

应用纪要

使用UPLC™-MS/MS通过直接进样对地表水和饮用水中的三氟乙酸(TFA)和二氟乙酸(DFA)进行常规测定

Hannah Willmer, Stuart Adams, Janitha De-Alwis, Peter Hancock

Waters Corporation

摘要

本研究的目的是展示通过直接进样测定地表水和饮用水中TFA和DFA的UPLC-MS/MS方法。此方法性能研究采用ACQUITY™ UPLC I-Class PLUS系统，并结合Xevo™ TQ-XS和电喷雾离子源，以及Waters™ Atlantis™ Premier BEH C₁₈ AX色谱柱。通过移液到聚丙烯样品瓶中并加入内标制备样品。

使用三种常见的饮用水源研究主要方法性能，包括来自已知软水和硬水区域的自来水、瓶装矿泉水，以及从水库与河流两种环境采样的地表水。除评估被测的残留浓度外，还分析了300、500和1000 ng/L的加标样品，每个浓度3个重复样。两种化合物都使用了内标，以监测和补偿任何变异性。在方法性能方面，所有基质中的平均正确度在80%~110%之间。所有化合物的RSD均小于等于9%，但有一个低加标水平的硬水样品的RSD在25%以内。

校正图残差值在20%以内，采用1/X权重的线性回归拟合，决定系数R²的值大于0.9995。通过软水自来水基质标准品200多次连续进样测得的保留时间稳定性的RSD低于0.9%，整个评估中所有基质类型的RSD低于3.0%。

优势

- 小样品体积的样品前处理简单，可减少分析时间，提高样品通量，并减少样品污染来源
- 使用UPLC-MS/MS方法在7分钟内即可检测和定量TFA和DFA，分析灵敏度高，可测定浓度低至10 ng/L的残留
- 一个监测饮用水和环境地表水基质中DFA和TFA的稳定且可靠的解决方案

简介

鉴于法规对水中全氟烷基和多氟烷基化合物的监测和限制需求日益增加且要求更加严格，相较于更常见的长链PFAS，人们如今开始将目光转向短链PFAS。TFA和DFA是超短链PFAS，由一个经2或3个氟氟化的碳定义，在PFAS分析中经常被忽略。

TFA以脱质子形式存在于世界各地的盐水和淡水中，高度稳定且易于移动。TFA可以自然形成，通过风可以传播很远的距离，并倾向于进入水中，因为它在土壤中难以保留。此外，也有越来越多的TFA通过各种人为来源进入水体，要么直接来自工业废水及废水处理，要么作为无数物质的分解产物（当存在含有三氟甲基(-CF₃)的适当前体时，形成来源可能是农药、药品和制冷剂）。

TFA可能会在终端水体和植物中积聚，给水生生物带来潜在风险，并通过饮用水增加了人类接触的风险。由于这些物质具有高极性和高水溶性，因此认为它们在人体中生物积累的可能性很低，正如短链全氟丁烷磺酸(PFBS)所示²。然而，仍在人体中检出这些化合物。

最近，德国联邦环境署(UBA)发布了饮用水中TFA的修订指导值([Trifluoressigsäure \(TFA\)–Gewässerschutz im Spannungsfeld von toxikologischem Leitwert, Trinkwasserhygiene und Eintragsminimierung](#).20.

[Oktober 2020.Umweltbundesamt](#) <

https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/362/dokumente/2020_10_20_uba_einordnung_tfa_leitwert

>)，基于改进的毒理学研究，将饮用水健康指导值设为60 µg/L，目标值设为10 µg/L（分别为60,000 ng/L和10,000 ng/L）。这一毒理学合理值是根据TFA的终生每日可耐受摄入量设置的，不会对人体健康造成伤害。该指南值取代了3 µg/L（毒理学数据不完整时适用的最大值）的健康指导值(GOW)³，由此，启动了对河流和小溪的扩展监测项目，以确定潜在的TFA排放源(<https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/dischargers> <<https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/dischargers>>)和导致高浓度的排放路线。

这些化合物的分析测定具有挑战性，它们所具有的高极性导致反相液相色谱法所提供的保留性较低²，而不同来源的实际水样中天然存在的各种离子组合和浓度进一步增加了挑战。另一个重要的分析注意事项是，在尝试达到较

低ng/L范围的LOQ时，应避免引入污染。实验室消耗品和试剂在使用前进行了筛选，在分析过程中没有发现TFA和DFA污染。

本应用纪要通过分析来自饮用水和地表水基质的五个水样，展示了ACQUITY UPLC I-Class PLUS与Xevo TQ-XS联用的性能。这些样品分成几等份装入含有内标的聚丙烯自动进样器样品瓶中，并直接进样至UPLC-MS/MS，无需任何额外的浓缩或净化步骤。

实验

样品描述

从英国的饮用水和地表水源收集一公升水，储存于50 mL离心管中，置室温下以备分析。地表水包括从各种水源和地点采样的水，如小溪、河流和水库，矿泉水购自英国零售商店，并于室温下储存在原始矿泉水瓶中。德国亥姆霍兹环境研究中心(UFZ)热心提供了来自德国东南部水源的更多地表水和地下水样品。由于要求的检测限低至ng/L范围，而且消耗品和试剂等可能带来TFA污染，所以在收集、制备和分析样品之前，根据是否含有DFA和TFA对实验室材料进行了筛选。

在分析PFAS等化合物时，液相色谱系统中的组件也可能造成污染。因此，为了尽量减少这些影响，我们采取了预防措施，安装了由不含PFAS的组件构成的PEEK溶剂管路(P/N: 430002198)，来取代传统的Teflon涂层溶剂管路，它也是PFAS套件(P/N: 205000588)中的一个组件。本应用未使用Isolator色谱柱。

方法条件

将490 μ L水样分成几等份，直接装入聚丙烯自动进样器样品瓶(P/N: 186005219 <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186005219-polypropylene-12-x-32-mm-screw-neck-vial-700--l-volume-100-pk.html>>)中，向每个样品瓶中加入10 μ L同位素标记的内标，其中包含2500 ng/L TFA- $^{13}\text{C}_2$ (TRC)和DFA- $^{13}\text{C}_2$ (拜耳)。用预开口PTFE/硅胶隔垫盖(P/N: 186000305) <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/vials-containers--collection-plates/186000305-blue-12-x-32-mm-screw-neck-cap-and-preslit-ptfe-silicone-septum-.html>> 密封样品瓶以供UPLC-MS/MS直接进样。这些瓶盖在使用前进行了适用性筛选。

使用Milli-Q系统分配的超纯水制备空白样和标样，两种分析物的范围为10~25000 ng/L。使用内标校正，根据校正标准品对加标回收样品进行定量，并计算了标准加入以进行比较。对5种基质进行了回收加标，在被测的残留水平

上加标，每种化合物分别加标300 ng/L、500 ng/L和1000 ng/L，每个水平3个重复样。这些水平是根据样品中预期的典型残留水平选择的。表1总结了每个回收水平包含被测残留的最终浓度值。

基质	加标浓度	包含被测残留的回收浓度 (ng/L)	
		DFA	TFA
地表水： 水库	低	300	407
	中等	500	607
	高	1000	1107
地表水： 河流	低	348	843
	中等	548	1043
	高	1048	1543
饮用水： 硬水自来水	低	300	508
	中等	500	708
	高	1000	1208
饮用水： 软水自来水	低	300	536
	中等	500	736
	高	1000	1236
饮用水： 矿泉水	低	300	723
	中等	500	923
	高	1000	1423

表1.所有样品在被测的残留水平上加标300 ng/L、500 ng/L和1000 ng/L的最终回收浓度。

标准加入定量

虽然最终报告的浓度是通过在校正曲线上绘图计算出来的，但残留浓度也可以通过使用TargetLynx数据处理方法中的标准加入函数自动定量。为使程序有效进行，一部分样品作为空白样分析，其他部分则以一个或多个浓度水平加标目标化合物，加标的浓度水平与样品中预期的浓度相对应。研究的加标浓度水平为300、500和1000 ng/L。分析样品后得到一条校正曲线，通过将校正曲线外推为 $y=0$ 自动计算浓度，得到的x值镜像在y轴上。使用TargetLynx的自动标准加入函数计算软水自来水中TFA残留的示例如图1所示。

化合物名称: TFA
 相关系数: $r = 0.995003$, $r^2 = 0.990031$
 校正曲线: $0.00995317 * x + 2.40129$
 响应类型: 内标 (参比3), 峰面积*(内标浓度/内标峰面积)
 曲线类型: 线性, 原点: 排除, 权重: $1/x$, 轴转: 无
 标准加入浓度: 241.259

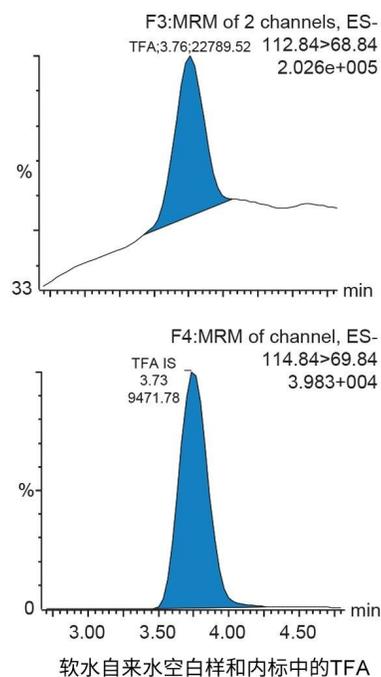
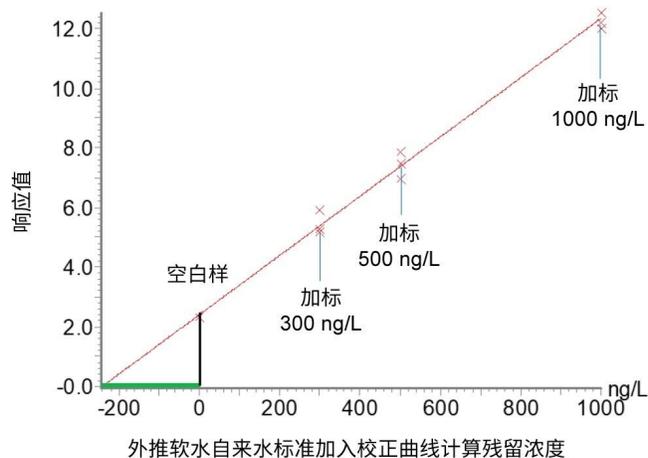


图1. TargetLynx的标准加入函数, 以及软水自来水空白样中TFA的色谱图。绿线表示x轴上小于0的外推曲线, 用于计算被测的残留浓度。得到的残留浓度显示在校正曲线窗口的标题中 (以蓝色突出显示)。

本应用使用MRM通道表中列出的MRM通道定量并确认残留。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。

液相色谱条件

液相色谱系统: ACQUITY UPLC™ I-Class PLUS
 与配备PFAS套件(P/N:
 205000588)的流通针式(FTN)
 样品管理器

样品瓶: 聚丙烯材质12 × 32 mm螺纹口
 样品瓶, 带瓶盖和预切割PTFE/
 硅胶隔垫, 容积700 μL (P/N:

186005221)

色谱柱: Atlantis™ Premier BEH C₁₈
AX, 1.7 μm, 2.1 mm X 100 mm
(P/N: 186009368)

柱温: 60 °C

样品温度: 15 °C

进样体积: 20 μL

流速: 0.500 mL/min

流动相A: 含0.001%甲酸的2 mM乙酸铵

运行时间: 7分钟

质谱条件

质谱系统: Xevo™ TQ-XS

电离模式: ESI-

采集范围: MRM

毛细管电压: 0.5 kV

脱溶剂气温度: 575 °C

脱溶剂气流速: 1000 L/h

锥孔气流速： 150 L/h

离子源温度： 150 °C

MRM通道

化合物	保留时间 (min)	MRM通道 (母离子 > 子离子)	驻留时间 (s)*	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
TFA	3.83	112.9>68.9	0.330	8	10
		112.9>112.9			3
TFA- ¹³ C ₂	3.83	114.9>69.9	0.330	8	10
DFA	2.31	94.9>50.9	0.330	8	10
		94.9>94.9			3
DFA- ¹³ C ₂	2.31	96.9>51.9	0.330	8	10

*应用自动驻留功能

数据管理

信息学软件： MassLynx™ v4.2

结果与讨论

测定基质样品中的TFA和DFA时，如果使用不经样品纯化的直接进样法，天然存在的离子会给分析带来显著挑战。其中一种挑战是共流出干扰造成的信号抑制，这可以用同位素标记的内标进行校正。其他可观察到的影响还包括峰形、基线变化以及保留时间改变。

使用Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱可以克服这些挑战。当在适当的pH窗口内操作时，目标化合物利用阴离子交换(AX)机制和疏水作用来控制选择性和保留时间⁴。流动相缓冲液浓度、pH和有机改性剂是三个可以独立或同

时调整的关键变量，以尽可能提高所有分析物的分析性能⁴。

由于本应用使用的是高水相等度流动相条件，因此使用纯溶剂冲洗避免缓冲液沉淀的方法通常足以去除污染物积聚并防止有机物堆积在色谱柱上⁴。当观察到任何明显的峰形改变、峰分裂、肩峰、保留时间漂移、分离度改变或反压增加时，建议使用甲醇⁴。

样品pH与保留时间的关系

由于缺乏SPE净化，低浓度水平时，灵敏度是一大问题，因此使用了高达20 μL 的起始进样体积。样品上样越多，基质效应越明显。峰形不受进样体积增加的影响，但是对于TFA，实际样品和校正曲线之间的保留时间漂移更明显。内标的保留时间是一个有效的参考值，会根据天然分析物准确地变化。由于保留时间在同一基质和进样体积内是一致的和稳定的，不被视作漂移的结果，因此将样品性质作为可能的原因进行了研究。

被测水样的pH值在6.9至8.0之间。观察到保留时间和样品的碱度之间存在直接联系，而碱度与用于校正标准品和流动相的LCMS级水有关。样品的pH值越高、进样体积越大，与LCMS级水相比，保留时间变化越大。本研究测试了方法开发所用LCMS级水的pH值，发现5.7的微酸性增大了对pH值均为中性至微碱性的样品的影响。然而，这可能与制造商和测试的批次有关。

使用内部Milli-Q系统的超纯水来制备流动相和标样十分有效地缩小了保留时间的差距，因为它的pH值接近中性。至少运行了2升水，以确保水没有停留在系统中，并且将水分配到溶剂瓶中，这些溶剂瓶在使用前已用LCMS级甲醇和超纯水彻底清洗。水在使用前经过筛选，以确保没有任何残留化合物。

方法验证研究结果

方法评估采用来自Milli-Q系统的超纯水制得的校正标准品，校正曲线示例见图3。对于两种分析物，每张校正图都显示了使用1/X线性回归拟合的决定系数，且都在0.9995以上，各自的残差均在20%以内。图2还显示了在超纯水中加标的10 ng/L浓度水平的化合物的典型色谱图。

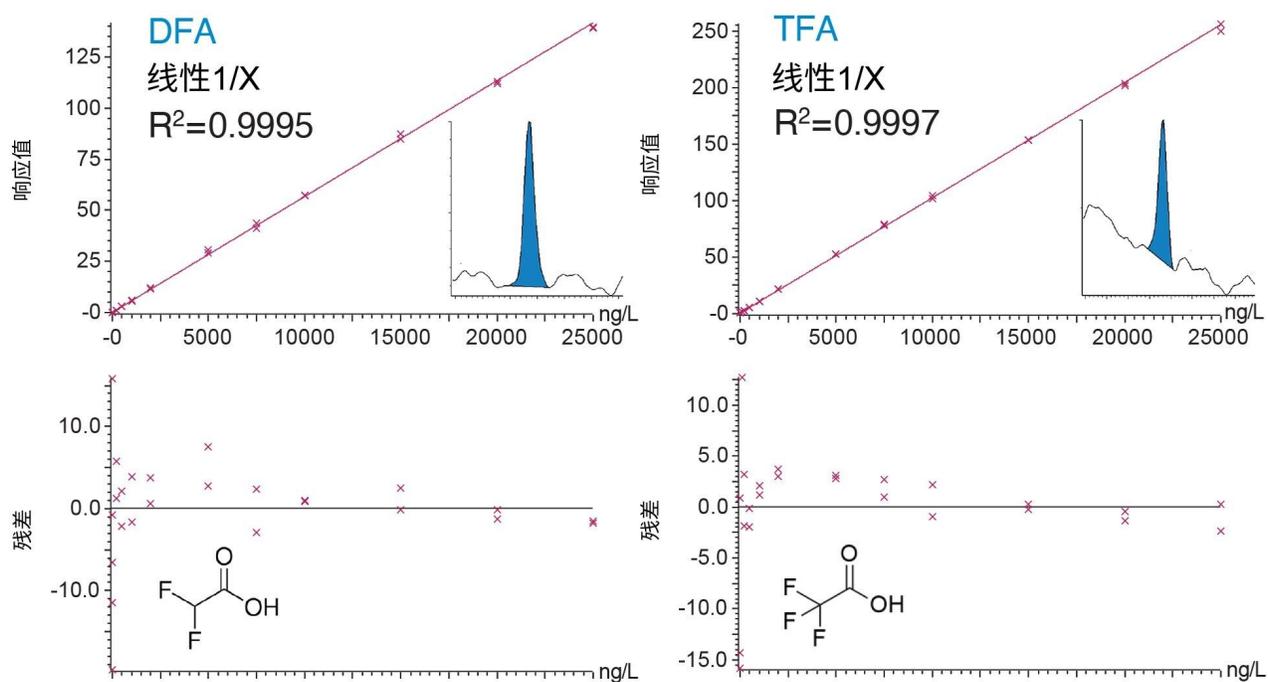


图2. (上) 超纯水中10~25000 ng/L DFA和TFA的分段式校正曲线，包括10 ng/L定量通道的色谱图。所有残差均在额定值的20%以内 (下)。

总的来说，图3中突出显示的回收率值可以总结方法性能，涵盖了5个不同性质的样品中几种典型类型的水：每个样品在被测的残留水平上分别加标300 ng/L、500 ng/L和1000 ng/L。包含被测残留水平的实际浓度如表1所示。

所有浓度水平和基质的化合物平均回收率在80%~110%之间，如图3所示。根据回收样品评估方法的重复性，对于两种化合物，大多数回收率的RSD都低于9%。RSD百分比值的总结见误差条柱。

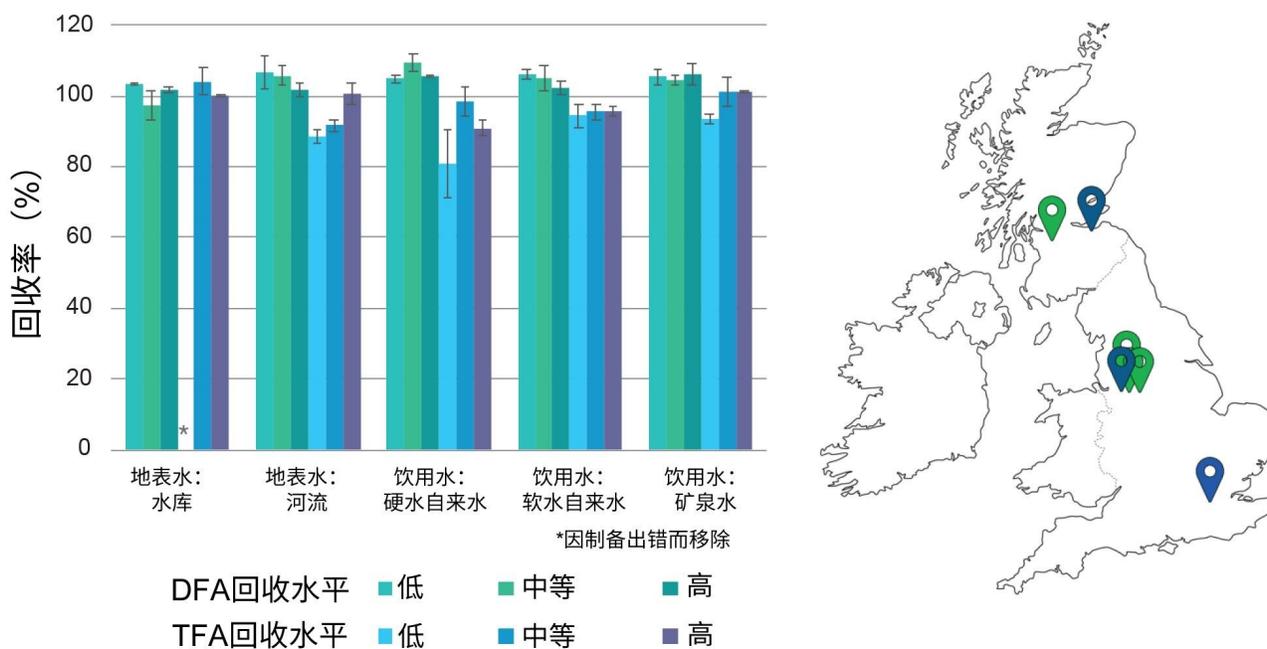


图3.在被测残留水平上加标300 ng/L、500 ng/L和1000 ng/L的各种水基质类型中DFA和TFA的方法回收率。误差条柱表示三个数据点中各化合物的RSD百分比。水从英国各地的不同水源收集而来（地图上绿色和蓝色的位置标签分别表示地表水和自来水源）。

在相对于超纯水标准品定量样品时，对DFA使用内标非常重要，因为一些更复杂的样品显示出信号减弱。虽然没有观察到TFA的信号丢失，但使用内标跟踪了超纯水标准品和基质样品之间的保留时间偏差，基质类型的响应稳定且一致。

测试的超纯水、自来水和地表水（总共10个水源，包括德国亥姆霍兹环境研究中心捐赠的水源）中，所有分析物的总体保留时间都在3%的RSD内，并在研究中证明了保留时间的稳定性，无论水的类型和来源如何。此外还对软水自来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200 ng/L基质匹配校准标样。样品中只加标了200 ng/L DFA，因为基质中已存在约200 ng/L内源性TFA。图4显示的是整个运行过程中的保留时间图。在整个运行期间，保留时间稳定，两种化合物的RSD都在0.9%以内，峰形没有显著变化。

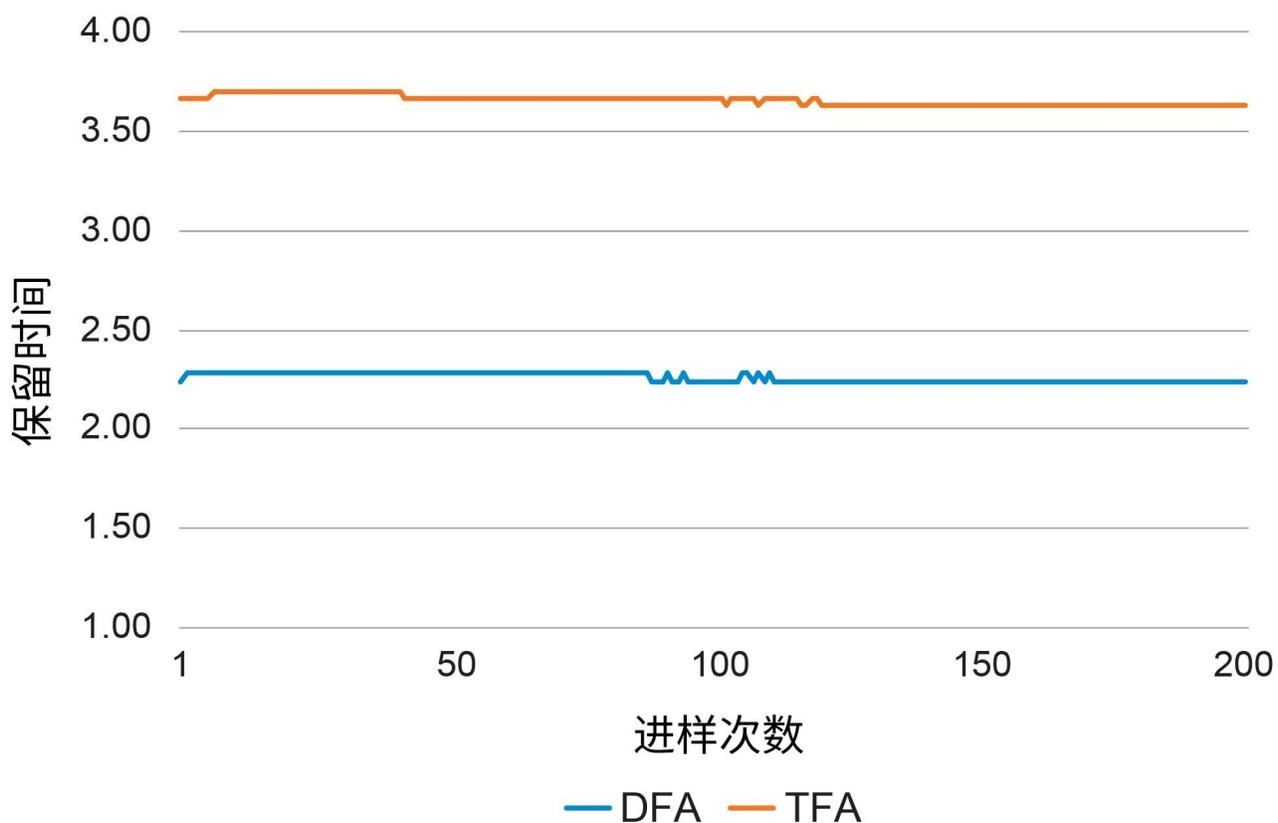


图4.200 ng/L软水自来水基质200次进样的DFA和TFA的保留时间稳定性 (RSD百分比值在0.9%以内)。

实际水样分析

标准加入法计算的被测残留样品浓度与使用超纯水的试剂标准品定量计算的浓度相当。使用内标后，两种化合物都可以定量。用超纯水校正曲线定量计算的被测残留浓度在10 ng/L以上的所有样品，测试结果都在标准加入法计算值的21%以内。这些结果的总结如表2所示。

基质	计算浓度 (ng/L)				差值 (%)	
	超纯水校正曲线		标准加入		DFA	TFA
	DFA	TFA	DFA	TFA	DFA	TFA
饮用水：硬水自来水	<10	208	10.5	210	N/A	1.0
饮用水：软水自来水	<10	236	17.8	241	N/A	2.1
饮用水：矿泉水	<10	423	<10	419	N/A	1.0
地表水：水库	<10	107	<10	122	N/A	13.1
地表水：河流	48	542	59	565	20.6	4.2

表2.用超纯水标准品校正曲线定量计算和标准加入法计算所得的被测样品残留浓度的对比。

通过观察内标信号可知所有基质类型中TFA的响应是一致的。对于DFA，河流和软水自来水样品表现出与试剂标准品有关的响应抑制。因此，当使用超纯水标准品校正曲线计算这些基质中该化合物的最终浓度时，需要使用内标来校正。

除了来自英国的基质外，也对UFZ从德国采集的地表和地下水样品进行了测试，包括来自农业和已知含有微量污染物的样品。DFA的浓度水平低于10 ng/L的可定量限值，然而，TFA的浓度水平是英国水源测试的最高浓度样品的10倍以上，范围为7700~21000 ng/L。

结论

方法验证研究表明，这种分析方法测定饮用水和环境地表水中TFA和DFA的稳定性良好。

LOQ为10 ng/L，直接进样，不需要额外的净化或浓缩步骤。使用Xevo TQ-XS和ACQUITY UPLC I-Class PLUS进行分析，并使用Atlantis Premier BEH C₁₈ AX色谱柱进行分离，以获得准确可靠的结果。

在3个基质QC水平下对5个样品基质进行3次重复进样以测定该UPLC-MS/MS方法的正确度和精密度，结果可接受，平均回收率在80%~110%之间，峰面积RSD值低于9%。只有一个例外，即低浓度水平加标的硬水样品，其TFA的RSD为19%。在研究过程中证明了保留时间稳定性和方法稳定性：在所有测试的基质和样品中，两种化合物的RSD都低于3%。

采用超纯水标准品的1/X线性校正曲线(10~25000 ng/L)定量计算了样品中DFA和TFA的浓度。也可以使用TargetLynx内的自动计算功能，通过标准加入法计算被测样品残留。在包括UFZ捐赠的样品在内的测试样品中，被测残留水平值的范围表明，在较低程度上，TFA和DFA几乎无处不在，这突出了检测和监测环境和饮用水中残留的必要性。

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。

致谢

感谢拜耳提供用于分析的同位素标记标准品DFA-¹³C₂。

感谢德国亥姆霍兹环境研究中心(UFZ)提供用于检测的地表水样品。

参考资料

1. Scheurer.M, Nödler.K, Freeling.F, *et al*, Small, mobile, persistent: Trifluoroacetate in the Water Cycle – Overlooked Sources, Pathways, and Consequences for Drinking Water Supply, *Water Research*, Volume 126, 460–471 (2017).
2. Björnsdotter.M.K., Yeung, L.W.Y., Kärrman, A. *et al*. Challenges in the Analytical Determination of Ultra-Short-Chain Perfluoroalkyl Acids and Implications for Environmental and Human Health.*Anal Bioanal Chem* 412, 4785–4796 (2020).
3. EUROPEAN FLUOROCARBONS TECHNICAL COMMITTEE (EFCTC)
www.fluorocarbons.org/environment/environmental-impact/tfa-as-an-atmospheric-breakdown-product/.Accessed May 2022.
4. Atlantis Premier BEH C18 AX Column care and Use Manual.Waters Manual [720006576EN](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/720006576en.pdf) <
<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/720006576en.pdf>> .2021 May.

特色产品

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

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

[MassLynx MS软件 <https://www.waters.com/513662>](https://www.waters.com/513662)

[TargetLynx <https://www.waters.com/513791>](https://www.waters.com/513791)

720007765ZH, 2022年10月

© 2022 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