



Application Note AN-M-017

# IC-MS/MS-Analyse von Trifluoressigsäure nach DIN 38407-53

TFA: ein weitverbreitetes PFAS-Abbauprodukt, das zunehmend Anlass zur Sorge gibt

Trifluoressigsäure (TFA) in Oberflächen- und Trinkwasser gibt, aufgrund ihrer Persistenz, Mobilität und begrenzten Möglichkeiten zur Eindämmung, Anlass zur Sorge [1-3]. Als Abbauprodukt von PFAS (Per- und polyfluorierte Alkylsubstanzen) wird TFA hauptsächlich von Industriestandorten freigesetzt, während zu den sekundären Quellen der Abbau von Verbindungen mit Trifluormethylgruppen (z. B. bestimmte Pestizide und Kühlmittel) gehört [4-6]. Um eine zuverlässige Überwachung zu gewährleisten, hat

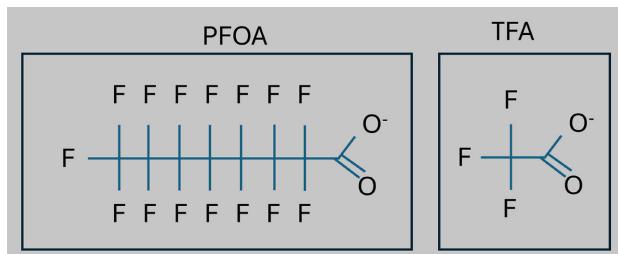
das deutsche Normungsgremium DIN eine Norm für die TFA-Analyse mittels Direktinjektion LC-MS/MS veröffentlicht. Diese Methode quantifiziert TFA im Bereich von 0,1-3,0 µg/L und wurde in 12 Laboratorien in Deutschland und der Schweiz validiert [7,8].

Diese Application Note beschreibt den validierten Methodenaufbau mittels Ionenchromatographie (IC) mit anschließender Massendetektion mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer.

Trifluoressigsäure (TFA) ist eine ultrakurzkettige PFAS (Per- und Polyfluoralkylsubstanz), die zur giftigsten Gruppe der Perfluoroctansäuren (PFOA) gehört (Abbildung 1) [9]. Insgesamt sind die TFA-Konzentrationen deutlich höher als die der anderen PFAS, da TFA ein Abbauprodukt dieser Stoffe ist [3]. So machte TFA beispielsweise mehr als 90 % der gemessenen Gesamtmenge an PFAS in verschiedenen analysierten deutschen Trinkwässern aus [9]. Es hat sich als ubiquitäre und persistente Substanz erwiesen, die aufgrund ihrer mangelnden Sorptionsfähigkeit eine hohe Mobilität aufweist und mehrere ökologische und rechtliche Bedenken hervorruft [3-6,10]. Die anhaltenden Emissionen von TFA führen zu einem irreversiblen Anstieg der Konzentrationen, z. B. in Regenwasser, Böden und Trinkwasser, aber auch in

Humanserum, Pflanzen und pflanzlichen Lebensmitteln [3]. Die gemessenen mittleren TFA-Konzentrationen im Niederschlag erreichten 0,29 µg/L in den USA [11], 0,21 µg/L in Deutschland [1] und 0,70 µg/L in China [12]. Die mittleren TFA-Konzentrationen im Trinkwasser, die von 0,08 µg/L (USA) bis 0,5 µg/L (Schweiz) und sogar bis zu 1,5 µg/L (Deutschland) reichten, waren entweder ähnlich oder höher als die in der EU-Trinkwasserrichtlinie vorgeschlagenen Grenzwerte für PFAS im Trinkwasser (0,5 µg/L) [9,13].

Die Schwellenwerte für irreversible Wirkungen sind unklar, aber Studien zur Toxizität bei Säugetieren deuten darauf hin, dass TFA auch für die Leber und die Fortpflanzung schädlich ist [3].



**Abbildung 1.** TFA und PFOA sind Arten von polyfluorierten Carbonsäuren. PFOA, das als "C8" bezeichnet wird, enthält acht Kohlenstoffatome, während TFA, das kleinste Molekül in dieser Untergruppe, zwei Kohlenstoffatome hat (nach Burtscher-Schaden et al. [9]).

Da herkömmliche Wasseraufbereitungstechnologien nur eine geringe oder gar keine Entfernungseffizienz für TFA bieten, wächst das Risiko seiner Anreicherung [3]. Daher fordern Umwelt- und Gesundheitsbehörden strengere Regulierungsmaßnahmen - wie die Beschränkung PFAS-haltiger Pestizide und fluorierter Gase - , um die weitere TFA-Bildung zu begrenzen [3,8,9].

Das deutsche Umweltbundesamt (UBA) hat für das Jahr 2020 einen gesundheitlichen Richtwert von 60 µg/L für TFA im Trinkwasser festgelegt, empfiehlt aber, 10 µg/L als Vorsichtsmaßnahme nicht zu überschreiten [14]. Andere Länder haben ähnliche Grenzwerte festgelegt, beispielsweise 9 µg/L in Dänemark und 2,2 µg/L in den Niederlanden [15,16]. Nach Erkennen der Notwendigkeit einer zuverlässigen

Überwachung hat die deutsche Normungsorganisation DIN eine Norm für die TFA-Analyse entwickelt [7]. Diese Methode verwendet die Direktinjektion - Flüssigkeitschromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) - zur Quantifizierung von TFA im Bereich von 0,1-3,0 µg/L und wurde von 12 Labors in Deutschland und der Schweiz validiert [8].

Im Gegensatz zu den meisten Normen erlaubt die DIN 38407-53 die Verwendung verschiedener LC-Techniken, wie HPLC mit HILIC-, Mixed-Mode- und Reversed-Phase (RP)-Säulen sowie ionenchromatographische Ansätze [7,8]. Metrohm

hat die Methode für die IC-MS/MS-Analyse weiterentwickelt und angepasst, um die Anforderungen der DIN 38407-53 [7,8] zu erfüllen. Diese Application Note beschreibt den Methodenaufbau mit einem Metrohm-Ionenchromatographen, einer Metrosep A Supp 17 Trennsäule und der Massendetektion mit einem 6475 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer von Agilent ( $m/z$  113 und 69). Die Methode hat alle Anforderungen erfüllt und wurde im Ringversuch erfolgreich validiert.

## PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Der Probensatz umfasste acht Proben: zwei Grundwasserproben, eine Regenwasserprobe, eine Trinkwasserprobe, zwei Oberflächenwasserproben und zwei aufgestockte Oberflächenwasserproben mit Nennkonzentrationen von 1,18 µg/L und 2,87 µg/L TFA [8]. Die Proben wurden in einer Kühlbox

transportiert und vor der Analyse auf 4 °C gekühlt. Alle Proben wurden innerhalb von sieben Tagen analysiert. Für die weitere Anreicherung der Proben und Standards wurde kein interner Standard verwendet.

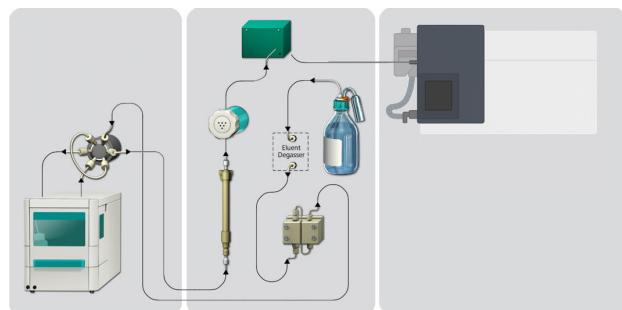
## DURCHFÜHRUNG

Standards und Proben wurden direkt injiziert, ohne weitere Vorbereitungsschritte (**Abbildung 2**). Nach der Trennung auf einer Anionenaustauschersäule wurde TFA mit einem 6475 Triple-Quadrupol-Massenspektrometer von Agilent detektiert.

Die Handhabung von Probe und Standard erfolgte mit dem schnellen 889 IC Sample Center – cool, wodurch die Stabilität der zu messenden Flüssigkeiten erhöht wurde. Eine Full-Loop-Injektion von 100 µL wurde durchgeführt. Alle Messungen – einschließlich Standards, Blindwerten (0,1 % Methanol in ultrapurem Wasser) und Proben – wurden dreifach durchgeführt.

Die Trennung von TFA von anderen anionischen Spezies erfolgte auf einer Metrosep A Supp 17 – 150/4.0 Säule, ausgestattet mit einer Metrosep RP2 Guard/3.5 Vorsäule zur weiteren Verbesserung der Trennung von anionischen organischen Verbindungen. Es wurden isokratische Bedingungen verwendet, zusammen mit einem Carbonat-Eluenten, zu dem Methanol hinzugegeben wurde (d. h. 5 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> und 10 % Methanol), um die Verdampfung während der Elektrospray-Ionisation (ESI) zu verbessern.

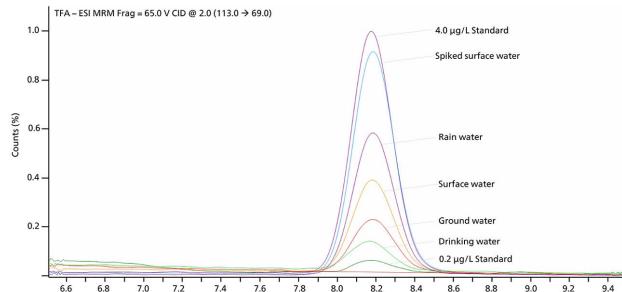
Die IC wurde mit der Software MagIC Net gesteuert, die neben dem Target-Analyten Trifluoressigsäure auch den Nachweis wichtiger Anionen durch Leitfähigkeitsmessungen ermöglicht. Das MS-Signal wurde mit einem Agilent 6475 TQ MS mit einer Fragmentierungsspannung von 65,0 V aufgenommen, um die Ionen bei *m/z* 113 und 69 zu trennen. Die Datenerfassung wurde mit der Agilent



**Abbildung 2.** Setup für die TFA-Analyse in Wasserproben mit einem 889 IC Sample Center - cool (links) für die Probenaufgabe und -kühlung, einem Metrohm 940 Professional IC und einem 6475 TQMS von Agilent Technologies (rechts). Der Leitfähigkeitsdetektor ist optional, wird aber für die Methodenentwicklung dringend empfohlen, da er eine effektive Überwachung hoher Konzentrationen anionischer Verbindungen ermöglicht, um deren Eintritt in das ESI-MS/MS zu verhindern.

MassHunter Workstation (LC/TQ) Software durchgeführt. Zur Synchronisierung der beiden Geräte ist eine Remote-Box erforderlich.

Das System wurde im Bereich von 0,2 bis 4,0 µg/L kalibriert (**Abbildung 3**). Die Erweiterung des Kalibrierbereichs auf 6,0 µg/L zeigte jedoch eine ausreichende Linearität des massenspektrometrischen (MS) Signals.



**Abbildung 3.** Überlagerung der Chromatogramme verschiedener Wasserproben und TFA-Standards von 0,2 µg/L bis 4,0 µg/L. Die Chromatogramme wurden im MS/MS-Modus mit einem Agilent 6475 TQ im dMRM-Modus mit einer Fragmentierungsspannung von 65,0 V (kollisionsinduzierte Dissoziation, CID) und einer Massenfraktionierung von 113,0 bis 69,0 aufgenommen.

Die Kalibrierkurven für das MS-Signal zeigten lineare Beziehungen, wie von der DIN-Methode gefordert, mit einem R<sup>2</sup>-Wert von 0,9998. Die berechnete Genauigkeit für die Standards, basierend auf der Korrelation zwischen Zielkonzentration und gemessener Konzentration, lag zwischen 98,1 % und 110,1 %. Die Nachweisgrenze (LOD) und die Bestimmungsgrenze (LOQ) wurden in Übereinstimmung mit DIN 32645 [17] mit 0,017 µg/L bzw. 0,062 µg/L bestimmt.

Nach dreifacher Analyse der Proben schwankten die gemessenen Konzentrationen von TFA zwischen 0,38 µg/L im Trinkwasser und 1,93 µg/L im Regenwasser (**Tabelle 1**). Die aufgestockten Oberflächenwasserproben hatten nominale Konzentrationen von 1,18 µg/L und 2,87 µg/L. Die

Ergebnisse des Validierungstests lagen bei  $1,28 \pm 0,01$  µg/L und  $2,92 \pm 0,01$  µg/L, was einer Wiederfindungsrate von 109 % bzw. 102 % entspricht.

Die Abweichung bei den dreifach Messungen der Proben lag zwischen 0,3 % und 2 %. Die Retentionszeit (RT) von TFA betrug im Durchschnitt 8,2 min, mit einer Abweichung von weniger als 0,1 %. Bei den Qualitätskontrollstandards mit Konzentrationen von 0,6 µg/L und 2,0 µg/L betrugen die Wiederfindungsraten bei drei Wiederholungsbestimmungen innerhalb der Probenserienmessung 100 % bzw. 99 %. Alle Ergebnisse erfüllten die Anforderungen des Ringversuchs, der zur Validierung der Methode dient.

**Tabelle 1.** Zusammenfassung der Ergebnisse der dreifachen Wasseranalyse für TFA.

Probe	R1 [µg/L]	R2 [µg/L]	R3 [µg/L]	Mittelwert [µg/L]	SD [µg/L]
Grundwasser	0.7058	0.7031	0.6922	0.7004	0.01
Grundwasser	0.7745	0.7728	0.7602	0.7692	0.01
Regenwasser	1.9488	1.9382	1.9116	1.9329	0.02
Trinkwasser	0.3812	0.3796	0.3856	0.3821	0.00
Oberflächenwasser	1.2145	1.2214	1.2165	1.2175	0.00
Oberflächenwasser	0.9859	0.9649	0.9478	0.9662	0.02
Dotiertes Oberflächenwasser (1.18 µg/L TFA spike)	1.2930	1.2820	1.2732	1.2827	0.01
Dotiertes Oberflächenwasser (2.87 µg/L TFA spike)	2.9365	2.9203	2.9139	2.9236	0.01

## FAZIT

Die Entwicklung und Validierung von DIN 38407-53 durch IC-MS/MS stellt einen bedeutenden Fortschritt bei den Analysemethoden für die Kopplung zwischen IC und der Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) dar. Insbesondere bei der Analyse kurzkettiger fluorierter Verbindungen, wie z.B. TFA, weist die IC-MS/MS aufgrund ihrer hohen Matrixresistenz und

langen Säulenlebensdauer deutliche Vorteile auf. Dies macht die IC-MS/MS-Kopplung zu einer validierten Alternative zu herkömmlichen HPLC-Methoden. Die entwickelte Methode erfüllt die Anforderungen der DIN 38407-53. Automatisierte Funktionen wie die Inline-Verdünnung erhöhen die Praktikabilität der IC-Analyse von Trifluoressigsäure zusätzlich.

## REFERENZEN



## CONTACT

Metrohm Deutschland  
In den Birken 3  
70794 Filderstadt

info@metrohm.de

## KONFIGURATION



### 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

Der 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP ist das intelligente **Zwei-Kanal-IC-Gerät** mit **sequenzieller Suppression** (ein Kanal) und einer **Peristaltikpumpe** zur Suppressorregeneration. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Standardgerät für parallele Anionen- und Kationenbestimmungen
- Spurenanalytik für Anionen und Kationen
- Online-Monitoring für Anionen und Kationen



### 889 IC Sample Center – cool

Das 889 IC Sample Center – cool ist die geeignete Automationslösung, wenn Sie nur über sehr wenig Probe verfügen. Er verfügt gegenüber dem 889 IC Sample Center zusätzlich über eine Kühlfunktion und ist damit der ideale Probenwechsler für biochemisch relevante oder thermisch instabile Proben.



#### **Metrosep A Supp 17 - 150/4.0**

Die Trennsäule Metrosep A Supp 17 - 150/4.0 ist die Säule der Wahl für Anionenbestimmungen, die eine gute Trennleistung und kurze Trennzeiten bei Raumtemperatur erfordern. Die maximale Flussrate von 1.4 mL/min bietet hierzu die Möglichkeit zur Optimierung der Bestimmung. Die Metrosep A-Supp-17-Säulen überzeugen durch ein gutes Preis/Leistungsverhältnis.



#### **Metrosep RP 2 Guard/3.5**

Die Metrosep RP 2 Guard/3.5 ist eine universell einsetzbare Guardsäule, welche die analytische Trennsäule zuverlässig vor Verunreinigungen schützt. Kleinstpartikel, Spuren von Eisenoxid oder Bakterien werden sicher entfernt. Die Metrosep RP 2 Guard/3.5 hilft Kosten sparen, da mit nur wenigen Handgriffen die Filterdisk getauscht werden kann.