

使用 LCMS-9030 的 HRAM-DIA 方法进行全氟和多氟烷基化合物的非靶向筛查

Zhaoqi Zhan¹, Zhe Sun¹, Jade Ting Shuen Chan²

¹ Shimadzu (Asia Pacific) Pte. Ltd, 新加坡

特点描述

- ◆ 基于 LCMS-9030 的 HRAM-DIA 数据采集方法，建立了一种灵敏的非靶向筛查方法。使用 14 种 1 ng/mL PFAS 标准品水溶液成功验证了该方法。
- ◆ 使用 LabSolutions Insight Explore™ -Analyze 进行数据分析。PFAS 类物质可以通过特定的元素设置提取，并通过质量亏损进行过滤。该方法用于 PFAS 未知样品定性，发现并表征了 16 种 PFAS 物质。

■ 引言

在水、土壤、沉积物、鱼、食品、纺织品和人血等中均会存在全氟烷基和多氟烷基化合物 (PFAS) 污染。参考 US EPA 方法 537 和 ISO 21675: 2019, ASTM D7979 等，已建立了 LC-MS/MS 分析饮用水中多达 29 种 PFAS 的靶向筛查和定量方法 [1]。然而，PFAS 是一类庞大的有机物家族 [2]，其中许多化合物无法通过现有方法测定。本研究旨在建立一种对水样中已知和未知的 PFAS 进行非靶向筛查的方法。该方法是基于 LC-Q-TOF 数据 (即 HRAM 谱图 [MS] 和 DIA 去卷积谱图 [MS/MS])，并借助 PFAS 的特定质量亏损特征 [3,4]，采用 LabSolutions Insight Explore-Analyze 软件功能建立的。以 PFOA 和 PFOS 等 14 种 PFAS 为标准品，验证了该 HRAM-DIA 方法在检测灵敏度和定性方面的性能。将已建立的方法应用于实际水样分析，并使用 LabSolutions Insight Explore-Assign 软件，通过数据库和质谱库检索以及结构解析进一步表征发现的 PFAS 类物质。

■ 实验

试剂、PFAS 标准品和样品

市售乙腈 (LCMS 级) 和甲醇 (LCMS 级)。由 Milli-Q 水制备的流动相，使用 LCMS 级乙酸铵 (> 99%) 作为添加剂。16 种 PFAS 标准品 (表 2) 购自 Wellington Laboratories 和 Apollo scientific。方法开发中使用 M-PFOS (¹³C₄) 和 M-PFOA (¹³C₄) 作为内标。采集水样并进行分析，以发现研究中未知的 PFAS。

LC-Q-TOF 分析条件

LCMS-9030, Q-TOF 系统 (Shimadzu Corporation, 日本) 的分析条件详情见表 1。LabSolutions v5.114 和 LabSolutions Insight Explore v3.8 SP4 用于 MS 和 DIA 模式下的数据采集以及 HRAM 谱图和 DIA MS/MS 谱图的数据处理，以有效检测和鉴别靶向和非靶向 PFAS。

表 1 LCMS-9030 中 PFAS 的分析条件

LC 条件	
色谱柱	Shim-pack™ Velox, C18 (2.1 x 100 mm, 2.7 μm)
流速	0.4 mL/min
流动相	A: 5 mM 乙酸铵水溶液 B: 乙腈
LC 梯度	B: 10%(0-0.5 min)→85%(8.5 min-9 min)→10%(9.1 min-12 min)→停止
延迟柱	Shim-pack Velox, C18 (2.1 x 50 mm, 2.7 μm)
柱温箱温度	40°C
进样体积	50 μL
接口条件和 MS 模式	
离子源	ESI
接口温度	300°C
DL 温度	250°C
加热模块温度	400°C
雾化气	3 L/min (N ₂)
加热气体流量	10 L/min (Air)
干燥气流量	10 L/min (N ₂)
MS 模式	MS (-), m/z 100~1000
	DIA (-), m/z 50 ~ 1000; CE 25V, 动态碰撞能量范围 (+/-) 20V
	循环时间: 1.01 sec

非靶向筛查方法

如表 1 所示，设置 MS 和 DIA 事件用于数据采集。采用 LabSolutions Insight Explore 套件 (包括 Analyze 和 Assign 等) 进行数据分析和处理。Analyze 用于 DIA 数据的去卷积，以生成前体列表，并提供数据深度分析的各种功能，如去卷积 MS/MS 谱图、分子式预测和谱库检索等。Assign 用于识别和结构解析，其可链接到在线数据库检索，如 ChemSpider 和 PubChem。Analyze 和 Assign 在数据处理和结果显示方面十分高效和灵活。本研究安装并使用了两个 PFAS 谱库：(1) 自建 PFAS HRMS MS/MS 谱库，包括 34 种 PFAS 标准品的谱图 [4] 和 (2) MS PFAS_Neg 谱库 [5]。

■ 结果和讨论

1. HRAM 法检测 PFAS

表 2 显示了使用上述方法在 LCMS-9030 上获得的 HRAM 数据 (事件 1) 中纯水中 14 种 PFAS 和 2 种 ISTD 的检测结果。1 ng/mL 样品的 XIC 色谱图见图 1a, 第一个 XIC 峰 (PFPA) 的质谱图见图 1b。HRAM 法测得 11 种 PFAS、PFDA、PFPA 和 PFTrA 和 PFTeA 的最低可检测浓度分别为 0.01 ng/mL、0.02 ng/mL、0.05 ng/mL、0.1 ng/mL 和 0.1 ng/mL。质量准确度优于 (+/-) 3.3 ppm, 大多数化合物低于 (+/-) 2 ppm。在最低浓度至 5 ng/mL 范围内建立线性校准曲线, 所有 PFAS 的 R^2 在 0.94 和 0.99 之间。PFOA、PFOS 及其同位素标记标准品 (M-PFOA、M-PFOS) 也可在 0.01 ng/mL 水平检出。这些结果表明, 基于 LCMS-9030 的 HRAM 可以建立一种高灵敏度的筛查和定量方法。

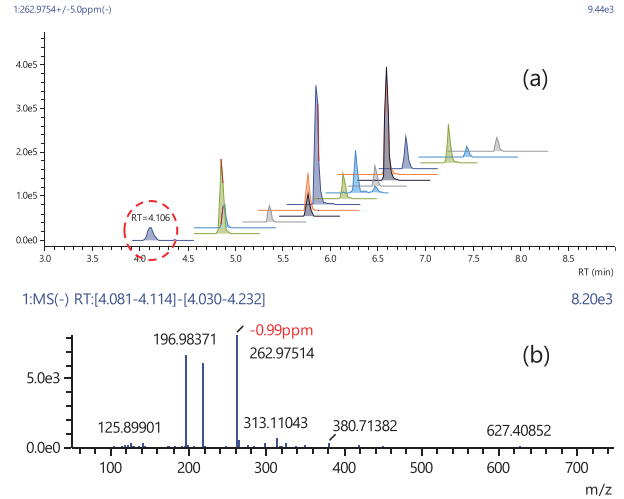


图 1 (a) 14 种 PFAS 和 2 种 ISTD 的 XICs (各 1 ng/mL); (b) 第 1 个峰 (PFPA) 的 MS 质谱图。

表 2 LCMS-9030 上 16 种 PFAS 信息、准确质量、测量误差、RT 和标准曲线范围

PFAS (缩写)	分子式	CAS 登记号	[M-H] ⁻ (实测值)	[M-H] ⁻ (计算值)	误差 (ppm)	RT (min)	线性范围 (ng/mL)	R ²
PFPA	C ₅ HF ₉ O ₂	2706-90-3	262.9751	262.9760	-3.27	4.12	0.05 ~ 5	0.989
PFBS	C ₄ F ₉ SO ₃ H*	29420-49-3	298.9421	298.9430	-3.01	4.86	0.01 ~ 5	0.941
PFHxA	C ₆ HO ₂ F ₁₁ *	307-24-4	312.9718	312.9728	-2.91	4.88	0.01 ~ 5	0.981
PFHpA	C ₇ HF ₁₃ O ₂ *	375-85-9	362.9687	362.9696	-2.20	5.36	0.01 ~ 5	0.982
PFOA	C ₈ HF ₁₅ O ₂ *	335-67-1	412.9655	412.9664	-1.99	5.77	0.01 ~ 5	0.982
M-PFOA	¹³ C ₄ C ₄ HF ₁₅ O ₂	N.A.	416.9791	416.9798	-1.73	5.77	0.01 ~ 5	0.982
PFHxS	C ₆ F ₁₃ HO ₃ S*	82382-12-5	398.9358	398.9366	-1.75	5.86	0.01 ~ 5	0.950
PFNA	C ₉ HF ₁₇ O ₂ *	375-95-1	462.9624	462.9632	-1.60	6.13	0.01 ~ 5	0.983
PF-3,7-DMOA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	172155-07-6	512.9591	512.9600	-1.83	6.27	0.01 ~ 5	0.985
PFDA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂ *	335-76-2	512.9592	512.9600	-1.58	6.47	0.02 ~ 5	0.988
PFOS	C ₈ F ₁₇ O ₃ HS*	4021-47-0	498.9296	498.9302	-1.22	6.59	0.01 ~ 5	0.955
M-PFOS	¹³ C ₄ C ₄ F ₁₇ O ₃ HS	N.A.	502.9429	502.9436	-1.31	6.59	0.01 ~ 5	0.969
PFUnA	C ₁₁ HF ₂₁ O ₂ *	2058-94-8	562.9562	562.9568	-1.12	6.80	0.02 ~ 5	0.998
PFDS	C ₁₀ HF ₂₁ SO ₃	2806-15-7	598.9232	598.9238	-1.09	7.24	0.01 ~ 5	0.987
PFTrA	C ₁₃ HO ₂ F ₂₅ *	72629-94-8	662.9497	662.9505	-1.27	7.43	0.1 ~ 5	0.991
PFTeA	C ₁₄ HO ₂ F ₂₇ *	376-06-7	712.9463	712.9473	-1.42	7.75	0.1 ~ 5	0.983

*EPA 537 方法规定的 PFAS 目标物

2. DIA 法检测 PFAS

使用 LabSolutions Insight Explore-Analyze 处理相同数据集的 DIA 数据, 通过去卷积生成较长的前体列表, 然后应用分子式预测功能。为了寻找 PFAS 类化合物和物质, 元素的关键设置包括 F: 6~50, H: 1~5, O: 1~5, C: 1~50, S: 0 ~ 1 和 N: 0~1。这些设置限制了具有负质量亏损候选物的元素组成, 并可用于寻找 PFAS 类物质 [4]。图 2 显示了这种方法的示例。由 DIA 数据 (图 2a) 生成的前体峰 (m/z262.9748) 与 MS XIC (图 1a) 中 PFPA 的 RT 相同。实测质量亏损为 -24.9 mDa, 非常接近 PFPA 的质量亏损计算值 (-24.0 mDa)。图 2b 所示的相应去卷积 MS/MS 谱图与 PFAS 谱库中的 PFPA MS/MS 谱图 (图 2c) 完全匹配。这些结果证实, 通过 DIA 分析方法能可靠地检测到加标在水中的 1 ng/mL PFPA。

14 种加标 PFAS 水溶液的检测和鉴别结果见表 3。从表中可以看出, 使用 Analyze 通过上述方法检测并确定了所有 14 种 PFAS。

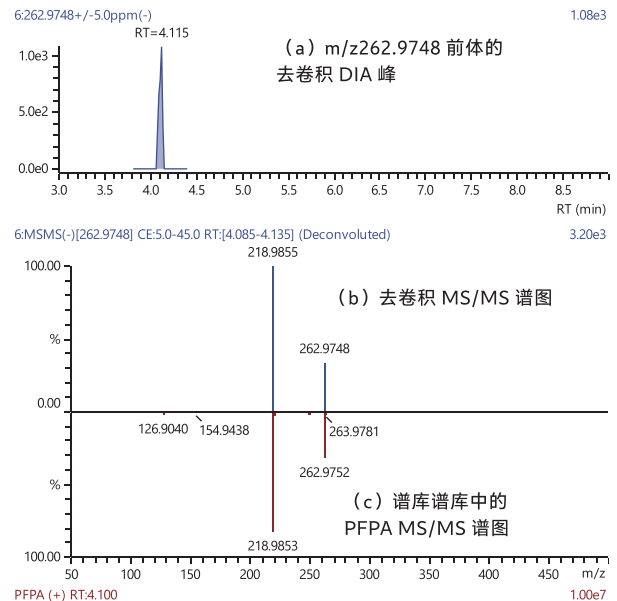


图 2 通过 DIA 峰 (a) 和去卷积谱图 (b) 检测 PFPA (1 ng/mL 水溶液), 其与 PFPA 谱库谱图 (c) 匹配

表 3 使用 Analyze 功能从 DIA 数据中检测和鉴别 14 种 PFAS (1 ng/mL)

PFAS (缩写)	PFAS 分子式	根据 DIA 数据生成的前体	前体 RT (分钟)	前体离子预测分子式	DIA 数据的去卷积谱图	PFAS 谱库检索
PFPA	C ₉ HF ₉ O ₂	262.9748	4.12	[C ₉ HO ₂ F ₉ -H] ⁻	262.9748, 218.9855	确认
PFBS	C ₄ F ₉ SO ₃ H	298.9421	4.86	[C ₄ HO ₃ F ₉ S-H] ⁻	298.9421, 98.9552, 79.9565	确认
PFHxA	C ₆ HO ₂ F ₁₁	312.9721	4.88	[C ₆ HO ₂ F ₁₁ -H] ⁻	312.9721, 268.9819, 118.9918	确认
PFHpA	C ₇ HF ₁₃ O ₂	362.9695	5.35	[C ₇ HO ₂ F ₁₃ -H] ⁻	362.9695, 318.9791, 168.9888	确认
PFOA	C ₈ HF ₁₅ O ₂	412.9656	5.77	[C ₈ HO ₂ F ₁₅ -H] ⁻	412.9656, 368.9757, 218.9857, 168.9884	确认
PFHxS	C ₆ F ₁₃ HO ₃ S	398.9357	5.85	[C ₆ HO ₃ F ₁₃ S-H] ⁻	398.9357, 118.9918, 98.9548, 79.9567	确认
PFNA	C ₉ HF ₁₇ O ₂	462.9625	6.14	[C ₉ HO ₂ F ₁₇ -H] ⁻	462.9625, 418.9725, 218.9856, 168.9885	确认
PF-3,7-DMOA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	468.9693	6.26	[C ₉ HF ₁₉ -H] [*]	468.9693, 446.9687, 268.9822	确认
PFDA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	512.9592	6.46	[C ₁₀ HO ₂ F ₁₉ -H] ⁻	512.9592, 468.9694, 268.9823, 218.9855, 168.9884	确认
PFOS	C ₈ F ₁₇ O ₃ HS	498.9294	6.58	[C ₈ HO ₃ F ₁₇ S-H] ⁻	498.9294, 168.9883, 118.9921, 98.9551, 79.9565	确认
PFUnA	C ₁₁ HF ₂₁ O ₂	562.9565	6.80	[C ₁₁ HO ₂ F ₂₁ -H] ⁻	562.9565, 518.9660, 318.9789, 268.9818, 218.9848, 168.9882	确认
PFDS	C ₁₀ HF ₂₁ SO ₃	598.9232	7.24	[C ₁₀ HO ₃ F ₂₁ S-H] ⁻	598.9232	确认
PFTTrA	C ₁₃ HO ₂ F ₂₅	662.9486	7.43	[C ₁₃ HO ₂ F ₂₅ -H] ⁻	662.9486, 618.9597	确认
PFTeA	C ₁₄ HO ₂ F ₂₇	712.9465	7.75	[C ₁₄ HO ₂ F ₂₇ -H] ⁻	712.9465, 668.9566, 168.9880	确认

*PF-3,7-DMOA 电离形成 [M-HCOO]⁻=[C₉HF₁₉-H]⁻

结果表明, 从 DIA 数据中可以检测到 PFAS, 这是使用 HRMS-DIA 方法对水样中 PFAS 进行非靶向筛查的基础。

3. 基于 HRAM-DIA 方法的非靶向筛查

采用上述 Analyze 数据处理方法对未知样本中 PFAS 进行非靶向筛查。使用 Analyze 处理获得的水样 DIA 数据, 并生成较长的前体列表 (> 800)。通过对所有前体应用具有上述特定元素设置的分子式预测, 生成了 16 种 PFAS 类前体 (表 4), 均具有特征性负质量亏损。在应用谱库检索时, 在 PFAS 谱库中发现了 5 个候选化合物: PFBA (SI = 94%)、PFCA- 不饱和 (SI = 65%)、6:2 氟调聚物磺酸 (SI = 55%)、PFOA (SI = 61%) 和 PF-3,7-DMOA (SI = 76%)。此外, 发现 PFCA- 二醚 H₂ 取代物与 m/z 626.9530 谱图匹配, SI 非常低 (23%)。对于如此差的谱库匹配和其余完全不匹配的物质, 它们的鉴别只能依赖于使用 Assign 程序通过结构解析进行的表征。

通过 Analyze 从 DIA 数据中提取的 16 种 PFAS 类前体峰见图 3a。以 1.824 min 处的峰 (m/z 212.9787) 为例, 去卷积 MS/MS 谱图和谱库检索见图 3b 和 3c。结果证实样品中存在 PFBA。如果将去卷积 MS/MS 谱图发送至链接数据库 (ChemSpider) 检索的 Assign 程序, 发现七氟丁酸 (CAS 登记号: 375-22-4) 为匹配的结构, 对前体以及碎片进行了注释 (图 3d)。实际上与全氟丁酸 (PFBA) 标品相同。另一个代表性示例是候选物 #15, 其在 6.26 min 处检测到, 前体离子为 m/z446.9676。

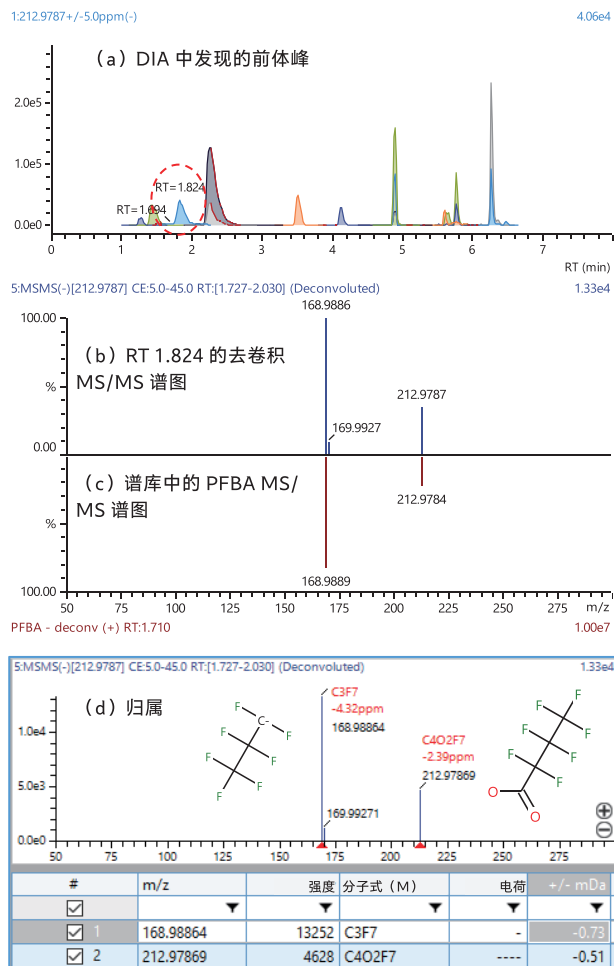


图 3 (a) 从 DIA 中检测到未知的 PFAS 类化合物, (b) RT 1.824 处峰的去卷积谱图, (c) 与 PFBA 的谱库谱图匹配; (d) 归属为七氟丁酸结构和碎片 (与 PFBA 相同)。

表 4 通过 HRAM-DIA 在 LCMS-9030 上对水样进行非靶向筛查，以检测和鉴别 PFAS

候选化合物 #	DIA 中的前体	RT (min)	前体离子分子式	误差 (ppm)	去卷积 DIA MS/MS 谱图	PFAS 谱库检索	通过 Assign 得出的 ID (ChemSpider)
1	402.9979	1.26	[C ₁₃ H ₄ O ₄ F ₁₂ -H] ⁻	-4.6	402.9979	未发现	(2E)-2,3,4,4,5,5,6,6,7,7,7-十一氟-1-(4-氟苯基)-2-庚烯-1-酮
2	404.0146	1.43	[C ₁₅ H ₅ NO ₄ F ₁₀ -H] ⁻	1.9	404.0146, 376.9950	未发现	N-[2,3,5,6-四氟-4-(三氟甲基)苯基]-2-(三氟甲基)苯甲酰胺
3	212.9787	1.82	[C ₄ H ₂ O ₂ F ₇ -H] ⁻	-2.4	212.9787, 168.9886	全氟丁酸 (PFBA)	七氟丁酸
4	220.9864	2.23	[C ₈ H ₂ O ₃ F ₄ -H] ⁻	-1.6	220.9864, 138.9956, 79.9567	未发现	2,3,5,6-四氟-4-甲酰苯甲酸
5	219.9835	2.27	[C ₉ HNO ₂ F ₆ -H] ⁻	-1.5	219.9835, 81.9525	未发现	4-氟基-2,2,3,3,4,4-六氟丁酸
6	247.9786	3.51	[C ₈ HNO ₃ F ₆ -H] ⁻	-0.8	247.9786, 219.9838, 79.9566	未发现	双(三氟甲基)-1,2-恶唑-4-羧酸
7	196.9836	4.12	[C ₄ HOF ₇ -H] ⁻	-3.6	196.9836, 130.9923, 80.9951, 68.9951	未发现	丁醛, 七氟丁醛
8	246.9805	4.88	[C ₅ HOF ₉ -H] ⁻	-2.4	246.9805, 180.9887, 130.9918, 118.9919	未发现	2,2,3,3,4,4,5,5-九氟戊醛
9	626.9530	4.88	[C ₁₂ H ₂ O ₄ F ₂₂ -H] ⁻	0.1	626.9530, 354.9605, 312.9722, 268.9822	PFCA-二醚 H ₂ 取代	无结果
10	224.9786	4.89	[C ₃ H ₂ O ₂ F ₇ -H] ⁻	-2.8	224.9786, 174.9816	PFCA-不饱和	1,1,1,3,5,5,5-七氟-2,4-戊二酮
11	374.9738	4.89	[C ₁₀ H ₂ O ₃ F ₉ S-H] ⁻	-1.4	374.9738, 312.9720, 268.9821	未发现	苯基 1,1,2,2,3,3,4,4,4-九氟-1-丁烷磺酸盐
12	426.9681	5.60	[C ₈ H ₂ O ₃ F ₁₃ S-H] ⁻	0.4	426.9677	6:2 氟调聚物磺酸 (6:2FTS)	1H,1H,2H,2H-全氟辛烷磺酸
13	346.9742	5.77	[C ₇ HOF ₁₃ -H] ⁻	-1.6	346.9742, 280.9816, 96.9595	未发现	2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-十二氟庚酸
14	412.9654	5.77	[C ₈ H ₂ O ₂ F ₁₅ -H] ⁻	-2.5	412.9654, 368.9753, 218.9856, 168.9887	全氟辛酸 (PFOA)	全氟辛酸 (PFOA)
15	446.9676	6.26	[C ₉ HOF ₁₇ -H] ⁻	-1.7	446.9676, 311.9811, 268.9815	未发现	2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-十六氟壬酰氟
16	468.9697	6.26	[C ₉ HF ₁₉ -H] ⁻	-3.8	468.9697, 446.9678, 268.9822, 218.9854, 168.9886	PF-3,7-DMOA	2,2,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-十三氟-3,7-双(三氟甲基)辛酸, C ₁₀ HF ₁₉ O ₂

PFAS 谱库检索未产生任何结果。将去卷积 MS/MS 谱图发送至 Assign, 输入分子式 C₉HOF₁₇, 以在 ChemSpider 数据库中进行检索。Assign 程序生成了分子式的候选列表和谱图。最有可能的候选化合物之一是 2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-十六氟壬酰氟。如图 4 所示, 前体离子和两个碎片基本上与结构匹配。但值得注意的是, 尽管使用 Assign 程序和 ChemSpider 数据库获得的鉴定结果可提供参考结构和信息, 但结果并不被认为是结论, 需要进一步的结构分析。

结论

本研究在 LCMS-9030 上建立了基于 HRAM-DIA 数据采集的非靶向筛查方法。采用 LabSolutions Insight Explore-Analyze 对获得的 DIA 数据进行去卷积处理, 以生成前体列表。然后, 应用具有特定元素设置的分子式预测提取 PFAS 类物质。通过浓度为 1 ng/mL 的 14 种 PFAS 标准品水溶液成功验证了该方法, 并将该方法用于分析未知水样。发现 16 种 PFAS 类物质。使用 Assign 功能对这些 PFAS 类物质进行了 PFAS 谱库检索和结构解析。

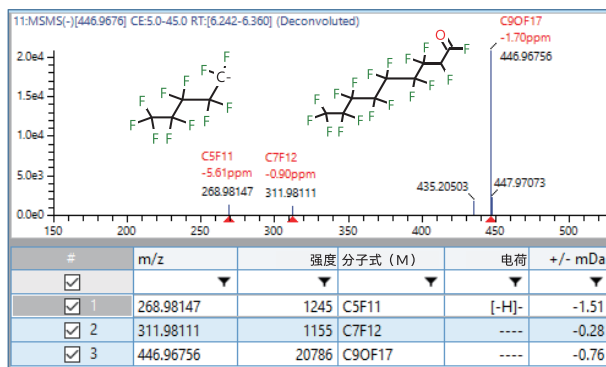


图 4 6.26 min 处 (m/z 446.9676) 前体峰的去卷积 MS/MS 谱图; 归属: 2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-十六氟壬酰氟, C₉HOF₁₇, 来自 ChemSpider。

参考文献

- Brahm Prakash, et. al., "Ultra-fast LC-MS/MS analysis of PFAS in environmental samples", Shimadzu White Paper (2019).
- Wang Z. et. al., "A Never-Ending Story of PFASs?", *Env. Sci. & Tech.*, Vol. 51 (5), 2017, 2508-2518.
- Y. Liu et al., "High-resolution mass spectrometry methods for non target discovery and characterization of PFASs in environmental and human samples", *Trends in Ana. Chem.*, Vol 121 Dec 2019, 115420
- Lee J. X. et. al., "Development of Screening Analysis Method for PFAS in Surface Water on LC-Q-TOF", Shimadzu Application News, AD-0200A (2020),
- Jeremy P. Koelmel et. al., "Toward Comprehensive PFAS Annotation Using FluoroMatch Software and Intelligent HR Tandem Mass Spectrometry Acquisition", *Anal. Chem.* 2020, 92, 16, 11186-11194.

岛津应用云



Shim-pack 和 LabSolutions Insight Explore 是岛津制作所或其附属公司在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2022 年 10 月