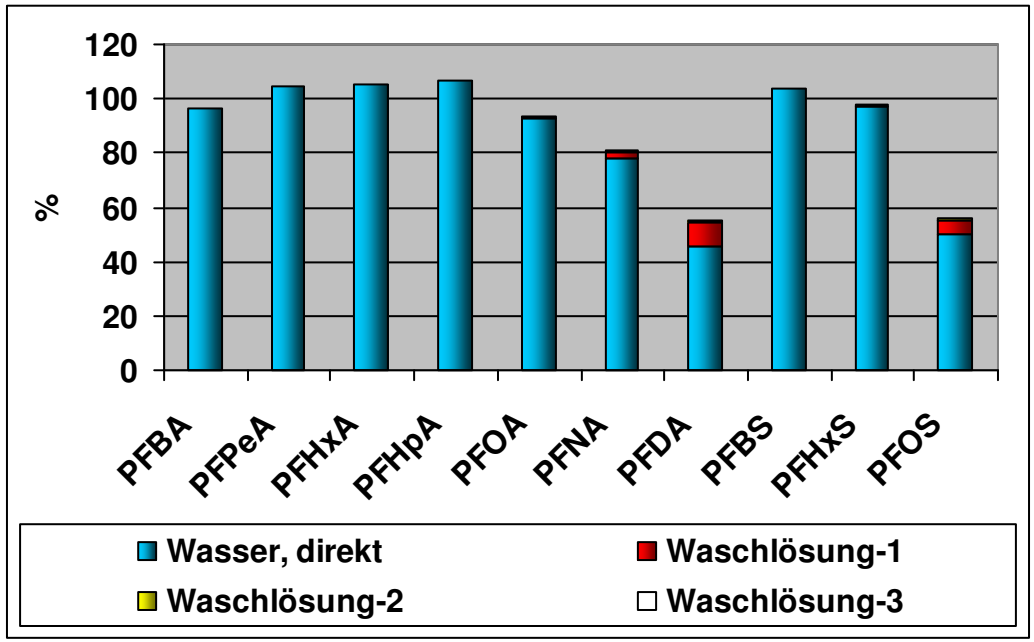
⇨ Hinweise auf Ionensuppression wurden nicht erhalten (stabiles Signal)

⇨ Unabhängig von den verwendeten Massenspektrometern

Störungen durch Sorption an Gefäßwandungen

- Verluste durch Sorption an Gefäßwandungen wurden nachgewiesen, erklären die Störungen aber nur zum Teil

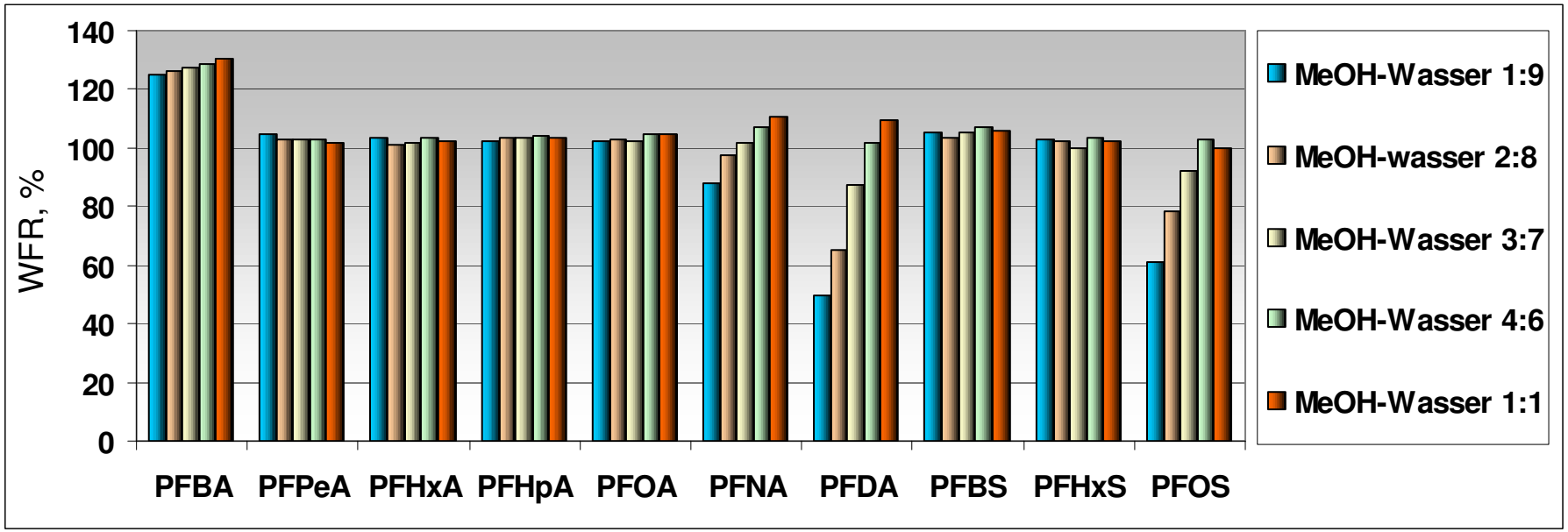
  ⇨ sie sind bei PFNA vernachlässigbar, liegen bei PFOS unter 10 % und bei PFDA im Bereich von 10-15 %, je nach Probengefäß



Trinkwasser in 50-ml-PP-Röhrchen dotiert (ρ_i =1µg/l); Nachwaschen des Röhrchens mit 3x5 ml Methanol, Aufarbeitung und Messung der Waschlösungen

Untersuchung von Störungen: MeOH-Anteil in der Messlösung

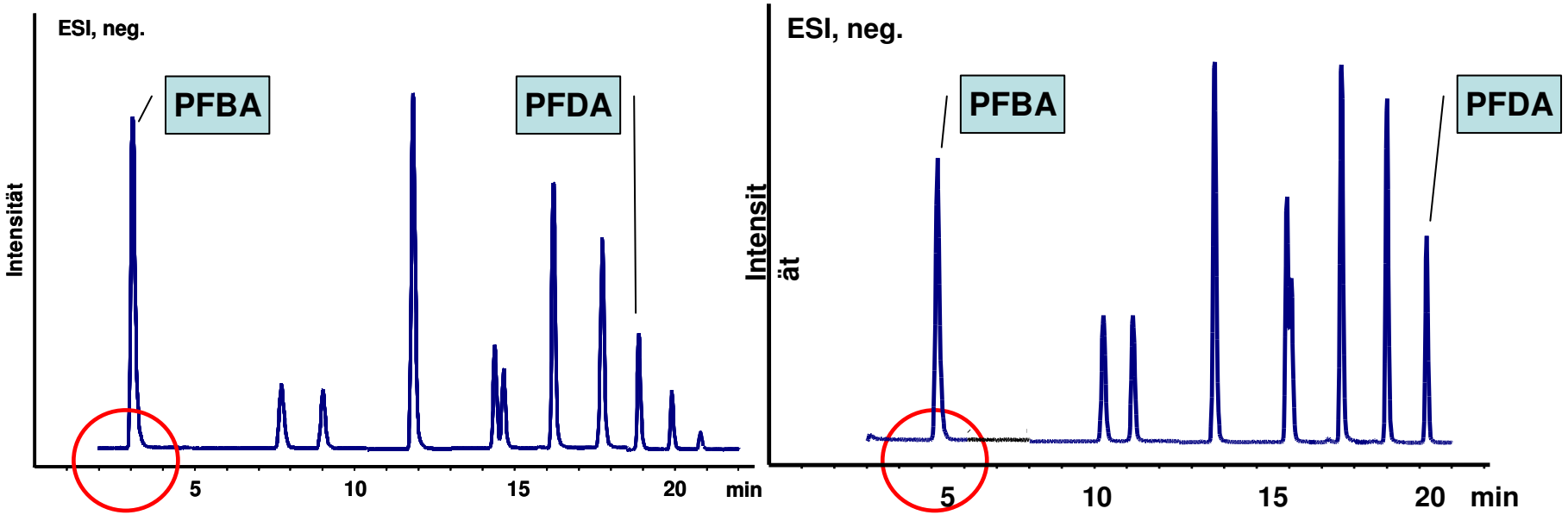
Trinkwasser (nicht dotiert) mit 10 parallelen Ansätzen über SPE aufgearbeitet, Rückstände in Standardlösung mit verschiedenen Anteilen an MeOH gelöst.



☝ **Der Anteil an Methanol in der Messlösung muss mindestens 40 % betragen; auch bei Direktinjektion!**

Chromatographische Trennung

Zorbax Eclipse XDB-C18, 3,5 µm, 100 x 2,1 mm **Synergi Fusion-RP, 2,5 µm, 100 x 2,0 mm**
Eluent A: 5mM Ammoniumacetat in Wasser // Eluent B: 0,05% Essigsäure in Methanol
Gradient: 35% B nach 95% B in 20 min, linear



- ⇨ RP-Phasen mit bifunktionaler Wechselwirkung (hydrophob/hydrophil) ergeben höhere Retention für PFBA und sind zu bevorzugen.
- ⇨ Bei gleicher Retention von PFBA können hiermit höhere Volumenanteile an MeOH in der Messlösung verwendet werden.

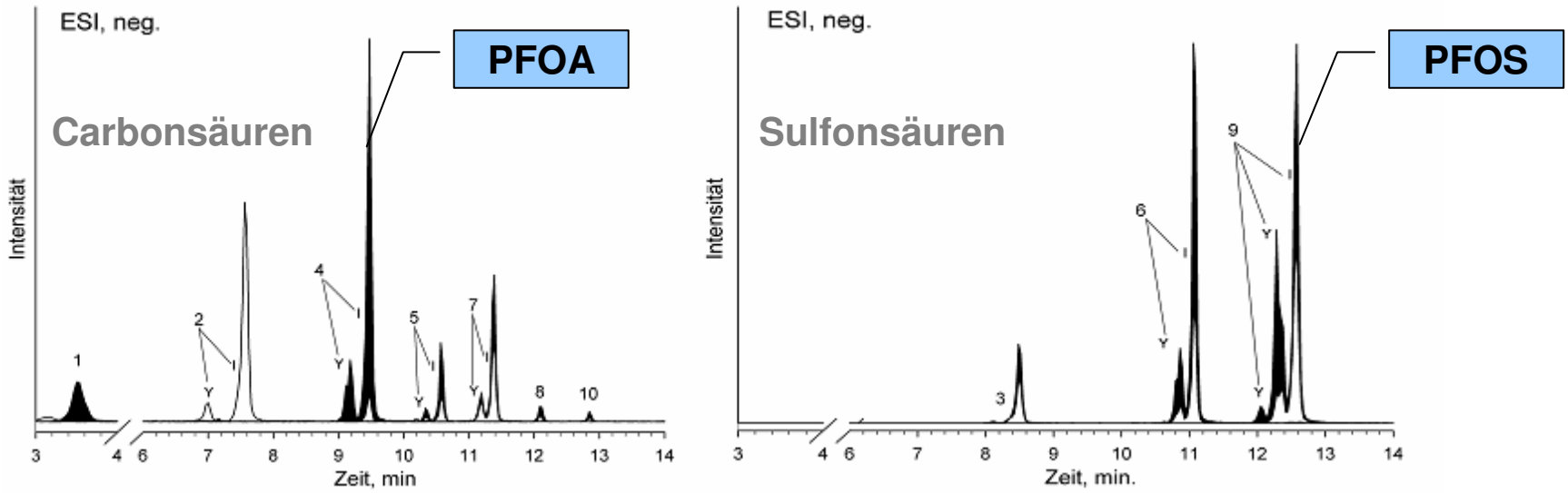
Einfluss der chromatographischen Bedingungen

- Verschiedene Säulen und Bedingungen wurden getestet; Anhang zur Norm enthält Beispiele
  - ⇨ Gradienten mit MeOH-Wasser in Gegenwart von NH_4AC und gegebenenfalls HAC sind zu bevorzugen
  - ⇨ Die Pufferkonzentration ist nicht ausschlaggebend und wird meist zwischen 1 – 5 mmol gewählt
  - ⇨ Die Gegenwart von Acetonitril führt bei einigen Stoffen zu einer geringeren Empfindlichkeit
  - ⇨ Unter sauren Bedingungen HAC bzw. HCOOH ergibt sich teilweise ein etwas höherer Response, dem jedoch Peakverbreiterung entgegenstehen kann

Chromatographische Trennung verzweigter Isomere

- PFC kommen in Umweltproben vorwiegend als unverzweigte Verbindungen vor; daneben treten aber meist auch verzweigte Isomere auf, die nur teilweise voneinander getrennt werden können.

Bild: Dirk Skutlarek, Hygiene Institut, Uni Bonn



- Verzweigte Isomere eluieren bei den üblichen Bedingungen meist in einem Peak kurz vor der entsprechenden unverzweigten Verbindung; bei PFOS können mehrere Peaks auftreten.

Quantifizierung

- Der Anteil der verzweigten Isomere an der gesamten Peakfläche eines Analyten liegt bei Carbonsäuren meist unter 20 %, bei PFOS kann der Anteil bis zu 70 % betragen.
  - ⇨ Verzweigte Isomere müssen folglich bei der Quantifizierung berücksichtigt werden

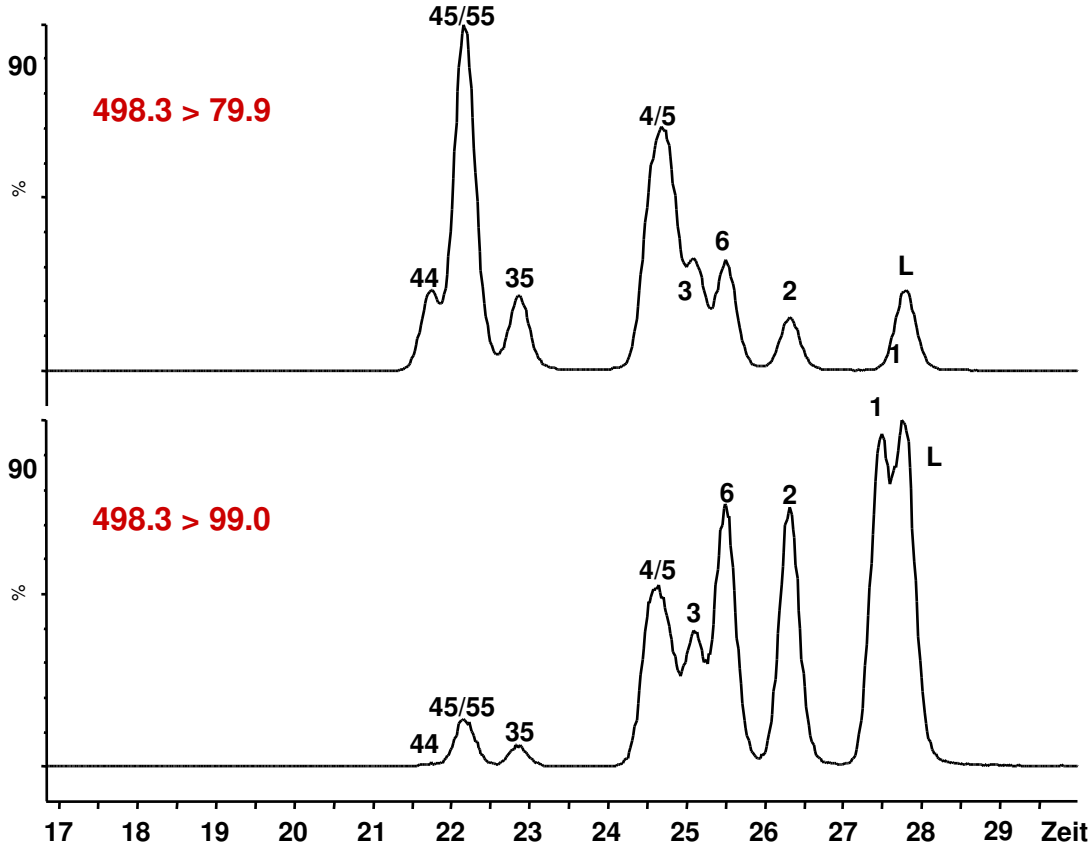
Konvention:

- Kalibrierung ausschließlich mit unverzweigten Verbindungen definierter Reinheit
- Bei Proben Ermittlung der gesamten Peakfläche der detektierten Isomere eines Stoffes und Auswertung über den Response der unverzweigten Verbindung (mittlerweile übliche Praxis)
- Ergebnis als Summe der detektierten Isomere

- Interne Standardisierung, mind. MPFBA, MPFHxA, MPFOA, MPFOS; Mindestanforderung WFR (ISTD) 50-150 %

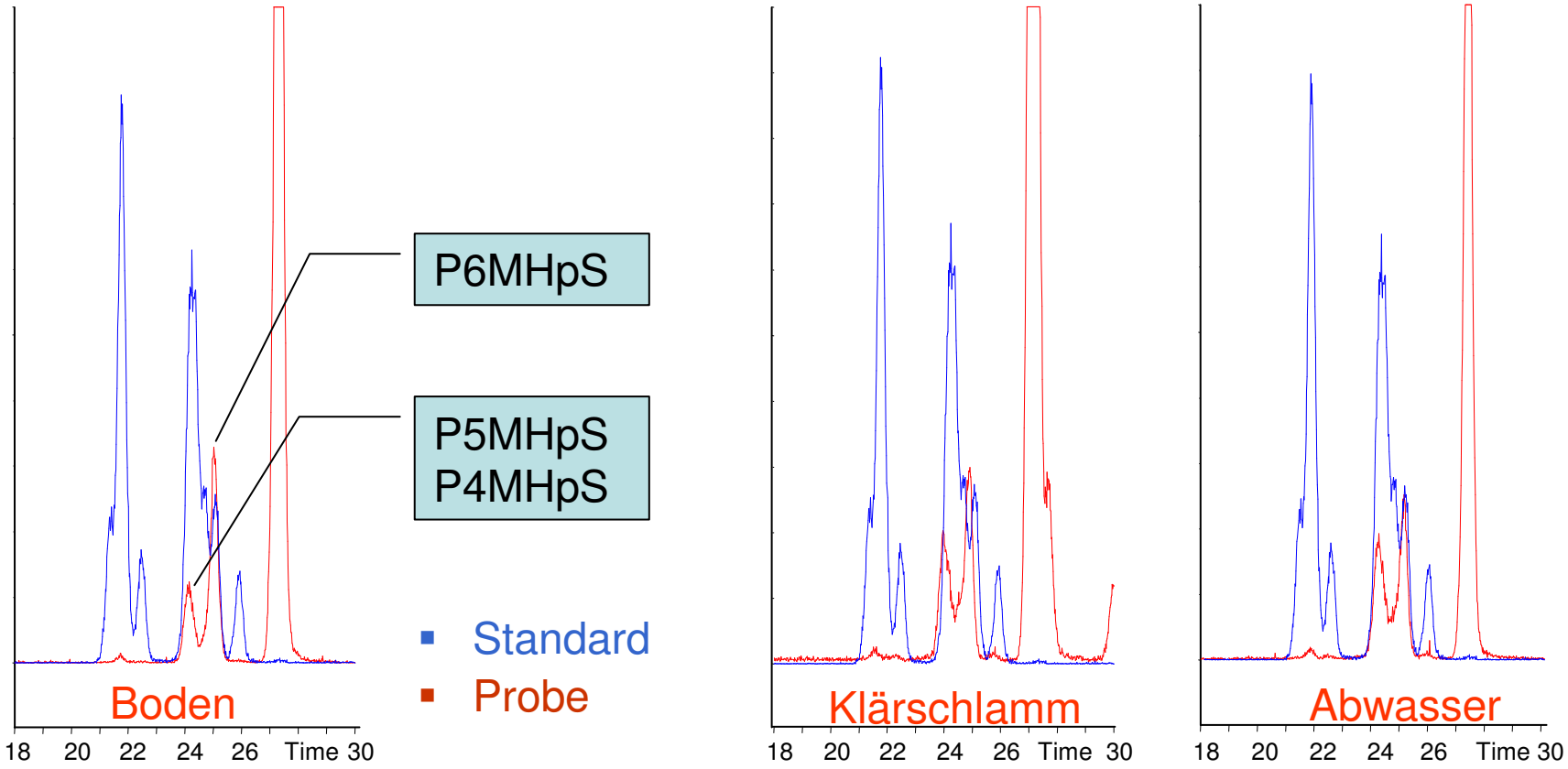
Chromatographische Trennung von PFOS-Isomere

L	L-PFOS
1	1M-HpS
2	2M-HpS
6	6M-HpS
3	3M-HpS
4	4M-HpS
5	5M-HpS
35	3,5-DM-HxS
45	4,5-DM-HxS
55	5,5-DM-HxS
44	4,4-DM-HxS



- Auch unter speziellen chromatographischen Bedingungen keine vollständige Trennung der PFOS-Isomere möglich

Bestätigung verzweigter PFOS-Isomere in Proben



⇨ Nach den derzeitigen Ergebnissen treten neben der unverzweigten PFOS hauptsächlich P4, P5 und P6-Methyl-HpS auf.

Fehlerabschätzung zur Quantifizierungsmethode

Verfahren Massenübergang m/z 489 > 80		Abwasser (µg/l)	Klärschlamm (µg/kg TM)	Boden (µg/kg TM)
Kalibrierung unverzweigte Isomere	L-PFOS	283	333	5199
	V-PFOS	101	39	1013
	Summe PFOS	**384**	**372**	**6212**
Kalibrierung PFOS-Isomere	P4MHpS/P5MHpS	12	4	95
	P6MHpS	44	17	545
	Summe PFOS	**339**	**355**	**5839**
Vergleich	Abweichung (%)	**13**	**5**	**6**

- ⇨ Abweichungen halten sich in Grenzen, wahrscheinlich eher geringer, wenn weitere Verzweigungen (P3MHpS) quantifizierbar wären.
- ⇨ Bei Auswertung des Massenübergangs m/z 489 > 99 fallen die Abweichungen etwas geringer aus.

Anforderungen an die Bestätigung einzelner PFC

- Retentionszeit +/- 0,15 min
- Soweit vorhanden, 2 Massenübergänge, Ratio Produkt-Ionen +/- 30 %
- Für PFBA wird nur ein Massenübergang erhalten und bei PFPeA und PFHxA ist die Intensität des 2. Massenübergangs für eine Absicherung zu gering

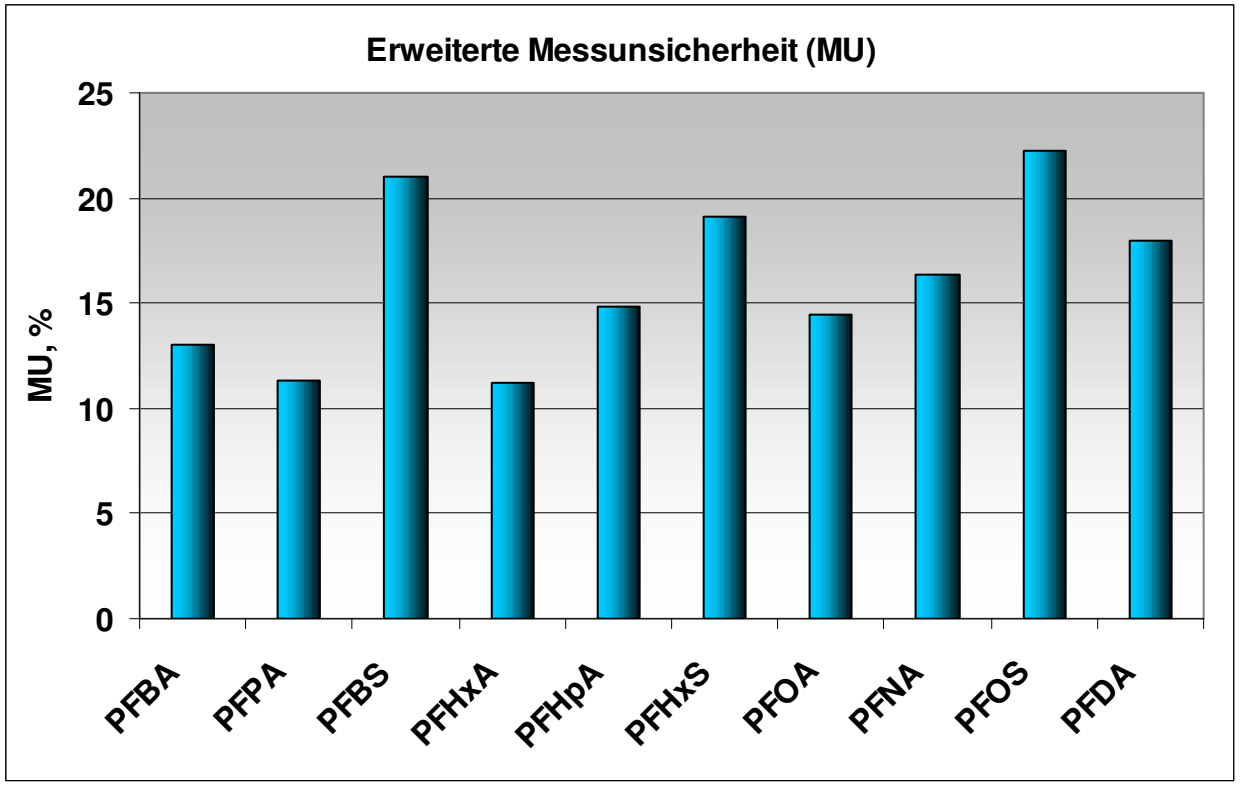
  ⇨ Wenn notwendig, Absicherung über HPLC-Trennung anderer Selektivität

- Bei verzweigten Isomeren ist die Auswertung des Ratio nicht möglich

  ⇨ Zuordnung der verzweigten Isomere über die Retentionszeit im Vergleich mit einem technischen PFC-Standard

Erweiterte Messunsicherheit bei Trinkwasseranalysen

Ermittelt durch Wiederfindungsexperimente aus Trinkwasser unter Zwischenbedingungen gemäß DEV A0-4



ρ_i = 100 ng/l

n = 15

Zeitraum: 14 Tage

Richtigkeit der Dotierlösung mit ± 5 % berücksichtigt (Angabe des Lieferanten)

Validierungsringversuch DIN 38407-42

Allgemeine Angaben und Durchführung

Durchführung:	13.01.10 – 02.02.10 (Abgabe der Ergebnisse)
Probenversand:	11.01.10
Proben, aufgestockt:	Standardlösung in MeOH, Trinkwasser, Grundwasser, Oberflächenwasser, Abwasser
Analysen:	jeweils 3 Messungen bzw. 3 parallele Analysen
Anmeldungen:	21 Laboratorien (arbeitskreisintern)
Ergebnisse:	18 Laboratorien
Auswertung:	DIN 38402-42 bzw. DIN/ISO 5725-2

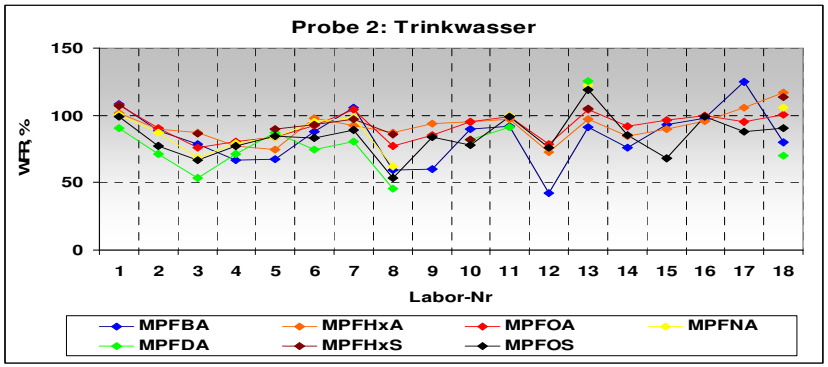
Sollwerte (Aufstockung + Vorbelastung)

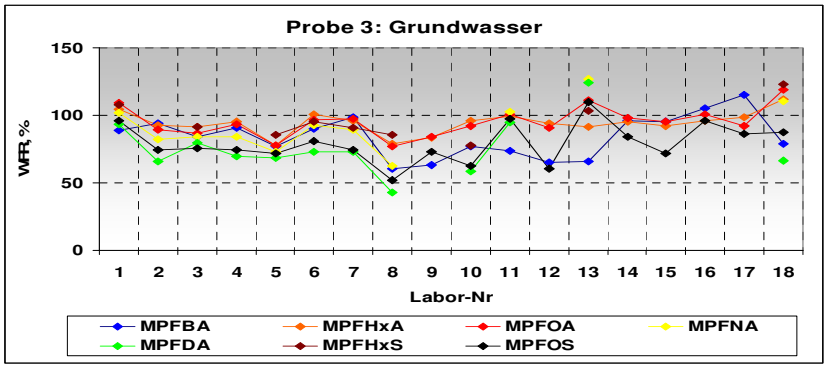
Proben / Stoffe	STD ng/ml	TRW ng/l	GRW ng/l	OFW ng/l	ABW ng/l
PFBA	100	28,6 + 57,2	111,1 + 3,2	125,0 + 6,7	285,7 + 45,5
PFPeA	60	14,3 + 3,7	66,7	75,0	171,4 + 8,1
PFHxA	20	14,3	22,2	25,0	57,1 + 10,6
PFHpA	50	28,6	55,6	62,5	142,9 + 6,0
PFOA	30	14,3	33,3	37,5 + 4,0	85,7 + 20,6
PFNA	80	42,9	88,9	100,0	228,6 + 3,1
PFDA	90	28,6	100,0	112,5	257,1 + 3,8
PFBS	70	42,9 + 8,2	77,8	87,5 + 27,2	200,0 + 16,2
PFHxS	20	14,3	22,2 + 3,0	25,0	57,1
PFOS	40	28,6 + 3,0	44,4	50,0 + 9,0	114,3 + 20,8
Σ PFOA+PFOS		45,9	77,8	100,5	241,4

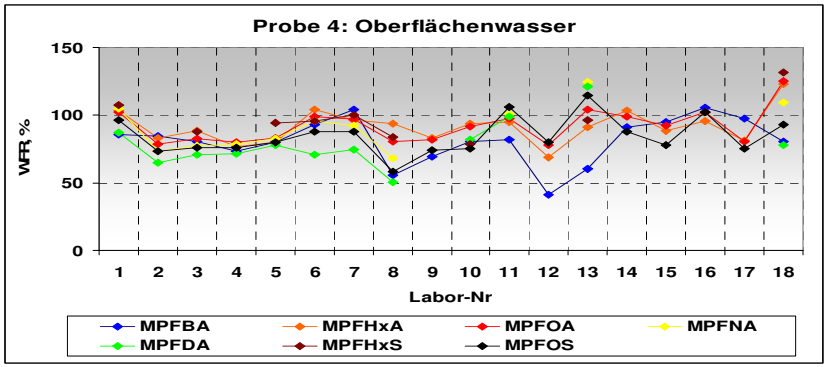
⇨ Konzentrationsbereiche den reale Anforderungen angepasst

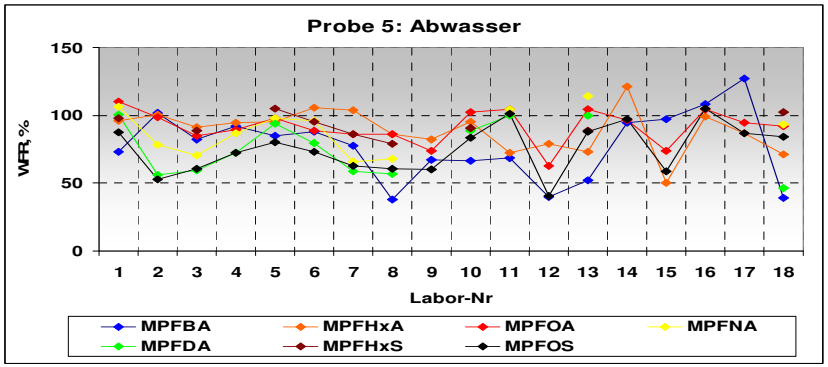
RV-Ergebnis: Wiederfindungsraten der interner Standards

Anforderung: 150 % ≤ WFR ≥ 50 %



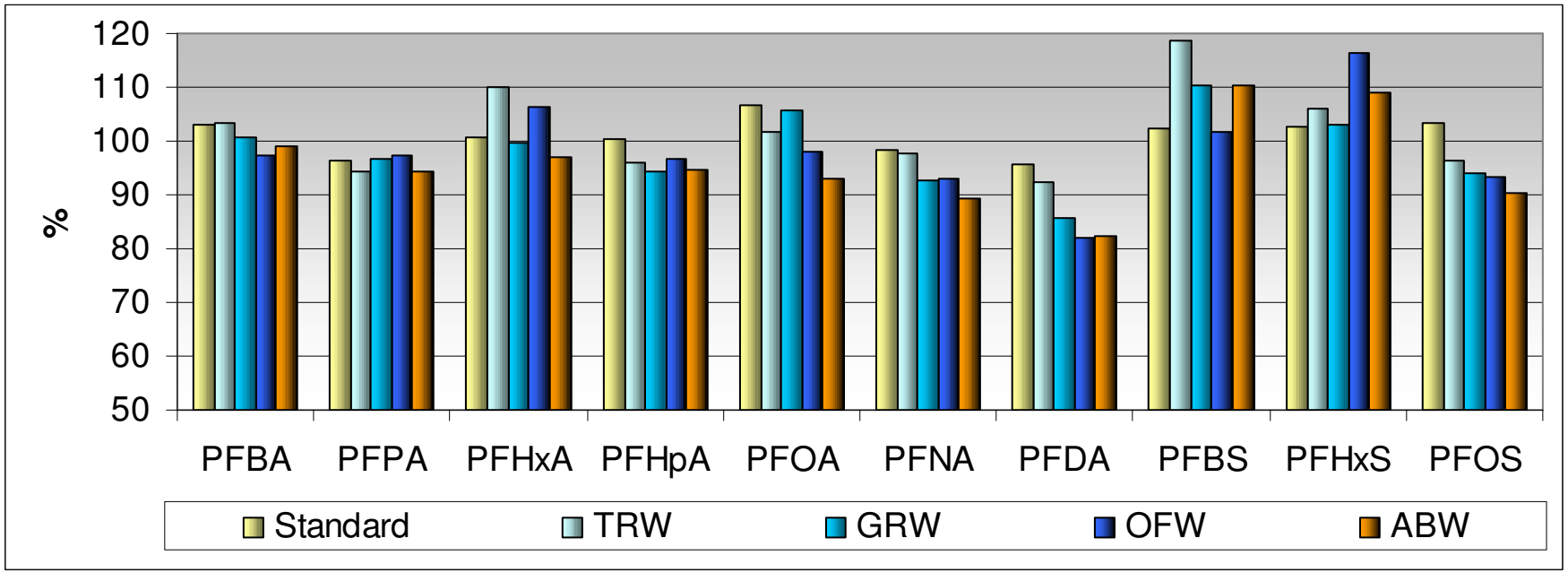






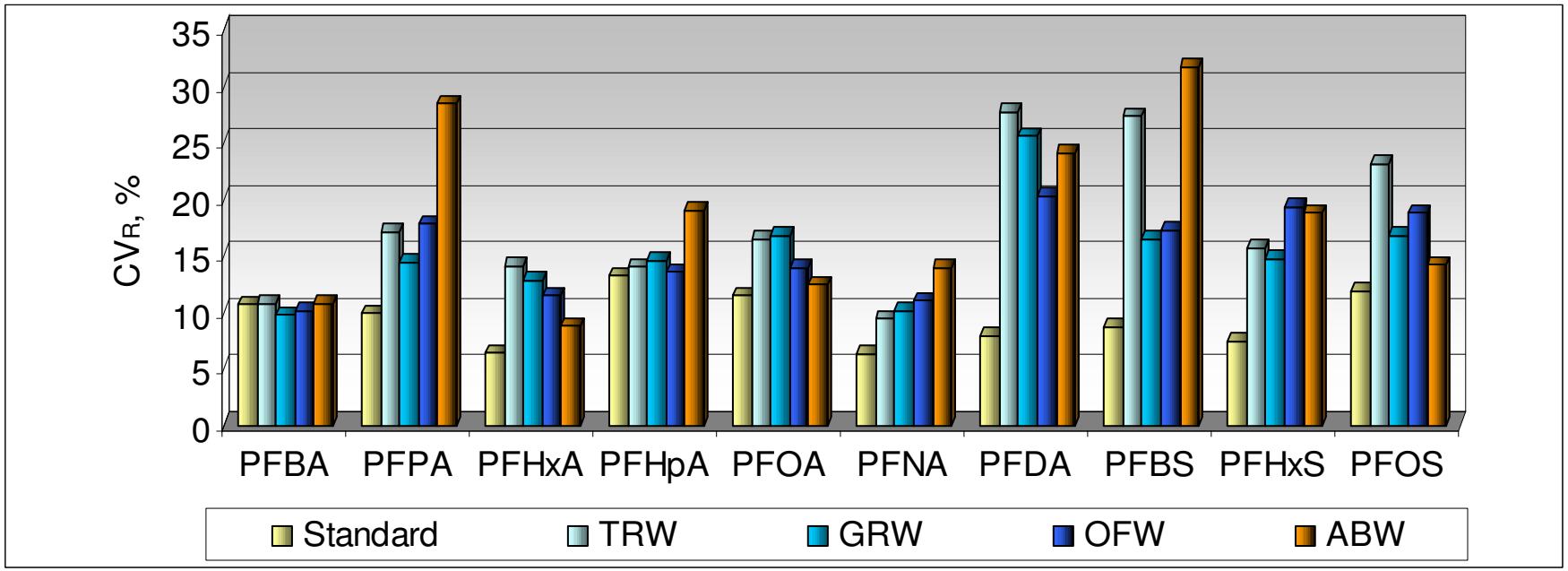
⇨ Nicht erfüllt bei 27 Einzelergebnissen [PFBA (5), PFDA (3), PFOS (1)]; Werte nicht bei der Auswertung berücksichtigt

RV-Ergebnis: Wiederfindungsraten für die Analyten



⇨ WFR meistens im Bereich von 95 – 105 %, Verluste durch Sorption an Gefäßwandungen und Schwebstoffen bei PFNA, PFOS und besonders bei PFDA (80 – 95 %)

RV-Ergebnis: Vergleichsvariationskoeffizienten (CV_R)



- CV_R meist unter 20 %
- CV_R für PFDA und PFBS (CV_R 31 %) höher, bei PFDA durch Sorption bei PFBS im Abwasser teilweise durch Störungen (Begleitstoffe)

RV-Ergebnis: Prozentualer Anteil an Ausreißern

Proben / Stoffe	STD %	TRW %	GRW %	OFW %	ABW %
PFBA		11,8		23,5	
PFPeA	5,6	5,6	16,7		11,1
PFHxA	11,1		11,1		16,7
PFHpA		11,1	16,7	11,1	16,7
PFOA		5,6	5,6	16,7	11,1
PFNA	11,1	11,1	5,6	11,1	5,6
PFDA	16,7			16,7	11,8
PFBS	5,6	11,1	5,6	16,7	5,6
PFHxS	17,6	11,1	5,6		5,6
PFOS	5,6	5,6	5,6		11,8

- 14 Ausreißer Typ B, 59 Ausreißer Typ C, Anteil grundsätzlich zu hoch, auch wenn nur ein Wert die Vorgabe n_{AP} < 20% nicht erfüllt.

Zusammenfassung

- Für die Bestimmung von PFC in Wasser ist ein Analysenverfahren für die Normung erarbeitet worden:
  - Die Stoffauswahl umfasst bei den Carbonsäuren die Stoffe C_4-C_{10} und bei den Sulfonsäuren C_4, C_6, C_8
  - Die Bestimmung erfolgt mittels HPLC-MS/MS, wobei neben den unverzweigten auch die verzweigten Isomere bei der Quantifizierung berücksichtigt werden
  - Das Verfahren wurde für die Anwendungsbereiche Trinkwasser, Grundwasser, Oberflächenwasser und gereinigtes Abwasser validiert.
  - Der Validierungsringversuch ist akzeptabel ausgefallen, wobei die Verfahrenskenndaten jedoch stärker von den Teilnehmern des Ringversuches als vom Verfahren geprägt werden. Der Anteil an Ausreißern (C-Typ) ist grundsätzlich zu hoch.
- Das Verfahren wird mit der Bezeichnung DIN 38407-42 voraussichtlich noch in diesem Jahr genormt.

Danke
den Kolleginnen und Kollegen des AK 19 für die Bereitstellung von Untersuchungsergebnissen

und

Danke
für Ihre Aufmerksamkeit