

Método EPA 533 para a análise de substâncias per/polifluoroalquiladas em água potável usando o LC/MS triplo quadrupolo Agilent 6470

Autores

Ralph Hindle e Kathy Hunt
Vogon Laboratory Services
Cochrane, AB, Canadá

Tarun Anumol
Agilent Technologies Inc.
Wilmington, DE, EUA

Introdução

A EPA dos Estados Unidos (USEPA) desenvolveu o método 533 para a análise de substâncias per- e polifluoroalquiladas (PFAS) selecionadas em água potável. O método aborda alguns dos compostos desafiadores nos métodos 537 e 537.1 da USEPA para ácidos e sulfonatos C_4 e C_8 , enquanto limita o comprimento da cadeia até ácidos C_{12} e adiciona alguns PFAS emergentes ao método. O trabalho mostrado aqui foi usado como uma segunda demonstração de laboratório para avaliar o método EPA 533.

Os PFAS são extraídos da água usando extração em fase sólida (SPE) off-line, seguido por LC/MS/MS com espectrometria de massas de triplo quadrupolo. Vinte e cinco compostos foram medidos, incluindo os ácidos C_4 a C_{12} , sulfonatos C_4 a C_8 , fluorotelômeros e éteres mono/poliperfluorados. Dez dos 14 compostos no método 537 estão incluídos, além dos quatro compostos adicionais do método 537.1. O método USEPA 533 inclui análogos de diluição isotópica para avaliar as recuperações através do preparo de amostras, assim como a adição de padrão interno para os compostos nativos. Os isômeros PFHxS e PFOS ramificados e lineares são somados para a calibração e quantificação desses compostos e são discutidos mais detalhadamente no método USEPA.

Existem diversas questões concorrentes que complicam o desenvolvimento de um único método abrangente para a análise de PFAS. Quantidades de PFAS em nível de traço podem ser originadas das ferramentas de coleta e preparo de amostras, como filtros e pipetas, dos sistemas de LC como sinal de fundo e de solventes da fase móvel. Uma coluna de atraso é usada entre a bomba para LC e o amostrador automático para separar os compostos PFAS do sinal de fundo dos que estão presentes na amostra, permitindo a quantificação correta. Os detalhes desse mecanismo e as configurações são explicados em outras notas de aplicação Agilent. Outro problema é que compostos de cadeia mais longa requerem concentrações mais altas de metanol (MeOH) no extrato final para permanecer em solução (96% em USEPA 537.1), mas isso causa distorções no formato do pico para os compostos menores com eluição antecipada. A redução da concentração de metanol no extrato final para 80% ajuda a melhorar o formato dos picos com eluição antecipada, aumentando a retenção, mas reduz a solubilidade dos compostos de cadeia longa e reduz a exatidão e precisão quantitativas conforme eles saem da solução.

Esta nota de aplicação descreve os resultados obtidos em uma segunda demonstração de laboratório do método 533 USEPA, usando um LC/MS/MS triplo quadrupolo Agilent 6470.

Condições do instrumento MS

Parâmetro	Valor
MS	MS/MS triplo quadrupolo Agilent 6470 com fonte Agilent Jet Stream ESI
Parâmetros da fonte	
Temperatura do gás	230°C
Fluxo do gás	4 L/min
Nebulizador	20 psi
Temperatura do do Sheath Gas	375°C
Fluxo do Sheath Gas	12 L/min
Voltagem do capilar (Neg)	2.500 V
Voltagem do nozzle (Neg)	0 V

Transições dMRM

O método usou o monitoramento dinâmico de reações múltiplas (dMRM) e foi executado no modo negativo do electrospray usando um LC/MS/MS Agilent 6470.

Todos os parâmetros do composto, incluindo íon precursor, íon produto, voltagem do fragmentador e energias de colisão foram otimizados para cada composto com o software otimizador da Agilent (Tabela 1). Consulte a nota de aplicação 5991-7951 para obter mais detalhes. A voltagem do acelerador de célula foi selecionada como 2 V para todos os compostos.

Condições do instrumento LC

Parâmetro	Valor														
LC	Bomba binária Agilent 1260 série Infinity, ALS G1367E Infinity, compartimento da coluna termostatizado G1316A Infinity														
Coluna analítica	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3 × 50 mm; 1,8 µm (p/n 959757-302)														
Coluna de atraso	Agilent ZORBAX SB-C18, 4,6 × 50 mm, 3,5 µm (p/n 835975-902)														
Temperatura da coluna	50°C														
Volume de injeção	10 µL														
Fase móvel	A) 20 mM de acetato de amônio em água (grau LC) B) MeOH (grau LC)														
Vazão do gradiente	0,4 mL/min														
Gradiente	<table> <tr> <td>Tempo (min)</td><td>%B</td></tr> <tr> <td>0,0</td><td>5</td></tr> <tr> <td>0,5</td><td>5</td></tr> <tr> <td>3,0</td><td>40</td></tr> <tr> <td>16,0</td><td>80</td></tr> <tr> <td>18,0</td><td>80</td></tr> <tr> <td>20,0</td><td>95</td></tr> </table>	Tempo (min)	%B	0,0	5	0,5	5	3,0	40	16,0	80	18,0	80	20,0	95
Tempo (min)	%B														
0,0	5														
0,5	5														
3,0	40														
16,0	80														
18,0	80														
20,0	95														
Tempo final	20,0 minutos														
Tempo posterior	6 minutos														

Nota: É altamente recomendável a corrida de pelo menos uma injeção em branco no início da lista de trabalho para remover quaisquer contaminantes do sistema.

Tabela 1. Parâmetros do composto.

Composto	Íon precursor	Íon produto	Tempo de ret. (min)	Fragmentador (V)	Energia de colisão (V)
11Cl-PF3OUdS	630,9	450,9	17,67	165	32
11Cl-PF3OUdS	630,9	82,9	17,67	165	32
¹³ C ₂ -4:2FTS	329,0	309,0	9,18	125	20
¹³ C ₂ -6:2FTS	429,0	409,0	13,06	125	24
¹³ C ₂ -8:2FTS	529,0	509,0	15,96	170	28
¹³ C ₂ -PFDoA	614,9	570,0	18,09	79	5
¹³ C ₂ -PFOA	415,0	369,9	13,17	80	8
¹³ C ₂ -PFOA	415,0	168,9	13,17	80	20
¹³ C ₃ -HFPO-DA	287,0	184,9	10,03	160	20
¹³ C ₃ -HFPO-DA	287,0	168,9	10,03	160	4
¹³ C ₃ -PFBA	216,0	171,9	4,91	65	8
¹³ C ₃ -PFBS	302,0	80,0	7,71	100	45
¹³ C ₃ -PFHxS	402,0	80,0	11,58	100	45
¹³ C ₄ -PFBA	217,0	172,0	4,91	60	8
¹³ C ₄ -PFHpA	367,0	322,0	11,40	72	0
¹³ C ₄ -PFOS	502,9	98,9	14,73	180	48
¹³ C ₄ -PFOS	502,9	79,9	14,73	180	52
¹³ C ₅ -PFHxA	318,0	273,0	9,37	70	8
¹³ C ₅ -PFPeA	268,0	223,0	7,24	60	8
¹³ C ₆ -PFDA	519,0	474,0	15,99	81	4
¹³ C ₇ -PFUnA	570,0	525,0	17,12	73	5
¹³ C ₈ -PFOA	421,0	376,0	13,16	69	4
¹³ C ₈ -PFOS	507,0	80,0	14,72	100	50
¹³ C ₉ -PFNA	472,0	427,0	14,68	66	4
4:2FTS	327,0	306,9	9,18	125	20

Tabela 1. Parâmetros do composto, continuação.

Composto	Íon precursor	Íon produto	Tempo de ret. (min)	Fragmentador (V)	Energia de colisão (V)
4:2FTS	327,0	80,9	9,18	125	36
6:2FTS	427,0	406,8	13,06	125	24
6:2FTS	427,0	80,9	13,06	125	40
8:2FTS	527,0	506,8	15,96	170	28
8:2FTS	527,0	80,9	15,96	170	40
9CI-PF3ONS	530,9	350,9	15,52	145	28
9CI-PF3ONS	530,9	83,0	15,52	145	32
ADONA	377,0	250,9	11,72	80	12
ADONA	377,0	85,0	11,72	80	36
HFPO-DA-CO2	285,0	184,9	10,03	155	16
HFPO-DA-CO2	285,0	168,9	10,03	155	4
NFDHA	295,0	201,0	9,10	75	5
NFDHA-CO2	251,0	84,9	11,71	130	20
PFBA	213,0	168,9	4,91	60	8
PFBS	298,9	98,9	7,71	100	29
PFBS	298,9	80,0	7,71	100	45
PFDA	513,0	469,0	15,99	81	4
PFDA	513,0	218,7	15,99	100	16
PFDoA	613,0	569,0	18,09	79	5
PFDoA	613,0	268,7	18,09	100	20
PFEESA	314,9	134,9	8,57	110	24
PFEESA	314,9	69,0	8,57	110	60
PFHpA	362,9	319,0	11,40	72	0
PFHpA	362,9	169,0	11,40	72	12
PFHpS	448,9	98,7	13,26	100	44
PFHpS	448,9	79,7	13,26	100	52
PFHxA	313,0	268,9	9,37	70	8
PFHxA	313,0	119,0	9,37	70	18
PFHxS	398,9	99,0	11,59	100	45
PFHxS	398,9	80,0	11,59	100	49
PFMBA	279,0	84,9	7,91	70	12
PFMPA	229,0	84,9	5,95	60	12
PFNA	463,0	419,0	14,69	66	4
PFNA	463,0	219,0	14,69	66	17
PFOA	413,0	369,0	13,17	69	4
PFOA	413,0	169,0	13,17	69	12
PFOS	498,9	99,0	14,73	100	50
PFOS	498,9	80,0	14,73	100	50
PFPeA	263,0	218,9	7,24	60	8
PFPeS	348,9	98,9	9,69	135	40
PFPeS	348,9	79,9	9,69	135	40
PFUnA	563,0	519,0	17,12	73	5
PFUnA	563,0	269,0	17,12	100	20

Preparo de padrões de calibração

O calibrante de alta concentração foi preparado através da diluição de um padrão de diluição de analito a 500 ng/mL contendo todos os analitos de interesse. Diluições em série de 1:4 do calibrante de alta concentração foram preparadas em MeOH 80% para os calibrantes subsequentes. O padrão de diluição isotópica e o padrão interno foram adicionados antes da análise.

Extração

250 mL de amostra de água foram fortificadas com análogos de diluição isotópica e foram extraídas usando cartuchos de troca aniônica fraca, de acordo com o Método EPA 533. As amostras foram eluídas com uma solução de hidróxido de amônio/MeOH e concentradas até secar antes de serem reconstituídas com MeOH 80%. O padrão interno foi adicionado antes da análise.

Cromatografia

Os cromatogramas mostrados na Figura 1 são de um calibrante de 1,5 ng/mL (no vial) separado por grupo de composto.

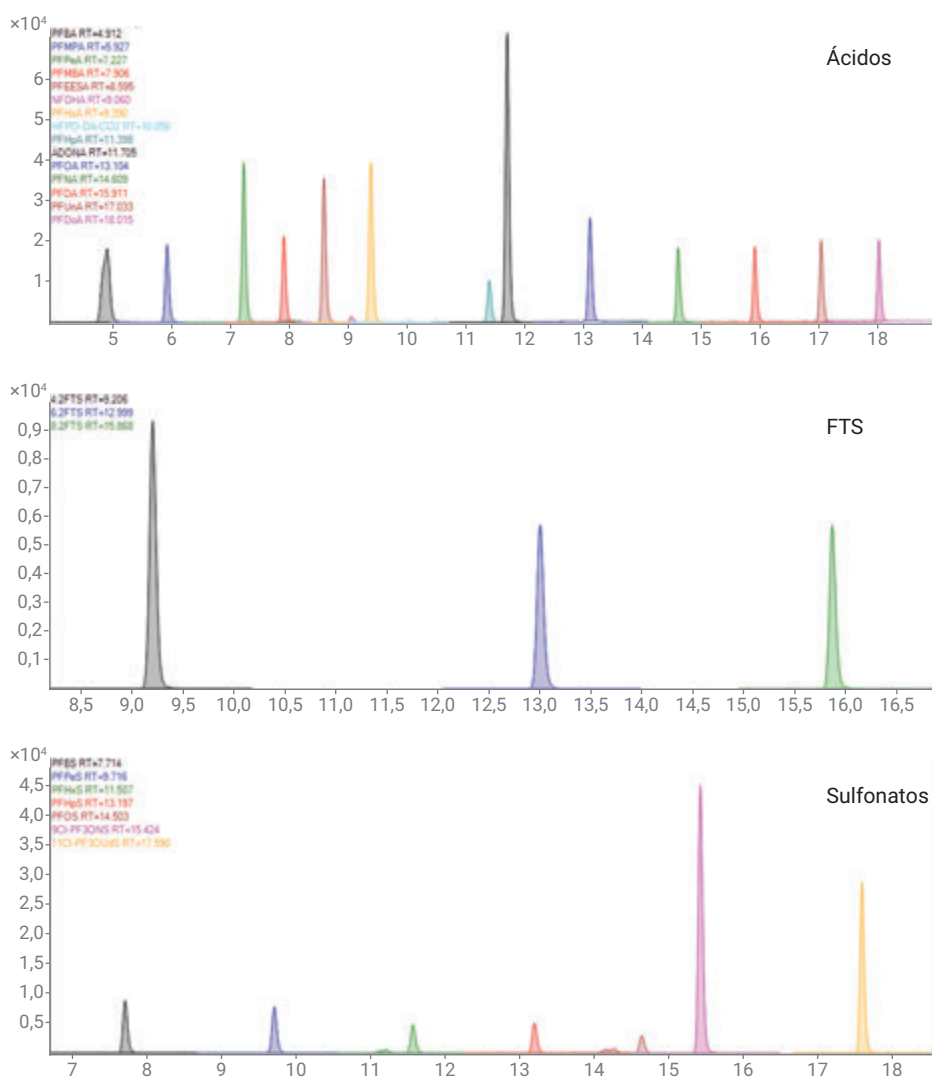


Figura 1. Cromatogramas separados por grupos de compostos.

Desempenho: precisão e exatidão

A precisão e exatidão do método foram avaliadas fortificando cinco replicatas de amostras de água reagentes e da torneira tratada pelo município a 48 ng/L.

A precisão e a exatidão estavam de acordo com os requisitos da EPA. Todos os compostos PFAS tiveram recuperações entre 87 e 103% em água reagentes e da torneira, com um máximo de 5% de RSD na água reagentes e 12% de RSD na água da torneira. A precisão e a exatidão estavam de acordo com os requisitos da EPA, conforme observado no método USEPA 533.

Tabela 2. Precisão e exatidão do método.

Composto	TR	Grupo de compostos	Recuperação da água reagentes	%RSD da água reagentes	Recuperação da água da torneira	%RSD da água da torneira
PFBA	4,93	ácido	98%	3%	97%	10%
PFMPA	5,95	ácido	101%	2%	92%	10%
PFPeA	7,23	ácido	98%	3%	94%	11%
PFMBA	7,91	ácido	97%	3%	94%	11%
PFEESA	8,58	ácido	99%	2%	96%	11%
NFDHA	9,04	ácido	92%	5%	87%	11%
PFHxA	9,37	ácido	97%	3%	93%	11%
HFPO-DA	10,03	ácido	96%	5%	87%	11%
PFHpA	11,36	ácido	99%	2%	94%	10%
ADONA	11,67	ácido	103%	2%	96%	10%
PFOA	13,10	ácido	97%	3%	94%	10%
PFNA	14,65	ácido	99%	2%	94%	10%
PFDA	15,97	ácido	98%	2%	94%	10%
PFUnA	17,10	ácido	100%	3%	96%	11%
PFDoA	18,08	ácido	99%	3%	96%	11%
4:2FTS	9,19	FTS	97%	2%	94%	11%
6:2FTS	13,00	FTS	99%	3%	96%	10%
8:2FTS	15,93	FTS	100%	3%	97%	11%
PFBS	7,70	sulfonato	98%	2%	94%	10%
PFPeS	9,69	sulfonato	97%	3%	95%	11%
PFHxS	11,54	sulfonato	99%	3%	96%	11%
PFHpS	13,20	sulfonato	102%	2%	97%	11%
PFOS	14,69	sulfonato	97%	3%	93%	11%
9Cl-PF3ONS	15,49	sulfonato	99%	2%	95%	11%
11Cl-PF3OUdS	17,66	sulfonato	98%	2%	92%	12%

Desempenho: baixo sinal de fundo do sistema e LCMRL

A evidência de um baixo sinal de fundo do sistema é demonstrada através da injeção de um branco de reagente do laboratório (LRB) imediatamente após o calibrante alto e avaliando a concentração de cada analito no LRB. O LRB é uma alíquota de água reagente fortificada com análogos de diluição isotópica e processada como uma amostra de campo. Os LRBs são usados para determinar se os analitos do método são provenientes de equipamentos de laboratório, reagentes, vidraria ou aparato de extração. Alguns PFAS em nível de traço foram observados no LRB, o que pode ocorrer devido à contaminação durante o preparo da amostra etc. Os brancos do instrumento com MeOH 80% não mostraram qualquer contaminação de PFAS, indicando que o LC/MS/MS estava livre de PFAS.

O nível mínimo da concentração mais baixa reportada (LCMRL) foi determinado através da adição progressiva dos analitos em baixas concentrações na água reagente e extraído de forma que a recuperação ainda estivesse na faixa de 50 a 150%.

Tabela 3. Baixo sinal de fundo do sistema e LCMRL.

Composto	TR	Grupo de compostos	Branco do instrumento (ng/L)	Concentração de LRB (ng/L)	LCMRL (ng/L)	EPA 533 LCMRL ^a
PFBA	4,93	ácido	–	0,58	2,6	13
PFMPA	5,95	ácido	–	0,01	0,087	3,8
PFPeA	7,23	ácido	–	0,13	1,0	3,9
PFMBA	7,91	ácido	–	0,01	0,12	3,7
PFEESA	8,58	ácido	–	–	0,079	2,6
NFDHA	9,04	ácido	–	–	0,16	16
PFHxA	9,37	ácido	–	0,11	0,34	5,3
HFPO-DA	10,03	ácido	–	–	1,8	3,7
PFHpA	11,36	ácido	–	0,38	4,2* (1,3)	2,6
ADONA	11,67	ácido	–	–	0,069	3,4
PFOA	13,10	ácido	–	0,27	0,68	3,4
PFNA	14,65	ácido	–	0,07	0,40	4,8
PFDA	15,97	ácido	–	0,07	0,31	2,3
PFUnA	17,10	ácido	–	0,05	0,31	2,7
PFDoA	18,08	ácido	–	0,09	0,40	2,2
4:2FTS	9,19	FTS	–	0,04	0,17	4,7
6:2FTS	13,00	FTS	–	0,03	0,22	14
8:2FTS	15,93	FTS	–	0,03	0,18	9,1
PFBS	7,70	sulfonato	–	0,01	0,21	3,5
PFPeS	9,69	sulfonato	–	–	0,084	6,3
PFHxS	11,54	sulfonato	–	0,02	0,13	3,7
PFHpS	13,20	sulfonato	–	–	0,088	5,1
PFOS	14,69	sulfonato	–	0,15	0,47	4,4
9CI-PF3ONS	15,49	sulfonato	–	–	0,11	1,4
11CI-PF3OUdS	17,66	sulfonato	–	0,01	0,67	1,6

^a LCMRLs únicos de laboratório determinados durante o desenvolvimento de métodos pela EPA e listados na Tabela 7 do método EPA 533.

* Um ponto outlier alto foi observado para PFHpA em uma das quatro adições a 1,6 ng/L. Todos os outros compostos nessas adições tiveram recuperações dentro das especificações de precisão. Como todos os compostos sofrem adições de uma mistura contendo todos os compostos, e os valores de LRB eram baixos naquele lote, o resultado de PFHpA alto aparenta ser do SPE utilizado para aquela amostra. A sensibilidade do instrumento para PFHpA é muito mais baixa, conforme mostrado na Figura 2A. O LCMRL sem o outlier é mostrado entre colchetes.

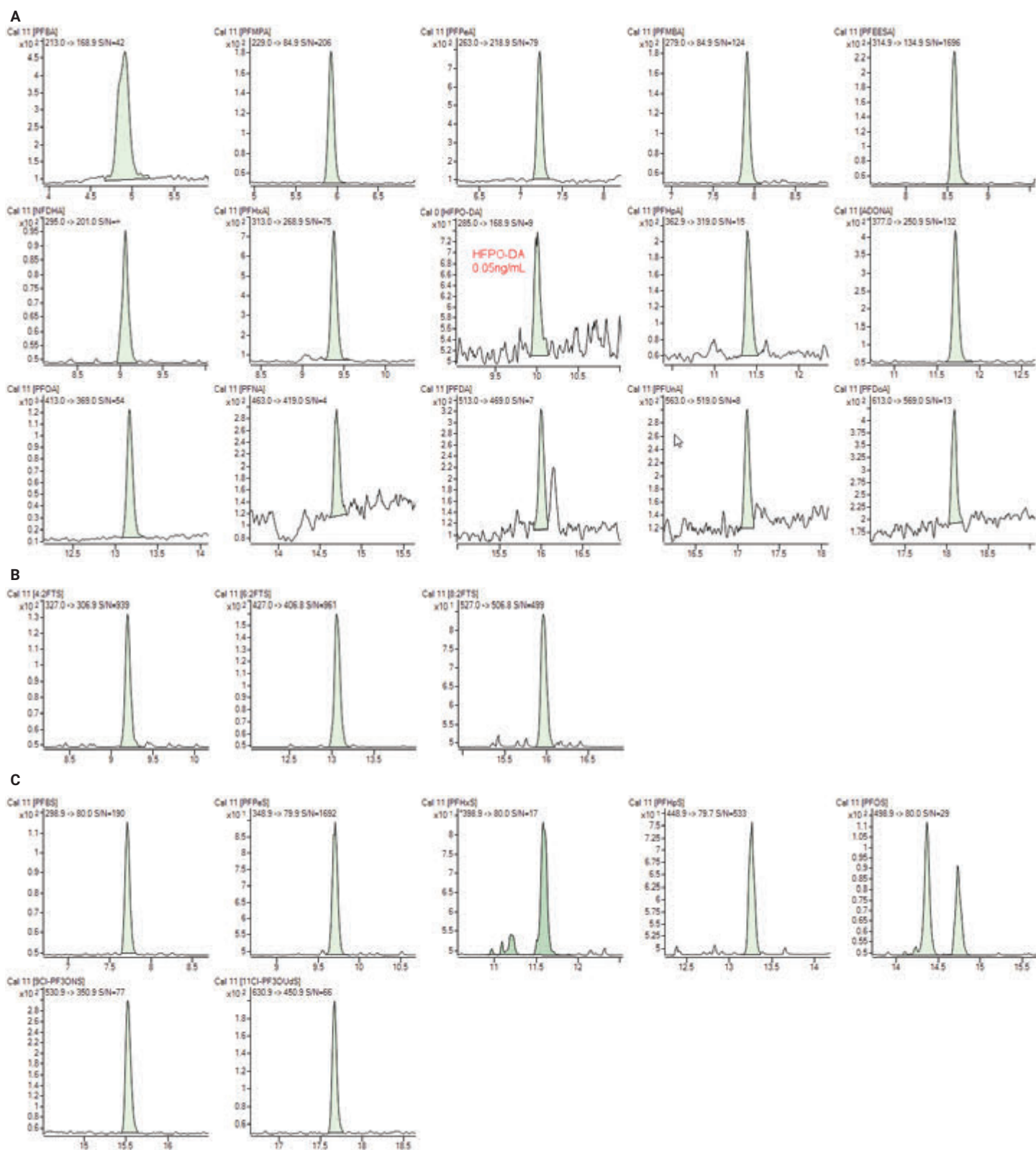


Figura 2. A, B e C mostram cromatogramas para ácidos, FTSs e sulfonatos, respectivamente, na concentração de calibração de 0,003 ng/mL no vial (0,05 ng/mL para HFPO-DA).

Cromatografia do sinal de fundo

Os brancos duplos não contêm padrões internos (ISTDs), análogos de diluição isotópica (IDAs) ou compostos de interesse, também não são processados por meio de etapas de extração de amostras. Eles são simplesmente brancos de solvente para demonstrar os níveis de sinal de fundo no sistema LC/MS/MS. Injeções de branco++ são brancos de solvente não extraídos que contêm ISTDs e IDAs.

Os cromatogramas na Figura 3 estão na mesma escala, indicando a ausência de PFAS no sistema LC/MS/MS.

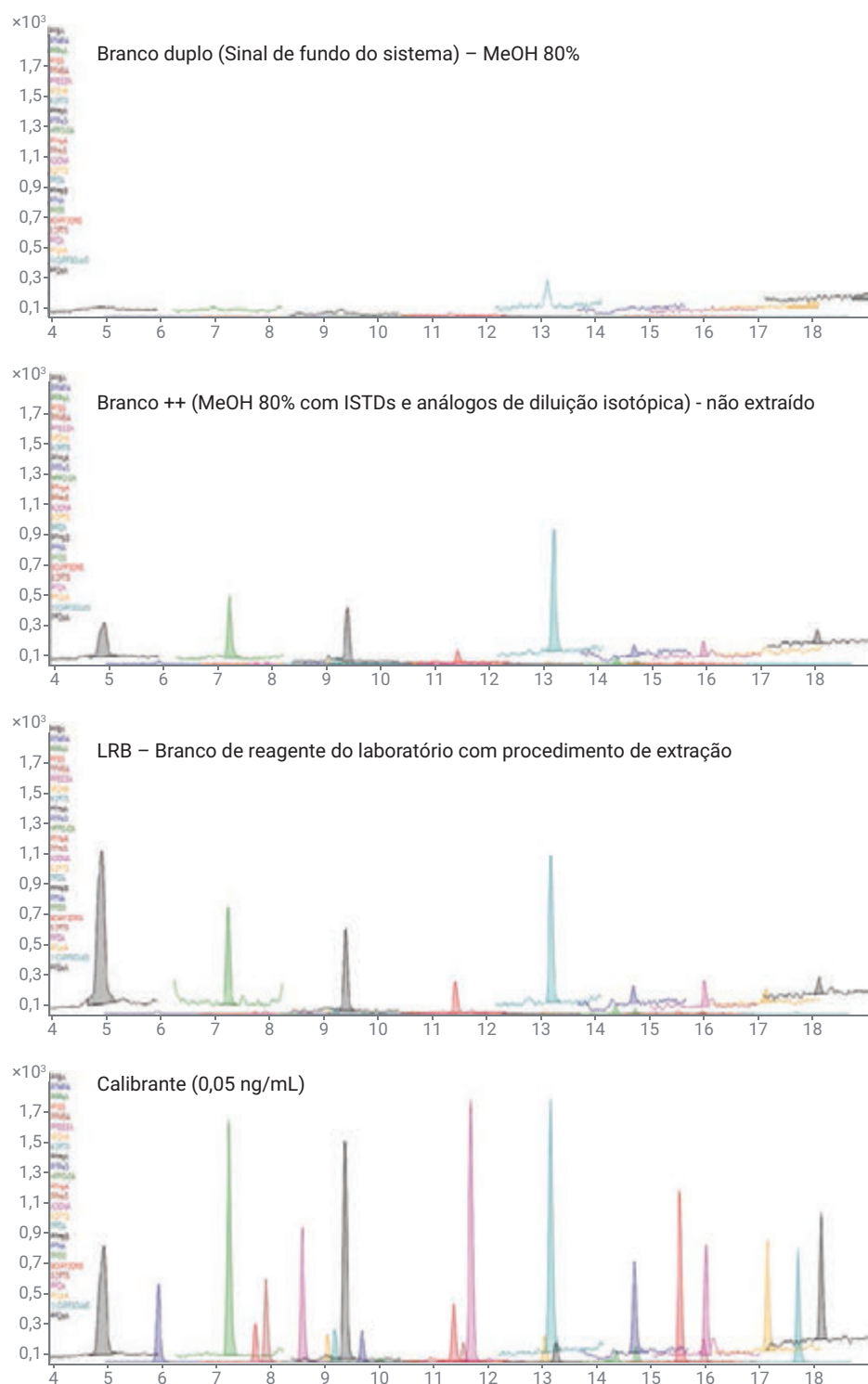


Figura 3. Cromatografia do sinal de fundo.

Conclusão

O método EPA permite flexibilidade na escolha de colunas de LC, condições do LC e condições do MS. A coluna Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 usada para este trabalho forneceu resolução na linha de base para todos os compostos dentro de cada classe, com sobreposição mínima de TR entre todos os compostos.

A precisão e a exatidão estavam de acordo com os requisitos da EPA. As recuperações foram entre 87 e 103% para todos os compostos PFAS em água reagente e da torneira, com um máximo de 5% de RSD na água reagente e 12% de RSD na água da torneira. Os valores de LCMRL foram todos inferiores aos valores listados pela EPA no EPA 533, exceto para PFHpA, onde o LCMRL determinado foi ligeiramente superior devido à inclusão de um outlier em uma das quatro adições, que foram atribuídas ao cartucho SPE, para aquela amostra. No entanto, a sensibilidade do instrumento observada durante o teste foi muito maior do que o requisitado pelo método. Dos 25 compostos no método, 22 LCMRLs foram determinados como sendo iguais ou inferiores a 1 ng/mL. O menor LCMRL no método EPA foi de 1,8 ng/L. Este trabalho foi usado como uma segunda validação de laboratório para a criação do método EPA 533, e os dados foram reconhecidos no método oficial.

www.agilent.com/chem

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
Impresso nos EUA, 17 de janeiro de 2020
5994-1628PTBR
DE.3925347222

