

根据 EPA 方法 1633 草案使用 Agilent 6475 LC/TQ 分析固体样品中全氟和多氟烷基化合物 (PFAS) 的性能优势

作者

Emily Parry, Matthew Giardina,
Tarun Anumol, Linfeng Wu,
Patrick Batoon
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报详细介绍了 Agilent 6475 三重四极杆 LC/MS (LC/TQ) 系统与 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱 (LC) 的联用系统用于根据 EPA 1633 草案 3 分析全氟和多氟烷基化合物 (PFAS) 的性能^[1]。Agilent 6475 和 6470B 三重四极杆 LC/MS 系统之间可实现无缝方法转移，并且由于 EPA 1633 分析物列表中包含热敏化合物，因此对新的智能离子源优化算法进行了测试。研究对校准线性和重现性进行了验证，结果符合所有方法要求。使用两种系统（6470B 和 6475 LC/TQ）对相同的土壤提取物进行了分析，以证明这两种系统的性能相当。最后，在每 50 次基质进样后监测校准验证标准品的同时，对提取的鱼类样品进行 1000 次以上的不间断进样，以考察仪器的稳定性。

前言

PFAS 是一种普遍存在的环境污染物，在饮用水、废水、土壤和食品中均有发现^[2]。U.S. EPA 有两种成熟的方法（EPA 537.1 和 533）用于分析饮用水中的 29 种 PFAS 化合物。EPA 1633 草案 3 于 2022 年 12 月发布，详细规定了对非饮用水、生物固体、固体和组织中 40 种 PFAS 化合物的分析^[1]。它采用同位素稀释定量，并具有针对特定基质的提取方案。之前的应用简报已详细介绍了根据方法草案使用 6470B LC/TQ 进行的废水检测^[3]。

本应用简报展示了使用 1290 Infinity II 液相色谱系统与 6475 LC/TQ 的联用系统根据 EPA 1633 方法分析土壤的性能。6475 LC/TQ 沿袭了 Agilent 6470B LC/TQ 的稳定性能，同时增加了新的智能功能以简化调谐和方法优化，如基于人工智能 (AI) 的调谐、维护监测和方法开发自动化等。

具体优势包括：

- 从 6470B LC/TQ 轻松实现方法转换，6475 LC/TQ 具有新的智能优化功能
- 6475 LC/TQ 用于分析 EPA 1633 分析物列表的性能
- 6470B 和 6475 LC/TQ 系统之间的土壤定量分析对比
- 超过 1000 次鱼组织进样的仪器稳定性

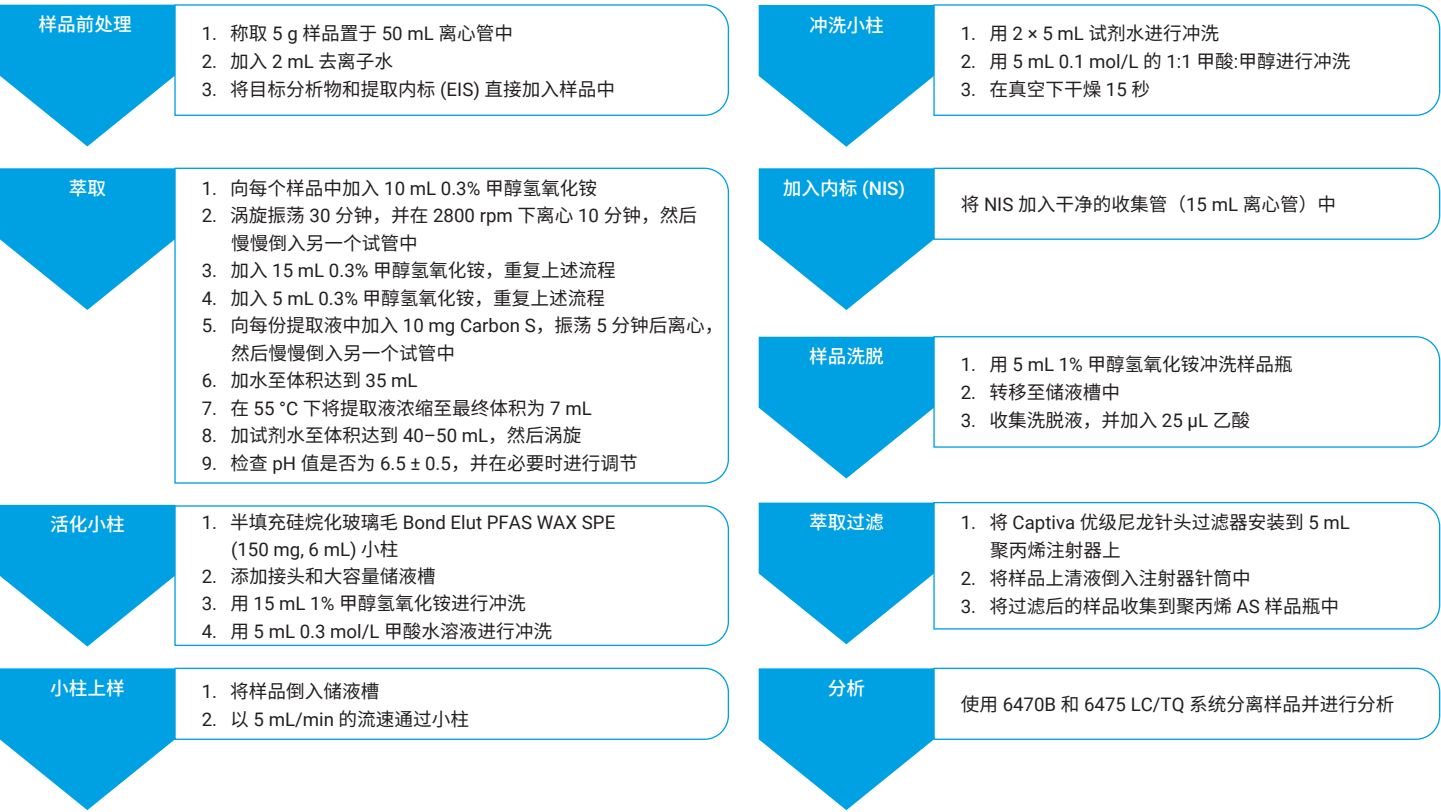


图 1. 萃取方案

实验部分

样品和校准标样

混标购自 Wellington Labs (ON, Canada)。制备了与 EPA 1633 草案 3^[1] 中所列浓度相似的 7 份标样。使用单独制备的标样对 6470B 和 6475 LC/TQ 系统进行土壤定量分析比较。

向土壤提取物加标渥太华砂，并按照图 1 中列出的方法^[1] 进行萃取。用于萃取的安捷伦消耗品和备件列于表 1。

目标化合物的加标浓度范围为 2–40 ng/g，萃取内标 (EIS) 的浓度范围为 1–20 ng/g，非萃取内标 (NIS) 的浓度范围为 1–4 ng/g (附录 A)。使用 6470B 和 6475 LC/TQ 系统对四个重复样品进行加标、萃取和分析。

鲑鱼组织购自当地一家超市，萃取方法见之前的应用简报^[5]。提取物中后加标中等浓度的 PFAS 混合物。提取物代表了一种具有挑战性的基质，用于确定 6475 LC/TQ 的稳定性。以 5 分钟的梯度分析鱼提取物。在对鱼类样品进行 50 次进样后，使用表 1 所示的全梯度对中等浓度的校准样品进行分析。

表 1. 用于萃取的安捷伦消耗品和备件^[4]

消耗品和备件	部件号
Bond Elut PFAS WAX 固相萃取 (SPE) 小柱, 150 mg, 6 mL	5610-2150
Bond Elut 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
玻璃毛, 经过硅烷处理, 50 g, 用于 GC	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, 直径 25 mm, 孔径 0.2 µm	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
活塞阀 (20 个装)	12234520
聚丙烯螺口样品瓶, 2 mL	5191-8150
螺口盖, 9 mm, 带聚丙烯/硅橡胶螺纹隔垫	5191-8151

三重四极杆液相色谱/质谱条件

使用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统与 Agilent 6475 三重四极杆 LC/MS 的联用系统进行 LC/TQ 分析。该系统由 Agilent MassHunter 采集软件 12.0 (LC/TQ) 控制，该软件具有新的智能功能，并保持与旧版本的方法兼容性。采集方法基于之前发布的参数^[3]。全液相色谱参数如表 2 所示。MS 条件见表 3。使用 MassHunter 采集软件 12.0 将针对 6470B LC/TQ 开发和优化的安捷伦三重四极杆液质联用系统（产品编号 G1736AA）PFAS MRM 数据库直接导入 6475 LC/TQ 中。

表 2. LC 仪器条件

参数	值																
LC	Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统，包括以下模块： – Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A) – Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B) – Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)																
分析柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 µm (部件号 959758-902)																
延迟柱	Agilent InfinityLab PFC 延迟柱, 4.6 × 30 mm (部件号 5062-8100)																
柱温	50 °C																
进样量	2 µL																
流动相	A) 2 mM 乙酸铵水溶液 B) 95:5 乙腈:水																
梯度流速	0.4 mL/min																
梯度	<table><tr><td>时间 (min)</td><td>% B</td></tr><tr><td>0.0</td><td>15</td></tr><tr><td>0.5</td><td>15</td></tr><tr><td>1.5</td><td>25</td></tr><tr><td>7.0</td><td>60</td></tr><tr><td>10.0</td><td>100</td></tr><tr><td>12.0</td><td>100</td></tr><tr><td>12.1</td><td>15.0</td></tr></table>	时间 (min)	% B	0.0	15	0.5	15	1.5	25	7.0	60	10.0	100	12.0	100	12.1	15.0
时间 (min)	% B																
0.0	15																
0.5	15																
1.5	25																
7.0	60																
10.0	100																
12.0	100																
12.1	15.0																
停止时间	12.5 min																
后运行时间	2.5 min																

表 3. 质谱条件

参数	值
MS	配备安捷伦喷射流电喷雾离子源的 Agilent 6475 LC/TQ (部件号 G6475A)
离子源参数	
气体温度	230 °C
气体流速	8 L/min
雾化器	20 psi
鞘气温度	355 °C
鞘气流速	10 L/min
毛细管电压 (负)	2500 V
喷嘴电压 (负)	0 V

6475 LC/TQ 具有新的智能功能，包括全自动方法开发算法，该算法无需用户干预即可以最佳值更新方法设置。用于离子源优化的参数选择有两种算法模型：提取离子色谱图 (EIC) 和加权 EIC 模型。EIC 模型可大幅提高总信号响应，而加权 EIC 模型则侧重于通过可调权重分析复杂混合物中的低响应分析物。EPA 1633 的 6470B LC/TQ 离子源值之前已经过优化并发布^[6,3]。将之前的手动处理结果和新的智能软件结果进行比较，提供了一个有趣的检测实例。EPA 1633 分析物列表中的 PFAS 包括对离子源温度敏感的化合物（例如 NFDHA），可以在表中查看整体结果，也可以查看单个化合物的结果。图 2 显示了两种模型在干燥气体温度方面的差异。

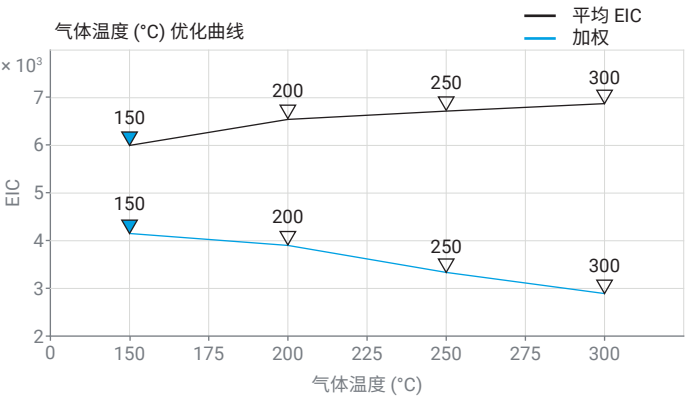


图 2. 离子源优化曲线

离子源优化模型在 225 °C 左右开始出现差异。差异表明，虽然在较高温度下整体 EIC 上升，但一些低丰度化合物的丰度有所降低。考虑单个化合物的结果后，我们证实在 230 °C 时达到最佳平衡，这也是我们原始方法中选择的温度^[3]。有趣的是，这是两种模型开始出现差异时的近似温度，有助于验证用于分析的理想气体温度。

使用 6475 LC/TQ 分析 EPA 1633 分析物的性能

将校准标样重复进样 7 次。所有化合物均使用 1/x 加权进行线性或二次曲线拟合。进行 EPA 1633 方法第 10.3.3.3 节所述的仪器线性计算，测试范围（表 4）的 RSD 均低于 14%。此外，还评估了低浓度校准溶液下 7 次重复进样的 RSD。RSD 最高的两种化合物为 MeFOSA 和 MeFOSAA，RSD 接近 15%。

要使氟调聚物磺酸盐 (FTS) 化合物达到良好的校准拟合效果，一个重要的考虑因素是选择标记萃取标准品的定量离子对。在 EPA 533 中，含硫化合物的 M+2 同位素具有与 ¹³C₂ 标记同位素相同的标称质量^[7]。在 EPA 533 中测试的较低浓度下，干扰最小；然而，EPA 1633 的浓度范围更宽，因此选择丰度较低的产物离子 (m/z 81) 非常重要。

表 4. 方法性能数据（下页续）

化合物	校准 %RSD (选项 1)	校准 %RSE (选项 2)	低浓度校准 (ng/mL)	高浓度校准 (ng/mL)	R ²	低浓度下的 %RSD
11Cl-PF3OUdS	8%	7%	0.20	100.0	0.998	3.2%
3-3 FTCA	10%	10%	0.40	200.0	0.997	5.2%
4:2 FTS	10%	10%	0.38	187.5	0.995	11.8%
5-3 FTCA	10%	10%	2.00	1000.0	0.998	3.6%
6:2 FTS	9%	11%	0.38	190.0	0.997	6.3%
7-3 FTCA	11%	10%	2.00	1000.0	0.998	7.1%
8:2 FTS	8%	10%	0.38	192.0	0.996	8.1%
9Cl-PF3ONS	8%	8%	0.20	100.0	0.998	4.2%
ADONA	7%	9%	0.20	100.0	0.998	1.6%
HFPO-DA	9%	10%	0.20	100.0	0.998	4.2%
NEtFOSA	9%	12%	0.10	50.0	0.996	9.5%
NEtFOSAA	13%	13%	0.10	50.0	0.996	11.3%
NEtFOSE	8%	9%	1.00	500.0	0.997	2.5%
NFDHA	9%	10%	0.20	100.0	0.998	8.1%
NMeFOSA	10%	12%	0.10	50.0	0.996	14.1%
NMeFOSAA	12%	14%	0.10	50.0	0.996	15%
NMeFOSE	8%	10%	1.00	500.0	0.997	2.1%
PFBA	8%	10%	0.40	200.0	0.997	3.1%
PFBS	9%	10%	0.09	44.4	0.997	7.3%
PFDA	10%	12%	0.10	50.0	0.997	6.8%
PFDaA	9%	11%	0.10	50.0	0.997	8.3%
PFDoS	9%	11%	0.10	48.5	0.997	10.8%
PFDS	9%	11%	0.10	48.3	0.997	12.8%
PFEESA	8%	8%	0.20	100.0	0.998	2.5%
PFHpA	9%	12%	0.10	50.0	0.996	5.8%
PFHpS	9%	12%	0.10	47.7	0.997	10.4%

表 4. 方法性能数据 (续)

化合物	校准 %RSD (选项 1)	校准 %RSE (选项 2)	低浓度 校准 (ng/mL)	高浓度 校准 (ng/mL)	R ²	低浓度下的 %RSD
PFHxA	9%	11%	0.10	50.0	0.997	7.5%
PFHxS	10%	11%	0.09	45.7	0.997	3.5%
PFMBA	8%	10%	0.20	100.0	0.998	3.1%
PFMPA	8%	10%	0.20	100.0	0.998	1.7%
PFNA	10%	12%	0.10	50.0	0.996	9.7%
PFNS	9%	10%	0.10	48.1	0.997	12%
PFOA	9%	12%	0.10	50.0	0.997	11.3%
PFOS	7%	9%	0.09	46.4	0.997	6.7%
PFOSA	8%	10%	0.10	50.0	0.997	3.4%
PFPeA	8%	10%	0.20	100.0	0.997	3.1%
PFPeS	9%	13%	0.09	47.1	0.996	7%
PFTeDA	9%	11%	0.10	50.0	0.996	9.6%
PFTrDA	11%	12%	0.10	50.0	0.996	7%
PFUnA	11%	12%	0.10	50.0	0.996	10.2%

6470B 和 6475 LC/TQ 系统之间的土壤定量分析对比

本研究比较了 6470B 和 6475 LC/TQ 系统对四种加标土壤萃取液的萃取回收率。如图 3 和图 4 所示，两种仪器对所有化合物的平均回收率分别为 70% 和 130%，RSD 均小于 20%。6470B 和 6475 LC/TQ 系统对所有目标分析物的总体平均回收率分别为 103.2% 和 97.7%，平均 RSD 分别为 3.4% 和 2.0%。这表明这两种仪器的性能相当，都十分出色。

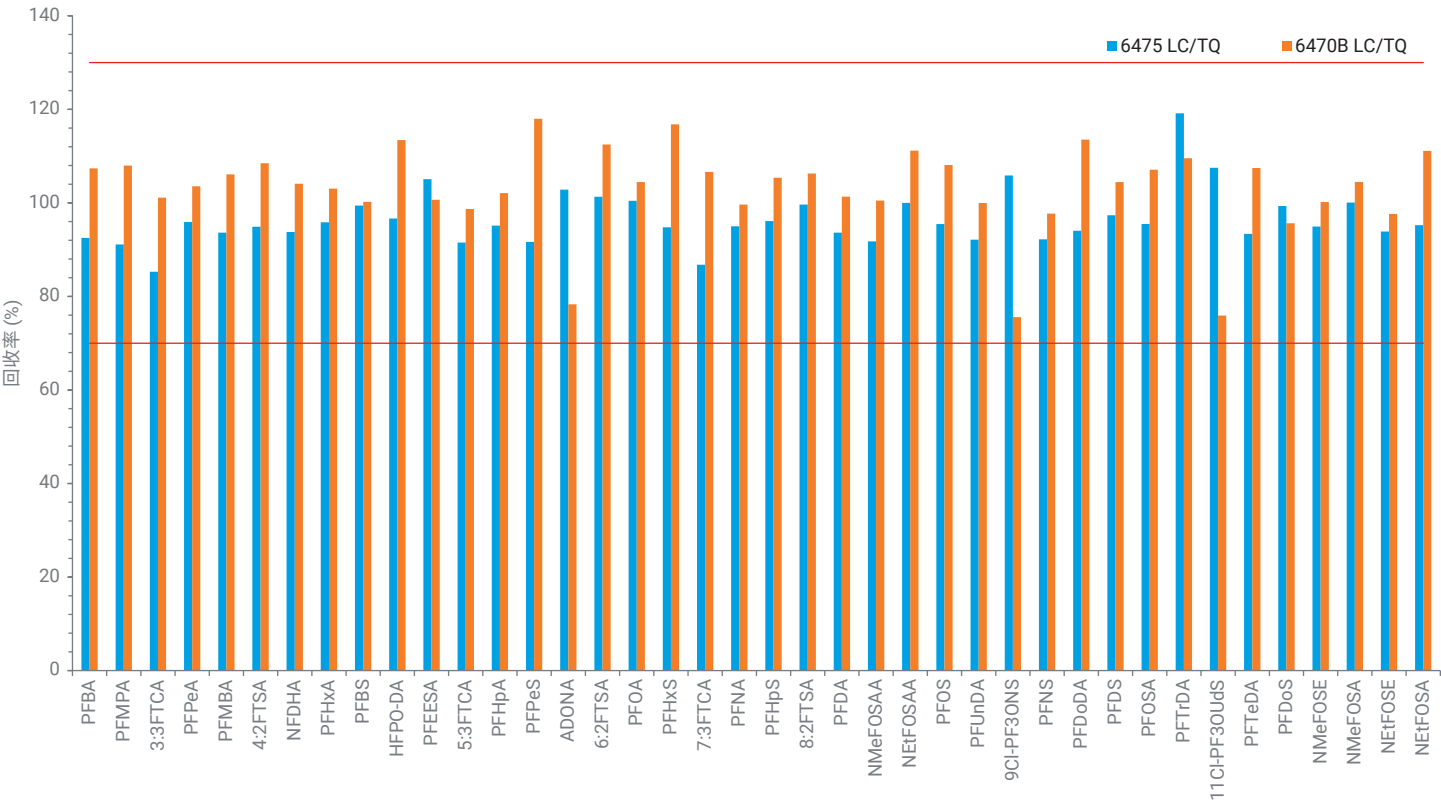


图 3. 使用 Agilent 6470B 和 6475 三重四极杆液质联用系统分析的四个萃取液重复样品的平均目标分析物回收率

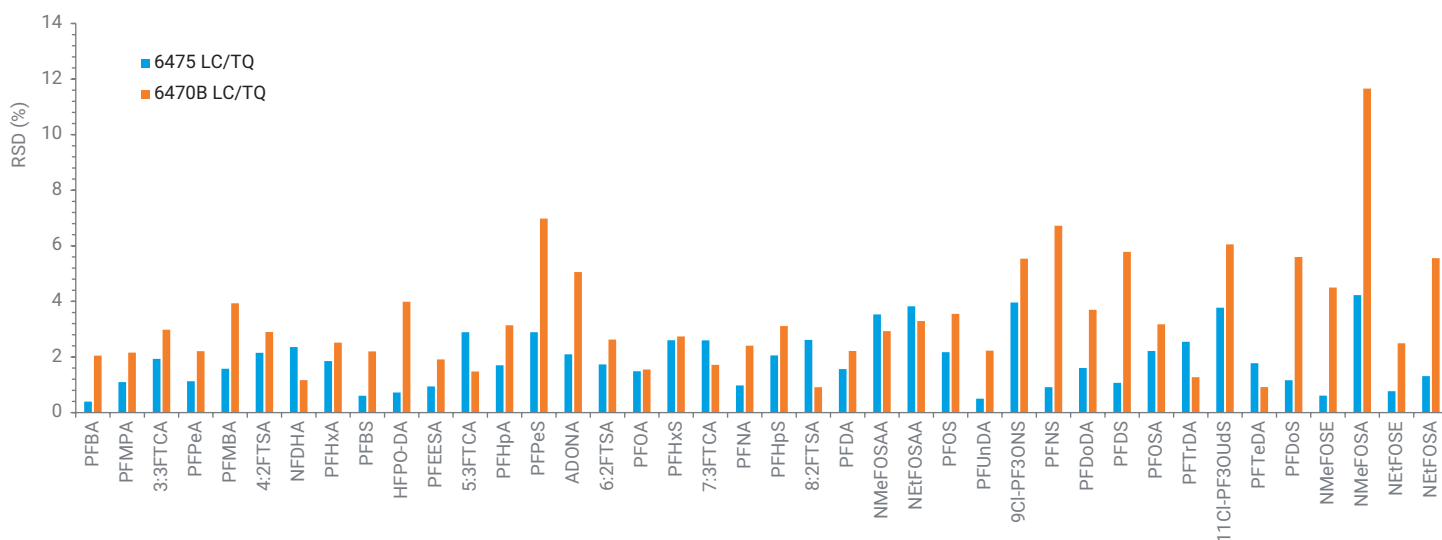


图 4. 使用 Agilent 6470B 和 6475 三重四极杆液质联用系统分析的四个萃取液重复样品的目标分析物 %RSD

6475 LC/TQ 的稳定性

6475 LC/TQ 的优势在于可为基质样品提供稳定性能。图 5 显示了 1300 次鲑鱼基质进样中 PFBA、PFOA 和 PFBS 的性能。实线表示每 50 个鲑鱼样品进样一次的 CV 标准品的性能，彩色圆点表示后加标鲑鱼基质的重复进样。在整个化合物列表

中，CV 丰度在 3%–22% 之间。化合物列表中大多数 (86%) 化合物的丰度 RSD 低于 10%。FTS 和 FOSAA 化合物的丰度 RSD 较高，在 16%–22% 之间，对于这两类化合物而言属于正常水平。

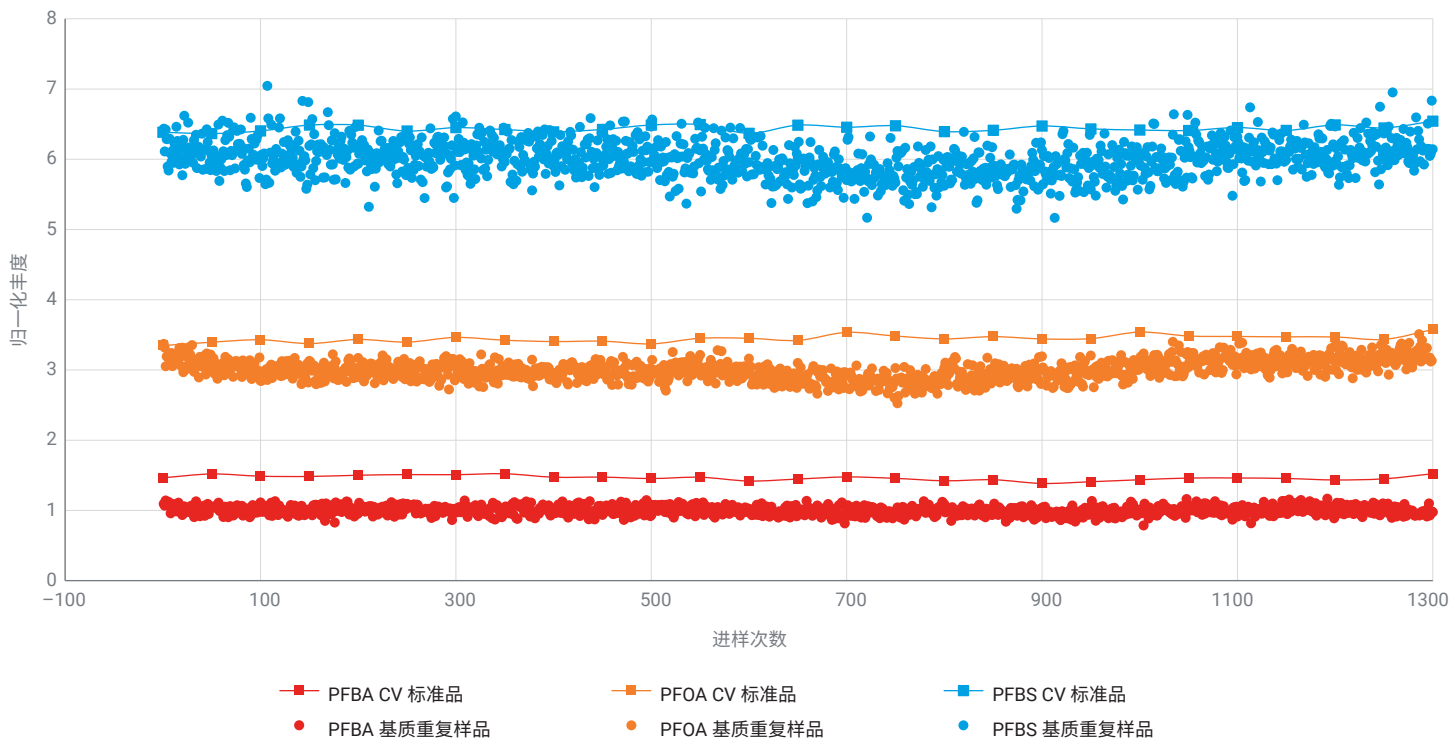


图 5. 仪器在 1300 次进样中的稳定性。对丰度进行归一化，并按比例调整进行可视化。实线表示持续校准验证标样与基质进样的各个点

结论

本应用简报展示了 Agilent 6475 三重四极杆液质联用系统在 PFAS 分析中的出色分析灵敏度、精密密度、准确性和稳定性。Agilent 6470B 和 6475 LC/TQ 系统的土壤样品 PFAS 分析结果相当。

参考文献

1. Office of Water and Office of Science and Technology, Engineering and Analysis Division, 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. Last revised August 2021. https://www.epa.gov/system/files/documents/2021-09/method_1633_draft_aug-2021.pdf

2. United States Environmental Protection Agency. Our Current Understanding of the Human Health and Environmental Risks of PFAS. Last updated March 16, 2023. <https://www.epa.gov/pfas/our-current-understanding-human-health-and-environmental-risks-pfas>

3. Hunt, K. et al. Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous Samples Per EPA Draft Method 1633 (根据 EPA 方法草案 1633 分析水样中的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 5994-4926EN，2022

4. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) analysis for environmental samples (环境样品的全氟和多氟烷基化合物 (PFAS) 分析)，安捷伦科技公司消耗品订购指南，出版号 5994-2357EN，2023

5. Yang, X. 用于三文鱼中兽药分析的快速样品前处理工作流程，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-1124ZHCN，2019

6. Giardina, M. 土壤提取物中全氟和多氟烷基化合物的分析，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-2999ZHCN，2021

7. Rosenblum, L. and Wendelken, S.C., United States Environmental Protection Agency. Method 533: Determination of Per- and Polyfluoroalkyl substances in drinking water by isotope dilution and anion exchange solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry, 2019 <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-12/documents/method-533-815b19020.pdf>

附录 A

表 A1. 目标化合物、NIS 和 EIS 的浓度

目标化合物	加标浓度 (ng/g)
PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA, PFTrDA, PFTeDA, PFBS, PFPeS, PFHxS, PFHpS, PFOS, PFNS, PFDS, PFDoS, PFOSA, NMeFOSA, NEtFOSA, NMeFOSAA, NEtFOSSA	2
PFPeA, PFMPA, NFDHA, PFMBa, PFEESA	4
PFBA, 4:2FTS, 6:2FTS, 8:2FTS, HFPO-DA, ADONA, 9Cl-PF3ONS, 11Cl-PF3OUdS, 3:3FTCA	8
NMeFOSE, NEtFOSE	20
5:3FTCA, 7:3FTCA	40
EIS	
¹³ C ₂ -PFDoA, ¹³ C ₂ -PFTeDA, ¹³ C ₆ -PFDA, ¹³ C ₇ -PFUnA, ¹³ C ₉ -PFNA	1
¹³ C ₅ -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 ₅ -NEtFOSA	2
¹³ C ₇ -4:2FTS, ¹³ C ₇ -6:2FTS, ¹³ C ₇ -8:2FTS, ¹³ C ₅ -PFPeA, D ₃ -NMeFOSAA, D ₅ -NEtFOSAA	4
¹³ C ₃ -HFPO-DA, ¹³ C ₄ -PFBA	8
D ₇ -MeFOSE, D ₉ -EtFOSE	20
NIS	
¹³ C ₅ -PFNA, ¹³ C ₂ -PFDA	1
¹³ C ₂ -PFHxA, ¹³ C ₄ -PFOA, ¹⁸ O ₂ -PFHxS, ¹³ C ₄ -PFOS	2
¹³ C ₃ -PFBA	4

www.agilent.com

DE48667454

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 7 月 21 日, 中国出版
5994-6115ZHCN

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

