

根据 EPA 方法 1633 分析废水中 PFAS 的全面工作流程

使用 Agilent 6495D 三重四极杆液质联用系统

作者

Ruojia Luo、
Matthew Giardina、
Emily Parry、Linfeng Wu、
Patrick M. Batoon 和
Tarun Anumol
安捷伦科技有限公司

摘要

全氟和多氟烷基化合物 (PFAS) 具有极高的化学稳定性和潜在生物蓄积性，对环境和动物构成日益严重的威胁。由于环境基质和背景污染的影响，这类化合物要实现痕量水平的检测通常困难重重。准确度、可靠性、稳定性和干扰物消除是分析方法取得成功的关键因素。

本研究开发了一种全面的工作流程，可以高度稳定地检测废水中超过 57 种遗留和新出现的 PFAS。我们考察了一系列性能标准，包括方法检测限、回收率、精密度、线性和重现性。其中，重现性的考察通过 300 次连续进样加标了 PFAS 的实际废水样品完成。

该工作流程采用的样品前处理方案遵循美国国家环境保护局 (EPA) 方法 1633 草案 4，并采用 LC/MS/MS 数据采集和分析以及自动报告生成。样品前处理可通过安捷伦工作流程管理软件进行管理。

前言

PFAS 是一类由数千种合成化合物组成的物质，因具有生物蓄积性和毒性而受到日益关注^[1]。EPA 方法 1633 草案 4 (2023 年 7 月) 概述了通过液相色谱/串联质谱 (LC/MS/MS) 定量分析水性、固体和组织样品中 40 种天然 PFAS 的方法^[2]。由于背景污染和环境基质的干扰，对超低浓度 (从低 ppt 级至 ppq 级) 的 PFAS 进行靶向分析通常具有挑战性。背景污染的来源包括样品前处理和分析过程中使用的试剂和设备。

我们针对废水中 PFAS 的分析开发了一套全面的工作流程。本研究展示了该工作流程在分析 EPA 方法 1633 草案 4 中列出的 40 种化合物以及具有不同大小和官能团的其他 PFAS 的扩展列表的适用性。其他分析物包括欧盟 (EU) 和英国 (UK) PFAS 法规中列出的化合物。该工作流程包含以下步骤：(1) 使用 Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE 小柱进行离线固相萃取 (SPE)，然后使用 Agilent Carbon S 进行净化；(2) 使用 Agilent 6495D 三重四极杆液质联用系统进行 LC/MS/MS 分析；(3) 自动报告。样品前处理步骤可使用 Agilent SLIMS 样品管理系统进行管理。该工作流程为复杂基质中 PFAS 的靶向分析提供了可靠的解决方案，并具有出色的稳定性。

实验部分

本研究共分析了 57 种天然 PFAS 和 31 种同位素标记的 PFAS。这组分析物涵盖 EPA 方法 1633 草案 4 中列出的 40 种化合物，以及 17 种未列入 EPA 方法，但在 UK 和 EU 有关此类物质的法规中规定的化合物。分析物以 EPA 方法 1633 中指定的低浓度或中等浓度水平加标至试剂水中 (分别为校准溶液 (CS)2 或 CS4)，并以中等浓度水平加标至废水中 (CS4)。EPA 方法 1633 中未列出的 PFAS 在加标前进行了浓度优化。天然和标记 PFAS 标准品以单标储备液或混标溶液的形式购自 Wellington Laboratories Inc. (Guelph, ON, Canada)、Accustandard, Inc. (New Haven, CT, USA)、Cambridge Isotopes Laboratories, Inc. (Tewksbury, MA, USA) 和 ChemScene LLC (Monmouth Junction, NJ, USA)。根据 EPA 方法 1633 中规定的方案萃取加标水样和空白样品 (图 1)^[3]。

简而言之，该工作流程是使用半填充硅烷化玻璃毛并经过老化的弱阴离子交换 SPE 小柱 (Bond Elut PFAS WAX SPE 小柱) 对加标了萃取内标 (EIS) 的 500 mL 水性样品进行浓缩处理，使用 1% 甲醇氢氧化铵洗脱样品，用乙酸酸化洗脱液并用 Agilent Carbon S 净化。经过离心和过滤后，将样品与非萃取内标 (NIS) 混合。将样品保存在 4 °C 下以待 LC/MS/MS 分析。

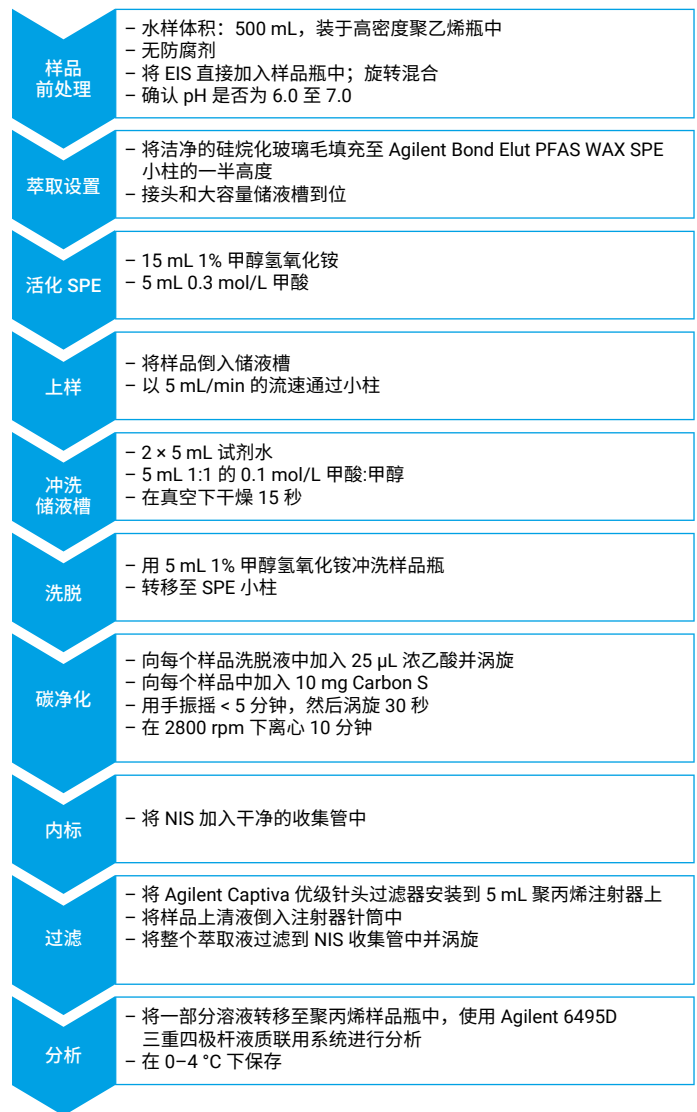


图 1. 根据 EPA 方法 1633 草案 4 (2023 年 7 月) 萃取 PFAS 的方案

首先使用配备 Agilent InfinityLab 无 PFC HPLC 转换工具包的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统分析萃取物。接下来,使用 6495D 三重四极杆 LC/MS 质谱仪在优化过的测量条件下进行质谱检测。安捷伦提供一个数据库,包含 72 种天然 PFAS 和 36 种同位素标记 PFAS 的优化多反应监测参数设置、固有特性和标识符(用于 LC/TQ 的 PFAS MRM 数据库,部件号 G1736AA)。无 PFC 转换工具包可大幅降低 HPLC 产生的背景。

液相色谱和三重四极杆质谱条件见表 1。样品前处理和数据采集过程中使用的所有安捷伦消耗品列于表 2。分析结果和所需的质量控制数据合并到自动生成的特定方法报告模板中。

表 1. 用于分析含 PFAS 样品的液相色谱和三重四极杆质谱条件

参数	值								
色谱柱	- Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm - Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 5 mm, 1.8 μm - Agilent InfinityLab PFC 延迟柱, 4.6 × 30 mm								
流速	0.4 mL/min								
柱温	40 °C								
进样量	2 μL								
流动相	A) 含 2 mmol/L CH ₃ COONH ₄ 的 95% 水 + 5% 乙腈 B) 100% 乙腈								
梯度	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>0.2</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>95</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	%B	0.0	2	0.2	2	10	95
时间 (min)	%B								
0.0	2								
0.2	2								
10	95								
停止时间	12.2 min								
气体温度	230 °C								
气体流速	11 L/min								
雾化器压力	20 psi								
鞘气温度	355 °C								
鞘气流速	10 L/min								
毛细管电压 (-)	2500 V								
喷嘴电压 (-)	0 V								

表 2. EPA 方法 1633 草案 4 中规定使用的消耗品

描述	部件号
Agilent InfinityLab 无 PFC HPLC 转换工具包	5004-0006
Agilent InfinityLab PFC 延迟柱 4.6 × 30 mm	5062-8100
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 5 mm, 1.8 μm	821725-901
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm	959758-902
螺口样品瓶, 2 mL, 聚丙烯, 经认证可用于 PFAS, 100/包	5191-8150
螺口盖, 9 mm, 聚丙烯/硅橡胶, 经认证可用于 PFAS, 100/包	5191-8151
Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE 小柱, 150 mg, 6 mL, 30/包	5610-2150
玻璃毛, 经过硅烷处理, 50 g	8500-1572
离心管和管盖, 15 mL, 50/包	5610-2039
Agilent Carbon S, 散装, 25 g 瓶装	5610-2093
Agilent Captiva 一次性注射器, 5 mL, 100/包	9301-6476
Agilent Captiva 优级针头过滤器, 尼龙, 25 mm, 0.2 μm, 100/包	5190-5092

结果与讨论

校准性能

每种 PFAS 各生成一条包含七个校准点的校准曲线。对于 EPA 方法 1633 草案 4 中列出的 40 种天然 PFAS, 采用该方法中规定的 EIS 和 NIS, 以及每个校准点 (CS1 至 CS7) 的相应浓度。对于 EPA 方法 1633 草案 4 中未列出的天然 PFAS, 则对浓度进行了优化。4 种代表性 PFAS 的校准曲线 (n = 8) 见图 2。对于方法中列出的 40 种天然 PFAS, 相对标准误差 (RSE) 值均低于 10% (图 3)。要确定仪器线性, RSE 必须小于或等于 20%。

方法检测限和相对标准误差

图 3 所示的方法检测限 (MDL) 根据 40 CFR Part 136 附录 B^[4] 中的 MDL 程序确定, 但所有样品的运行时间为一天, 而不是规定的三天。对于所有 PFAS, 测得的 MDL 等于或远低于 EPA 方法 1633 草案 4 中针对水性样品规定的合并值。对于方法中列出的所有天然 PFAS, 相对标准误差均低于 10%。

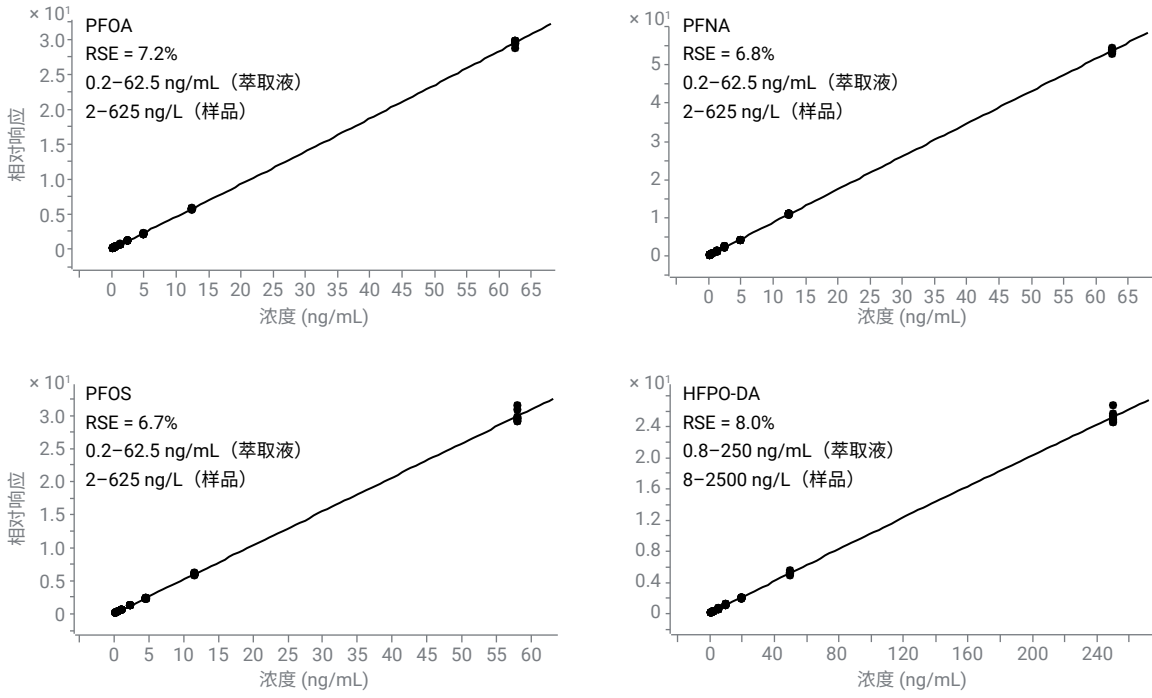


图 2. 4 种代表性 PFAS 的校准曲线 (7 种浓度, n = 8)

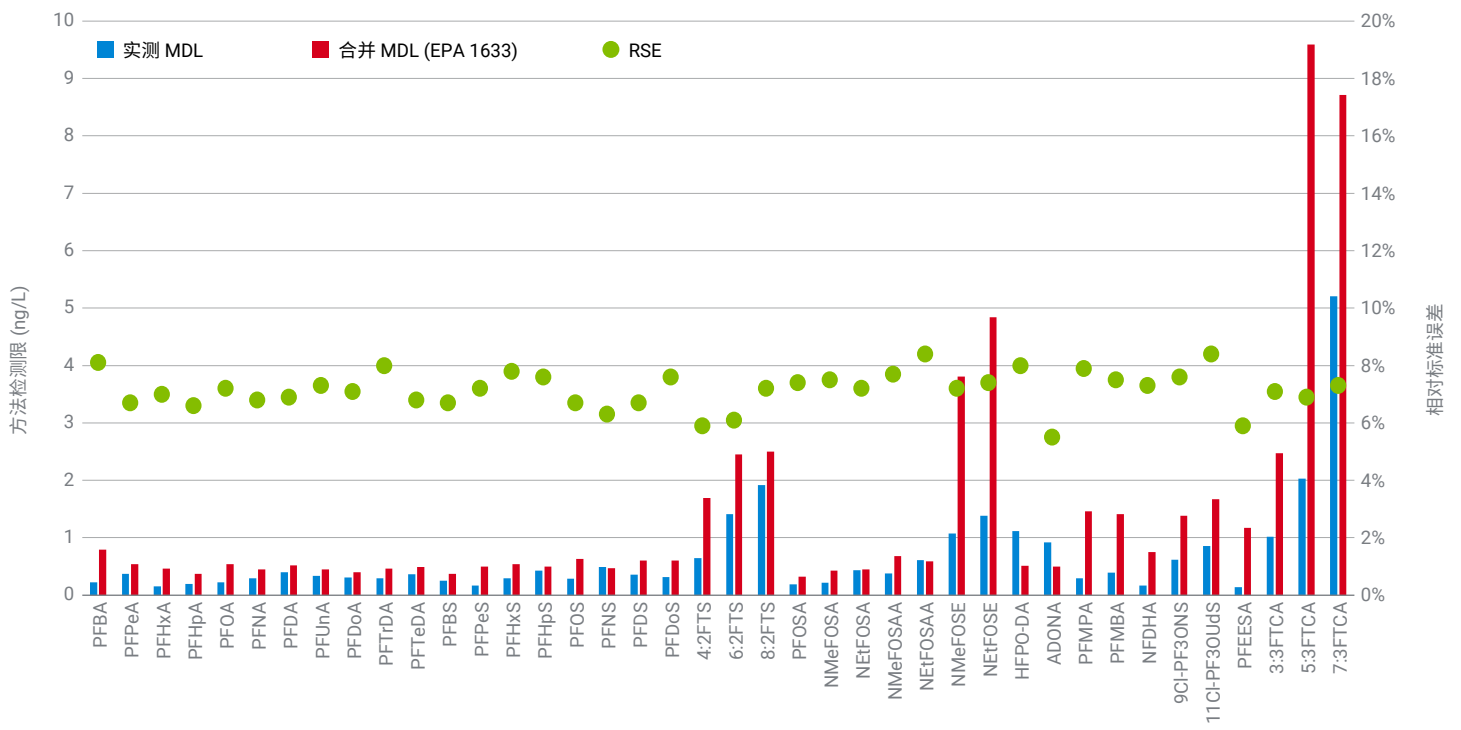


图 3. EPA 方法 1633 草案 4 中列出的 40 种天然 PFAS 的方法检测限 (MDL) 和相对标准误差 (RSE) (n = 8)

精密度和准确度

图 4 显示了试剂水和废水中加标中等浓度 (CS4) PFAS 的回收率。所有天然 PFAS 和 EIS 的回收率百分比都在 EPA 方法 1633 草案 4 规定的可接受限值范围内。加标试剂水和废水中大多数天然 PFAS 的回收率接近 100%。大多数化合物的相对标准偏差远低于 5%。

方法稳定性

为了评估方法的稳定性，我们对含有 19 种中等浓度 (CS4) PFAS 的加标废水样品进行了 300 次连续进样（耗时约 80 个小时）。所选化合物在整个色谱运行过程（3-10 分钟）和化合物类别中具有代表性。结果具有出色的重现性和稳定性，相对标准偏差低于 6%。图 5 总结了每次进样的归一化绝对丰度（实际绝对丰度/平均值 + 常数）。

报告

我们创建了一个新的报告模板（图 6），以涵盖 EPA 方法 1633 所要求的所有计算。该报告可使用内置的 PDF 报告方法在 MassHunter 定量分析软件中自动生成。报告中包括以下计算：

- 离子比率（定量离子/定性离子）
- EIS 回收率
- 平均 EIS 响应，如 PFTTrDA
- 手动积分与原始积分

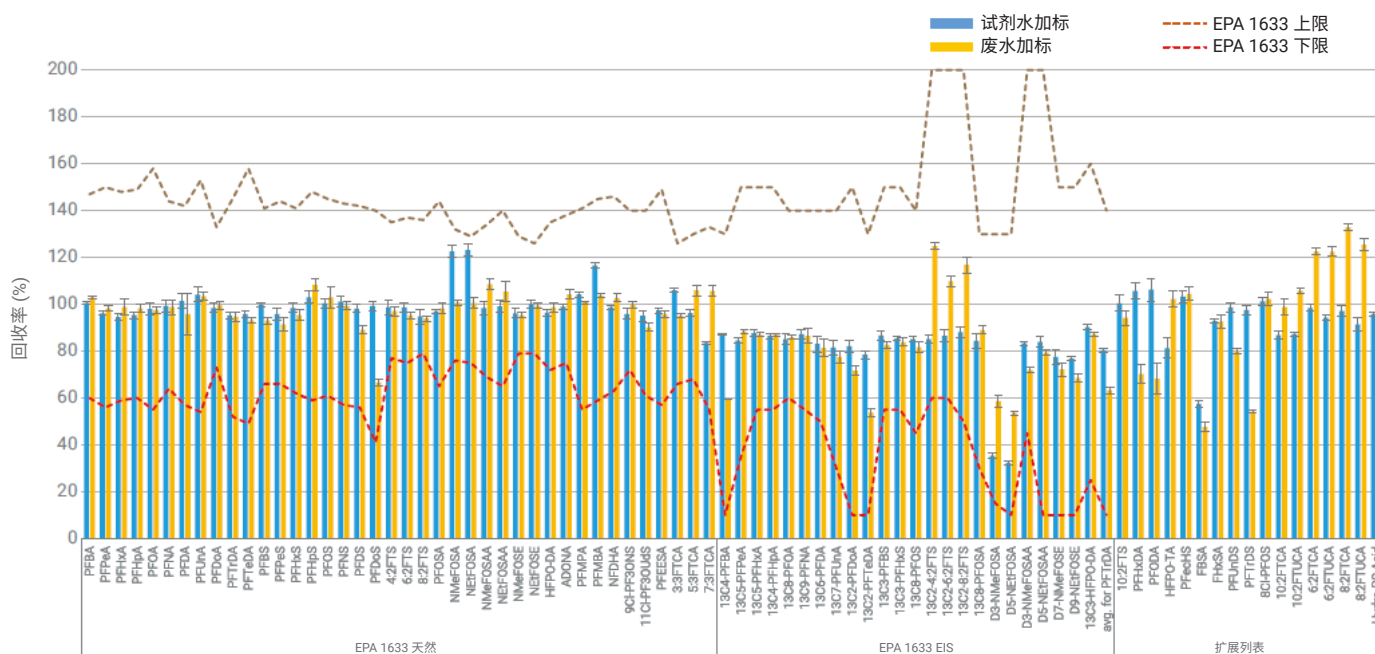


图 4. 试剂水和废水中加标中等浓度 PFAS 的回收率 (CS4, n = 8)

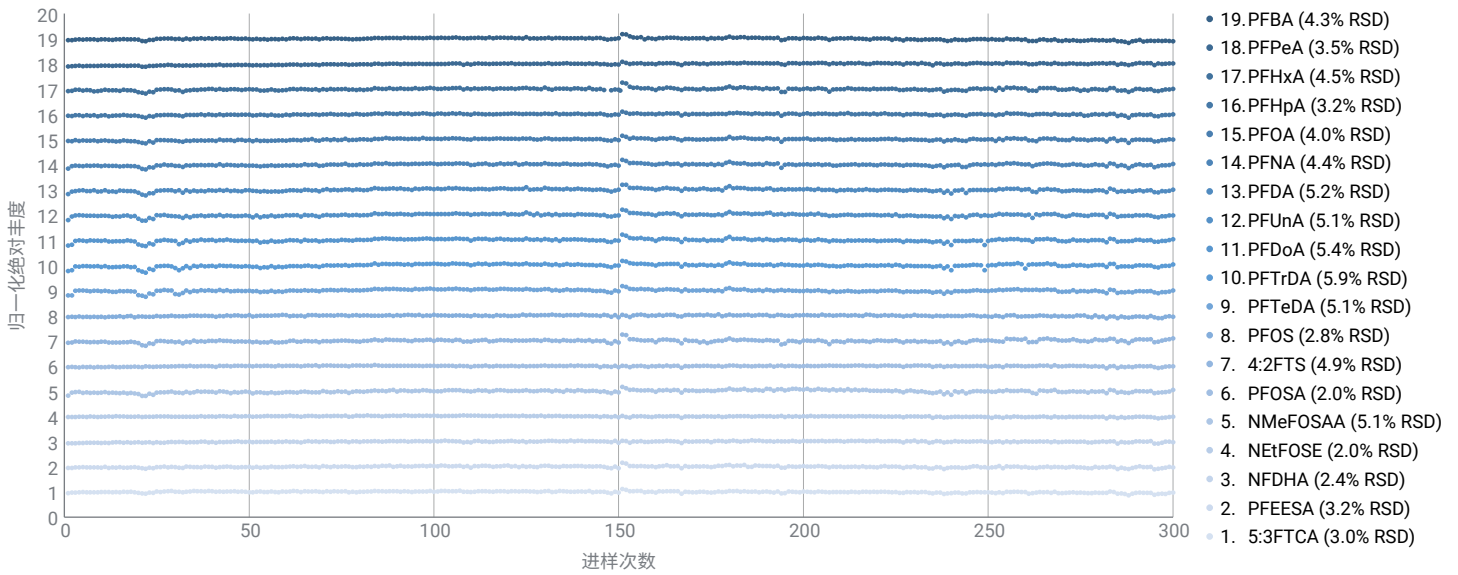


图 5. 覆盖整个保留时间和化合物类别的 19 种代表性 PFAS 的归一化绝对丰度

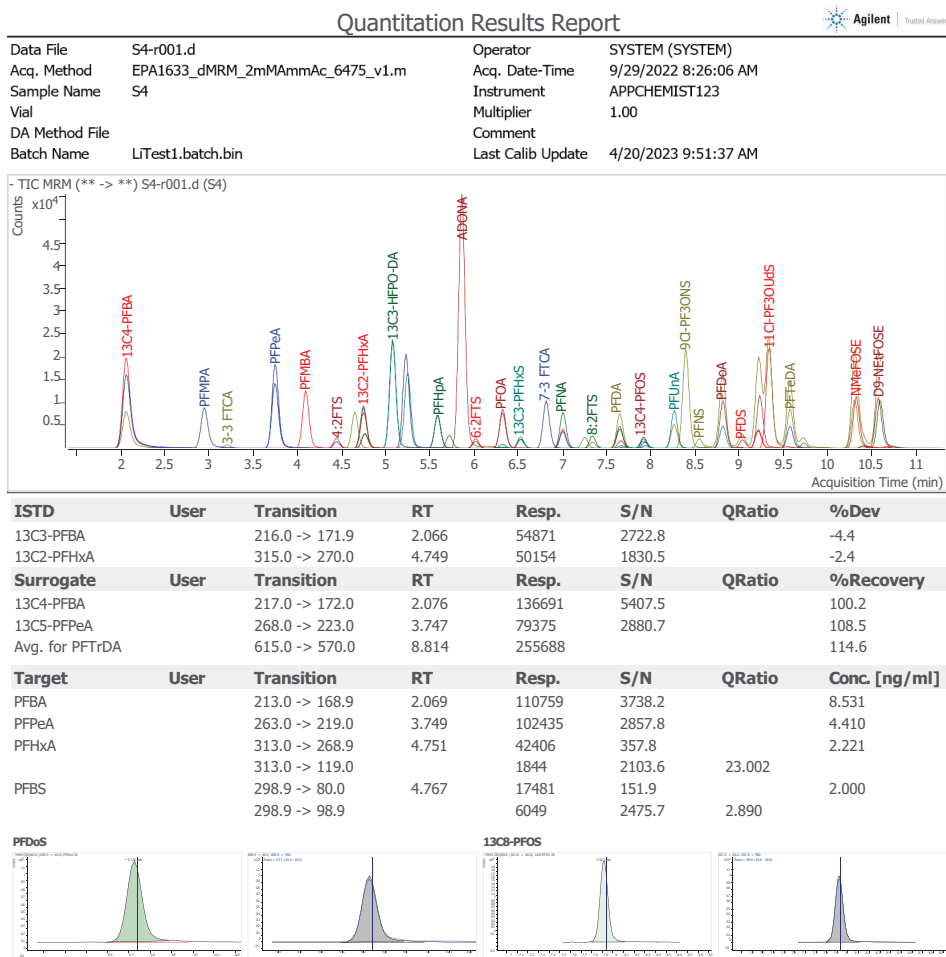


图 6. PFAS 分析生成的部分报告内容

结论

本应用简报针对 EPA 方法 1633 草案 4 以及 EU 和 UK 法规中列出的 PFAS 介绍了一套全面的工作流程，包括样品前处理、消耗品、数据采集/分析和报告。

使用 Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE 小柱实现了可靠的样品前处理，并获得了出色的回收率。使用 Agilent InfinityLab 无 PFC HPLC 转换工具包可替换原始 HPLC 系统中存在的含氟聚合物，并延迟 PFAS 从溶剂中释放，从而大幅减少背景污染。采用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统与新型 Agilent 6495D 三重四极杆液质联用系统进行分析，该系统配备离子源和方法优化器以及基于人工智能的 SWARM 自动调谐功能。

该工作流程具有出色的仪器重现性和稳定性。Agilent SLIMS 结合实验室信息管理系统和电子记录本，为 PFAS 分析提供了一种端到端解决方案。

参考文献

1. Our Current Understanding of the Human Health and Environmental Risks of PFAS. <https://www.epa.gov/pfas/our-current-understanding-human-health-and-environmental-risks-pfas> (last updated 2023-07-07; accessed 2023-09-18)
2. Method 1633: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS; 4th draft. *United States Environmental Protection Agency*, July **2023**
3. Hunt, K.; Hindle, R.; Anumol, T.; Giardina, M.; Juck, M.; Parry, E. 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 5994-5226ZHCN，**2022**
4. Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit—Revision 2, [U.S.] *Code of Federal Regulation*, Title 40, Appendix B to Part 136

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

DE10463292

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 11 月 13 日, 中国出版
5994-6879ZHCN