

牛肾脏中 30 种全氟和多氟烷基化合物的测定

使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 通过式净化和 LC/MS/MS 检测

作者

Limian Zhao,
Matthew Giardina 和
Emily Parry
安捷伦科技公司

前言

Agilent Captiva EMR PFAS Food 小柱专为分析食品中的全氟和多氟烷基化合物 (PFAS) 进行开发和优化。本研究的目的是开发和验证用于测定牛肾脏中 30 种 PFAS 的完整工作流程。该方法采用 QuEChERS 萃取，然后使用 Captiva EMR PFAS Food II 小柱进行增强型脂质去除 (EMR) 混合模式通过式净化，并使用 Agilent 6495D 三重四极杆液质联用系统 (LC/TQ) 进行检测。经验证，该方法符合 AOAC 标准方法性能要求 (SMPR) 2023.003^[1]，包括方法适用性、灵敏度、准确度和精密度。

实验部分

化学品与试剂

天然 PFAS 和同位素标记的内标 (ISTD) 溶液购自 Wellington Laboratories (Guelph, Ontario, Canada)。

溶液与标准品

标准溶液和其他试剂的制备列于之前的应用简报^[2] 中。唯一的区别在于，本研究使用的 ISTD 加标溶液为浓度为 1000 ng/mL 的甲醇 (MeOH) 溶液。

仪器与材料

研究使用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统进行，该系统与配备安捷伦喷射流 iFunnel 电喷雾离子 (ESI) 源的 6495D LC/TQ 联用。采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。

本研究中用于样品前处理的其他设备与之前研究中使用的设备相同^[2]。

使用 Agilent InfinityLab 无 PFC HPLC 转换工具包 (部件号 5004-0006) 对 1290 Infinity II 液相色谱系统进行了改进，该工具包包括一根 4.6 × 30 mm 的 Agilent InfinityLab PFC 延迟柱 (部件号 5062-8100)。使用 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 色谱柱 (2.1 × 100 mm, 1.8 μm; 部件号 959758-902) 和 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 (2.1 mm, 1.8 μm, 压力上限 1200 bar) UHPLC 保护柱 (部件号 821725-901) 进行色谱分离。

使用的其他安捷伦消耗品包括：

- Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒，EN 15662 方法，缓冲盐，陶瓷均质子 (部件号 5982-5650CH)
- Captiva EMR PFAS Food II 小柱，6 mL, 750 mg (部件号 5610-2232)
- Captiva 过滤瓶，0.2 μm，尼龙，100/包 (部件号 5610-5936)
- 聚丙烯 (PP) 螺口盖样品瓶和瓶盖，2 mL (部件号 5191-8150 和 5191-8151)
- 离心管和管盖，50 mL，50/包 (部件号 5610-2049)
- 离心管和管盖，15 mL，100/包 (部件号 5610-2039)

本研究中使用的所有消耗品均经过测试和验证，其 PFAS 清洁度均可接受。

LC/MS/MS 仪器条件

LC/MS/MS 方法条件列于之前的应用简报^[2] 中。

样品前处理

牛肾脏购自当地杂货店。将新鲜样品清洗并切成小块，然后在 -20 °C 下冷冻过夜。使用机械搅拌器将冷冻样品块研磨成匀浆。然后将样品匀浆用于样品萃取。

对于所有均质样品，称取 2 g 样品匀浆置于洁净的 50 mL PP 管中进行萃取。将天然 PFAS 加标溶液和 ISTD 加标溶液 (1000 ng/mL) 适当加入质量控制 (QC) 样品中，并仅将内标加入基质空白样品中。然后按照图 1 所述的样品前处理程序对样品进行处理。

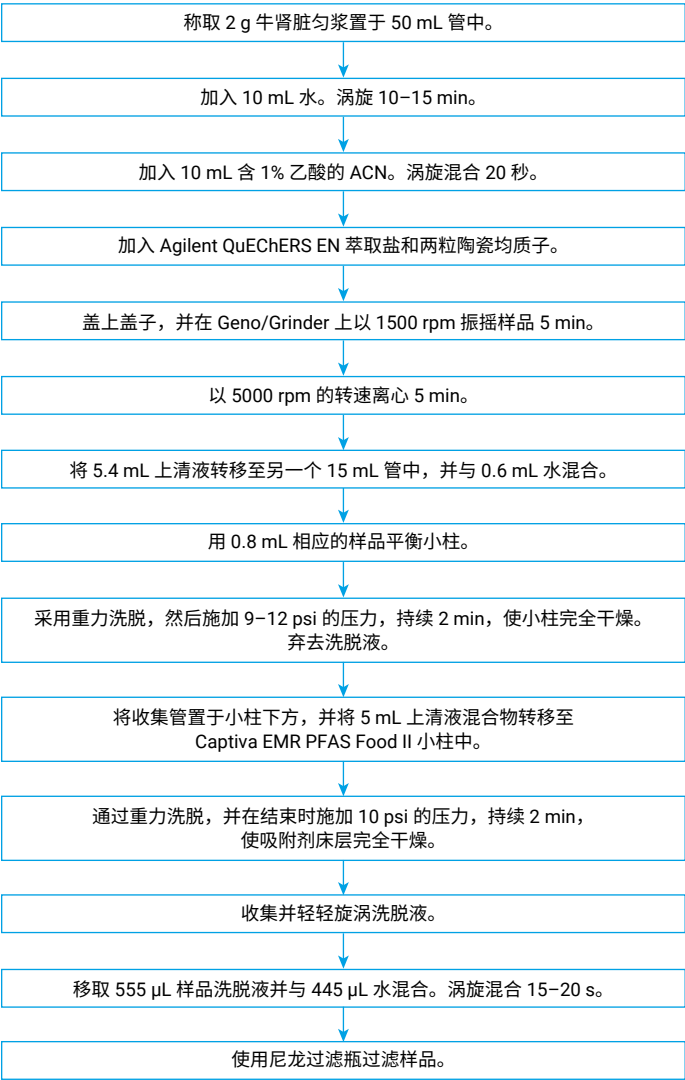


图 1. 牛肾脏中 PFAS 分析的样品前处理程序

方法性能评估

对方法的定量限 (LOQ)、回收率和精密度进行了验证。由于一些因素，包括本研究中使用的高浓度 ISTD 加标溶液体积有限、成本考虑以及动物内脏基质中的 LOQ 要求较高，在牛肾脏中以 0.2、0.4、1.0 和 5.0 µg/kg 的浓度制备了四个预加标 QC 浓度样品，每个浓度下包含 4 份平行样品。牛肾脏中的 ISTD 预加标浓度为 10.0 µg/kg。此外，使用预加标用于定量的 10.0 µg/kg ISTD 平行制备 5 份基质空白样品。

结果与讨论

EMR 混合模式通过式净化

将 EMR 混合模式通过式净化与传统 dSPE 净化的 PFAS 目标分析物回收率进行比较。图 2 显示了 QuEChERS 萃取后加标 100 ng/L PFAS 的牛肾粗提物中 PFAS 目标分析物的回收率比较。

结果表明，与传统 dSPE 净化相比，EMR 混合模式通过式净化可显著提高 PFAS 目标分析物的回收率。

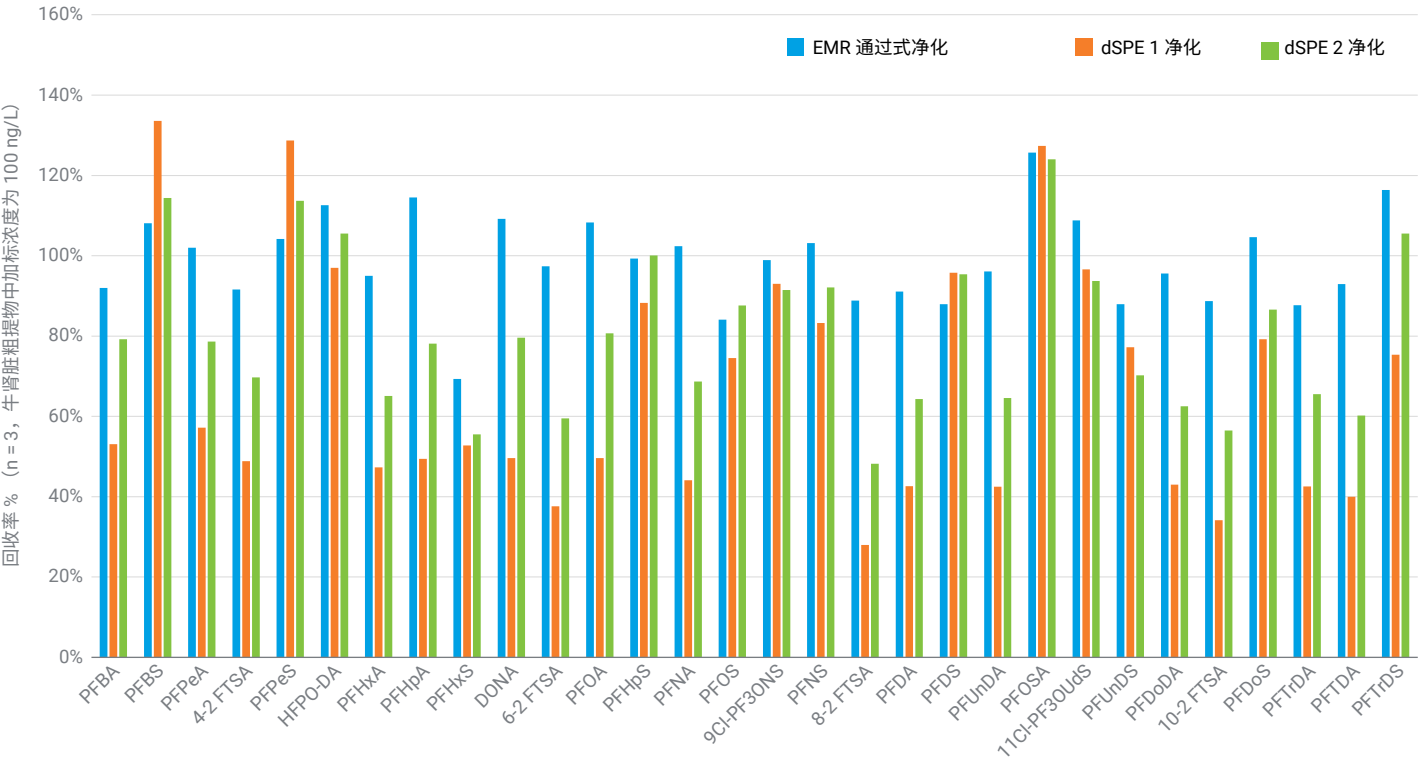


图 2. 使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 小柱进行 EMR 通过式净化与传统 dSPE 净化获得的牛肾脏萃取物中 PFAS 的回收率比较

方法验证

根据 AOAC SMPR 指南验证了新开发的方法，对牛肾脏中的 30 种 PFAS 目标分析物进行测定。将牛肾脏视为“可食用内脏”类别，要求四种核心 PFAS 目标分析物（PFOS、PFOA、PFNA 和 PFHxS）的 $LOQ \leq 0.4 \mu\text{g/kg}$ ，其余 PFAS 目标分析物的 $LOQ \leq 4.0 \mu\text{g/kg}$ ^[2]。由于牛肾脏是一种高度复杂的食物基质，对 LOQ 的要求较高，因此无需进行后浓缩处理，采用后稀释更为合适。经过 EMR 混合模式通过式净化后，用水将样品洗脱液稀释至 1:1 乙腈:水。因此，整个方法引入了 10 倍稀释。后稀释处理省去了样品干燥步骤，节省了大量的时间，并使整个方法过程更简单、快捷。后稀释处理唯一需要考虑的因素是 ISTD 预加标浓度的调整。由于在样品前处理过程中引入了稀释倍数，因此需要提高 ISTD 的预加标浓度，以校正稀释

倍数并与纯校准标样中的 ISTD 浓度相匹配。由于纯校准曲线标样中的 ISTD 浓度为 1000 ng/L，将牛肾脏匀浆中的 ISTD 预加标浓度调整为 10000 ng/kg。因此，这一调整需要使用浓度较高的 ISTD 加标溶液。

方法 LOQ

根据之前的应用简报^[2]中所述的方法来确定方法 LOQ。表 1 显示牛肾脏中各种目标分析物计算出来的最低可报告值 (LOQ_{cal}) 和验证方法值 (LOQ_{val})。验证方法 LOQ 均低于或等于可食用内脏基质所要求的 LOQ。结果还表明，在牛肾脏基质空白中检测到了更多浓度更高的 PFAS 目标分析物。图 3 显示四种核心 PFAS 目标分析物的牛肾脏基质空白色谱图和经验证的 LOQ 浓度色谱图。

表 1. 牛肾脏基质中 30 种目标分析物的方法最低可报告值 (LOQ_{cal}) 和验证值 (LOQ_{val})

目标分析物	牛肾脏 LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	
	LOQ_{cal}	LOQ_{val}
PFBA	1.183	4.0
PFPeA	0.374	0.4
PFBS	0.109	0.2
4:2 FTS	0.25	0.4
PFPeS	0.207	0.2
PFHxA	0.356	0.4
HFPO-DA	0.174	0.2
PFHpA	0.195	0.4
PFHxS*	0.1	0.2
DONA	0.01	0.2
6:2 FTS	0.608	1.0
PFOA*	0.174	0.4
PFHpS	0.177	0.2
PFNA*	0.176	0.4
PFOS*	0.339	0.4

目标分析物	牛肾脏 LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	
	LOQ_{cal}	LOQ_{val}
9CI-PF3ONS	0.024	0.2
8:2 FTS	0.108	0.4
PFNS	0.247	0.2
PFDA	0.172	0.4
PFDS	0.028	0.2
PFUnDA	0.54	1.0
PFOSA	0.009	0.2
11CI-PF3OUdS	0.007	0.2
PFUnDS	NA	0.2
PFDoDA	0.239	0.4
10:2 FTS	NA	0.2
PFDoS	NA	0.2
PFTTrDA	NA	0.2
PFTTrDS	NA	0.2
PFTeDA	0.82	1.0

* 核心 PFAS 目标物
NA = 不适用

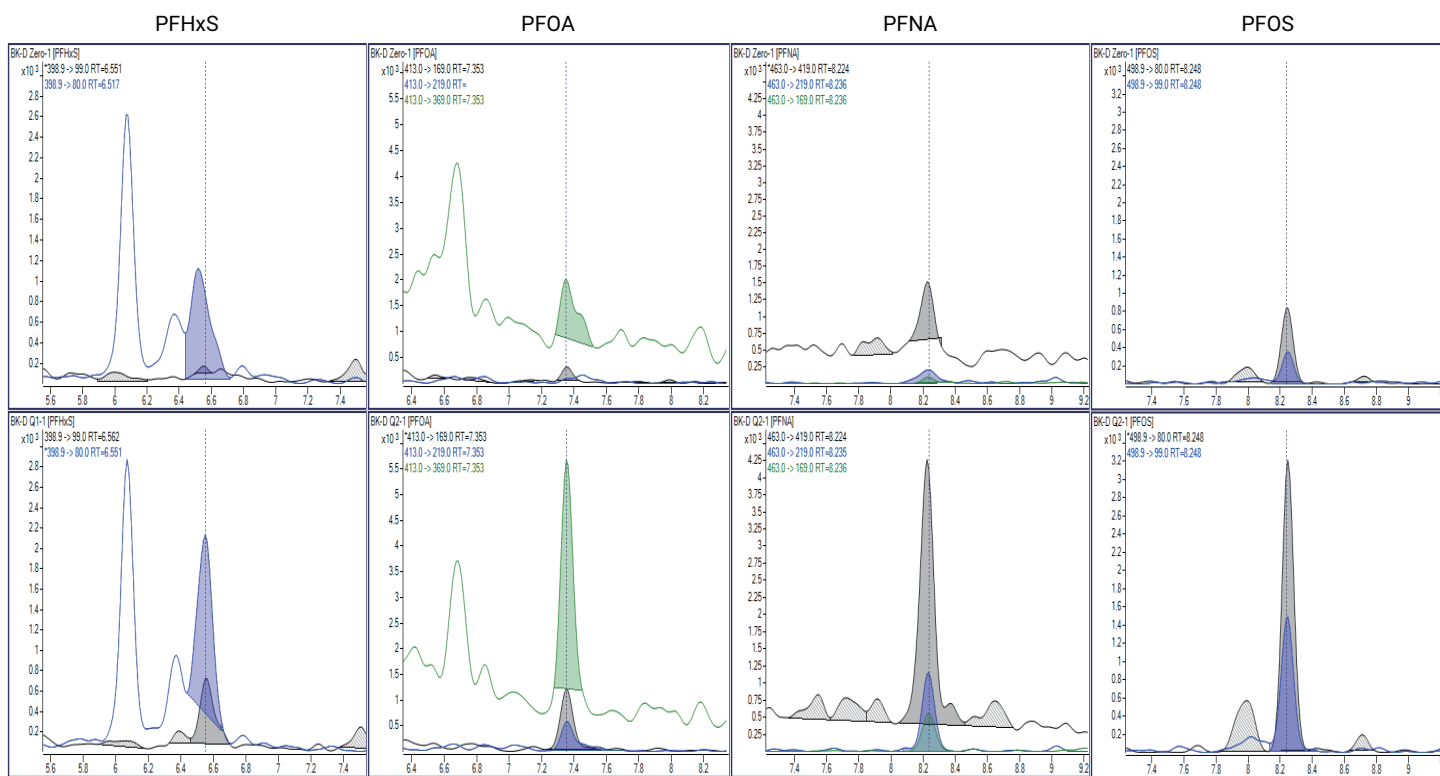


图 3. 牛肾脏基质空白（上图）和 LOQ 样品（下图）中的核心 PFAS 目标物（包括 PFHxS (0.2 µg/kg)、PFOA (0.4 µg/kg)、PFNA (0.4 µg/kg) 和 PFOS (0.4 µg/kg)）的色谱图

方法准确度与精密度

可食用内脏中使用相应同位素 ISTD 的 PFAS 的可接受标准为：四种核心 PFAS 目标分析物的回收率为 80%–120%，RSD% ≤ 20%，其余 PFAS 目标分析物的回收率为 65%–135%，RSD% ≤ 25%。对于未使用相应同位素 ISTD 的其余 PFAS 目标分析物，回收率的可接受标准为 40%–140%，RSD% ≤ 30%。图 4

所示的最终报告验证结果包括牛肾脏的三个 QC 浓度，即 LOQ、中和高浓度，表明牛肾脏中大多数 PFAS 目标分析物的方法回收率和重现性均可接受。不过，也有一些例外情况，其中包括：由于在基质空白中检测出明显的阳性结果，6:2 FTS 和 PFUnDA 只有两个加标浓度的结果可报告；由于基质效应，4:2 FTS 和 PFPeS 在一个加标浓度下的回收率较高。

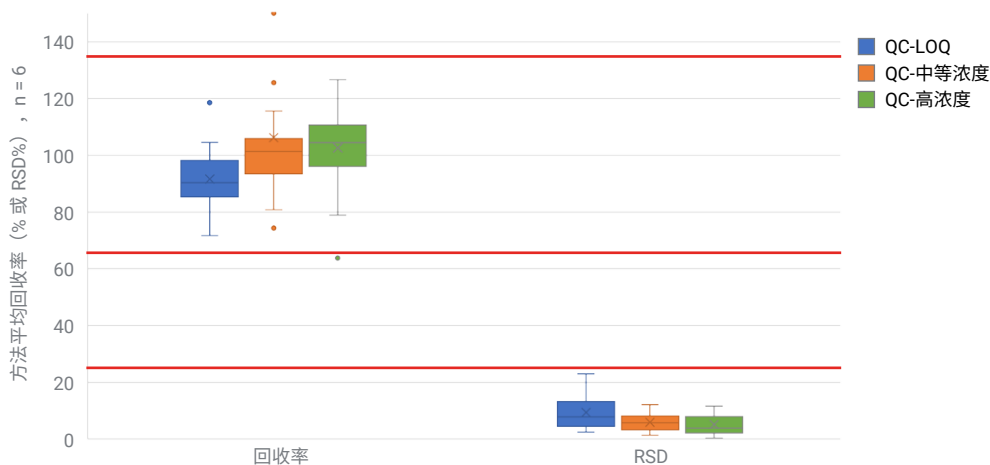


图 4. 牛肾脏中 PFAS 分析的方法验证回收率和重复性 (RSD%) 汇总

结论

本研究开发并验证了一种用于分析牛肾脏中 30 种 PFAS 目标物的简单、快速且可靠的方法，该方法首先使用 QuEChERS 萃取，随后通过 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 小柱进行 EMR 混合模式通过式净化，最后进行 LC/MS/MS 检测。该方法经过验证，符合可接受标准，并且方法性能满足 AOAC SMPR 2023.003 中所述的要求。

参考文献

1. AOAC (**2023**) Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Produce, Beverages, Dairy Products, Eggs, Seafood, Meat Products, and Feed (AOAC SMPR 2023.003)
2. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E., 使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 通过式净化和 LC/MS/MS 检测测定婴儿配方奶粉、牛奶和鸡蛋中的 30 种全氟和多氟烷基化合物 (PFAS), 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5994-7366ZHCN, **2024**

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

www.agilent.com

DE38449655

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，2024
2024 年 6 月 1 日，中国出版
5994-7370ZHCN