

测定牛肉、金枪鱼和虾中的 30 种全氟烷基和多氟烷基化合物

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,
Emily Parry
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用简报介绍了对牛肉、金枪鱼和虾中全氟烷基和多氟烷基化合物 (PFAS) 残留的多组分分析方法的开发和验证。该方法首先使用 QuEChERS 萃取，随后通过 Agilent 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，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。Captiva EMR PFAS Food II 小柱专为动物源性食品和植物源性有籽干燥食品中的 PFAS 分析而开发和优化。根据 AOAC 标准方法性能要求 (SMPR)，对该方法的适用性、灵敏度、准确度和精度进行了验证。结果表明，该方法满足分析本研究中所评估的三种食品基质中的四种核心 PFAS 目标物（即全氟辛烷磺酸 (PFOS)、全氟辛酸 (PFOA)、全氟壬酸 (PFNA) 和全氟己烷磺酸 (PFHxS)）以及剩余 26 种 PFAS 目标物所需的定量限 (LOQ)、回收率和重现性。

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，欧盟委员会对鸡蛋、鱼类、海产品、肉类和内脏中的四种 PFAS 化合物（即 PFOS、PFOA、PFNA 和 PFHxS）实施了规定^[1]。2023 年 11 月，AOAC 发布了用于分析农产品、饮料、乳制品、鸡蛋、海产品、肉类产品和饲料中 30 种 PFAS 的 SMPR 2023.003^[2]。

Agilent Captiva EMR PFAS Food 小柱专门针对食品中的 PFAS 分析而开发和优化。设计了两种小柱类型（I 和 II），以涵盖各种食品基质。使用 Captiva EMR PFAS II 小柱开发的用于分析婴儿配方奶粉、牛奶和鸡蛋中的 PFAS 的方法^[3]，以及使用 Captiva EMR PFAS I 小柱开发的用于分析婴儿食品中的 PFAS 的方法^[4]，均表现出优异的性能、可靠性和简便性。本研究的目的是开发和验证一套用于测定牛肉、金枪鱼和虾中 30 种 PFAS 的完整工作流程，该工作流程首先使用 QuEChERS 萃取，随后通过 Captiva EMR PFAS Food II 小柱进行 EMR 混合模式通过式净化，最后用 Agilent 6495D 三重四极杆液质联用系统进行检测。

实验部分

化学品与试剂

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

标准溶液的制备以及其他试剂如之前的应用简报中所列^[3]。

仪器与材料

本研究采用由 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)、Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B) 和 Agilent 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，该工具包中包括 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 (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。

所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 II 小柱, 6 mL, 750 mg (部件号 5610-2232)
- 聚丙烯 (PP) 卡口盖和样品瓶, 1 mL 和 2 mL (部件号 5182-0567 和 5182-0542)
- PP 螺口盖型样品瓶和瓶盖, 50 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)

对研究中使用的所有消耗品进行了检测，确认其 PFAS 清洁度可接受。

LC/MS/MS 仪器条件

LC/MS/MS 方法条件如之前的应用简报中所述^[3]。

样品前处理

牛肉、金枪鱼和虾样品购自当地超市。将新鲜牛肉和虾切成小方块，冷冻保存于 -20 °C 下。然后使用机械搅拌器将冷冻样品共混成细粉。将金枪鱼罐头直接掺入细糊中。对所有均质样品进行萃取，或将其储存于 -20 °C 备用。

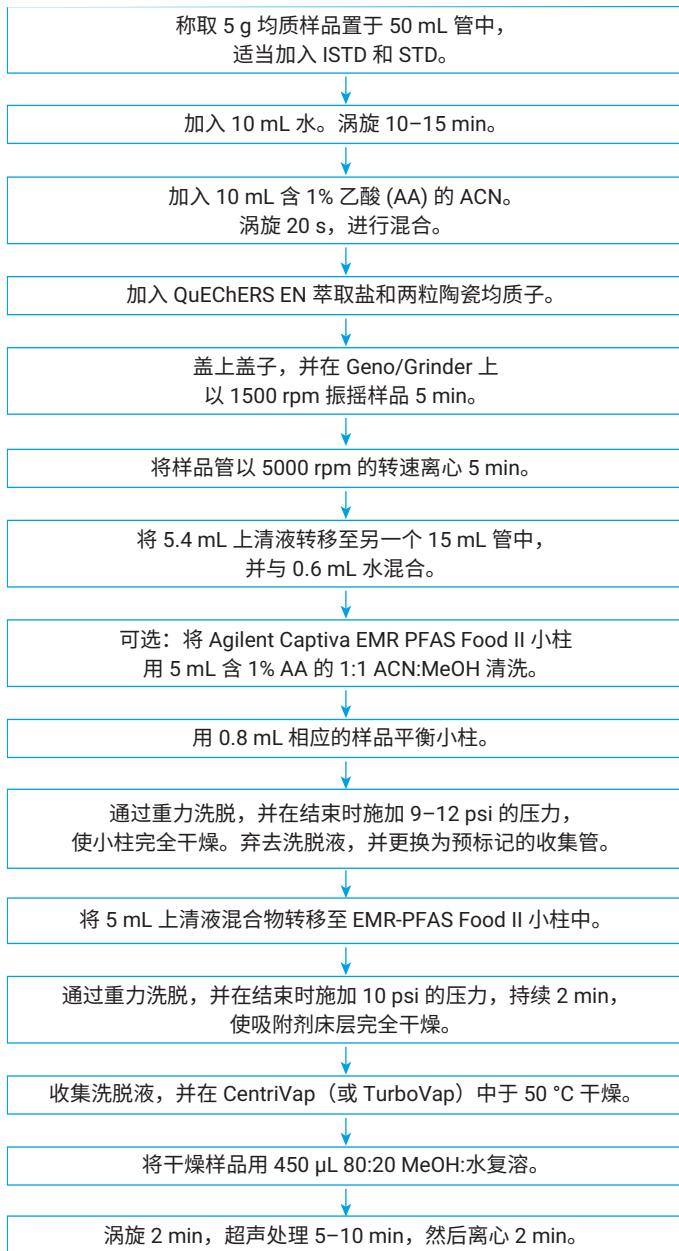


图 1. 用于牛肉、金枪鱼和虾中 PFAS 分析的样品前处理程序

对于所有均质样品，称取 5 g 样品置于洁净的 PP 50 mL 试管中进行萃取。将天然 PFAS 加标溶液和 ISTD 加标溶液适当加入 QC 样品中，仅将 ISTD 加入基质空白中。加标后，将样品涡旋 10–15 s。然后按照程序（图 1）对样品进行前处理。

方法性能评估

在之前的研究中，在基质去除率、目标物回收率以及使用小柱进行样品净化期间的重现性方面，对使用 Captiva EMR PFAS Food II 小柱进行 EMR 混合模式通过式净化进行了全面评估^[3]。然后对整个方法进行了验证，其中包括校准研究、方法 LOQ 确定以及回收率准确度和精度。由于对目标 LOQ 的要求不同，因此制备 5 个预加标 QC 浓度的样品，每个浓度下包含 4–5 份平行样品。此外，制备基质空白（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。表 1 显示了基质零空白以及用 PFAS 标准品和 ISTD 加标的预加标 QC 样品。

表 1. 第 II 组食品基质中的基质匹配 QC 和零基质样品

基质加标样品	牛肉		金枪鱼		虾	
	样品量 (g)	5	5	5	5	5
	浓缩系数	5x	5x	5x	5x	5x
加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)						
基质加标样品	STD*	ISTD	STD*	ISTD	STD*	ISTD
零	-	0.2	-	0.2	-	0.2
PR-QC 1	0.02	0.2	0.02	0.2	0.02	0.2
PR-QC 2	0.04	0.2	0.04	0.2	0.04	0.2
PR-QC 3	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
PR-QC 4	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2
PR-QC 5	1.0	0.2	1.0	0.2	1.0	0.2

* 浓度仅表示 28 种 PFAS 目标物的一般浓度。PFBA 和 PFPeA 的浓度分别是一般浓度的 10 倍和 2 倍

结果与讨论

EMR 混合模式通过式净化

Captiva EMR PFAS Food 小柱能够在传统 QuEChERS 萃取之后提供全面的基质去除，是一种简单而高效的程序，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经过加工的新鲜食品，如水果和蔬菜、婴儿食品以及果汁。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以及经过加工的新鲜和干燥食品，如牛奶、鸡蛋、肉类、鱼类和婴儿配方奶粉；植

物源性干种子饲料和食品；以及油类。与在 QuEChERS 萃取后使用的传统分散 SPE (dSPE) 净化相比，EMR 混合模式通过式净化显著改善了多种食品基质中的 PFAS 回收率和重现性以及基质去除率^[3,4]。

另外，还通过 GC/MS 全扫描和 LC/Q-TOF 总离子流色谱图 (TIC) 扫描对样品净化过程中的基质去除率进行了评估。图 2 显示了针对经过和不经 EMR 混合模式通过式净化处理的牛肉、金枪鱼和虾样品萃取物，使用 GC/MS 全扫描评估所得到的色谱图比较。图 3 显示了针对经过 EMR 净化与传统 dSPE 净化处理的金枪鱼样品萃取物，使用 LC/Q-TOF TIC 扫描评估所得到的色谱图比较。结果表明，使用 EMR 混合模式通过式净化显著改善了基质去除率。

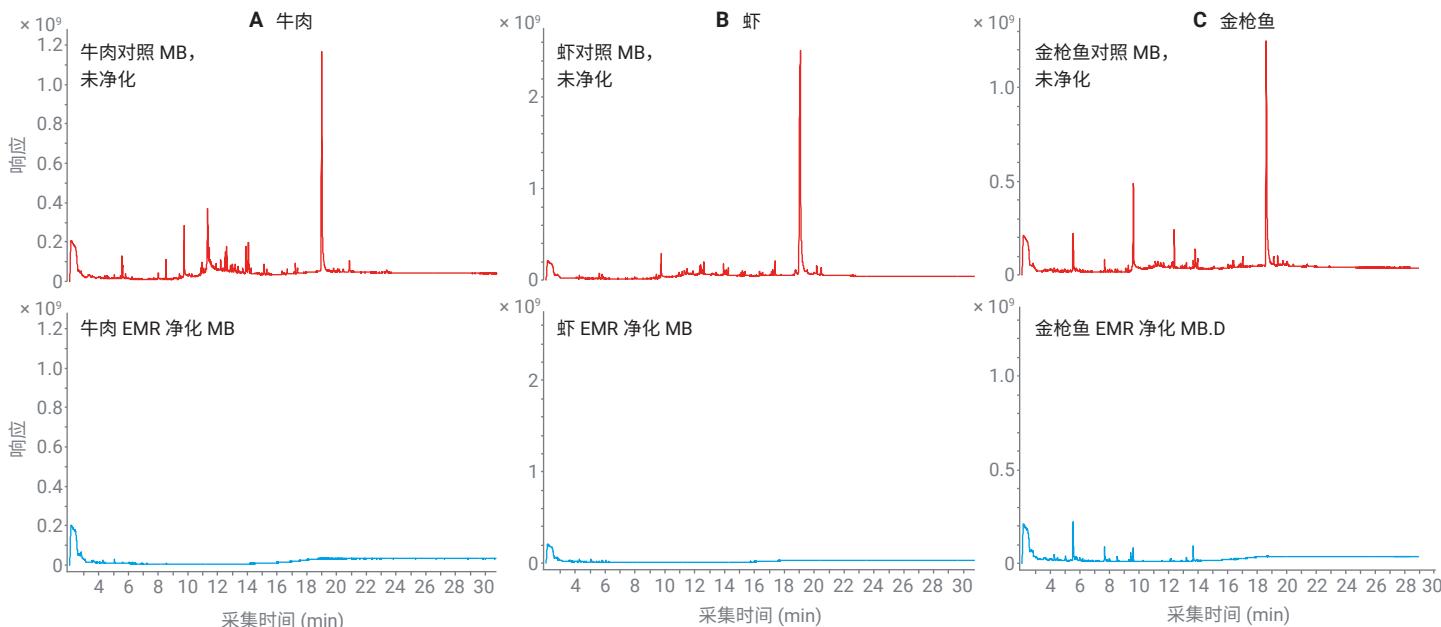


图 2. 使用 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 小柱进行 EMR 混合模式通过式净化所得到的牛肉萃取物 (A)、虾萃取物 (B) 和金枪鱼萃取物 (C) 中的食品基质去除效果 (采用 GC/MS 全扫描)

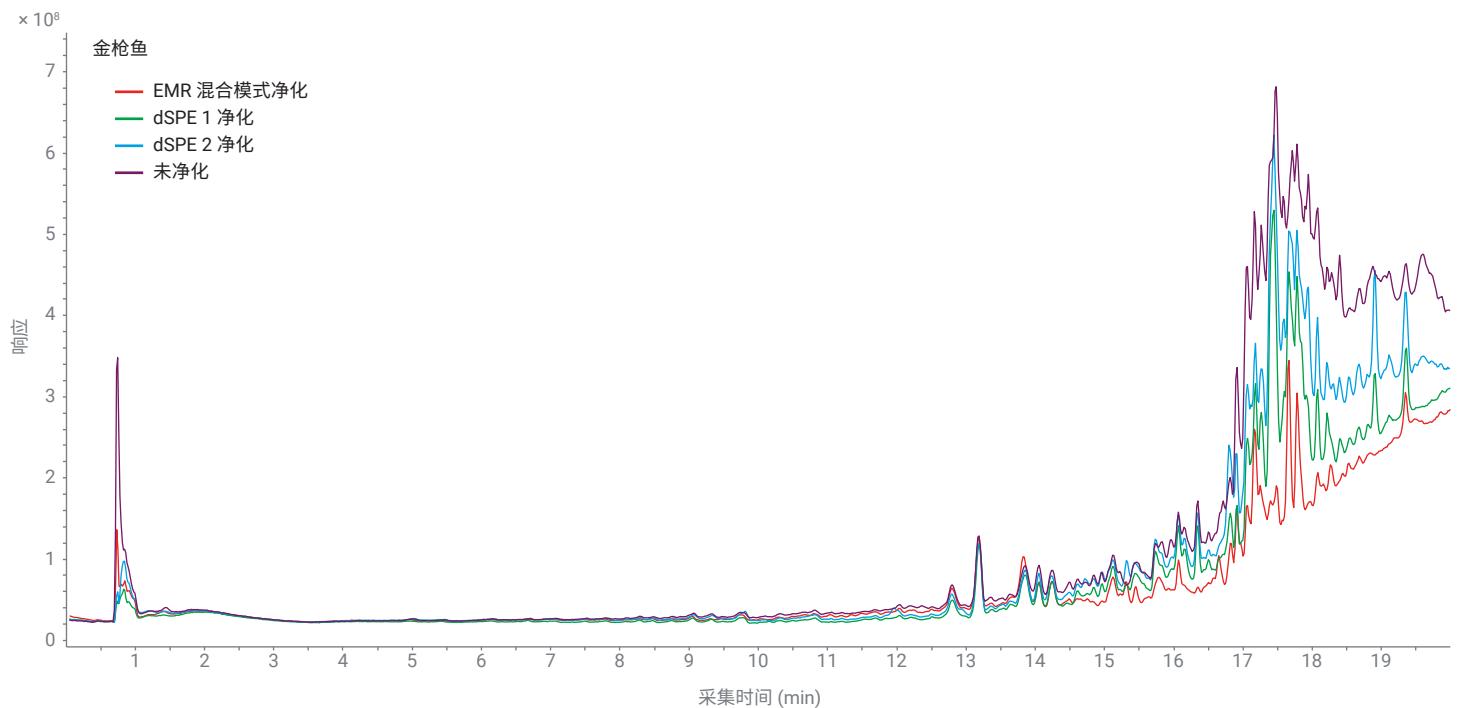


图 3. 对于 QuEChERS 萃取后的金枪鱼样品萃取物，EMR 混合模式通过式净化与传统 dSPE 净化之间的食品基质去除效果比较（采用 LC/Q-TOF TIC (+) 扫描）

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所提供的另一个重要特征是更高的样品体积回收率。样品体积回收率通常是食品中 PFAS 分析的关键参数，因为所需 LOQ 处于低至中等范围 ppt 水平，需要使用后浓缩步骤以提高方法灵敏度。与传统 dSPE 净化时约 50% 的样品体积损失相比，EMR 混合模式净化可提供高于 90% 的体积回收率，从而便于实施浓缩后处理并实现一致的样品复溶。

样品前处理程序

EMR 混合模式通过式净化减少了整个样品前处理程序的步骤，节省了时间、精力和消耗品。新开发的方法包括两个主要过程：QuEChERS 萃取和 EMR 通过式净化。传统方法包括三个主要过程：QuEChERS 萃取、dSPE 净化和 WAX SPE 萃取^[5]。之前的一篇应用简报^[3] 中的图 5 显示了这两种样品前处理方法的对比。新方法使用步骤更少的简化程序，清晰展示了所节省的时间和精力。在需要进行前处理的样品量相同的情况下，使用

传统方法时所需的时间是使用新方法时所需时间的两倍至三倍。新方法使用的溶剂和消耗品也少于传统方法。使用新的样品前处理方法所具有的所有这些特征提高了实验室的整体样品分析效率。

完整方法验证

根据 AOAC SMPR 指南，对用于测定牛肉、金枪鱼和虾中 30 种 PFAS 目标物的新方法进行了验证。针对所检测的食品基质中 PFAS 目标物 LOQ 的要求列于表 2 中。

表 2. 针对牛肉、金枪鱼和虾中 LOQs 的 AOAC SMPR 要求

食品基质	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)		
	PFHxS、PFOA、PFNA、PFOS	PFBA 和 PFPeA	其他 PFAS
牛肉	≤ 0.1	≤ 1	≤ 1
金枪鱼	≤ 0.1	≤ 1	≤ 1
虾	≤ 0.3	≤ 3	≤ 3

方法 LOQs

本研究评估的三种食品基质在基质空白中均显示阳性结果。因此，需要进行基质背景校正，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，然后根据以下公式计算方法最低可报告 LOQs：

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

其中：

- LOQ_{cal} 是方法最低可报告定量限
- 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 LOQ 的最低经验证 QC 加标浓度来确定方法 LOQ。表 3 显示了针对不同基质中各目标物计算得出的最低可报告 LOQ (LOQ_{cal}) 以及经验证的方法 LOD (LOQ_{val})。

对于核心 PFAS 目标物 PFHxS、PFOA 和 PFOS，在检测的所有三种基质中，经验证的方法 LOQ 均低于或等于所需 LOQ。PFNA 的经验证的方法 LOQ 低于或等于针对金枪鱼和虾列出的所需 LOQs，但在牛肉中，由于基质阳性检测结果而高于所需 LOQ。对于其他 PFAS 目标物，结果表明，所有三种基质中经验证的方法 LOQs 均低于或等于所需 LOQs。在金枪鱼样品的 PFOS 采集窗口中显示了胆酸 (TCDCA)，在牛肉样品的 PFOS 采集窗口中显示了 TCDCA。然而，色谱分离实现了这些干扰物质与 PFOS 的基线分离，因此不影响 PFOS 目标峰的鉴定和积分。图 4 显示了牛肉、金枪鱼和虾基质空白以及经验证的方法 LOQ QC 样品中的核心目标物的色谱图。

表 3. 针对三种食品基质中的 30 种 PFAS 目标物计算得出的最低可报告方法 LOQ (LOQ_{cal}) 以及经验证的 LOQ (LOQ_{val})

目标物	牛肉		金枪鱼		虾	
	LOQ_{cal}	LOQ_{val}	LOQ_{cal}	LOQ_{val}	LOQ_{cal}	LOQ_{val}
PFBA	0.248	0.4	0.308	0.4	0.056	0.4
PFPeA	0.005	0.04	0.025	0.04	NA	0.04
PFBS	0.002	0.02	0.005	0.02	0.007	0.02
4:2 FTS	0.003	0.02	0.006	0.02	NA	0.02
PFPeS	0.011	0.02	0.008	0.02	NA	0.02
PFHxA	0.002	0.02	0.006	0.02	NA	0.02
HFPO-DA	NA	0.02	0.006	0.02	0.006	0.02
PFHpA	0.009	0.02	0.01	0.02	0.005	0.02
PFHxS*	0.010	0.02	0.005	0.02	NA	0.02
DONA	NA	0.02	NA	0.02	NA	0.02
6:2 FTS	0.004	0.02	0.005	0.02	0.007	0.02
PFOA*	0.008	0.02	0.01	0.02	0.025	0.04
PFHpS	NA	0.02	NA	0.02	0.001	0.02
PFNA*	0.134	0.4	0.01	0.02	0.026	0.1
PFOS*	0.006	0.02	0.021	0.04	0.025	0.1
9CI-PF3ONS	NA	0.02	0.005	0.02	0.001	0.02
8:2 FTS	NA	0.02	NA	0.02	0.001	0.02
PFNS	0.008	0.02	NA	0.02	0.054	0.1
PFDA	NA	0.02	NA	0.02	0.001	0.02
PFDS	NA	0.02	NA	0.02	0.006	0.02
PFUnDA	0.011	0.02	0.037	0.02	0.049	0.1
PFOSA	0.002	0.02	0.005	0.02	0.007	0.02
11CI-PF3OUdS	NA	0.02	NA	0.02	NA	0.02
PFUnDS	NA	0.02	NA	0.02	NA	0.02
PFDoDA	NA	0.02	0.013	0.04	0.033	0.04
10:2 FTS	0.003	0.02	NA	0.02	0.001	0.02
PFDoS	0.001	0.02	NA	0.02	NA	0.02
PFTrDA	NA	0.02	0.013	0.1	0.050	0.1
PFTrDS	NA	0.02	NA	0.02	0.008	0.02
PFTeDA	NA	0.02	0.006	0.02	0.021	0.1

* 核心 PFAS 目标物。

红色文本表示 LOQ_{val} 水平高于该基质中目标物所需的 LOQ 水平

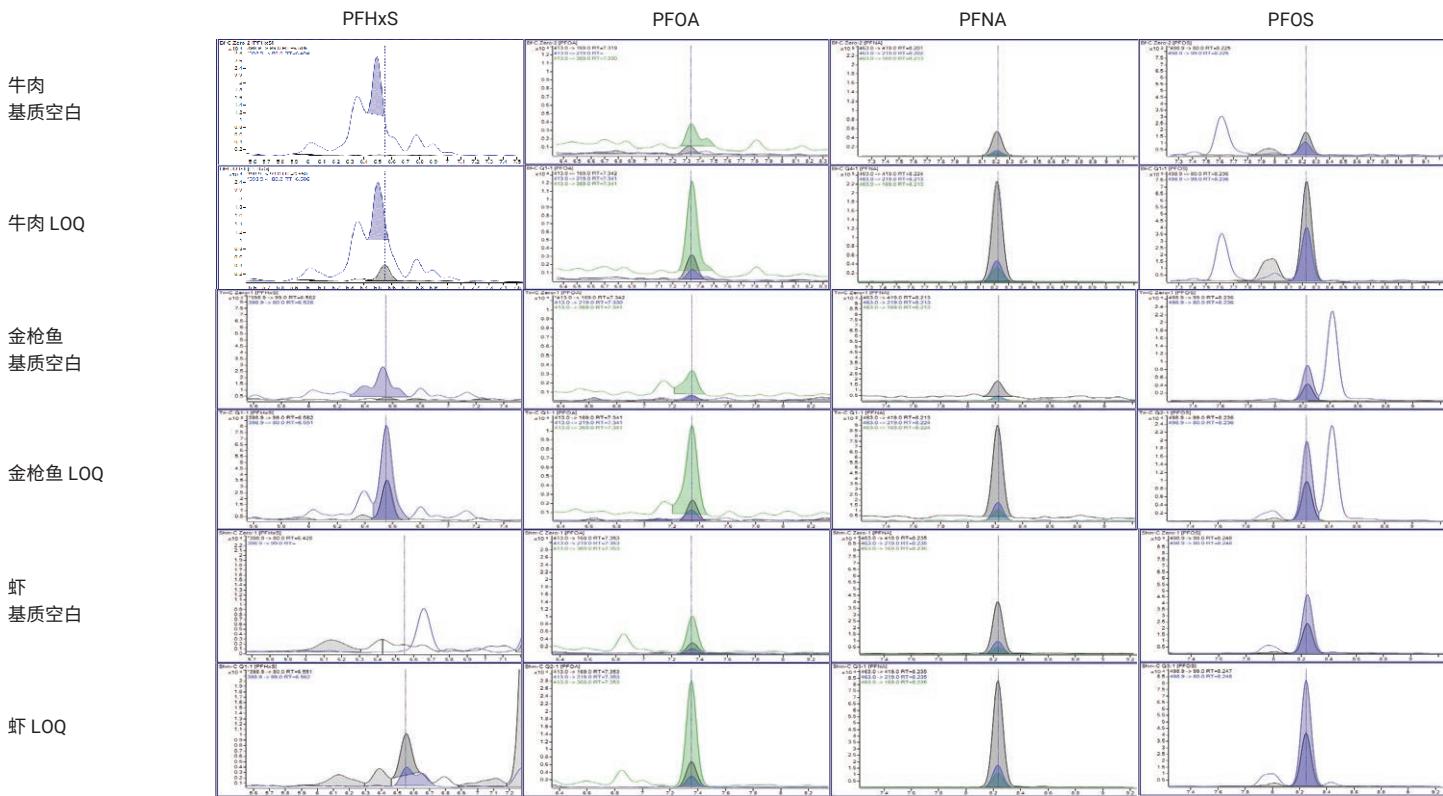


图 4. 牛肉、金枪鱼和虾基质空白以及 LOQ QC 样品中的以下核心 PFAS 目标物的色谱图：PFHxS、PFOA、PFNA 和 PFOS。各基质中的 LOQ 水平列于表 3 中

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。

校准曲线范围是基于食品基质中所需的 LOQs、通过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。由于牛肉、金枪鱼和虾所需的检出限较高，因此所用的校准范围为 20–10000 ng/L。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。

方法准确度与精度

本研究验证了牛肉、金枪鱼和虾中的方法回收率和重现性 (RSD)。对于 PFOS、PFOA、PFHxS 和 PFNA，回收率可接受标准^[2]为 80%–120%，且所有三种基质中的重现性 (RSD%) 可接受标准均为 ≤ 20%。对于包含相应同位素 ISTD 的其他 PFAS 目标物，回收率的可接受标准为 65%–135%，且 RSD 的可接受标准为 ≤ 25%。对于不含相应同位素 ISTD 的其他 PFAS 目标物，回收率的可接受标准为 40%–140%，且 RSD 的可接受标准为 ≤ 30%。

最终报告验证结果包括每种基质中的三个 QC 浓度，包括 LOQ、中等浓度 QC 和高浓度 QC。经验证的方法 LOQ 列于表 3 中，中等浓度结果报告为 5–10 倍 LOQ，高浓度 QC 报告为 20–50 倍 LOQ。牛肉中的 PFNA 和虾中的 PFTrDA 除外，由于这两种目标物分别以明显较高的含量存在于样品基质对照中，因此其中可报告的浓度为 0.4 µg/kg 和 1 µg/kg。

图 5 显示了牛肉、金枪鱼和虾中 PFAS 分析的方法验证回收率和 RSD 总结。总体而言，该方法为所检测的食品基质中的所有 30 种目标物均提供了良好的 RSD 结果。在所有基质中，在所有加标浓度下，核心 PFAS 目标物均得到了可接受的回收率和 RSD。除金枪鱼中 PFOSA LOQ 水平回收率 (62%) 之外，三种基质中其他 PFAS 目标物在所有加标浓度下均得到了可接受的回收率和 RSD。与不含相应同位素 ISTD 的目标物相比，包含相应同位素 ISTD 的目标物所得到的定量结果更出色。当基质中的含量本身明显较高时，也会影响加标回收率结果。

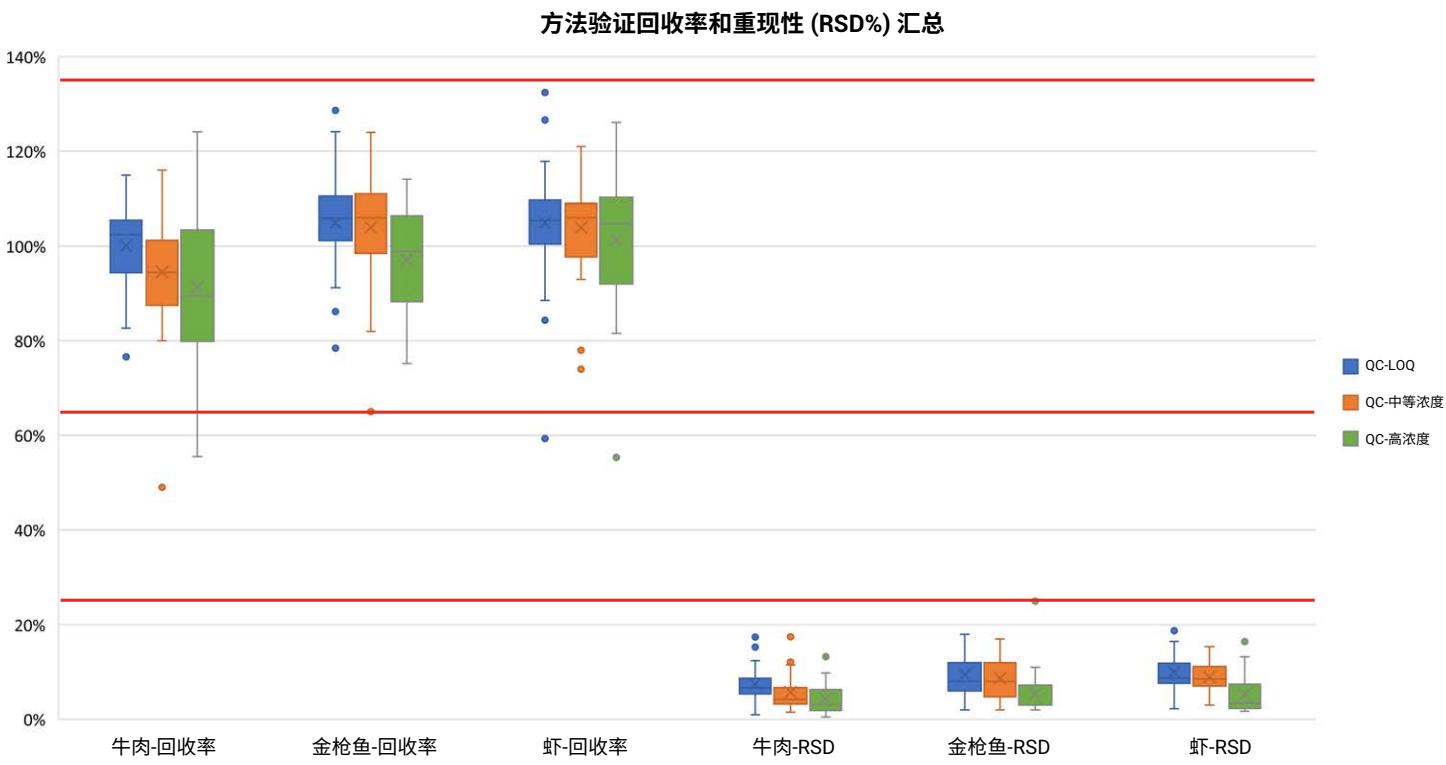


图 5. 牛肉、金枪鱼和虾中 PFAS 分析的方法验证回收率和重现性 (RSD%) 汇总

结论

本研究开发并验证了一种用于分析牛肉、金枪鱼和虾中 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。与传统 dSPE 净化相比，EMR 混合模式通过式净化在基质去除率、PFAS 回收率和样品体积回收率方面得到显著改善。该方法也更简单，能够节省时间和精力，从而提高整体实验室分析效率。使用可接受标准对整个方法进行验证，结果表明方法性能符合 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. 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，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-7366ZHCN, **2024**
4. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. 使用 Captiva EMR PFAS Food I 通过式净化和 LC/MS/MS 检测对婴儿食品中的 30 种全氟烷基和多氟烷基化合物 (PFAS) 进行测定，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-7367ZHCN, **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

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

DE09563718

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

5994-7368ZHCN