

固体样品中全氟/多氟烷基化合物 (PFAS) 的分析

依照 EPA 方法草案 1633 使用 Agilent Bond Elut PFAS
WAX SPE 柱和 Agilent Carbon S

作者

Matthew Giardina 和 Meg Juck
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报根据美国环境保护署 (US EPA) 方法草案 1633 (2022 年 12 月) 规定的方案, 评估了 Agilent PFAS Bond Elut WAX 和 Agilent Carbon S 对固体基质中全氟烷基和多氟烷基化合物 (PFAS) 的萃取和基质净化^[1]。本研究获得的结果与单实验室验证研究的方法草案中报告的结果具有可比性。在本研究中, 天然 PFAS 以及从固体基质中萃取的内标的总体平均回收准确度为 $98 \pm 2\%$, 而方法草案中为 $94 \pm 4\%$ (95% 置信度, 64 次测量)。总体精度也具有可比性。两组数据集的测量精度均远低于 20%。方法草案的总体平均 RSD 为 $3.9 \pm 0.6\%$, 而本研究的总体平均 RSD 为 $3.8 \pm 0.6\%$ (95% 置信度, 64 次测量)。

前言

US EPA 方法草案 1633 (2022 年 12 月) 的开发是为了整合水 (非饮用水)、固体 (土壤、生物固体和沉积物) 和组织样品中 PFAS 的萃取和定量流程^[1]。该方法主要是利用聚合物弱阴离子交换 (WAX) 固相萃取 (SPE) 选择性地萃取目标分析物, 并利用石墨化炭黑 (GCB) 去除基质。将目标分析物与同位素标记的标样同时萃取, 然后用液相色谱/串联四极杆 (LC/TQ) 质谱法进行分离和检测。迄今为止, 该方法草案包含了基于单实验室研究的固体验证结果, 涉及九个化合物类别的总共 40 种目标 PFAS。

该方法草案包含严格的质量控制流程, 以确保理想的数据可靠性。这些要求在方法草案的第 9 节中有所描述, 包括: 精度、准确度和方法检测限的初步论证 (第 9.2 节); 萃取内标和非萃取内标的回收 (第 9.3、9.4 节); 方法空白的确定 (第 9.5 节); 仪器校准验证和维护 (第 9.6 节); 实验室重复样品 (第 9.7 节); 必要时现场重复样品分析 (第 9.8 节); 以及必要时基质加标分析 (第 9.9 节)^[1]。

在本应用简报中, 使用 Bond Elut PFAS WAX SPE 柱和 Carbon S 作为 GCB 的替代品, 并使用 Agilent Infinity II 1290 液相色谱仪和 Agilent 6470B 三重四极杆 LC/MS, 按照方法草案的质量控制方案验证了固体基质的萃取和分析流程的性能。将结果与 US EPA 方法草案 1633 进行了比较, 以进行单实验室验证研究。

实验部分

化学品与试剂

天然 PFAS 标准品和同位素标记的类似物以试剂盒形式购自 Wellington Laboratories, Inc. (Guelph, ON, Canada)。HPLC 级甲醇 (MeOH) 购自 Honeywell (Muskegon, MI, USA)。试剂级乙酸、乙酸铵、甲酸铵和氢氧化铵购自 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)。试剂水使用 Millipore Sigma (Burlington, MA, USA) 的 Milli-Q Integral 3 纯化系统制备。渥太华砂 (20–30 目) 购自 Spectrum Chemicals and Laboratory Products (New Brunswick, NJ, USA), 用作试剂砂。表土购自当地的家庭园艺零售商 (Wilmington, DE, USA)。

溶液与标准品

标样配制和样品萃取所需的所有溶液均遵循方法草案中所列的方案^[1]。表 1 列出了天然 PFAS、萃取内标 (EIS) 和非萃取内标 (NIS) 的标称校准浓度水平。

表 1. 校准浓度

化合物	浓度水平 (ng/mL)						
	1	2	3	4	5	6	7
天然 PFAS							
PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoA、PFTeDA、PFTeDA、PFBS、PFPeS、PFHxS、PFHpS、PFOS、PFNS、PFDS、PFDoS、PFOSA、NMeFOSA、NEtFOSA、NMeFOSAA、NEtFOSSA	0.1	0.2	0.52	1.2	2.4	5.2	12
PFPeA、PFMPA、NFDHA、PFMBA、PFEESA	0.2	0.4	1.0	2.4	4.8	10.4	24
PFBA、4:2FTS、6:2FTS、8:2FTS、HFPO-DA、ADONA、9Cl-PF3ONS、11Cl-PF3OUdS、3:3FTCA	0.4	0.8	2.1	4.8	9.6	21	48
NMeFOSE、NEtFOSE	1	2	5.2	12	24	52	120
5:3FTCA、7:3FTCA	2	4	10.4	24	48	104	240
EIS							
¹³ C ₂ -PFDoA、 ¹³ C ₂ -PFTeDA、 ¹³ C ₆ -PFDA、 ¹³ C ₇ -PFUnA、 ¹³ C ₅ -PFNA	1	1	1	1	1	1	1
¹³ C ₃ -PFBS、 ¹³ C ₃ -PFHxS、 ¹³ C ₄ -PFHpA、 ¹³ C ₅ -PFHxA、 ¹³ C ₈ -PFOA、 ¹³ C ₈ -PFOS、 ¹³ C ₈ -PFOSA、D ₃ -NMeFOSA、D ₃ -NEtFOSA	2	2	2	2	2	2	2
¹³ C ₂ -4:2FTS、 ¹³ C ₂ -6:2FTS、 ¹³ C ₂ -8:2FTS、 ¹³ C ₅ -PFPeA、D ₃ -NMeFOSAA、D ₃ -NEtFOSAA	4	4	4	4	4	4	4
¹³ C ₃ -HFPO-DA、 ¹³ C ₄ -PFBA	8	8	8	8	8	8	8
D ₇ -MeFOSE、D ₉ -EtFOSE	20	20	20	20	20	20	20
NIS							
¹³ C ₅ -PFNA、 ¹³ C ₂ -PFDA	1	1	1	1	1	1	1
¹³ C ₂ -PFHxA、 ¹³ C ₄ -PFOA、 ¹⁸ O ₂ -PFHxS、 ¹³ C ₄ -PFOS	2	2	2	2	2	2	2

在评估萃取性能时, 同时使用了低浓度和中等浓度的基质加标。采用低浓度加标样品测定试剂砂的方法检测限 (MDL)。中等浓度加标样品用于试剂砂和表土基质的回收精度和准确度测量。表 2 列出了基于 5 g 样品的低浓度和中等浓度加标样品中天然 PFAS 的最终浓度。选择 EIS 和 NIS 的加标浓度以匹配校准标样中的浓度 (表 1)。

表 2. 天然 PFAS 的低加标浓度和中等加标浓度

化合物	加标浓度 (ng/g)	
	低浓度	中等浓度
PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoA、PFTTrDA、PFTeDA、PFBS、PFPeS、PFHxS、PFHpS、PFOS、PFNS、PFDS、PFDoS、PFOSA、NMeFOA、NEtFOA、NMeFOA、NEtFOA	0.2	2
PFPeA、PFMPA、NFDHA、PFMBA、PFEESA	0.4	4
PFBA、4:2FTS、6:2FTS、8:2FTS、HFPO-DA、ADONA、9Cl-PF3ONS、11Cl-PF3OUdS、3:3FTCA	0.8	8
NMeFOSE、NEtFOSE	2	20
5:3FTCA、7:3FTCA	4	40

设备与材料

使用包括 Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)、Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B) 和 Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱 (G7167B) 的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统进行样品分析。使用 Agilent InfinityLab 无 PFC HPLC 转换工具包 (货号 5004-0006) 对液相色谱系统进行了改进, 以用于 PFAS 分析。该液相色谱系统与配备安捷伦喷射流电喷雾离子源的 Agilent 6470B 三重四极杆 LC/MS 联用。采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。安捷伦 PFAS MRM 数据库 (G1736AA) 用于优化的 MRM 设置。优化的仪器条件如之前发布的应用简报中所述^[2]。

适用于 PFAS 萃取和分析的 PFAS 消耗品和备件如表 3 所示。消耗品的使用符合方法草案的规定^[1]。

表 3. 适用于 PFAS 的消耗品和备件

安捷伦消耗品和备件	货号
Bond Elut PFAS WAX, 150 mg, 6 mL	5610-2152
Carbon S SPE 散装吸附剂, 25 g 瓶装	5610-2093
离心管和管盖, 50 mL	5610-2049
离心管和管盖, 15 mL	5610-2039
Bond Elut SPE 空柱管, 60 mL	12131012
用于 1、3、6 mL Bond Elut 柱的 Bond Elut 接头塞	12131001
经硅烷处理的玻璃毛, 50 g, 用于气相色谱	8500-1572
Captiva 一次性注射器, 5 mL	9301-6476
Captiva 优级针头过滤器, 聚丙烯外壳, 尼龙膜, 25 mm 直径, 0.2 μm 孔径	5190-5092
Vac Elut SPS 24 真空萃取装置, 带收集架, 可容纳 10 × 75 mm 试管	12234003
12 或 15 mL 锥形试管的收集架和漏斗套件, 用于 Vac Elut SPS 24 真空萃取装置	12234027
Vac Elut 20 真空萃取装置长截止阀	12234520
2 mL 聚丙烯螺口样品瓶	5191-8150
带聚丙烯/硅橡胶螺纹隔垫的 9 mm 螺口盖	5191-8151
InfinityLab PFC 延迟柱, 4.6 × 30 mm	5062-8100
ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 色谱柱, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm	959758-902
InfinityLab 无 PFC HPLC 转换工具包	5004-0006

校准和定量

用于定量的方法是稳定同位素稀释法, 该方法测量天然 PFAS 相对于 EIS 的响应和浓度。同时测量了 EIS 相对于 NIS 的响应和浓度。除 4:2FTS、6:2FTS 和 8:2FTS 使用 1/x 加权二次最小二乘回归模型外, 所有化合物的响应曲线采用 1/x 加权线性最小二乘回归模型拟合, 包括原点 (0,0)。对以盐形式提供的 PFAS 标准品进行了校正, 以获得酸浓度。

样品前处理

样品前处理严格遵循固体基质方法草案^[1]中规定的萃取流程，并进行了图 1 所示的一些修改。表土样品含水量约为 37%，因此为获得 5 g 样品干重，使用了 8 g 样品。



图 1. 样品前处理流程

结果与讨论

初始精度和回收率

方法验证的第一步是验证 4 个重复试剂砂加标样品在中等浓度下的初始精度和回收率 (IPR)，如方法草案第 9.2 节所述^[1]。图 2 显示了本研究中萃取的平均天然 PFAS 和 EIS 回收准确度，以及从方法草案表 5 中得出的平均固体基质 IPR 准确度。方法草案中的表 5 没有列出平均回收率，但这些回收率可以从 IPR 回收率范围进行回算，方法是将高回收率和低回收率相加并除以 2。该方法草案的可接受限值尚未确定；然而，回收率结果与之具有可比性。大多数回收率都在方法草案的范围内，最大的差异为标记的磺胺乙醇 (D₇-MeFOSE、D₉-EtFOSE)，本研究中测量的回收率明显更高。方法草案的总体平均回收率置信区间为 94 ±4%，对于本研究，总体平均回收率置信区间为 98 ±2% (95% 置信度，64 次测量)。

精度结果由相同的 4 个重复中等浓度试剂砂加标样品萃取数据计算。在图 3 中，精度由本研究萃取的相对标准偏差百分比 (RSD) 和方法草案表 5 中列出的固体基质的 IPR 结果表示^[1]。尽管该方法草案的可接受限值尚未确定，但图 2 包含了 20% 的 RSD 限值。对于常见的其他 PFAS 环境方法，RSDs 低于 20% 的限值通常被认为足够精确^[3,4,5]。对于这两个数据集，测量精度都远低于 20% 的阈值。方法草案的总体平均 RSD 为 3.9 ±0.6%，而本研究的总体平均 RSD 为 3.8 ±0.6% (95% 置信度，64 次测量)。

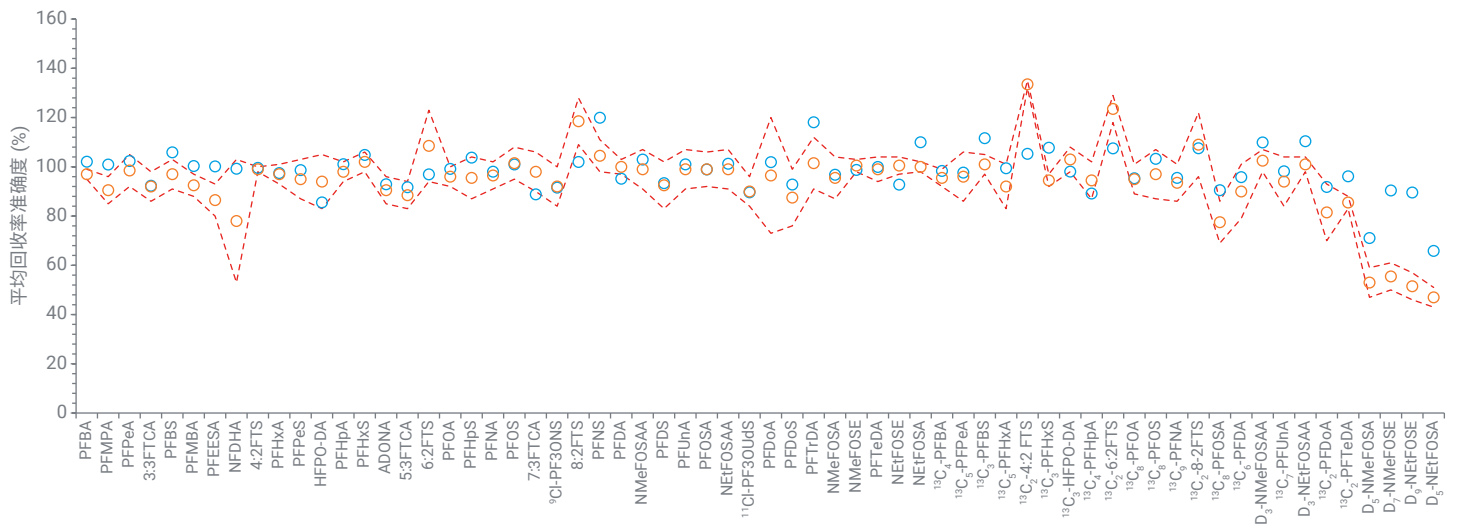


图 2. 本研究测得的试剂砂加标样品的平均 IPR 准确度 (蓝色圈) 和方法草案发表的结果 (橙色圈)。红色虚线代表方法草案发表的 IPR 回收率范围

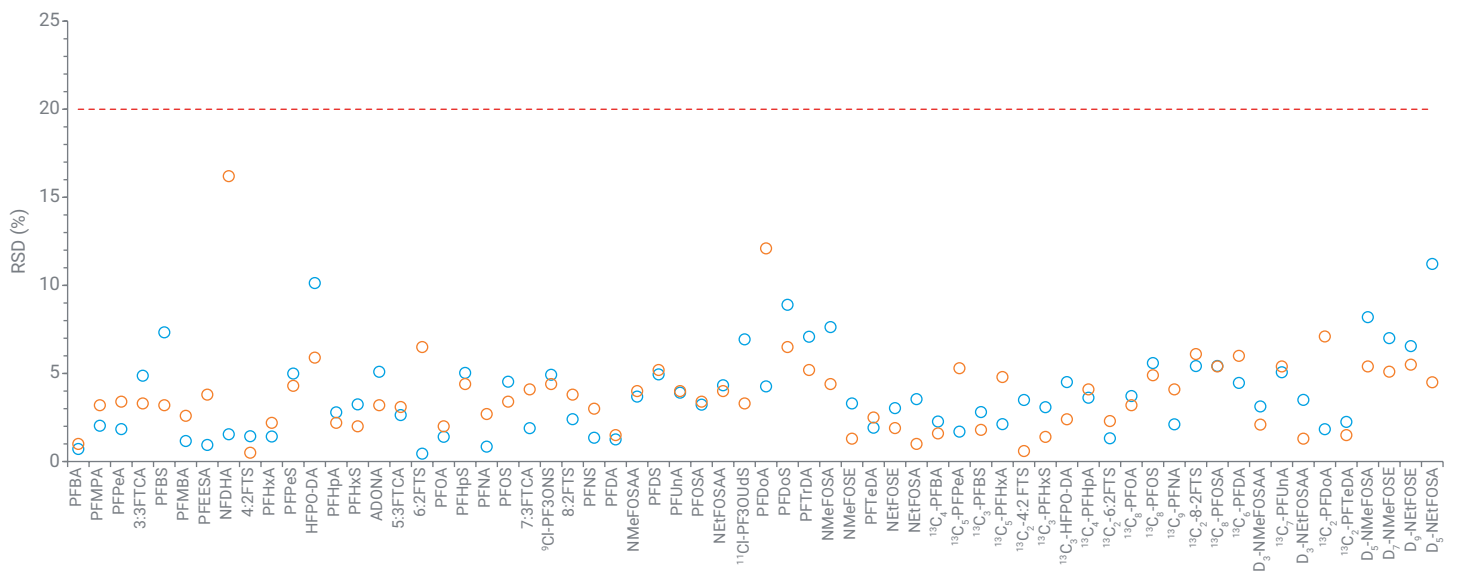


图 3. 试剂砂加标样品的相对标准偏差 (蓝色圈) 和方法草案发表的结果 (橙色圈)。红色虚线表示 20% 的精度阈值

方法检测限

根据方法草案^[1]第 9.2.2 节，每个实验室还必须按照 40 CFR Part 136 附录 b 中的方案，在 99% 置信度下为每种天然 PFAS 建立 MDLs。表 4 列出了本研究执行的 7 个重复试剂砂加标样品萃取的 MDLs，以及方法草案中表 6 中公布的固体基质的结果。两项研究的结果具有可比性。图 4 显示了已发表方法中 MDLs 与本研究中测量的 MDLs 的差异。在图 4 中，与方法草案相比，本研究测量的 MDLs 较低的化合物出现 x 轴正位移，与方法草案相比，本研究测量的 MDLs 较高的化合物出现 x 轴负位移。有趣的是，除 PFBA 外，两组数据中直链烷基磺酸和羧酸的差异最小，而氟调磺酸、氟调羧酸、醚磺酸和磺酰胺乙醇的差异更大。这可能表明，对于典型的烷基羧酸和磺酸，方法优化范围更广，而对于烷基基团和官能团更复杂的 PFAS，方法优化范围更窄。

表 4. 方法检测限

化合物	MDL 测定值 (ng/g)	方法草案 MDL 值 (ng/g)	化合物	MDL 测定值 (ng/g)	方法草案 MDL 值 (ng/g)
PFBA	0.102	0.401	PFOS	0.043	0.067
PFMPA	0.035	0.033	7:3FTCA	0.110	0.308
PFPeA	0.026	0.021	9CI-PF3ONS	0.107	0.038
3:3FTCA	0.154	0.060	8:2FTS	0.079	0.225
PFBS	0.031	0.014	PFNS	0.043	0.046
PFMBA	0.021	0.029	PFDA	0.023	0.031
PFEESA	0.028	0.018	NMeFOSAA	0.052	0.030
NFDHA	0.036	0.084	PFDS	0.059	0.040
4:2FTS	0.031	0.282	PFUnA	0.006	0.033
PFHxA	0.022	0.020	PFOSA	0.029	0.068
PFPeS	0.075	0.015	NEtFOSAA	0.043	0.044
HFPO-DA	0.120	0.136	11CI-PF3OUdS	0.172	0.071
PFHpA	0.025	0.029	PFDoA	0.027	0.059
PFHxS	0.059	0.018	PFDoS	0.038	0.038
ADONA	0.139	0.057	PFTTrDA	0.029	0.038
5:3FTCA	0.195	0.363	NMeFOSA	0.080	0.049
6:2FTS	0.193*	0.116	NMeFOSE	0.109	0.203
PFOA	0.016	0.037	PFTeDA	0.025	0.032
PFHpS	0.042	0.057	NEtFOSE	0.172	0.247
PFNA	0.077	0.086	NEtFOSA	0.056	0.038

* 基于五次重复加标试剂砂萃取的结果

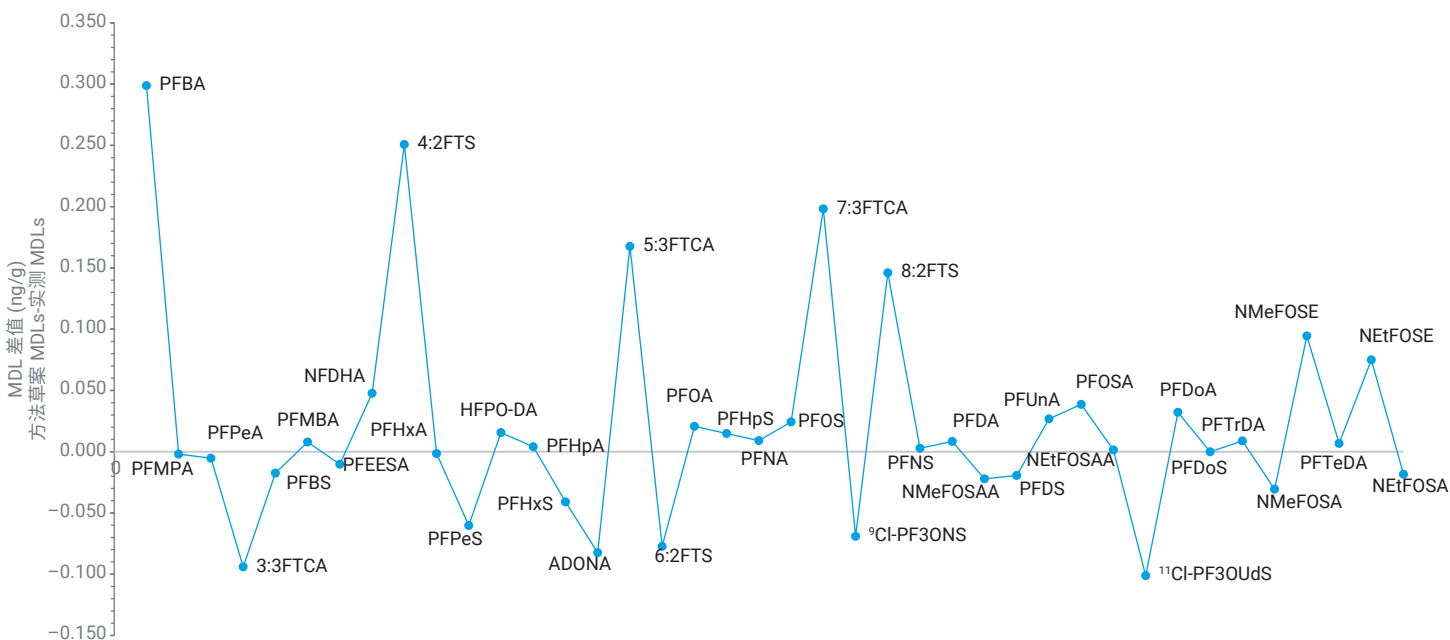


图 4. 本研究的 MDLs 与已发表方法草案的 MDLs 之间的计算差值

内标回收率

根据方法草案第 9.3 节的规定，所有样品都需要计算 EIS 和 NIS 回收率。EIS 回收率用于评估样品基质中的方法性能。图 5 绘制了四种表土萃取物的 EIS 回收率。虽然尚未确定 EIS 回收率的接受范围，但图 5 包括方法草案表 9 中列出的固体基质 EIS 回收率的最大值和最小值。对于大多数化合物，表土萃取

物的 EIS 回收率均处于方法草案表 9 中列出的最小和最大回收率范围内^[1]。例如，在 EPA 方法 533 中，同位素稀释模拟回收率在 50%–200% 之间被认为是可接受的^[2]。表土中的 EIS 回收率处于该限值内，¹³C₅-PFPeA 的回收率最低，为 71.3%，¹³C₂-8:2FTS 的回收率最高，为 163.9%。所有萃取物的平均 EIS 回收率为 101 ±4% (95% 置信度，96 次测量)。

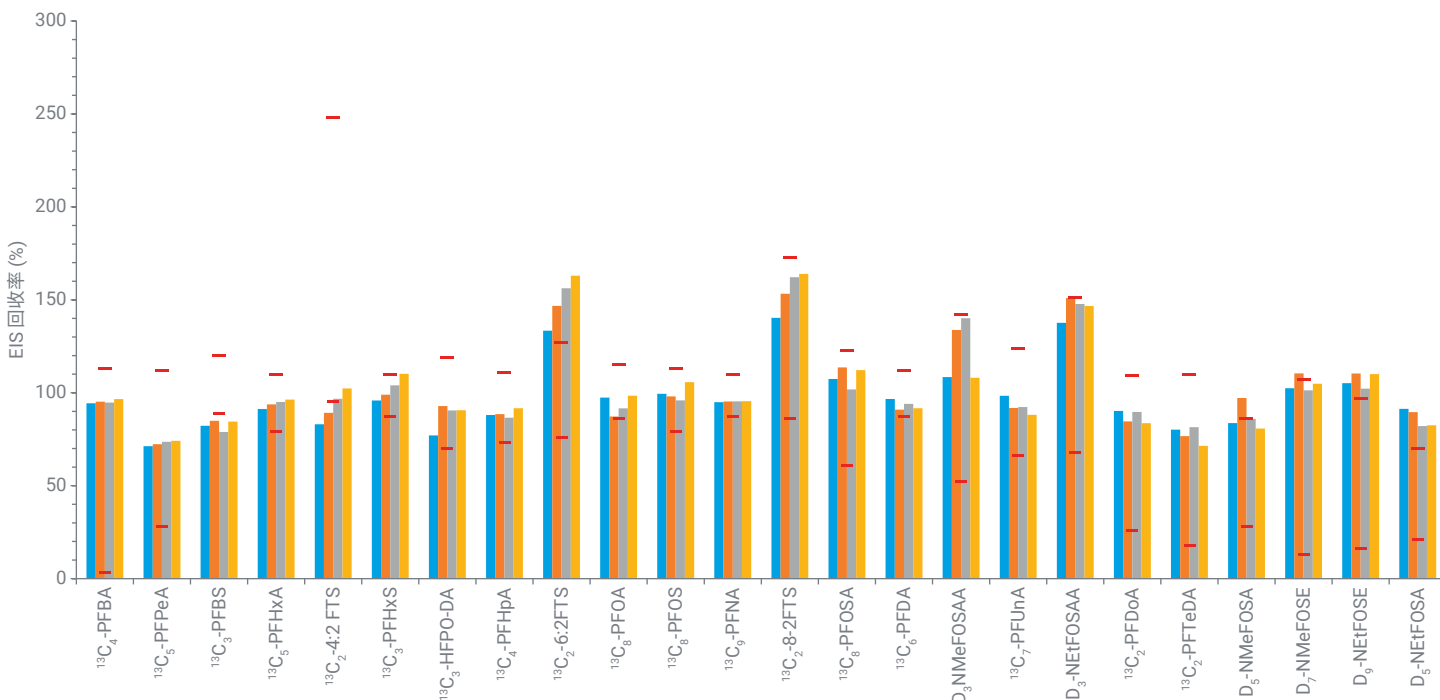


图 5. 4 个重复表土加标样品的 EIS 萃取回收率 (蓝色、橙色、灰色和黄色条)。红色注释符号表示 EIS 回收率结果，如方法草案的表 9 所示

该方法还需要计算 NIS 回收率^[1]。由于这些化合物是在分析前添加到最终萃取物中，主要目的是确保样品分析期间的数据质量。图 6 显示了 4 个重复中等浓度表土加标样品的平均 NIS 回收率。图中包括方法草案中表 10 的初步回收率限值。本研究确定的 NIS 回收率范围为 87%–104%，大于方法草案表 10

中列出的上限 (86%–94%)。本研究确定的较高回收率可能是最终萃取量较低导致的。在本研究中，5 mL 萃取物中回收的平均体积约为 4.5 mL。对于其他常见的 PFAS 环境方法，非萃取内标的回收率在 50% 至 150% 之间通常是可接受的^[3,4]。所有 NIS 回收率都在此范围内。

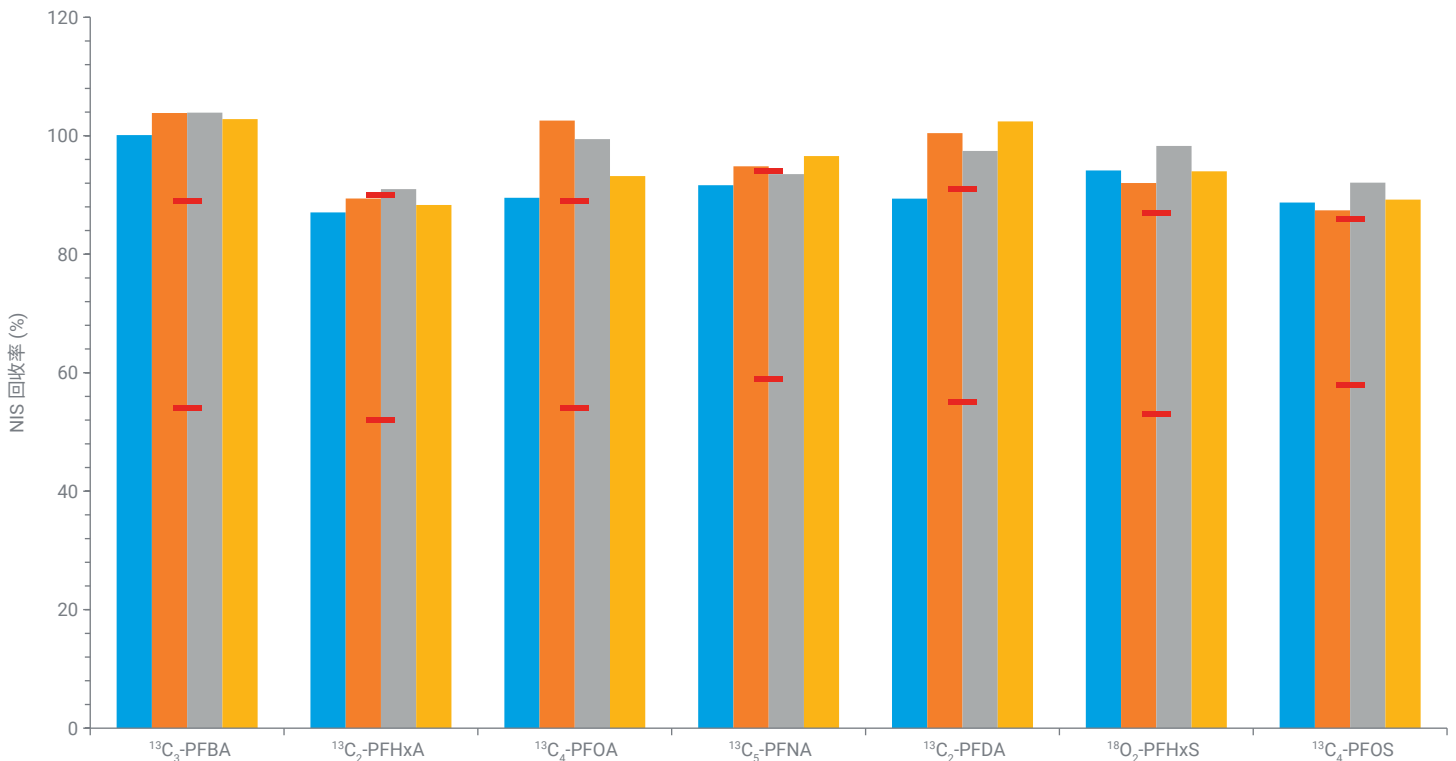


图 6. 4 个表土加标样品的 NIS 回收率准确度 (蓝色、橙色、灰色和黄色条)。红色注释符号表示 EIS 回收率限值，如方法草案的表 10 所示

方法空白

每批样品都需要分析方法空白。如果空白浓度超过本方法草案 9.5.2 节所列要求，必须采取纠正措施^[1]。图 7 显示了空白试剂砂萃取的结果。图 7 中包括最低定量水平 (MLs)，本研究

中定义为最低水平校准标样。所有化合物的空白 PFAS 浓度均远低于 MLs。空白样品中测量的大部分非零浓度是 MRM 窗口内噪音的积分结果。对于这些化合物，空白样品中实测浓度平均为 MLs 的 1/16。

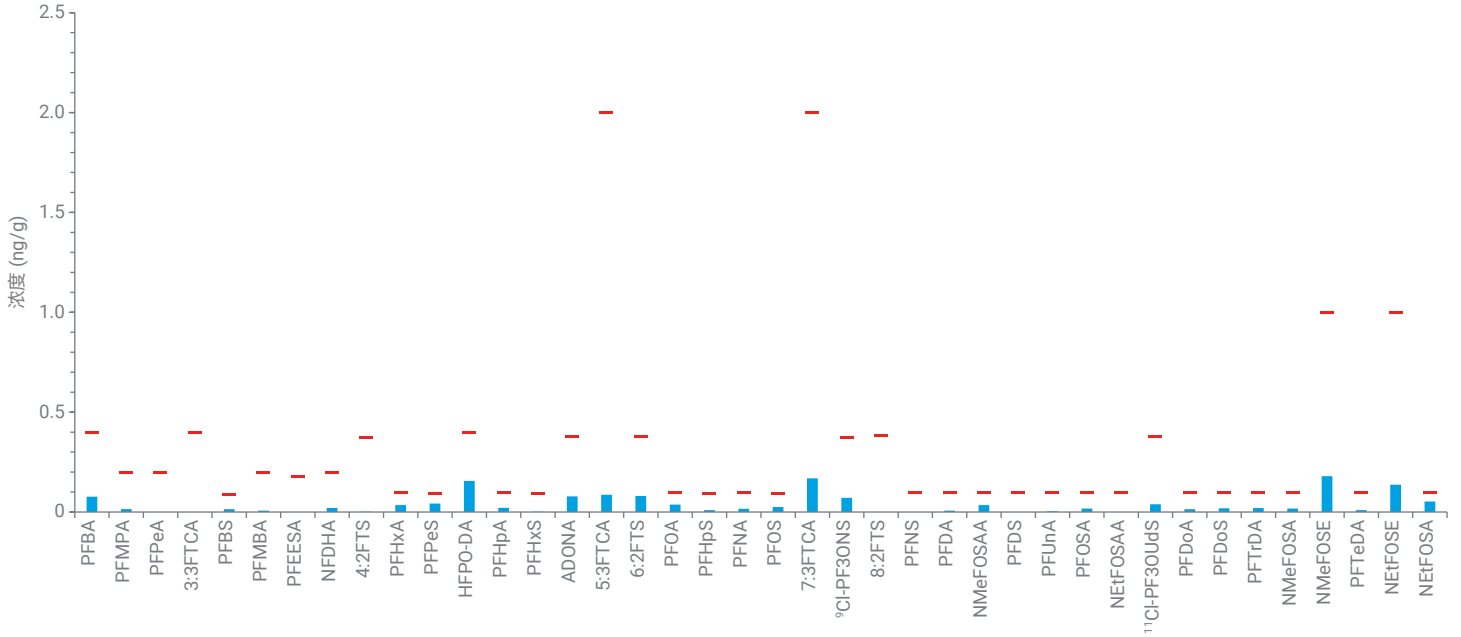


图 7. 试剂砂的方法空白测定结果 (蓝条)。红色注释符号表示由最低浓度校准标样确定的 MLs

表土分析

如方法草案^[1]第 9.8 节所述，对重复表土样品进行了分析，以确定采样技术的精度。结果如表 5 所示。发现有 6:2FTS、PFOA、PFNA 和 PFOS 四种化合物的浓度大于 ML。PFNA 的数值差异百分比为 9.5%，PFOS 为 19.6%。导致差异的最大因素是样品的不均匀性和样品质量差异。表土中含有难以去除的小树枝和小岩石，样品质量相近，回收率按标称的 5 g 干重计算。

表 5. 表土萃取物结果

化合物	第一个重复样品 (ng/g)	第二个重复样品 (ng/g)	化合物	第一个重复样品 (ng/g)	第二个重复样品 (ng/g)
PFBA	< ML	< ML	PFOS	0.395	0.325
PFMPA	< ML	< ML	7:3FTCA	< ML	< ML
PFPeA	< ML	< ML	9Cl-PF3ONS	< ML	< ML
3:3FTCA	< ML	< ML	8:2FTS	< ML	< ML
PFBS	< ML	< ML	PFNS	< ML	< ML
PFMBA	< ML	< ML	PFDA	< ML	< ML
PFEESA	< ML	< ML	NMeFOSAA	< ML	< ML
NFDHA	< ML	< ML	PFDS	< ML	< ML
4:2FTS	< ML	< ML	PFUnA	< ML	< ML
PFHxA	< ML	< ML	PFOSA	< ML	< ML
PFPeS	< ML	< ML	NEtFOSAA	< ML	< ML
HFPO-DA	< ML	< ML	11Cl-PF3OUdS	< ML	< ML
PFHpA	< ML	< ML	PFDoA	< ML	< ML
PFHxS	< ML	< ML	PFDoS	< ML	< ML
ADONA	< ML	< ML	PFTTrDA	< ML	< ML
5:3FTCA	< ML	< ML	NMeFOSA	< ML	< ML
6:2FTS	0.914	0.802	NMeFOSE	< ML	< ML
PFOA	0.227	0.203	PFTeDA	< ML	< ML
PFHpS	< ML	< ML	NEtFOSE	< ML	< ML
PFNA	0.235	0.214	NEtFOSA	< ML	< ML

基质加标

如方法草案 9.9 节所述，基质加标可用于基质效应的附加评估^[1]。它们可用于评估没有同位素类似物的天然 PFAS 的基质效应，例如通过 ¹³C₃-PFHxS 定量 PFPeS。根据 DoD/DoE QSM 5.4 中表 B-24 的规定，还需要基质加标^[5]。用中等浓度的天然 PFAS 配制并萃取重复表土加标样品。图 8 显示了加标及从表土中萃取的 40 种目标化合物的回收率。将高于 ML 的四种目标化合物的浓度从加标浓度中扣除。两种样品的加标回收率为 79.0%–109.6%，平均加标回收率为 97 ±1% (95% 置信度，80 次测量)，表明该方法在基质中具有出色的性能。

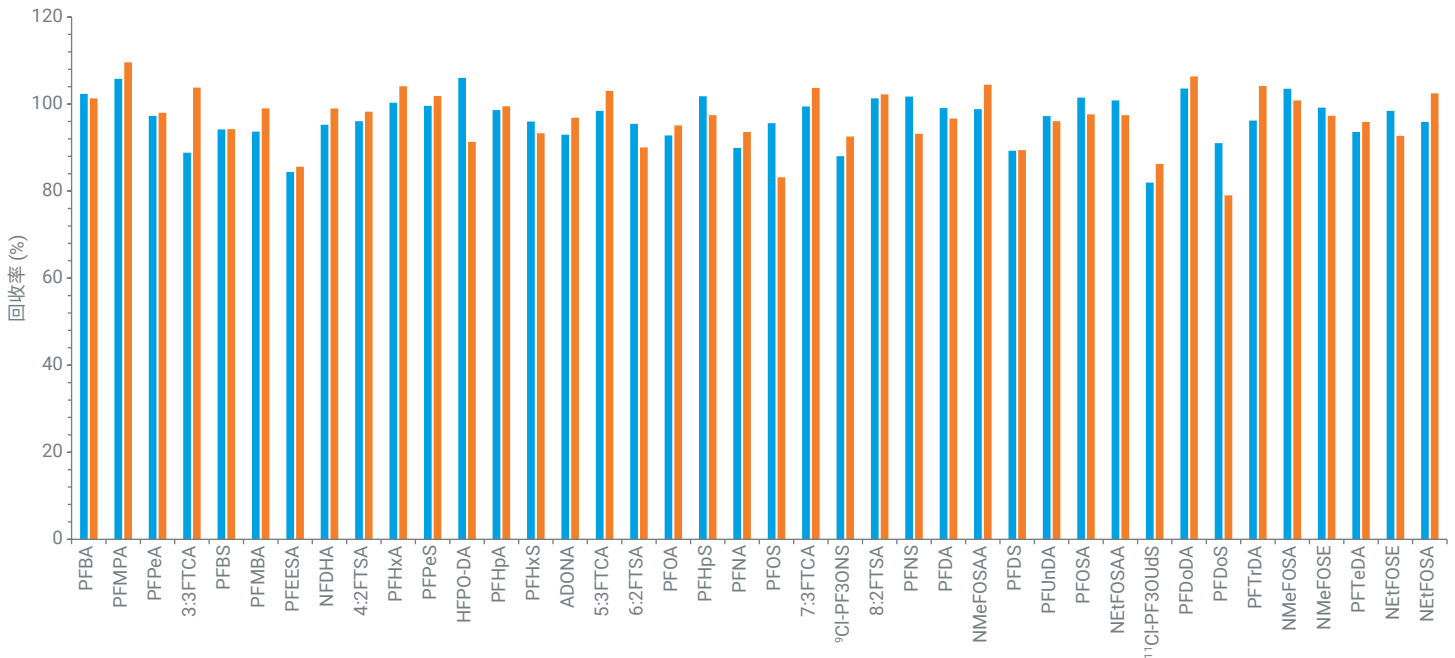


图 8. 基质加标样品（蓝色）和基质加标重复样品（橙色）在中等加标浓度下的加标回收率

结论

本应用简报的结果表明，使用 Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE 和 Agilent Carbon S 为固体基质的单实验室验证研究提供了与 US EPA 方法草案 1633 具有可比性的结果。

参考文献

- 3rd Draft Method 1633: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS. *United States Environmental Protection Agency*, December **2022**
- Giardina, M. Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water Using Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE and LC/MS/MS (使用 Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE 和 LC/MS/MS 测定饮用水中的全氟和多氟烷基化合物)，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-4960EN，**2022**
- Method 533: Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water by Isotope Dilution Anion Exchange Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *United States Environmental Protection Agency*, **2019**
- Method 537.1: Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS) *United States Environmental Protection Agency*, **2018**
- Quality Systems Manual for Environmental Laboratories Version 5.4, *United States Department of Defense and Department of Energy Consolidated*, **2021**

www.agilent.com

DE59054271

本文中的信息、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，2023
2023 年 1 月 20 日，中国出版
5994-5667ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

