

# LCMS-Q-TOF 结合 FluoroMatch 软件用于环境基质中 PFAS 非靶向分析

## LCMS-QTOF-089

**摘要：** 本文利用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱联用系统，结合 FluoroMatch 软件，建立了水、土壤和沉积物中 PFAS 非靶向分析方法。51 种 PFAS 混标，用于靶向 / 非靶向验证分析流程，LabSolutions Insight Explore 软件用于 PFAS 靶向筛查；FluoroMatch 软件用于 PFAS 非靶向筛查，经过峰提取，Kendrick Mass Deficit 归一化，对地表水、污水、土壤、沉积物中 PFAS 进行定性确认，在污水、土壤、沉积物中共发现了 7 种新的 PFAS 物质。

**关键词：** 非靶向筛查 全氟化合物 (PFAS) 环境 LCMS-QTOF FluoroMatch

### 技术特点：

- ❖ 建立了 PFAS 靶向 / 非靶向筛查流程，5 ng/L 地表水加标，分离良好，灵敏度高。
- ❖ 应用 FluoroMatch 软件进行非靶向筛查，发现了 7 种新的 PFAS。

全氟化合物 (Per- and Polyfluoroalkyl Substances, PFAS) 由于独特的物理化学性质，如降低表面张力、较好的稳定性、疏水性以及亲水性，被应用于铬雾抑制剂、灭火剂、表面活性剂、不粘锅、纺织服装、农药、涂料、食品包装。因其广泛的应用和较强的环境持久性，PFASs 在全球范围内的空气、土壤、沉积物、野生动物甚至极地冰川等中被检出。毒理研究表明，PFAS 会对实验动物造成肝脏毒性、发育与生殖毒性、遗传和免疫毒性以及致癌性。

全氟辛酸及其盐类和相关化合物 (PFOA 类)、全氟辛基磺酸及其盐类和全氟辛基磺酰氟 (PFOS 类) 被国际社会公认为“永久化学物质”，2022 年国家将其纳入重点管控新污染物清单范围。

基于岛津特色的 AOE-LCMSMS 系统，已建立了约 50 种 PFAS 物质的靶向 LCMSMS 分析方法，然而，PFAS 类物质有 10000+，很多 PFAS 尚未关注。因此，基于高分辨质谱的非靶向筛查 (PFAS NTA) 技术有助于全面了解 PFAS 组成及暴露情况，有利于毒性研究及污染治理。FluoroMatch 软件是一款专业的 PFAS 非靶向筛查软件，内置了 PFAS 公共库，采用 Kendrick Mass Deficit (KMD) 进行数据过滤，全面兼容岛津 LCMS-QTOF 数据。

本文利用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱联用系统，结合 FluoroMatch 软件，建立水、土壤和沉积物中 PFAS 非靶向分析方法，供相关人员参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱系统 - 四极杆飞行时间质谱 LCMS-9050，具体配置如下：

系统控制器：	CBM-40Lite	输液泵：	LC-40B X3
自动进样器：	SIL-40C X3	柱温箱：	CTO-40S
色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.118, LabSolutions Insight Ver.4.2	质谱仪：	LCMS-9050

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱： Shim-pack Scepter C18-120(100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-31026-05)  
 流动相： A相 -2mM 乙酸铵水溶液; B相 - 甲醇  
 流速： 0.3 mL/min  
 柱温： 40°C  
 进样体积： 2 μL  
 洗脱方式： 梯度洗脱, B相初始浓度为 15%, 时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	流量 (mL/min)	泵 A 浓度 (%)	泵 B 浓度 (%)
2.00	0.3	85	45
12.00	0.3	2	95
15.00	0.3	2	95
15.10	0.3	2	15
18.00	0.3	85	15

#### 质谱条件

离子源： ESI- 加热模块温度： 400°C  
 雾化气流速： 3.0 L/min D L 温度： 150°C  
 加热气流速： 17.0 L/min 接口温度： 250°C  
 干燥气流速： 3.0 L/min 接口电压： -1.0 kV  
 MS 参数： MS+DDA(10), m/z100-1000, 动态 CE 能量 (10-55 eV)

## ■ 样品前处理

### 2.1 标准溶液配制

全氟化合物混合标准溶液和混合内标标准溶液, 甲醇稀释溶解, 放置于 -20°C 冰箱中保存。全氟标品信息如下表 2 所示, 包括 PFCA (全氟羧酸类)、PFSA (全氟磺酸类)、FASA (全氟烷磺酰胺)、FTCA (氟调聚体羧酸)、X:2FTS (氟调聚物磺酸盐)、FTUCA (氟调聚物不饱和羧酸)、PFECA (全氟和多氟烷基醚羧酸)、CI-PFESA (氯全氟烷基醚磺酸盐) 等 51 种。

表 2 51 种 PFAS 标准样品信息

ID	缩写	化合物	CAS 号	分子式	理论 m/z
1	PFBA	Perfluorobutanoic acid	375-22-4	C <sub>4</sub> HF <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	212.9792
2	PFPeA	Perfluoropentanoic acid	2706-90-3	C <sub>5</sub> HF <sub>9</sub> O <sub>2</sub>	262.9760
3	PFHxA	Perfluorohexanoic acid	307-24-4	C <sub>6</sub> HF <sub>11</sub> O <sub>2</sub>	312.9728
4	PFHpA	Perfluoroheptanoic acid	375-85-9	C <sub>7</sub> HF <sub>13</sub> O <sub>2</sub>	362.9696
5	PFOA	Perfluorooctanoic acid	335-67-1	C <sub>8</sub> HF <sub>15</sub> O <sub>2</sub>	412.9664
6	PFNA	Perfluorononanoic acid	375-95-1	C <sub>9</sub> HF <sub>17</sub> O <sub>2</sub>	462.9632
7	PFDA	Perfluorodecanoic acid	335-76-2	C <sub>10</sub> HF <sub>19</sub> O <sub>2</sub>	512.9600
8	PFUnDA	Perfluoroundecanoic acid	2058-94-8	C <sub>11</sub> HF <sub>21</sub> O <sub>2</sub>	562.9568

9	PFD <sub>o</sub> DA	Perfluorododecanoic acid	307-55-1	C <sub>12</sub> HF <sub>23</sub> O <sub>2</sub>	612.9537
10	PFT <sub>r</sub> DA	Perfluorotridecanoic acid	72629-94-8	C <sub>13</sub> HF <sub>25</sub> O <sub>2</sub>	662.9505
11	PFT <sub>e</sub> DA	Perfluorotetradecanoic acid	376-06-7	C <sub>14</sub> HF <sub>27</sub> O <sub>2</sub>	712.9473
12	PFH <sub>x</sub> DA	Perfluorohexadecanoic acid	67905-19-5	C <sub>16</sub> HF <sub>31</sub> O <sub>2</sub>	812.9409
13	PFODA	Perfluoro-n-octadecanoic acid	16517-11-6	C <sub>18</sub> HF <sub>35</sub> O <sub>2</sub>	912.9345
14	PFBS	Perfluorobutanesulfonic acid	375-73-5	C <sub>4</sub> HF <sub>9</sub> O <sub>3</sub> S	298.9430
15	PFPeS	Perfluoropentanesulfonic acid	2706-91-4	C <sub>5</sub> HF <sub>11</sub> O <sub>3</sub> S	348.9398
16	PFH <sub>x</sub> S	Perfluorohexanesulfonic acid	355-46-4	C <sub>6</sub> HF <sub>13</sub> O <sub>3</sub> S	398.9366
17	PFH <sub>p</sub> S	Perfluoroheptanesulfonic acid	375-92-8	C <sub>7</sub> HF <sub>15</sub> O <sub>3</sub> S	448.9334
18	PFOS	Perfluorooctanesulfonic acid	1763-23-1	C <sub>8</sub> HF <sub>17</sub> O <sub>3</sub> S	498.9302
19	PFNS	Perfluorononanesulfonic acid	68259-12-1	C <sub>9</sub> HF <sub>19</sub> O <sub>3</sub> S	548.9270
20	PFDS	Perfluorodecanesulfonic acid	335-77-3	C <sub>10</sub> HF <sub>21</sub> O <sub>3</sub> S	598.9238
21	PFUnDS	perfluoroundecanesulfonic acid	749786-16-1	C <sub>11</sub> HF <sub>23</sub> O <sub>3</sub> S	648.9206
22	PFD <sub>o</sub> DS	Perfluorododecanesulfonic acid	79780-39-5	C <sub>12</sub> HF <sub>25</sub> O <sub>3</sub> S	698.9174
23	FBSA	Perfluoro-1-butanesulfonamide	30334-69-1	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> F <sub>9</sub> NO <sub>2</sub> S	297.9590
24	FH <sub>x</sub> SA	Perfluoro-1-hexanesulfonamide	41997-13-1	C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> F <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> S	397.9526
25	FOSA	Perfluorooctanesulfonamide	754-91-6	C <sub>8</sub> H <sub>2</sub> F <sub>17</sub> NO <sub>2</sub> S	497.9462
26	NMeFOSA	N-methylperfluoro-1-octanesulfonamide	31506-32-8	C <sub>9</sub> H <sub>4</sub> F <sub>17</sub> NO <sub>2</sub> S	511.9619
27	NEtFOSA	N-ethylperfluoro-1-octanesulfonamide	4151-50-2	C <sub>10</sub> H <sub>6</sub> F <sub>17</sub> NO <sub>2</sub> S	525.9775
28	N-Me-FOSAA	Glycine, N-[(heptadecafluorooctyl) sulfonyl]-N-methyl-	2355-31-9	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> F <sub>17</sub> NO <sub>4</sub> S	569.9673
29	N-Et-FOSAA	N-Ethylperfluorooctane sulfonamidoacetic acid	2991-50-6	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> F <sub>17</sub> NO <sub>4</sub> S	583.9830
30	3:3 FTCA	3-Perfluoropropyl propanoic acid	356-02-5	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> F <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	241.0105
31	5:3 FTCA	3-Perfluoropentyl propanoic acid	914637-49-3	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> F <sub>11</sub> O <sub>2</sub>	341.0041
32	7:3 FTCA	3-Perfluoroheptyl propanoic acid	812-70-4	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> F <sub>15</sub> O <sub>2</sub>	440.9977
33	6:2 FTCA	2-Perfluorohexyl ethanoic acid	53826-12-3	C <sub>8</sub> H <sub>3</sub> F <sub>13</sub> O <sub>2</sub>	376.9853
34	8:2 FTCA	2-Perfluorooctyl ethanoic acid	27854-31-5	C <sub>10</sub> H <sub>3</sub> F <sub>17</sub> O <sub>2</sub>	476.9789
35	10:2 FTCA	2-Perfluorodecyl ethanoic acid	53826-13-4	C <sub>12</sub> H <sub>3</sub> F <sub>21</sub> O <sub>2</sub>	576.9725
36	4:2 FTS	Sodium 1H,1H,2H,2H-perfluorohexanesulfonate	757124-72-4	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> F <sub>9</sub> O <sub>3</sub> S	326.9743
37	6:2 FTS	Sodium 1H,1H,2H,2H-perfluorooctanesulfonate	27619-97-2	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> F <sub>13</sub> O <sub>3</sub> S	426.9679
38	8:2 FTS	Sodium 1H,1H,2H,2H-perfluorodecanesulfonate	39108-34-4	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> F <sub>17</sub> O <sub>3</sub> S	526.9615
39	FHUEA	2H-Perfluoro-2-octenoic acid	70887-88-6	C <sub>8</sub> H <sub>2</sub> F <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	356.9790
40	FOUEA	2H-Perfluoro-2-decenoic acid	70887-84-2	C <sub>10</sub> H <sub>2</sub> F <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	456.9727
41	FDUEA	2H-Perfluoro-2-dodecenoic acid	70887-94-4	C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> F <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	556.9663

42	HFPO-DA	Hexafluoropropylene dimer acid	13252-13-6	C <sub>6</sub> HF <sub>11</sub> O <sub>3</sub>	328.9677
43	HFPO-TA	Hexafluoropropylene trimer acid	13252-14-7	C <sub>9</sub> HF <sub>17</sub> O <sub>4</sub>	494.9531
44	NaDONA	Sodium dodecafluoro-3H-4,8-dioxanonoate	919005-14-4	C <sub>7</sub> H <sub>2</sub> F <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	376.9689
45	3,6-OPHpA	Perfluoro-3,6-dioxaheptanoic acid	151772-58-6	C <sub>5</sub> HF <sub>9</sub> O <sub>4</sub>	294.9658
46	PF4OPeA	Perfluoro-4-oxapentanoic acid	377-73-1	C <sub>4</sub> HF <sub>7</sub> O <sub>3</sub>	228.9741
47	PF5OHxA	Perfluoro-5-oxahexanoic acid	863090-89-5	C <sub>5</sub> HF <sub>9</sub> O <sub>3</sub>	278.9709
48	6:2 Cl-PFAES	Potassium 9-chlorohexadecafluoro-3-oxanonane-1-sulfonate	756426-58-1	C <sub>8</sub> HClF <sub>16</sub> O <sub>4</sub> S	530.8956
49	8:2 Cl-PFAES	Potassium perfluoro(2-ethoxyethane) sulfonate	763051-92-9	C <sub>10</sub> HClF <sub>20</sub> O <sub>4</sub> S	630.8892
50	6:2 diPAP	Sodium bis(1H,1H,2H,2H-perfluorooctyl) phosphate	150033-29-7	C <sub>16</sub> H <sub>9</sub> F <sub>26</sub> PO <sub>4</sub>	788.9751
51	8:2 diPAP	Sodium bis(1H,1H,2H,2H-perfluorodecyl) phosphate	114519-85-6	C <sub>20</sub> H <sub>9</sub> F <sub>34</sub> PO <sub>4</sub>	988.9623

## 2.2 实际样品前处理

水、土壤和沉积物前处理参考“HJ1333-2023”和“HJ-1334-2024”标准。

## 2.3 数据采集、数据处理

岛津 LabSolutions(ver 5.118) 软件，用于数据采集，外标法校正，同时依据表 2，设定优先离子列表；MIC 图绘制、靶向筛查等采用岛津 LabSolutions Insight Explore (ver 4.2) 软件；FluoroMatch (ver 5.3 Beta, Innovative Omics 公司) 软件用于 PFAS 非靶向分析流程。

分析流程有两种，如下图 1 所示：a) 使用 LabSolutions Insight Explore 进行峰提取，手工对齐后，使用 FluoroMatch 软件进行注释、同源系列分组及评分；b) 使用 LabSolutions 软件将 .lcd 文件转为 .mzML 格式文件，然后使用 FluoroMatch 软件进行峰提取对齐、空白过滤、注释、同源系列分组、打分等过程。

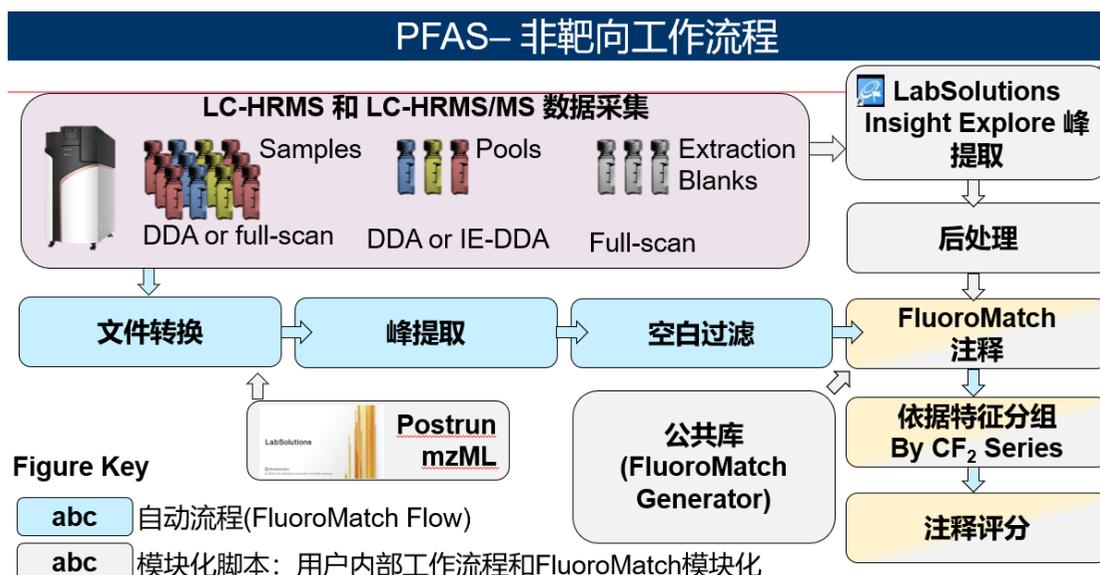


图 1 全氟化合物非靶向分析流程

## ■ 实验结果

### 3.1 色谱图

51 种 PFAS 标品用于验证非靶向分析的流程，色谱图如图 2 所示，PFAS 的峰形和分离度均表现良好。

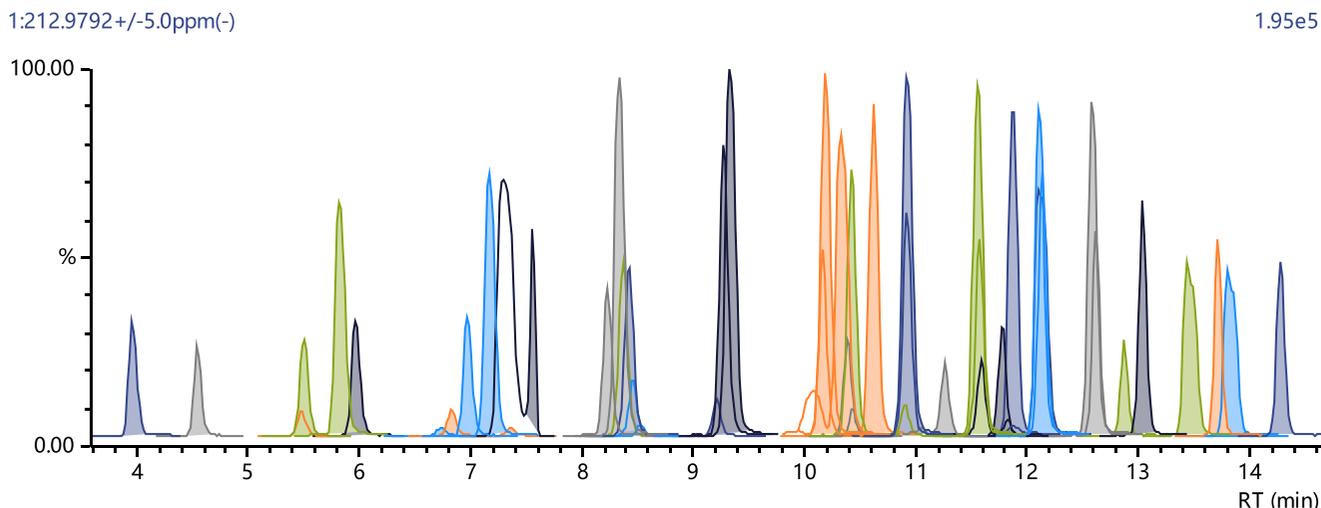


图 2 全氟化合物标准溶液色谱图 (10 ng/mL)

### 3.2 LabSolutions Insight Explore 分析流程

LabSolutions Insight Explore 软件拥有 Formula Calculator、Analyze、Precursor、Assign 和 Library 功能，可以实现依据精确质荷比及同位素峰形进行分子式预测、智能峰提取及分组，DDA 模式前体离子汇总，二级质谱图碎片峰归属及高分辨二级质谱库匹配功能。LabSolutions Insight Explore 软件用于 PFAS 筛查的流程如下图 3 所示。

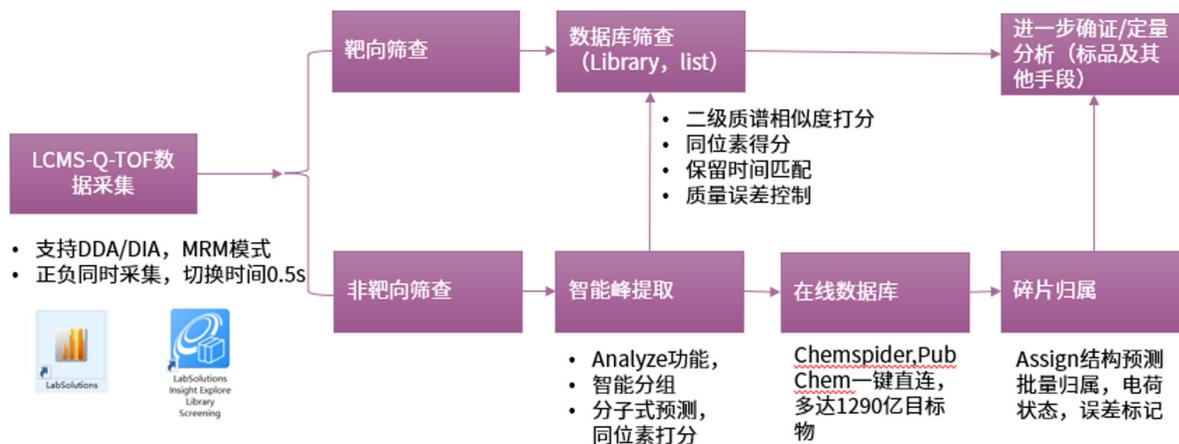


图 3 PFAS 筛查的流程 (LabSolutions Insight Explore)

使用 LabSolutions Insight Explore 开展地表水加标样品 (加标浓度 5 ng/L) 靶向 / 非靶向筛查，结果如下图 4 所示，依据保留时间、一级精确质荷比误差及同位素峰形、二级质谱图相似度进行加权得到综合评分，综合得分在 0-100 分之间，得分越高，定性可靠性越强，PFOA 筛查综合得分 84.65 分，软件自带丰富的标记功能，谱库匹配结果异常以红色底色显示。地表水加标样品，峰形良好，如下图 5 所示。

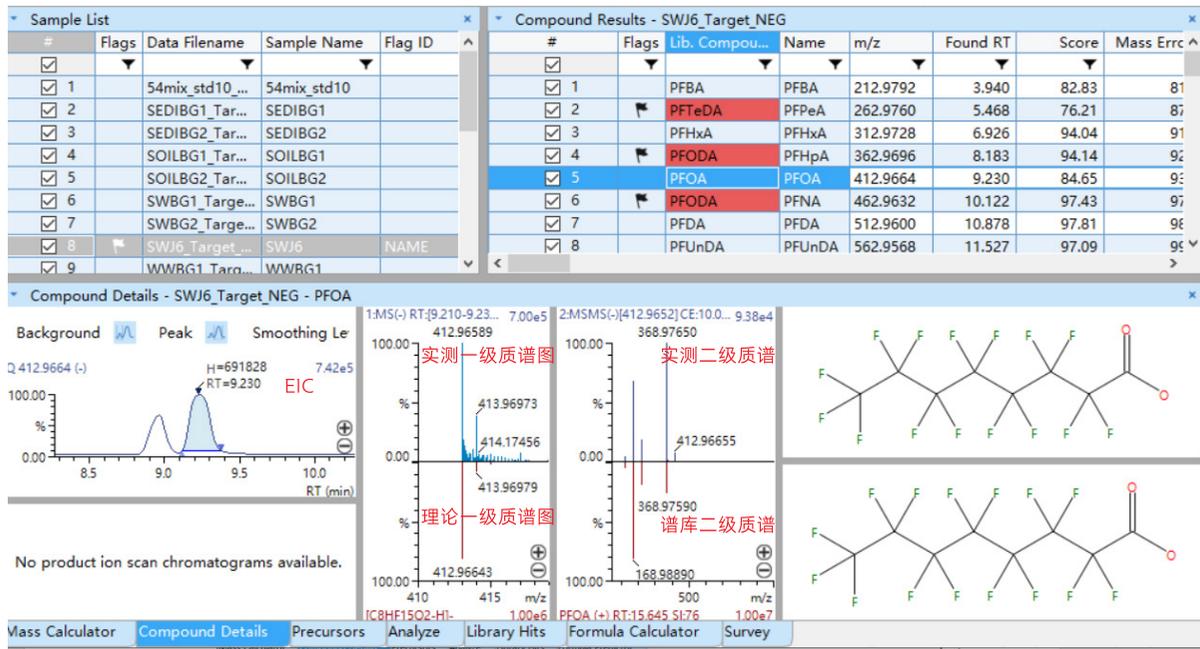


图4 PFAS 靶向筛查视图 (LabSolutions Insight Explore)

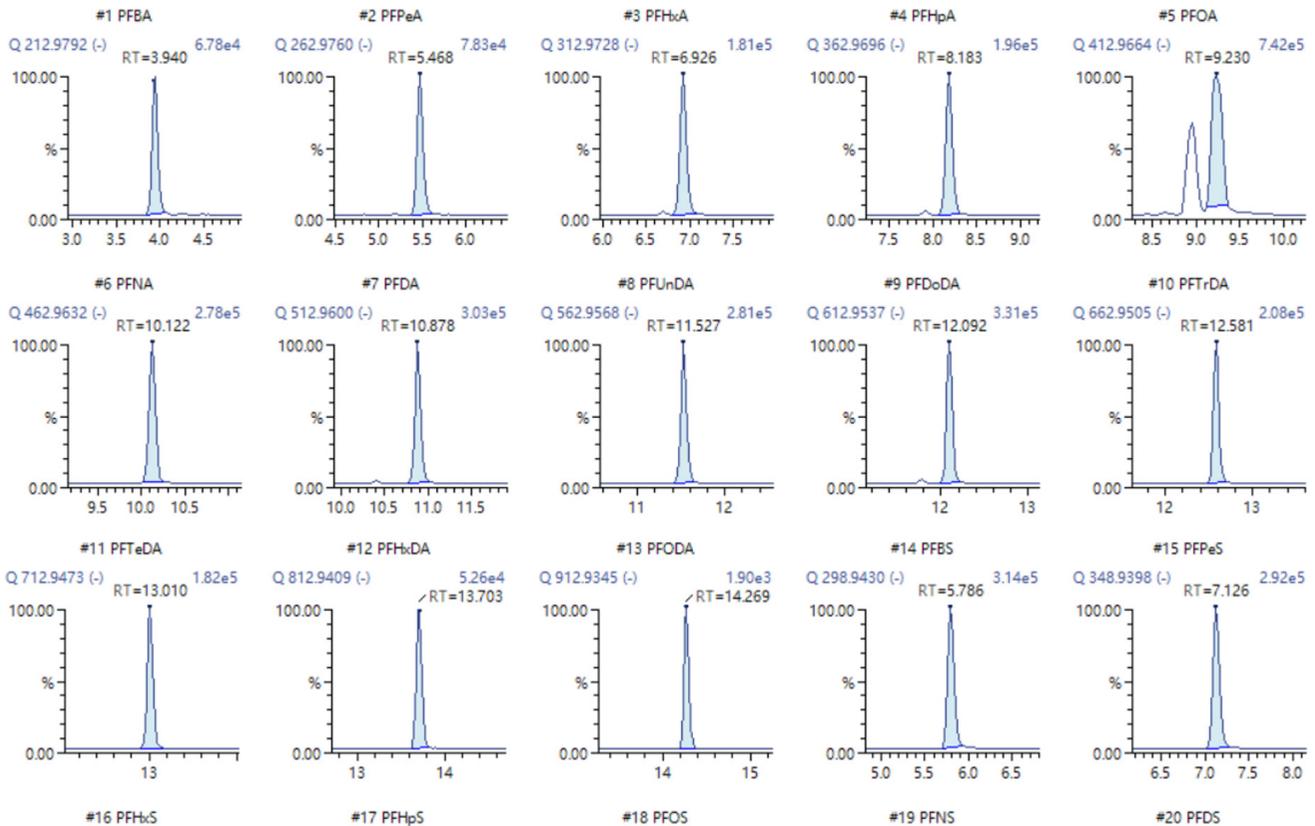


图5 地表水加标样品 PFAS 色谱图 - 加标浓度 5 ng/L (部分)

### 3.3 FluoroMatch 分析流程

#### 3.3.1 FluoroMatch Flow 软件分析流程



a) 在岛津 LabSolutions 软件 postrun(再解析)中,对“.lcd”格式数据进行批量的格式转换,转换后的“.mzML”通用格式文件可用 FluoroMatch 分析。

b) FluoroMatch 软件的下载请前往 Innovative Omics 官网,同时安装 Java-64bit (Open JDK) 环境。

- 在“.mzML”格式数据导入前,请将文件名称进行规范化修改,所有数据应以“\_Neg.mzML”结尾;

- 用于 MS/MS 注释的数据,文件名应包含“\_ddMS2\_”;

- 用于非靶向筛查的数据,文件名应包含“\_Target\_”,“\_Target\_”文件同时也是峰对齐的参考文件,一次运行过程允许多个“\_Target\_”文件;此外,需要至少 3 个空白文件,用于空白过滤,文件名应包含“\_Blank\_”。

c) 软件界面如下图 6 所示,在最小峰高、噪音设置时要注意,MS1 信号高度 > 3 \* 噪音,主要参数如下表 3 所示。

表 3 FluoroMatch 软件参数设置

软件参数	参数设定值
Peak picking Algorithm	Mzmine 2
Full-scan Peak Height Minimum	500
Noise Level (MS1)	50
Full-scan Mass Accuracy Tolerance (ppm)	10
Full-scan Mass Accuracy Tolerance (Da)	0.007
MS/MS intensity threshold (annotation)	25
m/z Search Window MS/MS (ppm)	15

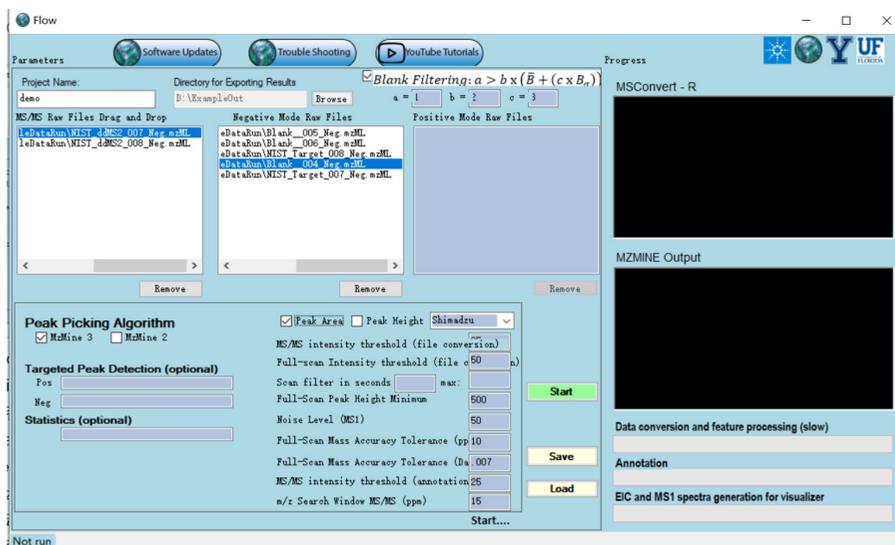


图 6 FluoroMatch 软件 Flow 界面

### 3.3.2 数据结果可视化 -Visulizer

FluoroMatch 软件运行结果以 .csv 格式文件输出，NeglDed\_FIN.csv 即为按同源序列和注释置信度排列的最终特征表，可视化使用 Visulizer (ver.4.10) 软件呈现，该软件需要安装 Power BI Desktop(Microsoft 公司) 运行环境。

经过 Kendrick mass deficit(KMD) 质量亏损公式 (1) 运算，对 CF<sub>2</sub> 进行归一化处理，即 CF<sub>2</sub>( 精确质量数 49.9968) 被设定为 50，因此，PFAS 同系物具有相同的质量亏损。如下表 4，PFCA 类 KMD 均为 -0.0071Da，在 Visulizer (ver.4.10) 软件界面呈现水平直线，不同类型的 PFAS，其 KMD 不同，人工确认时，对离群值要更多关注，如下图 7 所示。FluoroMatch 软件内置 EPA Master list，包含了 200000+PFAS 目标物 ( 计算机模拟计算 ) 的 KMD 信息以及特征碎片信息，这些信息有助于发现新的 PFAS 物质。

$$\text{Kendrick mass (CF}_2\text{)} = \text{observedmass} \times \frac{\text{nominal mass(CF}_2\text{)}}{\text{exact mass(CF}_2\text{)}} \quad (1)$$

表 4 KMD 示例 (PFCA)

	[M-H]-	kendrick Mass	Mass Deficit
PFBA	212.9793	212.9929	-0.0071
PFPeA	262.9761	262.9929	-0.0071
PFHxA	312.9729	312.9929	-0.0071
PFHpA	362.9696	362.9929	-0.0071
PFOA	412.9664	412.9929	-0.0071
PFNA	462.9632	462.9929	-0.0071
PFDA	512.9600	512.9929	-0.0071
PFUnDA	562.9568	562.9929	-0.0071
PFDoDA	612.9537	612.9929	-0.0071
PFTrDA	662.9505	662.9929	-0.0071
PFTeDA	712.9473	712.9929	-0.0071
PFHxDA	812.9409	812.9929	-0.0071
PFODA	912.9345	912.9929	-0.0071

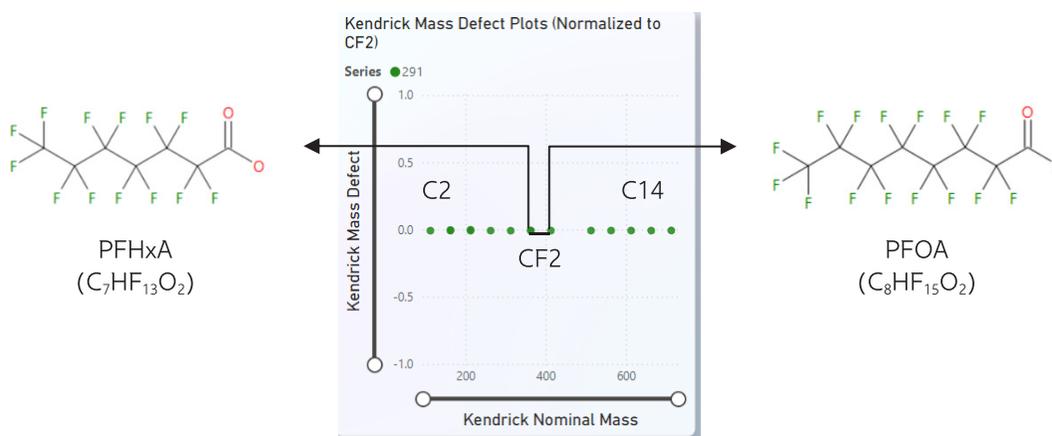


图 7 PFCA 类物质 KMD 视图 (Visulizer 软件)



## ■ 结论

本文利用岛津超高效液相色谱与四极杆飞行时间质谱联用系统，结合 FluoroMatch 软件，建立一种简单的 PFAS 非靶向筛查方法。该方法经过 51 种 PFAS 物质验证，并用于地表水、污水、土壤及沉积物中 PFAS 分析，用户可以参考该方法轻松实现专业的非靶向分析流程。

岛津应用云

