

高效液相色谱-串联质谱法 测定动物肝脏中 20 种全氟烷基类化合物

何建丽^{1 2} 彭涛^{* 2} 谢洁³ 代汉慧² 陈冬东²
岳振峰⁴ 范春林² 李存^{* 1}

¹(天津农学院, 天津 300384) ²(中国检验检疫科学研究院, 北京 100123)
³(中国农业大学动物医学院, 北京 100083) ⁴(深圳出入境检验检疫局, 深圳 518033)

摘 要 建立了 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS) 同时测定动物肝脏中 20 种全氟烷基类化合物(Perfluorinated alkyl substances, PFAS) 残留量的分析方法。样品用 0.1% HCl-乙腈振荡提取, C₁₈-N-丙基乙二胺(PSA) 和石墨化碳黑(GCB) 净化, 在 C₁₈ 色谱柱, 以 5 mmol/L NH₄Ac 甲醇溶液和 5 mmol/L NH₄Ac 溶液为流动相进行梯度洗脱。多反应监测(MRM) 负离子模式, 采用基质匹配同位素内标法和外标法结合进行定量分析。20 种 PFAS 在 0.1 ~ 10 μg/L 浓度范围内呈线性关系, 相关系数不小于 0.995; 检出限为 0.05 ~ 0.2 μg/kg, 定量限为 0.4 ~ 0.5 μg/kg。动物肝脏中 20 种 PFAS 的 3 个浓度水平(0.5, 2 和 5 μg/kg) 加标的平均回收率为 70.3% ~ 108.1%, 相对标准偏差(RSD) 在 2.1% ~ 11.9% (*n* = 6) 之间。

关键词 全氟烷基类化合物; QuEChERS; 高效液相色谱-串联质谱; 动物肝脏

1 引 言

全氟烷基类化合物(PFAS) 是一类具有重要应用价值的含氟有机化合物, 含有极高化学键能(约为 110 kcal/mol) 的 C—F 共价键, 其稳定性高, 具有疏油、疏水等特性, 被广泛应用于纺织、造纸、包装、农药、地毯、皮革、洗发香波和灭火泡沫等工业和民用领域^[1]。PFAS 能够经受很强的热、光照、化学、微生物作用和高等脊椎动物的代谢而不降解^[2], 可以随食物链的传递在生物体内富集和放大至相当高的浓度^[3, 4], PFAS 在生物体内的蓄积水平高于已知的有机氯农药和二恶英等持久性有机污染物的数百至数千倍^[5]。研究发现, PFAS 具有诱发肝中毒、发育毒性、免疫毒性、内分泌干扰以及潜在致癌性等毒理效应^[6, 7]。2006 年, 欧盟议会通过决议, 规定欧盟市场上全氟辛烷磺酸在配制品中的含量不得超过产品质量的 0.005%, 半成品中不得超过 0.1%, 纺织品或涂料中不得超过 1 μg/m², 标志着欧盟正式全面禁止全氟辛烷磺酸在商品中的使用^[8]。PFAS 主要分布于动物的血液、肝脏、肾脏、心脏和肌肉等组织中, 并以血液和肝脏中浓度最高。因此, 建立快速、灵敏、准确地测定动物肝脏中 PFAS 的方法尤为重要。

目前, 检测 PFAS 的常用方法是高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)。样品前处理多采用液液萃取或离子对试剂提取, WAX 固相萃取柱^[9~12]净化。传统的前处理方法步骤繁琐、耗时长, 方法重现性不好。相比之下, 以基质分散固相萃取为基础的 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) 方法因其具有灵敏、高效、快速等特点, 近年来被广泛应用。

HPLC-MS/MS 技术具有高的灵敏度、选择性和重现性, 是目前分析 PFAS 常用的方法^[13]。根据动物肝脏基质的特点, 本研究采用 QuEChERS 方法对样品进行提取和净化, 采用基质匹配同位素内标法和外标法结合进行定量分析, 建立了基质校正 HPLC-MS/MS 同时测定动物肝脏中 20 种 PFAS 残留量的分析方法。本方法简单、实用性强、分析速度快, 可广泛用于动物类样品中 PFAS 的分析。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

ACQUITY UPLC™ 超高效液相色谱仪配 TQD 三重四级杆质谱仪(Waters 公司); D160 均质/分散机

2014-07-29 收稿; 2014-09-19 接受

本文系科技基础性工作专项基金(No. 2013FY113100)、国家科技支撑计划基金(No. 2012BAD33B02) 资助

* E-mail: caiq_pengtao@126.com; hhlicun@163.com

(Dragon Lab 公司); TRIO TM-4N 型旋涡混合器(AS ONE 公司); SR-2DS 型水平振荡器(TATEC 公司); 3-30K 型高速冷冻离心机(Sigma 公司); N-EVAP 112 型氮吹仪(Organomation Associates 公司); Milli-Q 超纯水仪(Millipore 公司); KQ-600B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

全氟丁酸、全氟戊酸、全氟丁烷磺酸钾、全氟己酸、全氟庚酸、全氟己烷磺酸钠、全氟辛酸、全氟庚烷磺酸钠、全氟壬酸、全氟辛烷磺酸钠、全氟癸酸、全氟癸烷磺酸钠、全氟十一烷酸、全氟十二烷酸、全氟十三烷酸、全氟十四烷酸、全氟十六烷酸、全氟十八烷酸、全氟壬烷磺酸钠、全氟戊烷磺酸钠和同位素内标¹³C₄-全氟丁酸、¹³C₂-全氟己酸、¹⁸O₂-己烷磺酸钠、¹³C₄-全氟辛酸、¹³C₄-辛烷磺酸钠、¹³C₅-全氟壬酸、¹³C₂-全氟癸酸、¹³C₂-十一烷酸、¹³C₂-十二烷酸混合内标(Wellington 公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, Fisher 公司); 乙酸铵(色谱纯, Acros Organics 公司); C₁₈(CNWBOND HC-C₁₈ 40 ~ 63 μm, CNW 公司) , *N*-丙基乙二胺(PSA 40 ~ 60 μm, 艾尔杰公司) , 石墨化碳黑(GCB, CNWBOND Carbon-GCB, 120 ~ 400 目, CNW 公司) , 实验用水为 Milli-Q 超纯水, 其它未作特殊说明的试剂均为分析纯。

为防止引入高背景值, 实验过程避免使用聚四氟乙烯材质的色谱管路和器皿。

2.2 样品预处理

2.2.1 提取 准确称取 2.00 g 牛肝匀质样品置于 50 mL 离心管中, 加入适量内标, 再加入 4 mL 超纯水, 漩涡混合 1 min 后, 加入 0.1% 盐酸乙腈 10 mL, 均质 1 min 后振摇 10 min, 加入 2 g NaCl, 再次振摇 10 min, 13000 r/min 离心 10 min。取上层乙腈相于 15 mL 离心管中, 40 °C 下氮吹约至 4 mL, 以乙腈定容至 4 mL, 待净化。

2.2.2 净化 将上述溶液转移至装有 80 mg C₁₈、100 mg PSA 和 40 mg GCB 填料的离心管中, 振摇 10 min 后, 13000 r/min 离心 10 min, 取上清液(约 4 mL) 于另一离心管中, 40 °C 下氮气吹至干, 以 1 mL 甲醇定容后, 过 0.22 μm 滤膜, HPLC-MS/MS 分析。

2.2.3 HPLC-MS/MS 分析条件 液相色谱条件: Atlantis T3 色谱柱(150 mm × 2.1 mm, 3 μm); 柱温: 38 °C; 流速: 0.2 mL/min; 进样量: 10 μL; 流动相: A 为 5 mmol/L NH₄Ac-甲醇溶液, B 为 5 mmol/L NH₄Ac 溶液; 洗脱梯度: 0 ~ 3 min, 10% ~ 30% A; 3 ~ 13 min, 30% ~ 100% A; 13 ~ 14 min, 100% ~ 10% A; 14 ~ 20 min, 10% A。

质谱条件: 电喷雾离子源(ESI); 多反应监测(MRM); 负离子模式; 毛细管电压: 3.0 kV; 源温度: 120 °C; 去溶剂气流: 氮气, 650 L/h; 去溶剂温度: 350 °C; 锥孔气流: 氮气, 100 L/h; 碰撞气压: 氩气, 2.4 × 10⁻⁶ Pa。其它参数见表 1。

表 1 20 种 PFAS 的质谱分析参数

Table 1 Mass spectrometric parameters for 20 perfluoroalkyl acids (PFAS)

编号 No.	化合物 Compounds	分子量 Molecular weight	母离子 Parent ion (<i>m/z</i>)	子离子 Product ion (<i>m/z</i>)	碰撞能量 Collision energy (eV)	锥孔电压 Cone voltage (kV)
1	全氟丁酸 Perfluoro- <i>n</i> -butanoic acid (PFBA)	214.04	213	169	15	20
2	全氟戊酸 Perfluoro- <i>n</i> -pentanoic acid (PFPeA)	264.05	263	219	15	20
3	全氟丁烷磺酸 Perfluoro-1-butanesulfonate(<i>L</i> -PFBS)	300.19	299	80 ⁺ 99	48 35	50
4	全氟己酸 Perfluoro- <i>n</i> -hexanoic acid(PFHxA)	314.05	313	269	15	20
5	全氟庚酸 Perfluoro- <i>n</i> -heptanoic acid(PFHpA)	364.06	363	319 ⁺ 169	15 27	20
6	全氟己烷磺酸 Perfluoro-1-hexanesulfonate(<i>L</i> -PFHxS)	400.20	399	80 ⁺ 99	55 40	65
7	全氟辛酸 Perfluoro- <i>n</i> -octanoic acid(PFOA)	414.07	413	369 ⁺ 169	16 30	20
8	全氟庚烷磺酸 Perfluoro-1-heptanesulfonate(<i>L</i> -PFHpS)	450.10	449	80 ⁺ 99	65 55	70

续表 1(Continued to Table 1)

编号 No.	化合物 Compounds	分子量 Molecular weight	母离子 Parent ion (<i>m/z</i>)	子离子 Product ion (<i>m/z</i>)	碰撞能量 Collision energy (<i>eV</i>)	锥孔电压 Cone voltage (<i>kV</i>)
9	全氟壬酸 Perfluoro- <i>n</i> -nonanoic acid(PFNA)	464.08	463	419 [*] 219	20 30	25
10	全氟辛烷磺酸 Perfluoro-1-octanesulfonate(<i>L</i> -PFOS)	500.22	499	80 [*] 99	55	20
11	全氟癸酸 Perfluoro- <i>n</i> -decanoic acid(PFDA)	514.08	513	469 [*] 219	20 30	20
12	全氟十一烷酸 Perfluoro- <i>n</i> -undecanoic acid(PFUdA)	564.09	563	519 [*] 219	20 30	20
13	全氟癸烷磺酸 Perfluoro-1-decanesulfonate(<i>L</i> -PFDS)	600.22	599	80 [*] 99	60 52	85
14	全氟十二烷酸 Perfluoro- <i>n</i> -dodecanoic acid(PFDoA)	614.10	613	569 [*] 109	23 45	25
15	全氟十三烷酸 Perfluoro- <i>n</i> -tridecanoic acid(PFTrDA)	664.11	663	619 [*] 169	23 45	25
16	全氟十四烷酸 Perfluoro- <i>n</i> -tetradecanoic acid(PFTeDA)	714.11	713	669 [*] 169	26 55	25
17	全氟十六烷酸 Perfluoro- <i>n</i> -hexadecanoic acid(PFHxDA)	814.13	813	769 [*] 169	25 58	25
18	全氟十八烷酸 Perfluoro- <i>n</i> -octadecanoic acid(PFODA)	914.14	913	869 [*] 169	25 60	25
19	全氟壬烷磺酸 Perfluoro-1-nonanesulfonate(<i>L</i> -PFNS)	550.12	549	80 [*] 99	70 65	75
20	全氟戊烷磺酸 Perfluoro-1-pentanesulfonate(<i>L</i> -PFPeS)	350.09	350	80 [*] 99	65	60
21	全氟丁酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[¹³ C ₄] butanoic acid(MPFBA)	218.04	217	172	18	19
22	全氟己酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[1 2- ¹³ C ₂]hexanoic acid (MPFHxA)	316.05	315	270	20	17
23	全氟己烷磺酸内标 Perfluoro-1-hexane[¹⁸ O ₂] sulfonate (MPFHxS)	404.20	403	103	55	65
24	全氟辛酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[1 2 3 4- ¹³ C ₄]octanoic acid (MPFOA)	418.07	417	372	18	19
25	全氟壬酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[1 2 3 4 5- ¹³ C ₅]nonanoic acid (MPFNA)	469.08	468	423	17	67
26	全氟辛烷磺酸内标 Perfluoro-1-[1 2 3 4- ¹³ C ₄]octanesulfonate (MPFOS)	504.22	503	99	70	30
27	全氟癸酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[1 2- ¹³ C ₂]decanoic acid (MPFDA)	516.08	515	470	25	20
28	全氟十一烷酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[1 2- ¹³ C ₂]undecanoic acid (MPFUdA)	566.09	565	520	23	25
29	全氟十二烷酸内标 Perfluoro- <i>n</i> -[1 2- ¹³ C ₂]dodecanoic acid (MPFDoA)	616.10	615	570	23	27

注: * 为定量离子(Quantificative ion)

2.3 标准曲线

2.3.1 外标曲线 以阴性空白牛肝样品提取液(操作同 2.2 节,但提取步骤不加内标溶液)作为溶剂,将标准品稀释成 0.1, 0.5, 1, 2, 5 和 10 μg/L 系列基质匹配标准溶液,以待测物的质量浓度为横坐标,定量离子质量色谱峰面积为纵坐标,绘制外标曲线。

2.3.2 内标曲线 步骤同2.4.1节,其中每份标准溶液内都含1 $\mu\text{g/L}$ 内标,以待测物的质量浓度为横坐标,定量离子质量色谱峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标,绘制内标曲线。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的优化

PFAS同时具有亲水性和疏水性,采用较低硅羟基活性填料的 C_{18} 反相色谱柱可实现这类化合物的良好分离^[14~16]。通过对Waters XTerra C_{18} 柱、Capcell Pak C_{18} 和Atlantis T3 C_{18} 色谱柱进行对比,发现Atlantis T3 C_{18} 的峰形与分离度效果最佳。流动相选取乙腈-水、甲醇-水等进行比较,结果表明,以甲醇-水作为流动相,化合物分离度更好。所测PFAS都是羧酸或者磺酸盐,在流动相中加入 NH_4Ac 能使其保持一定的pH值及离子强度,减少拖尾,改善峰形^[17],有研究表明,较高浓度的 NH_4Ac 对质谱检测有较强的抑制作用^[18]。因此,经过优化后,本实验采用Atlantis T3 C_{18} 型色谱柱,以5 mmol/L NH_4Ac 甲醇溶液和5 mmol/L NH_4Ac 溶液进行梯度洗脱(梯度洗脱条件见2.3节)20种目标物在20 min内可实现良好分离,保留时间见表2。PFOA和L-PFOS的标准溶液的MRM色谱图见图1。

3.2 质谱条件的优化

由于目标物带有 SO_3^{2-} ,难于质子化,不宜采用 ESI^+ 模式,故本实验选取 ESI^- 模式进行扫描。用针泵以20 $\mu\text{L/min}$ 的流速分别注入100 $\mu\text{g/L}$ PFAS标准溶液,在 m/z 200~1000扫描范围内,以负离子模式进行一级质谱扫描,发现PFAS化合物 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 峰较强,大部分化合物以电离后失去羧基上氢原子为主。确定分子离子后,分别以其作为母离子,进行子离子扫描,选取丰度最强碎片离子作为定量离子,次强的碎片离子作为定性离子。部分化合物打碎后的碎片离子少,只能找到一个离子。最后,以选择反应监测(MRM)负离子模式优化锥孔电压、碰撞能量等参数,质谱条件见表1。

表2 20种PFAS的保留时间

Table 2 Retention times of 20 PFAS

化合物 Compounds	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compounds	保留时间 Retention time (min)
PFBA	4.95	PFDA	9.07
PFPeA	5.47	PFUdA	9.91
L-PFBS	5.47	L-PFDS	9.77
PFHxA	5.96	PFDoA	10.68
PFHpA	6.61	PFTtDA	11.38
L-PFHxS	6.56	PFTeDA	12.01
PFOA	7.36	PFHxDA	13.05
L-PFHpS	7.29	PFODA	13.92
PFNA	8.21	L-PFNS	8.99
L-PFOS	8.11	L-PFPeS	5.96

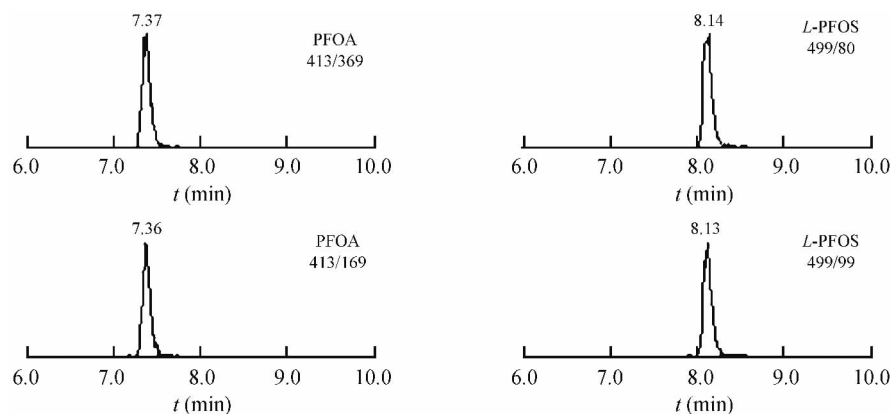


图1 PFOA和L-PFOS标准溶液的MRM色谱图(1.0 $\mu\text{g/L}$)

Fig.1 MRM chromatograms of PFOA and L-PFOS standards (1.0 $\mu\text{g/L}$)

3.3 提取溶剂的选择

PFAS属于酸性化合物,在酸性环境下呈分子状态,有利于进入有机相。已报道的文献中采用0.1% HCl-甲醇溶液^[19]、乙腈^[20]、2%甲酸-甲醇溶液^[21]等作为提取溶剂,提取尿液^[13]、奶粉^[19]和肝脏^[21]等基质中PFAS。在参考文献的基础上,本实验分别用乙腈、甲醇、0.1% HCl-乙腈溶液、2%甲酸-甲醇溶

液、0.1% HCl-甲醇溶液、2% 甲酸-乙腈溶液作为提取溶剂,比较不同提取溶剂对目标物的提取效率。结果表明,用 0.1% HCl-乙腈溶液提取的效率最好,在 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 加标水平下,目标物的平均回收率为 85.3% ~ 117.2%,且不同目标物之间无明显差异。结果见图 2。最后,选择 0.1% HCl-乙腈溶液为提取溶剂。

3.4 净化方式的选择

动物肝脏中存在色素、脂肪、甾醇等杂质,PSA 可以吸附基质中的碳水化合物、有机酸和酚类, C_{18} 可以去除脂肪和酯类等,GCB 可以去除色素、甾醇类等。吸附剂粉末的用量直接影响前处理净化效果和目标物的回收率,用量小则净化效果不明显,用量大,净化效果虽好,但回收率低,不能满足检测要求,为选择合适的吸附剂粉末的用量,比较了 3 种不同的吸附剂净化的样品回收率。

用 C_{18} 净化样品后的平均回收率大于 80%,但重现性不好,且净化后的溶液有色素残留;PSA 和 GCB 净化色素效果较好,但净化后的溶液有油脂残留。为了解决以上难题,使用以上 3 种吸附剂的组合,在检测灵敏度、最佳净化效果和合理回收率之间寻求平衡点,使全部化合物获得满意的结果。实验对不同比例 PSA、 C_{18} 、GCB(1:1:1, 2:2:1, 2.5:2:1, 3:2:1, $\mu\text{g}/\text{w}$) 的净化效果进行了考察(图 3),结果表明,以 2.5:2:1 的质量比混合 3 种吸附剂 PSA、 C_{18} 、GCB 获得最佳净化效果,20 种 PFAS 平均回收率能达到 73% ~ 112%,背景值干净,加标样品的分离度和峰形均较好。因此,选择混合吸附剂(PSA, C_{18} , GCB 2.5:2:1, w/w) 为净化吸附剂。

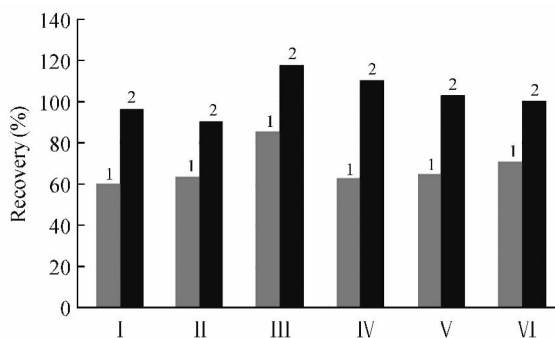


图 2 不同提取溶液对牛肝中 20 种 PFAS 的提取效率 ($n=3$)

Fig. 2 Recoveries of 20 PFAS in bovine liver by different extraction solutions ($n=3$)

I. 乙腈 (Acetonitrile); II. 甲醇 (Methanol); III. 0.1% HCl-乙腈 (0.1% Hydrochloric acid in acetonitrile); IV. 2% 甲酸-乙腈 (2% Formic acid in acetonitrile); V. 0.1% HCl-甲醇 (0.1% Hydrochloric acid in methanol); VI. 2% 甲酸-甲醇 (2% Formic acid in methanol)。1. 最低回收率 (The lowest rate of recovery); 2. 最高回收率 (The highest rate of recovery)。

3.5 基质效应

以阴性空白牛肝样品提取液作为溶剂,配制 $1 \mu\text{g}/\text{L}$ 的混合标准溶液,测定其峰面积为 A ;以甲醇为溶剂配制 $1 \mu\text{g}/\text{L}$ 的混合标准溶液测定其峰面积为 B 。基质效应 $\text{ME}(\%) = B/A \times 100^{[22]}$,结果见表 3。其中 $\text{ME} > 100\%$ 的为基质增强效应, $\text{ME} < 100\%$ 的为基质抑制效应。可以看出,样品提取液对部分目标化合物存在一定的基质影响。为保证定量分析准确性,本方法选择基质匹配的标准溶液进行测定。

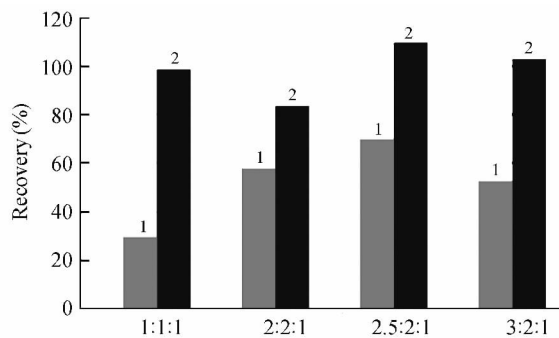


图 3 不同质量比吸附剂 (PSA, C_{18} , GCB) 净化牛肝中 20 种 PFAS 的回收率范围

Fig. 3 Recoveries of 20 PFAS in bovine liver by different proportions of adsorbents for PSA, C_{18} , GCB

1. 最低回收率 (The lowest rate of recovery); 2. 最高回收率 (The highest rate of recovery)。PSA: *N*-propylethylenediamine, GCB: Graphitized carbon blacks.

表 3 牛肝样品中 PFAS 的基质效应

Table 3 Matrix effect for PFAS in bovine liver

化合物 Compound	基质效应 Matrix effect (%)	化合物 Compound	基质效应 Matrix effect (%)
PFBA	43	PFDA	141
PFPeA	156	PFUDa	125
L-PFBS	100	L-PFDS	86
PFHxA	102	PFDaA	79
PFHpA	138	PFTTrDA	158
L-PFHxS	93	PFTTeDA	107
PFOA	109	PFHxDA	87
L-PFHpS	144	PFODA	45
PFNA	119	L-PFNS	117
L-PFOS	143	L-PFPeS	130

3.6 定量方式及线性关系

在检测 PFAS 的过程中,通常情况下由于待测样品中 PFAS 的含量较低,因此在检测技术不够稳定以及仪器灵敏度有所限制的条件下,采用外标法定量测定会产生较大的误差,而内标法的使用会使这一问题迎刃而解,可最大限度地减少由仪器响应度所引起的误差^[5]。同时,由于存在基质效应,因此实验中以空白牛肝样品提取液作为溶剂配制混合标准系列溶液。*L*-PFHpS、PFTTrDA、*L*-PFPeS 未寻找到性质相同的同位素内标,采用基质匹配外标法,其它 17 种 PFAS 采用基质匹配内标法进行定量分析,结果见表 4。

在阴性样品中添加目标化合物,按照给定的方法测定,以 3 倍信噪比(S/N)对应的添加水平作为检出限(LOD),10 倍信噪比(S/N)对应的添加作为定量限(LOQ),结果见表 4。结果表明,本方法 LOD 在 0.05 ~ 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,LOQ 在 0.4 ~ 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。

表 4 20 种 PFAS 的线性范围、回归方程、相关系数、检出限和定量限

Table 4 Linear range, regression equation, correlation coefficient, LOD and LOQ of 20 PFAS

化合物 Compounds	内标物 Internal standard	线性范围 Linear range ($\mu\text{g}/\text{L}$)	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient (r)	检出限 LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
PFBA	$^{13}\text{C}_4$ -PFBA	0.1 ~ 10	$y = 260.37x + 425.65$	0.9954	0.1	0.5
PFPeA	$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA	0.1 ~ 10	$y = 106.4x + 6.3965$	0.9998	0.1	0.5
<i>L</i> -PFBS	$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA	0.1 ~ 10	$y = 225.76x + 412.93$	0.9950	0.2	0.5
PFHxA	$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA	0.1 ~ 10	$y = 63.452x + 105.18$	0.9952	0.1	0.5
PFHpA	$^{18}\text{O}_2$ -PFHxS	0.1 ~ 10	$y = 50.857x + 74.622$	0.9965	0.1	0.5
<i>L</i> -PFHxS	$^{18}\text{O}_2$ -PFHxS	0.1 ~ 10	$y = 342.69x + 269.91$	0.9960	0.1	0.4
PFOA	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.1 ~ 10	$y = 84.561x + 47.33$	0.9975	0.1	0.5
<i>L</i> -PFHpS	—	0.1 ~ 10	$y = 246.12x + 29.546$	0.9976	0.2	0.5
PFNA	$^{13}\text{C}_5$ -PFNA	0.1 ~ 10	$y = 154.39x - 11.067$	0.9971	0.1	0.5
<i>L</i> -PFOS	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.1 ~ 10	$y = 170.85x - 117.17$	0.9973	0.1	0.5
PFDA	$^{13}\text{C}_2$ -PFDA	0.1 ~ 10	$y = 40.938x - 43.761$	0.9974	0.2	0.5
PFUdA	$^{13}\text{C}_2$ -PFUdA	0.1 ~ 10	$y = 27.733x - 38.113$	0.9976	0.05	0.4
<i>L</i> -PFDS	$^{13}\text{C}_2$ -PFDoA	0.1 ~ 10	$y = 153.55x - 247.05$	0.9970	0.1	0.4
PFDoA	$^{13}\text{C}_2$ -PFDoA	0.1 ~ 10	$y = 46.5x - 92.82$	0.9985	0.1	0.5
PFTTrDA	—	0.1 ~ 10	$y = 237.98x - 85.62$	0.9956	0.05	0.4
PFTeDA	$^{13}\text{C}_2$ -PFDoA	0.1 ~ 10	$y = 229.14x - 768.91$	0.9955	0.1	0.4
PFHxDA	$^{13}\text{C}_2$ -PFDoA	0.1 ~ 10	$y = 178.46x - 487.61$	0.9974	0.05	0.4
PFODA	$^{13}\text{C}_2$ -PFDoA	0.1 ~ 10	$y = 38.818x - 72.46$	0.9958	0.2	0.5
<i>L</i> -PFNS	$^{13}\text{C}_5$ -PFNA	0.1 ~ 10	$y = 452.3x + 397.2$	0.9950	0.05	0.4
<i>L</i> -PFPeS	—	0.1 ~ 10	$y = 289.5x + 100.6$	0.9960	0.1	0.5

3.7 准确度和精密度

实验选择 1 倍、4 倍和 10 倍 LOQ 作为添加量,考察方法的准确度和精密度。选取阴性牛肝为空白样品,分别添加相当于 0.5、2 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的 PFAS 混合标准溶液,按本方法进行测定,每个浓度 6 个平行。同时做空白实验,均扣除本底值后计算添加回收率和相对标准偏差(RSD)。PFAS 在牛肝中的添加回收率为 70.3% ~ 108.1%,RSD 在 2.1% ~ 11.9% 范围内,结果见表 5。

3.8 实际样品分析

应用本方法测定 60 份市售牛肝样品,结果发现,实际样品中检出 PFDA、*L*-PFHxS、*L*-PFOS,含量在 0.6 ~ 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其余各组均未检出,实际检出率低于 7.3%。长链 PFAS 检出率较高,在肝脏组织中富集明显且普遍。图 4 为阳性牛肝样品中检出的 3 种 PFAS 的 MRM 色谱图。

4 结 论

本实验通过对仪器检测参数和样品前处理条件的优化,采用基质匹配同位素内标法和外标法结合定量,首次建立了基质校正 HPLC-MS/MS 同时测定动物肝脏中 20 种 PFAS 残留量的分析方法。方法简单、快速、灵敏度高、准确度高、溶剂消耗量少,且有效克服了基质干扰问题,可广泛用于动物类样品中 PFAS 的测定。

表 5 准确性和精密度实验结果
Table 5 Accuracy and precision of the method

化合物 Compounds	加标水平 Spiked level ($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率 Mean recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%, $n=6$)	化合物 Compounds	加标水平 Spiked level ($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率 Mean recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%, $n=6$)
PFBA	0.5	101.6	5.7	PFDA	0.5	100.1	10.1
	2	99.1	5.2		2	97.2	4.1
	5	115.0	6.9		5	112.0	11.2
PFPeA	0.5	81.1	5.0	PFUdA	0.5	95.1	4.2
	2	85.0	3.6		2	96.3	8.0
	5	84.0	10.9		5	104.9	7.5
L-PFBS	0.5	92.0	6.0	L-PFDS	0.5	94.0	5.8
	2	102.4	5.0		2	101.5	8.5
	5	92.4	9.5		5	89.9	6.7
PFHxA	0.5	80.9	6.0	PFDoA	0.5	91.0	5.2
	2	103.7	3.0		2	102.9	10.1
	5	85.7	2.1		5	96.1	11.4
PFHpA	0.5	82.1	3.0	PFTrDA	0.5	78.4	7.1
	2	95.7	7.1		2	84.7	6.3
	5	80.4	10.8		5	74.4	7.7
L-PFHxS	0.5	90.3	9.5	PFTeDA	0.5	80.9	9.3
	2	103.4	6.1		2	96.1	5.3
	5	83.7	9.5		5	95.6	10.4
PFOA	0.5	84.1	8.0	PFHxDA	0.5	70.3	10.3
	2	106.8	6.6		2	94.9	8.9
	5	103.7	8.5		5	80.2	10.5
L-PFHpS	0.5	74.4	6.0	PFODA	0.5	71.3	9.3
	2	79.3	7.0		2	89.8	10.4
	5	77.4	10.0		5	73.4	8.6
PFNA	0.5	80.3	7.0	L-PFNS	0.5	79.5	5.8
	2	102.3	8.1		2	85.7	10.7
	5	84.7	8.7		5	75.8	8.8
L-PFOS	0.5	89.6	9.0	L-PFPeS	0.5	108.1	7.8
	2	103.1	4.1		2	87.5	6.9
	5	91.1	9.8		5	79.8	11.9

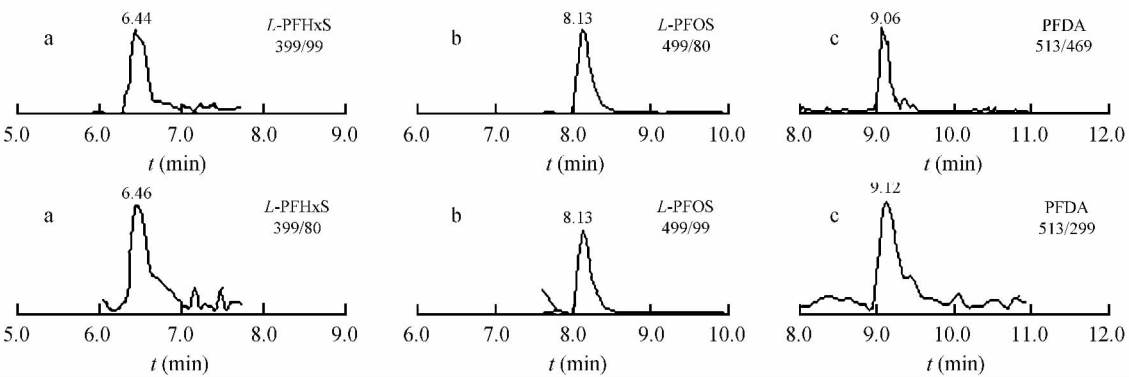


图 4 (a) 阳性牛肝样品中 L-PFHxS 的 MRM 色谱图(0.6 $\mu\text{g/kg}$) ; (b) 阳性牛肝样品中 L-PFOS 的 MRM 色谱图(0.7 $\mu\text{g/kg}$) ; (c) 阳性牛肝样品中 PFDA 的 MRM 色谱图(0.9 $\mu\text{g/kg}$)

Fig.4 (a) MRM Chromatograms of L-PFHxS detected in bovine liver (0.6 $\mu\text{g/kg}$) , (b) MRM Chromatograms of L-PFOS detected in bovine liver (0.7 $\mu\text{g/kg}$) and (c) MRM Chromatograms of PFDA detected in bovine liver (0.9 $\mu\text{g/kg}$)

References

- 1 Kissa E. *Fluorinated Surfactants: Synthesis, Properties, and Applications*. New York: Marcel Dekker, **1994**: 50
- 2 Kissa E. *Fluorinated Surfactants and Repellents*, 2nd Edition. New York: Marcel Dekker Inc., **2001**
- 3 Kannan K, Tao L, Sinclair E, Pastva S D, Jude D J, Giesy J P. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **2005**, 48: 559 – 566
- 4 Tomy G T, Budakowski W, Halldorson T, Helm P A, Stern G A, Friesen K, Pepper K, Tittlemier S A, Fisk A T. *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, 38(24): 6475 – 6481
- 5 ZHOU Qing, ZHANG Man-Cheng, LU Yu-Fei, WANG Lian-Hong, LI Ai-Min. *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, 31(7): 44 – 52
周庆, 张满成, 卢宇飞, 王连红, 李爱民. *环境科学与技术*, **2008**, 31(7): 44 – 52
- 6 Luebker D J, Case M T, York R G, Moore J A, Hansen K J, Butenhoff J L. *Toxicology*, **2005**, 215(1/2): 126 – 148
- 7 Luebker D J, York R G, Hansen K J, Moore J A, Butenhoff J L. *Toxicology*, **2005**, 215(1/2): 149 – 169
- 8 JIANG Hong, SHENG Xuan, YANG Yan-Yan, ZHANG Lei, ZHENG Ping. *Anhui Chemical Industry*, **2007**, 146(2): 5 – 10
蒋洪, 盛旋, 杨嫣嫣, 张蕾, 郑屏. *安徽化工*, **2007**, 146(2): 5 – 10
- 9 Clarke D B, Bailey V A, Routledge A, Lloyd A S, Hird S, Mortimer D N, Geme M. *Food Addit. Contam.*, **2010**, 27(4): 530 – 545
- 10 GUO Meng-Meng, WU Hai-Yan, LI Zhao-Xin, TAN Zhi-Jun, ZHAI Yu-Xiu. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2013**, 41(5): 1322 – 1327
郭萌萌, 吴海燕, 李兆新, 谭志军, 翟毓秀. *分析化学*, **2013**, 41(5): 1322 – 1327
- 11 Chang Y C, Chen W L, Bai F Y, Chen P C, Wang G S, Chen C Y. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2012**, 4(2): 1315 – 1327
- 12 WANG Jie-Ming, WANG Li, FENG Yu-Jing, PAN Yuan-Yuan, SHI Ya-Li, CAI Ya-Qi. *Food Sci.*, **2010**, 31(4): 127 – 131
王杰明, 王丽, 冯玉静, 潘媛媛, 史亚利, 蔡亚歧. *食品科学*, **2010**, 31(4): 127 – 131
- 13 GUO Fei-Fei, WANG Yu-Xin, LI Jing-Guang, ZHANG Jia-Ling, ZHAO Yun-Feng, WU Yong-Ning. *Chinese Journal of Chromatography*, **2011**, 29(2): 126 – 130
郭斐斐, 王雨昕, 李敬光, 张加玲, 赵云峰, 吴永宁. *色谱*, **2011**, 29(2): 126 – 130
- 14 ZHANG Ping, SHI Ya-Li, CAI Ya-Qi, MOU Shi-Fen. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2007**, 35(7): 969 – 972
张萍, 史亚利, 蔡亚歧, 牟世芬. *分析化学*, **2007**, 35(7): 969 – 972
- 15 PAN Yuan-Yuan, SHI Ya-Li, CAI Ya-Qi. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2008**, 36(10): 1321 – 1326
潘媛媛, 史亚利, 蔡亚歧. *分析化学*, **2008**, 36(10): 1321 – 1326
- 16 PAN Yuan-Yuan, SHI Ya-Li, CAI Ya-Qi. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2008**, 36(12): 1619 – 1623
潘媛媛, 史亚利, 蔡亚歧. *分析化学*, **2008**, 36(12): 1619 – 1623
- 17 Nakata H, Nakata A, Okada F, Ito R, Inoue K, Saito K, Nakazawa H. *Bunseki Kagaku*, **2005**, 54(9): 877 – 884
- 18 LAN Fang, FENG Sha, SHEN Jin-Can, WU Xiao-Ping, YUE Zhen-Feng. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2013**, 41(12): 1893 – 1898
蓝芳, 冯沙, 沈金灿, 吴晓萍, 岳振峰. *分析化学*, **2013**, 41(12): 1893 – 1898
- 19 WANG Jie-Ming, PAN Yuan-Yuan, SHI Ya-Li, CAI Ya-Qi. *J. Instrumental Anal.*, **2009**, 28(6): 720 – 724
王杰明, 潘媛媛, 史亚利, 蔡亚歧. *分析测试学报*, **2009**, 28(6): 720 – 724
- 20 LIU Li-Zhi, GUO Xin-Dong, SUN Fang-Jun, XIAN Yan-Ping, HUANG Cong, PENG Rong-Fei, LUO Xiao-Yan. *J. Instrumental Anal.*, **2013**, 32(7): 862 – 866
刘莉治, 郭新东, 孙方军, 冼燕萍, 黄聪, 彭荣飞, 罗晓燕. *分析测试学报*, **2013**, 32(7): 862 – 866
- 21 WANG Yu-Xin, LI Jing-Guang, ZHAO Yun-Feng, GUO Fei-Fei, WU Yong-Ning. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2011**, 39(8): 1134 – 1140
王雨昕, 李敬光, 赵云峰, 郭斐斐, 吴永宁. *分析化学*, **2011**, 39(8): 1134 – 1140
- 22 Matuszewski B K, Constanzer M L, Chavez-Eng C M. *Anal. Chem.*, **2003**, 75: 3019 – 3030

