

基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术研究全氟化合物物质谱裂解规律

李春梅, 岳 宁, 周 杰, 李敏洁, 金 芬*

(中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081)

摘 要: **目的** 采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱研究全氟化合物的质谱裂解规律。**方法** 标准品由甲醇溶解并配制成混标溶液, 经 Thermo Hypersil GOLD aQ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)分离, 以甲醇和 0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 在电喷雾负离子模式下采集数据, 根据一、二级质谱离子的精确质荷比推导全氟化合物可能的裂解途径。**结果** 全氟磺酸类化合物主要发生 CC 键和 CS 键断裂, 产生特征碎片 $[\cdot\text{C}_3\text{F}_6\text{-SO}_3]^-$ m/z 229.94 和 $[\text{SO}_3]^-$ m/z 79.95; 全氟羧酸类化合物首先丢失中性分子 CO_2 , 产生 $[\text{M-O-CO}_2]^-$ 碎片离子, 继而发生不同数量的 CC 键断裂, 产生 m/z 218.98、168.98、118.99 等特征碎片离子。**结论** 该研究提出的质谱裂解规律为快速鉴定和分析复杂体系中具有相似结构特征的全氟化合物提供重要依据。**关键词:** 全氟化合物; 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法; 裂解规律

Study on mass spectroscopic fragmentation pathway of perfluorinated compounds using ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry

LI Chun-Mei, YUE Ning, ZHOU Jie, LI Min-Jie, JIN Fen*

(Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China)

ABSTRACT: Objective To study the mass spectroscopic fragmentation law of perfluorinated compounds by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry. **Methods** The standard substance was dissolved in methanol and prepared into a mixed standard solution, and separated by Thermo Hypersil GOLD aQ column (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) using methanol and 0.1% formic acid solution as mobile phase for gradient elution. The data was collected under electrospray negative ion mode, and the fragmentation pathways of perfluorinated compounds were derived by the precise mass-to-charge ratio of the first and second mass spectrometry ions. **Results** Perfluorosulfonic acids mainly underwent CC bond and CS bond cleavage, resulting in characteristic fragments of $[\cdot\text{C}_3\text{F}_6\text{-SO}_3]^-$ m/z 229.94 and $[\text{SO}_3]^-$ m/z 79.95. Perfluorocarboxylic acid compounds first lost the neutral molecule CO_2 and produced $[\text{M-O-CO}_2]^-$ fragment ions, then different numbers of CC bonds were broken, resulting in characteristic fragment ions such as m/z 218.98, 168.98, and 118.99. **Conclusion** The mass spectroscopic fragmentation law proposed in this study provides an important basis for the rapid

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1602400)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (2018YFC1602400)

*通讯作者: 金芬, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为农产品及环境中有毒有害化学物质分析。E-mail: jinfenbj@163.com

*Corresponding author: JIN Fen, Ph.D., Professor, Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China. E-mail: jinfenbj@163.com

identification and analysis of perfluorinated compounds with similar structural characteristics in complex systems.

KEY WORDS: perfluorinated compounds; ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry; fragmentation pathway

1 引言

全氟化合物(perfluorinated compounds, PFCs)是一类高度氟化的脂肪族物质,其碳骨架上的氢原子全部或部分被氟原子替代,化学通式为 $F-(CF_2)_n-R$, 其中 R 为亲水性官能团,全氟磺酸类的 R 为磺酸基($-SO_3H$),全氟羧酸类的 R 为羧基($-COOH$),结构通式如图 1 所示,具有较强的稳定性、疏水疏油性等,被广泛应用于包装、纺织、皮革、日用洗涤剂等领域^[1,2]。由于结构中的 C-F 共价键强度极高,该类化合物具有非常高的稳定性,难以水解、光解和被微生物降解,从而导致其具有环境持久性及高生物累积性^[3]。大量研究表明 PFCs 已在各种食品、环境、生物体以及人体中广泛检出^[4-7]。已有的毒理学研究发现 PFCs 具有肝毒性、神经毒性、生殖发育毒性、免疫毒性、致癌性等多种毒性^[8-11]。流行病学研究发现 PFCs 的人体暴露与一些生理生化指标的改变有一定的正相关,包括肾癌和睾丸癌、甲状腺机能减退、妊娠期糖尿病等^[12-16]。因此, PFCs 的污染与健康问题已经引起了全球的广泛关注,开展对 PFCs 的研究工作具有现实意义。

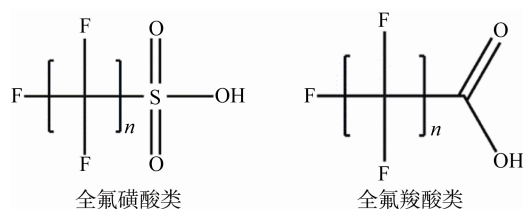


图 1 PFCs 化合物的结构通式
Fig.1 General formula of the PFCs

目前, PFCs 的检测多采用液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS),如 Poonthong 等^[6]建立了人类血清、血浆以及全血中 25 种 PFCs 的 LC-MS/MS 分析方法; Yang 等^[5]建立了食用油中 18 种 PFCs 的 LC-MS/MS 分析方法,并成功应用于市售不同种类食用油中 PFCs 污染水平调查。随着质谱技术的快速发展,近年来,液相色谱与高分辨质谱联用技术也已应用于水体、母乳中 PFCs 的定量分析^[17-19],但采用高分辨串联质谱对其结构断裂规律进行分析研究报道鲜少。静电场轨道阱高分辨质谱(orbitrap high-resolution mass spectrometry, orbitrap HRMS)是一种结合静电场离子阱和四极杆技术的快速傅里叶变换新型高分辨质谱,尤其与超高效液相色谱

(ultra performance liquid chromatography, UPLC)联用,成为一种强大的定性定量工具,具有高分辨能力、高准确度等特点,同时保证了全谱扫描同时每个离子都具有高质量精度,让碎片离子与母离子之间的关联分析变得简单易行^[20],是鉴定有机化合物的常用方法之一。本研究拟采用 UPLC-Q-orbitrap HRMS 技术对 PFCs 化合物的主要特征碎片离子进行分析,发现并归纳其裂解规律,旨在为 PFCs 的结构解析及体内代谢转化研究或食品、环境中降解产物研究提供参考依据。

2 材料与方法

2.1 主要仪器

Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司); Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司产品)。

2.2 材料与试剂

全氟己烷磺酸(perfluorohexane sulfonic acid, PFHxS)、全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonic acid, PFOS)、全氟丁酸(perfluorobutanoic acid, PFBA)、全氟庚酸(perfluorohexanoic acid, PFHpA)、全氟辛酸(perfluorooctanoic acid, PFOA)、全氟壬酸(perfluorononanoic acid, PFNA)、全氟癸酸(perfluorodecanoic acid, PFDA)、全氟十二烷酸(perfluorododecanoic acid, PFDoA)、全氟十四烷酸(perfluorotetradecanoic acid, PFTeDA)、全氟十六烷酸(perfluorohexadecanoic acid, PFHxDA)、全氟十八烷酸(perfluorooctadecanoic acid, PFODA)标准品(纯度>98%,德国 Dr.E 公司); 甲醇、甲酸(色谱纯, 美国 Thermo Fisher 公司); 超纯水由德国 Millipore 公司产品 Milli-R04 纯水仪制得。

2.3 实验条件

2.3.1 色谱条件

色谱柱: Thermo Hypersil GOLD aQ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相: A 为甲醇, B 为 0.1% 甲酸水溶液; 洗脱程序: 0~10 min(5%~40% A), 10~18 min(40%~100% A), 18~22 min(100% A), 22~22.1 min(100%~5% A), 22.1~25 min(5% A); 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样体积: 5 μL。

2.3.2 质谱条件

Q-Orbitrap HRMS 配备了加热电喷雾电离源(heated electrospray ionization, HESI), 扫描模式为负离子扫描, 数据采集使用一级母离子全扫描和数据依赖的二级子离子扫描模式(Full MS/dd-MS²), 质量扫描范围 m/z 100~1500。一

级分辨率 70000, 二级分辨率 17500。归一化碰撞能量 (normalized collision energies, NCE) 设定为 20%、30% 和 40%, 喷雾电压设定为 3.6 kV, 毛细管温度为 350 °C, 辅助气体加热器温度为 300 °C, 自动增益控制进入轨道阱中的离子数 (AGC target) 为 $1e^6$, 最大注入时间为 100 ms。

2.4 样品配制

将 PFCs 标准品分别用甲醇溶解, 配制成单标储备液, 然后用甲醇配制成 200 $\mu\text{g/L}$ 的混标溶液待分析。

3 结果与分析

3.1 负离子模式下 PFCs 的 LC-MS 分析

本研究采用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术分析 2 种全氟磺酸和 9 种全氟羧酸类化合物。由于全氟羧酸类化合物带有 COO^- , 全氟磺酸类化合物带有 SO_3^- , 均难于质子化, 不适合采用 ESI 正离子模式, 因此, 选择 ESI 负离子模式进行质谱分析。结果显示 11 种 PFCs 标准品均得到良好分离, 其一级母离子流图如图 2 所示。

3.2 全氟磺酸类化合物的质谱裂解规律分析

负离子模式下, 全氟磺酸类化合物 PFHxS 和 PFOS 在一级质谱中可以产生较强的准分子离子 $[\text{M-H}]^-$, 二级质谱中可以产生丰度较高的磺酸基碎片 $[\text{SO}_3]^-$, 以及不同数量 CC 键断裂形成的全氟磺酸基碎片 $[\text{C}_4\text{F}_8\text{-SO}_3]^-$ 、 $[\text{C}_3\text{F}_6\text{-SO}_3]^-$ 、 $[\text{CF}_2\text{-SO}_3]^-$ 等。2 种全氟磺酸类化合物在负离子模式下的母离子及主要碎片离子数据信息列于表 1, 由表 1 可见, 全氟磺酸类化合物的特征碎片离子为 79.95 和 229.94。

PFOS 和 PFHxS 在负离子模式下的二级质谱图如图 3 所示。PFOS 在负离子模式下的分子离子峰 $[\text{M-H}]^-$ 为 m/z 498.8206, 碎片离子包括 CC 键断裂所形成的全氟磺酸基碎片 $[\text{C}_4\text{F}_8\text{-SO}_3]^-$ m/z 279.94458、 $[\text{C}_3\text{F}_6\text{-SO}_3]^-$ m/z 229.94771、 $[\text{CF}_2\text{-SO}_3]^-$ m/z 129.95406, 以及 CS 键断裂形成的磺酸基碎片 $[\text{SO}_3]^-$ m/z 79.95733。PFOS 可能的裂解途径如图 4 所示。PFHxS 在负离子模式下的分子离子峰 $[\text{M-H}]^-$ 为 m/z 398.9374, 与 PFOS 相似, PFHxS 碎片离子为全氟磺酸基碎片 $[\text{C}_3\text{F}_6\text{-SO}_3]^-$ m/z 229.94734 和磺酸基碎片 $[\text{SO}_3]^-$ m/z 79.95720。

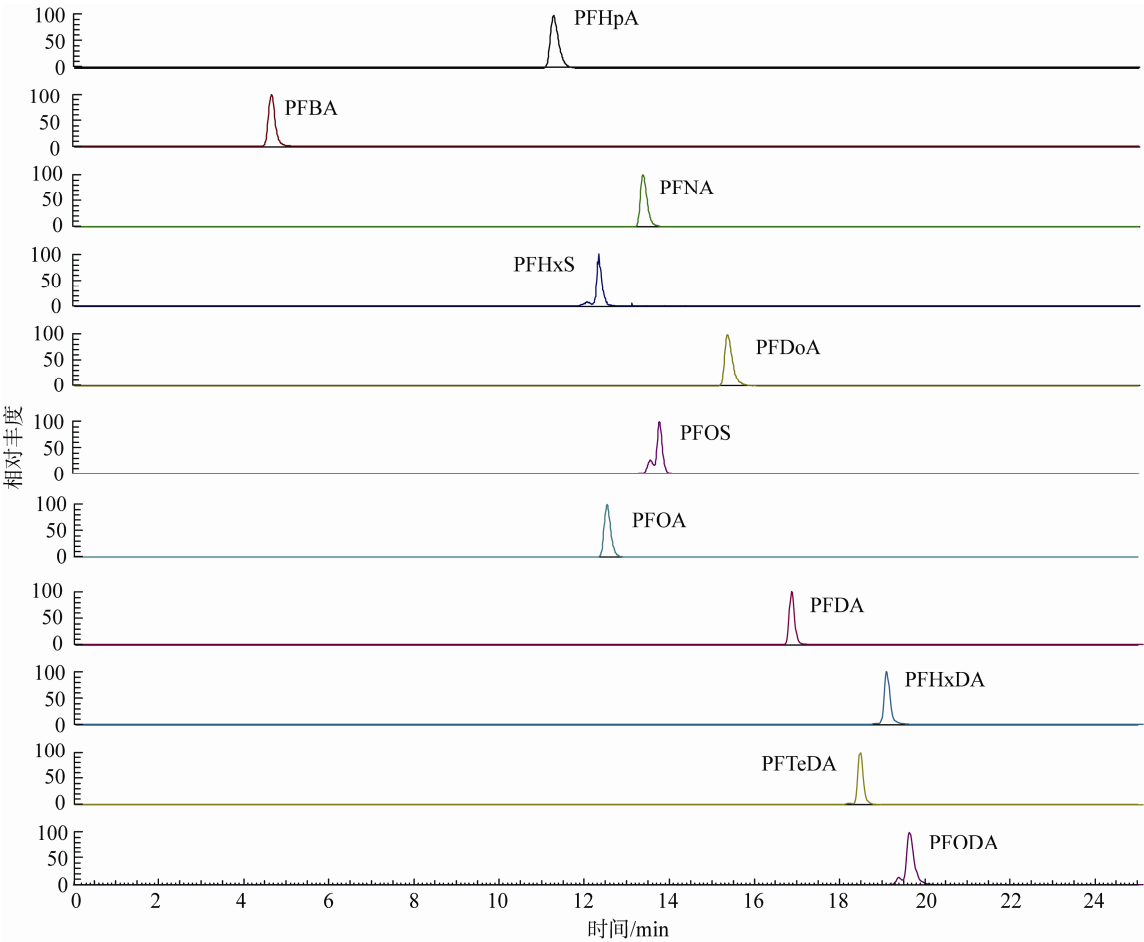


图 2 11 种 PFCs 化合物的一级母离子流图
Fig.2 The parent ion chromatogram of the 11 PFCs

表 1 PFCs 化合物的母离子及主要碎片离子
Table 1 Parent ions and major fragment ions of the PFCs

编号	化合物	分子式	一级质谱离子([M-H] ⁻)	[M-H] ⁻ 的主要碎片离子
1	PFHxS	C ₆ HF ₁₃ O ₃ S	398.9374	229.9473, 79.9572
2	PFOS	C ₈ HF ₁₇ O ₃ S	498.8206	279.9445, 229.9477, 129.9540, 79.9573
3	PFBA	C ₄ HF ₇ O ₂	212.9782	168.9878
4	PFHpA	C ₇ HF ₁₃ O ₂	362.9702	318.9789, 168.9889, 118.9921
5	PFOA	C ₈ HF ₁₅ O ₂	412.8220	218.9852, 168.9891, 118.9921
6	PFNA	C ₉ HF ₁₇ O ₂	462.9651	418.9738, 268.9831, 218.9861, 168.9892, 118.9924
7	PFDA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	512.9600	268.9801, 218.9838, 168.9868, 118.9903
8	PFD _o A	C ₁₂ HF ₂₃ O ₂	612.9583	568.9646, 268.9840, 218.9870, 168.9899, 118.9929
9	PFTeDA	C ₁₄ HF ₂₇ O ₂	712.9470	668.9569, 268.9826, 218.9858, 168.9891, 118.9923
10	PFHxDA	C ₁₆ HF ₃₁ O ₂	812.9399	318.9793, 268.9826, 218.9859, 168.9891, 118.9924
11	PFODA	C ₁₈ HF ₃₅ O ₂	912.9344	318.9795, 268.9827, 218.9859, 168.9891, 118.9923

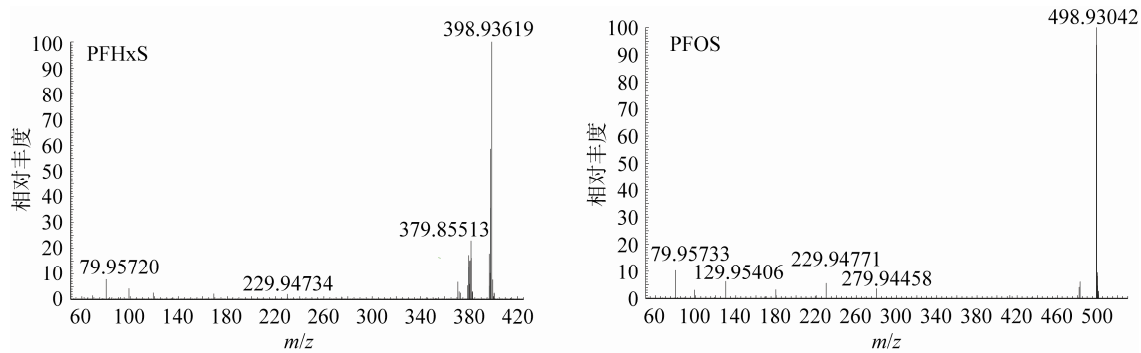


图 3 负离子模式下全氟磺酸类化合物的二级质谱图
Fig.3 MS/MS spectrum of perfluorosulfonic acids in negative ion mode

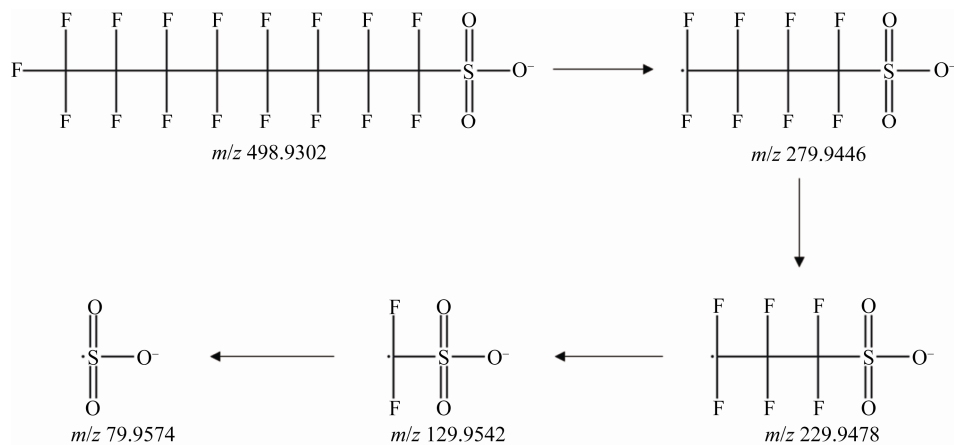


图 4 负离子模式下 PFOS 可能的裂解途径
Fig.4 Proposed fragmentation pathways of PFOS in negative ion mode

3.3 全氟羧酸类化合物的质谱裂解规律分析

与全氟磺酸类化合物相似, 负离子模式下, 全氟羧酸类化合物在一级质谱中亦产生较强的准分子离子[M-H]⁻, 二级质谱中准分子离子容易丢失 m/z 44 离子, 生成 [M-H-CO₂]⁻, 该碎片还可通过不同数量 CC 断裂形成全氟烷基碎片[C₅F₁₁]⁻、[C₄F₉]⁻、[C₃F₇]⁻等。9 种全氟羧酸类化

合物在负离子模式下的一级、二级质谱数据信息列于表 1, 由表 1 可见, 全氟羧酸类化合物的特征碎片离子为 318.98、268.98、218.98、168.98、118.99 等。

9 种全氟羧酸类化合物在负离子模式下的二级质谱图如图 5 所示。PFBA 在负离子模式下的分子离子峰[M-H]⁻为 m/z 212.9782, 该化合物 C 链较短, 主要发生中性分子

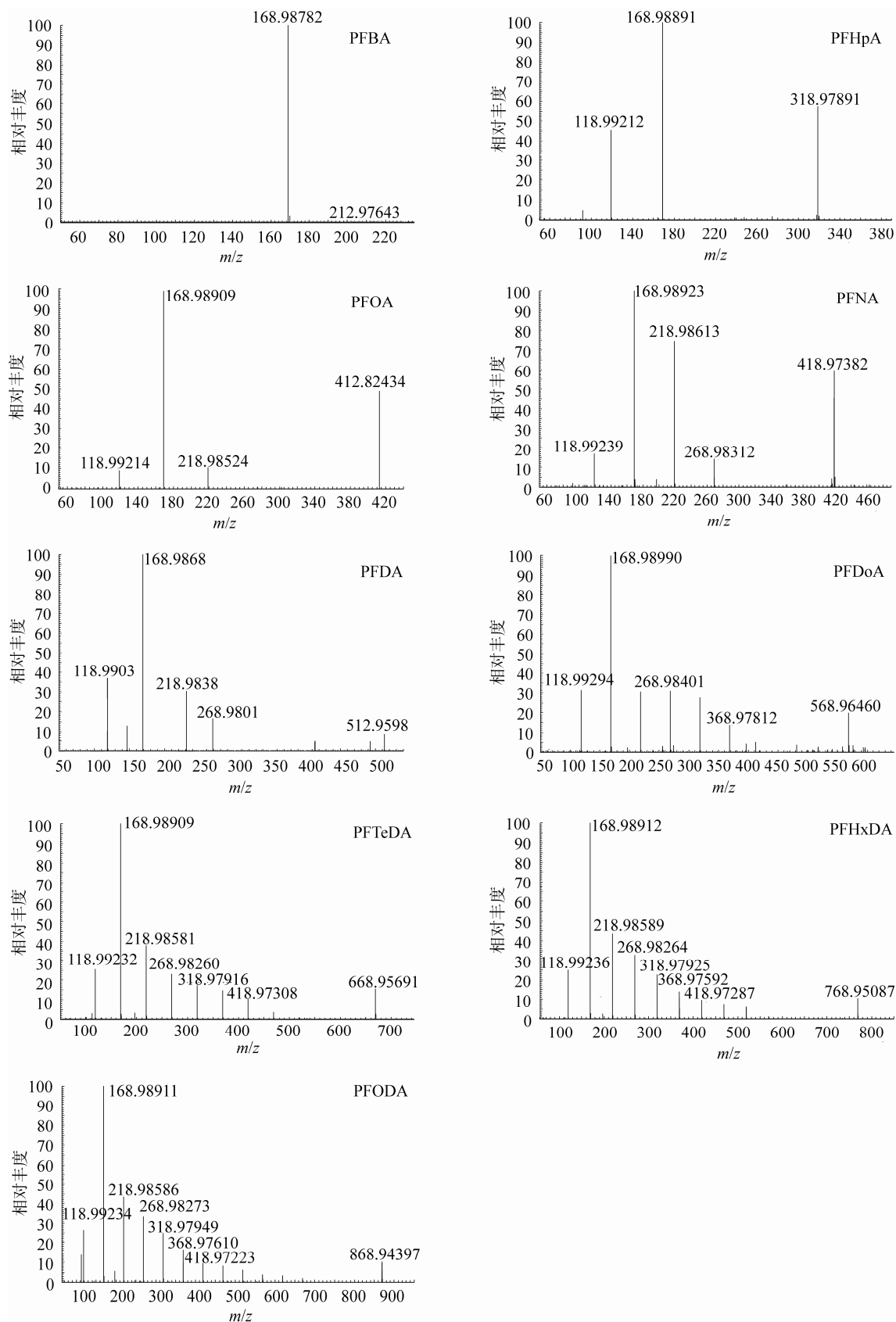


图 5 负离子模式下全氟羧酸类化合物的二级质谱图

Fig.5 MS/MS spectrum of perfluorocarboxylic acids in negative ion mode

CO₂ 丢失, 产生[M-H-CO₂]⁻ m/z 168.98。对于其他 C 链较长的全氟羧酸类化合物, 碎片离子相对更丰富, 如 PFNA 在负离子模式下的分子离子峰[M-H]⁻为 m/z 462.9651, 可丢失中性分子 CO₂, 产生[M-H-CO₂]⁻ m/z 418.97, 该碎片离子继而发生不同数量的 CC 键断裂, 产生碎片[C₅F₁₁]⁻ m/z 268.98、

[C₄F₉]⁻ m/z 218.98、[C₃F₇]⁻ m/z 168.98、[C₂F₅]⁻ m/z 118.99。PFNA 可能的裂解途径如图 6 所示。与 PFNA 相似, PFHpA、PFOA、PFDA、PFDaA、PFTeDA、PFHxDA、PFODA 均发生了中性分子丢失, 以及不同数量的 CC 键断裂, 产生了碎片[M-H-CO₂]⁻及[C₆F₁₃]⁻、[C₅F₁₁]⁻、[C₄F₉]⁻、[C₃F₇]⁻、[C₂F₅]⁻等。

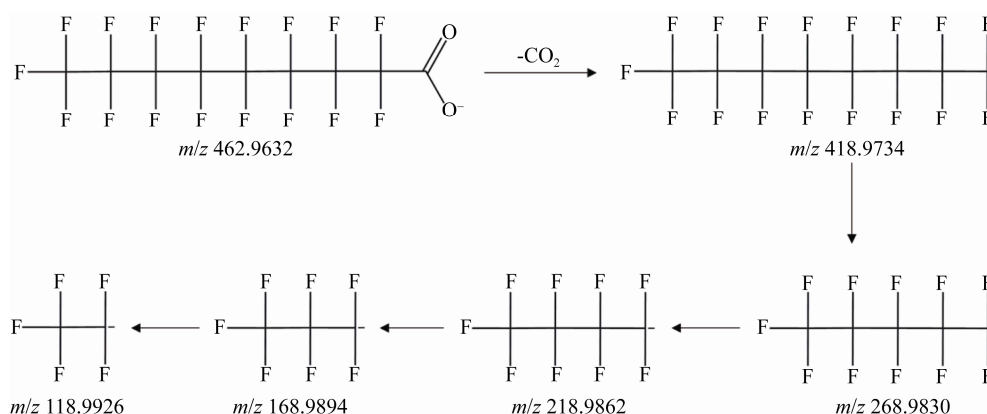


图 6 负离子模式下 PFNA 可能的裂解途径

Fig.6 Proposed fragmentation pathways of PFNA in negative ion mode

4 结 论

本研究采用 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术在负离子模式下对 11 种 PFCs 化合物[M-H]⁻二级质谱的裂解规律进行了研究, 分析了主要的特征碎片离子、裂解模式。2 种全氟磺酸类化合物主要发生 CC 键和 CS 键断裂, 产生特征碎片 m/z 229.94 和 79.95; 全氟羧酸类化合物首先丢失中性分子 CO₂, 继而发生 CC 键断裂, 产生 m/z 218.98、168.98、118.99 等特征碎片离子, 这些碎片特征将为具有相似结构特征的 PFCs 类化合物的结构解析提供重要依据, 同时为使用质谱技术快速鉴定复杂体系中非靶标 PFCs 化合物提供理论基础。

参考文献

- [1] Ojemaye CY, Petrik L. Occurrences, levels and risk assessment studies of emerging pollutants (pharmaceuticals, perfluoroalkyl and endocrine disrupting compounds) in fish samples from Kalk Bay harbour, south Africa [J]. Environ Pollut, 2019, 252: 562–572.
- [2] Yeung LWY, Stadey C, Mabury SA. Simultaneous analysis of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances including ultrashort-chain C2 and C3 compounds in rain and river water samples by ultra performance convergence chromatography [J]. J Chromatogr A, 2017, 1522: 78–85.
- [3] Surma M, Giżejowski Z, Zieliński H. Determination of perfluorinated sulfonate and perfluorinated acids in tissues of free-living European beaver (*Castor fiber* L.) by d-SPE/micro-UHPLC-MS/MS [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2015, 120: 436–444.
- [4] Wang X, Zhang Y, Li FW, et al. Carboxylated carbon nanospheres as

solid-phase extraction adsorbents for the determination of perfluorinated compounds in water samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Talanta, 2018, 178: 129–133.

- [5] Yang L, Jin F, Zhang P, et al. Simultaneous determination of perfluorinated compounds in edible oil by gel-permeation chromatography combined with dispersive solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(38): 8364–8371.
- [6] Poothong S, Lundanes E, Thomsen C, et al. High throughput online solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for polyfluoroalkyl phosphate esters, perfluoroalkyl phosphonates, and other perfluoroalkyl substances in human serum, plasma, and whole blood [J]. Anal Chim Acta, 2017, 957: 10–19.
- [7] Codling G, Hosseini S, Corcoran MB, et al. Current and historical concentrations of poly and perfluorinated compounds in sediments of the northern great lakes–Superior, Huron, and Michigan [J]. Environ Pollut, 2018, 236: 373–381.
- [8] Mariussen E. Neurotoxic effects of perfluoroalkylated compounds: mechanisms of action and environmental relevance [J]. Arch Toxicol, 2012, 86(9): 1349–1367.
- [9] Zhang L, Ren X, Guo L. Structure-based investigation on the interaction of perfluorinated compounds with human liver fatty acid binding protein [J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(19): 11293–11301.
- [10] Knox SS, Jackson TK, Javins B, et al. Implications of early menopause in women exposed to perfluorocarbons [J]. J Clin Endocrinol Metabol, 2011, 96(6): 1747–1753.
- [11] Cai Y, Chen H, Yuan R, et al. Toxicity of perfluorinated compounds to soil microbial activity: Effect of carbon chain length, functional group

- and soil properties [J]. *Sci Total Environ*, 2019, 690: 1162–1169.
- [12] Barry V, Winquist A, Steenland K. Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposures and incident cancers among adults living near a chemical plant [J]. *Environ Health Perspect*, 2013, 121: 1313–1318.
- [13] Steenland K, Zhao L, Winquist A, *et al.* Ulcerative colitis and perfluorooctanoic acid (PFOA) in a highly exposed population of community residents and workers in the mid-ohio valley [J]. *Environ Health Perspect*, 2013, 121: (8): 900–905.
- [14] Winquist A, Steenland K. Modeled PFOA exposure and coronary artery disease, hypertension, and high cholesterol in community and worker cohorts [J]. *Environ Health Perspect*, 2014, 122(12): 1299–1305.
- [15] Lam J, Koustas E, Sutton P, *et al.* The navigation guide evidence-based medicine meets environmental health: Integration of animal and human evidence for PFOA effects on fetal growth [J]. *Environ Health Perspect*, 2014, 122(10): 1040–1051.
- [16] Okada E, Sasaki S, Saijo Y, *et al.* Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants [J]. *Environ Res*, 2012, 112: 118–125.
- [17] Deng H, Wang H, Liang M, *et al.* A novel approach based on supramolecular solvent microextraction and UPLC-Q-Orbitrap HRMS for simultaneous analysis of perfluorinated compounds and fluorine-containing pesticides in drinking and environmental water [J]. *Microchem J*, 2019, 151: 104250.
- [18] Liang M, Xian Y, Wang B, *et al.* High throughput analysis of 21 perfluorinated compounds in drinking water, tap water, river water and plant effluent from southern China by supramolecular solvents-based microextraction coupled with HPLC-Orbitrap HRMS [J]. *Environ Pollut*, 2020, 263: 114389.
- [19] Kadar H, Veyrand B, Barbarossa A, *et al.* Development of an analytical strategy based on liquid chromatography–high resolution mass spectrometry for measuring perfluorinated compounds in human breast milk: Application to the generation of preliminary data regarding perinatal exposure in France [J]. *Chemosphere*, 2011, 85(3): 473–480.
- [20] Zubarev RA, Makarov A. Orbitrap mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(11): 5288–5296.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



李春梅, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品及环境中有毒有害化学物质分析。

E-mail: lichunmei@caas.cn



金 芬, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为农产品及环境中有毒有害化学物质分析。

E-mail: jinfenbj@163.com