

# 使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 和 LC/MS/MS 分析可食用鱼组织中的全氟和多氟烷基化合物

## 作者

Erin Pulster 博士  
南佛罗里达大学海洋科学学院  
美国佛罗里达州圣彼得堡

Matthew Giardina 博士  
安捷伦科技有限公司  
美国特拉华州威尔明顿

## 摘要

本应用简报介绍了鱼肉中 25 种全氟/多氟烷基化合物 (PFAS) 的多组分分析方法的开发和评估。该方法采用溶剂萃取，然后使用安捷伦增强型脂质去除 Captiva EMR-Lipid 产品进行通过式脂质去除，最后通过 LC/MS/MS 进行定量分析。对 25 种鱼类进行 140 次添加回收验证的平均回收率为 105%，平均相对标准偏差 (RSD) 为 14%。

## 前言

PFAS 包含 5000 多种合成有机氟化合物，最早开发于 20 世纪 40 年代<sup>[1]</sup>。PFAS 耐高温、不沾水、不沾油、防污、防油脂，因此作为表面活性剂和涂层广泛用于商业应用中。PFAS 的商业应用包括化妆品、食品包装、不粘炊具、消防泡沫、电子设备、飞机、车辆和各种纺织品(如地毯、皮革制品、家具、服装、手术服等)。PFAS 分子的化学结构中包含强氟碳键，难以被环境降解，因此这些化合物往往分布广泛，且具有持久性和环境稳定性。受污染的水和食物(包括海鲜)被认为是人类暴露于 PFAS 的主要途径。

由于存在基质干扰(如脂肪和脂质)，鱼类组织提取物的分析具有挑战性。Captiva EMR-Lipid 直通式净化技术可有效去除主要的脂质，而不会造成分析物损失。去除脂质干扰能够大大降低基质对离子化的影响，并提高方法的可靠性和稳定性。

本研究使用 Captiva EMR-Lipid 净化产品净化从大型城市河口捕获的鱼的可食用组织的 PFAS 提取物，然后再进行 LC/MS/MS 分析。

## 实验部分

### 样品收集

在 2020 年和 2021 年，在美国佛罗里达州坦帕湾的一个大型城市河口港湾内及附近的 24 个地点使用鱼钩和鱼线、诱饵诱捕器和渔网捕鱼。每条鱼都单独装在聚丙烯袋中 (ULINE, Pleasant Prairie, WI, USA)，并储存在置于冰袋上的冷藏箱中，以便运回实验室。对分属于 25 种鱼类的 140 条鱼 ( $n = 140$ ) 中的 25 种目标 PFAS 进行了分析。

### 化学品与试剂

所有溶剂和试剂 — 乙腈 (ACN)、乙酸、乙酸铵、甲酸和甲醇均为 LC/MS 或 ACS 级，购自 Fisher Scientific (Waltham, MA, USA)。Millipore 纯水 ( $18 \mu\Omega$ , Bedford, MA, USA) 使用  $0.2 \mu\text{m}$  膜过滤器过滤。各种天然化合物(化学纯度 > 98%)和质量标记的内标与替代物标准品(化学纯度 > 98%，同位素纯度  $\geq 99\%$ )购自 Wellington Laboratories (Guelf, ON, Canada)。

### 样品萃取

如图 1 和图 2 所示，将每条鱼的肌肉组织 (2 g) 置于 50 mL 聚丙烯试管中。将 100 pg/g 的替代物标准品 (SS) 添加到组织中，并在室温下静置 15 分钟。然后加入陶瓷均质子 ( $5/16 \times 5/8$  英寸) 和 2 mL 含 1% 甲酸 (v/v) 水溶液，并以 1500 rpm 的转速震荡均质化 2 分钟，再加入 8 mL 含 2% 甲酸 (v/v) 的冷 ACN 并震荡均质化 5 分钟 (1500 rpm)，然后以 5000 rpm 离心 5 分钟。吸取 2.4 mL 提取物上清液并转移至 3 mL Captiva EMR-Lipid 小柱 (部件号 5190-1003) 中，并在重力作用下接收至 15 mL 聚丙烯试管中，直到无洗脱的液滴流出。将 600  $\mu\text{L}$  80/20 ACN/水混合物加入小柱中，在重力作用下再次合并洗脱液。对小柱施加真空 ( $-6$  to  $-9$  in Hg)，使剩余的洗脱液流入收集管。混合均匀收集液，取 1 mL 过  $0.2 \mu\text{m}$  针头式滤膜，然后将 500  $\mu\text{L}$  洁净的提取物转移至聚丙烯自动进样器样品瓶中。加入内标 (45 pg/mL)，然后加入 300  $\mu\text{L}$  水，最终提取物体积为 800  $\mu\text{L}$ 。



图 1. 样品前处理方案

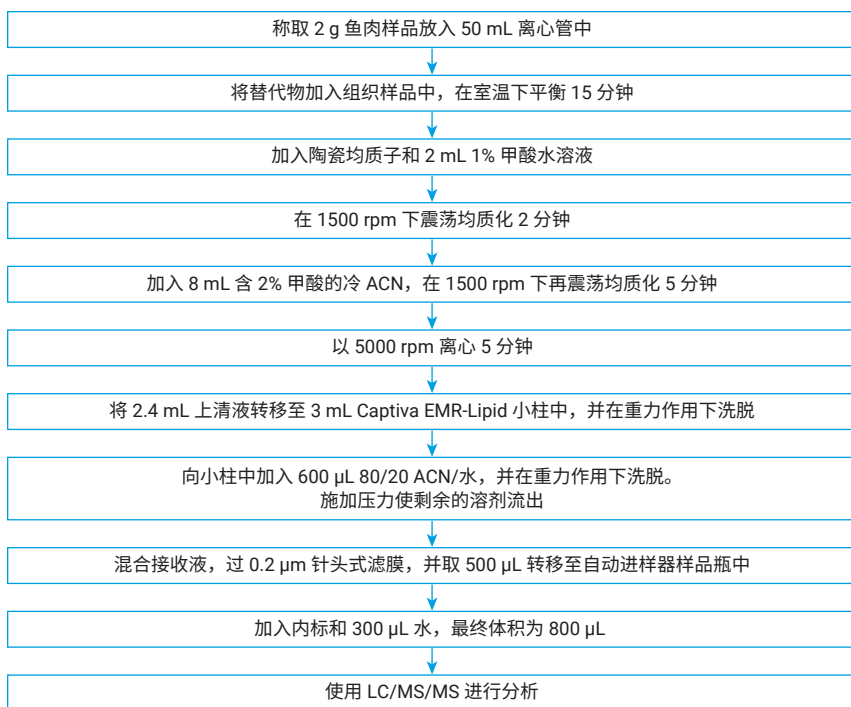


图 2. 样品前处理工作流程示意图

## 仪器

在分析之前对 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪进行了适当改进，以降低系统背景污染。管路方面遵循 Anumol 等人推荐的指南<sup>[2]</sup>。溶剂管线更换为 PEEK 管线，泵密封垫更换为不含 PTFE 的密封垫，并增加了在线过滤器和延迟柱。使用配备安捷伦喷射流 ESI 离子源的 Agilent 6470B 三重四极杆液质联用系统进行检测。6470B 三重四极杆液质联用系统在负离子电喷雾电离模式下运行，并采用动态多反应监测 (dMRM)。LC 和 MS 方法参数如表 1 和表 2 所示。图 3 显示了在马鲛 (Crevalle Jack) 肌肉提取物中发现的 PFAS 的选定提取离子色谱图。PFOA、PFHxS、PFNA、PFHpS、PFOS 和 PFUnDA 的浓度分别为 53.5 pg/g、280 pg/g、443 pg/g、80.4 pg/g、23700 pg/g 和 1102 pg/g。

表 1. 液相色谱条件

| 参数  | 值   |     |     |             |
|-----|---|-----|-----|-------------|
| LC  | Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统   |     |     |             |
| 分析柱 | Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 色谱柱, 2.1 × 100 mm, 1.8 µm (部件号 959758-902), 配备 Agilent 1290 Infinity II 在线过滤器 0.3 µm (部件号 5067-6189) |     |     |             |
| 延迟柱 | Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱, 4.6 × 50 mm, 3.5 µm (部件号 959943-902)   |     |     |             |
| 柱温  | 50 °C   |     |     |             |
| 进样量 | 20 µL   |     |     |             |
| 流动相 | A) 含 20 mmol/L 乙酸铵的 95/5 水/ACN 溶液<br>B) 含 10 mmol/L 乙酸铵的 95/5 ACN/水溶液   |     |     |             |
| 梯度  | 时间 (min)  | % A | % B | 流速 (mL/min) |
|     | 0   | 100 | 0   | 0.300       |
|     | 6   | 70  | 30  | 0.300       |
|     | 9   | 50  | 50  | 0.300       |
|     | 16  | 15  | 85  | 0.300       |
|     | 17  | 0   | 100 | 0.300       |
|     | 20  | 0   | 100 | 0.300       |
|     | 21  | 100 | 0   | 0.300       |
|     | 31  | 100 | 0   | 0.300       |

表 2. 质谱条件

| 参数    | 值   |
|-------|---|
| MS    | 配备安捷伦喷射流 ESI 离子源的 Agilent 6470B 三重四极杆液质联用系统 |
| 离子源参数 |   |
| 极性    | 负   |
| 干燥气   | 230 °C, 4 L/min                             |
| 鞘气    | 250 °C, 12 L/min                            |
| 雾化器气体 | 15 psi                                      |
| 毛细管电压 | 2500 V                                      |
| 喷嘴电压  | 0 V   |

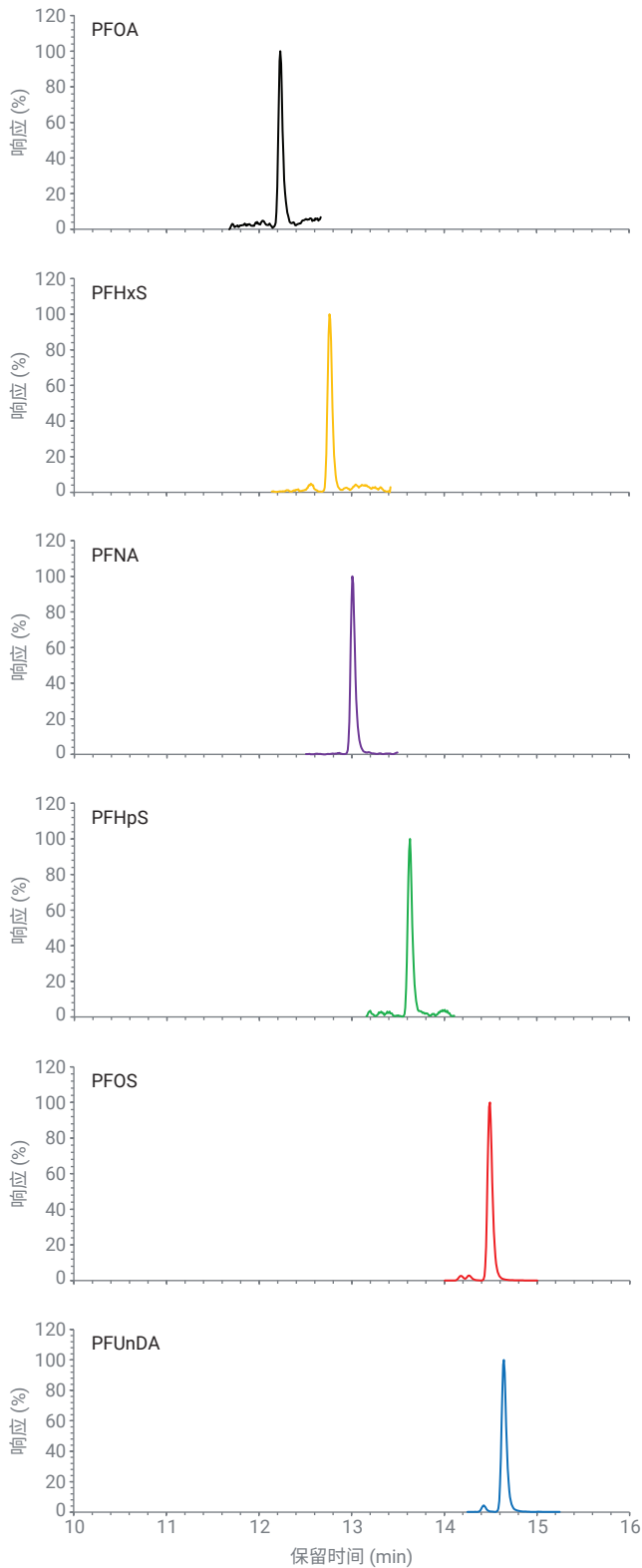


图 3. 现场捕获的鱼的肌肉（马鲛）中选定 PFAS 的色谱图示例。在此样品中，所示的 5 种 PFAS 的浓度范围为 53.5 pg/g w/w (PFOA) 至 23.7 ng/g w/w (PFOS)

### 定量分析

本研究选择了共计 25 种 PFAS 化合物进行分析。此外，还选择了 4 种同位素标记的 PFAS 作为替代物，15 种 PFAS 作为内标。所有标准品均购自 Wellington Laboratories (Guelph, ON, Canada)。附录 A 列出了化合物、保留时间、MRM 离子对和优化的解离电压。

使用通过 10 倍稀释溶液（0.1、1、10、100 和 1000 ng/L）获得的 5 点校准曲线的二次方程对每种 PFAS 进行定量。根据以相同浓度（45 pg/mL）添加到样品和校准标样中的内标的响应，对目标物响应进行归一化。为了确保整个研究过程中获得超高的数据质量，质量保证/质量控制计划遵循 ASTM 和 EPA 方法<sup>[3-5]</sup>。

## 结果与讨论

### 基质加标的准确度和精密度

为了验证萃取流程，向两份鱼组织重复样中标加 100 pg/g 的 25 种天然 PFAS 目标物并进行萃取，结果如图 4 所示。对于这两个样品，每种目标物的平均回收率在 70%–130% 范围内，平均回收率为 102%，平均范围为  $\pm 15\%$ 。

### 替代物回收率准确度和精密度

为了确保研究的数据质量，评估了萃取流程的准确度和精密度。对于整个样品组，计算了加标至可食用鱼组织中的替代物的平均回收率和相对标准偏差 (RSD)，其中包括对 25 种鱼类的 140 次提取和过程空白 (加标试剂水)。表 3 和表 4 分别列出了鱼组织和过程空白的准确度和精密度结果。该方法性能出色，样品的平均回收率为 101%–114%，RSD 为 12%–16%，鱼组织的总体平均回收率为  $105\% \pm 14\%$  RSD (表 3)。方法空白中的替代物总体回收率为 71%–129%，平均回收率为  $106\% \pm 15\%$  RSD (表 4)。这些结果完全符合准确度为 70%–130% 的典型可接受标准，RSD 低于 20% 表明萃取和分析流程稳定可靠。

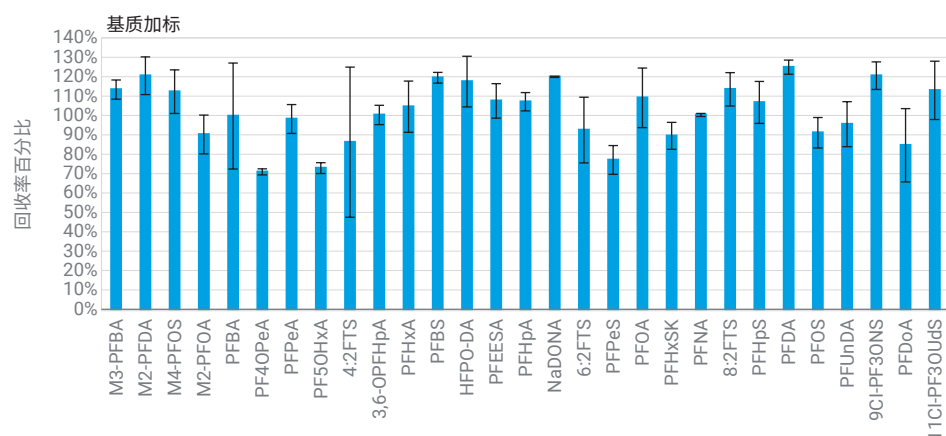


图 4. 萃取前添加到 2 个鱼肉样品中的 4 种同位素标记和 25 种天然 PFAS 的平均回收率。误差线表示 2 种鱼肉提取物的回收率范围

表 3. 鱼类样品的替代物准确度和精密度 (n = 140)

| 替代物                           | 平均准确度 (%) | RSD (%) |
|-------------------------------|-----------|---------|
| $^{13}\text{C}_3\text{-PFBA}$ | 101       | 15      |
| $^{13}\text{C}_2\text{-PFDA}$ | 114       | 16      |
| $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$ | 113       | 13      |
| $^{13}\text{C}_2\text{-PFOA}$ | 92        | 12      |

表 4. 方法空白的替代物准确度和精密度 (n = 13)

| 替代物                           | 平均准确度 (%) | RSD (%) |
|-------------------------------|-----------|---------|
| $^{13}\text{C}_3\text{-PFBA}$ | 107       | 16      |
| $^{13}\text{C}_2\text{-PFDA}$ | 107       | 16      |
| $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$ | 111       | 11      |
| $^{13}\text{C}_2\text{-PFOA}$ | 100       | 17      |

## 结论

本应用简报展示使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 结合 LC/MS/MS，对 25 种类中 25 种 PFAS 进行了测定。该方法可靠，具有很好的精密度和准确度。有关该方法实施的更多信息，请参阅 Pulster 等人发表的文章<sup>[6]</sup>。

## 参考文献

1. Research on Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). <https://www.epa.gov/chemical-research/research-and-polyfluoroalkyl-substances-pfas> (2022年6月14日访问)
2. Anumol T. 等. Recommended Plumbing Configurations for Reduction in Per/Polyfluoroalkyl Substance Background with Agilent 1260/1290 Infinity (II) LC Systems (可降低全氟/多氟烷基化合物在 Agilent 1260/1290 Infinity (II) 液相色谱系统中的背景的建议管路配置), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5991-7863EN, **2017**
3. CWA Methods Team, Engineering, and Analysis Division (4303T), United States Environmental Protection Agency. EPA 821-D-21-001. Draft Method 1633, Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS, August **2021**. [https://www.epa.gov/system/iles/documents/2021-09/method\\_1633\\_draft\\_aug-2021.pdf](https://www.epa.gov/system/iles/documents/2021-09/method_1633_draft_aug-2021.pdf)
4. ASTM International. Standard Test Method for Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Water, Sludge, Influent, Effluent, and Wastewater by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); ASTM D7979-19; **2019**. DOI 10.1520/D7979-20
5. Shoemaker, J.; Tettenhorst, D. Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency. Method 537.1: Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). February **2018**. Last revised February 2020. [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_record\\_Report.cfm?dirEntryId=343042&Lab=NERL](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?dirEntryId=343042&Lab=NERL)
6. Pulster E. L. et al. Assessing Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Sediments And Fishes From a Large, Urbanized Estuary and the Potential Human Health Implications. *Frontiers in Marine Science* (in review)

## 附录

### 附录 A

表 5. 化合物保留时间、MRM 离子对和电压

| 化合物          | 保留时间 (min) | 内标         | 母离子 | 子离子 | 碎裂电压 (V) | 碰撞能量 (V) | 碰撞池加速器电压 (V) |
|--------------|------------|------------|-----|-----|----------|----------|--------------|
| 目标分析物        |            |            |     |     |          |          |              |
| PFBA         | 6.169      | M4-PFBA    | 213 | 169 | 72       | 8        | 2            |
| PF40PeA      | 7.691      | M5-PFPeA   | 229 | 85  | 50       | 16       | 2            |
| PFPeA        | 9.214      | M5-PFPeA   | 263 | 219 | 72       | 4        | 2            |
| PF50HxA      | 9.748      | M2-4:2FTS  | 279 | 85  | 80       | 8        | 5            |
| 4:2FTS       | 10.288     | M2-4:2FTS  | 327 | 307 | 150      | 20       | 2            |
| 3,6-OPFHpA   | 10.562     | M5-PFHxA   | 201 | 85  | 120      | 4        | 5            |
| PFHxA        | 10.700     | M5-PFHxA   | 313 | 269 | 72       | 8        | 2            |
| PFBS         | 10.962     | M3-PFBS    | 299 | 80  | 154      | 36       | 2            |
| HFPO-DA      | 11.089     | M3-HFPO-DA | 285 | 169 | 135      | 8        | 4            |
| PFEESA       | 11.479     | M4-PFHpA   | 315 | 135 | 124      | 28       | 5            |
| PFHpA        | 11.621     | M4-PFHpA   | 363 | 319 | 72       | 8        | 2            |
| NaDONA       | 11.914     | M3-HFPO-DA | 377 | 251 | 50       | 8        | 5            |
| 6:2FTS       | 12.020     | M2-6:2FTS  | 427 | 407 | 135      | 18       | 4            |
| PFPeS        | 12.007     | M2-6:2FTS  | 349 | 80  | 135      | 20       | 4            |
| PFOA         | 12.391     | M8-PFOA    | 413 | 369 | 72       | 8        | 2            |
| PFHxS        | 12.880     | M3-PFHxS   | 399 | 80  | 156      | 56       | 2            |
| PFNA         | 13.134     | M9-PFNA    | 463 | 419 | 72       | 8        | 2            |
| 8:2FTS       | 13.467     | M2-8:2FTS  | 527 | 507 | 200      | 30       | 4            |
| PFHpS        | 13.699     | M6-PFDA    | 449 | 80  | 148      | 50       | 2            |
| PFDA         | 13.897     | M6-PFDA    | 513 | 469 | 72       | 12       | 2            |
| PFOS         | 14.502     | M8-PFOS    | 499 | 80  | 135      | 50       | 4            |
| PFUnDA       | 14.638     | M7-PFUDa   | 563 | 519 | 100      | 12       | 2            |
| 9CI-PF3ONS   | 14.975     | M7-PFUDa   | 531 | 351 | 150      | 28       | 3            |
| PFDoA        | 15.239     | M7-PFUDa   | 613 | 569 | 100      | 8        | 2            |
| 11CI-PF3OUdS | 16.641     | M7-PFUDa   | 631 | 451 | 150      | 36       | 2            |

| 化合物        | 保留时间<br>(min) | 内标      | 母离子 | 子离子 | 碎裂电压<br>(V) | 碰撞能量<br>(V) | 碰撞池加速器电压<br>(V) |
|------------|---------------|---------|-----|-----|-------------|-------------|-----------------|
| 替代物标准品     |               |         |     |     |             |             |                 |
| M3-PFBA    | 6.169         | M4-PFBA | 216 | 172 | 72          | 8           | 2               |
| M2-PFOA    | 12.391        | M8-PFOA | 415 | 370 | 72          | 8           | 2               |
| M2-PFDA    | 13.896        | M6-PFDA | 515 | 470 | 72          | 8           | 2               |
| M4-PFOS    | 14.501        | M8-PFOS | 503 | 99  | 135         | 54          | 4               |
| 内标         |               |         |     |     |             |             |                 |
| M4-PFBA    | 6.164         |         | 217 | 172 | 72          | 8           | 2               |
| M5-PFPeA   | 9.214         |         | 268 | 223 | 72          | 4           | 2               |
| M2-4:2FTS  | 10.287        |         | 329 | 309 | 150         | 24          | 2               |
| M5-PFHxA   | 10.699        |         | 318 | 273 | 72          | 8           | 2               |
| M3-PFBS    | 10.961        |         | 302 | 80  | 130         | 44          | 2               |
| M3-HFPO-DA | 11.080        |         | 287 | 169 | 135         | 4           | 5               |
| M4-PFHpA   | 11.620        |         | 367 | 322 | 72          | 8           | 2               |
| M2-6:2FTS  | 12.019        |         | 429 | 409 | 150         | 28          | 2               |
| M8-PFOA    | 12.390        |         | 421 | 376 | 72          | 8           | 2               |
| M3-PFHxS   | 12.879        |         | 402 | 80  | 156         | 48          | 2               |
| M9-PFNA    | 13.133        |         | 472 | 427 | 72          | 8           | 2               |
| M2-8:2FTS  | 13.466        |         | 529 | 509 | 200         | 28          | 4               |
| M6-PFDA    | 13.896        |         | 519 | 474 | 72          | 8           | 2               |
| M8-PFOS    | 14.500        |         | 507 | 80  | 148         | 54          | 2               |
| M7-PFUdA   | 14.637        |         | 570 | 525 | 73          | 5           | 4               |

查找当地的安捷伦客户中心:

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价:

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE86273469

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, 2022  
2022年9月13日, 中国出版  
5994-5227ZHCN