

식수 중 Per- 및 Polyfluoroalkyl Substances 정량화

Agilent 6546 LC/Q-TOF를 사용한 EPA Method 533을 따름

저자

Kathy Hunt and Ralph Hindle
Vogon Laboratory Services
Cochrane, AB, Canada

Tarun Anumol
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, DE, USA

James Pyke and Chris Klein
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA, USA

개요

식수 중 per- 및 polyfluorinated alkyl substances(PFAS)의 분석을 위한 미국 환경보호청(US EPA) Method 533은 감도를 최대화하기 위해 전통적으로 Liquid Chromatography/Triple Quadrupole mass spectrometry (LC/TQ)를 사용하여 분석합니다. 이 응용 자료는 EPA Method 533 화합물 분석을 위한 Agilent 6546 Q-TOF LC/MS 기기 시연을 통해 Method 533에 언급된 감도 수준 및 모든 성능 조건을 충족하는 동시에 사용자가 LC-Q/TOF를 사용해 미지 및 신종 PFAS의 비표적 식별 또는 기타 PFAS에 대한 스크리닝을 수행할 수 있다는 점을 보여줍니다.

추출 회수율, 분석법 보고 농도, 정밀성과 같은 분석법 파라미터를 포함하는 LC/TQ를 사용한 Method 533의 PFAS 분석은 이전에 발행된 응용 자료 5994-1628EN에 설명되어 있습니다. Method 533에 따르면, 식수 100~250ml를 고체상 추출한 후 1mL의 80% 메탄올로 용매 치환하고 LC/TQ로 분석해야 합니다. 이 응용 자료에서는 검출기만 교체하고, TQ 대신에 LC/Q-TOF를 사용해 EPA Method 533에 대한 성능 기준을 Agilent 6546 LC/Q-TOF로 충족할 수 있음을 보여줍니다.

서론

Quadrupole time-of-flight(Q-TOF)는 고분해능의 정확한 질량 기기로 질량 정확성을 사용해 화학식을 분명하게 식별할 수 있습니다. Q-TOF는 트랩 기반의 고분해능 기기와는 달리 질량 분해능 손실 없이 높은 수집 속도로 데이터를 수집할 수 있기 때문에 화합물의 표적 목록을 정량화하는 데도 사용할 수 있습니다. 일반적으로 Triple quadrupole(TQ) 기기로 분석한 것처럼 정확하고 견고하며 감도 높은 정량화를 위해서는 피크 전반에서 최대 20개 데이터 포인트가 필요하며 이런 경우에는 높은 수집 속도가 매우 중요합니다. 고분해능 또한 수집한 데이터를 후향적으로 분석하는데 사용하여 의심되는 화합물이나 미지 화합물을 검출할 수 있습니다.

일반적으로 HRMS 기기를 사용하는 표준 수집 모드는 다음 4가지입니다.

- MS(TOF 전용) 모드는 조각화 없이 전체 MS 스펙트럼을 제공하기 때문에 감도가 최대화됩니다. All Ions 기법을 사용하는 경우 다른 조건을 사용해 데이터가 수집됩니다. (a) 낮은 값의 충돌 에너지 (일반적으로 0V, 전체 MS 스펙트럼에서 산출) 및 (b) 한 가지 또는 여러 가지 높은 에너지 값. 낮은 에너지 스펙트럼은 주로 화합물에 대한 분자 (또는 전구체) 이온만을 보여주고, 높은 에너지 스펙트럼은 전구 이온과 함께 조각 이온을 보여주기 때문에 전구체와 조각 데이터를 모두 동시에 수집할 수 있습니다
- Auto MS/MS는 데이터 의존적 수집 모드로 사용자가 지정한 임계값보다 존재비가 높은 전구체에 대하여 사중극자 질량 필터링을 트리거합니다

- Targeted MS/MS 모드는 LC/TQ 분석과 가장 비슷합니다. 사중극자는 특정 머무름 시간 윈도우 내에 표적 목록에서 전구 이온만 분리해내어 생성 이온 스펙트럼을 수집합니다
- Quadrupole Resolved All-Ions(Q-RAI)라고 하는 데이터 비의존적 수집 모드는, 이온이 조각화되는 충돌 셀로 들어가기 전에 최대 100amu의 넓은 질량 사중극자 분리 윈도우를 사용하여 전구 이온을 필터링합니다

Method 533에 대한 수집 요구 사항을 충족하기 위해 표적 MS/MS 모드가 선택되었고, 기존의 LC/TQ에서와 마찬가지로 생성 이온에 대한 정량화가 수행되었습니다. 분석법 수집 속도 및 머무름 시간 윈도우는 피크 모양 재현성을 위해 최적화되었고 이를 통해 감도를 최대화하는 동시에 전구체의 수는 최소화했습니다.

실험

LC/MS 분석은 Agilent 6546 LC/Q-TOF와 함께 Agilent 1290 Infinity II LC를 사용하여 수행했습니다. LC 조건은 표 1에 나와 있습니다. 지연 컬럼을 Binary 펌프와 multisampler 사이에 배치하여 시료 바이알의 화합물에서 백그라운드 오염물질을 분리했습니다. 내경 4.6mm의 지연 컬럼은 시스템 역압을 낮게 유지합니다. 분석 컬럼은 대부분의 PFAS에 대한 베이스라인 분리가 되게 했습니다. 시스템은 Agilent MassHunter Acquisition 소프트웨어 버전 10.1을 사용해 제어했습니다. Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 버전 10.1 및 MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어 버전 10.0을 사용해 데이터를 처리했습니다. 표 2와 3에는 Q-TOF 분석법 파라미터가 나열되어 있습니다.

LC 기기 조건

표 1. EPA Method 533에 대한 LC 분석법 파라미터.

파라미터	값	
LC	Agilent 1290 Infinity II LC: Agilent 1290 Infinity II multisampler(G7167B), Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프(G7120A), Agilent 1290 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치(G7116B)	
분석 컬럼	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 3 × 50mm, 1.8µm(p/n 959757-302)	
지연 컬럼	Agilent ZORBAX RR StableBond C18, 4.6 × 50mm, 3.5µm(p/n 835975-902)	
컬럼 온도	50°C	
주입 부피	10µL	
이동상	A) 증류수의 20mM 암모늄 아세테이트(HPLC 등급) B) 메탄올(HPLC 등급)	
유속	0.4mL/분	
그라디언트	시간(분)	% B
	0.0	5
	0.5	5
	3.0	40
	16.0	80
	18.0	80
	20.0	95
중지 시간	20.0분	
사후 시간	6.0분	

Targeted MS/MS 전구체

이 분석법에서는 6546 LC/Q-TOF를 사용하여 전자분무 네거티브 모드에서 Targeted MS/MS 수집 분석을 사용합니다.

전구 이온 선택 및 충돌 에너지를 포함하는 화합물 파라미터는 사전에 최적화되었습니다. 자세한 내용은 응용 자료 5991-7951EN을 참조하세요. 델타 머무름 시간은 동시에 발생하는 전구체를 최소화하기 위해 가능한 한 좁게 유지했습니다. 파라미터는 표 4와 같습니다.

정량화는 정확한 질량의 생성 이온 전이에 대해 수행되었습니다.

검량 표준물질 전처리

모든 관심 분석물질을 함유한 희석 표준물질 500ng/mL을 희석해 높은 검량 물질을 제조했습니다. 높은 검량 물질의 연속 희석액은 이후 검량 물질을 만들기 위해 80% 메탄올로 제조했습니다. 분석 전에 동위원소 희석 표준물질과 내부 표준물질을 첨가했습니다.

추출

Method 533에 따라 바탕 시료 및 최저 농도 최소 보고 수준(LCML) 반복 스파이크를 포함하는 식수 시료(250mL)에 동위원소 희석 유사체를 첨가하고, 약 음이온 교환 카트리지를 사용해 추출했습니다. 시료를 수산화 암모늄/메탄올 용액을 사용해 용리하고 80% 메탄올로 재용해하기 전에 건조 농축했습니다. 분석 전에 내부 표준물질을 첨가했습니다.

LC/MS 기기 조건

표 2. Agilent 6546 LC/Q-TOF의 EPA Method 533에 대한 LC/MS 분석법 파라미터.

파라미터	값
MS	Dual Agilent Jet Stream ESI 이온화원이 장착된 Agilent 6546 LC/Q-TOF
소스 파라미터	
가스 온도	230°C
가스 유속	4L/분
Nebulizer	20psi
Sheath 가스 온도	375°C
Sheath 가스 유속	12L/분
캐필러리 전압(Neg)	2,000V
노즐 전압(Neg)	0V
MS TOF	
Fragmentor	95V
스키머	65V
Oct 1 RF Vpp	750V

표 3. Agilent 6546 LC/Q-TOF의 EPA Method 533에 대한 스펙트럼 분석법 파라미터.

스펙트럼 파라미터	
MS	
질량 범위	100~1,000m/z
수집 속도	50스펙트럼/초
MS/MS	
질량 범위	40~650m/z
수집 속도	5스펙트럼/초

표 4. Agilent 6546 LC/Q-TOF의 EPA Method 533에 대한 화합물 분석법 파라미터(다음 페이지에서 계속).

화합물	전구체 이온 (m/z)	머무름 시간 (분)	델타 머무름 시간 (분)	충돌 에너지 (V)
PFBA	212.9813	4.25	0.6	8
¹³ C ₃ -PFBA	215.9893	4.25	0.6	8
¹³ C ₄ -PFBA	216.9926	4.25	0.6	8
PFMPA	228.9765	5.16	0.4	12
PFPeA	262.9788	6.18	0.4	8
¹³ C ₅ -PFPeA	267.9956	6.18	0.4	8
PFMBA	278.9739	6.85	0.4	12
HFPO-DA-CO ₂	284.9778	8.95	0.4	4
¹³ C ₃ -HFPO-DA- ¹³ CO ₂	286.9845	8.95	0.4	4
NFDHA	294.9823	7.70	0.8	5
PFBS	298.9460	6.64	0.4	45
¹³ C ₃ -PFBS	301.9563	6.64	0.4	45
PFHxA	312.9762	8.37	0.4	8
PFEESA	314.9412	7.53	0.4	24
¹³ C ₅ -PFHxA	317.9930	8.36	0.4	8
4:2FTS	326.9779	8.17	0.4	20
¹³ C ₂ -4:2FTS	328.9844	8.17	0.4	20

표 4. Agilent 6546 LC/Q-TOF의 EPA Method 533에 대한 화합물 분석법 파라미터.

화합물	전구체 이온 (<i>m/z</i>)	머무름 시간 (분)	델타 머무름 시간 (분)	충돌 에너지 (V)
PFPeS	348.9435	8.69	0.4	40
PFHpA	362.9737	10.42	0.4	0
¹³ C ₄ -PFHpA	366.9869	10.42	0.4	0
ADONA	376.9731	10.71	0.4	12
PFHxS	398.9409	10.59	0.4	49
¹³ C ₃ -PFHxS	401.9509	10.59	0.4	45
PFOA	412.9711	12.16	0.4	4
¹³ C ₂ -PFOA	414.9777	12.16	0.4	4
¹³ C ₈ -PFOA	420.9978	12.16	0.4	4
6:2FTS	426.9725	12.06	0.4	24
¹³ C ₂ -6:2FTS	428.9791	12.06	0.4	24
PFHpS	448.9384	12.25	0.4	52
PFNA	462.9683	13.64	0.4	4
¹³ C ₉ -PFNA	471.9985	13.64	0.4	4
PFOS	498.9357	13.67	0.4	50
¹³ C ₄ -PFOS	502.9492	13.67	0.4	50
¹³ C ₈ -PFOS	506.9625	13.67	0.4	50
PFDA	512.9656	14.92	0.4	4
¹³ C ₆ -PFDA	518.9859	14.92	0.4	4
8:2FTS	526.9676	14.86	0.4	28
¹³ C ₂ -8:2FTS	528.9738	14.86	0.4	28
⁹ Cl-PF ₃ ONS	530.9015	14.43	0.4	28
PFUnDA	562.9631	15.99	0.4	5
¹³ C ₇ -PFUnDA	569.9865	15.99	0.4	5
PFDoA	612.9604	16.94	0.4	5
¹³ C ₂ -PFDoA	614.9604	16.94	0.4	5
¹¹ Cl-PF ₃ OUdS	630.8960	16.53	0.4	32

결과 및 토의

크로마토그래피

그림 1과 2는 화합물 그룹별로 구분한 1.6ng/mL(바이알 내) 검량 물질의 크로마토그램을 보여줍니다.

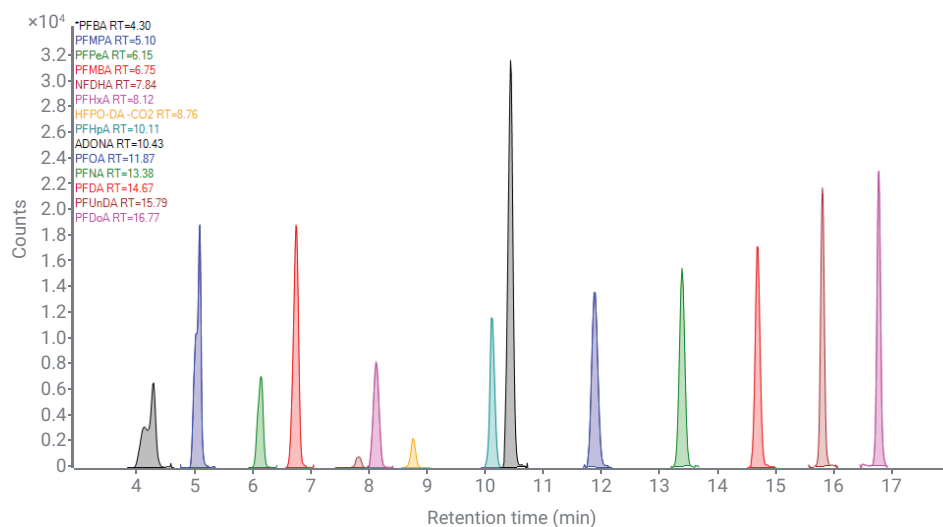


그림 1. 1.6ng/mL PFAS 검량 물질에서 산 분리.

분석법 성능

모든 표적 화합물은 Method 533에서 요구하는 대로 $1/x$ 가중치의 2차 함수 피팅과 원점 적용을 사용하여 전구 이온에서 정확한 질량의 생성 이온으로의 전이에 대해 정량화 했습니다. 모든 표적은 R^2 가 0.98 이상인 검량 곡선 피팅을 보였고 대다수가 0.995보다 높았습니다. 생성 이온의 98% 이상은 2ppm 이하의 질량 정확성을 나타냈습니다.

시스템 백그라운드를 평가했습니다. 지연 컬럼을 사용하는 경우 LC/Q-TOF 시스템은 표적 화합물의 머무름 시간에서 PFAS 용리가 없는 것으로 나타났습니다. 추출된 실험실 바탕 시료에서 일부 PFAS가 미량 수준으로 나타났지만, LCMRL 값보다 훨씬 낮았습니다.

표 5는 중간 수준 검량 물질(바이알 내 6.3ng/mL, 식수의 25ng/L과 동일)의 반복 주입($n = 9$)으로 계산한 상대 표준 편차(RSD)를 기준으로 기기의 성능 결과를 보여줍니다. 모든 PFAS의 RSD 값은 Method 533에 명시된 EPA 요구 사항 20%보다 훨씬 낮습니다. 이 표는 Targeted MS/MS 수집을 사용한 6546 LC/Q-TOF에서 추정된 LCMRL 값을 보여주는데, 이러한 값은 문서화된 EPA 수준보다 현저하게 낮습니다. LCMRL은 EPA Method 533에 정의된 가이드라인에 따라 계산했습니다.

비표적 및 후향적 분석

Q-TOF 분석의 주요 이점은 현재와 미래 모두에서 비표적 화합물을 찾을 수 있다는 것입니다. 전체 질량 스펙트럼은 분석 실행 전체에 걸쳐 수집됩니다. 수집을 표적 분석에 초점 맞추고 전체 MS 스펙트럼 수집에 최소한의 시간을 사용한다고 하더라도, 충분한 고능도로 존재하는 화합물을 데이터베이스 검색을 통해 정확하게 식별하기 위한 충분한 정보가 수집됩니다. 그림 3은 25ng/mL 검량 물질의 전체 MS 50Hz 스펙트럼을 보여줍니다. 25개의 모든 화합물이 Find By Formula 알고리즘을 사용하는 MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어에 의해 식별되고, 이중 92%는 80% 이상의 매치 스코어를 갖습니다. 가장 낮은 검량 물질을 평가했을 때(바이알

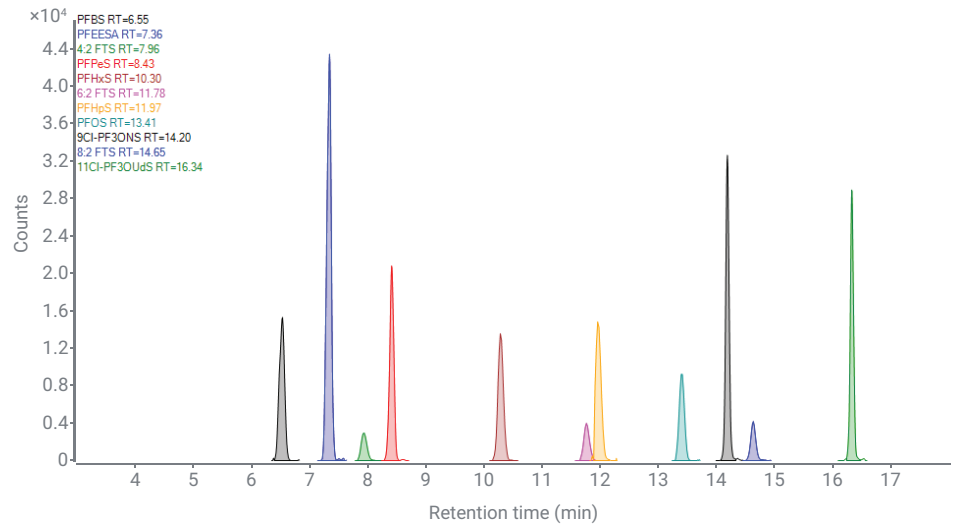


그림 2. 1.6ng/mL PFAS 검량 물질에서 설펜아미드 및 FTS 분리.

표 5. EPA Method 533에 대한 Agilent 6546 LC/Q-TOF 성능.

화합물	RSD(n = 9), 25ng/L	Agilent 6546 LC/Q-TOF Targeted MS/MS LCMRL(ng/L)	EPA Method 533에 보고된 LCMRL(ng/L)
PFBA	2%	2.60	13.00
PFMPA	2%	0.45	3.80
PFPeA	3%	2.03	3.90
PFMBA	2%	0.62	3.70
PFEESA	4%	0.01	2.60
NFDHA	12%	5.93	16.00
PFHxA	4%	0.91	5.30
HFPO-DA-CO ₂	9%	4.41	3.70
PFHpA	4%	1.62	2.60
ADONA	4%	0.61	3.40
PFOA	5%	1.31	3.40
PFNA	6%	1.40	4.80
PFDA	3%	1.21	2.30
PFUnDA	3%	0.35	2.70
PFDoA	4%	1.05	2.20
4:2FTS	6%	2.91	4.70
6:2FTS	8%	4.48	14.00
8:2FTS	6%	3.57	9.10
PFBS	3%	0.61	3.50
PFPeS	2%	0.35	6.30
PFHxS	4%	0.99	3.70
PFHpS	4%	1.67	5.10
PFOS	4%	0.77	4.40
⁹ Cl-PF ₃ ONS	3%	0.65	1.40
¹¹ Cl-PF ₃ OUdS	4%	0.66	1.60

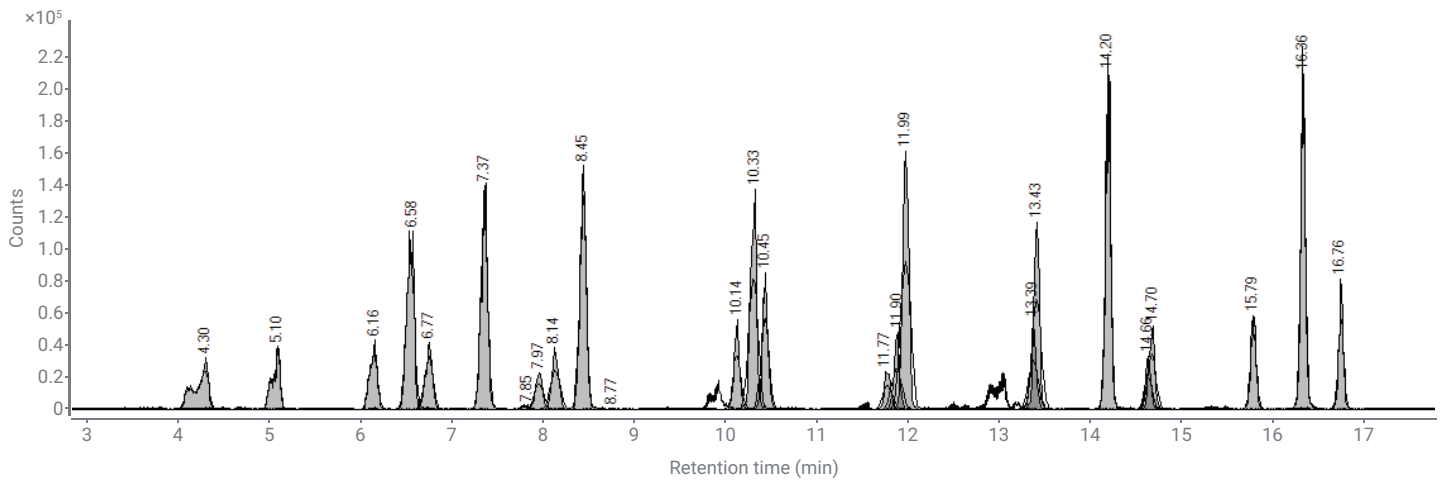


그림 3. 25ng/mL PFAS 검량 물질의 전체 MS 50Hz 스펙트럼.

내 0.4ng/mL, 식수의 1.6ng/L와 동일) 25개 화합물 중에서 17개의 화합물이 80% 이상의 매치 스코어로 식별되었습니다. 추가로 5개의 화합물이 가장 낮은 검량 물질에서 더 식별되었지만, 매치 스코어는 더 낮았습니다. Q-TOF 분석은 표적 화합물에 대한 시료 정량 평가와 미지 또는 신종 오염물질 정성 평가에 강력한 도구입니다.

결론

이 응용 자료는 Agilent 6546 LC/Q-TOF를 Targeted MS/MS 수집 모드로 사용하면 PFAS 정량 분석을 위한 US EPA Method 533의 성능 요구 사항을 충족하는 데 적합하다는 점을 보여줍니다. Targetd MS/MS 모드의 6546 LC/Q-TOF를 사용하면 EPA의 요구 사항인 20%보다 훨씬 낮은 RSD 값을 얻을 수 있으며, 25개 화합물

중 24개의 값이 10% 미만입니다. LCMRL 값은 LC/TQ를 사용하는 EPA 보고 값과 비슷하거나 훨씬 낮습니다. 25개 화합물 중에서 21개 화합물의 LCMRL 수준이 3ng/L 이하입니다. LC/Q-TOF 수집을 통해, 정량화에 대한 EPA 요구 사항인 표적 MS/MS 데이터와 전체 MS 스펙트럼을 동시에 수집할 수 있어 새로운 PFAS에 대한 스크리닝과 비표적 분석이 가능합니다.

www.agilent.com/chem

DE44342.5790625

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 6월 17일, 한국에서 인쇄
5994-3648KO

한국에질런트테크놀로지스㈜
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

 **Agilent**
Trusted Answers