

使用 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统按照 EPA 537.1 和 EPA 533 分析饮用水中的全氟/多氟烷基化合物 (PFAS)

作者

Agustin Pierri
Weck Laboratories 公司
美国加利福尼亚州因达斯特里

Tarun Anumol 和 Emily Parry
安捷伦科技有限公司
美国特拉华州威尔明顿市

摘要

本应用简报重点介绍了在商业实验室环境下采用 EPA 方法 537.1 和 533 分析饮用水中全氟/多氟烷基化合物 (PFAS) 的验证。两种方法均使用 Agilent Poroshell EC-120 色谱柱分离所有分析物。在运行时间不到 10 分钟的情况下，峰不对称因子仍在 EPA 指南规定的范围内，因此 EPA 方法运行时间的通量显著提高。按照 EPA 方法 537.1 和 533 所述方案，对 250 mL 样品进行固相萃取后，所有分析物的回收率均在 70%–130% 之间。根据 EPA 指南计算方法报告限值。尽管进样量低于规定值，该报告限值仍低于 2 ng/L，并且低于 EPA 方法单次实验室验证中所列的值。

前言

PFAS 具有独特的化学性质。这些化学物质在日常生活用品中的运用提供了诸多便利，逐渐成为必需品。自 20 世纪 40 年代以来，PFAS 被广泛应用于商业、工业和个人护理用品，在环境中无处不在^[1]。它们具有持久性、生物累积性和毒性^[2]。因此，美国国家环境保护局 (EPA)、欧洲化学品管理局 (ECHA) 及其他监管机构和政府机构都致力于限制其在环境中的存在。

美国目前提供两种用于监测和定量饮用水中 PFAS 的标准方法。EPA 537.1 是在固相萃取 (SPE) 后采用液相色谱 (LC) 串联质谱 (LC/MS/MS) 联用系统进行低 ng/L 级检测，分析饮用水中的 18 种 PFAS 化合物。2019 年，US EPA 发布了一种新方法 EPA 533，可分析 25 种 PFAS 化合物。该方法包括使用 SPE 和 LC/MS/MS 分析饮用水中的短链（少于 6 个碳原子）PFAS 和一些新型 PFAS。本应用简报介绍了上述两种方法的二次实验室验证数据，这两种方法均使用 SPE 和 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱与 Agilent Ultivo 串联四极杆质谱联用系统，以使系统满足甚至优于 EPA 方法要求。

实验部分

样品前处理

如 EPA 方法 537.1 和 EPA 533 中所述，使用抗微生物剂和氯淬灭剂处理一组 250 mL 饮用水样品。向样品中加入同位素标记替代标准品。然后按照相应 EPA 方法中所述方案，使用 SPE 对样品进行萃取。将萃取液蒸发至最终体积 1 mL，加入内标，妥善保存，以便用于 LC/MS 分析。EPA 方法 537.1 将 1 mL 最终萃取液溶于 96/4 甲醇/水中，而 EPA 533 方法则将萃取液溶于 80/20 甲醇/水中，使短链 PFAS 获得更出色的回收率。样品前处理方案以及优化后回收率、预期重现性与准确度详情请参阅其他安捷伦应用简报^[3,4]。

表 1. 液相色谱参数

参数	EPA 537.1	EPA 533
液相色谱仪	Agilent 1290 Infinity II	Agilent 1290 Infinity II
延迟柱	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 50 mm, 4 µm (部件号 699770-902T)	Agilent Poroshell 120 EB-C18, 2.1 × 50 mm, 4 µm (部件号 699770-902T)
分析柱	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 50 mm, 1.9 µm (部件号 699675-902)	Agilent Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.9 µm (部件号 699675-902)
柱温	55 °C	55 °C
流动相	A) 0.1% 乙酸水溶液 B) 甲醇	A) 20 mmol/L 乙酸铵水溶液 B) 甲醇
总运行时间	9 min	9 min
后运行时间	2.5 min	2.5 min
进样量	4 µL	7 µL
流速	0.7 mL/min	0.7 mL/min

表 2. 质谱参数

参数	EPA 537.1	EPA 533
质谱仪	Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统	Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统
电离模式	负离子模式，ESI	负离子模式，ESI
毛细管电压	3500 V	3500 V
喷嘴电压	500 V	500 V
雾化器压力	45 psi	45 psi
干燥气温度	300 °C	300 °C
干燥气流速	9.0 L/min	9.0 L/min
鞘气温度	260 °C	260 °C
鞘气流速	11.0 L/min	11.0 L/min

标样配制

适当稀释标样储备液，得到以下浓度的校准溶液：30、20、10、5、1 和 0.5 ng/mL。每种校准溶液均使用符合 EPA 方法 537.1 或 EPA 533 要求的甲醇/水混合溶剂配制。

仪器

使用配备高速泵的 1290 Infinity II 液相色谱仪与 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统进行分析。该液相色谱仪配备 20 µL 进样定量环和 Multisampler 进样器。为避免 PFAS 污染以及溶剂与液相色谱系统的背景干扰，采用了表 1 所列的延迟柱，详细的设置信息请参阅其他安捷伦应用简报^[5]。

表 1 和表 2 列出了液相色谱和质谱参数。

质谱采集方法

使用 Agilent MassHunter (1.1 版) 进行动态 MRM (dMRM) 采集。使用具有 Quant-My-Way 模板的 MassHunter 定量分析软件进行所有数据处理工作。表 3 显示了采用 Ultivo 三重四极杆液质联用系统时，以 EPA 537.1 和 533 运行 PFAS 分析所采用的优化离子对和化合物参数。

表 3. 针对特定化合物的参数

方法	化合物名称	ISTD	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
537.1	PFTeDA	无	712.9	668.5	100	12
537.1	PFTeDA	无	712.9	169	60	0
537.1	PFTrDA	无	663	618.7	101	8
537.1	PFTrDA	无	663	169	101	15
两种方法	11Cl-PF3OUdS	无	631	451	70	38
两种方法	11Cl-PF3OUdS	无	631	85	70	30
533	PFDaA-13C2	有	614.9	570	104	5
两种方法	PFDaA	无	613	268.7	100	7
两种方法	PFDaA	无	613	568.9	79	12
537.1	Et-FOSAA-D5	无	589	419	115	15
537.1	Et-FOSAA	无	584	525.9	115	15
537.1	Et-FOSAA	无	584	419	115	15
537.1	Me-FOSAA-D3	有	573	418.9	115	19
537.1	Me-FOSAA	无	570	482.9	115	15
537.1	Me-FOSAA	无	570	418.9	115	12
533	PFA-13C7	无	570	525	98	8
两种方法	PFA	无	563	519	83	8
两种方法	PFA	无	563	218.7	100	15
两种方法	9Cl-PF3OUdS	无	531	351	100	28
两种方法	9Cl-PF3OUdS	无	531	351	98	20
两种方法	9Cl-PF3OUdS	无	531	83	98	30
533	8-2 FTS-13C2	有	529	80.9	173	56
533	8-2 FTS	无	527	506.8	173	28
533	8-2 FTS	无	527	81	173	56
533	PFA-13C6	有	519	474	102	5
537.1	PFA-13C2	无	514.9	469.9	91	8
两种方法	PFA	无	513	468.6	91	8
两种方法	PFA	无	513	218.7	100	8
533	PFOS-13C8	有	507	80	210	50
两种方法	PFOS-13C4	有	502.9	80	110	46
两种方法	PFOS	无	498.9	99	100	46
两种方法	PFOS	无	498.9	80	100	46
533	PFNA-13C9	有	472	427	66	5
两种方法	PFNA	无	462.9	418.9	76	8
两种方法	PFNA	无	462.9	169	76	17
533	PFHpS	无	448.9	98.7	170	44
533	PFHpS	无	448.9	79.7	170	52
533	6-2 FTS-13C2	有	429	81	161	48
533	6-2 FTS	无	427	407	116	24
533	6-2 FTS	无	427	81	116	48
533	PFOA-13C8	有	421	376	79	8
两种方法	PFOA-13C2	有	415	370	79	8
两种方法	PFOA	无	412.9	368.9	79	8
两种方法	PFOA	无	412.9	169	79	17
533	PFHxS-13C3	有	401.9	99	164	45
两种方法	PFHxS	无	398.9	99	80	42
两种方法	PFHxS	无	398.9	80	110	45

结果与讨论

化合物实现了有效的色谱分离，目标峰得到充分分离且峰不对称因子满足并优于 EPA 方法标准。两种 EPA 方法均使用 Agilent Poroshell EC-120 色谱柱进行分离。该色谱柱采用表面多孔的亚 2 μm 直径填料，可在高流速下形成尖锐峰形，不会造成较高反压。因此，色谱分析满足 EPA 要求，同时，分析方法的运行时间缩短至不到 10 分钟，EPA 533 和 537.1 的后运行时间均为 2.5 分钟。与运行时间超过 20 分钟的 EPA 方法相比，采用高流速显著提高了通量。在实验室验证过程中采用 EPA 537.1 和 EPA 533 分析 PFAS 的代表性色谱图如图 1 和图 2 所示。

采用 1/x 加权进行线性拟合生成校准曲线，并按照两种 EPA 方法的要求使校准曲线强制过零点。在本研究中，EPA 533 和 537.1 中所有分析物均获得了出色的线性 ($R^2 > 0.99$)，其中每种化合物至少使用五个校准标样点。

方法	化合物名称	ISTD	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
两种方法	ADONA	无	377	251	95	1
两种方法	ADONA	无	377	84.9	95	38
533	PFHpA-13C4	有	367	322	66	5
两种方法	PFHpA	无	362.9	319	82	1
两种方法	PFHpA	无	362.9	169	82	17
533	PFPeS	无	349	99	110	45
533	PFPeS	无	349	80	110	45
533	4-2FTS-13C2	无	329	309	113	20
533	4-2 FTS	无	327	307	113	20
533	4-2 FTS	无	327	80.9	113	28
533	PFHxA 13C5	有	318	272.9	66	5
537.1	PFHxA 13C2	无	314.9	269.9	70	4
533	PFEESA	无	315	135	103	20
533	PFEESA	无	315	69.1	103	56
两种方法	PFHxA	无	313	268.6	70	4
两种方法	PFHxA	无	313	119	70	22
533	PFBS-13C3	有	302	98.9	133	29
两种方法	PFBS	无	298.9	98.9	110	30
两种方法	PFBS	无	298.9	80	110	42
533	NFDHA	无	295	201	83	0
533	NFDHA	无	295	85	83	24
两种方法	HFPO-DA-13C3	有	287	169	100	1
两种方法	HFPO-DA	无	285	185	100	12
两种方法	HFPO-DA	无	285	169	100	1
533	PFMBA	无	279	235	68	0
533	PFMBA	无	279	85	68	4
533	PFPeA-13C5	有	268	223	59	4
533	PFPeA	无	263	219	59	0
533	PFMPA	无	229	185	89	8
533	PFMPA	无	229	85	89	8
533	PFBA-13C4	有	217	171.7	62	4
533	PFBA-13C3	有	216	171.7	62	4
533	PFBA	无	213	168.7	62	4

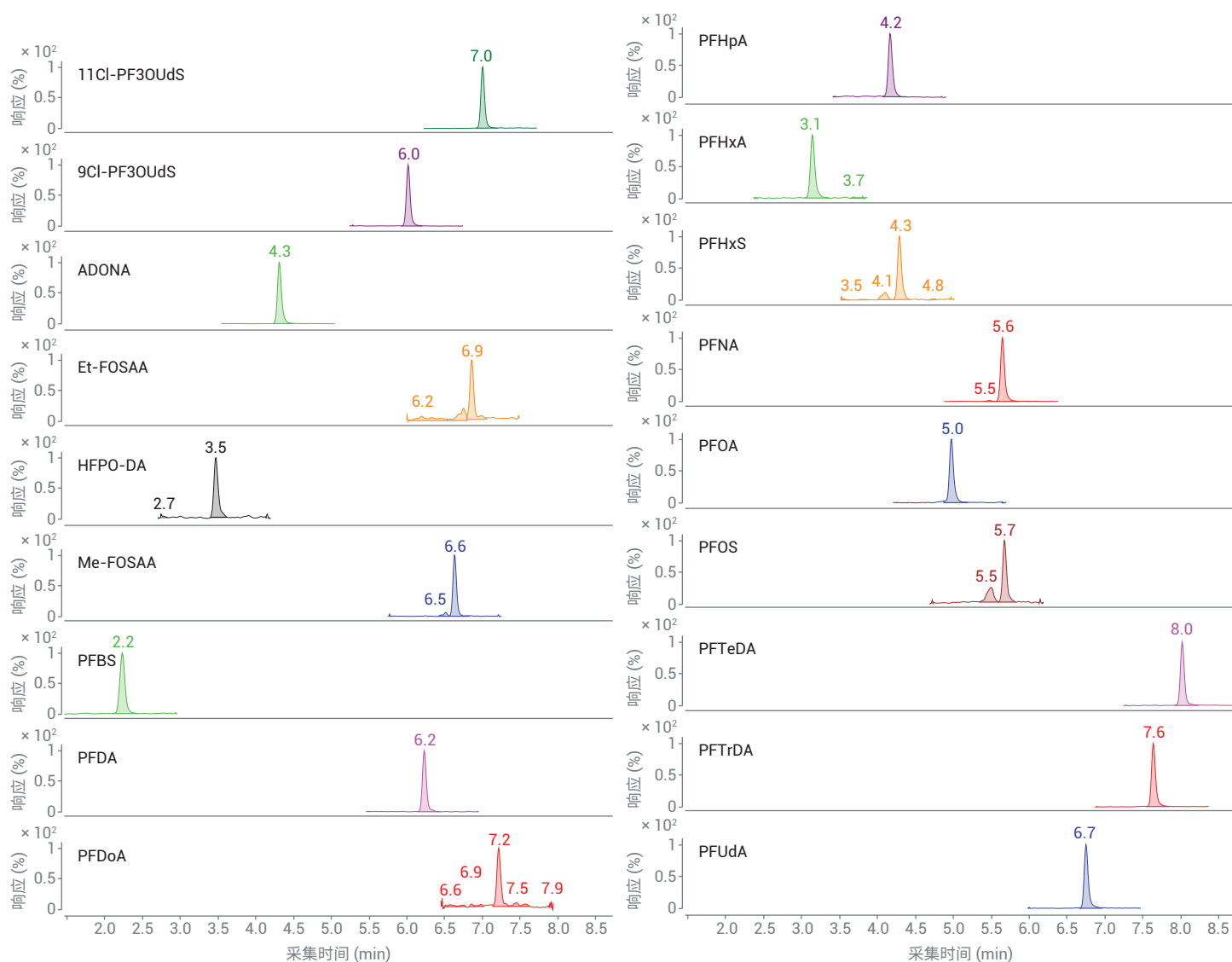


图 1. 采用 EPA 537.1 分析饮用水中加标浓度为 2 ng/L 的 18 种 PFAS 得到的 MRM 色谱图

空白污染

本研究表明，使用延迟柱可以充分降低两种 EPA 方法中的背景 PFAS 污染，使其低于方法报告限值。此外，在运行最高浓度校准标样后进行了交叉污染研究，用于确

定空白标样中是否存在任何 PFAS 污染。大多数情况下均未发现交叉污染，仅少数化合物存在微量交叉污染，且浓度仅为最低浓度校准标样的 1/5。此低浓度水平（样品中浓度低于 2 ng/L 的 1/5）下的

LC/MS/MS 灵敏度证明，三重四极杆液质联用系统具有高灵敏度，远优于 EPA 537.1 和 EPA 533 方法对运行实验室的要求。

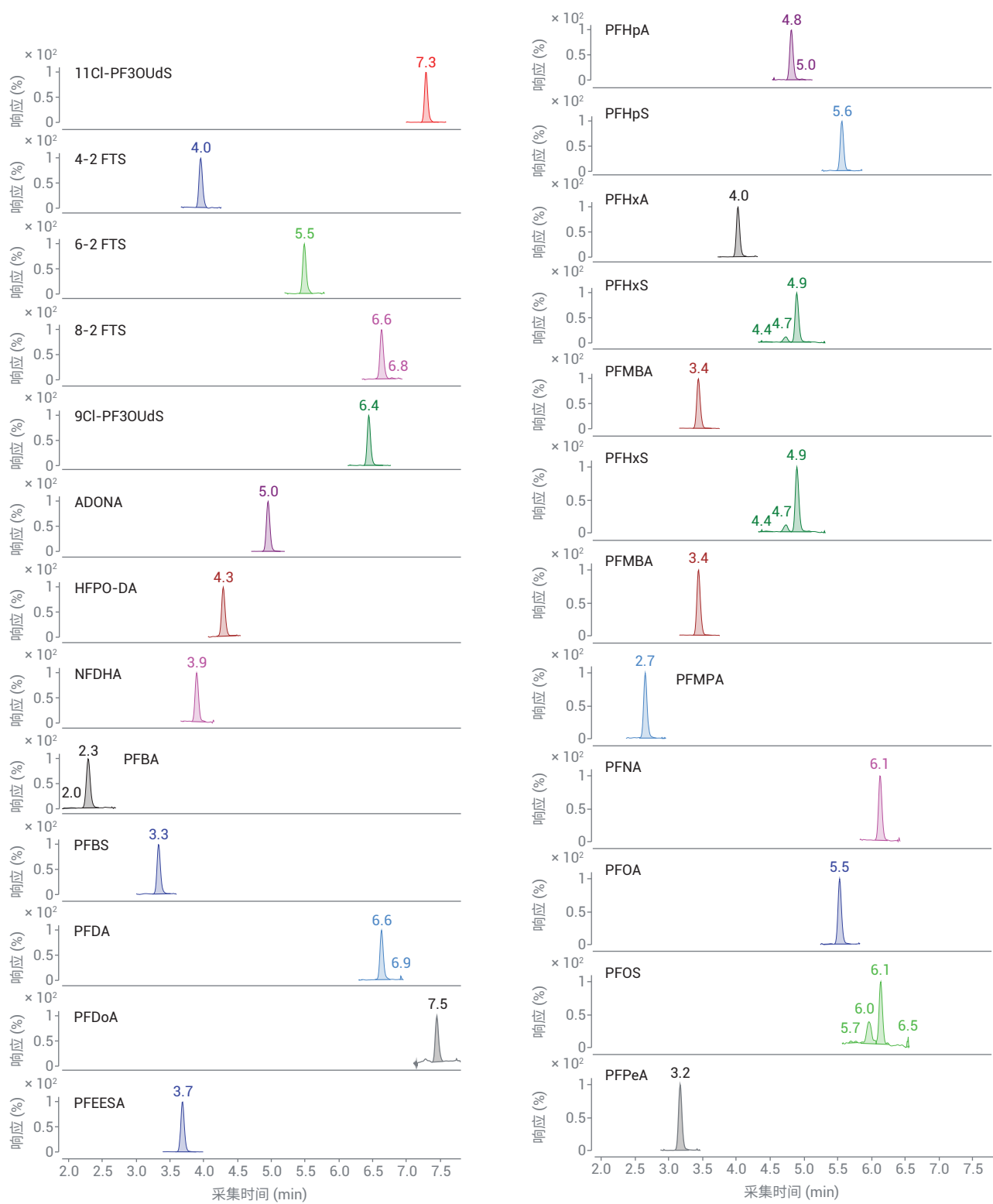


图 2. 使用 EPA 533 方法时实验室加标空白 (1 ng/L) 中 25 种 PFAS 的提取 MRM 色谱图 (定量离子对)

回收率与重现性

向 250 mL 饮用水样品中加入已知浓度的所有分析物，评估整个方法的回收率和重现性。适当保存样品，然后加入 EPA 537.1 或 533 对应的内标。EPA 537.1 和 533 中列出的所有分析物均以 4 ng/L 的浓度加入 5 种试剂和饮用水样品中。将

这些样品通过 SPE 萃取，并使用 Ultivo 三重四极杆液质联用系统进行分析。平均回收率和相对标准偏差 (RSD) 列于表 4 中。回收率均在 EPA 方法要求的 70%–130% 范围内。对于所有试剂和最终饮用水，EPA 533 和 537.1 方法检测的所有分析物的 RSD 均小于 20%。

方法报告限值

使用八个重复样，以逐渐降低的浓度进行加标，直到 EPA 533 和 537.1 中所有分析物的回收率介于 50%–150% 之间，计算方法检测限值 (MDL)。对加标样品进行 SPE 萃取、蒸发，并用三重四极杆液质联用系统进行分析。EPA 533 和 537.1

表 4. 按照 EPA 533 和 537.1 检测试剂水和最终饮用水中 PFAS 的回收率和 RSD (%)

分析物	试剂水				最终饮用水			
	EPA 533		EPA 537.1		EPA 533		EPA 537.1	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
PFBA	97%	2%	–	–	92%	3%	–	–
PFMPA	79%	5%	–	–	77%	3%	–	–
PFPeA	91%	3%	–	–	92%	5%	–	–
PFBS	96%	4%	109%	5%	95%	5%	106%	8%
PFMBA	94%	3%	–	–	92%	6%	–	–
PFEESA	93%	6%	–	–	91%	5%	–	–
NFDHA	93%	8%	–	–	98%	7%	–	–
4:2 FTS	96%	6%	–	–	91%	10%	–	–
PFHxA	93%	5%	119%	9%	90%	3%	116%	8%
PFPeS	95%	5%	–	–	96%	7%	–	–
HFPO-DA	92%	12%	116%	11%	93%	6%	111%	10%
PFHpA	81%	9%	–	–	85%	4%	–	–
PFHxS	92%	8%	102%	7%	100%	8%	114%	5%
ADONA	90%	2%	112%	8%	87%	1%	109%	8%
6:2 FTS	101%	15%	–	–	104%	3%	–	–
PFOA	89%	7%	101%	5%	89%	5%	117%	7%
PFHpS	92%	5%	–	–	85%	10%	–	–
PFNA	95%	6%	115%	6%	95%	6%	113%	8%
PFOS	94%	9%	98%	6%	100%	6%	103%	7%
8:2 FTS	109%	3%	–	–	97%	8%	–	–
9Cl-PF3OUdS	110%	17%	110%	6%	122%	10%	109%	9%
PFDA	93%	6%	112%	6%	93%	6%	110%	8%
PFUnA	94%	4%	–	–	89%	3%	–	–
11Cl-PF3OUdS	81%	7%	106%	7%	77%	8%	109%	10%
PFDoA	96%	12%	101%	14%	100%	14%	96%	17%
Me-FOSAA	–	–	126%	8%	–	–	122%	9%
Et-FOSAA	–	–	120%	6%	–	–	118%	8%
PFHpA	–	–	122%	6%	–	–	126%	7%
PFTeDA	–	–	97%	9%	–	–	102%	9%
PFTTrDA	–	–	103%	5%	–	–	110%	9%
PFUnA	–	–	98%	4%	–	–	104%	9%

中所有分析物的 MDL 均低于 1 ng/L，表明 Ultivo 三重四极杆液质联用系统具有出色的灵敏度。该检测限远低于 EPA 方法中报道的限值。进样少量萃取物（低于两种 EPA 方法中规定的量）即可实现出色的灵敏度。进样量更小有助于获得更尖锐的峰形，并且分析型液相色谱柱和 MS/MS 中加载的基质化合物越少，有利于减少污染并可能延长 MS 离子源清洁前的间隔时间。

结论

Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统在定量分析 EPA 方法 533 和 537.1 所需浓度 PFAS 中展现了出色的灵敏度。该方法在商业实验室环境中的性能表明，其报告限值优于 EPA 方法的要求。将 Agilent Poroshell EC-120 色谱柱与延迟柱结合使用，实现了较好的分离效果。该方法获得的峰不对称因子优于规定值，能够在无背景干扰分析的情况下充分分离并有效定量所有 PFAS。分离所需运行时间远少于 EPA 方法的时间。使用 SPE 对 250 mL 样品进行萃取后，两种 EPA 方法中试剂水和最终饮用水均获得了优于 EPA 方法指南的回收率。1290 Infinity II 液相色谱仪与 Ultivo 三重四极杆 LC/MS 联用非常适合用于饮用水中 PFAS 的分析和定量。

表 5. 采用 EPA 533 和 EPA 537.1 分析的所有 PFAS 的方法检测限

化合物	EPA 533	EPA 537.1
	MDL (ng/L)	MDL (ng/L)
PFBA	0.44	–
PFMPA	0.28	–
PFPeA	0.24	–
PFBS	0.26	0.67
PFMBA	0.33	–
PFEESA	0.13	–
NFDHA	0.42	–
4:2FTS	0.36	–
PFHxA	0.39	0.67
PFPeS	0.41	–
HFPO-DA	0.44	0.81
PFHpA	0.27	–
PFHxS	0.4	0.79
ADONA	0.27	–
6:2FTS	0.67	–
PFOA	0.29	0.39
PFHpS	0.44	–
PFNA	0.41	0.62
PFOS	0.44	0.55
9Cl-PF3ONS	0.48	0.82
8:2FTS	0.49	–
PFDA	0.27	0.68
PFUnA	0.41	–
11Cl-PF3OUdS	0.16	0.63
PFDoA	0.59	0.45
Me-FOSAA	–	0.82
Et-FOSAA	–	0.91
PFHpA	–	0.54
PFTeDA	–	0.62
PFTTrDA	–	0.41
PFUnA	–	0.56
ADONA	–	0.46

参考文献

1. Zhanyun, W. et al. A Never-Ending Story of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs)? *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 5, 2508–2518
2. ATSTR, PFAs Toxicological Profile Key Messages, **2018**
3. Hunt, K. 等，使用安捷伦离线固相萃取技术萃取水中的全氟/多氟烷基化合物，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-0250ZHCN，**2018**
4. Hindle, R. et al. EPA Method 533 for Analysis of Per/Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water Using Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS（使用 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统的 EPA 方法 533 — 饮用水中全氟/多氟烷基化合物分析），安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-1628EN，**2020**
5. Anumol, T. et al. Recommended Plumbing Configurations for Reduction in Per/Polyfluoroalkyl Substance Background with Agilent 1260/1290 Infinity (II) LC Systems（可降低全氟/多氟烷基化合物在 Agilent 1260/1290 Infinity (II) 液相色谱系统中背景的建议管路配置），安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-7863EN，**2017**

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

DE.6292361111

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 5 月 12 日，中国出版
5994-1920ZHCN