

饮用水中全氟/多氟烷基化合物的定量分析

根据 EPA 方法 533 使用 Agilent 6546 LC/Q-TOF

作者

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

Tarun Anumol
安捷伦科技有限公司
Wilmington, DE, USA

James Pyke 和 Chris Klein
安捷伦科技有限公司
Santa Clara, CA, USA

摘要

传统上，美国国家环境保护局 (US EPA) 方法 533 中使用液相色谱三重四极杆质谱仪 (LC/TQ) 分析饮用水中选定的全氟和多氟烷基化合物 (PFAS)，以获得更高的灵敏度。本应用简报展示了 Agilent 6546 四极杆飞行时间液质联用系统用于分析 EPA 方法 533 化合物的仪器性能，其能满足方法 533 中提到的灵敏度水平和所有性能标准，同时还允许用户对其他 PFAS 进行筛选或使用 LC-Q/TOF 对未知和新型 PFAS 进行非靶向鉴定。

在方法 533 中，使用 LC/TQ（包括之前发布的应用简报 5994-1628EN 中所述的萃取回收率、方法报告限值和精密度等方法参数）分析 PFAS。方法 533 要求对 100–250 mL 饮用水进行固相萃取，并将溶剂交换为 1 mL 80% 甲醇，然后使用 LC/TQ 进行分析。本应用简报仅替换了检测器，使用 LC/Q-TOF 代替 TQ，以显示使用 Agilent 6546 LC/Q-TOF 可以满足 EPA 方法 533 的性能标准。

前言

四极杆飞行时间 (Q-TOF) 是一种高分辨率精确质量仪器，可以使用质量准确度明确鉴定化学式。与基于捕集阱的高分辨率仪器不同，Q-TOF 还可用于定量分析目标化合物列表，因为它们能够以高采集速率采集数据，且不会损失质量分辨率。正如通常使用三重四极杆 (TQ) 仪器进行准确、稳定和灵敏的定量分析一样，当整个峰需要多达 20 个数据点时，高采集速率至关重要。高分辨率对于疑似物或未知化合物检测所采集数据的回顾性分析同样十分重要。

使用典型的 HRMS 仪器时有四种标准采集模式：

- MS（仅 TOF）模式无需碎裂即可提供全质谱图以及高灵敏度结果。在全离子技术中，可使用不同条件采集数据：(a) 碰撞能量值较低（通常为 0 V，生成全质谱图），以及 (b) 一个或多个高能量值。低能量谱图主要仅显示化合物的分子离子（或母离子），而高能量谱图则提供母离子及其碎片离子信息，因此可以同时采集母离子和碎片离子数据
- 自动 MS/MS 是一种数据依赖型采集模式，它会触发对丰度大于用户指定阈值的母离子的四极杆质量过滤

- 靶向 MS/MS 模式与 LC/TQ 分析最为相似。四极杆在指定的保留时间窗口内从目标列表中分离出母离子，从而实现子离子谱图的采集
- 非数据依赖型采集模式（称为四极杆分辨全离子 (Q-RAI)）在母离子进入碰撞池进行碎裂之前，使用最大 100 amu 的宽质量四极杆分离窗口对其进行过滤

为满足方法 533 的采集要求，选择靶向 MS/MS 模式，并像传统 LC/TQ 那样对子离子进行定量分析。方法采集速率和保留时间窗口针对峰形重现性进行了优化，尽可能提高灵敏度并减少共流出的母离子数量。

液相色谱仪器条件

表 1. 针对 EPA 方法 533 的液相色谱方法参数

参数	值	
LC	Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统：Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)、Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A) 和 Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)	
分析柱	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 3 × 50 mm, 1.8 µm（部件号 959757-302）	
延迟柱	Agilent ZORBAX RR StableBond C18, 4.6 × 50 mm, 3.5 µm（部件号 835975-902）	
柱温	50 °C	
进样量	10 µL	
流动相	A) 20 mmol/L 乙酸铵的水溶液（HPLC 级） B) 甲醇（HPLC 级）	
流速	0.4 mL/min	
梯度	时间 (min)	% B
	0.0	5
	0.5	5
	3.0	40
	16.0	80
	18.0	80
	20.0	95
停止时间	20.0 min	
后运行时间	6.0 min	

实验部分

使用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪与 Agilent 6546 LC/Q-TOF 的联用系统进行 LC/MS 分析。液相色谱条件见表 1。延迟柱位于二元泵和 Multisampler 之间，用于将背景污染物与来自样品瓶中的化合物分离。内径 4.6 mm 延迟柱保持较低的系统反压。分析柱可实现大多数 PFAS 的基线分离。系统由 Agilent MassHunter 采集软件 10.1 版控制。使用 Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 版以及 MassHunter 定性分析软件 10.0 版进行数据处理。Q-TOF 方法参数列于表 2 和表 3。

靶向 MS/MS 母离子

该方法使用 6546 LC/Q-TOF 在电喷雾负模式下运行靶向 MS/MS 采集。

化合物参数（包括母离子选择和碰撞能量）已经过优化，详细信息请参阅应用简报 5991-7951EN。使 Δ 保留时间保持尽可能短，以减少共流出的母离子。参数如表 4 所示。

对精确质量离子对进行定量。

制备校准溶液

通过稀释 500 ng/mL 分析物稀释标准溶液（包含所有目标分析物）制备高浓度校准溶液。用 80% 甲醇制备高浓度校准溶液的系列稀释液，得到后续校准溶液。在分析前加入同位素稀释标准品和内标。

萃取

用同位素稀释类似物加标包含空白和最低浓度最小报告限值 (LCMRL) 重复加标的水样 (250 mL)，并根据方法 533 使用弱阴离子交换柱进行萃取。用氢氧化铵/甲醇溶液洗脱样品并浓缩至干燥状态，然后用 80% 甲醇复溶。在分析前加入内标。

LC/MS 仪器条件

表 2. 根据 EPA 方法 533，Agilent 6546 LC/Q-TOF 的 LC/MS 方法参数

参数	值
MS	Agilent 6546 LC/Q-TOF，配备安捷伦双喷射流 ESI 离子源
离子源参数	
气体温度	230 °C
气体流速	4 L/min
雾化器	20 psi
鞘气温度	375 °C
鞘气流速	12 L/min
毛细管电压（负）	2000 V
喷嘴电压（负）	0 V
MS TOF	
碎裂电压	95 V
锥孔电压	65 V
Oct 1 RF Vpp	750 V

表 3. 根据 EPA 方法 533，Agilent 6546 LC/Q-TOF 的光谱方法参数

光谱参数	
MS	
质量数范围	100–1000 <i>m/z</i>
采集速率	50 幅谱图/秒
MS/MS	
质量数范围	40–650 <i>m/z</i>
采集速率	5 幅谱图/秒

表 4. 根据 EPA 方法 533，Agilent 6546 LC/Q-TOF 的化合物方法参数（下页续）

化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	保留时间 (min)	Δ 保留时间 (min)	碰撞能量 (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
4:2 FTS	326.9779	8.17	0.4	20
¹³ C ₂ -4:2 FTS	328.9844	8.17	0.4	20

表 4. 针对 EPA 方法 533，Agilent 6546 LC/Q-TOF 的化合物方法参数

化合物	母离子 (m/z)	保留时间 (min)	Δ 保留时间 (min)	碰撞能量 (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
6:2 FTS	426.9725	12.06	0.4	24
¹³ C ₂ -6:2 FTS	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
8:2 FTS	526.9676	14.86	0.4	28
¹³ C ₂ -8:2 FTS	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
PFDaA	612.9604	16.94	0.4	5
¹³ C ₂ -PFDaA	614.9604	16.94	0.4	5
¹¹ Cl-PF ₃ OUdS	630.8960	16.53	0.4	32

结果与讨论

色谱

图 1 和图 2 显示了按化合物组分离的 1.6 ng/mL（样品瓶中）校准溶液的色谱图。

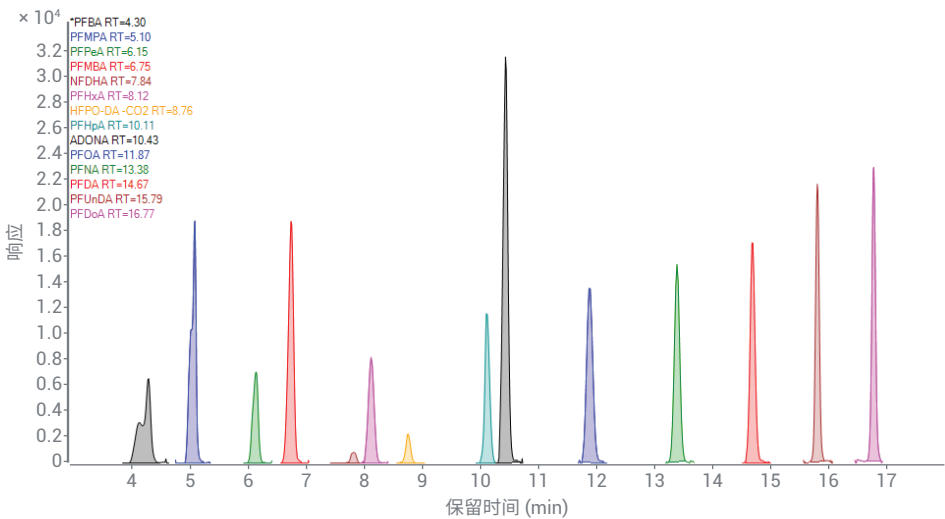


图 1. 1.6 ng/mL PFAS 校准溶液中酸的分离

方法性能

按照方法 533 的要求，使用二次拟合和 1/x 加权并强制过原点，对所有目标化合物从母离子到精确质量量子离子的离子对进行定量。对所有目标分析物进行校准曲线拟合，其 R² 均大于 0.98，大多数大于 0.995。超过 98% 的子离子的质量数准确度误差低于 2 ppm。

对系统背景进行了评估。研究表明，使用延迟柱的 LC/Q-TOF 系统在目标化合物的保留时间处没有 PFAS 流出。尽管萃取得到的实验室试剂空白中含有一些痕量 PFAS，但它们的浓度远低于 LCMRL 值。

表 5 显示了以相对标准偏差 (RSD) 表示的仪器性能结果，该值通过重复进样 (n = 9) 中等浓度校准溶液（样品瓶中浓度为 6.3 ng/mL，相当于水中浓度为 25 ng/L）计算得出。所有 PFAS 的 RSD 值均远低于 EPA 要求的 20%（如方法 533 中所述）。该表还显示了使用靶向 MS/MS 采集通过 6546 LC/Q-TOF 估算的 LCMRL 值，该值明显低于规定的 EPA 浓度值。LCMRL 按照 EPA 方法 533 中定义的指南计算得出。

非目标和回顾性分析

Q-TOF 分析的主要优势是具备在当前和未来寻找非目标化合物的能力。在整个运行过程中采集全质谱图。即使采集主要用于目标分析，并且采集全质谱图花费的时间最少，也能收集到足够的信息，从而通过数据库搜索正确鉴定浓度足够高的化合物。图 3 显示了 25 ng/mL 校准溶液的 50 Hz 全质谱图。在 MassHunter 定性分析软件中使用按分子式查找算法对所有 25 种化合物进行了鉴定，其中 92% 的匹配得分大于 80%。当评估最低浓度校准溶液（样品瓶中浓度为 0.4 ng/mL，相当于水中浓度为 1.6 ng/L）时，25 种化合

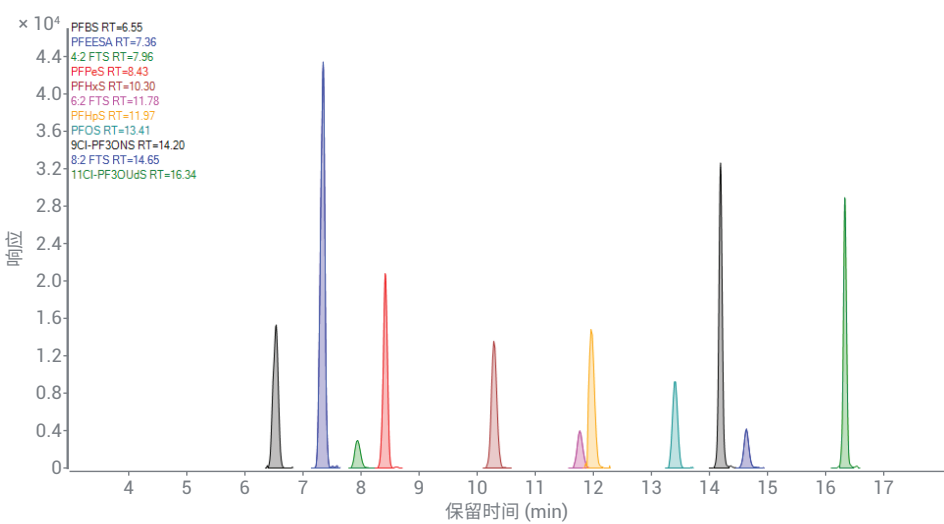


图 2. 1.6 ng/mL PFAS 校准溶液中磺酸盐和 FTS 的分离

表 5. Agilent 6546 LC/Q-TOF 针对 EPA 方法 533 的性能

化合物	25 ng/L 时的 RSD (n = 9)	Agilent 6546 LC/Q-TOF 靶向 MS/MS LCMRL (ng/L)	EPA 方法 533 的报告 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
PFDaA	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

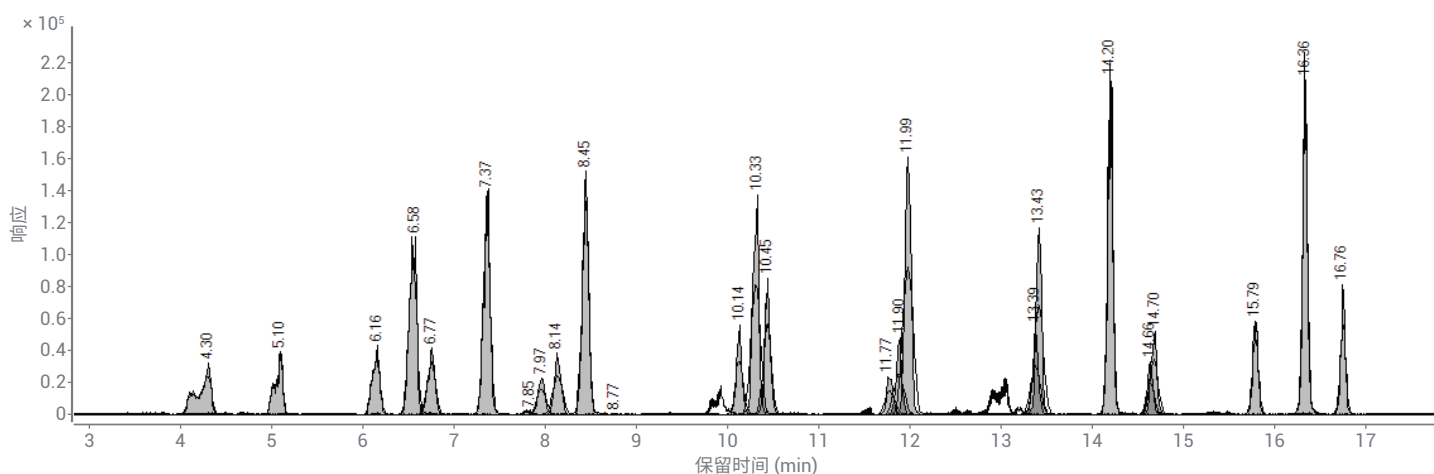


图 3. 25 ng/mL PFAS 校准溶液的 50 Hz 全质谱图

物中有 17 种的得分仍高于 80%。此外，在最低浓度校准溶液中鉴定出另外 5 种化合物，但得分较低。Q-TOF 分析是一种强大的工具，可用于定量评估样品中的目标化合物，以及定性评估样品中的未知或新型污染物。

结论

本应用简报表明，采用靶向 MS/MS 采集模式的 Agilent 6546 LC/Q-TOF 能够满足 US EPA 方法 533 中对 PFAS 定量分析的性能要求。采用靶向 MS/MS 模式的 6546 LC/Q-TOF 获得的 RSD 值远低于 EPA 要求的 20%，25 种化合物中有 24 种的 RSD

值低于 10%。LCMRL 值接近或在大多数情况下明显低于 EPA 使用 LC/TQ 获得的报告值。在 25 种化合物中，21 种化合物的 LCMRL 限值低于 3 ng/L。LC/Q-TOF 采集能够同时收集 EPA 定量所需的靶向 MS/MS 数据和全质谱图，从而可以对新型 PFAS 进行筛选和非目标分析。

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

DE44342.5790625

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，2021
2021 年 6 月 17 日，中国出版
5994-3648ZHCN