

水和土壤基质中 PFOS 和 PFOA 的 LC/MS/MS 测定

使用 Agilent 1290 Infinity II LC 和 Ultivo 串联质谱仪

作者

Wenlong Yang, Jing Guo,
Liang Dong 和 Yeru Huang
国家环境分析测试中心

Wei Du, Hua Wu 和 Meiling Lu
安捷伦科技（中国）有限公司,
北京

摘要

本应用简报根据最近的报告^[1]，介绍了 Agilent Ultivo 三重四极杆 LC/MS 与 Agilent 1290 Infinity II LC 联用系统分析水和土壤基质中全氟辛烷磺酸 (PFOS) 和全氟辛酸 (PFOA) 的性能。简单来说，过滤环境水样，用甲醇萃取土壤样品。使用弱阴离子交换柱对所得样品进行净化，以富集目标化合物并去除干扰物。然后在高 pH 下洗脱目标化合物，在氮气下进一步蒸发，然后复溶于甲醇中用于 Ultivo LC/MS/MS 分析。采用内标同位素稀释法进行定量。溶液中的 PFOA 和 PFOS 在 0.5–200 µg/L 范围内均表现出优异的线性关系，线性回归系数达 0.997。PFOA 和 PFOS 的检测限 (LOD) 在水中为亚 ng/L 级，在土壤中为 ng/kg 级。以 2.5、40 和 200 ng/L 浓度加标至纯水、河水和废水中的 PFOA 和 PFOS 的平均加标回收率分别为 88.4%–98.8% 和 88.0%–97.3%，所有 RSD 值 (n = 6) 均在 0.60%–14% 范围内。对于加标浓度分别为 0.50、5.0 和 20 µg/kg 的空白土壤、田间土壤和沉积物基质，PFOA 和 PFOS 回收率分别为 98.6%–113% 和 96.8%–111%，两种化合物的 RSD 均在 0.4%–6.6%。上述结果表明，使用 Ultivo LC/MS/MS 开发的方法十分准确可靠。该方法还符合各种环境水和土壤基质中痕量 PFOA 和 PFOS 常规监测的标准。

前言

环境（包括水、土壤、沉积物、淤泥和生物基质）中存在两种主要的全氟烷基物质 PFOA 和 PFOS^[2,3]。对实验动物和流行病学暴露的研究表明，全氟辛烷磺酸和全氟辛酸可能对人类健康产生有害影响，包括肝毒性、发育毒性、可能的生殖毒性和潜在致癌性^[4]。欧洲食品安全局 (EFSA) 于 2008 年公布了 PFOA 和 PFOS 的每日耐受摄入量 (TDI)^[4]，美国国家环境保护局 (EPA) 在 2016 年规定了饮用水中 PFOA 和 PFOS 总量的健康警告值^[5]。中国是全氟烷基物质的主要制造和使用大国。并且，在过去十年中，国内的各种环境基质和食品中发现了更多的 PFOA、PFOS 和相关化合物^[6-8]。但是，国内还没有针对食品或饮用水中 PFOA 和 PFOS 的最高容许浓度。最近，国家发布了一种测定植物源食品中 PFOA 和 PFOS 的参考方法^[9]。为了确保可靠地监测环境中全氟烷基物质的残留情况，必须建立一种稳定的方法来测定各种环境基质中的 PFOA 和 PFOS。这种监测有利于将来的环境监管。

为了测定基质中 PFOA、PFOS 和其他全氟烷基物质的含量，先采用固相萃取 (SPE) 净化，然后进行液相色谱三重四极杆串联质谱 (LC/MS/MS) 分析的这一方法已得到广泛应用^[2-3, 6-8]。用于全氟烷基物质的 SPE 净化柱主要基于反相色谱和弱阴离子交换 (WAX) 机制。这些 SPE 净

化柱可有效去除大多数样品基质^[6, 8]，有利于后续采用 LC/MS/MS 对分析物进行准确可靠的测量。本应用简报表明，将 WAX 柱净化与 Ultivo LC/MS 结合是一种灵敏可靠的方法，能够准确测定各种环境基质中的 PFOA 和 PFOS。

实验部分

材料和试剂

PFOA、PFOS、¹³C₄-PFOA 和 ¹³C₄-PFOS 储备标准溶液购自加拿大 Wellington Laboratories，各自浓度为 50.00 µg/mL（溶于甲醇）。甲醇、乙腈、乙酸、乙酸铵和氢氧化铵 (W% = 20%) 均为 HPLC 级，购自 Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ)。在整个实验中均使用 Milli-Q 水作为纯水（电阻为 18 MΩ）。所有其他试剂均为分析纯，均购自 SinoChem（中国北京）。WAX 柱 (150 mg/6 mL) 来自安捷伦科技公司 (Little Falls, DE)。

混标校准溶液配制

首先由储备溶液配制含有 10 ng/mL 每种内标的最高浓度混标校准溶液 (200 ng/mL)。然后，由储备溶液配制 10 ng/mL 内标混合物的甲醇溶液作为稀释溶剂。使用含有 10 ng/mL 每种内标的稀释溶剂依次稀释最高浓度混标校准溶液，得到其他混标校准溶液 (0.5、1.0、2.0、5.0、10、20、50 和 100 ng/mL)。每种校准溶液中的最终内标浓度为 10 ng/mL。

水和土壤样品的采集、运输和储存

地表水和废水采集自国内的河流和工业废水。土壤样品采集、运输和储存遵循 GB17378.3 和 HJ/T 166 土壤采样指南。将所有采集的样品在 4 °C 下避光储存在聚丙烯装置中，在两周内净化，并在一个月内进行分析。

样品净化和富集

将水样 (500 mL) 采用石英滤膜过滤。然后，将 10 ng ¹³C₄-PFOA 和 ¹³C₄-PFOS 加入滤液中，涡旋混合 30 秒，然后在室温下静置 30 分钟。WAX 净化方案按照参考文献 1 中的步骤进行，或者减少每个步骤中使用的溶剂量以使该方法更环保。各步骤细节如下：

1. 依次使用 0.5% 氨甲醇溶液 (4 mL)、甲醇 (4 mL) 和水 (4 mL) 预活化 WAX 柱
2. 然后将水样以 3–5 mL/min 的流速上样至 WAX 柱
3. 在所有水样通过净化柱后，使用水 (5 mL) 和乙酸缓冲液 (5 mL, pH 4.0) 依次清洗净化柱
4. 然后将净化柱在真空下干燥 1 小时
5. 干燥后，使用 3 mL 甲醇清洗净化柱，弃去流出的溶液
6. 然后，使用 0.5% 氨甲醇溶液 (4 mL) 从净化柱中洗脱目标化合物；将洗脱液收集在 10 mL 聚丙烯试管中，在 40 °C 下用氮气干燥至近干

- 然后，通过充分涡旋将残余物溶解在 1 mL 甲醇中
- 使用 0.22 μm 滤膜进一步过滤所得溶液，并转移至 2 mL 聚丙烯样品瓶中用于 LC/MS/MS 分析

土壤/沉积物样品的萃取、净化和富集

将 5.0 (±0.1) g 干燥样品转移到 100 mL 聚丙烯管中。然后，将 10 ng 每种内标 (¹³C₄-PFOA 和 ¹³C₄-PFOS) 加入样品中，涡旋混合，然后在室温下静置 30 分钟。

然后使用甲醇对样品进行萃取。萃取方案可以按照参考文献 1 中的步骤进行。或者，如下所述稍微更改萃取条件可以缩短萃取时间。向样品管中加入 10 mL 甲醇，涡旋以实现均匀混合。然后使用振荡器在 37 °C 下将样品管振荡 20 分钟，然后在 6000 rpm 下离心 5 分钟。将所得上清液转移到 500 mL 聚丙烯烧杯中。将萃取步骤重复两次，并将所得萃取物收集到相同烧杯中。接下来，为了使样品溶液中的甲醇浓度低于 10%，将 300 mL 纯水加入到烧杯中。然后使用 WAX 柱按照与水样相同的步骤对稀释的样品萃取物进行进一步净化和富集。

加标回收率测试

使用空白水、河水和废水基质来评估水基质的回收率。空白土壤、农业土壤和河流沉积物用于测试土壤基质的回收率。对于每种基质，将 1–3 种浓度的 PFOA 和 PFOS 加标至基质中，一式六份。表 1 列

出了每种基质中 PFOA 和 PFOS 的加标浓度。此外，将 10 ng 内标添加到基质中。将加标样品在室温下涡旋混合 30 分钟，然后分别进行水或土壤基质的样品前处理。

LC 和 MS 条件

将 1290 Infinity II LC 和先进的 Ultivo 串联四极杆 LC/MS 联用进行 LC/MS/MS 分析。表 2 展示了详细的 LC 和 MS/MS 条件。

表 1. 每种基质中 PFOA 和 PFOS 的加标浓度

水基质	L1 (ng/L)	L2 (ng/L)	L3 (ng/L)
空白水	2.5	40	200
地表水	2.5	40	–
工业废水	–	–	200
土壤基质	L1 (μg/kg)	L2 (μg/kg)	L3 (μg/kg)
空白土壤	0.5	5	20
土壤	–	5	20
沉积物	–	5	20

表 2. 详细的 LC/MS/MS 分析条件

液相色谱条件	
仪器	内置有脱气机的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪
自动进样器	带温控功能的 Agilent 1290 Infinity II 自动进样器
柱温	1290 Infinity II 柱温箱
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm
柱温	35 °C
流动相	2.0 mmol/L 乙酸铵溶液 B) 乙腈
流速	0.30 mL/min
进样量	5.0 μL
后运行时间	3 min
梯度洗脱曲线	0–3 min: 30%–65% B 3–4 min: 65% B 4–5 min: 65%–100% 5–8 min: 100%
MS/MS 条件	
仪器	Ultivo LC/TQ
电离模式	负离子模式
干燥气温度	325 °C
干燥气流速	6 L/min
雾化器气体压力	30 psi
鞘气温度	350 °C
鞘气流速	11 L/min
毛细管电压	2500 V
喷嘴电压	0 V
CAV	9 V

结果与讨论

LC 和 MS/MS 条件优化

首先，为了找到用于检测两种化合物的正确母离子，在负离子模式下对 PFOA 和 PFOS 标准溶液进行 Q1 MS 扫描。然后对所选择的母离子进行子离子扫描。通过优化母离子传输和碎裂的参数，选择 413/369 和 499/99 离子对分别用于 PFOA 和 PFOS 定量。选择其他离子对 (413/169、499/80) 用于定性确证。同样，也确定了同位素标样的离子对，如表 3 所示。

确定 MRM 采集参数后，选择 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 色谱柱，并使用乙腈和乙酸铵水溶液作为流动相分离 PFOA 和 PFOS。使用五分钟的梯度洗脱，PFOA 和 PFOS 实现基线分离，如图 1 所示。对于相对干净的水基质，五分钟足以分离分析物。但是，在分析复杂基质（如废水、土壤或沉积物）时，净化后样品中的残留基质可能会干扰分析并缩短色谱柱寿命。因此，为确保在每次分析后完全净化色谱柱，在两种分析物从色谱柱中洗脱

表 3. 用于检测 PFOA 和 PFOS 的 MRM 采集参数

化合物	母离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)	驻留时间 (ms)
PFOA	413	369*	80	1	30
		169	80	12	30
M4-PFOA	417	372*	80	1	30
		169	80	12	30
PFOS	499	99*	200	52	30
		80	200	68	30
M4-PFOS	503	99*	200	52	30
		80	62	68	30

* 定量离子

后，将梯度曲线立即升至纯乙腈并保持三分钟。此外，由于全氟烷基化物质普遍存在，LC 系统的背景水平可能很高。在这

种情况下，建议在混合溶剂和自动进样器之间连接一根捕集柱，以捕获残留物^[7]并消除共洗脱干扰，实现准确定量。

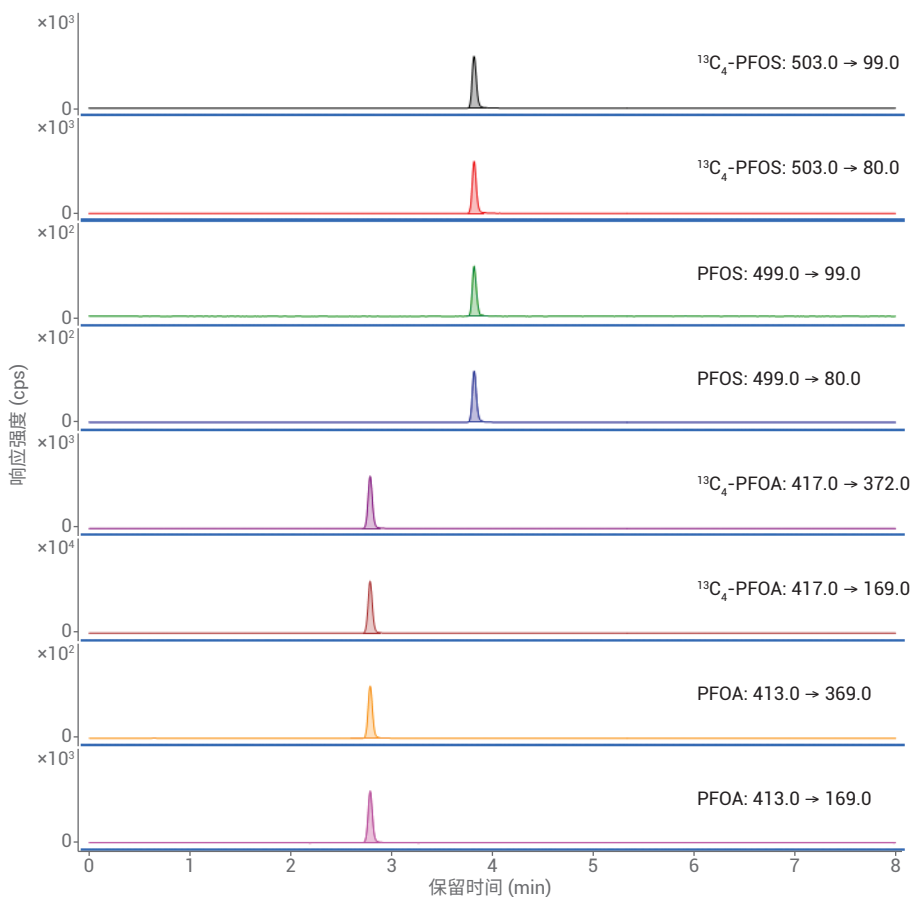


图 1. 使用 Ultivo LC/TQ 获得的 PFOA、PFOS 及其同位素标记类似物的典型 MRM 色谱图

样品萃取和净化优化

先将水样过滤，再进行净化。然而，对于土壤样品，需要适当的萃取步骤来高效地萃取目标化合物。萃取溶剂、萃取方式和土壤样品中 TOC 百分比都可能影响目标化合物的萃取效率。固定土壤中的 PFOA 和 PFOS 加标浓度 (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)，改变萃取溶剂、萃取方式和土壤基质中的 TOC 百分比，对比回收率变化。改变萃取方式 (使用振荡或超声) 不会造成 PFOA 和 PFOS 回收率的明显差异。在测试的 TOC 范围内 (0.81%–2.4%) 改变 TOC 百分比，PFOA 和 PFOS 回收率没有显著差异。但是，当比较不同的萃取溶剂时，包括水、甲醇及中性和碱性 pH (0.1% KOH) 下的甲醇/水 (1:1, v/v) 混合溶液，发现甲醇对于同时实现 PFOA 和 PFOS 的高效萃取十分重要。甲醇/水 (1:1, v/v) 和甲醇均可高效萃取 PFOA 和 PFOS。然而，甲醇会比甲醇/水 (1:1, v/v) 萃取出更多的干扰物，这可以解释回收率偏差相对较高的原因。

过滤后的水样可以直接上样到 WAX 柱上进行净化。对土壤萃取物进行稀释，使样品溶液中的最终甲醇浓度低于 10%，然后上样至净化柱。WAX 净化柱在 pH 4.0 下对 PFOA 和 PFOS 具有强保留特性。因此，在将样品上样至净化柱后，依次使用乙酸 (pH 4.0) 和纯甲醇清洗净化柱。这些清洗溶剂不会洗脱目标化合物，但可以有效地洗脱土壤萃取物中的干扰化合物。通过改变氨/甲醇洗脱溶剂，可以有效地将目标化合物从净化柱中洗脱出来。最终的优化过程如实验部分所述。

校准曲线和灵敏度

校准溶液由混标溶液配制，PFOA 和 PFOS 浓度范围为 0.5–200 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，每种内标浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。将目标化合物峰面积与其内标峰面积的比值相对于溶液中的目标物浓度与其内标浓度的比值作图。图 2 显示 PFOA 和 PFOS 的峰面积比与浓度比线性相关，回归系数高达 0.997。

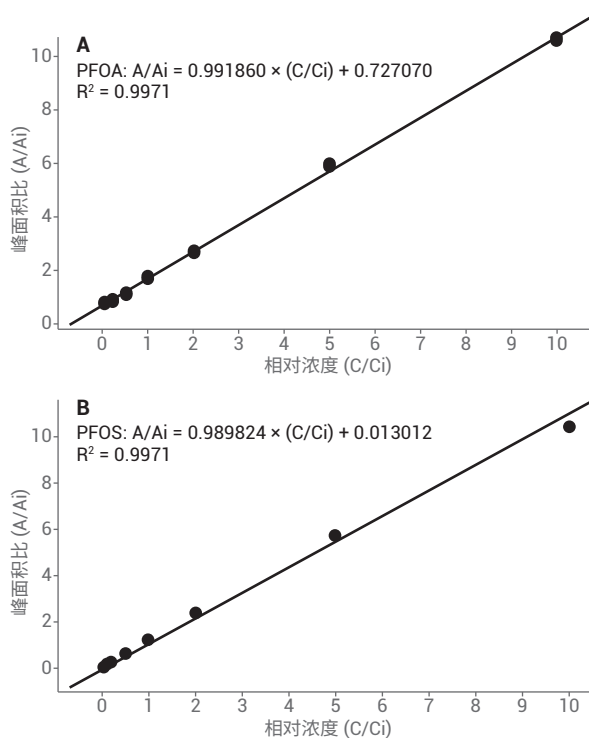


图 2. 测试浓度范围内的 PFOA 和 PFOS 校准曲线

纯水和空白土壤中 PFOA 和 PFOS 的最低加标浓度证明了该方法的高灵敏度。如图 3 所示，在水中 2.5 ng/L 的低加标浓度下，PFOA 和 PFOS 的信噪比 (S/N) 分别为 1193 和 120。上述 S/N 比表明，水中 PFOA 和 PFOS 的 LOD 为亚 ng/L 级或更低浓度。在空白土壤中 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度下，PFOA 和 PFOS 的 S/N 分别达到 1382 和 226。这表明 PFOA 和 PFOS 的 LOD 在空白土壤中可以达到 ng/kg 或更低浓度。结果表明，所开发的方法能够检测极低浓度的痕量 PFOA 和 PFOS。

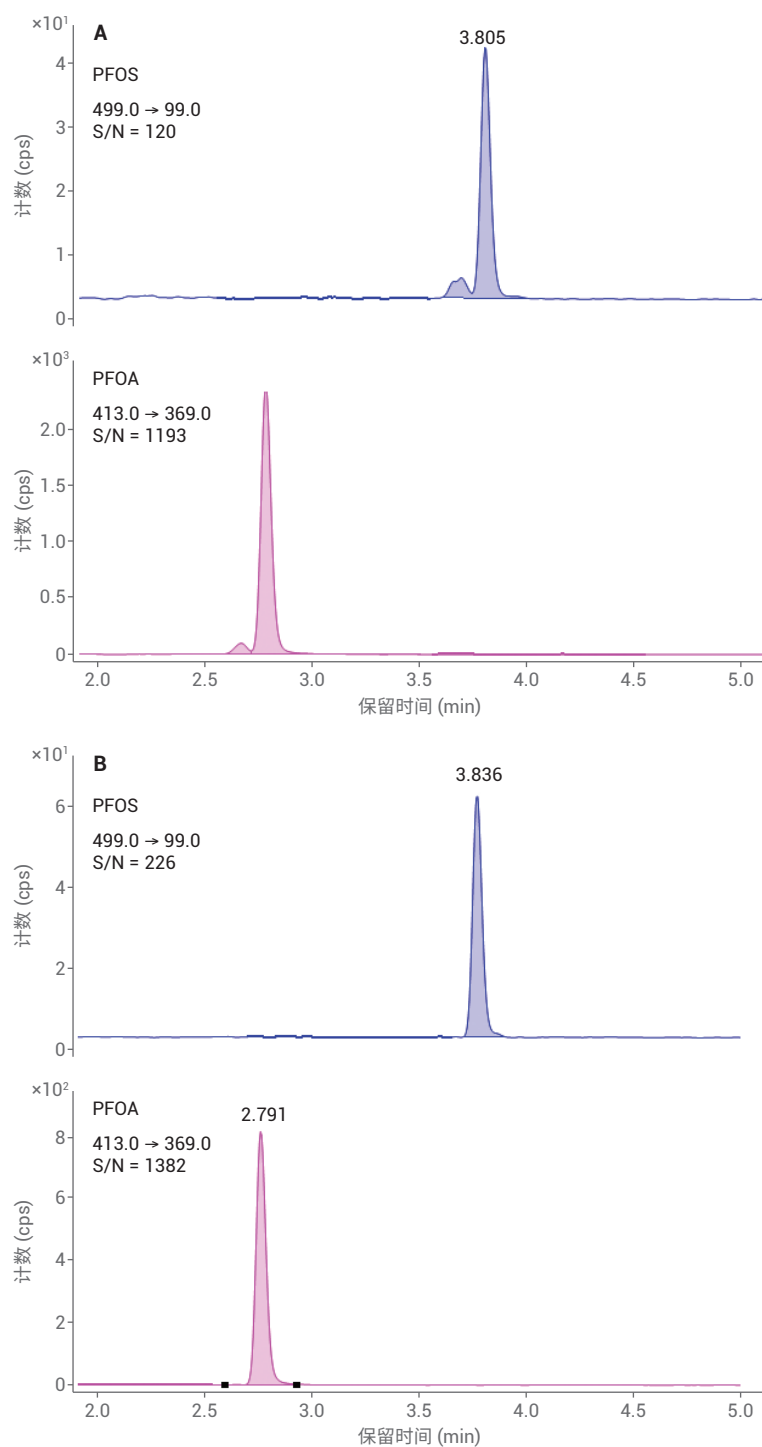


图 3. PFOA 和 PFOS 的色谱图, (A): 加标浓度为 2.5 ng/L 的水; (B) 加标浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的空白土壤。注意: 每种化合物仅显示定量离子色谱图

方法准确度与精密度

通过加标实验评估方法的准确度和精密度。选择纯水、河水、废水、空白土壤（石英砂）、田间土壤和沉积物作为测试基质。图 4 显示，加标浓度为 2.5、40 和 200 ng/L 时，PFOA 回收率在 91.1%–94.1% 之间，相对标准偏差（RSD, n = 6）在 1.3%–4.8% 之间。PFOS 的回收率在 88.0%–93.8% 之间，RSD 在 0.8%–5.3% 之间。对于加标浓度为 2.5 ng/L 和 40.0 ng/L 的河水，以及加标浓度为 200 ng/L 的废水，PFOA 和 PFOS 的回收率分别为 88.4%–98.8% 和 88.0%–97.3%，RSD 分别为 2.2%–13.8% 和 0.9%–4.1%。对于加标浓度为 0.5、5.0

和 20.0 µg/kg 的空白土壤、田间土壤和沉积物，PFOA 的回收率在 98.5%–112.8% 之间，RSD 在 0.6%–5.7% 之间。PFOS 的回收率也在 96.8%–111.1% 之间，RSD 在 0.4%–6.6% 之间。结果表明，该方法可以准确可靠地测定各种环境水和土壤基质中痕量的 PFOA 和 PFOS。

实际样品分析

使用该方法监测地下水、地表水、周围土壤和当地采集的沉积物中 PFOA 和 PFOS 的含量。结果表明，地表水和地下水都受到了极低浓度的 PFOA 和 PFOS 污染，浓度范围从几 ng/L 到几十 ng/L。对于周围土壤和沉积物，大多数样品中未检测到 PFOA 和 PFOS。

结论

将 1290 Infinity II 液相色谱仪与新型 Ultivo 四极杆质谱仪联用，检测各种环境水和土壤基质中的 PFOA 和 PFOS。通过 WAX 柱净化和富集，空白水中 PFOA 和 PFOS 的 LOD 可低至亚 ng/L 级。空白土壤中 PFOA 和 PFOS 的 LOD 可低至 ng/kg 级。同位素稀释校准在 0.5–200 µg/L 测试范围内表现出优异的线性关系，回归系数高达 0.997。该方法具有高准确度和精密度，所有测试基质的加标回收率均在 88%–113% 之间，RSD 在 0.6%–13.8% 之间。结果表明，该方法可以可靠地应用于环境水和土壤基质中痕量 PFOA 和 PFOS 的常规测量。

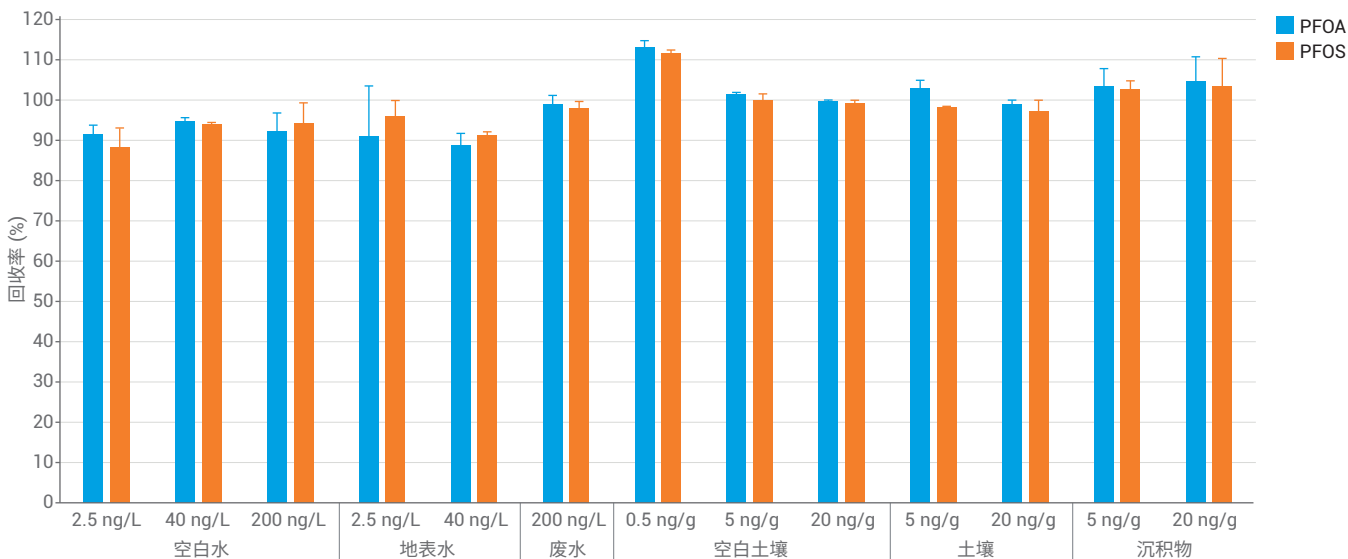


图 4. 测试的水和土壤基质中每种加标浓度下的 PFOA 和 PFOS 回收率

参考文献

1. Yang W. L.; *et al.* Determination of Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctanesulfonates in Various Environmental Water and Soil Matrices Using Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled with State-of-Art Tandem Quadrupole Mass Spectrometry. *China Journal Environmental Chemistry* (in press)
2. Loos, R.; *et al.* Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere* **2008**, *71*(2), 306–313
3. Inoue, K.; *et al.* Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Related Perfluorinated Compounds in Human Maternal and Cord Blood Samples: Assessment of PFOS Exposure in a Susceptible Population during Pregnancy. *Environmental Health Perspectives* **2004**, *112*(11), 1204–1207
4. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA opinion on two environmental pollutants (PFOS and PFOA) present in food. July 21, **2008**
5. US Environmental Protection Agency. PFOA & PFOS drinking water health advisories. *Fact Sheet*, EPA 800-F-16-003. **2016**
6. Pan, Y. Y.; *et al.* Evaluation of perfluorinated compounds in seven wastewater treatment plants in Beijing urban areas. *Science China Chemistry*, **2011**, *54*(3), 552–558
7. Yu, Y.; *et al.* QuEChERS Combined with Online Interference Trapping LC-MS/MS Method for the Simultaneous Determination of 20 Polyfluoroalkane Substances in Dietary Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2015**, *63*(16), 4087–4095
8. Wang, Y. X.; *et al.* Dietary sources of human exposure to perfluorooctanoic acid, perfluorooctanesulfonate and their isomers. *China Journal Environmental Chemistry*, **2018**, *37*(6), 1197
9. GB5009.253—2016. 动物源性食品中 PFOS 和 PFOA 测定的 GB 方法, **2016.8.31**

www.agilent.com

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，2018
2018 年 11 月 9 日，中国出版
5994-0437ZHCN

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

