

婴儿食品中 30 种全氟和多氟烷基化合物的测定

使用 Captiva EMR PFAS Food I 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

摘要

本应用简报介绍了婴儿食品中全氟和多氟烷基化合物 (PFAS) 多组分分析方法的开发与验证。该方法采用 QuEChERS 萃取，然后使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food I 小柱进行增强型脂质去除 (EMR) 混合模式通过式净化，最后进行 LC/MS/MS 检测。该方法的样品前处理过程简单、高效，LC/MS/MS 检测灵敏度高，且使用纯标准品校准曲线实现了可靠定量。新型 Captiva EMR PFAS Food I 小柱专为分析植物源性新鲜食品和加工食品中的 PFAS 而开发，并进行了优化。根据 AOAC 标准方法性能要求 (SMPR)，对该方法的适用性、灵敏度、准确度和精密度进行了验证。结果表明，该方法对于婴儿食品中的 4 种核心 PFAS 目标物（全氟辛烷磺酸 (PFOS)、全氟辛酸 (PFOA)、全氟壬酸 (PFNA) 和全氟己烷磺酸 (PFHxS)）以及其余 26 种 PFAS 目标物，都能够提供所需的定量限 (LOQs)、回收率和重复性。

前言

食品中 PFAS 残留的测定已成为人们日益关注的话题之一，在过去几年中越来越受到重视。2023 年 4 月，欧盟委员会针对鸡蛋、鱼、海产品、肉类和内脏中的四种 PFAS 化合物 (PFOS、PFOA、PFNA 和 PFHxS) 实施了相关规定^[1]。2023 年 11 月，AOAC 针对农产品、饮料、乳制品、鸡蛋、海产品、肉类产品和饲料中 30 种 PFAS 的分析发布了 SMPR 2023.003^[2]。

在食品分析中，样品前处理过程是整个方法实现高效 PFAS 萃取和去除基质共萃取物的重要一环。食品基质种类繁多且非常复杂，这对样品前处理方法带来的挑战不仅体现在样品萃取和基质净化效率方面，还包括整体方法的简便性、样品处理效率以及不同基质的适应性。基于弱阴离子交换 (WAX) 吸附剂的固相萃取 (SPE) 方法已广泛应用于环境样品（例如水和土壤）以及其他基质中的 PFAS 分析^[3, 4]。但对于复杂的固体食品基质，由于要先经过萃取才能将食品样品装入小柱，导致 SPE 方法的样品前处理充满挑战。此外，SPE 流程通常涉及活化、平衡、上样、清洗和洗脱，需要耗费大量时间和溶剂。

有研究通过在 QuEChERS 萃取后执行典型的分散式 SPE (dSPE) 净化来进行食品中 PFAS 分析的样品前处理^[5]。然而，对于许多食品基质而言，dSPE 净化无法有效去除基质，无法满足食品分析中较严格的 LOQ 要求。对此，作者在 dSPE 净化之后另外增加了 WAX SPE 净化步骤^[5]。这导致该方法耗时耗力，极大地影响了样品处理效率。dSPE 样品净化还会导致 PFAS 目标物损失。

Agilent Captiva EMR PFAS Food 小柱专门针对食品中的 PFAS 分析进行开发和优化，精妙设计了两种小柱 (I 和 II)，以涵盖各种食品基质。本研究的目的是开发和验证一套用于测定婴儿食品中 30 种 PFAS 的完整工作流程，该工作流程首先采用 QuEChERS 萃取，然后使用 Captiva EMR PFAS Food I 小柱的 EMR 混合模式进行通过式净化，最后使用 Agilent 6495D LC/MS/MS 进行检测。

实验部分

化学品与试剂

天然 PFAS 和同位素标记的内标 (ISTD) 初级标准品储备液购自 Wellington Laboratories (Ontario, CA)。甲醇 (MeOH)、乙腈 (ACN) 和异丙醇 (IPA) 购自 VWR (Radnor, PA, USA)。乙酸和乙酸铵购自 MilliporeSigma (Burlington, MA, USA)。

溶液与标准品

用 MeOH 稀释天然 PFAS 初级溶液，制备 3 种天然 PFAS 加标溶液 (I、II 和 III)，这 3 种溶液中 28 种 PFAS 目标物的浓度分别为 200、20 和 2 ng/mL。PFBA 和 PFPeA 例外，其浓度分别是其他 28 种目标物浓度的 10 倍和 5 倍。

用 MeOH 稀释 ISTD 初级溶液，制备浓度为 100 ng/mL 的 ISTD 加标溶液。

使用 MeOH、天然 PFAS 和 ISTD 加标溶液制备天然 PFAS 目标物的浓度为 10、20、50、100、200、500、1000、2000 和 5000 ng/L 且 ISTD 浓度为 1000 ng/L 的纯校准标样。上述溶液还用于制备基质预加标质控 (QC) 样品。所有标准品均在 4 °C 下储存，使用时间不超过 2 周。

在 990 mL 乙腈中加入 10 mL 冰乙酸，制备含 1% 乙酸的乙腈萃取溶剂，并于室温下储存。LC 流动相 A 为 5 mM NH₄OAc 水溶液，流动相 B 为 MeOH。

设备与材料

本研究采用由 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)、1290 Infinity II Multisampler (G7167B) 和 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116A) 组成的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统进行。该液相色谱系统与配备安捷伦喷射流 iFunnel 电喷雾离子源的 Agilent 6495D LC/TQ 联用。采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。

用于样品前处理的其他仪器包括：

- Centra CL3R 离心机 (Thermo IEC, MA, USA)
- Geno/Grinder (Metuchen, NJ, USA)
- Multi Reax 试管振荡器 (Heidolph, Schwabach, Germany)
- 移液管和重复用移液器 (Eppendorf, NY, USA)
- 安捷伦正压 48 孔处理装置 (PPM-48; 部件号 5191-4101)
- CentriVap 和 CentriVap 冷阱 (Labconco, MO, USA)
- 超声波清洗器 (VWR, PA, USA)

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，该工具包内含 Agilent InfinityLab PFC 延迟柱 (4.6 × 30 mm, 部件号 5062-8100)。使用 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 色谱柱 (95 Å, 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：

- Agilent 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 I 小柱, 6 mL, 340 mg (部件号 5610-2230)
- 聚丙烯 (PP) 卡口盖和样品瓶, 1 mL (部件号 5182-0567 和 5182-0542)
- PP 螺口盖型样品瓶和瓶盖, 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 设置可参见安捷伦科技公司应用简报 5994-7366ZHCN^[6]。

样品前处理

婴儿食品购自当地超市，内含多种水果和蔬菜，如苹果、甘薯、胡萝卜、香蕉、甜菜、南瓜、蓝莓、梨、黑莓、猕猴桃、羽衣甘蓝、菠菜、芒果、奇亚籽和桃子。为了保证基质采样的一致性，将多袋婴儿食品倒入聚丙烯瓶中充分混合。

取 10 g 制备的婴儿食品样品进行萃取。将天然 PFAS 和 ISTD 加标溶液适当加入 QC 样品中，仅将 ISTD 加标溶液加入基质空白样品中。加标后，将样品涡旋 10–15 s。然后按照图 1 所述的程序对样品进行前处理。

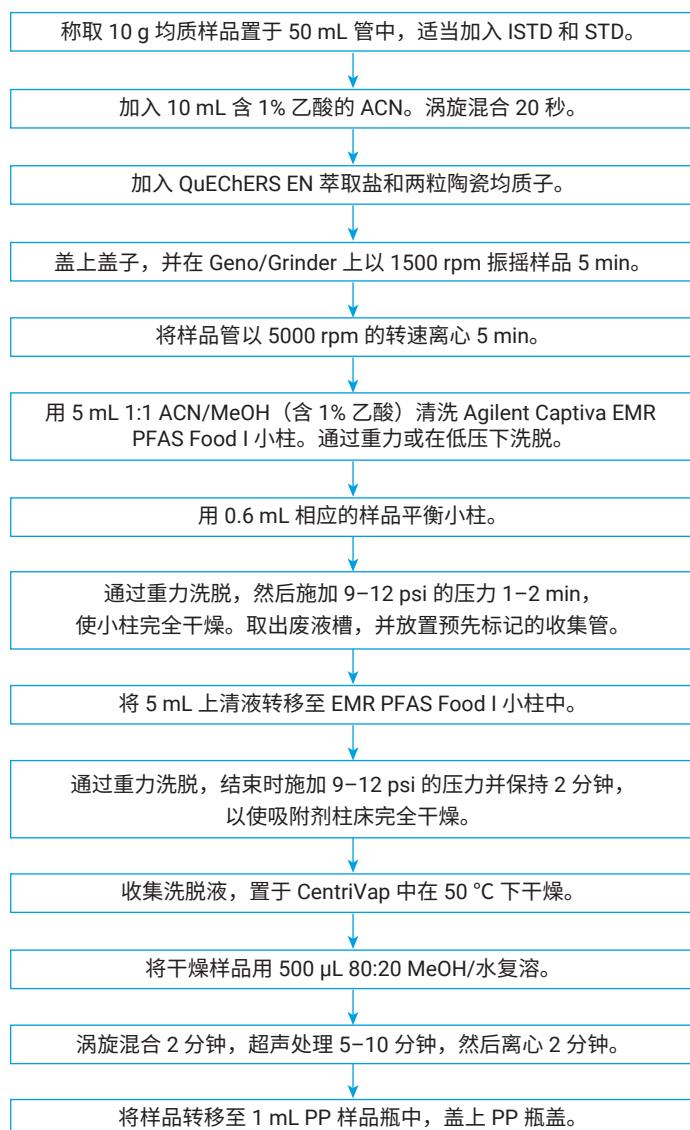


图 1. 使用 LC/MS/MS 分析婴儿食品中 PFAS 的样品前处理流程

方法性能评估

本研究从基质去除、目标物回收率和重复性方面，评估了使用 Captiva EMR PFAS Food I 小柱对样品进行 EMR 混合模式通过式净化的效果。然后对整个方法进行了验证，包括校准研究、方法 LOQ 测定以及回收率和精密度。由于农产品中的目标物 LOQ 要求不同且针对 PFOA、PFOS、PFNA 和 PFHxs 的 LOQ 要求极低^[1]，因此制备 7 个预加标 QC 浓度样品，每个浓度下包含 4 或 5 份平行样品。此外，制备了基质空白（5–7 份平行样品），用于定量分析基质对照样品中的目标物。这对于准确度评估很重要，因为基质对某些 PFAS 的影响是不可避免的。对于婴儿食品中的 28 种 PFAS，预加标 QC 样品的 PFAS 加标浓度为 0.001、0.002、0.004、0.01、0.02、0.1 和 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，而 PFBA 的加标浓度为上述浓度的 10 倍，PFPeA 为 5 倍。所有预加标 QC 样品和基质空白样品中的 ISTD 加标浓度均为 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

结果与讨论

增强型基质去除混合模式通过式净化

在传统 QuEChERS 萃取之后，Captiva EMR PFAS Food 小柱通过混合模式机制提供全面的基质去除。通过式净化是一种简单且高效的程序，能够去除包括碳水化合物、有机酸、色素、脂肪和脂质以及其他疏水性和亲水性基质共萃取物在内的各种基质干扰物质。Captiva EMR PFAS Food I 小柱所含的吸附剂更少，配方更简单，推荐用于植物源性新鲜食品和加工食品，如水果和蔬菜、婴儿食品以及果汁。Captiva EMR PFAS Food II 小柱含有更多的吸附剂，配方更复杂，推荐用于动物源性新鲜食品和加工食品，如牛奶、蛋类、肉类、鱼类、婴儿配方奶粉以及某些植物源性食品（如干籽饲料和食品）和油类。

与传统 dSPE 净化相比，在 QuEChERS 萃取后使用 EMR 混合模式通过式净化显著提高了 PFAS 的回收率和重现性。本研究评估了经 QuEChERS 萃取获得的婴儿食品粗提物进行 Captiva EMR PFAS Food 小柱通过式净化后得到的 PFAS 回收率，并与典型的 dSPE 净化进行了比较。图 2 所示为婴儿食品提取物中各目标物的平均回收率的比较结果，结果表明，使用 Captiva EMR PFAS Food I 小柱的 EMR 混合模式通过式净化与 dSPE 净化相比，回收率显著提高。

此外，还通过 GC/MS 全扫描和 LC/Q-TOF 总离子流色谱图 (TIC) 扫描评估了样品净化过程中的基质去除情况，如图 3 中的色谱图比较所示。结果表明，使用 EMR 混合模式通过式净化显著提高了基质去除率。

除 PFAS 目标物回收率和基质去除率得到改善以外，EMR 混合模式通过式净化还有另一项重要特征：更高的样品体积回收率。在其他常见的食品安全分析（例如农药和兽药分析）中，通常不太关注样品体积回收率；然而，对于食品 PFAS 分析，由于要求的 LOQs 处于低至中等 ppt 水平，因此样品体积回收率至关重要。超低的 LOQs 要求使用后浓缩步骤来提高方法灵敏度。在样品净化之后，通常会通过干燥和复溶步骤来实现 5–10 倍的后浓缩。因此，样品体积对于实现高浓缩系数和一致的复溶至关重要。通常情况下，dSPE 净化只能实现约 50% 的样品体积回收率，这意味着 5 mL 样品提取物净化后只能得到 2.5 mL 的体积。EMR 混合模式净化的体积回收率 > 90%，这意味着净化 5 mL 样品提取物可得到约 4.5 mL 样品。更大的体积可轻松实现后浓缩和一致的样品复溶。

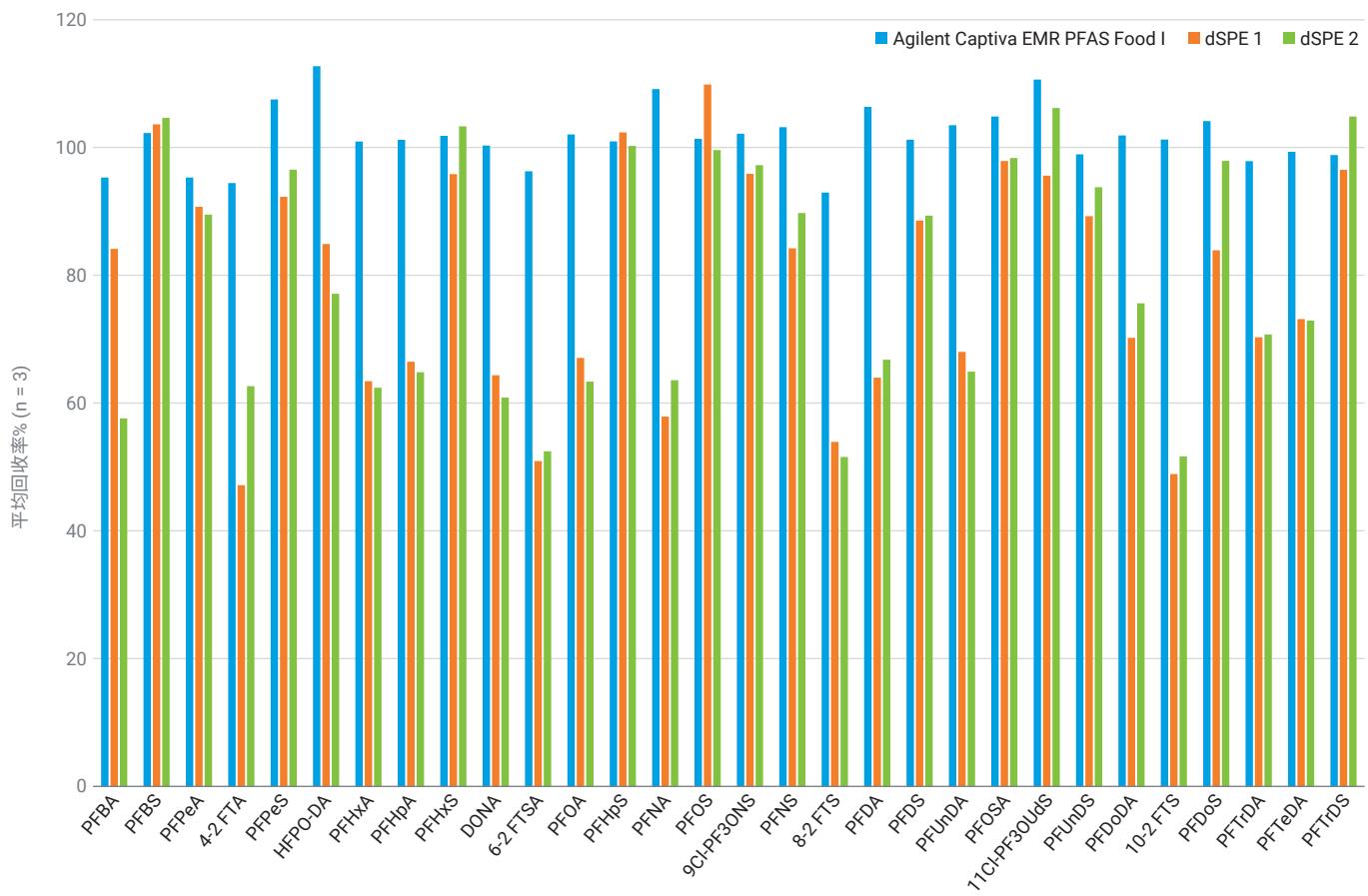


图2. 婴儿食品中 PFAS 的回收率：经 QuEChERS 萃取后使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food I 小柱的 EMR 混合模式进行通过式净化或使用传统 dSPE 净化

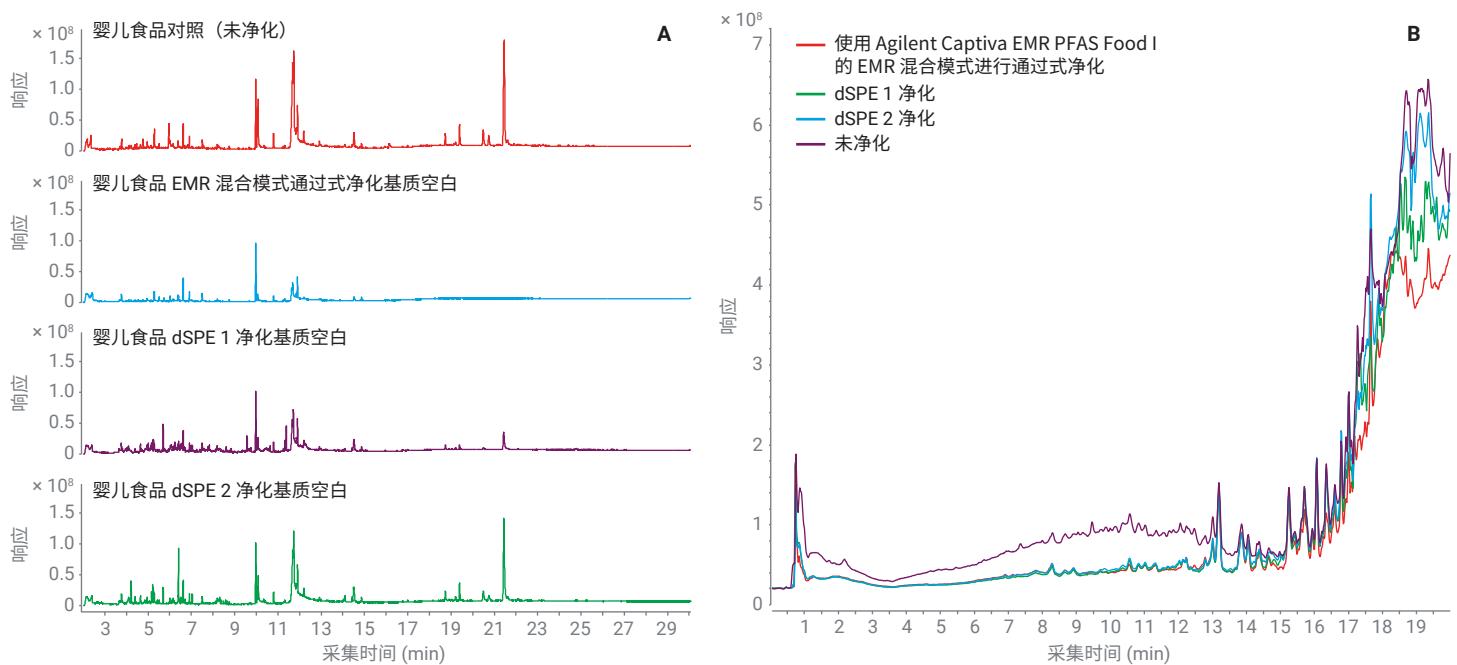


图3. 通过 GC/MS 全扫描 (A) 和 LC/Q-TOF TIC + 扫描 (B) 比较使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food I 小柱的 EMR 混合模式进行通过式净化与传统 dSPE 净化的婴儿食品基质去除情况

样品前处理流程

EMR 混合模式通过式净化的步骤更少，简化了整个样品前处理流程，节省了时间、人力和消耗品。新开发的方法包括两个主要过程：QuEChERS 萃取和 EMR 通过式净化，而传统方法包括三个主要过程：QuEChERS 萃取、dSPE 净化和 WAX SPE 萃取^[5]。

图 4 比较了两种样品前处理方法。传统方法中增加了 WAX SPE 步骤，用于在 dSPE 净化之后进一步净化样品提取物^[5]。然而，SPE 方法在与之前的样品萃取和 dSPE 净化步骤配合使用时面临着一些问题。在将有机溶液 (ACN) 粗提物上样到小柱上之前，需要将其稀释成含 90% 水的溶液，这要么在干燥后用高含水量的溶液复溶，要么直接用水稀释，这会导致上样量过大，仅上样步骤就耗时耗力。而且典型的 SPE 流程包括活化、平衡、上样、清洗和洗脱，也需要更多时间，使用更多溶剂。对于相同的样品量，使用传统方法进行前处理所需的时

间是新方法的三倍。此外，与传统方法相比，新方法使用的溶剂和消耗品更少。总体而言，新方法的这些优势可以提高实验室的整体工作效率。

即使是简单的植物源性新鲜食品样品（可跳过 WAX SPE 步骤），EMR 混合模式通过式净化仍然能够省去开盖和加盖、转移样品、离心等多个步骤，比传统 dSPE 净化更加简便。这些优势也有助于提高整体工作效率。

完整方法验证

本研究根据 AOAC SMPR 指南，验证了用于测定婴儿食品中 30 种 PFAS 目标物的新方法。该方法需要满足对 PFAS 目标物 LOQs 的要求：核心 PFAS 目标物的 LOQ $\leq 0.01 \mu\text{g/kg}$ ；PFBA 和 PFPeA 的 LOQ $\leq 1 \mu\text{g/kg}$ ；其余 PFAS 目标物的 LOQ $\leq 0.1 \mu\text{g/kg}$ 。

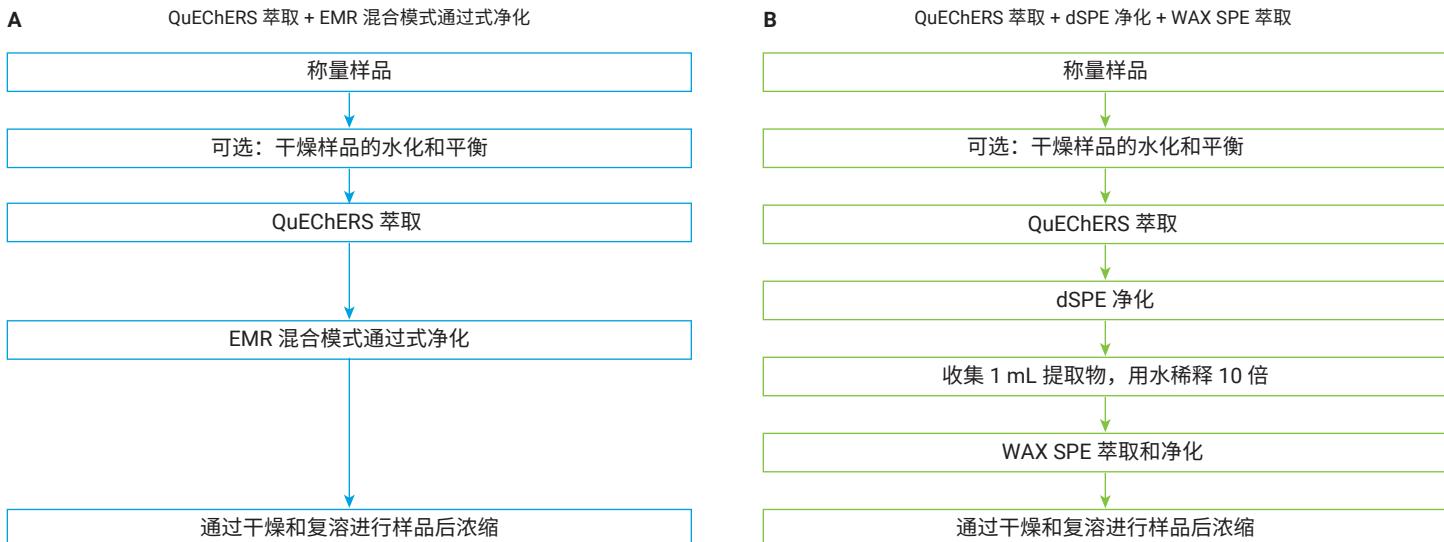


图 4. 新方法 (A) 与传统方法 (B) 分析食品中 PFAS 的样品前处理方法流程比较

方法 LOQs 和验证水平

在本研究评估的婴儿食品基质中，所有基质空白样品都显示阳性检测结果。筛选不同的婴儿食品样品，使用 PFAS 背景信号最低的样品作为方法验证的对照。然而，基质背景校正仍然有必要，并在方法验证中将其用于目标物回收率评估。制备 5–7 份基质空白平行样品。基于基质空白检测结果，使用公式 1 计算方法最低可报告 LOQs。

公式 1.

$$LOQ_{cal} = 10 \times SD_{MBs}$$

其中：

- LOQ_{cal} 为方法最低可报告 LOQ
- SD_{MBs} 是在 5–7 份基质空白 (MBs) 平行样品中检测到的目标物浓度的标准偏差 (SD)

然后基于等于或高于最低可报告 LOQs 的最低经验证 QC 加标浓度来确定方法 LOQs。表 1 为婴儿食品中各目标物的最低可报告 LOQs 计算值和经验证的方法 LOQs，还列出了验证所用的中等浓度和高浓度。

对于核心 PFAS 目标物，经验证的方法 LOQs 低于或等于婴儿食品中要求的 LOQs。PFNA、PFOS 和 PFHxS 的经验证 LOQs 也满足 EU LOQ 法规，即 PFOA 和 PFNA 的 LOQ 为 0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，PFOS 的 LOQ 为 0.002 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，PFHxS 的 LOQ 为 0.004 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在基质空白样品中检出了 PFBA 和 PFBS，因此婴儿食品中这两种目标物的经验证 LOQs 更高。PFOA 还受到了基质的阳性影响，导致在 0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 LOQ 下未能通过验证。图 5 为婴儿食品中核心目标物的基质空白色谱图和经验证的方法 LOQs 的色谱图。

表 1. 用于婴儿食品中 30 种 PFAS 目标物验证的方法最低可报告 LOQ 计算值 (LOQ_{cal})、经验证 LOQ (LOQ_{val}) 以及中等浓度和高浓度

目标物	LOQ_{cal} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ_{val} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	中等浓度 _{val} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	高浓度 _{val} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
PFBA	0.783	1	2	—
PFPeA	0.007	0.01	0.1	1
PFBS	0.038	0.1	0.2	—
4:2 FTS	0.002	0.01	0.02	0.2
PFPeS	0.003	0.004	0.01	0.2
PFHxA	NA	0.002	0.01	0.2
HFPO-DA	NA	0.001	0.01	0.2
PFHpA	0.002	0.001	0.01	0.2
PFHxS*	0.001	0.002	0.01	0.2
DONA	NA	0.001	0.01	0.2
6:2 FTS	0.001	0.001	0.01	0.2
PFOA*	0.002	0.002	0.01	0.2
PFHpS	NA	0.004	0.01	0.2
PFNA*	0.001	0.001	0.01	0.2
PFOS*	0.001	0.001	0.01	0.2
9Cl-PF3ONS	NA	0.002	0.01	0.2
8:2 FTS	NA	0.001	0.01	0.2
PFNS	0.001	0.001	0.01	0.2
PFDA	0.001	0.001	0.01	0.2
PFDS	NA	0.01	0.02	0.2
PFUnDA	0.001	0.002	0.01	0.2
PFOSA	0.001	0.01	0.02	0.2
11Cl-PF3OUdS	NA	0.002	0.01	0.2
PFUnDS	0.002	0.01	0.1	0.2
PFDoDA	0.002	0.004	0.01	0.2
10:2 FTS	NA	0.002	0.01	0.2
PFDoS	NA	0.01	0.02	0.2
PFTrDA	NA	0.002	0.01	0.2
PFTrDS	NA	0.02	0.1	0.2
PFTeDA	0.003	0.01	0.02	0.2

* 核心 PFAS 目标物

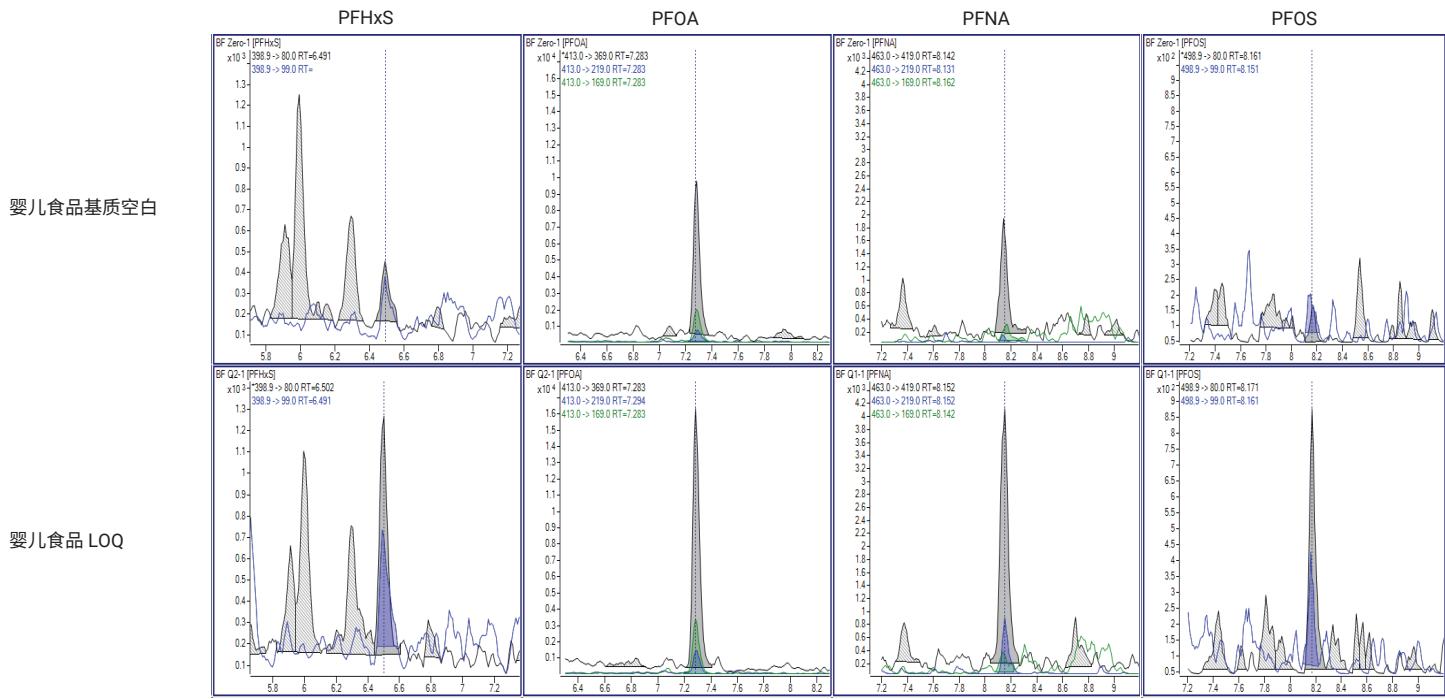


图 5. 核心 PFAS 目标物的婴儿食品基质空白和 LOQ 色谱图: PFHxS (0.002 μg/kg)、PFOA (0.002 μg/kg)、PFNA (0.001 μg/kg) 和 PFOS (0.001 μg/kg)

方法校准

使用 18 种 PFAS 同位素标记的 ISTDs, 可以将相同的标准品校准曲线用于对不同食品基质样品中的 PFAS 进行定量分析。因此, 不需要针对每种食品基质绘制基质匹配校准曲线。由此显著提高了样品检测效率, 节省了时间和成本, 并改善了样品分析一致性。

校准曲线的范围是根据食品基质中的 LOQs 要求、样品前处理引入的浓缩系数以及仪器方法灵敏度来确定的。由于婴儿食品所要求的 LOQ 水平较低, 因此使用的校准范围为 10–5000 ng/L (PFBA 和 PFPeA 除外, 它们的浓度分别为 10 倍和 5 倍)。结果证实, 在 500x 校准曲线动态范围内, 所有 30 种 PFAS 目标物的相关系数 R^2 均高于 0.99。图 6 为核心 PFAS 目标物 (PFHxS、PFOA、PFNA 和 PFOS) 在动态范围内的校准曲线。

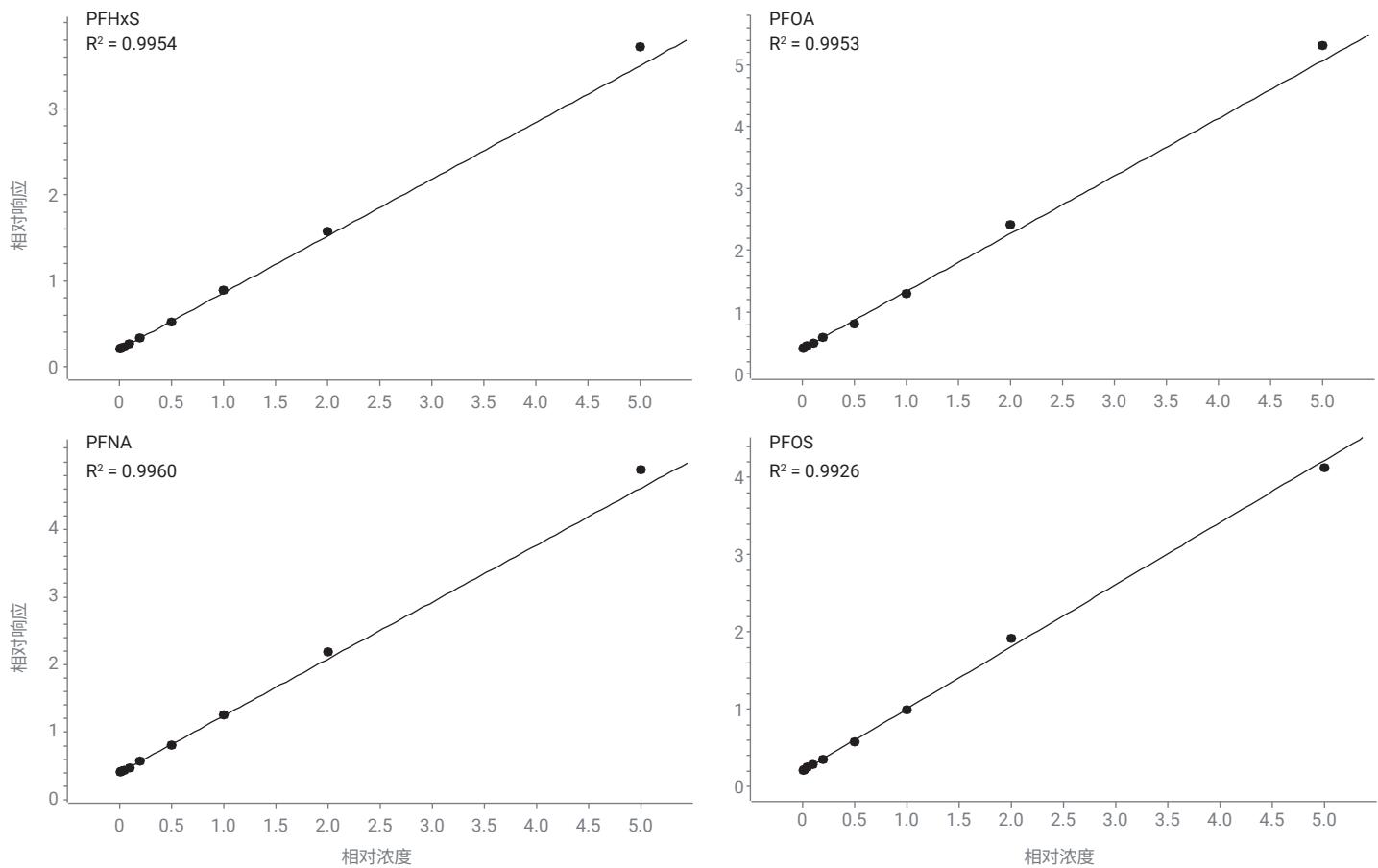


图 6. 核心 PFAS 目标物的校准曲线, 动态范围为 10–5000 ng/L, 基质为甲醇

方法准确度与精密度

本研究验证了方法回收率和重复性。针对食品中的核心 PFAS 目标物、PFBA 和 PFPeA 以及其余 PFAS 目标物, 设计了 7 个预加标 QC 浓度, 以满足不同的 LOQ 要求。在各 QC 浓度下制备了 4–5 个平行样, 以评估方法重复性。婴儿食品的可接受标准为回收率在 65%–135% 之间且 $RSD \leq 25\%$ ^[2]。方法验证中报告了三个预加标 QCs 浓度, 包括 LOQ、中等浓度和高浓度。表 1 列出了每种分析物的详细浓度。有两个例外: PFBA 和 PFBS, 由于样品基质对照中这两种物质的检测结果较高, 因此只有两个浓度水平可以报告。

图 7 所示为婴儿食品中 PFAS 分析的方法验证回收率和重复性 (RSD) 汇总。总体而言, 对于所测试的食品基质中的所有 30 种目标物, 该方法提供了符合可接受标准的回收率和重复性结果。与没有使用相应同位素标记的 ISTDs 的目标物相比, 使用了相应同位素标记的 ISTDs 的目标物的定量结果更出色。



图 7. 婴儿食品中 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婴儿食品中 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 I 小柱的 EMR 混合模式进行通过式净化，最后进行 LC/MS/MS 检测。与传统 dSPE 净化相比，所开发的新型净化方法在基质去除、PFAS 回收率和样品体积回收率方面均明显优于传统 dSPE 净化方法。此外，该方法的样品净化流程简单，能够节省时间和人力，从而提高整体实验室工作效率。整个方法已经过验证，其验证性能符合 AOAC SMPR 2023.003 中所述的要求。

参考文献

1. EUR-Lex (2023) Consolidated text: Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006
2. 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)
3. EPA 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 (EPA 533:2019)
4. EPA Method 1633: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS (EPA 1633:2024).
5. Genualdi, S.; Young, W.; Peprah E.; et al. Analyte and Matrix Method Extension of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Food and Feed, *Anal. and Bioanal. Chem.* **2024**, 416, 627-633. doi: 10.1007/s00216-023-04833-1
6. 使用 Captiva EMR PFAS Food II 通过式净化和 LC/MS/MS 检测对婴儿配方奶粉、牛奶和鸡蛋中的 30 种全氟烷基和多氟烷基化合物进行测定，安捷伦科技公司，出版号 5994-7366ZHCN

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

DE04458173

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 7 日，中国出版

5994-7367ZHCN