

使用安捷伦喷射流技术的 Agilent 6460 三重四极杆液/质联用系统对食品基质和饮用水中全氟化合物进行亚飞克级靶标筛查的方法

应用简报

环境, 食品安全

作者

Peter JW Stone
Agilent Technologies Inc
Stevens Creek Boulevard
Santa Clara, CA, 95051
USA

Linda Côté and Jennifer Gushue
Agilent Technologies Ltd
Montreal, Quebec
Canada

Robert J. Letcher and Shaogang Chu
Environment Canada
National Wildlife Research Centre
Carleton University (Raven Road)
Ottawa, ON
Canada

摘要

本应用介绍了一种通过增加液相色谱系统在线污染物捕集模块, 实现对亚飞克级全氟羧化物 (PFCA) 和全氟磺酸盐 (PFSA) 进行可靠检测的、以免受背景成分干扰的可行方法。观测表明此方法对于所有的全氟化合物均具有良好的色谱分离度。本文对一组典型的 PFCA 和 PFSA 化合物加以分析, 所有化合物均在色谱柱上样量 (饮用水基质) 低于 75 fg ($S/N > 3$) 的条件下被检出。最灵敏的分析物 PFHxS、PFDS 和 PFBS 分别在 2.6、3.2 和 5 fg 水平上被检出。对于该组中的所有化合物, 加标猪肝基质提取物样品的方法检测限在整个分析过程中低于 600 fg 色谱柱上样量。该研究中任意分析物的空白进样均未观察到可检测的背景污染。整组化合物在五个数量级的范围内均呈线性, 且 R^2 值超过 0.996。



Agilent Technologies

前言

新兴污染物，如全氟化工业加工的副产品（PFC）的暴露、生物积累和潜在毒性一直是环境生物群和它们的食品链持续出现的问题。因为这些物质在大气中含量较高而且很稳定，因此很难获得可靠、准确的低浓度检测结果。

在本应用中，利用动态反应监测模式（DMRM）对饮用水和猪肝加标样品中的全氟羧酸盐（PFCA）和磺酸（PFSA）进行筛查分析，方法的检测低至亚飞克水平，并且未发现背景干扰 [1]。这种方法使得我们在很低的检测限下也能获得准确的鉴别结果。利用在线污染物捕集柱，可以保证液相色谱的洁净度，同时可以使用膜式脱气机，并且没有增加死体积或降低分析速度。

对包括同位素内标在内的一系列全氟化合物（PFCA & PFSA）进行了系统评价，内容包括灵敏度和线性范围。使用自动的碰撞电压和碰撞解离能量（CE）优化功能对每个组分的动态 MRM 进行优化，获得了最高的信噪比。对于全氟类化合物（PFCA & PFSA），安捷伦喷射流离子聚焦技术 [2] 的灵敏度比传统电喷雾高 14 倍。

表 1. 本研究涉及的化合物

目标化合物	
全氟-1-丁磺酸酯	(PFBS)
全氟-正己酸	(PFHxA)
全氟-正庚酸	(PFHpA)
全氟己烷磺酸盐	(PFHxS)
全氟正辛酸	(PFOA)
全氟-正壬酸	(PFNA)
全氟辛基磺酸盐	(PFOS)
全氟-正十一烷酸	(PFUA)
全氟-1-癸烷磺酸盐	(PFDS)
全氟-正十二烷酸	(PFDoA)
全氟正十三烷酸	(PFTrIA)
全氟-正十四烷酸	(PFTA)

实验

使用安捷伦 1200 SL 系列液相色谱/6460 三重四极杆质谱对样品进行了分析。液相色谱包括二元泵（G1312B）、真空脱气机（G1379B）、低残留自动进样器（G1367D）、柱温箱（G1316B）和 MassHunter 数据系统。

样品处理

由于实验耗材和器材的磨损会产生背景干扰，所以样品处理在痕量的全氟羧酸盐和磺酸盐检测中是非常重要的。在本应用的分析中考虑到这些因素，并采取措施消除了此类的交叉污染。用硅烷化的玻璃样品瓶收集固相萃取洗脱液。使用丁腈橡胶瓶盖和非 PTFE 吸头。实验室防护手套只使用丁腈橡胶手套。

仪器

快速高分离液相色谱及配置

配置：

安捷伦 1200 SL 二元泵：	(G1312B)
SL Plus 高性能微板自动进样器：	(G1367D)
控温器：	(G1330B)
柱温箱	(G1316B)

方法条件：

色谱柱：	安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm	
柱温：	55 °C	
进样体积：	1 μL	
样品温度：	4 °C	
洗针：	洗针座（100% 甲醇），5 秒	
流动相：	A = 2 mM 醋酸铵水溶液 B = 2 mM NH ₄ 醋酸铵甲醇溶液	
流速：	0.5 mL/min	
梯度：	时间 (min)	%B
	0	6
	0.5	6
	6	95
	8	95
总分析时间：	9.0 min (含 1 min 平衡时间)	

质谱条件 (DMRM) 和配置:

配置:

安捷伦 6460 喷射流离子聚焦技术的三重四极杆液质联用仪

离子源条件:

离子化模式:	ESI/安捷伦喷射流离子聚焦, 负模式
毛细管电压:	3750 V
喷嘴电压:	0 V
干燥气 (氮气):	4 L/min
干燥气温度:	320 °C
雾化器 (氮气):	60 psi
鞘流气温度:	350 °C
鞘流气流速:	12 L/min

动态 MRM 采集模式:

循环时间:	250 ms
总动态 MRM:	29
最大并行 MRM:	12
保留时间窗口:	30 sec
最小/最大驻留时间:	17.33/246.50 ms
Q1 和 Q2 分辨率:	0.7 amu [unit]
Delta EMV:	0 V

表 2. 动态 MRM PFSA/PFCA 设置

化合物名	母离子	Q1-分辨率	子离子	Q2-分辨率	碰撞电压	碰撞解离能量 (eV)	保留时间 (min)	保留时间窗口 (min)	离子极性
PFBS	298.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	133	45	3.623	1	负离子模式
PFBS (Q)	298.9	单位质量分辨率	98.9	单位质量分辨率	133	29	3.623	1	负离子模式
PFDA	512.9	单位质量分辨率	469	单位质量分辨率	102	5	5.543	1	负离子模式
PFDA (C13)2	514.9	单位质量分辨率	469.9	单位质量分辨率	102	5	5.542	1	负离子模式
PFDoA	612.9	单位质量分辨率	569	单位质量分辨率	97	5	5.961	1	负离子模式
PFDoA (C13)2	614.9	单位质量分辨率	570	单位质量分辨率	97	5	5.961	1	负离子模式
PFDoA (Q)	612.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	97	25	5.961	1	负离子模式
PFDS	598.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	205	94	5.752	1	负离子模式
PFHpA	362.9	单位质量分辨率	319	单位质量分辨率	66	5	4.626	1	负离子模式
PFHpA (Q)	362.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	66	13	4.626	1	负离子模式
PFHxA	312.9	单位质量分辨率	268.9	单位质量分辨率	66	5	4.143	1	负离子模式
PFHxA (C13)2	314.9	单位质量分辨率	269.9	单位质量分辨率	66	5	4.141	1	负离子模式
PFHxS	398.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	174	49	4.671	1	负离子模式
PFHxS (O18)2	402.9	单位质量分辨率	83.9	单位质量分辨率	174	49	4.671	1	负离子模式
PFHxS (Q)	398.9	单位质量分辨率	99	单位质量分辨率	174	45	4.671	1	负离子模式
PFNA	462.9	单位质量分辨率	418.9	单位质量分辨率	66	5	5.296	1	负离子模式
PFNA (C13)5	467.9	单位质量分辨率	423	单位质量分辨率	66	5	5.296	1	负离子模式
PFNA (Q)	462.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	66	17	5.296	1	负离子模式
PFOA	412.9	单位质量分辨率	368.9	单位质量分辨率	86	5	5.003	1	负离子模式
PFOA (C13)4	416.9	单位质量分辨率	371.9	单位质量分辨率	86	5	5.001	1	负离子模式
PFOA (Q)	412.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	86	13	5.003	1	负离子模式
PFOS	498.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	210	50	5.302	1	负离子模式
PFOS (C13)4	502.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	210	50	5.301	1	负离子模式
PFOS (Q)	498.9	单位质量分辨率	99	单位质量分辨率	210	50	5.302	1	负离子模式
PFTA	712.9	单位质量分辨率	669	单位质量分辨率	112	9	6.255	1	负离子模式
PFTriA	662.9	单位质量分辨率	619	单位质量分辨率	102	9	6.117	1	负离子模式
PFUA (C13)2	564.9	单位质量分辨率	519.9	单位质量分辨率	92	5	5.764	1	负离子模式
PFUA	562.9	单位质量分辨率	519	单位质量分辨率	92	5	5.762	1	负离子模式
PFUA (Q)	562.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	92	21	5.762	1	负离子模式

表 2 为动态多反应监测 (DMRM) 参数。使用安捷伦 MassHunter Optimizer 软件测定所有组分的最优碰撞电压、相应的碰撞能量 (CE) 和丰度最高的子离子。

离子源优化

为了使安捷伦 6460 电喷雾质谱对所有待测组分的灵敏度都达到最高, 用一个混标测定最优的动态多反应监测 (DMRM) 条件。另外, 使用系统的、单个离子源参数测定随后的样品。这样可以获得最佳灵敏度的优化条件, 但是每次都需要进行测定。

在真实情况下, 一个离子源条件无法使得所有化合物的灵敏度达到最佳, 所以需要设定一个综合的条件, 以适合所有的全氟类化合物的分析。即将发表的技术简报详细描述了这些化合物的优化条件。

结论与讨论

在线污染物捕集

对于飞克水平的 PFCA 和 PFSA 的高灵敏度检测，需要保证消除来自采样、流动相杂质或仪器组件的全氟化合物的背景干扰。PFCA 和 PFSA 一般情况下是很难自然降解的。它们的前体被广泛地释放到大气中，最后降解为 PFCA 和 PFSA。

一种防止 PFCA 和 PFSA 进入液相色谱系统的方法是，在液相泵头后、梯度混合器之前安装在线反相色谱柱或保护柱，以有效消除这些化合物。图 1 所示为低死体积二元泵的系统配置。

在线污染物捕集柱 [ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 mm × 30 mm, 3.5 μm, p/n-959936-902)] 在梯度泵混合点之前，在水相泵的通道上 (本文是泵 A)。在这个位置上，是 100% 的等梯度水相流动相，可以有效低捕集所有进入液相色谱的 PFCA 和 PFSA 污染物。另外，在线捕集柱在梯度混合点之前，因此不存在液相色谱分离的死体积。必须注意的是，这不是一个标准的液相配置，安捷伦可能不提供支持。

此外，样品的处理也需要极其小心注意，以保证在样品前处理过程中，不会人为引入 PFCA 和 PFSA 污染物。例如，要小心选择带橡胶密封垫的硅烷化玻璃瓶，选择不含 PTFE 的吸头和防护服 (丁腈橡胶手套)。样品稀释溶液也通过等梯度的 C18 捕集柱来去除 PFCA 和 PFSA 的背景干扰。

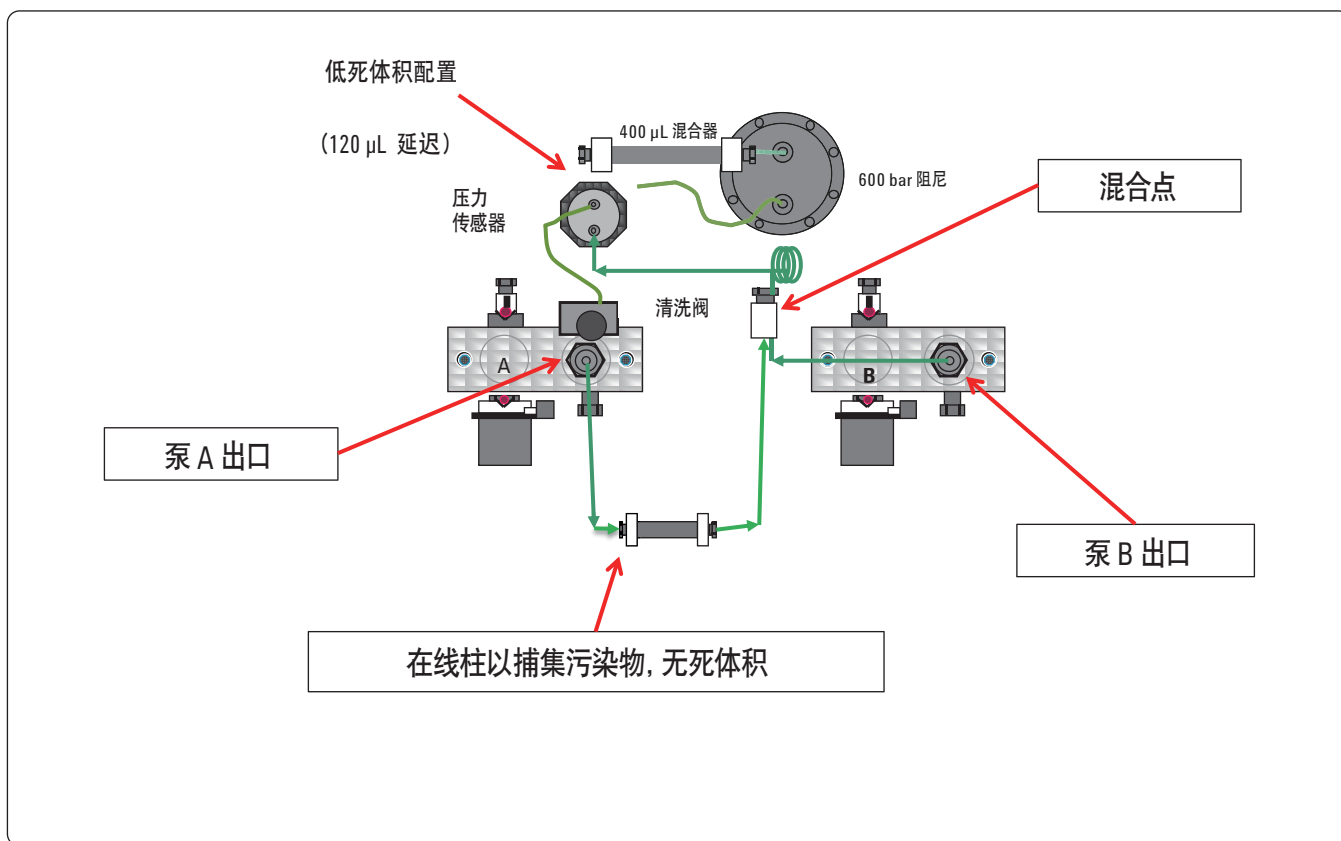


图 1. 在线污染物捕集结构图

图 2 为一个典型的低浓度 PFHxS 的分析 (transition 398.9 到 80 m/z) 分析谱图, 三次重复进样和一个在样品之前的空白样品。空白样品的基线完全没有发现 PFHxS 残留, 这表明在线污染物捕集柱能够保证液相色谱系统的洁净度。对于其它的化合物情况也相同, 由于篇幅有限, 本文中只显示了 PFHxS。完整的数据将在未来的应用简报中发表。

图 2 结果显示, 安捷伦 6460 三重四极杆液质的负极性分析对于饮用水中全氟化合物检测具有优异灵敏度。在本研究中, 全氟己烷磺酸具有极低的最低检测限 (LOD), 柱上进样量 (三次进样) 为 2.6 fg 时的信噪比大于 3。其它的全氟烃类的检测限为 75 fg (柱上进样量)。图 3 显示了 100 fg (柱上进样量) 水平的全氟烃类化合物的叠加谱图。

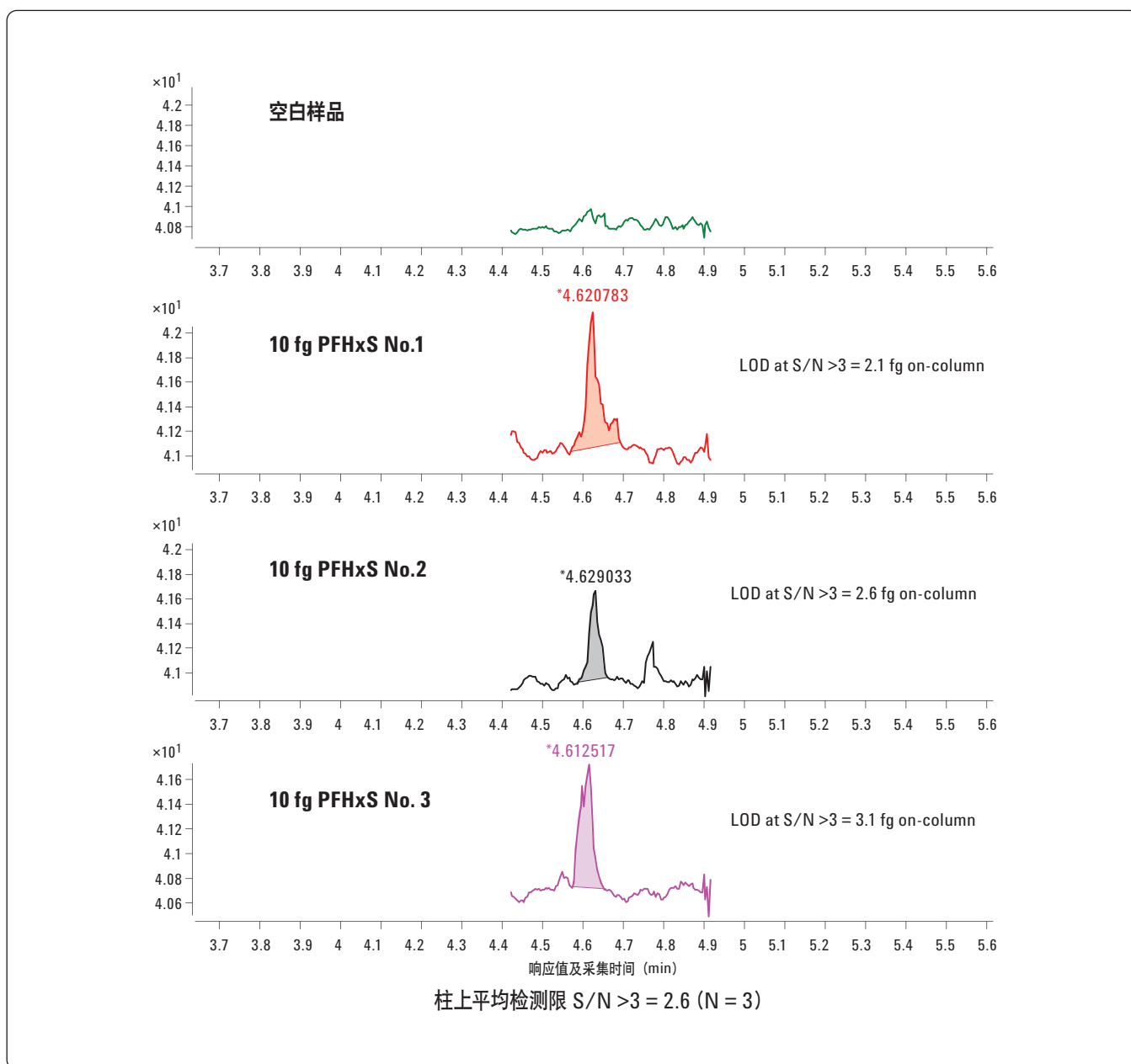


图 2. PFHxS 的饮用水加标样品 (10 fg 柱上量) 的三次进样分析和一次空白样品分析

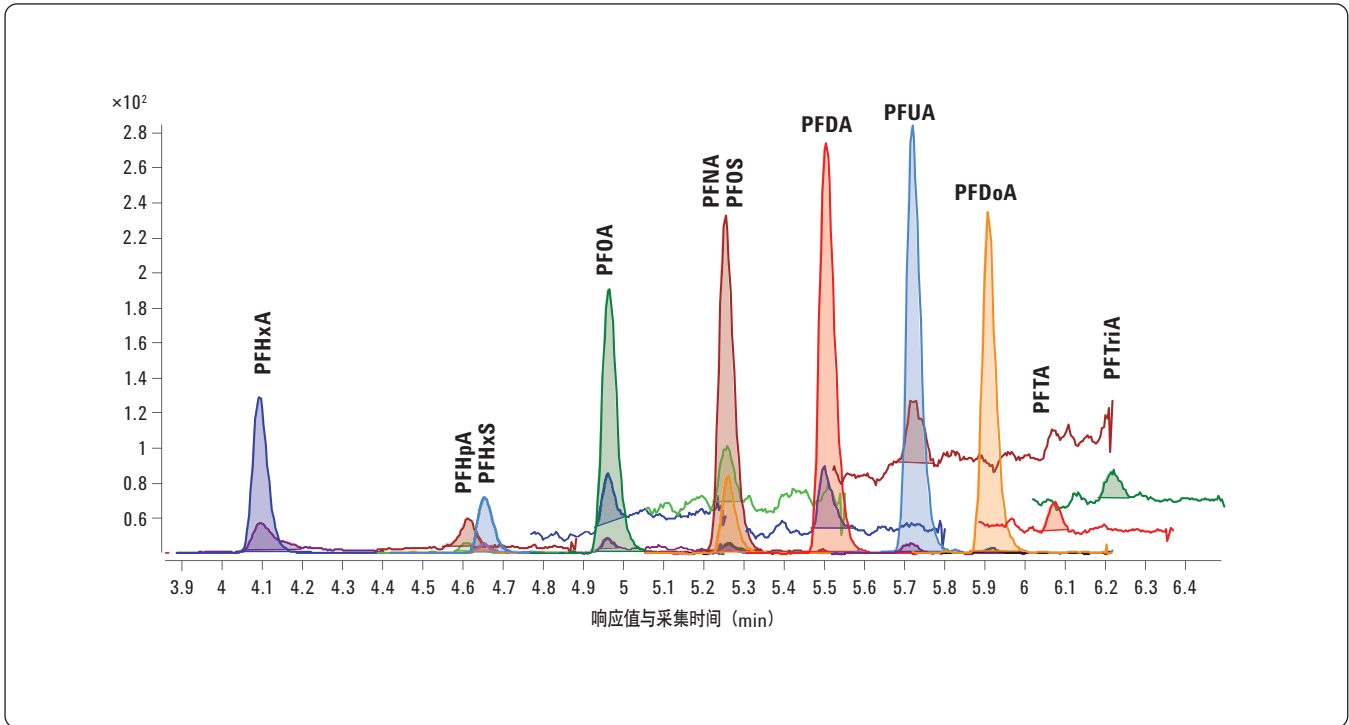


图3. PFCA/PFSA 动态多反应监测 (DMRM) 的离子流图, 柱上进样量为 100 fg (饮用水加标)

检测限 (饮用水加标)

表 3 列出了未经处理的饮用水的加标样品的全氟化合物 (PFC) 的检测限。所有全氟化合物 (PFCA/PFSA) 的检测限 (LOD) 均低于 75 fg (色谱柱上样量)。通过仔细优化碰撞电压、碰撞解离能量、以及安捷伦喷射流离子聚焦离子源参数, 得到了极高的灵敏度, 同时没有背景残留的干扰。

全氟类化合物 (PFOS) 的其中一个组分的内标校正曲线见图 4。三次重复进样的线性回归系数 (R^2) 是 0.99957820, 线性范围为 5 个数量级。

表 3. 饮用水加标样品的检测限

化合物	LOD (飞克, 柱上进样量, S/N >3)
PFBS	5
PFHxA	8.4
PFHpA	12.2
PFHxS	2.6
PFOA	43.7
PFNA	75
PFOS	5.7
PFDA	36.3
PFUA	44
PFDS	3.2
PFDoA	55.9
PFTrIA	74.2
PFTA	21.7

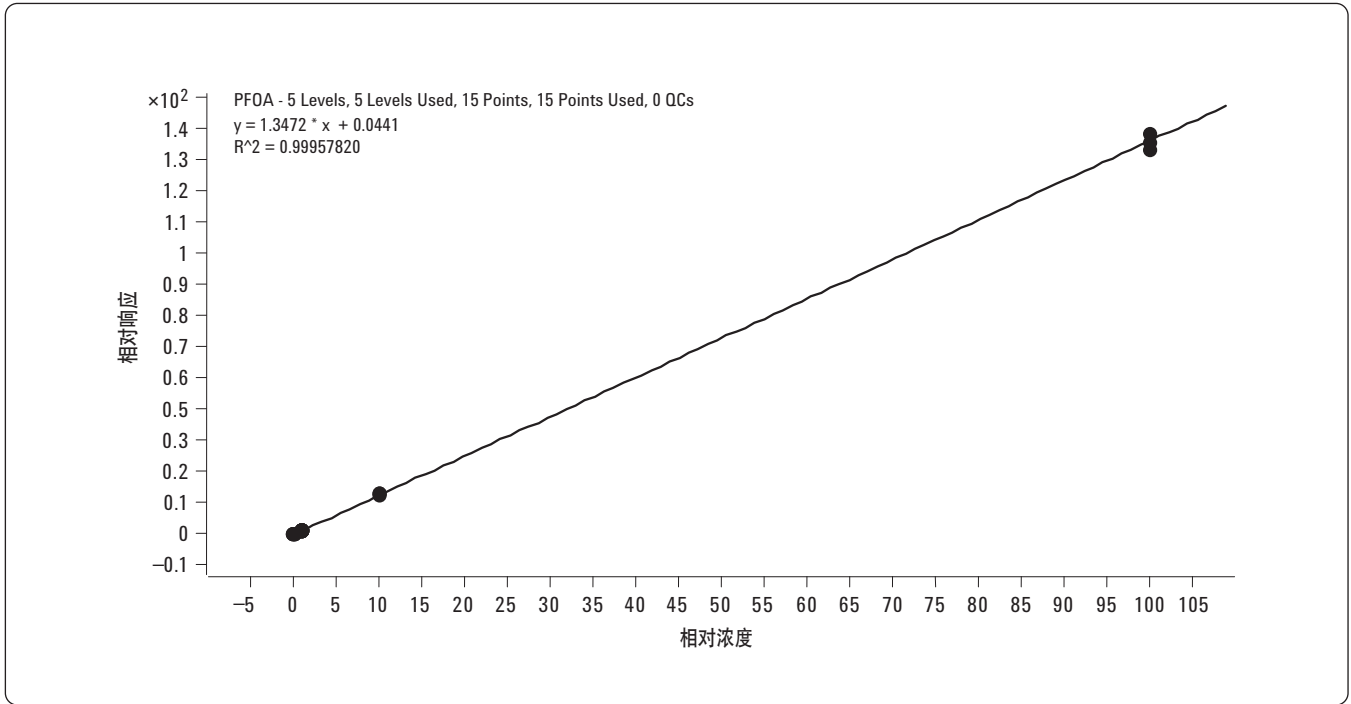


图 4. 饮用水全氟辛酸 (PFOA) 加标的校正曲线, 线性范围为 5 个数量级 (10 fg–100 pg 柱上进样量 [N = 3])

方法检测限 (猪肝加标样品)

表 4 总结了猪肝加标样品中每一个全氟化合物 (PFCA 或 PFSA) 的方法检测限 (MDL)。

在方法检测限 (MDL) 浓度下, 超过一半的化合物的分析结果精密度小于 10% RSD (基于峰面积)。

猪肝加标的方法检测限 (MDL) 在 600 fg 至 45 fg (柱上进样量) 之间。

表 4. PFCA/PFSA 的方法检测限

化合物 (猪肝加标样品提取物)	方法检测限 (飞克, 柱上进样量, S/N > 10)
PFBS	97.7
PFHxA	110.5
PFHpA	249
PFHxS	44.62
PFOA	291.5
PFNA	421.3
PFOS	58.3
PFDA	275.3
PFUA	303.9
PFDS	54.9
PFDoA	594.5
PFTriA	494.5
PFTA	503.2

结论

在安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪上，利用动态多反应监测（DMRM）建立的高灵敏度方法用于全氟化合物的分析（PFCA 和 PFSA），方法对复杂的食品基质和饮用水样品具有优异的精密度（在亚飞克的柱上进样量条件下）。

通过仔细的样品前处理和在线污染物捕集柱消除影响低浓度全氟化合物检测的 PFCA 和 PFCS 背景干扰。

用一个全氟化合物来优化离子源参数。与标准的电喷雾离子源相比，喷射流离子聚焦技术的离子源的灵敏度提高了 14 倍。

参考文献

1. “New Dynamic MRM Mode Improves Data Quality and Triple Quad Quantification in Complex Analyses,” Agilent Technologies publication 5990-3595EN.
2. “Agilent Jet Stream Thermal Gradient Focussing Technology,” Agilent Technologies publication 5990-3494EN.

更多信息

更多有关我们产品和服务，请访问我们的网站

www.agilent.com/chem/cn

更多有关本应用简报的详细信息，请联系

Peter JW Stone at Agilent Technologies Inc., 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, CA, 95051, USA.

此处引用的任何特定的商业产品或非营利组织、过程、或服务贸易名称、商标、制造商、或其他条款，并不一定构成或暗示它的认可、推荐、或美国政府的偏爱。本文作者表达的观点和意见不代表美国政府的意见，而且不得用于广告或产品宣传的目的。

www.agilent.com/chem

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2010
2010 年 2 月 22 日，中国印刷
5990-5313CHCN



Agilent Technologies