

使用固相萃取(SPE)和LC-MS/MS分析环境水样品中的传统和新型全氟烷基化合物(PFAS)

Kenneth J. Rosnack, Douglas M. Stevens, Euan Ross, Kari L. Organtini

Waters Corporation

摘要

按照ISO 25101指南在Xevo TQ-S micro上利用本方法获得的检测限符合《欧盟框架指令》和美国国家环境保护局健康忠告中所规定的必要行动阈值要求。还可完成环境水样品中传统和新型PFAS的分析。本应用纪要所述的方法具有良好的稳定性，并已应用于各种环境水样品（包括地表水、地下水和废水）的分析。

优势

利用ISO 25101 PFAS分析方法对水样进行SPE样品制备，可实现：

- 使用Xevo TQ-S micro进行高灵敏度分析
 - 低至亚ng/L级的检测限，满足法规要求
 - 一种用于监测环境水基质中PFAS化合物的稳定可靠型解决方案
-

简介

全氟烷基化合物(PFAS)是一类具有持久性和生物累积性的人为污染物，常见于消费品的生产和工业制造过程中。它们通过各种来源被引入环境，其中包括不粘涂层的工业制造以及在消防泡沫中的应用。虽然这是一类包含千种具有特性的化合物，但目前大多数监管均集中于两种最常见的化合物，即PFOS和PFOA。虽然目前全球对PFAS的监测没有法律要求，但世界范围内许多国家/地区都建议在一定程度上对PFAS进行监测。在美国，美国国家环境保护局(U.S. EPA)已将PFOS和PFOA总量的建议限值设定为70 ng/L (ppt)¹；而在欧洲，《欧盟水框架指令》(Water Framework Directive)则特别提到了PFOS及其衍生物。《水框架指令》是一项环境质量标准，其中建议内陆地表水的年平均值为0.65 ng/L²。

为达到足够低的检测限以满足建议限值要求，需要采用高灵敏度质谱仪或者能够实现样品富集的样品制备方法。第一种方法在先前的应用纪要中已有讨论，其中采用了ASTM 7979方法和Xevo TQ-XS³。本应用纪要将详细介绍第二种方法，使用SPE萃取富集水样，并利用Waters Xevo TQ-S micro进行分析。分析方法改编自用于分析环境水样品中PFOS和PFOA的ISO 25101⁴。这两种方法都能够进行有效的分析，至于考虑采用哪种方法，则取决于实验室的资源 and 检测需要。

实验

本实验中的分析以ISO 25101方法作为样品制备方法指南。目前，ISO 25101仅涵盖PFOA和PFOS的萃取和分析，本文所述的方法则考虑并添加了扩展的PFAS化合物列表。附录A包含本方法中分析的所有PFAS化合物的信息，以及用于替代传统PFAS化合物的新型化合物（包括GenX）。所有标准品均购自Wellington Laboratories。

在整个分析过程中，采用购自ERA（美国科罗拉多州戈尔登）的认证QC标准品（货号：731）作为仪器QC检查样品，此样品适用于地下水和地表水检测。该标准品包含12种PFAS化合物的混合物，还提供了混合物中各化合物的标准值和QC性能可接受限值，可实现快速直接的仪器QC评估。

PFAS的应用十分广泛，所以需要许多常见的潜在污染源进行分析。由于要求的检测限低至亚ng/L级，因此样品的采集、前处理和分析过程必须谨慎操作。考虑到现场和实验室中存在许多常见的PFAS污染源，建议根据实际情况在使用前对此分析中要使用的所有实验室用品的PFAS污染情况进行检查。色谱系统也会不可避免地受到污染，应采取措施以最大程度减小任何系统影响，所以本实验采用了适用于UPLC系统的沃特世PFC分析试剂盒（部件号：176001744）。该试剂盒由不含PFAS的组件（例如，采用PEEK管替代传统的Teflon涂层溶剂管路）和Isolator色谱柱组成，其中Isolator色谱柱有助于延迟任何残留的背景干扰物质，避免其与分析峰发生共流出。PFC分析试剂盒的安装简便快捷⁵。此外，实验中还使用了购自Honeywell的特殊流动相溶剂，这些溶剂的瓶装方式能够降低残留本底PFAS的浓度。

样品制备

混合标样采用甲醇进行配制，并用1:1的水:甲醇对校准标样进行适当稀释以匹配样品的最终溶剂组成。

环境水样品采集自各种来源，包括地表水、地下水、废水进水和废水出水。地表水和地下水样品采集自当地。废水样品由David Reckhow博士（马萨诸塞大学阿默斯特分校）提供。各样品采集至经过预清洗的250 mL HDPE瓶中。保留各个样品的空白样进行萃取，并向剩余样品中加入各种浓度的PFAS化合物及对应的同位素标记标准品。利用同位素标记的内标来校正基质效应以及样品制备所导致的任何回收率损失。

样品萃取操作以ISO 25101为指南，实验对该方法进行了微调以适应PFAS化合物的扩展列表。利用Oasis WAX 6 cc, 150 mg SPE小柱（部件号：186002493）对250 mL水样进行样品萃取。完整的样品制备方法如图1所示，该方法的样品浓缩倍数为250倍。



图1.完整的水样SPE样品萃取方法

LC条件

LC系统:	ACQUITY UPLC I-Class PLUS, 配备PFC分析试剂盒
色谱柱:	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ 2.1 x 100 mm, 1.7 µm
柱温:	35 °C

样品温度: 10 °C
进样体积: 10 μL
流动相A: 95:5水:甲醇 + 2 mM醋酸铵
流动相B: 甲醇+ 2 mM醋酸铵

梯度

时间(min)	流速(mL/min)	%A	%B
0	0.3	100	0
1	0.3	80	20
6	0.3	55	45
13	0.3	20	80
14	0.4	5	95
17	0.4	5	95
18	0.3	100	0
22	0.3	100	0

MS条件

MS系统: Xevo TQ-S micro
电离模式: ESI -
毛细管电压: 0.5 kV

脱溶剂气温度:	350 °C
脱溶剂气流速:	900 L/h
锥孔气流速:	100 L/h
离子源温度:	100 °C
方法事件:	将16~21 min的流出物导流至废液

使用MassLynx软件中的QuanOptimize工具对各化合物的MRM参数进行优化，结果列于附录A中。

结果与讨论

仪器性能和检测限

本实验所用的LC-MS/MS方法适用于测定一系列目标PFAS化合物，图2所示为所有化合物色谱结果的叠加色谱图。由于起始LC梯度和样品之间的溶剂组成存在显著差异，因此先洗脱化合物的峰形会出现轻微的展宽。

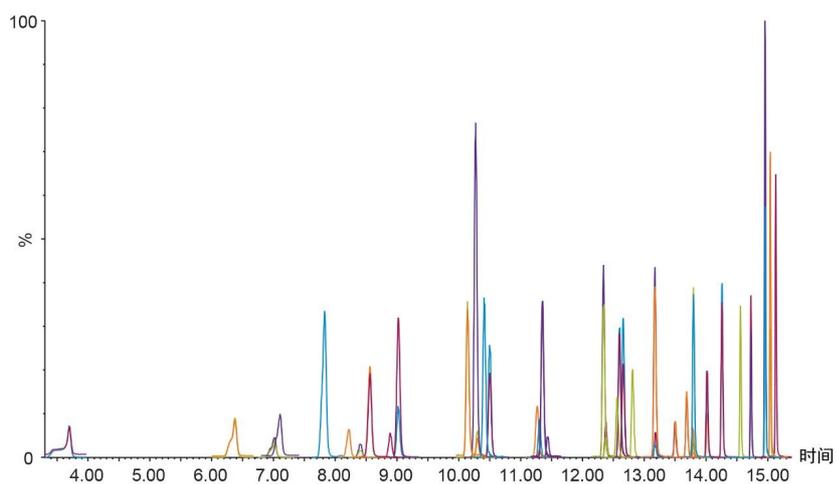


图2.利用该方法分析的所有PFAS化合物的叠加图

所有化合物的检测限如表1所列。由于样品前处理步骤实现了样品富集，分析结果会同时报告样品瓶中的检测限和样品中的检测限（比样品瓶浓度低250倍）。在大多数情况下，样品中的检测限为亚ng/L (ppt)级，达到pg/L (ppq)水平。一些水溶性较低的化合物检测限为ng/L (ppt)级。表1中详细列出的检测限均满足当前的PFAS检测要求。

所有化合物的校准曲线均在涵盖多个数量级的浓度范围内表现出优异的线性。图3所示是一个典型的溶剂校准曲线示例，其中显示了PFOA的一个示例以及浓度处于检测限水平的PFOA色谱图。

在样品分析过程中，ERA标准品用作仪器性能的QC样品，仪器性能满足所有化合物的指定可接受限值要求。相对于标准值的平均误差为15%，并且许多化合物的误差低于10%。

化合物	样品瓶中的LOD (ng/L)	样品中的LOD (ng/L)	R ²
PFBA	10	0.04	0.999
PFPeA	10	0.04	0.999
PFHxA	10	0.04	0.999
PFHpA	5	0.02	0.999
PFOA	<2	<0.01	0.999
PFNA	10	0.04	0.999
PFDA	10	0.04	0.999
PFUnDA	10	0.04	0.999
PFDoDA	10	0.04	0.999
PFTriDA	10	0.04	0.993
PFTreDA	10	0.04	0.999
PFHxDA	500	2.00	0.994
PFOcDA	2000	8.00	0.988
PFBS	4.4	0.02	0.999
PFPeS	4.7	0.02	0.999
PFHxS	3.7	0.01	0.999
PFHpS	9.5	0.04	0.999
PFOS	3.65	0.01	0.999
PFNS	4.8	0.02	0.999
PFDS	9.6	0.04	0.999
N-EtFOSAA	10	0.04	0.999
N-MeFOSAA	5	0.02	0.999
FHUEA	5	0.02	0.999
FOUEA	5	0.02	0.999
8:2 diPAP	500	2.00	0.997
4:2 FTS	23.4	0.09	0.999
6:2 FTS*	<95	<0.38	0.999
8:2 FTS	9.6	0.04	1.000
PFecHS	9.2	0.04	0.999
FHEA	20	0.08	0.999
FOEA	8	0.03	0.999
FDEA	20	0.08	0.999

化合物的回收率范围为75%~130%。几种化合物的回收率较低，其中包括C13和C14（PFTriDA和PFTreDA）羧酸盐以及一种新型PFAS化合物11CIPF3OUdS。已知PFTriDA和PFTreDA的水溶性低于碳链较短的PFCA（全氟羧酸）。可考虑对最终样品的溶剂组成进行调整以获得更高的回收率，但必须评估对剩余化合物的影响。此外，几种化合物表现出非常高的回收率，其中包括PFBA、6:2 FTS和PFODA。经确定，PFBA和6:2 FTS是样品分析实验室中常见的污染物。研究人员对污染源进行了调查，目前尚未确定原因。PFODA似乎会受到基质稳定性的影响，这在之前的一份应用纪要中有过报道³。利用同位素标记的内标对样品制备所导致的损失进行校正可进一步提高准确度，如图4中的绿色条柱所示。

将加标有PFAS的地下水重复分析六次，对该方法的重现性进行评估。图4中的橙色方块表示通过整个样品前处理性和分析所得到的地下水六次重复测定的%RSD。所有PFAS的%RSD均低于15%，且大多数化合物的%RSD低于10%。此结果表明该样品分析方法的重现性良好。

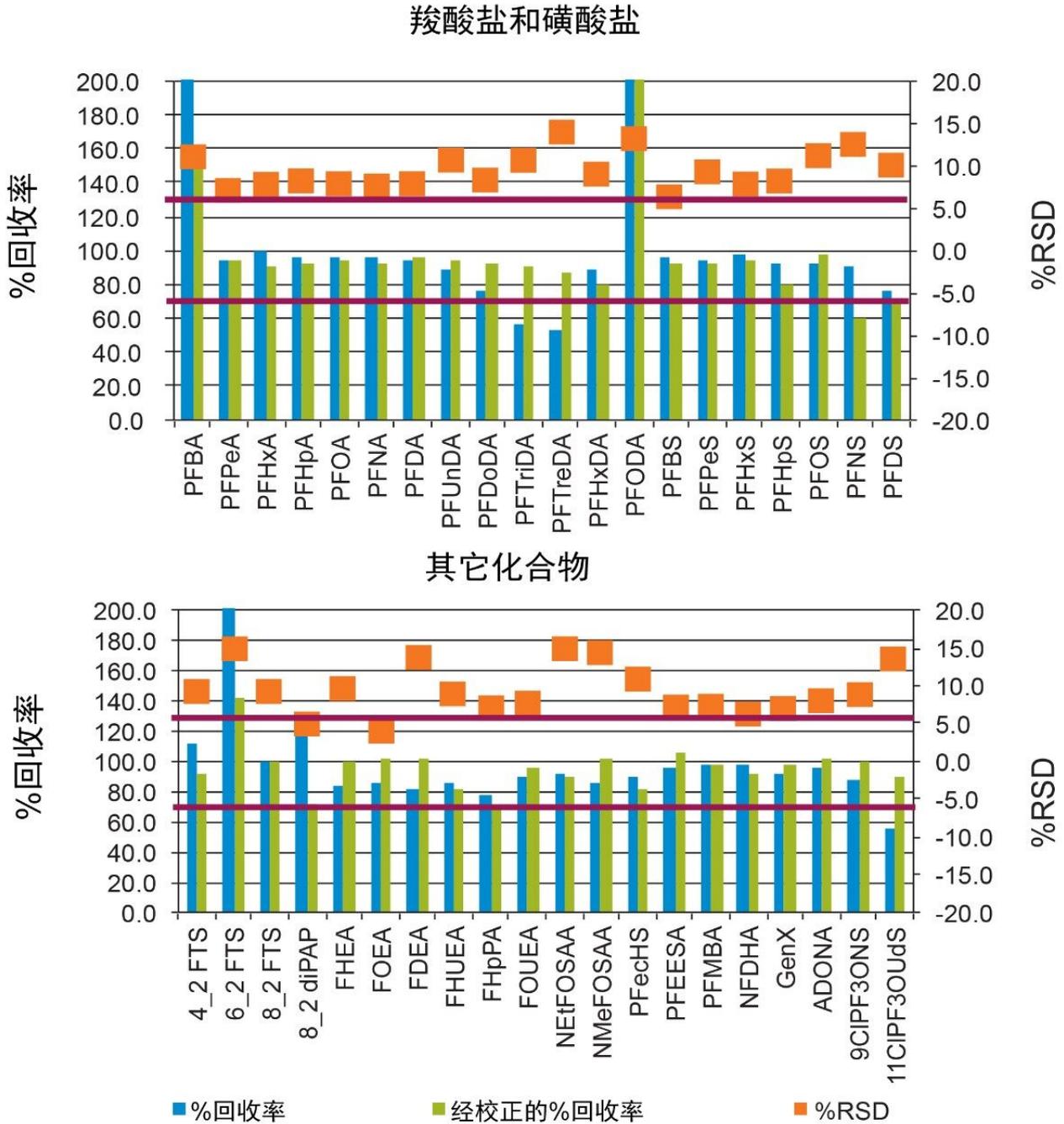


图4.该方法中所分析的所有PFAS化合物的方法回收率（蓝色条柱/下轴）和方法重现性（橙色方块/上轴）。经校正的回收率（绿色条柱/下轴）表示经过内标校正的化合物响应值。

方法稳定性

使用加标的地表水萃取物进行一系列基质进样，以评估仪器的稳定性。进行20次重复进样，对复杂基质中的峰面积、保留时间和离子丰度比稳定性进行评估。由20次进样得到的PFOA所有三个参数的稳定性如图5所示。

在TrendPlot中绘制峰面积图以确定%RSD，峰叠加表示保留时间未发生漂移，并且离子丰度比数据表明离子丰度比的稳定性良好。

在所示的PFOA示例中，峰面积的%RSD约为3%。总体而言，该方法中所有PFAS的%RSD均小于10%。

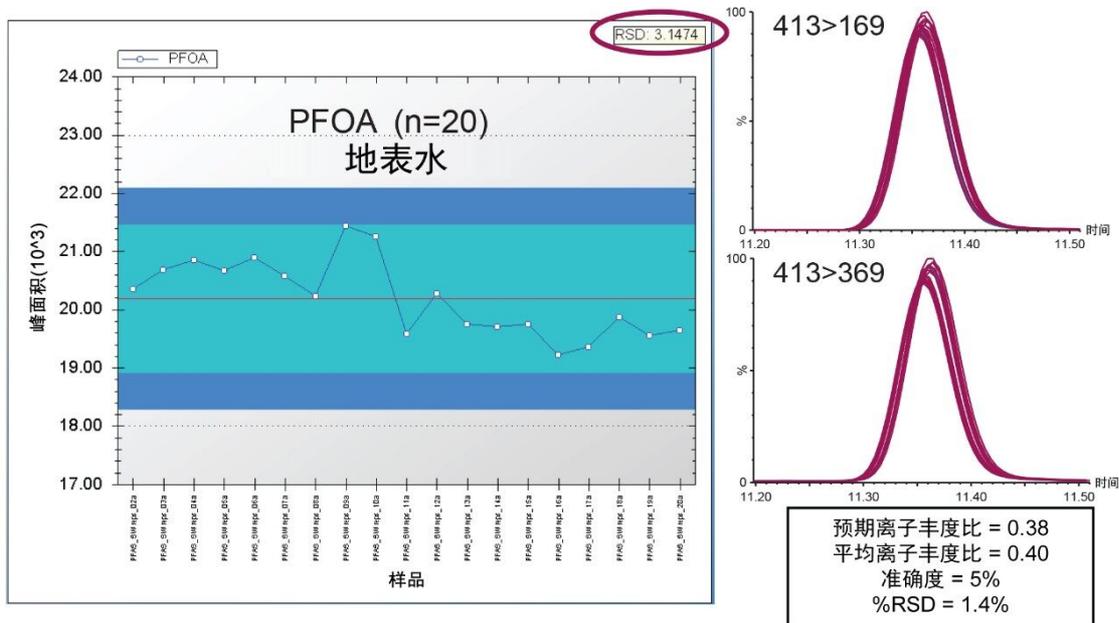


图5.地表水样品重复进样20次所得到的重现性评估结果。在TrendPlot中绘制每次进样得到的PFOA峰面积图显示RSD为3%（左图），右图所示为叠加的重复进样峰以及离子丰度比信息。

环境水样品的分析

本实验对四种不同类型的环境水样品进行萃取和分析以测试所述方法，其中包括地表水、地下水、废水进水和最终废水出水。结果显示，在所有样品中检出不同浓度的各种PFAS。图6所示为地表水样品中确认的几种PFAS示例，其中包括传统和新型目标PFAS。如图6所示，确认的PFAS不存在于萃取空白中，因此可以确认其存在于样品中，而不是来自背景PFAS污染源。

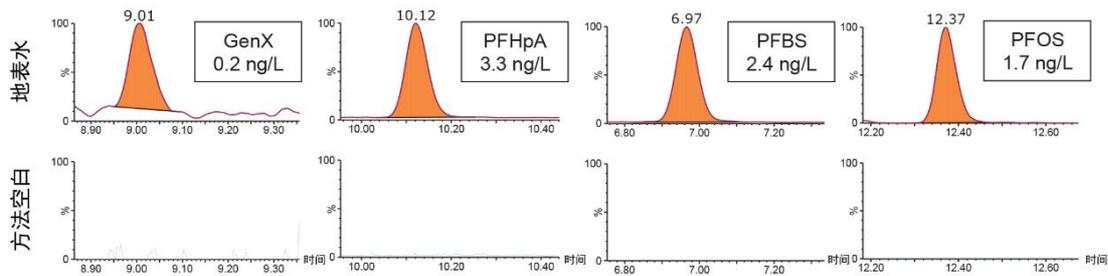


图6.地表水样品萃取物（上图）与提取空白（下图）中确认的PFAS化合物对比。空白结果参照地表水的峰图进行了相应的放大。

图7所示为环境水样品中不同形式和浓度的PFAS。在筛选的40种化合物中，从4类样品中检出27种化合物。所有样品均同时包含传统和新型PFAS化合物，两种废水样品中包含的PFAS浓度最高、种类最多。在地下水样品中检出的六种PFAS中，一半属于新型污染物（PFEESA、PFMBA和NFDHA）。

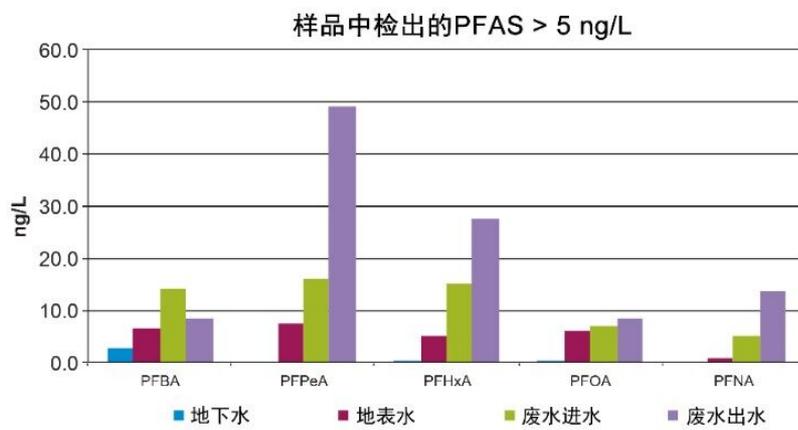
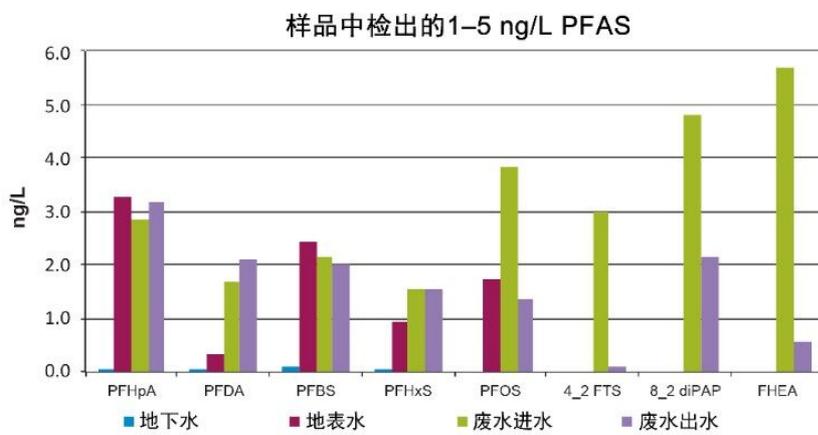
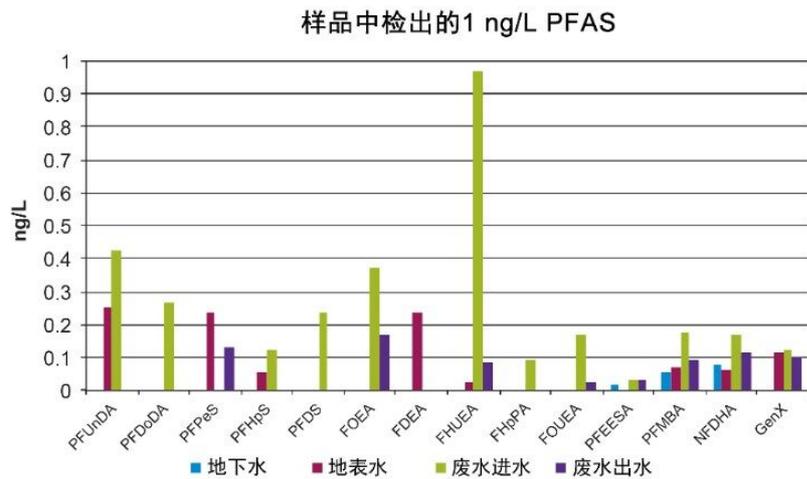


图7.环境水样品中检出的PFAS图（按浓度分组）。

结论

- 使用SPE制备水样可将样品富集250倍，支持Xevo TQ-S micro分析。
- 在Xevo TQ-S micro上利用本方法获得的检测限符合《欧盟框架指令》和美国国家环境保护局健康忠告中所规定的必要行动阈值要求。
- 按照ISO 25101方法可完成环境水样品中传统和新型PFAS的测定分析。
- 本方法采用经ERA认证的QC标准品进行了验证，提高了结果的可信度。
- 所述方法具有良好的稳定性，并已应用于各种环境水样品（包括地表水、地下水和废水）的分析。

致谢

作者在此感谢Honeywell为本研究提供了富有成效的讨论和考虑，并提供了特殊的流动相溶剂。此外还要感谢马萨诸塞大学阿默斯特分校的David Reckhow博士及其团队为本研究提供了废水样品。

参考文献

1. EPA PFOA and PFOS Drinking Water Health Advisories. Retrieved 28 November 2018.
2. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013. Retrieved 28 November 2018.
3. K Organtini, G Cleland, and K Rosnack. 根据ASTM 7979-17利用大体积直接进样法分析环境水样品中的全氟烷基化合物(PFAS). 沃特世应用纪要编号720006329ZH. 2018年6月.
4. ISO 25101, Water Quality – Determination of Perfluorooctansulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoate (PFOA) – Method for Unfiltered Samples Using Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *International Standard*. 2009.
5. L Mullin和J Burgess. 采用PFC分析试剂盒对全氟烷基化合物(PFAS)进行超低浓度检测. 沃特世技术简报720005701ZH. 2016年5月.

附录

化合物	CAS号	PFAS类别	类型	母离子	子离子	CV	CE	RT
PFBA	375-22-4	羧酸盐	传统	212.9	169	10	10	3.6
PFPeA	2706-90-3	羧酸盐	传统	262.9	219	10	5	6.3
PFHxA	307-24-4	羧酸盐	传统	312.9	269 119	5	10 20	8.5
PFHpA	375-85-9	羧酸盐	传统	362.9	319 169	15	10 15	10.1
PFOA	335-67-1	羧酸盐	传统	412.9	369 169	10	10 15	11.3
PFNA	375-95-1	羧酸盐	传统	462.9	418.9 219	10	10 15	12.3
PFDA	335-76-2	羧酸盐	传统	512.9	468.9 219	15	10 15	13.1
PFUnDA	2058-94-8	羧酸盐	传统	562.9	518.9 269	25	10 20	13.8
PFDoDA	307-55-1	羧酸盐	传统	612.9	568.9 169	30	10 25	14.2
PFTriDA	72629-94-8	羧酸盐	传统	662.9	618.9 169	5	10 30	14.6
PFTreDA	376-06-7	羧酸盐	传统	712.9	668.9 169	10	15 25	14.7
PFHxDA	67905-19-5	羧酸盐	传统	812.9	768.8 169.2	40	10 40	15.0
PFODA	16517-11-6	羧酸盐	传统	912.9	868.9 169.2	35	15 35	15.1
PFBS	29420-49-3	磺酸盐	传统	298.9	80.1 99.1	15	30 30	7.0
PFPeS	2706-91-4	磺酸盐	传统	348.9	80.1 99.1	10	30 30	8.8
PFHxS	3871-99-6	磺酸盐	传统	398.9	80.1 99.1	10	35 30	10.3
PFHpS	375-92-8	磺酸盐	传统	448.9	80.2 99.1	15	35 35	11.4
PFOS	1763-23-1	磺酸盐	传统	498.9	80.2 99.1	15	40 40	12.3
PFNS	N/A	磺酸盐	传统	548.9	80.2 99.2	20	40 40	13.2
PFDS	335-77-3	磺酸盐	传统	598.9	80.2 99.1	25	40 40	13.8
N-MeFOSAA	2991-50-6	磺酰氨基乙酸	传统	569.9	418.9 219.1	35	20 25	13.5
N-EtFOSAA	2355-31-9	磺酰氨基乙酸	传统	584	418.8 525.9	15	20 20	13.8
FHUEA	70887-88-6	不饱和调聚物酸	传统	356.9	292.9 243	10	10 35	10.4
FOUEA	70887-84-2	不饱和调聚物酸	传统	456.9	393 343	10	10 40	12.6
8_2 diPAP	678-41-1	磺酸酯	传统	989	97 542.5	10	40 20	15.0
4_2 FTS	757124-72-4	调聚物磺酸盐	传统	326.9	307 81.1	15	15 35	8.4
6_2 FTS	29420-49-3	调聚物磺酸盐	传统	426.9	407 344.9 81	15	20 10 35	11.3
8_2 FTS	39108-34-4	调聚物磺酸盐	传统	526.9	506.8 444.6 81.2	15	25 10 40	13.1
PFecHS	67584-42-3	环状化合物	传统	460.9	380.9 99.1	40	30 30	11.2
FHEA	53826-12-3	调聚物酸	传统	376.9	292.9 313	5	15 5	10.5
FOEA	27854-31-5	调聚物酸	传统	476.9	393 413	5	10 5	12.6
FDEA	53826-13-4	调聚物酸	传统	576.9	492.9 512.9	15	15 5	14.0
FHpPA	812-70-4	其它	传统	440.9	336.9 317	15	10 20	12.5
ADONA	958445-44-8	其它	新型	376.9	251 85	10	10 25	10.2
9CI-PF3ONS	73606-19-6	其它	新型	530.9	350.9 83	15	25 25	12.8

附录1

化合物	CAS号	PFAS类别	类型	母离子	子离子	CV	CE	RT
11Cl-PF3OUdS	73606-19-6	其它	新型	630.9	450.8 83	30	30 30	14.0
GenX	13252-13-6	其它	新型	285	119 185	5	35 7	9.0
PFMBA	863090-89-5	其它	新型	278.9	85 235	10	10 5	7.0
NFDHA	151772-58-6	其它	新型	294.9	85 201	5	20 10	8.2
PFEESA	113507-82-7	其它	新型	314.9	83 135	15	20 20	7.8
13C-PFBA	-	-	-	216.9	172	10	10	3.6
13C5-PFPeA	-	-	-	267.9	223	10	5	6.3
13C5-PFHxA	-	-	-	317.9	272.9 119.9	10	5 20	8.5
13C4-PFHpA	-	-	-	366.9	321.9 169 172	15	10 15 15	10.1
13C8-PFOA	-	-	-	420.9	375.9 172	5	10 15	11.3
13C9-PFNA	-	-	-	471.9	426.9 223	10	10 15	12.3
13C6-PFDA	-	-	-	518.9	473.9 223	5	10 15	13.1
13C7-PFUnDA	-	-	-	569.9	524.9 274	5	10 15	13.8
13C-PFDoDA	-	-	-	614.9	569.9 169 269.1	10	10 25 20	14.2
13C2-PFTreDA	-	-	-	714.9	669.9 169	25	10 35	14.7
13C2-PFHxDA	-	-	-	815	769.9 169.3	30	15 35	15.0
13C3-PFBS	-	-	-	301.9	80 99	10	30 25	7.0
13C3-PFHxS	-	-	-	401.9	80.1 99.1	10	40 35	10.3
13C8-PFOS	-	-	-	506.9	80.1 99.1	15	40 40	12.3
D5-N-EtFOSAA	-	-	-	589	418.9 506.9	30	20 15	13.8
D3-N-MeFOSAA	-	-	-	572.9	418.9 482.7 514.7	35	20 15 20	13.5
13C-FOUEA	-	-	-	458.9	393.9 119.1	25	10 40	12.6
13C4-8:2 diPAP	-	-	-	993	97.3 544.8	30	40 25	15.0
13C2-4:2 FTS	-	-	-	328.9	308.9 81	40	15 25	8.4
13C2-6:2 FTS	-	-	-	428.9	367 408.8	10	10 20	11.3
13C2-8:2 FTS	-	-	-	528.9	508.9 81	10	20 35	13.1
13C-FHEA	-	-	-	378.9	293.9 64.1	5	10 5	10.5
13C-FOEA	-	-	-	478.9	393.9 64.1	10	15 10	12.6
13C-FDEA	-	-	-	578.9	493.9 64.2	25	5 5	14.0
13C3-GenX	-	-	-	287	169 119	5	12 12	9.0

附录2

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

MassLynx <<https://www.waters.com/513662>>

可在线购买

ACQUITY UPLC BEH C18色谱柱, 130Å, 1.7 μm, 2.1 mm x 100 mm <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186002352>>

Oasis WAX 6 cc Vac小柱, 每根小柱150 mg吸附剂, 粒径30 μm <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186002493>>

PFC分析试剂盒 <<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=176001744>>

720006471ZH, 2019年1月