

使用 Agilent 6470 三重四极杆 LC/MS 系统和 EPA 方法 533 分析 饮用水中的全氟/多氟烷基化合物

作者

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

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

前言

美国 EPA (USEPA) 开发了方法 533，用于分析饮用水中的选定全氟和多氟烷基物质 (PFAS)。该方法解决了 USEPA 方法 537 和 537.1 中一些具有挑战性的化合物问题，如 C₄ 和 C₅ 酸和磺酸盐，同时将链长限制在 C₁₂ 酸，并增加了一些新兴的 PFAS 化合物。此处所示的工作用作评估 EPA 方法 533 的第二个实验室演示。

使用离线固相萃取 (SPE) 法从水中萃取 PFAS，然后使用三重四极杆质谱仪进行 LC/MS/MS 分析。测量二十五种化合物，包括 C₄ 到 C₁₂ 酸、C₄ 到 C₈ 磺酸盐、氟调聚醇和单/聚全氟醚。方法 537 中的 14 种化合物中包含了 10 种，另外还有方法 537.1 中的 4 种化合物。USEPA 方法 533 使用同位素稀释类似物评估样品前处理的回收率，同时为天然化合物添加了内标。这些化合物的校准和定量过程会将支链和线性 PFHxS 和 PFOS 异构体进行累加，USEPA 方法将对此进行更详细的讨论。

PFAS 分析中存在几个竞争性问题，使得单一综合方法的开发变得复杂。痕量 PFAS 可能来自样品采集和前处理工具（如过滤器和移液器）、液相色谱系统（作为背景）以及流动相溶剂。在液相色谱泵和自动进样器之间使用延迟柱，可分离背景 PFAS 化合物与样品中的 PFAS 化合物，从而进行适当的定量分析。有关此机制和设置的详细信息，请参阅安捷伦其他应用简报中的解释。另一个问题是，长链化合物在最终萃取物中需要较高浓度的甲醇 (MeOH) 才能保留在溶液中（USEPA 537.1 中为 96%），但这会导致较小、早期洗脱化合物的峰变形。将最终萃取物中甲醇的浓度降至 80% 有助于改善早期洗脱物的峰形并增加保留性，但会降低长链化合物的溶解度，并由于化合物从溶液中析出而降低定量准确度和精度。

本应用简报提供了在第二次实验室演示中，使用 Agilent 6470 三重四极杆 LC/MS/MS 进行 USEPA 方法 533 获得的结果。

MS 仪器条件

参数	值
MS	配备安捷伦喷射流离子 ESI 源的 Agilent 6470 三重四极杆 MS/MS 系统
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）	2500 V
喷嘴电压（负）	0 V

dMRM 离子对

该方法使用动态多反应监测 (dMRM)，并使用 Agilent 6470 LC/MS/MS 在电喷雾负离子模式下运行。

所有化合物参数，包括母离子、子离子、碎裂电压和碰撞能量，均通过 Agilent Optimizer 软件进行了优化（表 1）。更多信息请参见应用简报 5991-7951。所有化合物的池加速电压均选择为 2 V。

液相色谱仪器条件

参数	值
LC	Agilent 1260 系列 Infinity 二元泵、G1367E Infinity ALS、G1316A Infinity 柱温箱
分析柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3 × 50 mm; 1.8 µm（部件号 959757-302）
延迟柱	Agilent ZORBAX SB-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) 含 20 mM 乙酸铵的水（LC 级） B) MeOH（LC 级）
梯度流速	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 min

注：强烈建议在启动工作列表时至少运行一次空白进样，以清除系统中累积的任何污染物

表 1. 化合物参数

化合物	母离子	子离子	保留时间 (min)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (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

表 1. 化合物参数 (续)

化合物	母离子	子离子	保留时间 (min)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (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
9Cl-PF3ONS	530.9	350.9	15.52	145	28
9Cl-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

配制校准溶液

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）配制高浓度校准溶液。用 80% MeOH 配制高浓度校准溶液的 1:4 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

向 250 mL 水样中加入同位素稀释类似物，并根据 EPA 方法 533 使用弱阴离子交换柱进行萃取。用氢氧化铵/MeOH 溶液洗脱样品并浓缩至干燥状态，然后用 80% MeOH 复溶。在分析前加入内标。

色谱

图 1 显示了按化合物组分离的 1.5 ng/mL（样品瓶中）校准溶液的色谱图。

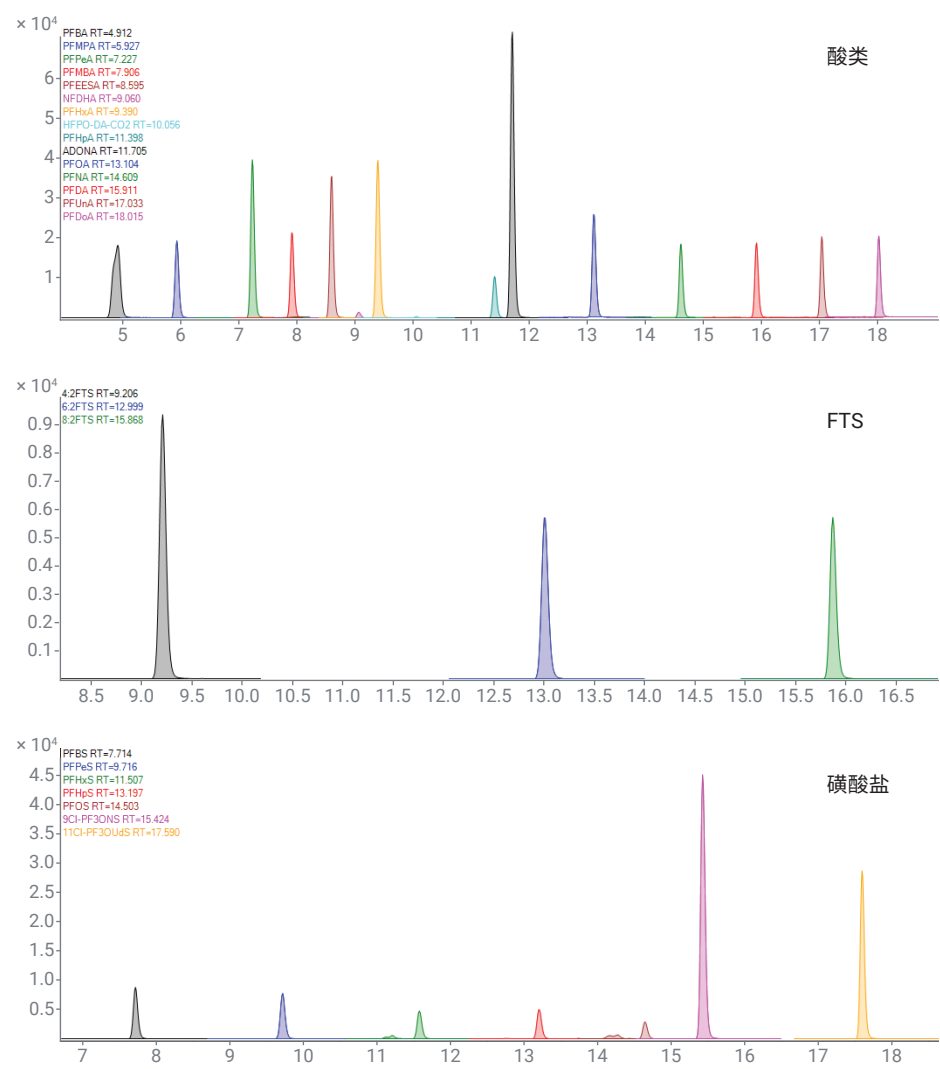


图 1. 按化合物组分离获得的色谱图

性能：精度和准确度

通过在 48 ng/L 的浓度下对试剂和市政自来水样品进行 5 份重复样加标，评价方法的精度和准确度。

精度和准确度均符合 EPA 要求。所有 PFAS 化合物在试剂水和自来水中的回收率均在 87%–103% 之间，试剂水和自来水中的最大 RSD 分别为 5% 和 12%。精度和准确度在 USEPA 方法 533 中所述的 EPA 要求范围内。

表 2. 方法的精度和准确度

化合物	RT	化合物组	试剂水回收率	试剂水 %RSD	自来水回收率	自来水 %RSD
PFBA	4.93	酸	98%	3%	97%	10%
PFMPA	5.95	酸	101%	2%	92%	10%
PFPeA	7.23	酸	98%	3%	94%	11%
PFMBA	7.91	酸	97%	3%	94%	11%
PFEESA	8.58	酸	99%	2%	96%	11%
NFDHA	9.04	酸	92%	5%	87%	11%
PFHxA	9.37	酸	97%	3%	93%	11%
HFPO-DA	10.03	酸	96%	5%	87%	11%
PFHpA	11.36	酸	99%	2%	94%	10%
ADONA	11.67	酸	103%	2%	96%	10%
PFOA	13.10	酸	97%	3%	94%	10%
PFNA	14.65	酸	99%	2%	94%	10%
PFDA	15.97	酸	98%	2%	94%	10%
PFUnA	17.10	酸	100%	3%	96%	11%
PFDoA	18.08	酸	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	磺酸盐	98%	2%	94%	10%
PFPeS	9.69	磺酸盐	97%	3%	95%	11%
PFHxS	11.54	磺酸盐	99%	3%	96%	11%
PFHpS	13.20	磺酸盐	102%	2%	97%	11%
PFOS	14.69	磺酸盐	97%	3%	93%	11%
9Cl-PF3ONS	15.49	磺酸盐	99%	2%	95%	11%
11Cl-PF3OUdS	17.66	磺酸盐	98%	2%	92%	12%

性能：低系统背景和 LCMRL

通过在高浓度校准品后立即进样实验室试剂空白 (LRB) 并评估 LRB 中各分析物的浓度，展示了较低的系统背景。LRB 是加入了同位素稀释类似物并作为现场样品处理的试剂级水等份试样。LRB 用于确定方法分析物是否由实验室设备、试剂、玻璃器皿或萃取装置引入。在 LRB 中观察到痕量水平的 PFAS，可能是由于样品前处理等过程中的污染造成的。含 80% MeOH 的仪器空白未显示任何 PFAS 污染，表明 LC/MS/MS 不含 PFAS。

向试剂级水中加入浓度逐渐降低的分析物并进行萃取，使回收率仍在 50%–150% 范围内，由此确定最低浓度最小报告限 (LCMRL)。

表 3. 低系统背景和 LCMRL

化合物	RT	化合物组	仪器空白 (ng/L)	LRB 浓度 (ng/L)	LCMRL (ng/L)	EPA 533 LCMRL [^]
PFBA	4.93	酸	–	0.58	2.6	13
PFMPA	5.95	酸	–	0.01	0.087	3.8
PFPeA	7.23	酸	–	0.13	1.0	3.9
PFMBA	7.91	酸	–	0.01	0.12	3.7
PFEESA	8.58	酸	–	–	0.079	2.6
NFDHA	9.04	酸	–	–	0.16	16
PFHxA	9.37	酸	–	0.11	0.34	5.3
HFPO-DA	10.03	酸	–	–	1.8	3.7
PFHpA	11.36	酸	–	0.38	4.2* (1.3)	2.6
ADONA	11.67	酸	–	–	0.069	3.4
PFOA	13.10	酸	–	0.27	0.68	3.4
PFNA	14.65	酸	–	0.07	0.40	4.8
PFDA	15.97	酸	–	0.07	0.31	2.3
PFUnA	17.10	酸	–	0.05	0.31	2.7
PFDoA	18.08	酸	–	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	磺酸盐	–	0.01	0.21	3.5
PFPeS	9.69	磺酸盐	–	–	0.084	6.3
PFHxS	11.54	磺酸盐	–	0.02	0.13	3.7
PFHpS	13.20	磺酸盐	–	–	0.088	5.1
PFOS	14.69	磺酸盐	–	0.15	0.47	4.4
9Cl-PF3ONS	15.49	磺酸盐	–	–	0.11	1.4
11Cl-PF3OUdS	17.66	磺酸盐	–	0.01	0.67	1.6

[^] 在方法开发期间由 EPA 测定并列于 EPA 方法 533 表 7 的单实验室 LCMRLs

* 在 4 个 1.6 ng/L 加标物之一中观察到 1 个 PFHpA 高异常值点。这些加标物中所有其他化合物的回收率均在准确度指标范围内。由于所有化合物均使用含有所有化合物的混合物进行加标，并且该批次中的 LRB 值较低，因此高 PFHpA 结果似乎来自用于该样品的 SPE。如图 2A 所示，仪器对 PFHpA 的灵敏度要低得多。括号中显示的是去除异常值后的 LCMRL

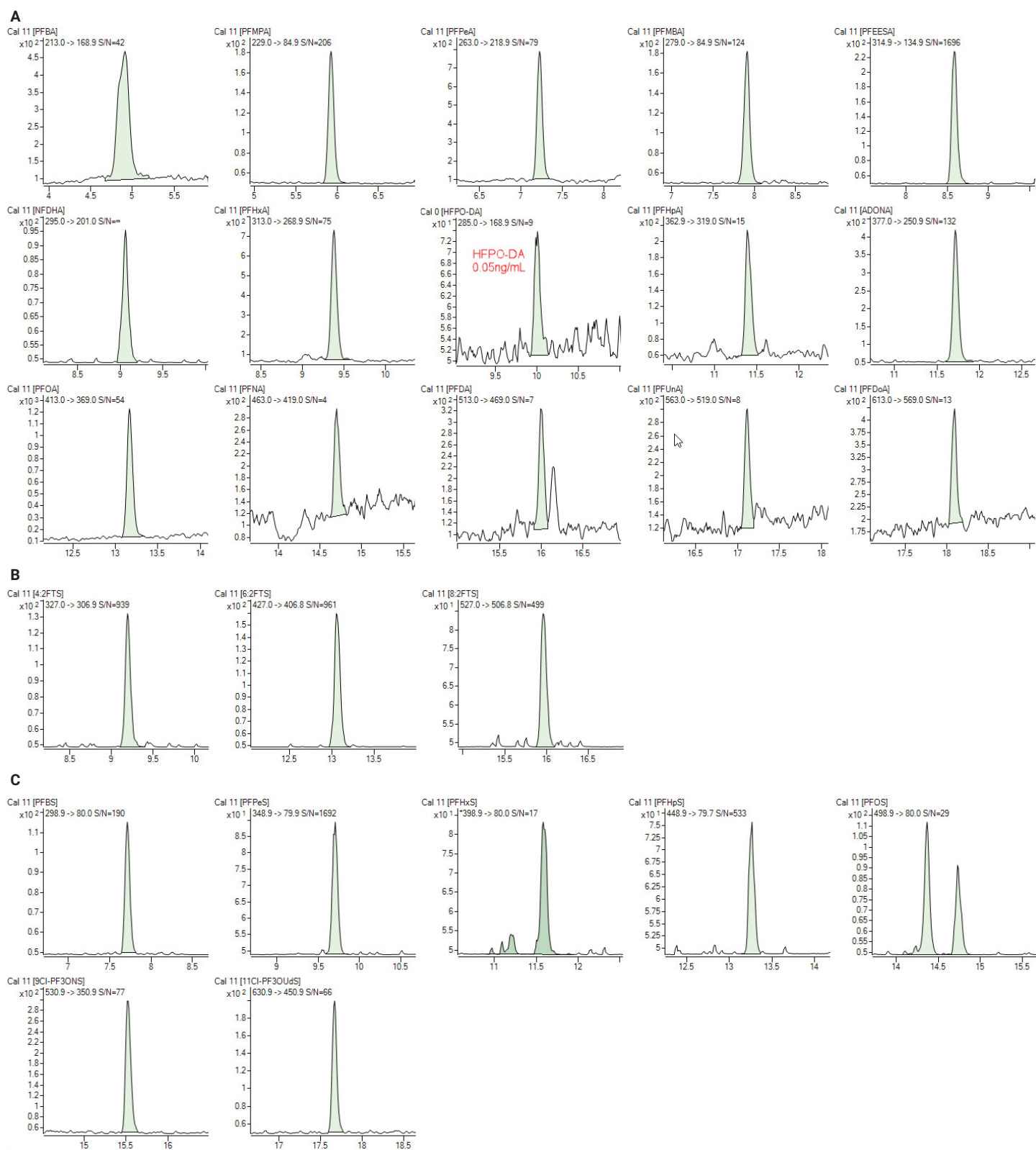


图 2. A、B 和 C 分别显示了样品瓶中校准浓度为 0.003 ng/mL (HFPO-DA 为 0.05 ng/mL) 时酸、FTS 和磺酸盐的色谱图

背景色谱

双空白样品不含内标 (ISTDs)、同位素稀释类似物 (IDAs) 或目标化合物，也不经过样品萃取步骤处理。它们仅仅是溶剂空白样，用以展示 LC/MS/MS 系统中的背景水平。Blank++ 进样是未经萃取的溶剂空白，其中包含 ISTD 和 IDA。

图 3 中的色谱图采用相同的比例，表明 LC/MS/MS 系统中不含 PFAS。

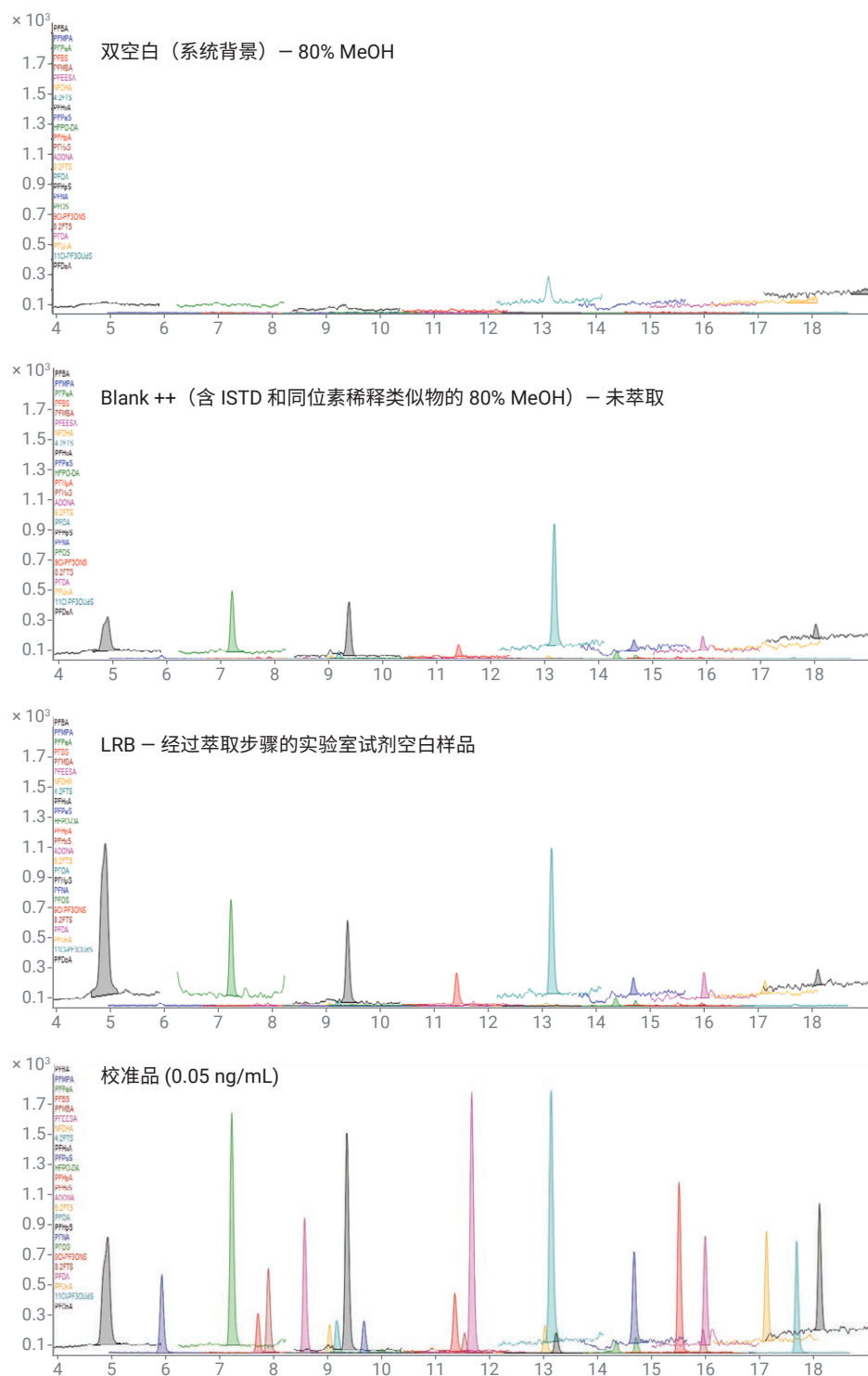


图 3. 背景色谱

结论

EPA 方法在选择液相色谱柱、液相色谱条件和质谱条件方面具有灵活性。本研究使用的 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱为各类化合物提供了基线分离，且所有化合物之间的保留时间重叠极少。

精度和准确度均符合 EPA 要求。所有 PFAS 化合物在试剂水和自来水中的回收率均在 87%–103% 之间，试剂水和自来水中的最大 RSD 分别为 5% 和 12%。所有 LCMRL 值均低于 EPA 533 中列出的 EPA 值，PFHpA 除外，其测定的 LCMRL 略高，这是因为样品 SPE 小柱的 4 个加标物之一中包含异常值。然而，检测期间观察到的仪器灵敏度远高于该方法所需的灵敏度。在该方法的 25 种化合物中，确定有 22 种的 $\text{LCMRL} \leq 1 \text{ ng/mL}$ 。EPA 方法的最低 LCMRL 为 1.8 ng/L。这项工作已被用作创建 EPA 方法 533 的二次实验室验证，且数据已在官方方法中得到证实。

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

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，2020
2020 年 1 月 17 日，中国出版
5994-1628ZHCN
DE.3925347222