



Application Note AN-M-017

Análisis IC-MS/MS de ácido trifluoroacético según DIN 38407-53

TFA: un producto de degradación generalizada de PFAS que genera cada vez más preocupación

El ácido trifluoroacético (TFA) en aguas superficiales y potables genera preocupación debido a su persistencia, movilidad y limitadas opciones de mitigación [1–3]. Como producto de degradación de PFAS (sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas), el TFA se libera principalmente en sitios industriales, mientras que las fuentes secundarias incluyen la degradación de compuestos que contienen grupos trifluorometilos (por ejemplo, ciertos pesticidas y refrigerantes) [4–6]. Para

garantizar un monitoreo confiable, el organismo alemán de normalización DIN publicó la norma para el análisis de TFA mediante LC-MS/MS de inyección directa. Este método cuantifica AGT en un rango de 0,1 a 3,0 µg/L y ha sido validado en 12 laboratorios en Alemania y Suiza.7,8].

Esta nota de aplicación describe la configuración del método validado utilizando cromatografía iónica (CI) con posterior detección de masas con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo.

ANTECEDENTES

El ácido trifluoroacético (TFA) es una sustancia PFAS (sustancia perfluoroalquilada y polifluoroalquilada) de cadena ultracorta que pertenece al grupo de ácidos carboxílicos polifluorados, como los ácidos perfluorooctanoicos (PFOA) **Figura 1** [9]. En general, las concentraciones de TFA son significativamente más altas que las de otros PFAS, ya que el TFA es un producto de degradación de esas sustancias [3]. Por ejemplo, los TFA representaron más del 90% de los PFAS totales medidos en varias aguas potables alemanas analizadas [9]. Se ha convertido en una sustancia ubicua y persistente con alta movilidad debido a su falta de sorción, y plantea varias preocupaciones ambientales y regulatorias [3–6,10]. Las emisiones constantes de TFA están provocando aumentos irreversibles en sus concentraciones, por

ejemplo, en el agua de lluvia, los suelos y el agua potable, pero también en el suero humano, las plantas y los alimentos de origen vegetal [3]. Las concentraciones medias medidas de TFA en la precipitación alcanzaron 0,29 µg/L en los EE.UU. [11], 0,21 µg/L en Alemania [1], y 0,70 µg/L en China [12]. Las concentraciones medianas de TFA en el agua potable varían de 0,08 µg/L (EE. UU.) a 0,5 µg/L (Suiza), e incluso hasta 1,5 µg/L (Alemania) fueron similares o superiores a los límites propuestos de PFAS totales en el agua potable (0,5 µg/L) en la Directiva de Agua Potable de la UE [9,13].

Los umbrales para los efectos irreversibles no están claros, pero los estudios de toxicidad en mamíferos sugieren que el TFA también es perjudicial para el hígado y la reproducción.[3].

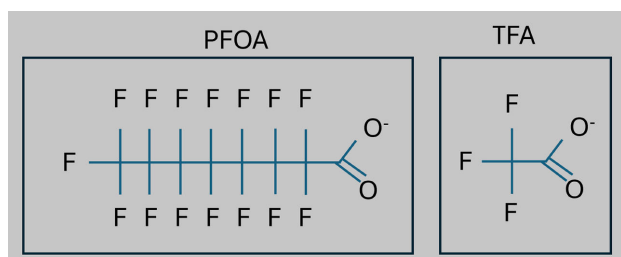


Figure 1. TFA y PFOA son tipos de ácidos carboxílicos polifluorados. El PFOA, denominado «C8», contiene ocho átomos de carbono, mientras que el TFA, el más pequeño de este subgrupo, tiene dos átomos de carbono (adaptado de Burtcher-Schaden et al. [9]).

Como las tecnologías convencionales de tratamiento de agua ofrecen poca o ninguna eficiencia de eliminación de TFA, el riesgo de su acumulación está aumentando [3]. En consecuencia, las agencias ambientales y de salud están pidiendo medidas regulatorias más estrictas, como restringir los pesticidas que contienen PFAS y los gases fluorados, para limitar una mayor formación de TFA [3,8,9].

En 2020, la Agencia Federal de Medio Ambiente de Alemania (UBA) estableció un valor de referencia para la salud de 60 µg/L para TFA en el agua potable, pero recomienda no superar los 10 µg/L como medida de precaución [14]. Otros países han establecido límites similares, como 9 µg/L en Dinamarca y 2,2 µg/L en los Países Bajos [15,16].

Reconociendo la necesidad de un monitoreo

confiable, la organización de estandarización alemana DIN desarrolló un estándar para el análisis de TFA [7]. Este método utiliza inyección directa (cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem [LC-MS/MS]) para cuantificar TFA en el rango de 0,1 a 3,0 µg/L y fue validado por 12 laboratorios en Alemania y Suiza [8].

A diferencia de la mayoría de las normas, la norma DIN 38407-53 permite el uso de varias técnicas de LC, como HPLC con HILIC, columnas de modo mixto y de fase inversa (RP), así como enfoques de cromatografía

iónica [7,8]. Metrohm mejoró y adaptó el método de análisis IC-MS/MS para cumplir con los requisitos descritos en DIN 38407-53 [7,8]. Esta nota de aplicación describe la configuración del método utilizando un cromatógrafo de iones Metrohm, una columna de separación Metrosep A Supp 17 y detección de masas con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo 6475 de Agilent. (m/z 113 y 69). El método cumplió todos los requisitos y fue validado con éxito durante la prueba interlaboratorio.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE MUESTRA

Se incluyeron ocho muestras en el conjunto de muestras: dos muestras de agua subterránea, una muestra de agua de lluvia, una muestra de agua potable, dos muestras de agua superficial y dos muestras de agua superficial enriquecidas con concentraciones nominales de 1,18 µg/L y 2,87 µg/L

de TFA [8]. Las muestras fueron transportadas en una hielera y refrigeradas a 4 °C antes del análisis. Todas las muestras fueron analizadas dentro de siete días. No se utilizó ningún estándar interno para la fortificación adicional de las muestras y los estándares.

EXPERIMENTO

Los estándares y las muestras se inyectaron directamente sin más pasos de preparación (Figura 2). Después de la separación en una columna de intercambio aniónico, se detectó TFA con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo 6475 de Agilent.

El manejo de muestras y estándares se realizó mediante el rápido 889 IC Sample Center – cool, aumentando la estabilidad de los líquidos a medir. Se ejecutó una inyección de bucle completo de 100 µL. Todas las mediciones, incluidos los estándares, los blancos (0,1 % de metanol en agua ultrapura) y las muestras, se realizaron por triplicado.

La separación de TFA de otras especies aniónicas se logró en una columna Metrosep A Supp 17 – 150/4.0 equipada con una columna Metrosep RP2 Guard/3.5 para mejorar aún más la separación de compuestos orgánicos aniónicos. Se utilizaron condiciones isocráticas junto con un eluyente de carbonato fortificado con metanol (es decir, 5 mmol/L de Na_2CO_3 , 0,2 mmol/L de NaHCO_3 , y 10% de metanol) para mejorar la evaporación durante la ionización por electrospray (ESI).

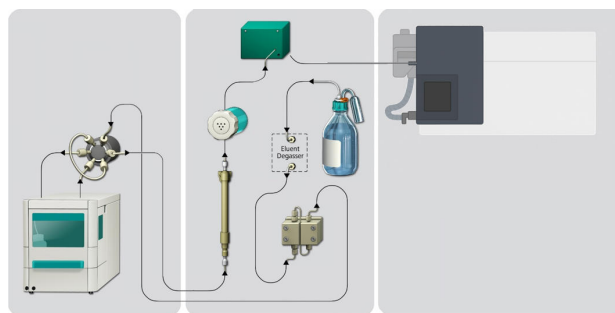


Figure 2. Configuración para el análisis de TFA en muestras de agua con un centro de muestras IC 889 – frío (izquierda) para la introducción y el enfriamiento de la muestra, un IC Metrohm 940 Professional y un TQMS 6475 de Agilent Technologies (derecha). El detector de conductividad es opcional pero muy recomendable para el desarrollo de métodos, ya que permite un monitoreo efectivo de altas concentraciones de compuestos aniónicos para evitar su ingreso al ESI-MS/MS.

El CI se controló con el software MagIC Net que permite la detección de aniones mayoritarios, además del ácido trifluoroacético objetivo, a través de mediciones de conductividad. La señal MS se registró utilizando un Agilent 6475 TQ MS con un voltaje de fragmentación de 65,0 V para separar los iones en m/z 113 y 69. La adquisición de datos se realizó utilizando el software Agilent MassHunter

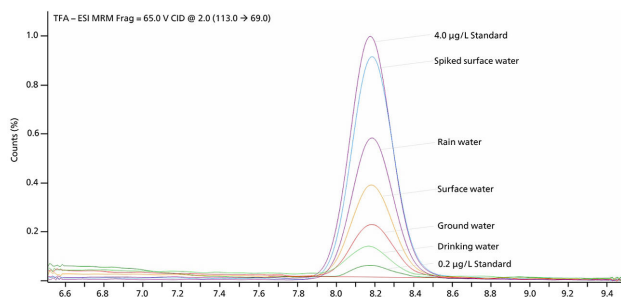


Figure 3. Superposición de cromatogramas de varias muestras de agua y estándares de TFA de 0,2 µg/L y 4,0 µg/L. Los cromatogramas se registraron en modo MS/MS utilizando un Agilent 6475 TQ en modo dMRM con un voltaje de fragmentación de 65,0 V (disociación inducida por colisión, CID) y un fraccionamiento másico de 113,0 a 69,0.

RESULTADOS

Las curvas de calibración de la señal MS mostraron relaciones lineales, como lo requiere el método DIN, con un valor R^2 de 0,9998. La precisión calculada para los estándares, basada en la correlación entre la concentración objetivo y la concentración medida, osciló entre el 98,1% y el 110,1%. Los límites de detección (LOD) y los límites de cuantificación (LOQ) se determinaron en 0,017 µg/L y 0,062 µg/L, respectivamente, de acuerdo con DIN 32645 [17]. Después del análisis por triplicado de las muestras, las concentraciones medidas de TFA variaron de 0,38 µg/L en agua potable a 1,93 µg/L en agua de lluvia (Tabla 1). Las muestras de agua superficial enriquecidas tenían concentraciones nominales de 1,18 µg/L y 2,87 µg/L. Los resultados de la prueba de

Workstation (LC/TQ). Para sincronizar los dos dispositivos es necesaria una caja remota.

El sistema se calibró dentro del rango de 0,2 a 4,0 µg/L (Figura 3). Sin embargo, la ampliación del rango de calibración a 6,0 µg/L demostró una linealidad adecuada en la señal de espectrometría de masas (MS).

validación fueron $1,28 \pm 0,01$ µg/L y $2,92 \pm 0,01$ µg/L, lo que indica recuperaciones del 109% y 102%, respectivamente.

La variación en las mediciones triplicadas de las muestras osciló entre el 0,3% y el 2%. El tiempo de retención (RT) del TFA fue en promedio de 8,2 min, con una variación de menos del 0,1%.

Para los estándares de control de calidad (CC) en concentraciones de 0,6 µg/L y 2,0 µg/L, las tasas de recuperación en tres determinaciones replicadas dentro de la medición de la serie de muestras fueron del 100 % y del 99 %, respectivamente.

Todos los resultados cumplieron con los requisitos del ensayo interlaboratorio, que sirve para validar el método.

Tabla 1. Resumen de los resultados del análisis de agua por triplicado para TFA.

Muestra	R1 [µg/L]	R2 [µg/L]	R3 [µg/L]	Medio [µg/L]	SD [µg/L]
Agua subterránea	0,7058	0,7031	0,6922	0,7004	0,01
Agua subterránea	0,7745	0,7728	0,7602	0,7692	0,01
Agua de lluvia	1,9488	1,9382	1,9116	1,9329	0,02
Agua potable	0,3812	0,3796	0,3856	0,3821	0,00
Aguas superficiales	1,2145	1,2214	1,2165	1,2175	0,00
Aguas superficiales	0,9859	0,9649	0,9478	0,9662	0,02
Agua superficial con picos (Aumento de TFA de 1,18 µg/L)	1,2930	1,2820	1,2732	1,2827	0,01
Agua superficial con picos (Aumento de TFA de 2,87 µg/L)	2,9365	2,9203	2,9139	2,9236	0,01

CONCLUSIÓN

El desarrollo y la validación de la norma DIN 38407-53 mediante IC-MS/MS marca un avance significativo en los métodos analíticos para IC acoplado con espectrometría de masas en tandem (MS/MS). En particular, la IC-MS/MS presenta claras ventajas al analizar compuestos fluorados de cadena corta, como el TFA, debido a su alta resistencia de matriz y a su larga vida útil de la columna. Esto hace que el IC-

MS/MS sea un enfoque alternativo validado a los métodos HPLC tradicionales.

El método desarrollado cumple los requisitos de la norma DIN 38407-53. Las funciones automatizadas, como la dilución en línea, mejoran aún más la practicidad del uso de IC para el análisis de ácido trifluoroacético.

REFERENCIAS

1. Freeling, F.; Björnsdotter, M. K. Assessing the Environmental Occurrence of the Anthropogenic Contaminant Trifluoroacetic Acid (TFA). *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 2023, *41*, 100807. DOI:10.1016/j.cogsc.2023.100807
2. de los Angeles Garavagno, M.; Holland, R.; Khan, M. A. H.; et al. Trifluoroacetic Acid: Toxicity, Sources, Sinks and Future Prospects. *Sustainability* 2024, *16* (6), 2382. DOI:10.3390/su16062382
3. Arp, H. P. H.; Gredelj, A.; Glüge, J.; et al. The Global Threat from the Irreversible Accumulation of Trifluoroacetic Acid (TFA). *Environ. Sci. Technol.* 2024, *58* (45), 19925–19935. DOI:10.1021/acs.est.4c06189
4. Freeling, F.; Behringer, D.; Heydel, F.; et al. Trifluoroacetate in Precipitation: Deriving a Benchmark Data Set. *Environ. Sci. Technol.* 2020, *54* (18), 11210–11219. DOI:10.1021/acs.est.0c02910
5. Scheurer, M.; Nödler, K.; Freeling, F.; et al. Small, Mobile, Persistent: Trifluoroacetate in the Water Cycle – Overlooked Sources, Pathways, and Consequences for Drinking Water Supply. *Water Res.* 2017, *126*, 460–471. DOI:10.1016/j.watres.2017.09.045
6. Joerss, H.; Freeling, F.; van Leeuwen, S.; et al. Pesticides Can Be a Substantial Source of Trifluoroacetate (TFA) to Water Resources. *Environ. Int.* 2024, *193*, 109061. DOI:10.1016/j.envint.2024.109061
7. DIN. DIN 38407-53: German Standard Methods for the Examination of Water, Waste Water and Sludge – Jointly Determinable Substances (Group F) – Part 53: Determination of Trifluoroacetic Acid (TFA) in Water – Method Using Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection (LC-MS/MS) after Direct Injection (F 53), 2024. <https://www.dinmedia.de/de/norm/din-38407-53/392802170>
8. Dorgerloh, U.; Becker, R.; Freeling, F.; et al. Standardising the Quantification of Trifluoroacetic Acid in Water: Interlaboratory Validation Trial Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometric Detection (LC-MS/MS). *Accreditation Qual. Assur.* 2025. DOI:10.1007/s00769-025-01640-2
9. Burtscher-Schaden, H.; Clausing, P.; Lyssimachou, A.; Roynel, S. *TFA - A Forever Chemical in the Water We Drink*; PAN Europe Report, 10 July 2024; PAN Europe: Brussels, Belgium, 2024; p 32.
10. ECHA. *Trifluoroacetic acid*. ECHA Chemicals Database. <https://chem.echa.europa.eu/100.000.846/overview?searchText=trifluoroacetic> (accessed 2025-06-17).
11. Pike, K. A.; Edmiston, P. L.; Morrison, J. J.; et al. Correlation Analysis of Perfluoroalkyl Substances in Regional U.S. Precipitation Events. *Water Res.* 2021, *190*, 116685. DOI:10.1016/j.watres.2020.116685
12. Sun, B.; Wang, J. Food Additives. In *Food Safety in China: Science, Technology, Management and Regulation*, Joseph J. Jen, Junshi Chen (Eds.); John Wiley & Sons Ltd, 2017.
13. European Parliament. DIRECTIVE (EU) 2020/2184 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2020 on the Quality of Water Intended for Human Consumption, 2020.
14. Umweltbundesamt. Ableitung Eines Gesundheitlichen Leitwertes Für Trifluoressigsäure (TFA). *UBA Ger.* 20201305.
15. Ministry of the Environment and Gender Equality. Executive Order on Water Quality and Supervision of Water Supply Facilities, BEK Nr 1023 of 29/06/2023. 2023.
16. Dutch National Institute for Public Health. Appendix to RIVM Letter to ILT: "Advice Indicative Drinking Water Guideline Value Trifluoroacetic Acid (TFA)." *Natl. Inst. Public Health Environ. RIVM* 20230704 2023.
17. DIN. DIN 32645:2008-11: Chemical Analysis - Decision Limit, Detection Limit and Determination Limit under Repeatability

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

El 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP es un aparato inteligente CI **bicanal** con **supresión secuencial** (un canal) y una **bomba peristáltica** para la regeneración de supresores. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Aparato estándar para determinaciones en paralelo de cationes y aniones
- Análisis de trazas para aniones y cationes
- Supervisión online para aniones y cationes



889 IC Sample Center – cool

El 889 IC Sample Center - cool es la solución de automatización perfecta para cuando se dispone de muy poca cantidad de muestra. A diferencia del 889 IC Sample Center, también dispone de una función de refrigeración que lo convierte en el cambiador de muestras ideal para muestras inestables térmicamente o bioquímicamente relevantes.



Metrosep A Supp 17 - 150/4,0

La columna de separación Metrosep A Supp 17 - 150/4,0 es la columna predilecta para las determinaciones de aniones que precisan una buena eficacia de separación y tiempos de separación cortos a temperatura ambiente. El máximo flujo de 1,4 mL/min proporciona en estos casos la posibilidad de optimizar la determinación. Las columnas Metrosep A Supp 17 convencen por su buena relación calidad-precio.



Metrosep RP 2 Guard/3,5

La Metrosep RP 2 Guard/3,5 es una columna de protección de aplicación universal que protege de forma fiable la columna de separación analítica de contaminaciones. Las partículas más pequeñas, trazas de óxido de hierro o bacterias se eliminan de forma segura. La Metrosep RP 2 Guard/3,5 ayuda a reducir costes, ya que el disco de filtrado se puede cambiar con unas pocas maniobras.