

通过UPLC-MS/MS直接进样法常规测定饮用水中的全氟烷基和多氟烷基化合物(PFAS)以满足欧盟饮用水指令2020/2184的要求

Hannah Willmer, Kari L. Organtini, Stuart Adams

Waters Corporation

摘要

本研究的目的是介绍一种用于测定饮用水中PFAS化合物的UPLC-MS/MS直接进样法，旨在响应2020年修订版欧盟饮用水指令中规定的参数水平要求¹。此方法性能研究采用ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统，并结合Xevo TQ-XS质谱仪和UniSpray离子源，以及ACQUITY Premier BEH Shield RP₁₈色谱柱。使用含有内标的酸性有机溶液将样品直接稀释到自动进样器样品瓶中。

方法验证研究使用3种常见的饮用水基质进行，分别是来自已知软水和硬水地区的自来水，以及瓶装矿泉水。方法性能评估采用所有分析物的3种加标浓度：2、10和100 ng/L（样品瓶中的浓度分别为1.2、6和60 ng/L），每个浓度水平下设有7份重复样。共12种分析物经内标校正，PFPS、PFHpS、PFNS、PFTrDA、PFDS、PFUnDS、PFDoDS和PFTrDS无适当的内标。在方法性能方面，所有基质中的平均正确度在89%~112%之间。RSD均小于等于14%。

所有标准曲线的残差均在20%以内，线性回归拟合R²值均大于等于0.99。所有方法验证研究批次中所有分析物的保留时间稳定性RSD均低于3.2%。

优势

- 分析灵敏度高，可测定饮用水中浓度低至1 ng/L的残留物，无需繁琐的净化或浓缩步骤
- 使用沃特世PFAS方法包和Isolator色谱柱改良液相色谱系统可减少并分离可能的系统和溶剂污染物，提高结果可信度
- 提供全套解决方案，UPLC-MS/MS直接进样法适用于20种PFAS的检测和定量，每种化合物的LOQ低至1 ng/L，远低于2020年欧盟饮用水指令的要求

简介

全氟烷基和多氟烷基化合物(PFAS)具有独特性质、多种官能团和良好的稳定性，极为有用并在业内应用广泛。因此，这种强环境持久性和高生物蓄积性污染物常见于多种消费品和工业流程副产物中，可通过各种来源引入环境，其中包括不粘涂层的工业制造以及在消防泡沫中的应用。

然而，PFAS的独特化学性质一方面利于商品生产，另一方面也代表着不可生物降解，易于在不同环境中转移，并且持久存在于环境和人体中。研究表明，PFAS可对人体健康带来一系列不良作用，例如影响免疫和发育系统，并且可能具有致癌性。

欧洲已更新欧盟饮用水指令2020/2184，对20种PFAS化合物做出了规定¹。该指令肯定了PFAS的高污染潜力，并且针对人类饮用水中可能存在的20种PFAS化合物提出了总和不得超过0.1 µg/L的规定。本应用纪要介绍了ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统与Xevo TQ-XS联用分析三种饮用水基质（软水、硬水和矿泉水）的性能。这些样品经酸性有机溶液（包含内标）稀释后直接进样至LC-MS/MS，无需额外的浓缩或净化步骤。

针对这20种PFAS化合物的检测要求单位为ng/L，或万亿分之一(ppb)，该检测范围要求分析方法具有高灵敏度。PFAS对负离子模式的电喷雾电离(ESI-)响应良好，该方法因此成为首选分析方法。虽然该电离技术效果良好，但随着检测要求逐渐严格，也更加需要具有更高响应的技术，例如UniSpray技术。

UniSpray是一种新型大气压电离技术，仅需单次进样即可同时对极性分析物和非极性分析物实现多模式电离。色谱柱洗脱液在接地的加热探头中形成喷雾。喷雾直接喷到始终保持高电压的不锈钢放电针表面。这一步会产生与电喷雾类似的液滴，增强离子的脱溶剂效果。由于康达效应，喷雾气流会沿着撞击针的表面进入样品锥孔口。此机制可提高电离和采样效率²⁻³。

为进一步研究灵敏度改善，我们在一项比较研究中评估了采用相同填料的ACQUITY Premier色谱柱与传统ACQUITY UPLC色谱柱。搭载MaxPeak高性能表面(HPS)技术的ACQUITY Premier色谱柱可大幅减少分析物/流路相互作用，避免分析物损失和色谱性能不佳，从而大幅提高分离性能和重现性。

实验

样品描述

分别从英国的已知软水和硬水地区收集了1 L自来水，储存于50 mL离心管中，置室温下以备分析。矿泉水购自英国的一家零售商店，置室温下待使用时再开封。

由于PFAS应用广泛，要求的检测限低至ng/L级，因此必须应对样品采集、前处理和分析方面的特殊挑战。在实验室中应避免使用可能引入污染物的物品，如便笺、某些一次性玻璃移液器、带Teflon密封垫的样品瓶盖和LDPE溶剂瓶等。建议尽量在分析样品前对消耗品和试剂进行PFAS筛查。

色谱系统和溶剂会不可避免地受到污染，因此应采取措施尽量减小污染，对此，安装了PFAS方法包，该方法包中的组件均不含PFAS，例如采用PEEK管替代传统的Teflon涂层溶剂管路。此外，还安装了一个Isolator色谱柱，有助于延迟与分析峰共洗脱的残留背景干扰。方法包和色谱柱的安装均直接快捷⁴。

方法条件

取300 μ L水样直接加入自动进样器样品瓶中，用含有10 ng/L内标的200 μ L酸性有机溶液稀释，随后密封用于UPLC-MS/MS直接进样。样品前处理工作流程见图1。最终样品中水样:乙腈:甲醇:乙酸的比率为60:29.9:10:0.1 v/v/v/v。



图1. 饮用水样品的前处理工作流程

测定3种基质的加标回收率，加标浓度为2 ng/L、10 ng/L和100 ng/L，每个浓度重复测定7次，加标化合物为2020 EU饮用水指令中规定的20种PFAS。使用相应的空白提取物制备基质匹配标准品。所有分析物的校准浓度范围为1~200 ng/mL。加标样品的定量采用基质匹配分段校准法使用可用内标完成，并非所有的PFAS分析物均有可用内标，具体见附录A。本应用纪要使用附录A中列出的MRM定量并确认残留。

液相色谱条件

液相色谱系统:	ACQUITY UPLC I-Class PLUS, 配备带固定定量环的样品管理器、Waters PFAS方法包 (部件号: 205000588) 和Isolator色谱柱 (部件号: 186004476)
检测:	Xevo TQ-XS
样品瓶:	聚丙烯材质12 × 32 mm螺纹颈口样品瓶, 带聚乙烯无隔垫瓶盖, 700 μL (P/N: 186005230)
色谱柱:	ACQUITY Premier BEH Shield RP18, 1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm (P/N: 186009498)
柱温:	45 °C
样品温度:	15 °C
进样体积:	50 μL
流速:	0.350 mL/min
流动相A:	2 mM醋酸铵, 溶于95:5(v/v)水/甲醇混合液
流动相B:	2 mM醋酸铵甲醇溶液

梯度表

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	0.350	95	5	初始
1	0.350	95	5	6
2	0.350	50	50	6
15	0.350	15	85	8
19	0.500	0	100	1
20	0.350	95	5	1

质谱条件

质谱系统：	Xevo TQ-XS
电离模式：	UniSpray负离子
采集范围：	MRM
撞击器电压：	0.9 kV
脱溶剂气温度：	400 °C
脱溶剂气流速：	1000 L/h
锥孔气流速：	150 L/h
离子源温度：	110 °C

MRM通道

各化合物的MRM参数见附录A。

数据管理

结果与讨论

改变样品组成对峰形的影响

当同时分析短链和长链PFAS化合物时，均衡的最终样品组成对所有分析物均发挥理想性能有着至关重要的作用。其次，当使用水相比比例更高的溶液稀释水溶性较低的长链PFAS化合物时，灵敏度降低。当降低水相比比例以解决长链PFAS的溶解度问题时，最终样品的有机物含量会高于LC初始条件，导致早期洗脱的短链化合物出现峰展宽。因此，本研究仔细考虑了与LC初始条件相关的最终样品组成，尤其是在进样体积较高的情况下。

本工作研究了各种水性样品与有机溶剂的组成情况。分别研究了甲醇和乙腈以及二者的混合物作为稀释液有机组成的情况。研究发现，乙腈和甲醇的混合物是水性样品的理想稀释剂，可全面优化不同链长PFAS化合物的分析。具体示例见图2。最早用乙酸酸化样品以增加灵敏度，但该试剂中含有痕量PFAS，因此随后更换为甲酸。在样品瓶中直接稀释样品有助于减少化合物损失。

为进一步改善早期洗脱化合物的峰形，在进样阀和分析柱之间安装了一个扩充定量环组件（50 μ L，部件号：430002012 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/service-parts--kits/430002012-assembly-extension-loop-50--l.html>>）和ACQUITY色谱柱在线过滤器套件（部件号：205000343 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/service-parts--kits/205000343-kit-acquity-column-in-line-filter.html>>）。此举增加了上样到色谱柱之前的死体积，可混合更多的样品/流动相，使分析物集中在LC色谱柱上。

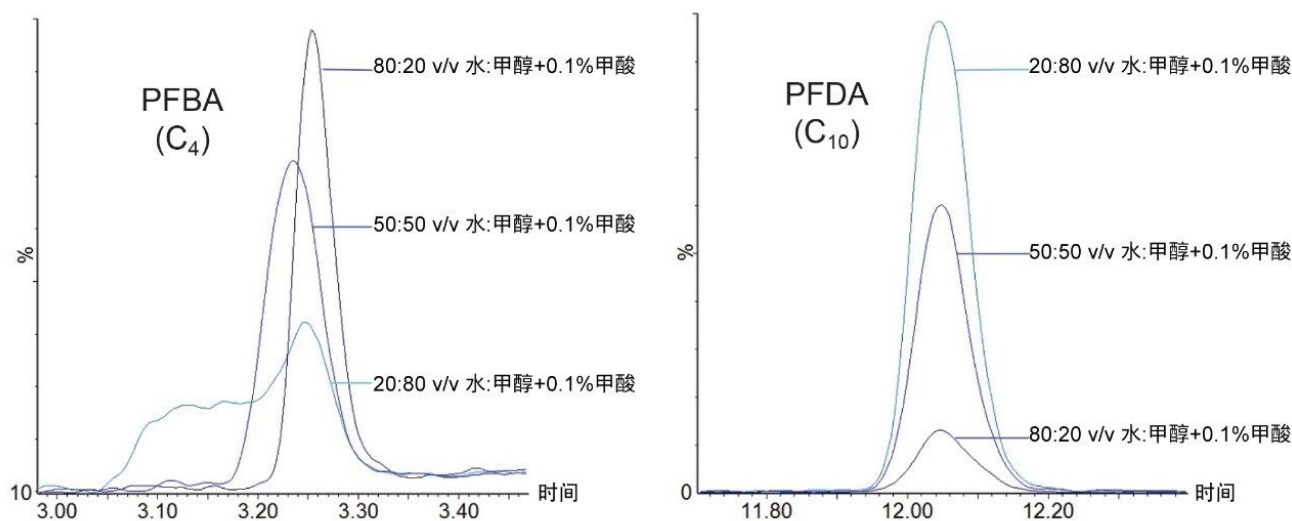


图2. 样品组成对灵敏度和短链及长链PFAS峰形的影响

采用ACQUITY Premier色谱柱分析长链PFAS的优势

最初的方法开发使用ACQUITY UPLC BEH Shield RP₁₈色谱柱获得了合适的峰形和分离。此外，还考察了ACQUITY Premier BEH Shield RP₁₈色谱柱，以探讨该色谱柱是否可以改善分析性能。对于短链至中链化合物，ACQUITY Premier色谱柱的灵敏度与ACQUITY UPLC色谱柱相比并无显著差异。然而，对于长链化合物($\geq C_{10}$)，灵敏度表现出显著提升；所测试的最长链PFAS化合物PFTrDS的峰面积和信噪比增至20倍。考虑到所要求的最终样品组成，长链PFAS化合物对分析灵敏度始终存在较高需求，ACQUITY Premier BEH Shield RP₁₈色谱柱表现出的性能提升也解释了本应用选择它的原因。ACQUITY UPLC和ACQUITY Premier色谱柱分析短链、中链、长链PFAS化合物的色谱图示例见图3。

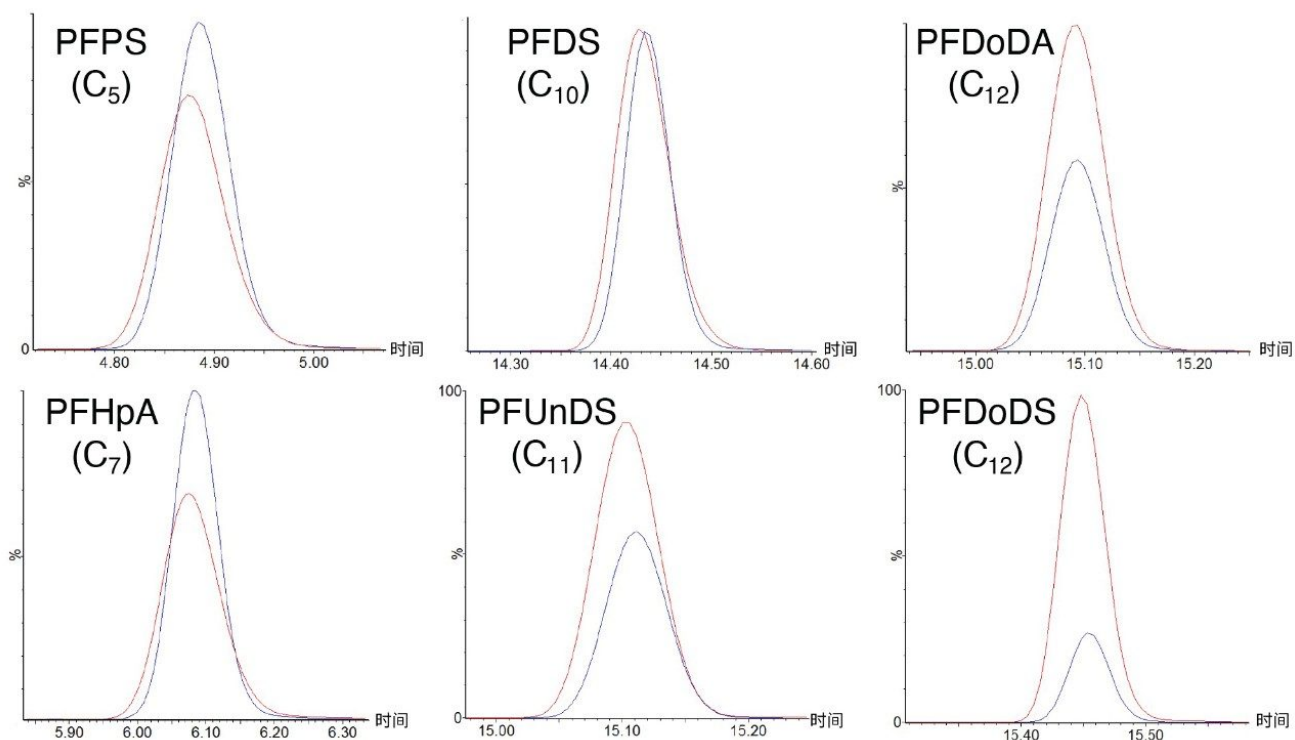


图3.ACQUITY Premier色谱柱（红色）和ACQUITY UPLC色谱柱（蓝色）对各种链长PFAS化合物的峰响应比较。所用样品为10 ng/L的LCMS级水溶液。

使用UniSpray离子源改善检测性能和灵敏度

通过在每种离子源上重复检测包含硬水和LCMS级水样品的验证批次，直接比较了电喷雾电离和UniSpray电离方法。根据峰面积、峰高和信噪比的比较结果，UniSpray离子源对所有化合物均表现出灵敏度提升。比较色谱图见图4。峰面积和信噪比平均增加至18倍和5倍。得益于长链PFAS检测灵敏度的改善，我们可以适当调整进样体积，从而改善早期洗脱的短链PFAS化合物的色谱图。最终确定50 μ L的进样体积可提供足够的灵敏度和适当的峰形。

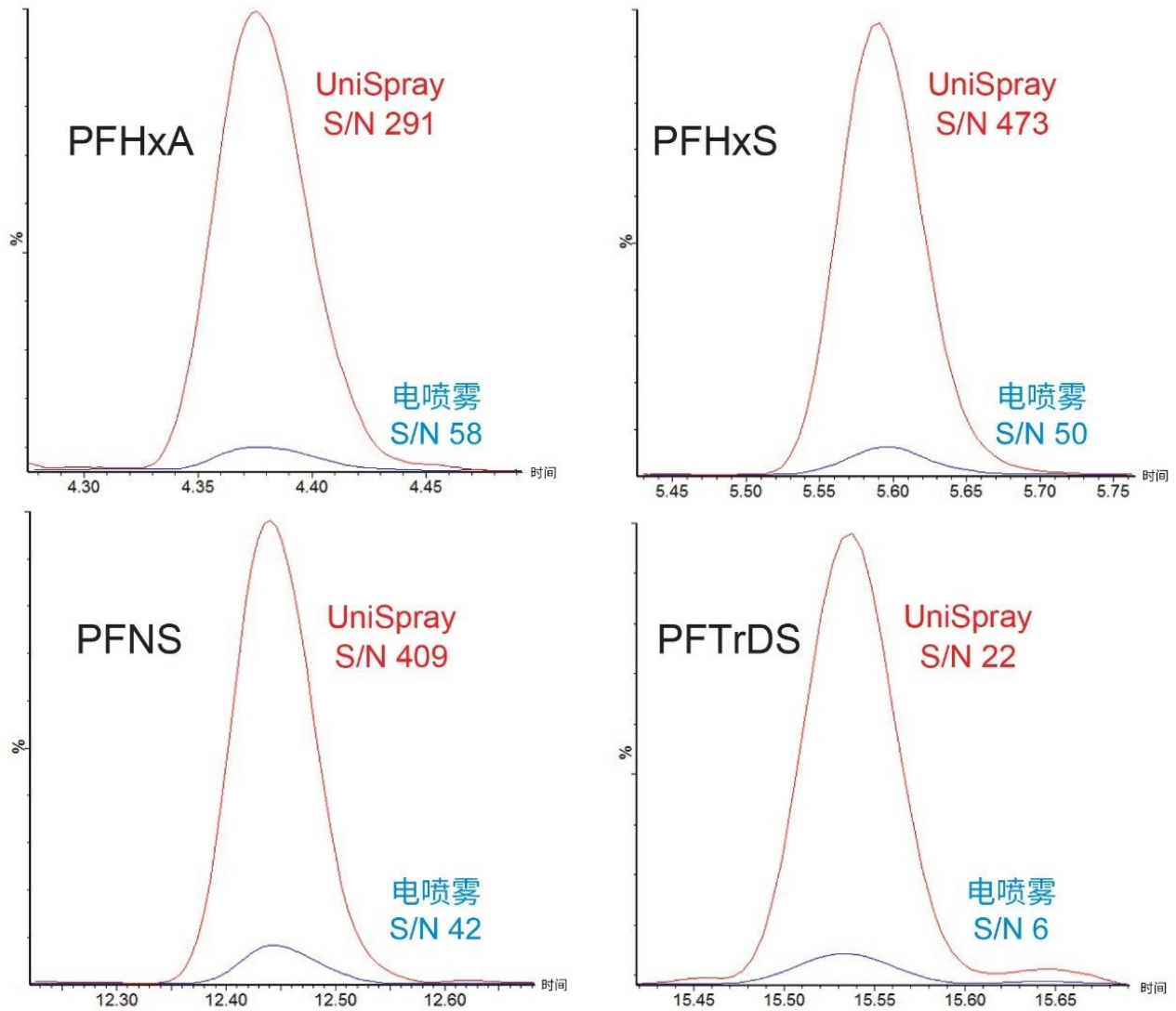


图4. UniSpray (红色) 和电喷雾 (蓝色) 电离技术检测2 ng/L硬水样品的信噪比和峰响应比较 (平均S/N)。

方法验证研究结果

基质匹配校准的运用贯穿整个方法验证研究, 标准曲线示例见图5。在验证研究中, 使用1/X线性回归拟合, 所有分析物每条校正曲线的决定系数均大于等于0.990, 残差均小于20%。图5还展示了进样1 ng/L化合物水溶液得到的色谱图。

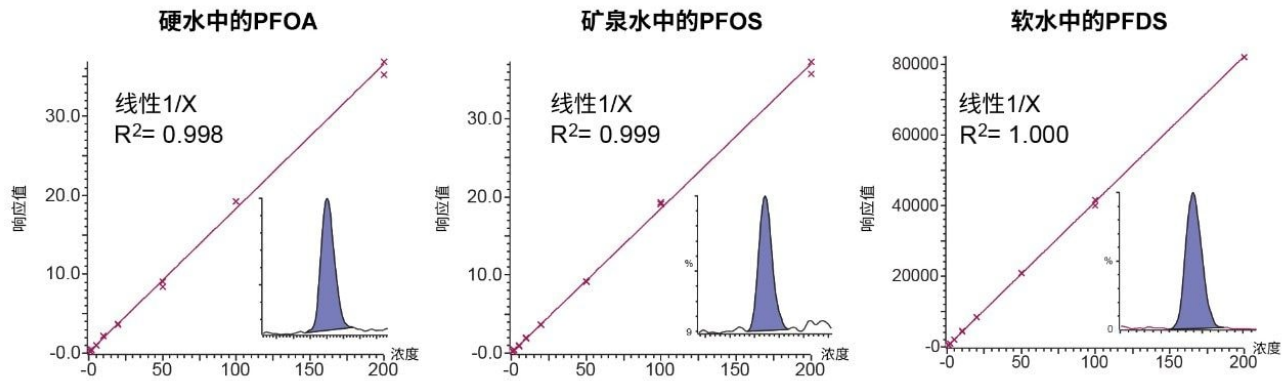


图5.一系列1 ng/L~200 ng/L（样品瓶中的浓度范围为0.6 ng/L~120 ng/L）PFAS的分段基质匹配标准曲线，包含1 ng/L的定量通道色谱图。残差在标称值的20%范围内。

总体而言，我们可以通过图6中列出的回收率值来总结方法性能，这些数据基于对三个验证批次的评估，其中涵盖了以下饮用水类型的多种特性：软水、硬水和矿泉水。每个批次由三个浓度（2、10和100 ng/L）组成，每个浓度包含7个加标回收率样品。所有独立的PFAS化合物、浓度水平和基质的单个化合物平均回收率范围为80%~120%，详见图6。基于回收率样品评估了方法重复性，除软水中最长链磺酸盐化合物PFTrDS的RSD为23.5%外，其余所有PFAS的RSD均低于13%。RSD百分比值的总结见图6中的误差条柱。

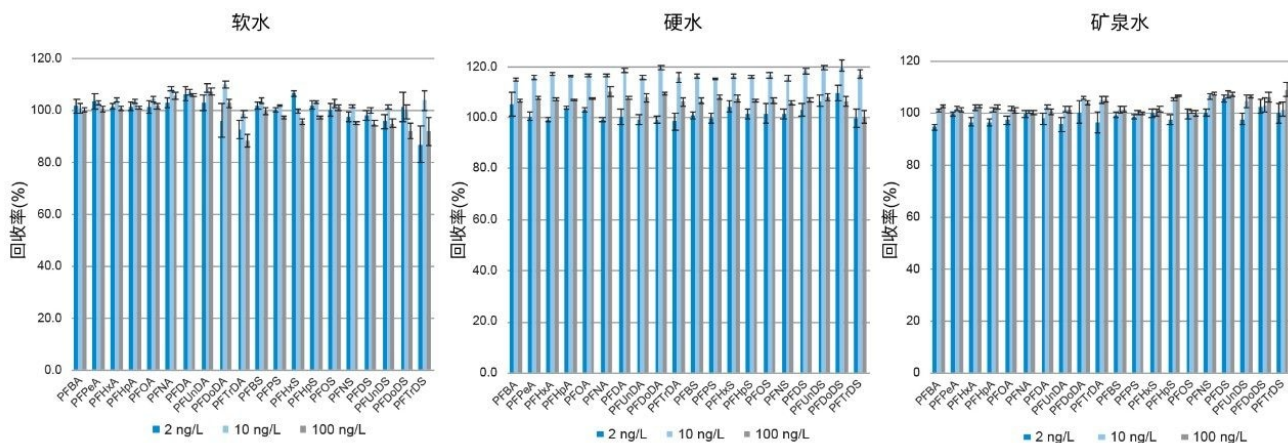


图6.20种PFAS的回收率，分析对象包括浓度为2、10和100 ng/L的软水、硬水和矿泉水。误差条柱代表每个化合物7个数据点的RSD百分比。

在3个方法验证批次中，所有分析物的总体保留时间均达到RSD<3.2%，证明研究期间保留时间在不同类型的水中保持稳定。此外还对矿泉水样品进行了保留时间稳定性测试，在无操作人员干预的情况下进样200次10 ng/L基质匹配校准标样。在整个运行期间，保留时间稳定，所有化合物的保留时间RSD在0.6% RSD范围内，峰形没有显著变化。详见图7。

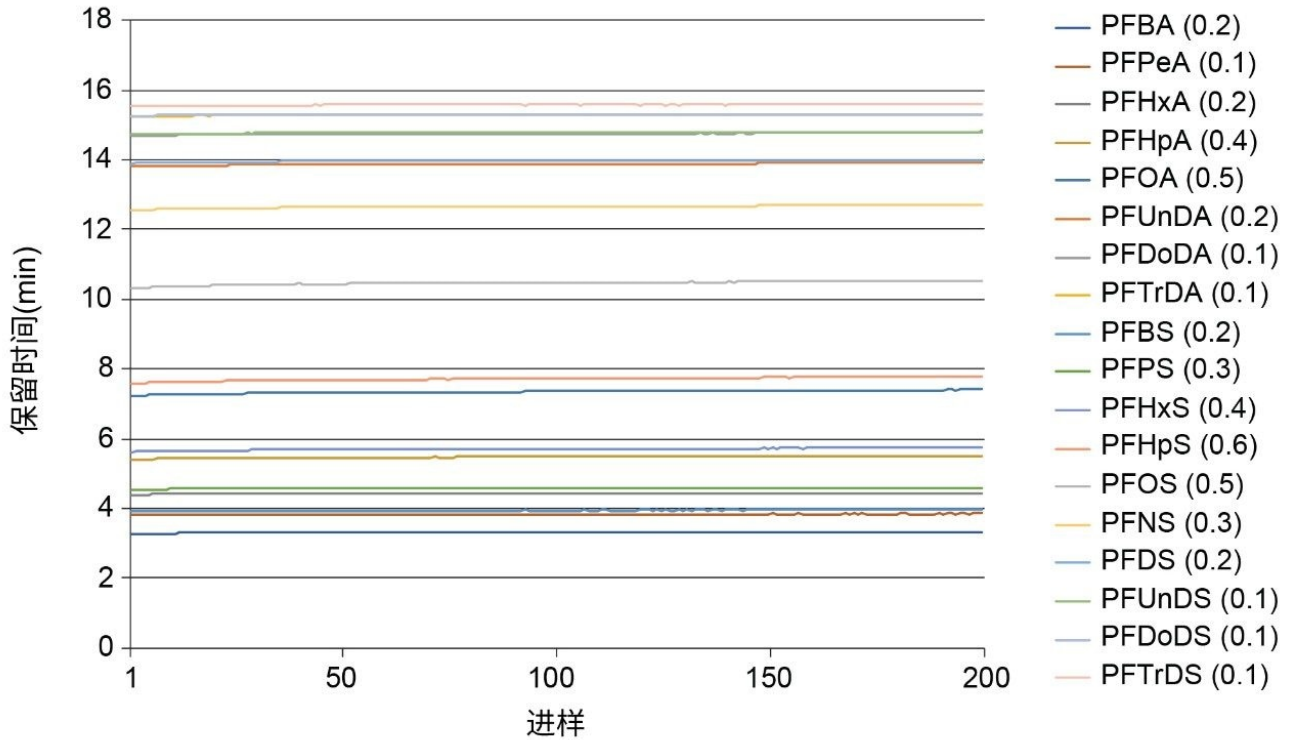


图7.200次矿泉水基质进样中所有PFAS (10 ng/L)的保留时间稳定性。（括号中为整体的RSD百分比值）。

结论

方法验证研究结果表明，此全氟烷基和多氟烷基化合物分析方法稳定性良好。该方法经过优化，适用于2020年欧盟饮用水指令中规定的全部20种PFAS化合物。单个PFAS的分析限值可低至1 ng/L，足以满足饮用水监测中规定的PFAS总和0.1 µg/L。分析采用Xevo TQ-XS质谱仪结合ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统（用Isolator色谱柱和PFAS方法包改良），并用ACQUITY Premier BEH Shield RP₁₈色谱柱分离组分，提供准确可靠的结果。借助

ACQUITY Premier色谱柱技术和独特的UniSpray离子源，通过直接进样分析低浓度分析物，无需额外的净化或浓缩步骤。

该LC-MS/MS方法在3个基质QC浓度下以7次重复进样检测所有化合物的结果正确度和精密度均可接受，不受链长影响。在研究过程中证明了保留时间稳定性和方法稳定性：在所有方法性能研究批次中，所有化合物的RSD均低于3.2%。本方法的LOQ为1 ng/mL，显著低于EU饮用水指令2020/2184的要求。

科学家必须在其实验室内验证分析方法，证明方法性能适合预期用途，并且满足相关分析控制保证体系的要求。

参考资料

1. Directive (EU) 2020/2184 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2020 on the Quality of Water Intended for Human Consumption (Recast) [Online] <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2020/2184/oj> <<https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2020/2184/oj>> .
2. Lubin A; Bajic S; Cabooter D; Augustijns P; Cuyckens F. Atmospheric Pressure Ionization Using a High Voltage Target Compared to Electrospray Ionization, *J. Am.Soc.Mass Spectrom.*2016, 28.
3. Lubin A, De Vries R, Cabooter D, Augustijns P, Cuyckens F. An Atmospheric Pressure Ionization Source Using a High Voltage Target Compared to Electrospray Ionization for the LC-MS Analysis of Pharmaceutical Compounds.*J. Pharm.Biomed.Anal.*2017, 142.
4. Organtini K, Cleland G, Rosnack K. 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, [720006329ZH](#), 2018.
5. PFAS Analysis Kit for ACQUITY UPLC Systems.Waters User Guide [715006386](#) <<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715006386v02.pdf>> , Version 2, 2021.
6. Startup Guide for the Analysis of Perfluorinated Alkyl Substances (PFAS) in Environmental Samples. [720006787EN](#) <<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/720006787en.pdf>> , 2020.

附录

分析物	保留时间 (min)	MRM	驻留时间 (s)	锥孔电压 (V)	CE (eV)
PFBA	3.27	213.1 > 169	0.027	10	8
13C4-PFBA	3.27	217.1 > 172	0.02	10	10
PFPeA	3.82	263.1 > 219	0.027	10	5
13C5-PFPeA	3.82	268.1 > 223	0.02	10	5
PFBS	3.93	299.1 > 80	0.027	15	30
		299.1 > 99	0.027	15	30
13C3-PFBS	3.93	302.1 > 80	0.02	10	30
PFHxA	4.4	313.1 > 269	0.027	5	8
		313.1 > 119	0.027	5	20
13C5-PFHxA	4.4	318.1 > 273	0.02	10	5
PFPS	4.54	349.1 > 80	0.027	10	30
		349.1 > 99	0.027	10	30
PFHpA	5.41	363.1 > 319	0.068	15	10
		363.1 > 169	0.068	15	15
13C4-PFHpA	5.41	367.1 > 322	0.02	15	10
PFHxS	5.62	399.1 > 80.1	0.068	10	35
		399.1 > 99.1	0.068	10	30
13C3-PFHxS	5.62	402.1 > 80.1	0.02	10	40
PFOA	7.21	413.1 > 369	0.072	10	10
		413.1 > 169	0.072	10	15
13C8-PFOA	7.21	421.1 > 376	0.03	5	10
PFHpS	7.56	449.1 > 80.1	0.072	15	35
		449.1 > 99.1	0.072	15	35
PFNA	9.91	463.1 > 419	0.068	10	10
		463.1 > 219	0.068	10	15
13C9-PFNA	9.91	472.1 > 427	0.02	10	10
PFOS	10.29	499.1 > 80	0.068	15	40
		499.1 > 99	0.068	15	40
13C8-PFOS	10.29	507.1 > 80.1	0.02	15	40
PFDA	12.3	513.1 > 469	0.074	15	10
		513.1 > 219	0.074	15	18
13C6-PFDA	12.3	519.1 > 474	0.02	5	30
PFNS	12.52	549.1 > 80	0.074	20	40
		549.1 > 99	0.074	20	40
PFUnDA	13.78	563.15 > 519	0.074	25	10
		563.15 > 269	0.074	25	20
13C7-PFUnDA	13.78	570.1 > 525	0.02	5	10
PFDS	13.86	599.1 > 99	0.074	25	40
		599.1 > 80	0.074	25	40
PFDoDA	14.68	613.1 > 569	0.068	30	12
		613.1 > 169	0.068	30	25
13C2-PFDoDA	14.68	615.1 > 570	0.02	10	10
		615.1 > 169	0.02	10	25
PFUnDS	14.72	649.1 > 80	0.068	40	55
		649.1 > 99	0.068	40	55
PFTrDA	15.24	663.1 > 169.1	0.052	5	30
		663.1 > 219.1	0.052	5	20
PFDoDS	15.25	699.1 > 80	0.052	40	55
		699.1 > 99	0.052	40	55
PFTrDS	15.55	749.14 > 99	0.052	40	55
		749.14 > 80	0.052	40	55

附录A. 分析物及相应同位素标记内标的MRM通道。目标化合物的最佳驻留时间由自动驻留功能自动设定（定量通道以粗体显示），因此不同采集窗口的值可能不同。

特色产品

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

Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134889751>>

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

720007413ZH, 2022年12月修订



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)