

土壌抽出物中のペルフルオロアルキル化合物 およびポリフルオロアルキル化合物の分析

サンプル前処理メソッド開発のワークフローアプローチ

著者

Matthew Giardina, PhD
Agilent Technologies, Inc.

概要

ペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）の分析における重要な課題は、サンプルハンドリング時にターゲット化合物が吸着するか、または干渉物が導入される可能性があることです。これらの問題は、フィールドサンプルの初期収集からサンプル前処理と分析までのサンプルワークフロー内のどの時点でも発生する可能性があります。結果的に、サンプルハンドリングと分析時には特定の物質を回避するのが一般的な手法です。例えば、ISO および EPA メソッドでは、サンプル前処理時に特定の物質が含まれる未処理ガラスとペルフルオロテトラエチレン（PTFE）を回避して、代わりにポリプロピレンまたはポリエチレンを使用することを推奨しています。干渉物や吸着物がないことが実証されているその他の物質を使用する必要があります。さまざまな物質の性能が系統的に研究されて、科学文献に発表されるようになったのはごく最近のことです。ただし、ラボのワークフローの状況で発生するこれらの問題に関して発表されている情報はほぼありません。このアプリケーションノートでは、抽出、ろ過、および分析時の土壌中にある PFAS の分析の代表的なサンプル前処理ワークフローにおける、吸着と干渉の影響について実験しており、スルホン酸、カルボン酸、スルホンアミドを含む、複数のクラスの PFAS 化合物の代表的な 25 種類の分析対象物を使用しています。また、ベストプラクティスの推奨事項について詳細に説明します。

はじめに

PFAS 分析の課題

環境抽出物中の PFAS の分析には多数の課題が存在します。ラボ機器や消耗品で広く使用されている PTFE は、サンプル抽出物の汚染を引き起こす場合があります。¹さらに、一部の PFAS はガラスや特定のポリマーなどの一般的な物質に吸着して、回収率の低下を引き起こす場合があることが実証されています。²分析者は、サンプリングバイアスにつながる一部の PFAS 化合物の界面活性剤の性質により、空気と水の境界面で薄膜が形成される可能性があることにも注意する必要があります。³これらの課題は、規制機関が要求している中～低 ppt 範囲の低濃度の検出限界値によって複雑化しています。

PFAS による汚染と損失の可能性を軽減するために、サンプルハンドリングと分析時には特定の物質を回避するのが一般的な手法です。例えば、EPA メソッド 8327^{4,5}では、サンプル前処理時に特定の物質が含まれる未処理ガラスと PTFE を回避して、ポリプロピレンまた

はポリエチレンを使用することを推奨していません。干渉物や吸着物がないことが実証されているその他の物質を使用する必要があります。さまざまな物質の性能が系統的に研究されて、科学文献に発表されるようになったのはごく最近のことです。⁶ただし、ラボのワークフローの状況で発生するこれらの問題に関して発表されている情報はほぼありません。

直接分析メソッド

分析メソッドはいくつかありますが、これらでは固相抽出を使用せずにサンプル抽出物を直接分析します。この中には、EPA メソッド 8327⁴ および ASTM メソッド D7968-17a⁷ と D7979-19⁸ があります。これらのメソッドは、サンプルへの抽出溶媒の添加、塩基性化、攪拌、遠心分離、ろ過、酸性化、分析を含む、類似したサンプルワークフロー手順に従っています。通常、LC/MS/MS による外部キャリブレーションを使用して定量を実行します。

図 1 に示すように、これら直接メソッドのサンプルワークフローでは消耗品が重要になります。遠心分離チューブは、サンプル抽出およびろ過後の上澄みの収集に使用します。シリンジとシリンジフィルタは、遠心分離後に微細な浮遊粒子を除去するのに使用します。計量容器とオートサンパイアルは、標準の前処理と保管に使用します。さらに、液体クロマトグラフィーと質量分析計に関連する消耗品もあります。各消耗品をプロセスのステップごとに評価して、損失および汚染物質や干渉物の導入がないことを確認する必要があります。このアプリケーションノートでは、サンプル保管、抽出、ろ過、LC 分離、MS/MS 検出のワークフローの各ステップでの最適化について詳細に説明します。

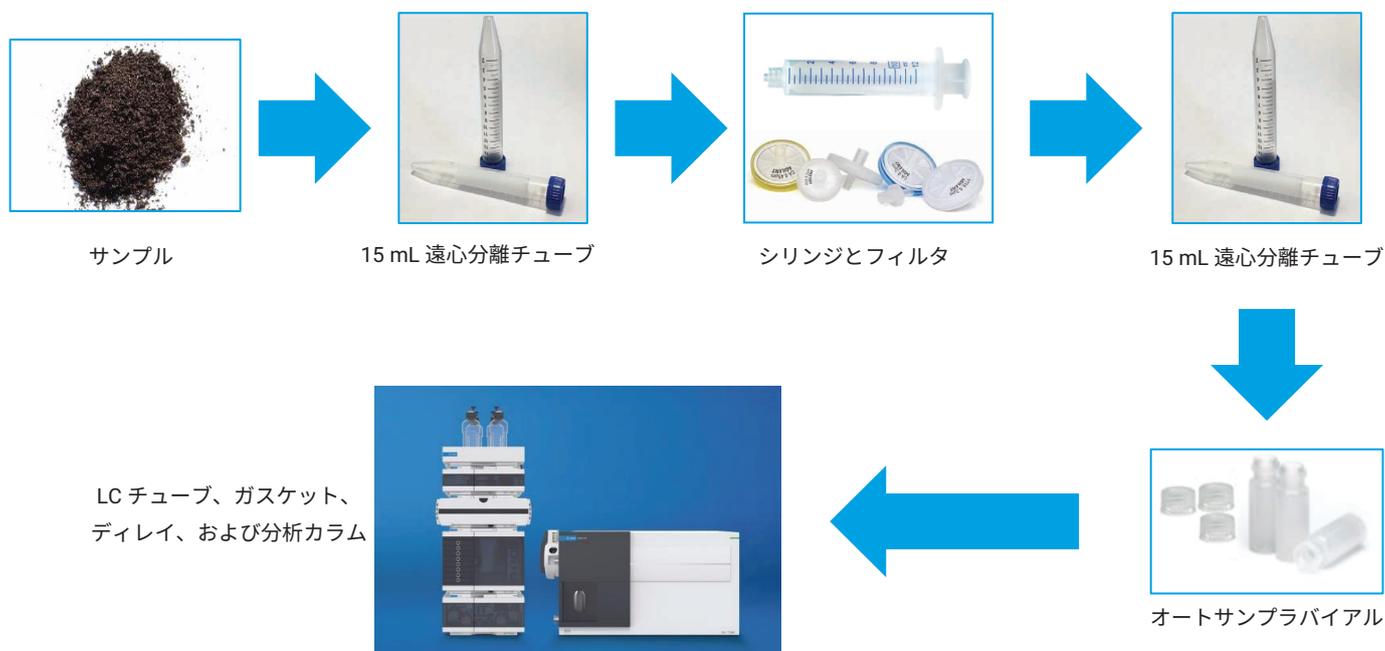


図 1. PFAS 直接分析ワークフローで使用した消耗品

実験方法

抽出および分析手順は、ASTM および EPA メソッドで指定されている手順に厳密に従いました。^{4, 5, 7, 8}

スパイク溶液の調製

PFAS 分析対象物と同位体標識されたサロゲートは、濃度 2 µg/mL の混合物として、濃度 50 µg/mL の個別の化合物として Wellington Labs から購入しました (表 1)。サロゲートスパイク溶液は、濃度 20 µg/L の 95:5 アセトニトリル:水で同位体標識されたサロゲートにより調製しました。中間 PFAS スパイク溶液は、濃度 20 µg/L の 95:5 アセトニトリル:水でターゲット化合物により調製しました。さらに中間 PFAS スパイク溶液を希釈して、95:5 アセトニトリル:水で 2 µg/L の定量下限 (LLOQ) スパイク溶液を調製しました。20 µg/L のサロゲートと PFAS スパイク

溶液を調製し、50 mL ポリプロピレン計量フラスコに保管しました。2 µg/L の中間スパイク溶液を 1 mL ポリプロピレンオートサンプリングバイアル (表 2) で調製し、調製直後に使用しました。

標準溶液の調製

500 µL のサロゲートおよび PFAS スパイク溶液それぞれを 50 mL ポリプロピレン計量フラスコ (表 2) に添加して 1:1 メタノール:水で希釈することにより、最高濃度の標準溶液 (200 ng/L) を調製しました。さらに 200 ng/L の標準溶液を 1:1 メタノール:水で希釈

して、150、100、80、60、40、20、10、および 5 ng/L の標準溶液を調製しました。200 ng/L の標準溶液を、50 mL ポリプロピレン計量フラスコに 6 °C で保管しました。標準溶液は調整直後に使用しました。

表 2. サンプル前処理消耗品

説明	部品番号
ポリプロピレンオートサンプリングバイアルとスナップキャップ	5182-0567 と 5182-0542
50 mL ポリプロピレン計量フラスコ	9301-1424
Captiva ディスポーザブルシリンジ (10 mL)	9301-6474
Captiva プレミアムシリンジフィルタ、再生セルローズ、直径 25 mm、ポアサイズ 0.2 µm	5190-5110
遠心分離チューブとキャップ (15 mL)	5610-2039

表 1. 化合物リスト

ターゲット化合物	サロゲート化合物
ペルフルオロブチルスルホン酸 (PFBS)	ペルフルオロ-1-[1,2,3- ¹³ C3] ヘキシルスルホン酸 (M3PFHxS)
ペルフルオロヘキシルスルホン酸 (PFHxS)	ペルフルオロ-1-[¹³ C8] オクチルスルホン酸 (M8PFOS)
ペルフルオロオクチルスルホン酸 (PFOS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[¹³ C4] ブタン酸 (M4PFBA)
1H, 1H, 2H, 2H-ペルフルオロヘキサンスルホン酸 (4:2 FTS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[¹³ C5] ペンタン酸 (M5PFPeA)
1H, 1H, 2H, 2H-ペルフルオロデカンスルホン酸 (8:2 FTS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[1,2,3,4,6- ¹³ C5] ヘキサン酸 (M5PFHxA)
ペルフルオロ-1-ペンタンスルホン酸 (PFPeS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[1,2,3,4- ¹³ C4] ヘプタン酸 (M4PFHpA)
ペルフルオロ-1-ヘプタンスルホン酸 (PFHpS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[¹³ C8] オクタン酸 (M8PFOA)
ペルフルオロ-1-ノナンスルホン酸 (PFNS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[¹³ C9] ノナン酸 (M9PFNA)
ペルフルオロ-1-デカンスルホン酸 (PFDS)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[1,2,3,4,5,6- ¹³ C6] デカン酸 (M6PFDA)
ペルフルオロブタン酸 (PFBA)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[1,2,3,4,5,6,7- ¹³ C7] ウンデカン酸 (M7PFUnA)
ペルフルオロペンタン酸 (PFPeA)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C2] ドデカン酸 (MPFDoA)
ペルフルオロヘキサン酸 (PFHxA)	ペルフルオロ- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C2] テトラデカン酸 (M2PFTeDA)
ペルフルオロヘプタン酸 (PFHpA)	1H, 1H, 2H, 2H-ペルフルオロ-(1,2- ¹³ C2) ヘキシルスルホン酸 (M2-4:2 FTS)
ペルフルオロオクタン酸 (PFOA)	1H, 1H, 2H, 2H-ペルフルオロ-1(1,2- ¹³ C2) デシルスルホン酸 (M2-8:2 FTS)
ペルフルオロノナン酸 (PFNA)	N-メチル-d3-ペルフルオロ-1-オクタンスルホンアミド酢酸 (d3-N-MeFOSAA)
ペルフルオロデカン酸 (PFDA)	N-エチル-d5-ペルフルオロ-1-オクタンスルホンアミド酢酸 (d5-N-EtFOSAA)
ペルフルオロウンデカン酸 (PFUdA)	ペルフルオロ-1-[¹³ C8] オクタンスルホンアミド (M8FOSA)
ペルフルオロドデカン酸 (PFDoA)	
ペルフルオロトリデカン酸 (PFTrDA)	
ペルフルオロテトラデカン酸 (PFTeDA)	
N-エチルペルフルオロ-1-オクタンスルホンアミド酢酸 (NEtFOSAA)	
N-メチルペルフルオロ-1-オクタンスルホンアミド酢酸 (NMeFOSAA)	
ペルフルオロ-1-オクタンスルホンアミド (FOSA)	

ブランク

ダブルブランクを調製して、サンプル前処理ワークフローの成分ごとに存在する可能性のある汚染物質または干渉物を測定しました。15 mL の遠心分離チューブとディスポーザブルシリンジ（表 2）については、10 mL の 1:1 メタノール:水混合物を各チューブに添加して、水酸化アンモニウム溶液により pH を 8.5 ~ 9.0 に調整しました。チューブとシリンジはふたをして、ローテータで 1 時間回転させました。回転させた後、溶液を酢酸で酸性化させて pH を 3.5 ~ 4.0 に調整しました。これらのサンプルを LC/MS/MS で分析しました。シリンジフィルタ（表 2）の適格性評価については、シリンジに 10 mL の 1:1 メタノール:水を充填して、pH を 8.5 ~ 9.0 に調整しました。10 mL の容量全体をシリンジフィルタを通して、別の 15 mL の遠心分離チューブに収集しました。ろ過液の pH を 3.5 ~ 4.0 に調整して、LC/MS/MS で分析しました。

試薬砂をメソッドブランクとして分析し、汚染物質または干渉物の存在を確認しました。15 mL 遠心分離チューブで、2 g の清潔な砂壤土 (CLNSOIL3、Supelco) を約 0.1 g 計量し、40 µL のサロゲートスパイク溶液をスパイクして濃度 400 ng/kg を生成しました。10 mL の 1:1 メタノール:水溶液を遠心分離チューブに添加しました。次に、水酸化アンモニウムにより pH を 8.5 ~ 9.0 に調整して、チューブをローテータで 1 時間回転させました。回転させた後、チューブを 1,900 rpm で 10 分間遠心分離しました。上澄み溶液をシリンジフィルタを使用してシリンジに静かに移して、清潔な 15 mL 遠心分離チューブにろ過しました。溶液を酢酸で酸性化させて pH を 3.5 ~ 4.0 に調整し、これらのサンプルを LC/MS/MS で分析しました。

低濃度スパイク

低濃度スパイクを調製して、サンプル前処理ワークフローで各成分に発生する可能性のある損失を測定し、定量下限 (LLOQ) を検証しました。15 mL 遠心分離チューブ、シリンジ、およびシリンジフィルタの適格性評価については、ダブルブランクの調製の場合と同じ手順を使用して 10 mL の抽出溶液をスパイクし、添加濃度がそれぞれ 5 および 80 ng/L の PFAS ターゲットとサロゲートを作成しました。

試薬砂に PFAS ターゲットとサロゲートをスパイクして、LLOQ を検証しました。ダブルブランクの調製の場合と同じ抽出手順を使用して 2 g の清潔な砂をスパイクし、添加濃度がそれぞれ 25 ng/kg および 400 ng/kg の PFAS ターゲットとサロゲートを作成しました。

機器メソッド

最適化した LC 条件を表 3 に、最適化した MS 条件を表 4 に示します。フラグメンタ電圧とコリジョンエネルギー電圧を、Agilent Optimizer ソフトウェアを使用して測定しました。その結果を、選択したプリカーサイオン、プロダクトイオン、およびリテンションタイムとともに付表 A の表 A1 に示します。図 2 に、メソッド条件で生成された代表的なクロマトグラムを示します。

表 3. LC の分析条件

パラメータ	設定値			
LC	Agilent 1290 Infinity II LC			
分析カラム	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 µm (p/n 959758-902)			
ディレイカラム	Agilent InfinityLab PFC ディレイカラム (p/n 5062-8100)			
カラム温度	30 °C			
注入量	30 µL			
移動相	A) 20 mM 酢酸アンモニウム、95 % 水および 5 % アセトニトリル溶液 B) 10 mM 酢酸アンモニウム、95 % アセトニトリルおよび 5 % 水溶液			
グラジエント	時間 (分)	%A	%B	流量 (mL/min)
	0	100	0	0.3
	1	70	30	0.3
	6	50	50	0.3
	13	15	85	0.3
	14	0	100	0.4
	17	0	100	0.4
	21	100	0	0.4

表 4. MS 条件

パラメータ	設定値
MS	Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS (Agilent Jet Stream ESI ソース搭載)
イオン源パラメータ	
極性	ネガティブ
乾燥ガス	230 °C、4 L/min
シースガス	250 °C、12 L/min
ネブライザガス	15 psi
キャピラリー電圧	2,500 V
ノズル電圧	0 V
データ取り込み	
サイクル時間	500 ms
MRM 総数	61
最大同時 MRM	30
最小/最大ドウェル	14.18 ms/247.76 ms

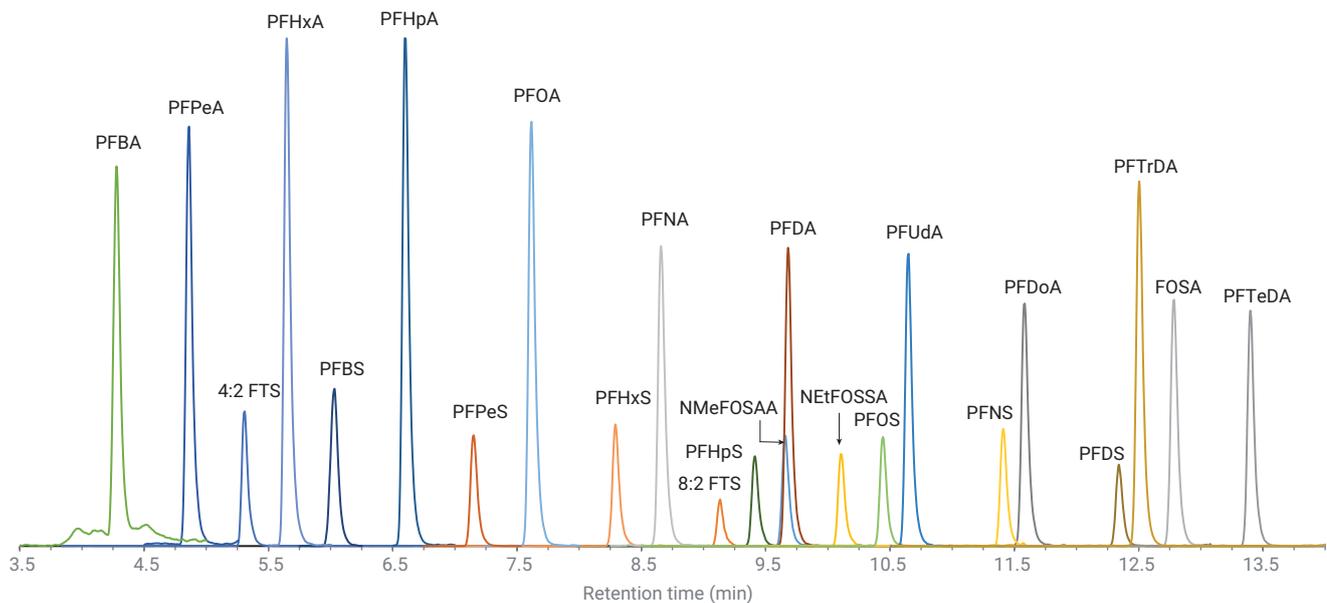


図 2. 100 ng/L 標準溶液中の PFAS ターゲットのクロマトグラム

機器キャリブレーション

外部キャリブレーションを使用して、濃度の逆数（つまり、 $1/x$ ）で重み付けした線形最小二乗法回帰をすべてのターゲットとサロゲートに適用しました。キャリブレーションの許容基準については、メソッドに従って回帰モデルの予測可能性により決定しています。最低濃度の標準については、算出濃度を実際の濃度の 50 ~ 150 % 以内にする必要があります。その他すべての標準については、算出濃度を実際の濃度の 70 ~ 130 % 以内にする必要があります。付表 A の表 A2 と A3 に、決定係数および各キャリブレーション濃度での各 PFAS ターゲットとサロゲートの精度を示します。すべての化合物がキャリブレーション基準に合格しました。

結果と考察

イオン源のシースガス温度

機器メソッドの最適化時に、高温のシースガスにより擬分子プリカーサイオン、特にカルボン酸の熱分解を引き起こしていることがわかりました。一例として、図 3 では、シースガス温度 350 °C と 250 °C で収集した PFTeDA のスペクトルを比較しています。350 °C において、プリカーサイオン (m/z 731) の二フッ化カルボニル（質量 66）のニュートラルロスにより、 m/z 647 のベースピークイオンを生成しました。シースガス温度を 250 °C まで下げて、 m/z 713 の目的のベースピークを生成しました。

脂肪族炭素鎖の長さを長くすると熱不安定性が増大することがわかりました。図 4A では、シースガス温度 250、300、および 350 °C におけるプリカーサイオンの相対レスポンスを、炭素数の関数としてプロットしました。プロットに示されているように、プリカーサイオンの損失は炭素数が増えて温度が上昇すると増大しました。図 4B では、シースガス温度 250、300、および 350 °C におけるニュートラルロス生成物の相対レスポンスを、炭素数の関数としてプロットしました。同様に、ニュートラルロス生成物は炭素数が増えて温度が上昇すると増大しました。シースガス温度は 250 °C が最適であることがわかりました。この温度では、低濃度検出と再現性のある定量に対して効率的なイオン移送が実現すると同時に、プリカーサイオンの強度が最大化されます。

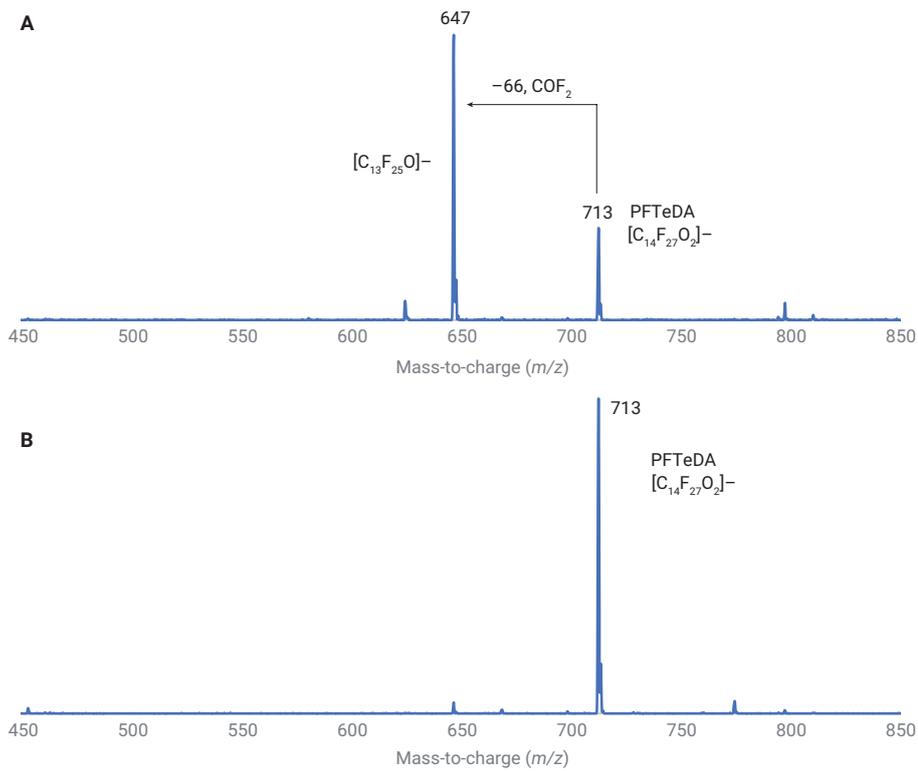


図 3. シースガス温度 350 °C (A) および 250 °C (B) での PFTeDA のスペクトル

溶液の保管

標準溶液を調製し、50 mL ポリプロピレン計量フラスコ (表 2) に保管しました。EPA メソッド 8327 で推奨されているように、ポリプロピレン容器を ≤ 6 °C で保管して室温に戻し、ボルテックスしてから使用しました。ただし、このプロトコルは、容器表面から長鎖酸を回収するには適していませんでした。これらの損失を回収するには、ポリプロピレン容器を 30 分間で 50 °C まで加熱した後にボルテックスによる混合が必要でした。図 5 では、室温に戻した原液から調製した標準と 50 °C まで加熱した原液から調製した標準を比較しています。加熱すると、回収率がメソッドで指定した限界値 (± 30 %) 以内に収まりました。

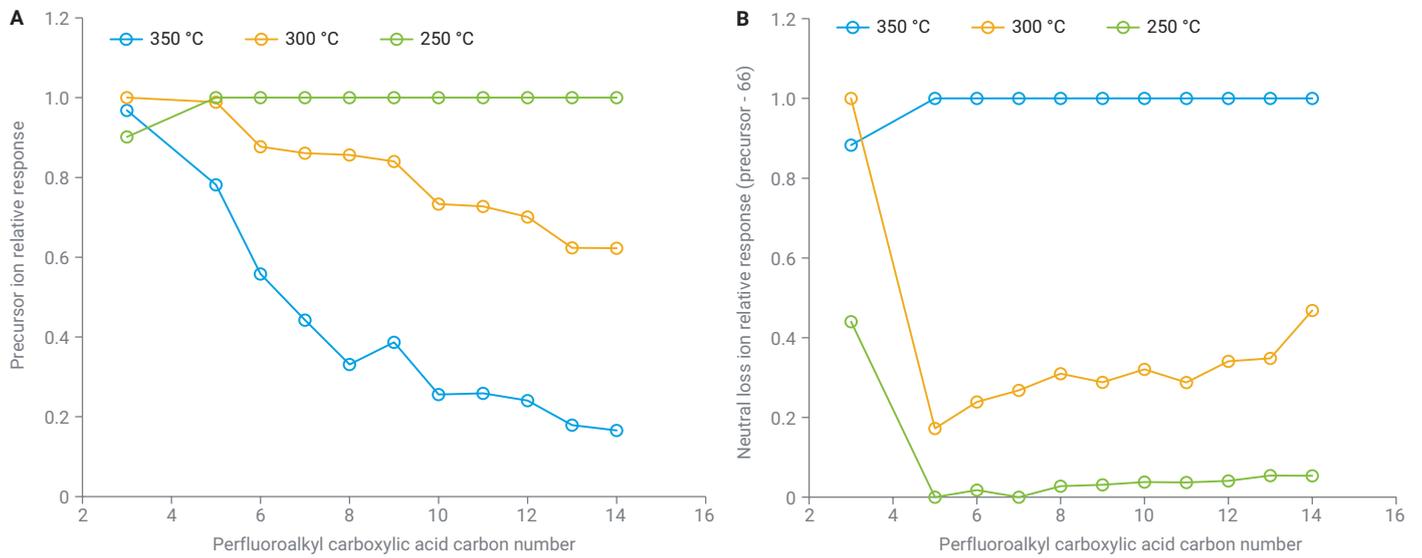


図 4. 250、300、および 350 °C におけるシースガス温度の関数としてのプリカーサイオンの相対レスポンス (A)。250、300、および 350 °C におけるシースガス温度の関数としてのニュートラルロス生成物の相対レスポンス (B)

加熱サイクルを繰り返すと、50 mL 計量フラスコから溶媒が蒸発するため、時間の経過とともに回収率が增大する場合がありますという懸念がありました。ただし、この現象は観察されませんでした。図 6 に、41 日間にわたる 5 回の加熱/冷却サイクルで PFAS およびサロ

ゲート溶液から調製した中濃度の標準の回収率を示します。すべての分析対象物の回収率が、メソッドで指定した限界値 (±30 %) 以内に収まりました。

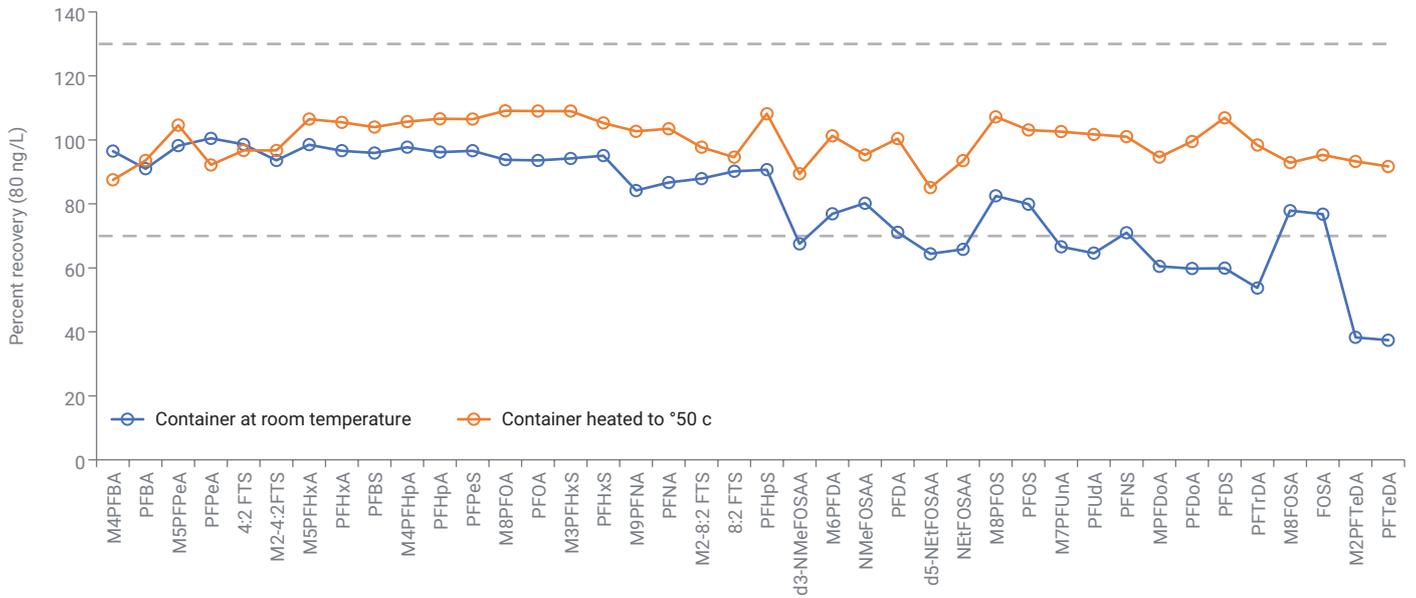


図 5. 原液で調製した中濃度標準 (80 ng/L) の回収率

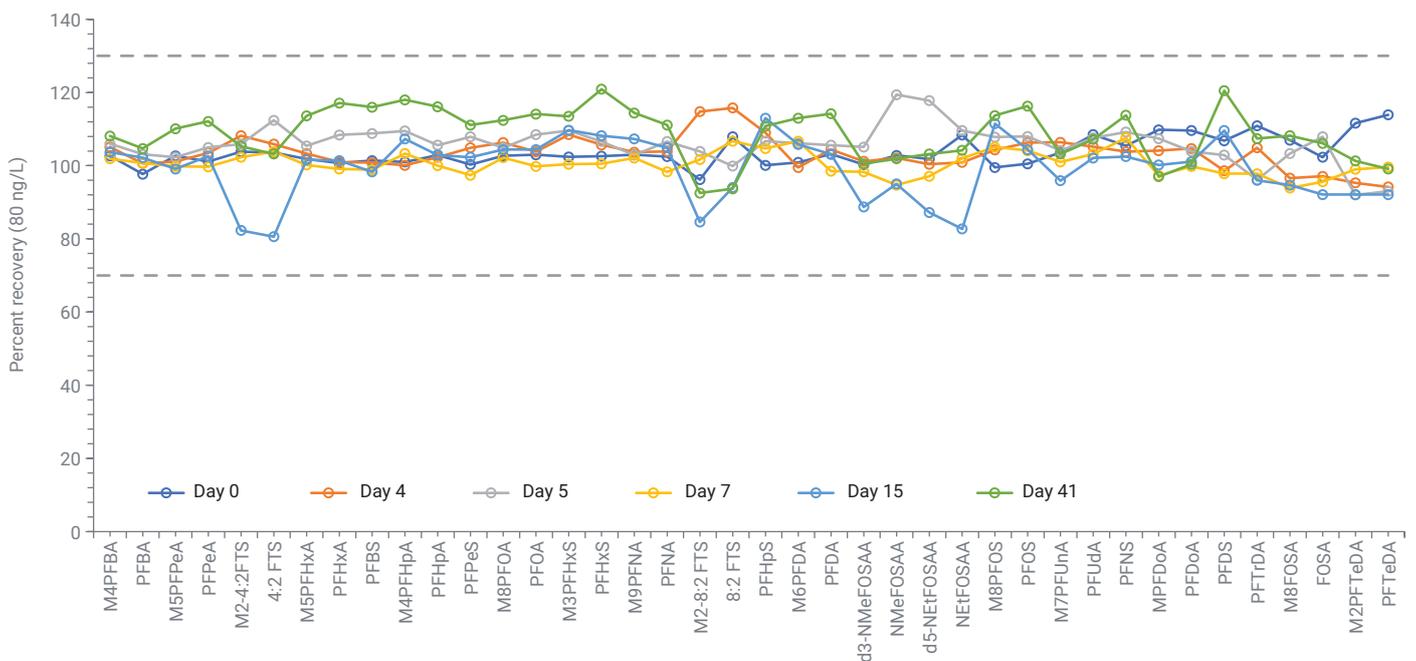


図 6. 41 日間にわたる 5 回の加熱/冷却サイクルで原液から調製した標準の回収率

図 7 に示すような容器形状と加熱方法により、加熱サイクルにおいて溶媒の蒸発を最小限に抑えていると仮定しました。室温で容器の下部をフラスコのネックまでウォーターバスに沈めることにより、溶媒の凝集を形成してバルク溶媒に滴り落ちるようにしました。加熱後、ボルテックスによる混合で溶液を均一化しました。フラスコを約 10 分間冷却してから開けました。フラスコを開けた際に、圧力は上昇しませんでした。

15 mL ポリプロピレン遠心分離チューブの評価

実験の最初に、15 mL ポリプロピレン遠心分離チューブに、ターゲットまたはサロゲートのレスポンスに干渉する可能性のある PFAS 残留物または整数質量同重体が存在するかどうかをテストしました。図 8 に、5 種類の遠心分離チューブのダブルブランク測定の結果を示します。プロットに示しているのは、LLOQ 濃度（緑色の破線）と LLOQ の半分（赤色の破線）です。メソッドに従い^{4, 5, 7, 8}、測定濃度が LLOQ の半分未満の場合はサンプルをブランクとして報告しています。すべてのターゲットとサロゲートについて、ブランク測定値は LLOQ の半分より大幅に低く、チューブのバックグラウンドが非常に低いことがわかりました。

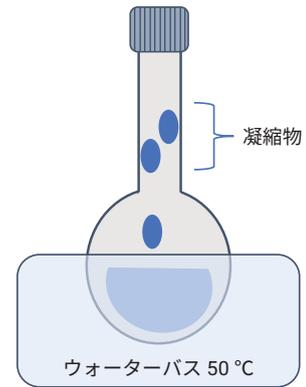


図 7. 計量フラスコでの原液の加熱の設定を示す図

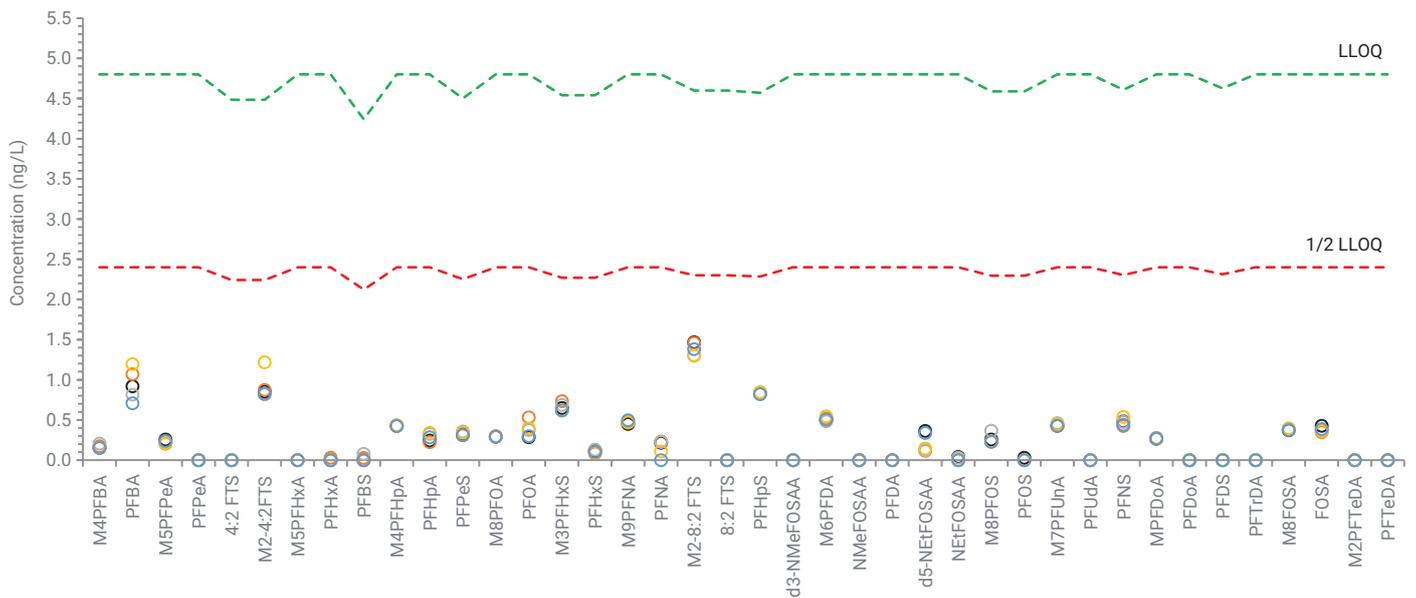


図 8. 5 種類の遠心分離チューブのダブルブランク測定。LLOQ および LLOQ の半分の濃度がそれぞれ、緑色の破線および赤色の破線で示されています。

低濃度では、表面吸着が問題になる場合があります。表面吸着が低濃度回収率に影響を与えているかどうかを判別するために、LLOQ において 5 種類のチューブに公称濃度 5 ng/L のターゲットと濃度 80 ng/L のサロゲートをスパイクしました。平均回収率を図 9 に示します。すべての化合物について、LLOQ でのターゲット回収率は、ターゲット化合物で 50 ~ 150 % というメソッドで指定した限界値以内で、サロゲートでは 70 ~ 130 % という限界値以内です。サロゲート M2-8:2 FTS の平均回収率は、他のサロゲートと比較して高くなりました。この化合物とその他のテロマースルホン酸塩は問題になる場合があります、多くの場合 QC エラーの影響を受けやすくなります。⁴

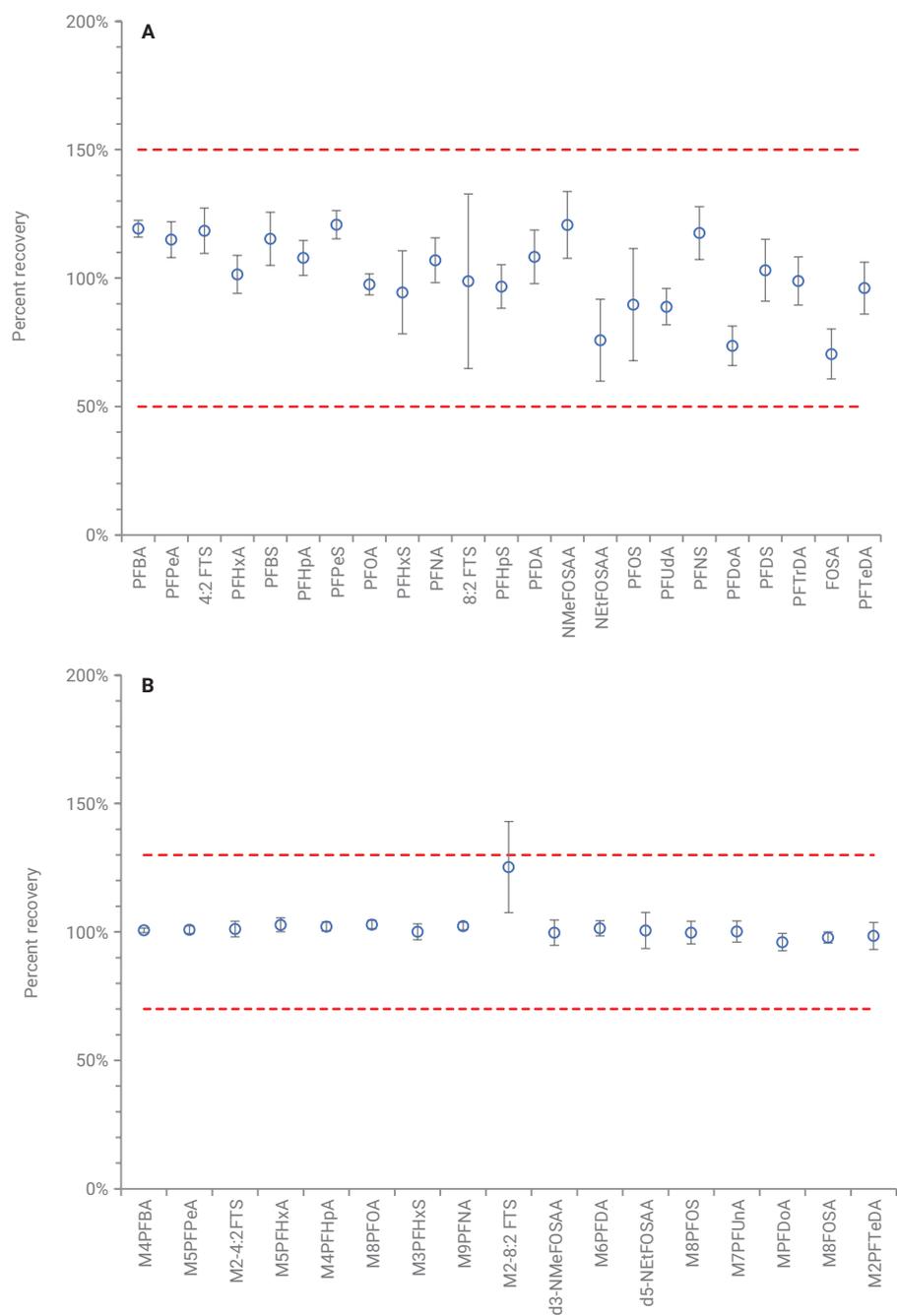


図 9. PFAS ターゲット (A) およびサロゲート (B) それぞれの 5 および 80 ng/L における 15 mL 遠心分離チューブでの 5 回繰り返し LLOQ 溶媒スパイクの平均回収率。エラーバーは、標準偏差 1 を表しています。

10 mL ポリプロピレンシリンジの評価

ろ過しやすくするために、メソッドでは再利用可能なガラスシリンジまたはポリマーシリンジを使用するように指定します。再利用可能なシリンジは、初めて使用する前および各ろ過の間に十分にクリーニングする必要があります。例えば、EPA メソッド 8327 では、シリンジを熱した水道水に浸した後、50 mL の試薬水、30 mL のアセトニトリル、および 30 mL のエタノールで洗浄することを推奨しています。クリーニング手順は、特に大量のサンプルを処理する場合、かなりの時間がかかると同時に、大量の高純度溶媒を必要とします。ディスポーザブルシリンジを使用すると、時間、溶

媒コスト、溶媒廃棄物処理が大幅に削減されます。ただし、ディスポーザブルシリンジでは、バックグラウンドの干渉および吸着による損失をなくす必要があります。

図 10 に、パッケージから取り出した直後の洗浄していない、5 種類のシリンジのダブルブランク測定の結果を示します。プロットに示しているのは、LLOQ 濃度（緑色の破線）と LLOQ の半分（赤色の破線）です。すべてのターゲットとサロゲートについて、ブランク測定値は LLOQ の半分より大幅に低く、シリンジのバックグラウンドが非常に低いことがわかりました。

シリンジが吸着による損失を引き起こしているかどうかを判別するために、LLOQ において 5 種類のシリンジに公称濃度 5 ng/L のターゲットと濃度 80 ng/L のサロゲートをスパイクしました。平均回収率を図 11 に示します。すべての化合物について、LLOQ でのターゲット回収率は、ターゲット化合物では 50 ~ 150 % というメソッドで指定した限界値以内で、サロゲートでは 70 ~ 130 % という限界値以内です。

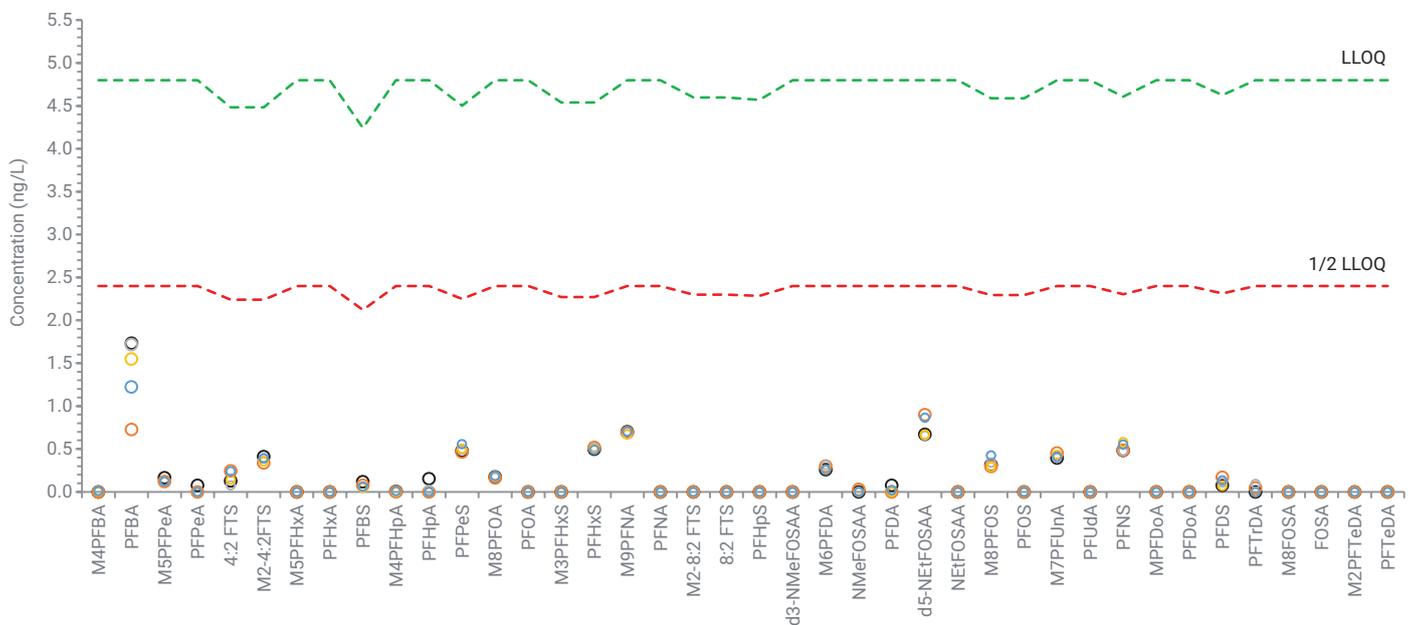


図 10. 5 種類の遠心分離チューブのダブルブランク測定。LLOQ および LLOQ の半分の濃度がそれぞれ、緑色の破線および赤色の破線で示されています。

シリンジフィルタの評価

おそらくサンプル前処理手順で最も重要なステップはろ過です。抽出溶液と表面積の広いろ過素材が乱流により接触すると、サンプルが汚染または損失する可能性があります。0.2 μm 二層ポリプロピレン/ガラスマイクロファイバーシリンジフィルタを使用して、EPA および ASTM メソッドをバリデーションしました。すべてのメソッドにおいて、使用前にフィルタを洗浄して、存在する可能性のある汚染物質を除去することを推奨しています。例えば、EPA 8327 では、サンプルをろ過する前に各シリンジフィルタを 10 mL のアセトニトリルで 2 回洗浄した後、10 mL のメタノールで 2 回洗浄することを推奨しています。この理由は明らかです。図 12 では、5 回の繰り返しのろ過について、二層ポリプロピレン/ガラスマイクロファイバーシリンジを洗浄前後で比較しています。図に示すように、PFBS、PFHpA、PFDoA、および PFTeDA の濃度が高いのに加えて、PFBA、PFHxA、PFOA、および NMeFOSSA で顕著な汚染が記録されました。

シリンジの場合と同様に、クリーニング手順では、特に大量の抽出物が必要な場合、かなりの時間と大量の溶媒が必要になることがあります。代替として、Agilent Captiva RC シリンジフィルタについて固有の汚染がないか評価しました。図 13 に、洗浄していない 5 種類のカートリッジのダブルブランク抽出物を示します。PFAS ターゲットとサロゲートの濃度は LLOQ の半分未満でした。これは、フィルタを洗浄しなくても使用できることを示しており、サンプルワークフローの処理効率が大幅に向上します。図 13. Agilent Captiva RC シリンジフィルタのダブルブランク抽出物

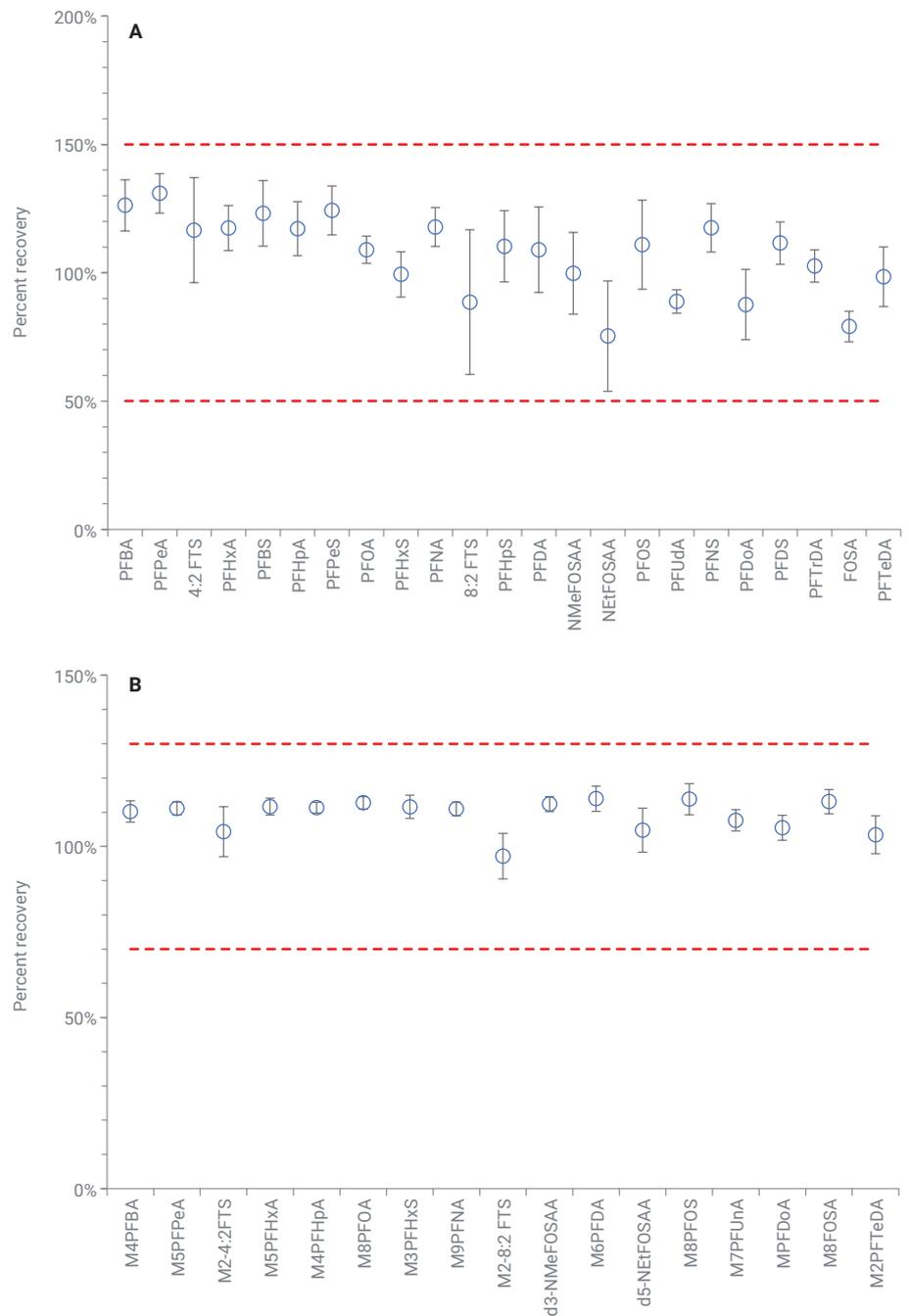


図 11. PFAS ターゲット (A) およびサロゲート (B) それぞれの 5 および 80 ng/L におけるシリンジでの 5 回繰り返し LLOQ 溶媒スパイクの平均回収率。エラーバーは、標準偏差 1 を表しています。

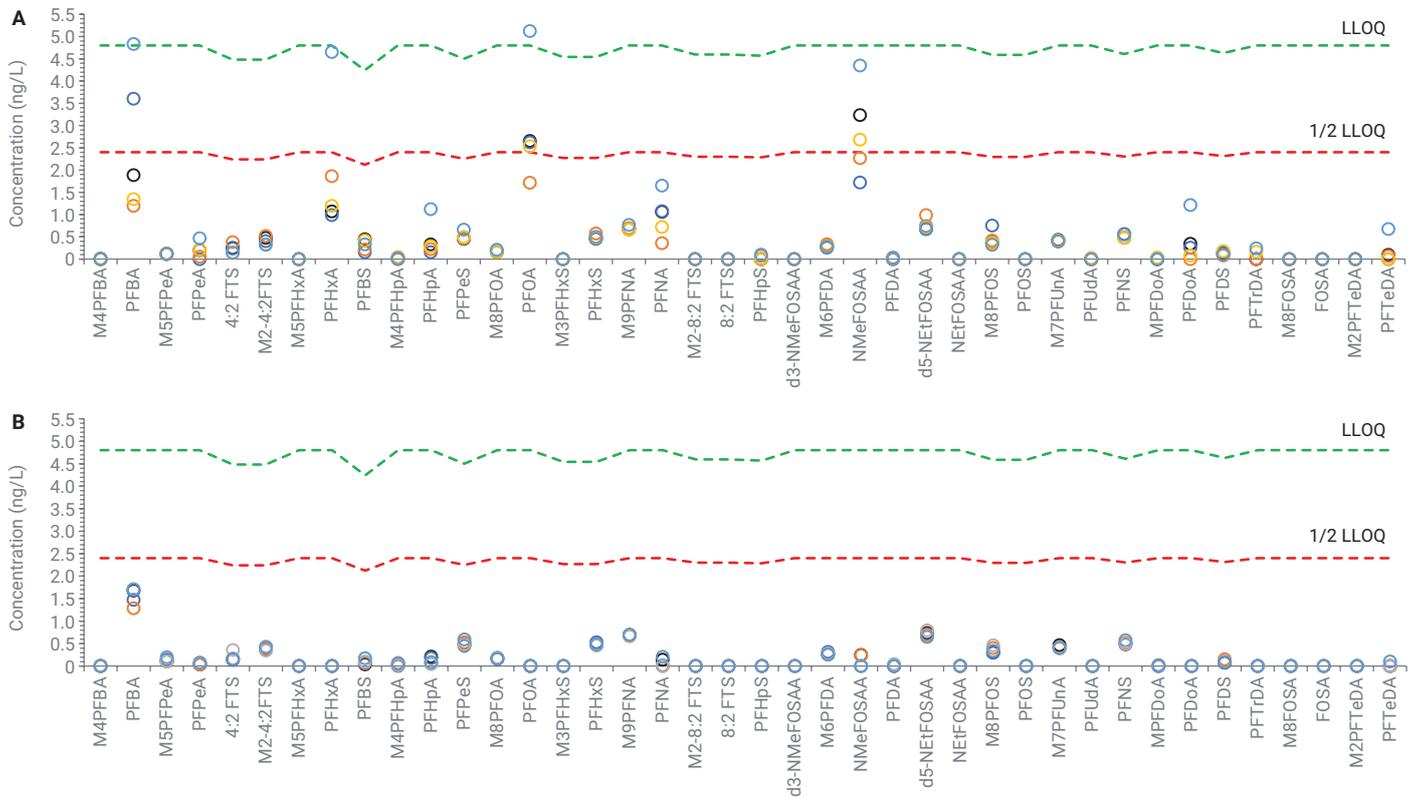


図 12. 洗浄前 (A) および洗浄後 (B) の二層ポリプロピレン/ガラスマイクロファイバーの比較

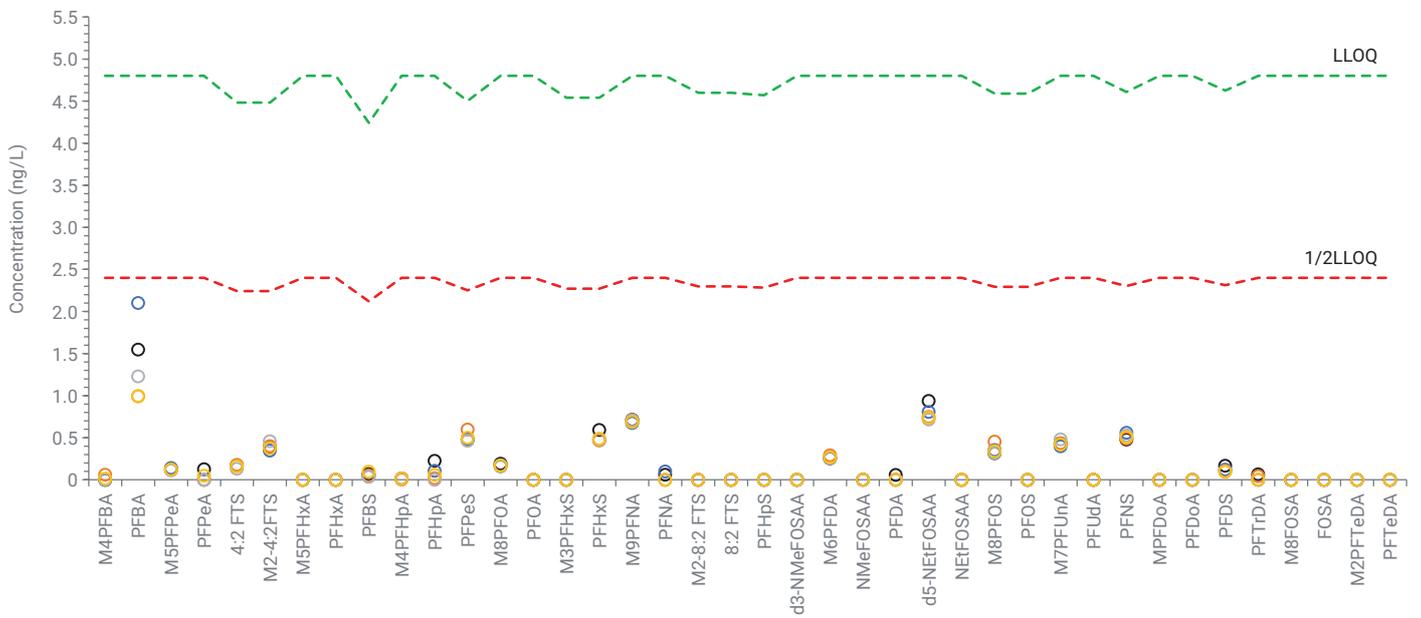


図 13. Agilent Captiva RC シリンジフィルタのダブルブランク抽出物

シリジフィルタの適合性評価の次のステップは、低濃度スパイクの回収率を評価して、フィルタが吸着による損失を引き起こしていないことを確認することです。図 14 に、LLOQ において公称濃度 5 ng/L のターゲットと濃度 80 ng/L のサロゲートを 5 回繰り返しスパイクした際の回収率を示します。すべての化合物について、LLOQ でのターゲット回収率は、ターゲット化合物では 50 ~ 150 % というメソッドで指定した限界値以内で、サロゲートでは 70 ~ 130 % という限界値以内です。

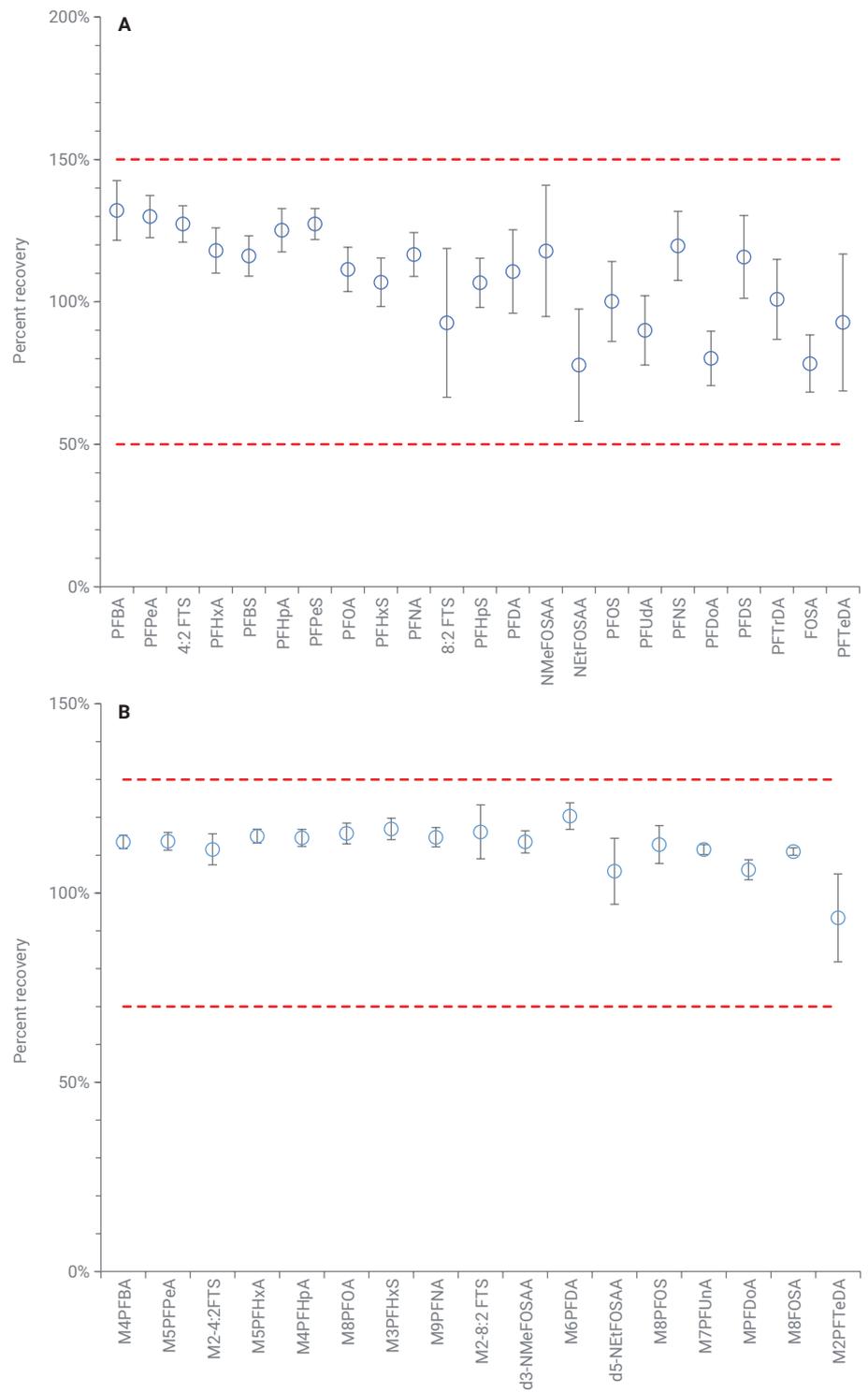


図 14. PFAS ターゲット (A) およびサロゲート (B) それぞれの 5 および 80 ng/L における Agilent Captiva RC フィルタを通してろ過した 5 回繰り返し LLOQ 溶媒スパイクの平均回収率。エラーバーは、標準偏差 1 を表しています。

サンプルマトリックス抽出

メソッドブランクとして砂壌土を使用しました。6 回の繰り返し抽出の結果を図 15 に示します。明らかにわかることは、砂には LLOQ スレッショールドを超える比較的高濃度の PFAS である PFBA、PFHxA、および PFOA が含まれており、PFHpA、PFNA、8:2 FTS、PFDoA、PFTTrDA、FOSA、および PFTeDa の濃度が高いことです。興味深いことに、サロゲートの回収率は 70 ~ 130 % 以内でしたが、M2-8:2FTS は例外で回収率が約 2 倍増大しています。これは、マトリックス向上イオン化が原因であると考えられるため、次のセクションで詳細に調査しました。

図 16 に、LLOQ (25 ng/kg) における 6 回繰り返し分析の平均に対してバックグラウンドを差し引いた砂壌土マトリックススパイクの回収率の結果を示します。すべての回収率が 50 ~ 150 % 以内ですが、8:2 FTS は例外で、この原因はマトリックスによるイオン化の向上です。

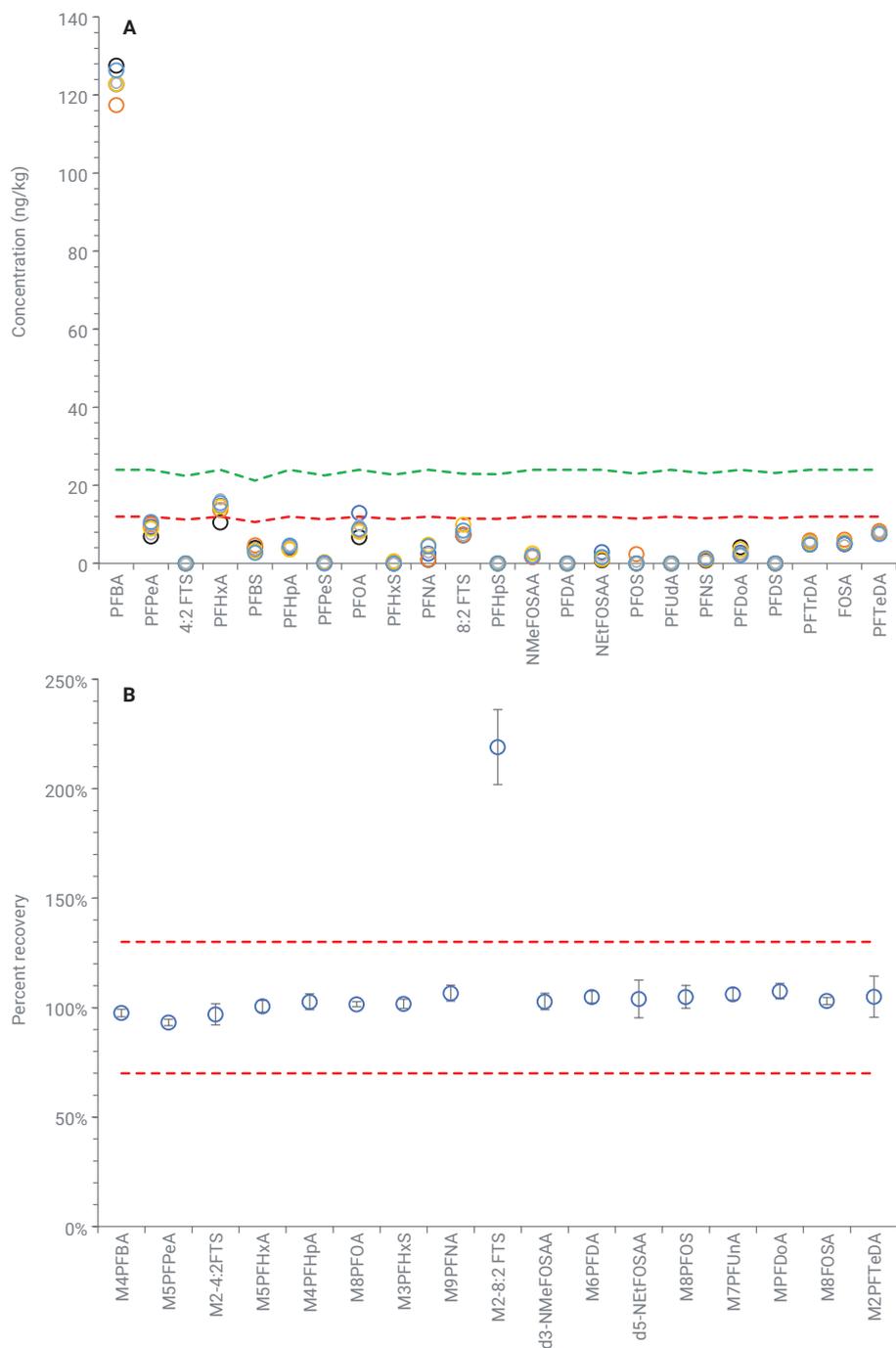


図 15. PFAS ターゲット (A) およびサロゲート (B) 回収率の砂壌土からの 6 回繰り返しメソッドブランク抽出の結果

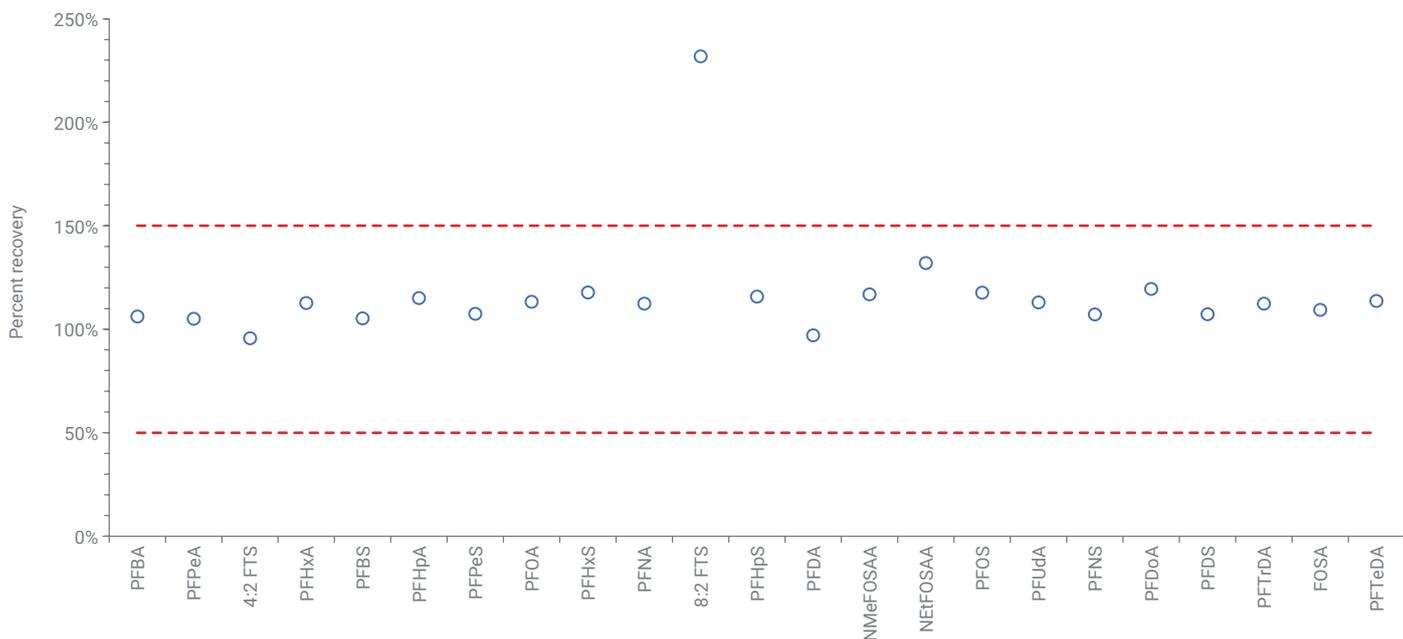


図 16. LLOQ (25 ng/kg) における砂壤土のマトリックススパイク回収率

マトリックスによるイオン化の向上

文献には、特定の PFAS 化合物が、イオン化においてマトリックス効果の影響を受けやすいと示されています。^{9, 10}マトリックスによるイオン化の向上が発生する可能性があるのは、干渉成分の共溶出により分裂エレクトロスプレー液滴内の分析対象物の空間的分布が変えられ、標準と抽出物でレスポンスの相違を引き起こした際です。これは、砂壤土抽出物

中で観察された 8:2 FTS の回収率が高いことが原因であると推測しました (図 15 と 16)。この仮説について調査するために、標準と抽出物の両方をスキャンモードで分析し、発生している可能性のある共溶出を同定しました。図 17A に、M2-8:2 FTS (m/z -529) と未知の共溶出ピーク (m/z -445) の抽出イオンの重ね表示を示します。一方、図 17B に、未知の共溶出ピークが観察されていない分析標

準中の M2-8:2 FTS のレスポンスを示します。これは、マトリックスによるイオン化の向上の証拠となります。

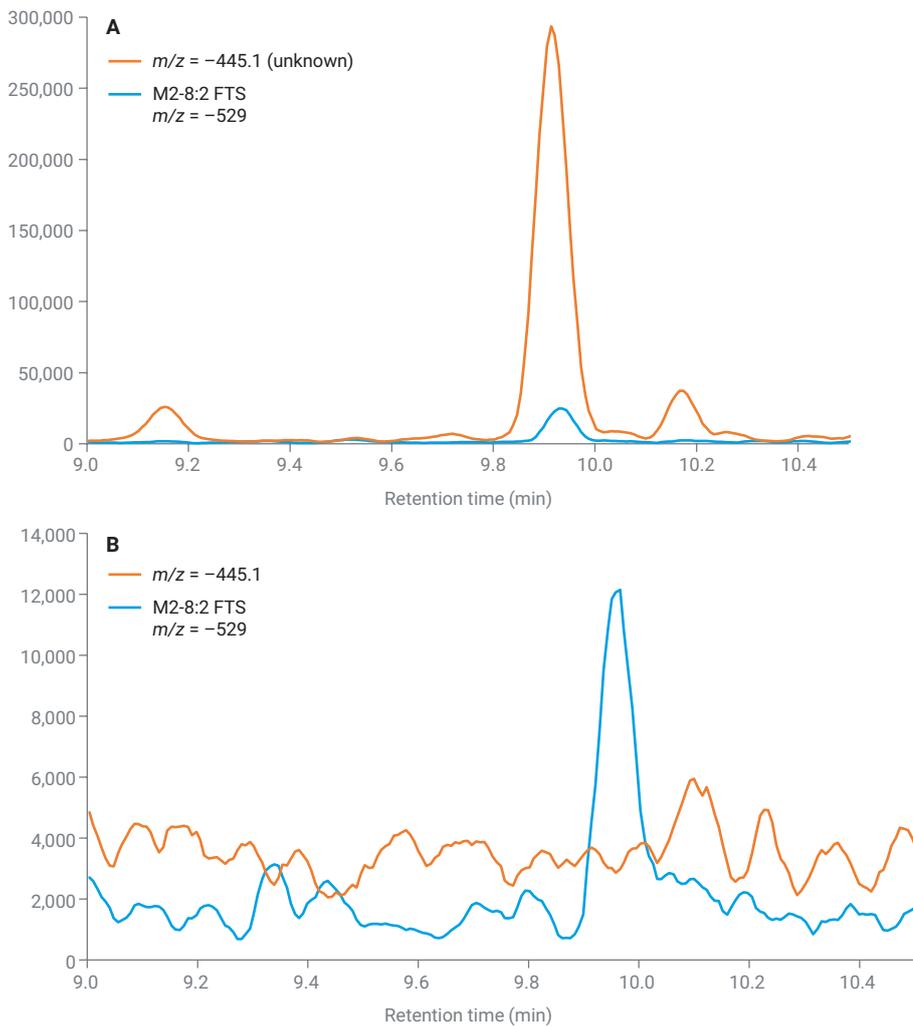


図 17. 分析標準 (B) と比較した砂壤土抽出物 (A) での未知のピークと M2-8:2 FTS の共溶出

結論

EPA 8327、ASTM D7968-17a、および D7979-19 で規定されている PFAS の分析でサンプル前処理ワークフローを成功させるためには、信頼性の高い消耗品が重要です。このアプリケーションノートでは、Agilent 15 mL 遠心分離チューブ、Agilent Captiva ディスポーザブルシリンジ、および Agilent Captiva 再生セルロースシリンジフィルタが、特に PFAS 分析で問題になる場合がある干渉物や損失がない消耗品であることを実証しました。さらに、使用前の洗浄をなくすことにより、大幅な時間短縮と溶媒使用の削減が可能になると同時に、最適な分析性能を実現できます。

参考文献

1. Prevedouros, K. *et al.* Source, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environmental Science & Technology* **2006**, 40(1), 32–44.
2. Lath, S. *et al.* Sorption of PFOA onto Different Laboratory Materials: Filter Membranes and Centrifuge Tubes. *Chemosphere* **2019**, 222, 671–678.
3. Schaefer, C. E. *et al.* Uptake of Poly- and Perfluoroalkyl Substances at the Air-Water Interface. *Environmental Science & Technology* **2019**, 53, 12442–12448.
4. Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Using External Standard Calibration and Multiple Reaction Monitoring (MRM) Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); SW-846 Method 8327; U.S. Environmental Protection Agency, **2019**.
5. PFAS Soil Validation Study, https://response.epa.gov/site/site_profile.aspx?site_id=12634 (Accessed May 20, 2020).

6. Sörensård, M. *et al.* Losses of Poly- and Perfluoroalkyl Substances to Syringe Filter Materials. *J. Chromatog. A* **2020**, 1609, 460430.
7. Standard Test Method for Determination of Polyfluorinated Compounds in Soil by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); D7968-17a; *ASTM International*, **2017**.
8. Standard Test Method for Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Water, Sludge, Influent, Effluent, and Wastewater by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); D7979-19; *ASTM International*, **2019**.
9. Gao, Y. *et al.* Simultaneous Determination of Legacy and Emerging Per- and Polyfluoroalkyl substances in Fish by QuEChERS Coupled with Ultrahigh Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Methods* **2018**, 10, 5715–5722.
10. Nakayama, S. F. *et al.* Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Maternal Serum: Method Development and Application in Pilot Study of the Japan Environment and Children. *J. Chromatog. A* **2020**, 460933.

付表 A

表 A1. 化合物 MRM のパラメータ

化合物	プリカーサイオン	プロダクトイオン	リテンションタイム (分)	フラグメンタ (V)	コリジョンエネルギー (V)
M4PFBA	217	172	4.333	61	8
PFBA	213	169	4.335	64	8
M5PFPeA	268	223	4.902	64	4
PFPeA	263	219	4.902	64	4
4:2 FTS	327	307	5.339	129	20
4:2 FTS	327	81	5.339	129	32
M2-4-2FTS	329	309	5.339	135	20
M5PFHxA	318	273	5.676	67	8
PFHxA	313	269	5.676	67	8
PFHxA	313	119	5.676	67	20
PFBS	299	99	6.114	141	32
PFBS	299	80	6.114	141	36
M4PFHpA	367	322	6.619	70	8
PFHpA	363	319	6.619	70	8
PFHpA	363	169	6.619	70	16
PFPeS	349	99	7.224	157	36
PFPeS	349	80	7.224	157	44
M8PFOA	421	376	7.613	76	8
PFOA	413	369	7.622	76	8
PFOA	413	169	7.622	76	20
M3PFHxS	402	80	8.369	166	48
PFHxS	399	99	8.370	166	40
PFHxS	399	80	8.370	166	48
M9PFNA	472	427	8.659	86	8
PFNA	463	419	8.660	89	8
PFNA	463	219	8.660	89	16
8:2 FTS	527	507	9.119	169	32
8:2 FTS	527	81	9.119	169	40
M2-8-2FTS	529	509	9.127	172	32
PFHpS	449	99	9.483	126	44
PFHpS	449	80	9.483	126	52
d3-NMeFOSAA	573	419	9.629	135	20
NMeFOSAA	570	483	9.638	129	16
NMeFOSAA	570	419	9.638	129	20
M6PFDA	519	474	9.674	89	8
PFDA	513	469	9.682	92	8
PFDA	513	219	9.682	92	16
d5-NEtFOSAA	589	419	10.081	132	20
NEtFOSAA	584	483	10.090	129	16
NEtFOSAA	584	419	10.090	129	20
M8PFOS	507	80	10.505	194	56
PFOS	499	99	10.506	194	48

化合物	プリカーサイオン	プロダクトイオン	リテンションタイム (分)	フラグメンタ (V)	コリジョンエネルギー (V)
PFOS	499	80	10.506	194	56
M7PFUnA	570	525	10.643	101	8
PFUdA	563	519	10.644	95	8
PFUdA	563	269	10.644	95	20
PFNS	549	99	11.476	209	52
PFNS	549	80	11.476	209	56
MPFD _o A	615	570	11.589	95	12
PFDoA	613	569	11.589	101	12
PFDoA	613	169	11.589	101	28
PFDS	599	99	12.420	209	56
PFDS	599	80	12.420	209	80
PFT _r DA	663	619	12.518	110	12
PFT _r DA	663	169	12.518	110	32
M8FOSA	506	78	12.858	160	36
FOSA	498	78	12.859	157	36
FOSA	498	48	12.859	157	80
M2PFTeDA	715	670	13.429	107	12
PFTeDA	713	669	13.430	110	12
PFTeDA	713	169	13.430	110	32

表 A2. 1/x で重み付けした線形最小二乗法回帰を使用したターゲットのキャリブレーション精度

濃度 (ng/L)	% 精度																						
	PFBA	PFPeA	4:2FTS	PFHxA	PFBS	PFHpA	PFPeS	PFOA	PFHxS	PFNA	8:2 FTS	PFHpS	PFDA	NMeFOSSA	NEtFOSSA	PFOS	PFUdA	PFNA	PFDoA	PFDS	PFT _r DA	FOSA	PFTeDA
5	99	95	101	99	100	92	89	99	96	94	101	73	87	95	113	94	88	91	102	90	105	107	103
10	103	103	114	101	96	106	98	94	101	106	95	107	110	105	87	105	102	98	97	105	90	92	94
20	99	99	83	95	100	99	109	102	101	92	98	114	88	96	85	94	95	98	85	93	87	95	82
40	98	99	98	102	100	99	103	101	99	103	100	103	107	100	103	104	108	106	110	107	113	103	118
60	99	103	99	101	104	102	103	102	100	102	101	104	109	102	108	100	104	106	101	101	98	102	97
80	98	101	104	101	101	103	100	103	103	103	108	100	103	103	108	101	109	105	110	107	111	102	114
100	106	101	103	103	101	101	100	101	104	103	101	104	102	101	105	107	101	101	99	103	100	101	98
150	99	100	100	101	102	102	101	101	101	99	100	97	100	103	97	100	99	99	100	100	102	101	99
200	100	98	99	97	97	97	97	97	97	98	96	97	95	96	96	96	95	96	96	95	94	97	95
R ²	0.999	1.000	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.998	0.997	0.996	0.999	0.995	0.998	0.997	0.998	0.996	0.997	0.994	0.999	0.991

表 A3. 1/x で重み付けした線形最小二乗法回帰を使用したサロゲートのキャリブレーション精度

濃度 (ng/L)	% 精度																
	M4PFBA	M5PFPeA	M2-4:2FTS	M5PFHxA	M4PFHpA	M8PFOA	M3PFHxS	M9PFNA	M2-8:2 FTS	M6PFDA	d3- NMeFOSAA	d5- NEtFOSAA	M8PFOS	M7PFUnA	MPFDoA	M8FOSA	M2PFTeDA
5	96	98	103	99	97	95	104	109	90	91	102	101	93	96	94	111	105
10	103	101	97	101	102	104	88	94	113	101	89	99	102	96	103	87	91
20	96	95	93	97	99	98	104	88	93	99	102	94	99	96	91	94	85
40	101	104	102	100	99	101	100	105	113	108	104	107	103	108	107	103	114
60	103	100	102	102	100	101	104	100	93	102	108	102	104	104	100	102	100
80	103	103	104	102	101	103	102	103	96	101	100	102	100	104	110	107	112
100	103	102	101	101	104	103	100	103	104	101	97	97	101	101	98	99	99
150	100	101	99	101	101	99	103	102	95	102	99	99	102	99	104	100	101
200	97	97	99	98	97	98	96	97	103	96	99	100	97	97	94	98	94
R ²	0.999	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.998	0.998	0.996	0.998	0.999	0.999	0.999	0.998	0.996	0.998	0.994

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
 © Agilent Technologies, Inc. 2021
 Printed in Japan, January 27, 2021
 5994-2999JAJP
 DE44169.3621875

