

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2021061504

温勇, 顾茜, 崔昕毅. 小鼠器官中新型全氟化合物 QuEChERs 分析方法的建立与应用[J]. 环境化学, 2022, 41(10): 3125-3134.

WEN Yong, GU Qian, CUI Xinyi. Analysis of emerging per- and polyfluoroalkyl substances in mouse organs by QuEChERs[J]. Environmental Chemistry, 2022, 41 (10): 3125-3134.

小鼠器官中新型全氟化合物 QuEChERs 分析方法的建立与应用*

温勇 顾茜 崔昕毅**

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京, 210046)

摘要 六氟环氧丙烷二聚体铵盐 (HFPO-DA, 商品名 Gen X) 和六氟环氧丙烷三聚体羧酸 (HFPO-TA) 是目前最主要的全氟辛酸 (PFOA) 替代物. 建立了以 QuEChERs 为核心的小鼠器官中 HFPO-DA、HFPO-TA 和 PFOA 的检测方法. 小鼠器官样品经冻干粉粉碎后使用 0.2% 盐酸-乙腈溶液提取, 混合 N-丙基乙二胺、十八烷基键合硅胶和石墨化炭黑吸附剂做分散固相萃取净化, 采用超高效液相色谱串联三重四极杆质谱检测. 样品经 C18 色谱柱分离, 1 mmol·L⁻¹ 乙酸铵水-甲醇溶液做流动相. 结果表明, HFPO-DA、HFPO-TA 和 PFOA 在 5—500 μg·L⁻¹ 的浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.99. 在 5、10、100 μg·kg⁻¹ 的 3 个添加水平下的平均回收率为 64.8%—120%, 相对标准偏差为 0.6%—22.4%. 不同小鼠器官中的最小检出量为 0.016—0.077 μg·kg⁻¹, 最低定量限为 5.35×10⁻⁴—2.55×10⁻³ ng. 通过经口饲喂的方式将 3 种目标分析物暴露小鼠, 应用已建立方法测定 3 种目标分析物在小鼠器官中的累积程度. 检测发现, 3 种目标分析物总累积浓度次序为肝脏>肾脏>肺>心脏>大脑. 各器官中 HFPO-DA 的累积浓度均显著 (*P*<0.05) 低于 HFPO-TA 和 PFOA, 说明相比较于 HFPO-DA, PFOA 和 HFPO-TA 有更强的生物富集潜力.

关键词 QuEChERs, 新型全氟化合物, 全氟辛酸, 小鼠器官.

Analysis of emerging per- and polyfluoroalkyl substances in mouse organs by QuEChERs

WEN Yong GU Qian CUI Xinyi**

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing, 210046, China)

Abstract Ammonium hexafluoropropylene oxide dimer acid (HFPO-DA) and hexafluoropropylene oxide trimer acid (HFPO-TA) are the main alternatives for perfluorooctanic acid (PFOA). A QuEChERs-based novel method was established to simultaneously determine HFPO-DA, HFPO-TA, and PFOA in mouse organs. The mouse organs were extracted with a mixture of 0.2% HCl-acetonitrile, purified by dispersive solid-phase extraction with sorbents of N-propylethylenediamine, octadecyl bonded silica gel, and graphitized carbon black, and detected on ultra-performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry. The mixture of ammonium acetate aqueous solution (1 mmol·L⁻¹) and methanol was used as the mobile phase, and the target analytes

2021年6月15日收稿(Received: June 15, 2021).

* 国家重点研发计划(2018YFC1801004)和国家自然科学基金(41922058)资助.

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1801004) and National Natural Science Foundation of China (41922058).

** 通信联系人 Corresponding author, E-mail: lizzycui@nju.edu.cn

were separated with a C18 column. A calibration was performed for each analyte using the external matrix matched standards to eliminate the matrix effect. The matrix-matched calibration curves from $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ showed excellent linearity for all the analytes with $R^2 \geq 0.99$. The mean recoveries from mouse organs were 64.8%—120% with relative standard deviations of 0.6%—22.4%. The limit of detection and limit of quantitation for all the analytes were 0.016 — $0.077 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ and 5.35×10^{-4} — 2.55×10^{-3} ng. Mice were exposed to the target analytes by oral feeding. The accumulation of the 3 target analytes, measured by QuEChERs, was in the order of HFPO-TA > PFOA > HFPO-DA. The concentrations of HFPO-DA were significantly ($P < 0.01$) lower than HFPO-TA and PFOA, indicating that HFPO-TA and PFOA have stronger bioaccumulation potential when compared with HFPO-DA.

Keywords QuEChERs, emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs), perfluorooctanic acid (PFOA), mouse organs.

全氟及多氟烷基化合物(per- and polyfluoroalkyl substances, PFASs), 简称全氟化合物, 即指化合物分子中与碳原子相连的多个或者全部氢原子被氟原子取代的有机化合物^[1]. 碳-氟(C—F)键键能较高, 导致全氟化合物具有疏油、疏水、耐酸碱、热稳定性和弱分子间相互作用等特性^[2]. 据不完全统计, 过去的几十年中超过 4700 种全氟化合物被广泛应用于消防、表面活性剂、制冷和催化剂^[3-6]等行业, 并因为其具有较强的生物富集潜力、生态毒性和长距离迁移能力等, 已成为全球性污染物^[7-10]. 例如目前使用最广的全氟化合物之一的全氟辛酸(perfluorooctanic acid, PFOA), 在极地野生动物的血液和器官组织中均有检出^[11]; 毒理学研究表明全氟辛酸具有肝毒性、免疫毒性和神经毒性等^[12].

2014 年, PFOA 被国际癌症研究所划分为“人类可疑致癌物”^[13], 2019 年正式将 PFOA 及其衍生品列入《斯德哥尔摩公约》, 限制其生产和使用^[14]. 新型全氟化合物-六氟环氧丙烷二聚体铵盐(ammonium hexafluoropropylene oxide dimer acid, HFPO-DA, 商品名 Gen X)和六氟环氧丙烷三聚体羧酸(hexafluoropropylene oxide trimer acid, HFPO-TA)(化学结构如图 1 所示)是目前最主要的 PFOA 替代物. 近年来的环境监测显示, 在氟化学工厂附近生活的 19—40 岁中青年血液中 HFPO-TA 的检出率为 99.2%, 其浓度远高于其他新型全氟化合物^[15]. 在中国南海江豚和海豚的肝脏样品中 HFPO-DA 的检出率为 92%, 对样品中总全氟化合物的贡献率为 1%. 在连续 6 年的生物监测中, HFPO-DA 在海洋哺乳动物体内的浓度呈现出明显的上升趋势^[16]. 因此新型全氟化合物的生物富集和环境风险值得进一步的关注和研究.

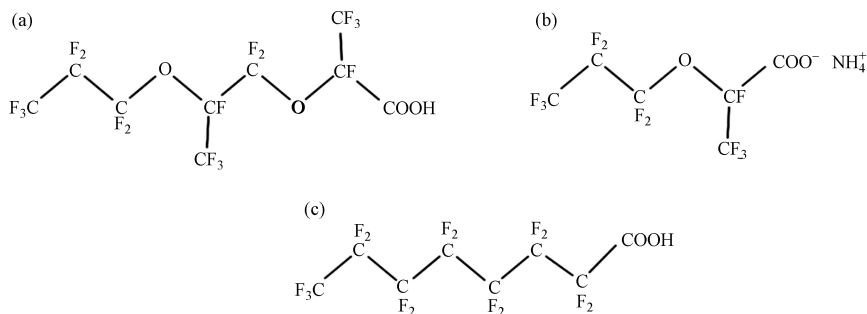


图 1 目标分析物的化学结构
(a)HFPO-TA, (b)HFPO-DA, (c)PFOA

Fig.1 The chemical structure of target analytes

建立一种操作简单且准确度、精密度和灵敏度高的方法, 将为后续研究新型全氟化合物的环境行为和生物监测奠定基础. 已有的关于传统全氟化合物分析方法多采用阴离子交换液液萃取和 WAX 固相萃取小柱净化等手段^[16-17]. 该方法存在操作复杂、耗时长、有机溶剂用量大、经济成本高等不足. 对于需要开展大批量样品检测的生物监测类研究, 开发一种简便、快捷的方法以提高分析效率尤为重要. 基于绿色化学理念的 QuEChERs(quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe)方法是传统多残留分析

方法的简化版^[18], 于 2003 年首次被报道应用于食品基质中农药多残留的提取分析^[19]. 经过研究人员的不断拓展创新, QuEChERs 方法已经逐渐被应用于测定环境、食品和生物样品中的多氯联苯、多环芳烃、有机磷阻燃剂和传统全氟化合物^[18, 20-21]. 已有文献报道将其应用于动物源性食品中传统直链全氟化合物的提取^[22-26], 对于将 QuEChERs 方法应用于小鼠器官中新型全氟化合物的提取分析还鲜有报道.

本研究借助 QuEChERs 和分散固相萃取 (dispersive solid-phase extraction, d-SPE) 净化方法结合超高效液相色谱串联三重四极杆质谱 (UPLC-MS/MS) 建立新型全氟化合物 (HFPO-TA 和 HFPO-DA) 和与之替代的传统全氟化合物 (PFOA) 在小鼠器官中的提取净化分析方法.

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 试剂、材料与仪器

标准样品 (HFPO-TA、HFPO-DA 和 PFOA) 均购自梯希爱 (上海) 化成工业发展有限公司. 所用试剂包括: 甲醇 (色谱纯, 默克), 乙酸铵 (MS 级, 南试), Milli-Q 水 (18.25 M Ω ·cm, 实验室自制), 乙腈 (分析纯, 西陇科学), 氯化钠 (分析纯, 阿拉丁), 盐酸 (分析纯, 南试), 甲酸 (MS 级, 阿拉丁). 石墨化炭黑 (GCB, 120—400 目)、十八烷基键合硅胶 (C18, 40—63 μ m) 和 N-丙基乙二胺 (PSA, 40—63 μ m) 购于上海安谱实验科技股份有限公司.

建立方法所需小鼠器官取自未经全氟化合物暴露的 Balb/c 雌鼠. 大脑、心脏、肺、肾脏和肝脏样品收集自江苏生命科技园某医药公司动物房内饲养的小鼠. 实验通过实验动物福利与伦理审查.

仪器: QSight® Altus LC-30 超高效液相色谱仪 (美国 Perkin Elmer 公司), QSight® 210 三重四极杆质谱仪 (美国 Perkin Elmer 公司), HD-2500 多管涡旋混合仪 (杭州佑宁仪器有限公司), KH-7000SP 超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司), Milli-Q 超纯水仪 (Millipore 公司), SCIENTZ-10ND 低温冷冻干燥机 (宁波新芝生物科技股份有限公司), Lindberg blue M 马弗炉 (Thermo Scientific 公司), ME204 分析天平 (Mettler Toledo 公司).

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

标准储备液的配制: 十万分之一天平分别称取 0.0101 g 的 HFPO-TA、HFPO-DA 和 PFOA 的标准品于 10 mL 容量瓶中, 用色谱甲醇溶解并定容可得质量浓度为 1000 mg·L⁻¹ 的标准储备液, 保存于 4 °C 冰箱中.

混合标准储备液以及标准工作溶液的配制: 分别准确转移 1 mL 标准储备液混合于 10 mL 容量瓶中, 用色谱甲醇稀释并定容; 再次吸取混合标准溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 可分别得质量浓度为 100 mg·L⁻¹ 和 10 mg·L⁻¹ 的混合标准储备液. 使用混合溶液 (甲醇: 水=1:1, V/V) 做逐级梯度稀释, 配制质量浓度为 0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1 mg·L⁻¹ 的标准工作溶液. 工作溶液保存在 4 °C 冰箱内.

1.2.2 仪器分析条件

液相色谱条件: Perkin Elmer C18 色谱柱 (2.7 μ m, 150 mm \times 2.1 mm); 柱温: 40 °C; 流速: 0.3 mL·min⁻¹; 进样量: 10 μ L; 流动相: A, 1 mmol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液; B, 甲醇; 梯度洗脱顺序: 0—2.5 min, 40%—10% A; 2.5—4.0 min, 10% A; 4.0—4.1 min, 10%—40% A; 4.1—6.0 min, 40% A.

质谱条件: 电喷雾离子源在负离子条件下搭配多重反应监测模式 (MRM); 毛细管电压: 0.41 kV; 离子源温度: 200 °C; 去溶剂气流: 氮气, 1000 L·h⁻¹; 去溶剂温度: 500 °C.

1.2.3 小鼠器官前处理方法

QuEChERs 方法以乙腈做提取溶剂, 通过氯化钠等无机盐的盐析作用实现相分离. 但是全氟化合物在酸性条件下呈分子态, 易于使其进入有机溶剂. 已有研究考察了不同浓度 (0.05%、0.1%、0.2% 和 0.3%) 盐酸-乙腈溶液对动物源性 (猪、牛和羊的肾脏、肝脏和肌肉) 食品中 13 种传统 PFASs 的提取回收率^[26], 0.1%、0.2% 和 0.3% 盐酸-乙腈溶液均能满足食品残留分析要求, 且 0.2% 盐酸-乙腈溶液做提取溶剂时基线平稳, 在目标峰出峰位置无杂质共流出, 因此本研究采用 0.2% 盐酸的乙腈为提取溶剂.

小鼠器官于-80 ℃冰箱冷冻,放置冷冻干燥机内真空干燥 48 h,使用研钵将其粉碎后,盛于聚丙烯(polypropylene, PP)离心管,在-20 ℃冰箱保存备用.准确称取 0.10 g 各小鼠器官样品粉末于 15 mL PP 离心管,加入 2 mL Milli-Q 水,在手中剧烈振荡使其浸湿样品.加入 2 mL 0.2% 盐酸乙腈,涡旋 10 min,超声 5 min.每只离心管中加入 1 g NaCl,再次涡旋 10 min,在 4000 r·min⁻¹的条件下离心 10 min.1.5 mL 上清液转移至装有 100 mg PSA、80 mg C18 和 30 mg GCB 的 15 mL PP 离心管中,在手中急速剧烈上下振荡两次后,涡旋 30 s.在 4000 r·min⁻¹条件下离心 10 min,准确吸取 1 mL 上清液于 4 mL 离心管中,控制氮气浓缩仪的水温低于 40 ℃,气流使液面产生涟漪条件下浓缩至干.准确加入 0.1 mL 混合溶液(甲醇:水=1:1, V/V)复溶样品,过 0.22 μm PP 针式滤器, UPLC-MS/MS 分析.

1.3 方法学考察

1.3.1 线性范围、检出限、定量限

取小鼠器官样品,按照 1.2.3 节前处理方法提取净化后,准确量取 0.1 mL 标准混合工作溶液复溶样品,分别可得质量浓度为 0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1 mg L⁻¹ 的基质匹配标准溶液.分别取混合标准工作溶液和基质匹配标准溶液,按照 1.2.2 节的仪器条件上机测定.通过 Simplicity 3Q 软件获取相应数据,提取定量离子对,以定量离子峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,分别绘制溶剂标准曲线和基质匹配标准曲线.

同时以基质匹配标准曲线最低浓度的信噪比 3 倍和 10 倍计算该方法的检出限(Limit of detection, LOD)、定量限(Limit of quantification, LOQ).具体公式如下:

$$\begin{aligned} \text{LOD} (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) &= 3 \times \frac{\text{噪声}}{\text{峰高}} \times C \\ \text{LOQ} (\text{ng}) &= 10 \times \frac{\text{噪声}}{\text{峰高}} \times C \times V \end{aligned} \quad (1)$$

式中, C 为基质标样浓度($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); V 为进样体积(μL).

1.3.2 基质效应

本研究依据拟合的溶剂和基质匹配标准曲线线性方程的斜率评估所建立前处理方法的基质效应,计算公式如下:

$$\text{基质效应 (matrix effect, ME)} = \frac{\text{基质标线斜率} - \text{溶剂标线斜率}}{\text{溶剂标线斜率}} \times 100\%$$

若 $|\text{ME}| < 20\%$, 无基质干扰效应; 若 $20\% \leq |\text{ME}| \leq 50\%$, 中等基质干扰效应; $|\text{ME}| > 50\%$, 较强的基质干扰效应^[27-28].

1.3.3 回收率

向小鼠器官样品中添加 HFPO-TA、HFPO-DA 和 PFOA 的混合标准液,由于缺乏相应最高残留限量值的支持,参考土壤等环境基质中检出浓度^[29],分别取 10 μL 的 50、100、1000 μg·L⁻¹ 的混合标准溶液注入空白基质中,使目标分析物在基质中的浓度依次为 5、10、100 μg·kg⁻¹.根据 1.2.3 节前处理方法提取净化后测定,分别计算回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD).

1.4 实际样品分析

将 HFPO-TA、HFPO-DA 和 PFOA 通过喂食的方式暴露于小鼠,得到富集了目标分析物的小鼠器官样品,进一步验证所建立分析方法的准确性.过程如下:商品化鼠粮冷冻干燥粉碎后,称取 50 g,将一定浓度的 HFPO-TA、HFPO-DA 和 PFOA 的混合标准工作溶液添加到 2 g 石英砂中,待溶剂完全挥发后与鼠粮混合,搅拌均匀,加入适量 Milli-Q 水揉成面团状,人工重新造粒,冷冻干燥后每粒鼠粮的干重为 4 g,其中每种目标分析物的浓度为 1 mg kg⁻¹.

实验小鼠自由采食饮水驯养一周,饥饿处理 12 h 后,随机转移至 PP 塑料笼中.暴露组设置 4 个重复,每天每只小鼠给予 1 粒鼠粮,自由饮水;空白组给与商品化鼠粮和自由饮水,连续饲养 3 d 后收集剩余鼠粮,再次饥饿处理 12 h 后断颈法处死小鼠,收集目标器官(大脑、肺、心脏、肾脏、肝脏).

1.5 数据分析

本研究中相关数据均采用 Simplicity 3Q 色谱工作站采集, OriginPro 2021 (Learning Edition) 进行数据处理分析。

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 仪器分析条件

2.1.1 液相色谱条件优化

国标^[30-31]和一些研究^[15-17,32-34]中以较低硅羟基活性填料的 C₁₈ 做固定相, 乙腈-乙酸铵水溶液或者甲醇-乙酸铵水溶液做流动相梯度洗脱可实现全氟化合物的基线分离. 本研究探讨了甲醇-乙酸铵水溶液系统中缓冲盐乙酸铵的浓度(0、1、2、5、10 mmol·L⁻¹)对目标化合物的仪器响应值和峰形的影响(图 2)。

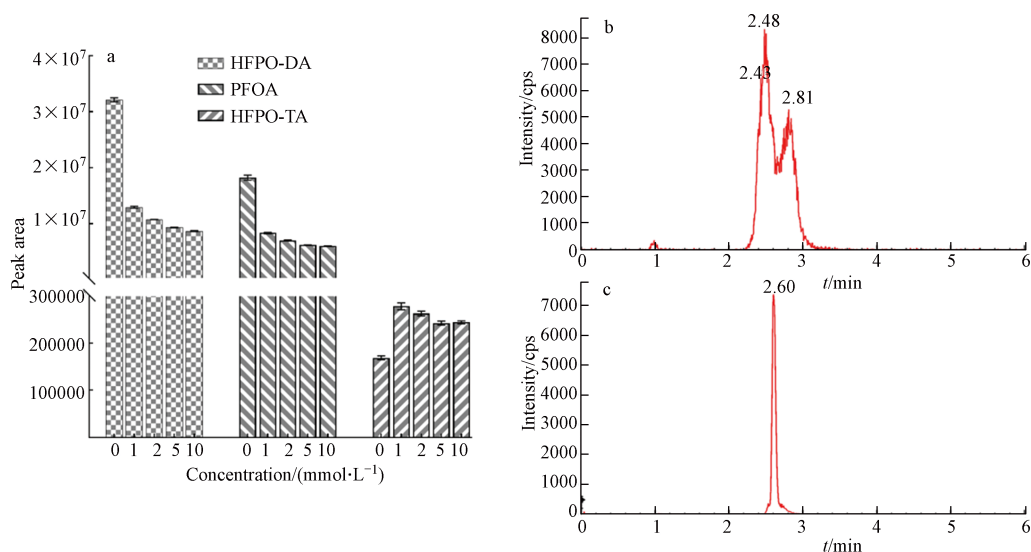


图 2 乙酸铵缓冲盐浓度对目标分析物仪器响应的影响(a), 流动相中不添加乙酸铵缓冲盐(b), 和添加乙酸铵缓冲盐(c)对 HFPO-TA 峰形的影响

Fig.2 The effect of ammonium acetate concentrations on the response of target analytes (a); the effect of non-ammonium acetate (b), and ammonium acetate (c) on the peak shape of HFPO-TA

对比仪器响应值发现(图 2 a), 对于 HFPO-DA 和 PFOA 而言, 两者的峰面积随流动相中缓冲盐浓度的增加而逐渐下降, 在从 0 mmol·L⁻¹ 到 1 mmol·L⁻¹ 增加过程中, 峰面积下降明显, 即乙酸铵对目标化合物的响应具有抑制效应^[35]; 对于 HFPO-TA, 峰面积随流动相中缓冲盐浓度的增加呈现出先上升后下降的变化趋势, 且在 1 mmol·L⁻¹ 时达到最大响应. 以甲醇-水系统做流动相时, HFPO-TA 色谱峰分叉(图 2 b), 添加乙酸铵缓冲盐后, 峰形得到明显改善(图 2 c). 综合考虑峰面积和色谱峰形的基础上, 本研究选择甲醇-乙酸铵(1 mmol·L⁻¹)水溶液作为流动相。

2.1.2 质谱条件优化

因目标分析物为羧酸及其衍生盐, 电喷雾离子源正源模式(electrospray ionization source, ESI)难以将其质子化, 因此本研究以 ESI 模式扫描定性和定量离子对. 借助针泵以 30 μL·min⁻¹ 的流速泵入 1000 μg·L⁻¹ 的标准工作溶液进行 m/z 200—1000 ESI 一级质谱扫描, 结果发现 PFOA 和 HFPO-TA 电离后失去羧基上的氢原子, 主要以 [M-H]⁻ 分子离子的相对丰度较高, HFPO-DA 生成 [M-44-H]⁻ 分子离子, 推断原因为发生中性丢失 CO₂^[22,26]. 确定分子离子后, 进行二级质谱扫描, 选取相对丰度较强的碎片离子作为定量离子, 次强的作为定性离子. 最后, 以 MRM 模式采集数据, 进一步优化锥孔电压、碰撞能量等参数, 具体参数见表 1.

表 1 多重反应监测条件

Table 1 Multiple response monitoring conditions

化合物 Compound	分子量 Molecular weight	母离子 Parent ion(m/z)	子离子 Product ion(m/z)	碰撞能量/eV Collision energy	锥孔电压/V Con voltage
PFOA	414.07	412.7	369*, 169	13, 26	-11, -11
HFPO-DA	347	285	185.1, 169*	28, 10	-3, -5
HFPO-TA	496.07	495	185*, 119	15, 76	-29, -34

注: *为定量离子(Quantification ion).

2.2 前处理方法的优化

固相萃取(solid-phase extraction, SPE)技术在食品、环境和生物样品分析中得到广泛应用,选择合适的固定相与流动相可以去除提取液中的绝大多数干扰物质并洗脱回收目标分析物,获得较好的回收率并且尽可能保护分析仪器,但是 SPE 法存在操作复杂、耗时长、有机溶剂用量大和成本高等问题.因此 d-SPE 是一种潜在的替代方法.通过在提取上清液中添加一定质量的吸附材料,能够极大的改善 SPE 法的缺陷.目前常用的吸附材料有 PSA、C18、GCB、碳十八键合硅胶等. PSA 可以吸附提取液中碳水化合物、有机酸和少量色素等极性杂质,是一种弱阴离子交换剂^[36], C18 可降低提取液中脂肪等非极性物质的含量^[37], GCB 对提取液中色素和甾醇类物质具有较好的去除效果^[21].在已有的文献报道中分别选用 PSA、C18 和 GCB 3 种吸附剂单一或不同配比开展动物源性食品中传统直链全氟化合物的净化^[20, 22-26, 38].

基于动物基质提取液外观色泽和潜在杂质,本研究选择 100 mg PSA+80 mg C18+30 mg GCB 组成的混合物作为吸附剂,结果显示净化效果较好,如图 3 所示上清液呈无色透明态,氮气浓缩至干后无油脂等析出,且目标分析物的回收率满足试验要求.因此,本研究选用该组合作为吸附剂用于样品的净化.

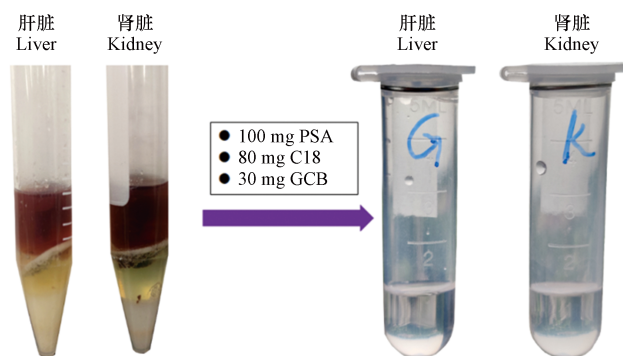


图 3 分散固相萃取吸附剂对样品提取液净化效果前后对比

Fig.3 The performance of sorbents in d-SPE

2.3 方法学考察

2.3.1 线性范围、灵敏度和基质效应

该方法的线性相关性、LODs、LOQs 和基质效应结果如表 2 所示. 3 种目标分析物在 5—500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的线性范围内,质量浓度与对应定量离子峰面积呈现出较好的线性关系,相关性系数均大于 0.99. PFOA 和 HFPO-DA 在所选取的 5 种器官中|ME|为 28.9%—80.7%,表现为强基质效应. HFPO-TA 在不同器官中基质效应具有较大差异,大脑、肾脏和心脏样品的|ME| < 20%,基质效应可忽略不计;在肺和肝脏样品中表现出中等至较强的基质效应.因此在后续试验中可采用基质匹配标准溶液外标法或者同位素标记内标法定量,进而排除基质效应. 3 种目标分析物在不同基质中的 LODs 为 0.016—0.077 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 与之对应的 LOQs 为 5.35×10^{-4} — 2.55×10^{-3} ng.

2.3.2 方法的准确度、精密度

通过加标回收率试验验证该方法的准确度和精密度. 3 种目标分析物在 5、10、100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 3 个添加水平下的平均回收率为 64.8%—120%,与之对应的 RSD 分别为: 4.1%—20%、0.75%—22.4%、

0.6%—14.6%(表 3). 该方法的回收率、精密度和灵敏度均能满足 GB/T 27417—2017^[39] 中化学分析方法的要求.

表 2 目标分析物的线性关系、基质效应和灵敏度

Table 2 The linearity, matrix effect, LOD, and LOQ in different matrices of target analytes

化合物 Compound	基质 Matrix	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) Linear range	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数 R^2	基质效应 Matrix effect	检出限/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) LOD	定量限/ng LOQ
HFPO-TA	溶剂		$y = 1127167.9x - 9339.7$	0.9985			
	肺	5—500	$y = 1513689.3x + 64976.9$	0.9994	34.3	0.033	1.11×10^{-3}
	肝脏		$y = 1948167.8x + 4061.1$	0.9939	72.8	0.032	1.06×10^{-3}
	大脑		$y = 1141739.2x - 1827.9$	0.9983	1.29	0.059	1.95×10^{-3}
	肾脏		$y = 936791.55x - 12930.8$	0.9924	-16.9	0.067	2.23×10^{-3}
	心脏		$y = 1176418.9x + 11229.8$	0.9981	4.40	0.077	2.55×10^{-3}
HFPO-DA	溶剂		$y = 73531199.76x - 412121.8$	0.9997			
	肺	5—500	$y = 14208329.7x + 203490.4$	0.9959	-80.7	0.070	2.33×10^{-3}
	肝脏		$y = 14903379.9x + 103425.3$	0.9987	-79.7	0.072	2.41×10^{-3}
	大脑		$y = 26824971.1x - 267020.2$	0.9904	-63.5	0.032	1.05×10^{-3}
	肾脏		$y = 18930496.41x + 86476.4$	0.9996	-74.3	0.035	1.18×10^{-3}
	心脏		$y = 31251384.1x - 62905.3$	0.9997	-57.5	0.037	1.25×10^{-3}
PFOA	溶剂		$y = 38001300.6x - 1277.5$	0.9998			
	肺	5—500	$y = 15354735.3x + 131561.6$	0.9987	-59.6	0.026	8.79×10^{-4}
	肝脏		$y = 15871133.5x + 148426.0$	0.9989	-58.2	0.016	5.35×10^{-4}
	大脑		$y = 20042969.4x + 186424.7$	0.9946	-47.3	0.023	7.51×10^{-4}
	肾脏		$y = 21453758.7x + 198,880.2$	0.9993	-43.5	0.016	5.49×10^{-4}
	心脏		$y = 27017643.3x - 8176.8$	0.9980	-28.9	0.020	6.81×10^{-4}

表 3 3 种目标分析物在小鼠器官中的回收率和相对标准偏差

Table 3 The mean recovery and RSD of 3 target analytes in different matrices

基质 Matrix	添加浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Add Concentration	HFPO-TA					HFPO-DA					PFOA				
		R1	R2	R3	均值%	RSD/%	R1	R2	R3	均值/%	RSD/%	R1	R2	R3	均值/%	RSD/%
肝脏	5	72.3	73.4	66.8	70.8	5	108.8	95.8	89.5	98	10	98.4	125.6	85.1	103	20
	10	84.1	70.3	80.4	78.3	9.1	83	82.1	83.3	82.8	0.75	64.7	63.1	66.5	64.8	2.6
	100	87.4	85.4	84.2	85.7	1.9	96.1	72.3	80.5	82.9	14.6	86.2	78	78.6	80.9	5.6
肺	5	112.7	87.9	101.3	100.6	12.3	101.6	84.9	77.8	88.1	13.9	73.5	73.7	83.4	76.9	7.3
	10	105	108.9	100.8	104.9	3.86	86	109.1	77	90.7	18.3	84.4	82.4	80.9	82.6	2.1
	100	108.7	94.6	91.8	98.4	9.2	95	85.2	83.5	87.9	7.1	98.3	92	80.9	90.4	9.7
脑	5	88.9	80.4	79	82.8	6.5	79.1	76.6	71.3	75.7	5.3	99	84	88	90.3	8.6
	10	104.2	75.7	95.9	91.9	15.9	86.2	93.4	86.9	88.8	4.5	87.1	83.8	84.2	85	2.1
	100	120.0	120.0	119.4	120.0	0.7	93.2	84.7	85.7	87.9	5.3	100.4	80.6	100.8	93.9	12.3
肾	5	94.3	111.4	82.8	96.2	14.9	105.4	75	78.5	86.3	19.3	103.2	95.4	98	98.9	4.1
	10	83.2	84.1	120.9	96.1	22.4	116.2	80.2	81.6	92.7	22	91.3	81.5	85.9	86.2	5.7
	100	97.2	104.5	92.2	97.9	6.3	102.2	81.8	88.8	90.9	11.3	92.9	79.9	84.8	85.9	7.6
心脏	5	107.5	91.4	87.7	95.5	11	75.7	80	94.5	83.4	11.8	89.4	88.5	105.3	94.4	10
	10	121.6	89.6	85.2	99.8	20	112.6	106	103.2	107.3	4.5	89.3	80.8	80.5	83.5	5.9
	100	103.6	79.9	97	93.5	13	90.6	95.8	90.8	92.4	3.2	81.5	82.4	81.5	81.8	0.6

2.4 实际样品分析

经口暴露全氟化合物的小鼠器官样品冷冻干燥粉碎后,经所建立方法检测,各器官中目标全氟化合物浓度结果如图4所示.3种目标物在不同器官中富集趋势有较大差异,在5种器官中总累积浓度依次为:肝脏(3970.6 ± 645.3) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)>肾脏(2619.2 ± 787.5) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)>肺(2027.1 ± 138.2) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)>心脏(1070.1 ± 55.6) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)>大脑(383.7 ± 30.1) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).3种目标物的生物富集趋势也有明显差异,在各个器官中 HFPO-DA 的累积浓度显著($P<0.05$)低于 PFOA 和 HFPO-TA.例如肝脏中 HFPO-TA 和 PFOA 的累积浓度分别为(1726.7 ± 205.7) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 (1676.1 ± 338.2) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,而 HFPO-DA 的浓度为 (566.9 ± 101.4) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.据报道在 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的暴露条件下,人胚胎滋养层细胞模型中,PFOA 的细胞内积累浓度是 HFPO-DA 的 5.8 倍^[40].此外在小鼠肝脏中 HFPO-TA 的累积浓度也略高于 PFOA,为其浓度的 1.1 倍.有研究表明, HFPO-TA 与人肝脏脂肪酸结合蛋白的结合潜力大于 PFOA 和 HFPO-DA^[41].因此在肝脏中 HFPO-TA 相比较于 PFOA 和 HFPO-DA 具有较强的生物富集潜力.

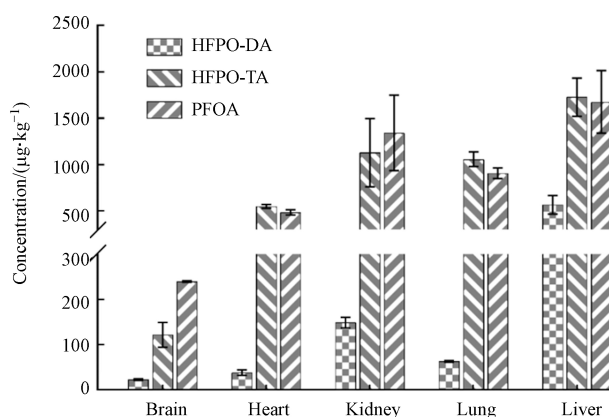


图4 目标全氟化合物在小鼠器官中的累积浓度

Fig.4 The concentrations of target PFASs in mouse organs

3 结论(Conclusion)

本研究通过优化样品前处理方法和仪器分析条件,建立了 QuEChERS-UPLC-MS/MS 同时测定小鼠器官中新型全氟化合物的方法.该方法操作简单,环境友好,经济适用性高,线性相关性大于 0.99,在不同小鼠器官基质中检出限为 $0.016\text{--}0.077 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和定量限为 $5.35 \times 10^{-4}\text{--}2.55 \times 10^{-3} \text{ ng}$.将建立方法应用于污染暴露的小鼠样品,3种目标分析物在5种器官中具有检出, HFPO-TA 在肝脏中的累积浓度与 PFOA 接近,是 HFPO-DA 累积浓度的 3.4 倍.本研究为监测生物体内新型全氟化合物建立了有效的检测方法,有助于新型全氟化合物环境归趋和生物有效性研究.

参考文献 (References)

- [1] 李侃. 典型全氟化合物在食物中的生物有效性及对小鼠的肝毒性、致毒机制研究[D]. 南京: 南京大学, 2015.
LI K. Typical perfluoroalkyl substances bioavailability in foods, and their exposure caused mice liver toxicity, and mode of action[D]. Nanjing: Nanjing University, 2015(in Chinese).
- [2] 曾士宜, 杨鸿波, 彭洁, 等. 贵州草海湖泊表层水与沉积物中全氟化合物的污染特征及风险评估[J]. 环境化学, 2021, 40(4): 1193-1205.
ZENG S Y, YANG H B, PENG J, et al. Pollution characteristics and risk assessment of perfluorinated compounds in surface water and sediments of Caohai Lake of Guizhou Province [J]. Environmental Chemistry, 2021, 40(4): 1193-1205 (in Chinese).
- [3] WANG Z Y, DEWITT J C, HIGGINS C P, et al. A never-ending story of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs)? [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(5): 2508-2518.
- [4] IM J, WALSH-LANGFORD G E, MOON J W, et al. Environmental fate of the next generation refrigerant 2, 3, 3, 3-tetrafluoropropene (HFO-1234yf) [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(22): 13181-13187.
- [5] FURUYA T, KAMLET A S, RITTER T. Catalysis for fluorination and trifluoromethylation [J]. Nature, 2011, 473(7348): 470-477.
- [6] BARZEN-HANSON K A, ROBERTS S C, CHOYKE S, et al. Discovery of 40 classes of per- and polyfluoroalkyl substances in

- historical aqueous film-forming foams (AFFFs) and AFFF-impacted groundwater [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(4): 2047-2057.
- [7] KIM K Y, NDABAMBI M, CHOI S, et al. Legacy and novel perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in industrial wastewater and the receiving river water: Temporal changes in relative abundances of regulated compounds and alternatives [J]. *Water Research*, 2021, 191: 116830.
- [8] DREYER A, THUENS S, KIRCHGEORG T, et al. Ombrotrophic peat bogs are not suited as natural archives to investigate the historical atmospheric deposition of perfluoroalkyl substances [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(14): 7512-7519.
- [9] HEYDEBRECK F, TANG J H, XIE Z Y, et al. Alternative and legacy perfluoroalkyl substances: differences between European and Chinese river/estuary systems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(14): 8386-8395.
- [10] SHI Y L, VESTERGREN R, XU L, et al. Human exposure and elimination kinetics of chlorinated polyfluoroalkyl ether sulfonic acids (Cl-PFESAs) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(5): 2396-2404.
- [11] GURUGE K S, YEUNG L W Y, YAMANAKA N, et al. Gene expression profiles in rat liver treated with perfluorooctanoic acid (PFOA) [J]. *Toxicological Sciences*, 2006, 89(1): 93-107.
- [12] 刘嘉烈, 石运刚, 唐娜, 等. 重庆长江流域鲫鱼和沉积物中17种全氟化合物污染特征 [J]. *环境化学*, 2020, 39(12): 3450-3461. LIU J L, SHI Y G, TANG N, et al. Pollution characteristics of seventeen per- and polyfluoroalkyl substances in fish and sediments of Yangtze River Basin in Chongqing City [J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(12): 3450-3461 (in Chinese).
- [13] 盛南, 潘奕陶, 戴家银. 新型全氟及多氟烷基化合物生态毒理研究进展 [J]. *安徽大学学报(自然科学版)*, 2018, 42(6): 3-13. SHENG N, PAN Y T, DAI J Y. Current research status of several emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) [J]. *Journal of Anhui University (Natural Science Edition)*, 2018, 42(6): 3-13 (in Chinese).
- [14] PINAS V, van DIJK C, WEBER R. Inventory and action plan for PFOS and related substances in Suriname as basis for Stockholm Convention implementation [J]. *Emerging Contaminants*, 2020, 6: 421-431.
- [15] SUN M, AREVALO E, STRYNAR M, et al. Legacy and emerging perfluoroalkyl substances are important drinking water contaminants in the cape fear river watershed of north Carolina [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2016, 3(12): 415-419.
- [16] WANG Q, RUAN Y F, JIN L J, et al. Target, nontarget, and suspect screening and temporal trends of per- and polyfluoroalkyl substances in marine mammals from the South China sea [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(2): 1045-1056.
- [17] JACOB P, BARZEN-HANSON K A, HELBLING D E. Target and nontarget analysis of per- and polyfluoroalkyl substances in wastewater from electronics fabrication facilities [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(4): 2346-2356.
- [18] KIM L, LEE D, CHO H K, et al. Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals [J]. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 2019, 22: e00063.
- [19] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, ŠTAJNBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. *Journal of Aoac International*, 2003, 86(2): 412-431.
- [20] BESER M I, PARDO O, BELTRÁN J, et al. Determination of 21 perfluoroalkyl substances and organophosphorus compounds in breast milk by liquid chromatography coupled to orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1049: 123-132.
- [21] SANTANA-MAYOR Á, SOCAS-RODRÍGUEZ B, HERRERA-HERRERA A V, et al. Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2019, 116: 214-235.
- [22] 李磊, 周贻兵, 刘利亚, 等. QuEChERS净化-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定母乳中9种全氟化合物 [J]. *现代预防医学*, 2018, 45(11): 2028-2033, 2038. LI L, ZHOU Y B, LIU L Y, et al. Determination of 9 perfluorinated compounds in breast milk by QuEChERS purification and ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2018, 45(11): 2028-2033, 2038 (in Chinese).
- [23] 白文荟, 刘金钊, 颜朦朦, 等. 猪肉、猪肝中17种全氟烷基化合物的HPLC-MS/MS测定 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(1): 189-196. BAI W H, LIU J C, YAN M M, et al. Determination of 17 perfluorinated alkylated substances in pork and pork liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2015, 6(1): 189-196 (in Chinese).
- [24] 何建丽, 彭涛, 谢洁, 等. 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 [J]. *分析化学*, 2015, 43(1): 40-48. HE J L, PENG T, XIE J, et al. Development of a QuEChERS method for determination of 20 Perfluorinated compounds in animal liver by HPLC-MS / MS [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 43(1): 40-48 (in Chinese).
- [25] 朱萍萍, 岳振峰, 郑宗坤, 等. 分散固相萃取结合高效液相色谱-串联质谱法测定羊肝中19种全氟烷基酸 [J]. *色谱*, 2015, 33(5): 494-500. ZHU P P, YUE Z F, ZHENG Z K, et al. Determination of perfluoroalkyl acids in lamb liver by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction [J]. *Chinese Journal of Chromatography*,

- 2015, 33(5): 494-500(in Chinese).
- [26] 王莹, 杜思宇, 张红, 等. 改进的QuEChERS-UPLC-MS/MS法测定动物源性食品中13种全氟化合物 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 239-249.
WANG Y, DU S Y, ZHANG H, et al. Determination of thirteen PFCs in animal-derived food by improved QuEChERS extraction coupled with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(1): 239-249(in Chinese).
- [27] SUN M N, YU L, TONG Z, et al. Determination of phenamacril residues in flour and rice based on Z-Sep+ using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Biomedical Chromatography, 2019, 33(12): e4688.
- [28] WEN Y, WANG Z, GAO Y Y, et al. Novel liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for enantioseparation of tefluthrin via a box-behnken design and its stereoselective degradation in soil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(42): 11591-11597.
- [29] 陈诗艳, 仇雁翎, 朱志良, 等. 土壤中全氟和多氟烷基化合物的污染现状及环境行为 [J]. 环境科学研究, 2021, 34(2): 468-478.
CHEN S Y, QIU Y L, ZHU Z L, et al. Current pollution status and environmental behaviors of PFASs in soil [J]. Research of Environmental Sciences, 2021, 34(2): 468-478(in Chinese).
- [30] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国国家标准: 食品安全国家标准 动物源性食品中全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)的测定 GB 5009.253—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Standard (Mandatory) of the People's Republic of China. GB 5009.253—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017(in Chinese).
- [31] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中华人民共和国国家标准: 食品安全国家标准 食品接触材料及制品 全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)的测定 GB 31604.35—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Standard (Mandatory) of the People's Republic of China. GB 31604.5—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017(in Chinese).
- [32] LIU M L, DONG F F, YI S J, et al. Probing mechanisms for the tissue-specific distribution and biotransformation of perfluoroalkyl phosphinic acids in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(8): 4932-4941.
- [33] YU Y C, ZHANG K Y, LI Z, et al. Microbial cleavage of C-F bonds in two C₆ per- and polyfluorinated compounds via reductive defluorination [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(22): 14393-14402.
- [34] 侯沙沙, 王晓晨, 谢琳娜, 等. 氟工厂附近青少年体内全氟化合物(PFASs)暴露特征分析及其与性征发育水平关联性初探 [J]. 环境化学, 2020, 39(4): 931-940.
HOU S S, WANG X C, XIE L N, et al. Exposure to perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances and association with the level of pubertal development of adolescents near a fluorochemical plant [J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(4): 931-940(in Chinese).
- [35] 蓝芳, 冯沙, 沈金灿, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄酒中14种全氟化合物 [J]. 分析化学, 2013, 41(12): 1893-1898.
LAN F, FENG S, SHEN J C, et al. Determination of 14 perfluorinated compounds in wine by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(12): 1893-1898(in Chinese).
- [36] 达晶, 王钢力, 曹进, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定植物性食品中30种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. 色谱, 2015, 33(8): 830-837.
DA J, WANG G L, CAO J, et al. Determination of 30 carbamate pesticide residues in vegetative foods by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2015, 33(8): 830-837(in Chinese).
- [37] 李璐, 李丹凤. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中41种糖皮质激素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(2): 500-509.
LI L, LI D F. Determination of 41 kinds of glucocorticoids in honey by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(2): 500-509(in Chinese).
- [38] HLOUSKOVA V, HRADKOVA P, POUSTKA J, et al. Occurrence of perfluoroalkyl substances (PFASs) in various food items of animal origin collected in four European countries [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2013, 30(11): 1918-1932.
- [39] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准: 合格评定 化学分析方法确认和验证指南 GB/T 27417-2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Standard (Mandatory) of the People's Republic of China. GB/T 27417-2017[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017(in Chinese).
- [40] BANGMA J, SZILAGYI J, BLAKE B E, et al. An assessment of serum-dependent impacts on intracellular accumulation and genomic response of per- and polyfluoroalkyl substances in a placental trophoblast model [J]. Environmental Toxicology, 2020, 35(12): 1395-1405.
- [41] SHENG N, CUI R N, WANG J H, et al. Cytotoxicity of novel fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl substances to human liver cell line and their binding capacity to human liver fatty acid binding protein [J]. Archives of Toxicology, 2018, 92(1): 359-369.