

水性サンプルからの PFAS の 自動化固相抽出

US EPA メソッド 1633 用の Agilent Bond Elut Dual Phase
PFAS WAX/Carbon S SPE カートリッジの使用

著者

Anthony Novello
Element Materials
Technology Group, Ltd.

Brandon Mihelich
Michigan Department
of Environment, Great
Lakes, and Energy (EGLE)
Environmental Laboratory

Matthew Giardina
Agilent Technologies, Inc.

概要

自動化固相抽出（SPE）を実施するのに重要なことは、パーフルオロアルキル物質およびポリフルオロアルキル物質（PFAS）分析用に特別に設計されて試験された充填剤を使用することです。本研究では、US EPA メソッド 1633 の品質管理要件を満たすように設計された、Agilent PFAS WAX 充填剤と PFAS 用 Carbon S 充填剤を使用した 5 つの抽出プロトコルを評価しました。これらのプロトコルには、単相 Bond Elut PFAS WAX SPE カートリッジとカーボンを用いた 2 段階抽出、および Agilent Bond Elut 二層 PFAS WAX（上層）/Carbon S と Agilent Bond Elut 混合 PFAS WAX/Carbon S SPE カートリッジを用いた 1 段階抽出が含まれていました。200 mg の PFAS WAX と 10 mg の PFAS 用 Carbon S を含む混合充填剤構成は、回収率外れ値の数が最も少ないことが示されており、水性サンプルマトリックスに対する完全なメソッドバリデーション用を選択しました。さまざまな種類の水性マトリックスにおけるメソッドの有効性を評価するために、住宅用個人井戸からの地下水サンプル、廃水貯蔵池からの流出物、および埋立地モニタリング井戸からの地下水サンプルで PFAS 分析を実施しました。内部標準とマトリックス添加ターゲットの回収率は、十分に許容限界内でした。本研究では、PFAS 分析でのラボの効率と精度の向上における、PFAS 対応カートリッジと組み合わせた自動化 SPE の有効性を明確に示します。

はじめに

環境マトリックス中の PFAS を測定するためのサンプル前処理と分析メソッドの効率化に、ますます注目が集まっています。多くの製造ラボが受け取る多数のサンプル依頼と、メソッドに規制されたサンプル前処理手順の複雑さは、ラボのリソースにストレスを与える可能性があります。これらの課題に対処するために、多くのラボでは、サンプル前処理に自動化を採用しています。サンプル前処理は、最も手間がかかり、ミスが起こりやすい作業です。¹

1 つの分析メソッドは、US EPA メソッド 1633 です。²このメソッドは、水性（非飲料水）、固体（土壌、バイオソリッド、堆積物）、および組織サンプル中の PFAS の抽出と定量の手順を統合するために開発されました。主に、ポリマー弱アニオン交換（WAX）SPE は、ターゲット化合物の選択的抽出に使用されており、グラファイトカーボンは、マトリックス干渉の低減に使用されています。マルチラボバリデーション試験では、WAX SPE とグラファイトカーボンの手順は、手作業でバルクカーボンをサンプルに添加するため、別々の手順が必要でした。多くの製造ラボでは、サンプル前処理手順を効率化して、自動化を促進するために、WAX 充填剤とカーボン充填剤を 1 つの SPE カートリッジに混合することを選択しています。この変更は、メソッド 1633 のセクション 1.5 で規定されているように、メソッドの品質管理指標が達成できる場合には許容されます。²

自動化 SPE を適切に実行するための重要な側面は、メソッドの要件に合わせて特別に設計され、自動化に容易に適合できる、信頼性の高い SPE カートリッジを導入することです。Agilent PFAS WAX 充填剤および PFAS 用 Carbon S 充填剤は、PFAS アプリケーション用に製造されており、PFAS 残留物量が低く、回収率が最大になるようにロット試験されています。^{3, 4}これらの充填剤を、PFAS 残留物量が低いフリットを使用した標準的な 6 mL SPE カートリッジに混合することは、WAX 抽出とグラファイトカーボンによるマトリックス低減の両方を必要とする自動化メソッドに最適です。

本研究では、自動化 SPE を使用して、US EPA メソッド 1633 に規定されている水性マトリックスの品質管理要件に基づき、3 種類の SPE カートリッジを評価しました。これらの SPE カートリッジには、PFAS WAX と PFAS 用 Carbon S が含まれていました。最初の構成では、200 mg の PFAS WAX ベッドが 50 mg の Carbon S ベッドの上部に層状に重ねられており、充填剤はフリットにより分離されています。第二の構成では、200 mg の PFAS WAX を 50 mg の Carbon S と混合してから、カートリッジに充填しました。第三の構成では、200 mg の PFAS WAX と 10 mg の Carbon S を混合してから、カートリッジに充填しました。3 つの構成はすべて、自動化 SPE を使用した同一のプロトコルで評価しており、手作業によるカーボンの添加と別々の WAX 抽出を使用した結果と比較しました。200 mg の PFAS WAX と 10 mg の Carbon S を含む混合充填剤は、住宅用個人井戸からの地下水、廃水貯蔵池からの流出物、埋立地モニタリング井戸からの地下水など、いくつかの環境マトリックスのバリデーションとさらなる評価のために選択しました。

実験方法

材料および試薬

非標識 PFAS は、個々の標準溶液および混合溶液として購入し、同位体標識された標準溶液は、Wellington Laboratories, Inc.（グエルフ、オンタリオ州、カナダ）から混合溶液として入手しました。自動化 SPE システムの洗浄に使用した HPLC グレードのメタノール（MeOH）、移動相および試薬の調製に使用した LC/MS グレードの MeOH および LC/MS グレードのアセトニトリルは、Honeywell（マスキーン、ミシガン州、米国）から購入しました。ACS グレードの水酸化アンモニウムは、Millipore Sigma（バーリントン、マサチューセッツ州、米国）から購入しました。ギ酸は、東京化成工業（中央区、東京、日本）から購入しました。Sigma-Aldrich 酢酸（微量金属元素ベース ≥ 99.99 %）は、Millipore Sigma（バーリントン、マサチューセッツ州、米国）から購入しました。試薬水は、ELGA Purelab Chorus 1 純水装置（ハイ・ウィカム、バッキンガムシャー州、英国）を用いて調製しました。バルクの Supelclean ENVI-Carb は、Millipore Sigma（バーリントン、マサチューセッツ州、米国）から購入し、Carbon S は、アジレント・テクノロジー（サンタクララ、カリフォルニア州、米国）から提供されました。

溶液および標準試料

標準と添加の濃度計算では、サンプル量 250 mL、および最終抽出量 5 mL を基準とし、濃度係数は 50 倍に設定しました。

標準の調製とサンプルの抽出に必要な溶液はすべて、メソッドに記載されているプロトコルに従いました。非標識標準溶液には、メソッドに記載されている次の 40 種類のターゲット化合物を利用しました。11Cl-PF3OUdS、3:3FTCA、4:2FTS、5:3FTCA、6:2FTS、7:3FTCA、8:2FTS、9Cl-PF3ONS、ADONA、HFPO-DA、NetFOSA、NetFOSAA、NetFOSE、NFDHA、NMeFOSA、NMeFOSAA、NMeFOSE、PFBA、PFBS、PFDA、PFDoA、PFDoS、PFDS、PFEEESA、PFHpA、PFHpS、PFHxA、PFHxS、PFMBA、PFMPA、PFNA、PFNS、PFOA、PFOS、PFOSA、PFPeA、PFPeS、PFTeDA、PFTrDA、PFUnA。バリデーション実験のために、さらに 5 種類のターゲット、ペルフルオロブタンスルホンアミド（PFBSA）、ペルフルオロエチルシクロヘキサンスルホン酸（PFECHS）、ペルフルオロヘキサンスルホンアミド（PFHxSA）、ペルフルオロプロパン酸（PFPrA）、ペルフルオロプロパンスルホン酸（PFPrS）を添加しました。PFAS ターゲットを含む原液を、濃度 100 ng/mL で調製しました。この原液を希釈して、公称濃度 10、20、50、100、200、500、1,000、2,000、5,000、10,000 ng/L という 10 のキャリブレーションレベルを調製しました。塩形態のターゲット化合物については、濃度を酸形態に補正しました。

ターゲット定量に使用した抽出された内部標準（EIS）には、メソッドに記載されている次の 24 種類の同位体標識された化合物を利用しました。 $^{13}\text{C}_9$ -PFNA、 $^{13}\text{C}_6$ -PFDA、 $^{13}\text{C}_7$ -PFUnA、 $^{13}\text{C}_2$ -PFDoA、および $^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA（500 ng/L）、 $^{13}\text{C}_3$ -PFBS、 $^{13}\text{C}_3$ -PFHxS、 $^{13}\text{C}_8$ -PFOS、 $^{13}\text{C}_5$ -PFHxA、 $^{13}\text{C}_4$ -PFHpA、 $^{13}\text{C}_8$ -PFOA、 $^{13}\text{C}_8$ -PFOSA、 D_3 -NMeFOSA、および D_5 -NEtFOSA（公称濃度 1,000 ng/L）、 $^{13}\text{C}_2$ -4:2FTS、 $^{13}\text{C}_2$ -6:2FTS、 $^{13}\text{C}_2$ -8:2FTS、 $^{13}\text{C}_5$ -PFPeA、 D_3 -NMeFOSAA、および D_5 -NEtFOSAA（公称濃度 2,000 ng/L）、 $^{13}\text{C}_3$ -HFPO-DA、および $^{13}\text{C}_4$ -PFBA（4,000 ng/L）、 D_7 -MeFOSE、および D_9 -EtFOSE（10,000 ng/L）。サンプル溶液中の EIS 濃度は 50 倍希釈されます。塩形態の EIS については、濃度を酸形態に補正しました。

EIS の回収と 機器の QC に使用される 7 種類の抽出されていない内部標準（NIS）は、 $^{13}\text{C}_5$ -PFNA、および $^{13}\text{C}_2$ -PFDA（1,250 ng/L）、 $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA、 $^{13}\text{C}_4$ -PFOA、 $^{18}\text{O}_2$ -PFHxS、および $^{13}\text{C}_4$ -PFOS（公称濃度 2,500 ng/L）、 $^{13}\text{C}_3$ -PFBA（5,000 ng/L）の 3 つの濃度でサンプル濃縮液と標準に添加しました。塩形態の NIS については、濃度を酸形態に補正しました。

メソッドで必要とされる初期能力実証（IDC）および継続的精度および回収率（OPR）のサンプルの場合、低レベルおよび中レベルのサンプル濃度は、それぞれ 4 ng/L および 40 ng/L でした。50 倍の抽出濃度係数を使用した場合、低レベルおよび中レベルの抽出回収添加のインバイアル最終濃度は、それぞれ 200 ng/L および 2,000 ng/L でした。添加濃度 0.4 ng/L、インバイアル最終抽出濃度 20 ng/L により、メソッド検出限界（MDL）試験を実施しました。定量下限（LOQ）は、インバイアル濃度 100 ng/L に相当する 2 ng/L に設定しました。

機器と材料

本研究に使用した 3 種類の Agilent Dual Phase カートリッジを表 1 に示します。性能ベンチマークとして、単相 Bond Elut PFAS WAX 充填剤カートリッジ（Agilent、部品番号 5610-2151）を、Carbon S バルク（Agilent、部品番号 5610-2095）または Supelclean ENVI-Carb（Millipore Sigma、部品番号 57210-U）とともに使用しました。

表 1. Agilent Dual Phase SPE カートリッジ

説明	部品番号
Agilent Bond Elut 層状 PFAS WAX（上側） / Carbon S、200/50 mg、6 mL	5610-2237（30 個）または 5610-2238（250 個）
Agilent Bond Elut 混合 PFAS WAX/Carbon S、200/50 mg、6 mL	5610-2245（30 個）または 5610-2246（250 個）
Agilent Bond Elut 混合 PFAS WAX/Carbon S、200/10 mg、6 mL	5610-2243（30 個）または 5610-2244（250 個）

サンプルは、逆さ置きシェーカーラック（部品番号 SPE-03、MOD004 付き）、目詰まり防止フリット（部品番号 CF-06）、大容量インラインフィルタ（部品番号 F-HC-30）、および目詰まり防止チップ（部品番号 F-T-4）を備えた PromoChrom 8 チャネル自動化 SPE 抽出器を使用して抽出しました。

サンプル分析には、Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ（G7120A）、Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ（G7167B）、および Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット（G7116B）で構成される Agilent 1290 Infinity II LC システムを使用しました。この LC システムを PFAS 分析用にするために、Agilent InfinityLab PFC フリー HPLC 変換キット（部品番号 5004-0006）を使用しました。この LC システムを、Agilent Jet Stream 技術イオン源を備えた Agilent 6495C トリプル四重極 LC/MS システムに接続して使用しました。データ取り込みには Agilent MassHunter Workstation ソフトウェア（バージョン 10.1）を、データ解析には Quantitative Analysis for QQQ（バージョン 12.1）を使用しました。機器条件は、社内で開発した詳細なマルチパラメータ最適化実験に基づいて決定しました。分析に使用したカラムを表 2 に示します。

表 2. Agilent HPLC カラムおよびフィルタ

説明	部品番号
Agilent ZORBAX Eclipse RR C18、4.6 × 50 mm、3.5 μm（ディレイカラム）	959943-902
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、2.1 mm、1.8 μm（ガードカラム）	821725-901
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、3.0 × 50 mm、1.8 μm（分析カラム）	959757-302
Agilent InfinityLab クイックチェンジインラインフィルタ（ミキサーの前に配置）	5067-1603
Agilent 1290 Infinity II および III インラインフィルタ（ニードルシートとインジェクションバルブの間に配置）	5067-6189

メソッド

LC/MS/MS メソッド：LC/MS/MS 分析の LC パラメータを表 3 に示します。MS イオン源パラメータを表 4 に、MS 取り込みパラメータを表 5 に示します。

表 3. LC パラメータ

パラメータ	設定値		
カラム温度	30 ± 5 °C		
注入量	5 µL		
流量	0.600 mL/min		
移動相	A) 5 mM 酢酸アンモニウム 95:5 水:アセトニトリル水溶液 B) アセトニトリル		
グラジエント	時間 (分)	%A	%B
	0.00	98.00	2.00
	0.20	98.00	2.00
	4.00	70.00	30.00
	7.00	45.00	55.00
	9.00	25.00	75.00
	10.00	0.00	100.00
	11.00	0.00	100.00
	11.01	98.00	2.00
	14.00	98.00	2.00
ポストタイム	1.00 min		

表 4. MS イオン源パラメータ

パラメータ	設定
極性	ネガティブ
ガス温度	110 °C
ガス流量	11 L/min
ネブライザ圧力	20 psi
シースガス温度	380 °C
キャピラリー電圧	2,500 V
ノズル電圧	0
iFunnel 高圧 RF	90 V
iFunnel 低圧 RF	75 V

表 5. MS 取り込みパラメータ

パラメータ	設定
サイクル時間	350 ms
MRM 総数	77
最大同時 MRM	18
最小ドウェルタイム	23.12 ms
最大ドウェルタイム	247.76 ms
デルタ EMV	-200 V

自動化 SPE メソッド：自動化 SPE 手順は、EPA メソッド 1633.2 に示されたプロトコルに厳密に従っています。²自動化 SPE に使用した溶媒を表 6 に、抽出メソッドを表 7 に示します。自動抽出の後、溶出液を 25 µL の酢酸で中和し、NIS を含む新しい 15 mL 遠心分離チューブに手動でろ過しました。

表 6. SPE 溶媒

溶媒番号	コンポーネント
溶媒 1	イソプロピルアルコール (IPA)
溶媒 2	試薬水
溶媒 3	0.3 M 酢酸水溶液
溶媒 4	1:1 0.1 M 酢酸:MeOH
溶媒 5	1 % メタノール性水酸化アンモニウム
溶媒 6	HPLC グレードの MeOH

表 7. SPE プロトコル

操作	注入口 1	注入口 2 (比)	流量	容量 (mL)
W2 の溶出	溶媒 5	–	8	15
W1 の溶出	溶媒 3	–	8	5
サンプル W1 の添加	サンプル	–	5	295
洗浄	溶媒 2	空気 (20 %)	80	2.5
サンプル W1 の添加	サンプル	–	5	5
洗浄	溶媒 2	空気 (20 %)	80	5
サンプル W1 の添加	サンプル	–	5	5
洗浄	溶媒 2	空気 (20 %)	80	5
サンプル W1 の添加	サンプル	–	5	5
攪拌	–	タイムベース	–	30 秒
洗浄	溶媒 4	空気 (20 %)	80	1.3
サンプル W1 の添加	サンプル	–	5	3
洗浄	溶媒 4	空気 (20 %)	80	5
サンプル W2 の添加	サンプル	–	5	5
攪拌	–	タイムベース	–	30 秒
W2 のエアバージ	空気	–	5	3
サンプル W2 の添加	サンプル	–	5	5
N2 の吹き付け	–	タイムベース	–	15 秒
洗浄	溶媒 5	空気 (20 %)	80	1.5
1 の収集	サンプル	–	1	3
洗浄	溶媒 5	空気 (20 %)	80	5
1 の収集	サンプル	–	1	5
攪拌	–	タイムベース	–	15 秒
1 の収集	サンプル	–	1	5

* W1 および W2 はそれぞれ、水性廃棄物および有機廃棄物の流れです。

定量：LC/MS/MS による定量は、抽出前にサンプルに添加した同位体標識された化合物を用いた同位体希釈または抽出された内部標準に基づいて、EPA メソッド 1633 に記載されている手順に従いました。簡単に説明すると、適切な EIS を基準としたターゲット化合物の相対レスポンス検量線は、二次モデルを用いた 7:3FTCA と PFUnA を除くすべてのターゲットで、線形重み付き (1/x) 最小二乗回帰 (原点を含まない) を使用して作成しました。10 のキャリブレーションレベルすべてを用いましたが、7:3FTCA と 8:2FTS については最初のキャリブレーションレベルを除外しました。適合度は、レスポンス曲線のパーセント相対標準誤差 (% RSE) により決定されており、限界は ≤ 20 % でした。確認イオンを含むターゲットでは最低 S/N 比 ≥ 3、確認イオンを含まないターゲットでは S/N 比 ≥ 10 を検出基準にしました。キャリブレーションは、精度限界および確認イオン比が ± 30 % 以内の低レベルおよび中レベルの標準を用いて検証しました。NIS に対する EIS 定量には、1 ポイントの相対レスポンス係数を使用し、RSE 限界は ≤ 20 % でした。キャリブレーション後のサンプルの EIS 回収率は、EPA メソッド 1633 の表 6 に記載されている精度限界内である必要があります。NIS 回収率の限界は、キャリブレーションセットの NIS の平均レスポンスに基づいて、50 ～ 200 % である必要があります。

結果と考察

プロトコルと SPE 構成の比較

最初の評価として、250 mL の試薬水中の中レベル (40 ng/L) の添加の回収率を、表 8 に示す 5 つの異なる抽出プロトコルを使用して、7 回の繰り返し分析で比較しました。ターゲットには、PFECHS を添加した、メソッド 1633 の 40 種類の PFAS が含まれていました。プロトコル 1 はコントロールであり、10 mg の ENVI-Carb を使用して、EPA メソッドに従いました。プロトコル 2 では、ENVI-Carb を Carbon S に置き換えました。プロトコル 3、4、5 では、二相混合および層状カートリッジを使用して、1 段階抽出を行いました。

表 8. 抽出プロトコル

プロトコル	説明
1	2 段階抽出、単相 200 mg Bond Elut PFAS WAX および 10 mg ENVI-Carb
2	2 段階抽出、単相 200 mg Bond Elut PFAS WAX および 10 mg Carbon S
3	1 段階抽出、混合 200 mg Bond Elut PFAS WAX および 10 mg Carbon S
4	1 段階抽出、混合 200 mg Bond Elut PFAS WAX および 50 mg Carbon S
5	1 段階抽出、二相 200 mg Bond Elut PFAS WAX (上側) および 50 mg Carbon S (下側)

図 1 では、試験した 5 つのプロトコルの 7 回の繰り返し分析における、平均ターゲット回収率を比較しています。参考のため、図 1 の破線は、メソッド 1633 の表 5 に記載されている初期精度および回収率 (IPR) の実証に必要な上限および下限の許容限界です。図 2 は、各ターゲットのパーセント相対標準偏差 (RSD) を示しており、破線は IPR に必要な精度限界を表しています (表 5)。各プロトコルでは、ターゲット回収率および精度に関して、メソッド要件内の結果が得られました。

各プロトコルのデータ分布をさらに調査しました。図 3 は、1 データセットあたり 287 データポイント (41 ターゲットの 7 回の繰り返し分析) から構成される、各プロトコルのボックスプロットを示しています。試験したすべてのプロトコルは、非常に類似した性能を示しました。プロトコル 3 と 4 は、回収率の平均値と中央値が全体的に最も高く、四分位範囲 (IQR) も同様でした。プロトコル 3 では、平均値および中央値はそれぞれ、106.5 % および 108.0 % であり、IQR は 11.6 % でした。プロトコル 4 では、平均値および中央値はそれぞれ、107.2 % および 108.3 % であり、IQR は 11.0 % でした。ただし、プロトコル 3 は、プロトコル 4 と比較して、外れ値が少なくなりました (8 対 12)。メソッドに 10 mg カーボンが記載されていることに加えて、この理由のため、Bond Elut 混合 200 mg PFAS WAX/10 mg Carbon S カートリッジを、EPA メソッド 1633 の完全なバリデーション用を選択しました。

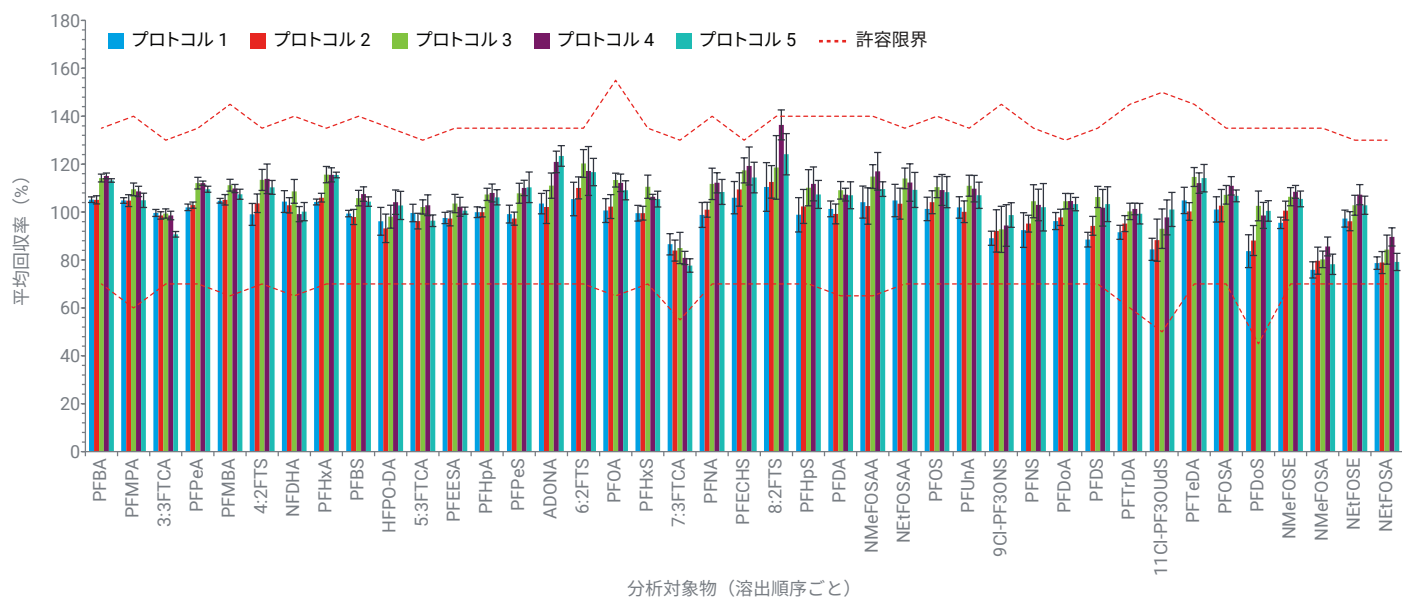


図 1. 平均 PFAS ターゲット回収率と IPR 許容限界の上限と下限。エラーバーは、各分析対象物について 7 回の測定における 95 % 信頼区間を示します（プロトコルの詳細については、表 8 を参照）。

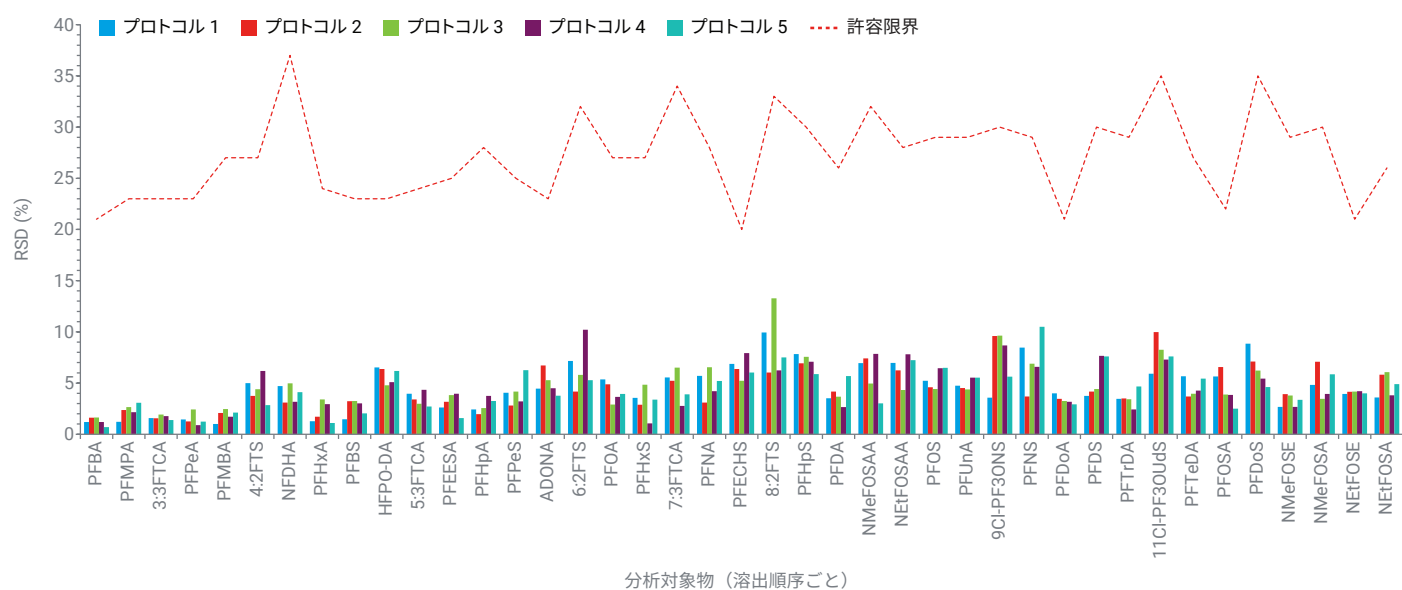


図 2. PFAS のターゲット回収率精度と IPR 許容限界（プロトコルの詳細については、表 8 を参照）

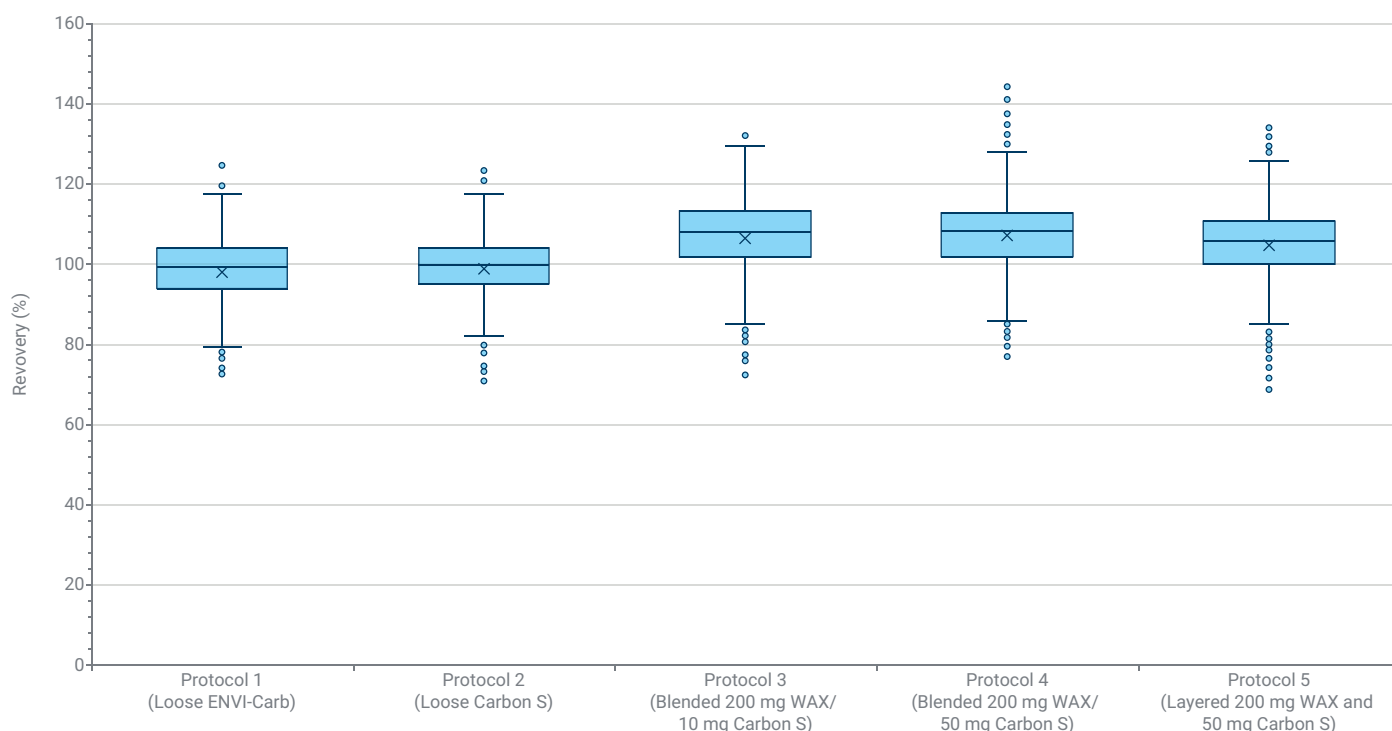


図 3. プロトコル 1 ～ 5 のボックスプロット

初期能力実証

初期精度および回収率 (IPR)：完全なメソッドバリデーションのため、EPA メソッド 1633 のセクション 9.2 に記載されている要件に従い、Bond Elut 混合 200 mg PFAS WAX/10 mg Carbon S カートリッジを用いて IPR を実施しました。中レベルの濃度 (40 ng/L) の 45 種類の PFAS ターゲットを含む 250 mL の試薬水の 4 回の繰り返し添加について、回収率の精度と真度を測定しました。図 4 は、試薬水添加の精度と真度を、水性マトリックス中の 40 種類のメソッドターゲットについて、メソッド 1633 の表 5 に記載されている許容限界とともに示しています。メソッド 1633 に記載されていない 5 種類の追加ターゲットについては、回収率限界を 60 ～ 140 % に、RSD 限界を 20 % に設定しました。すべての回収率限界は許容範囲内です。

抽出された内部標準 (EIS) および抽出されていない内部標準 (NIS) の回収率：EIS および NIS の回収率精度は、同じ 4 回の中レベルの IPR 抽出から計算されており、EPA メソッド 1633 の表 6 に記載されている許容限界とともに図 5 に示されています。EIS および NIS の平均回収率および精度限界はありません。各サンプルの EIS と NIS の回収率は、許容限界内である必要があります。すべての EIS と NIS の回収率は、要求された限界内でした。

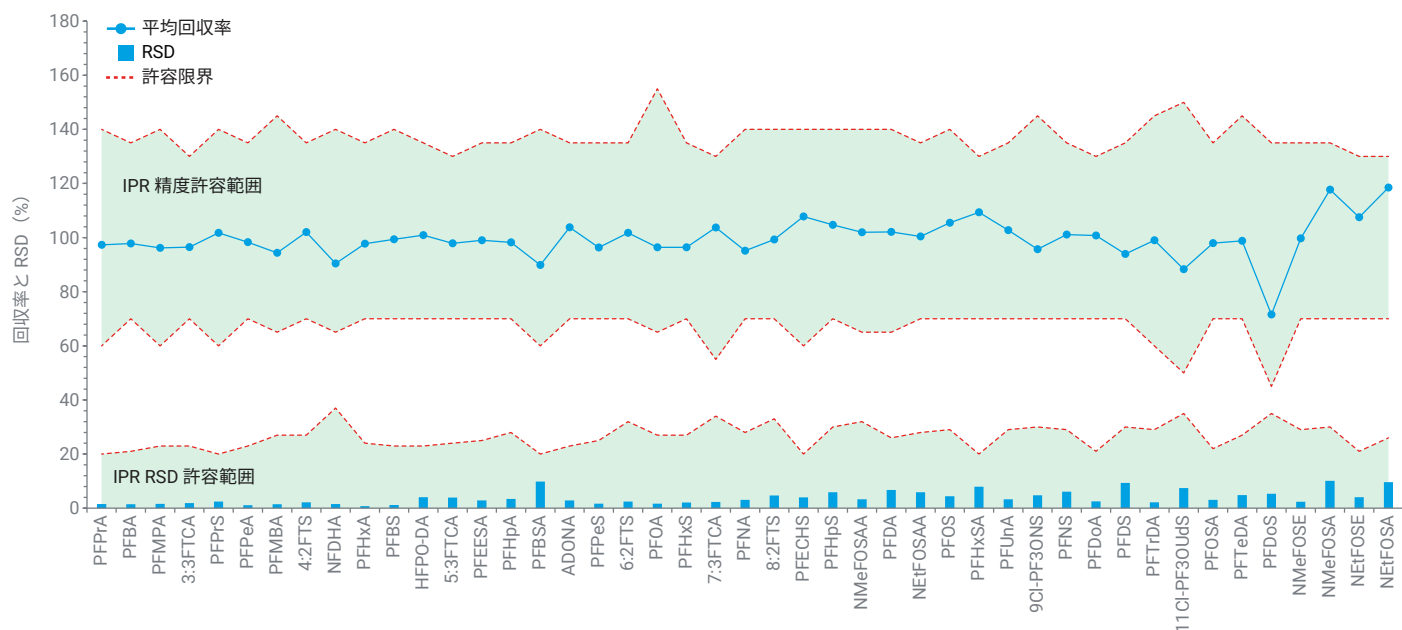


図 4. 平均回収率と RSD の IPR 結果。精度限界と精度許容限界は、緑色の影で示しています。

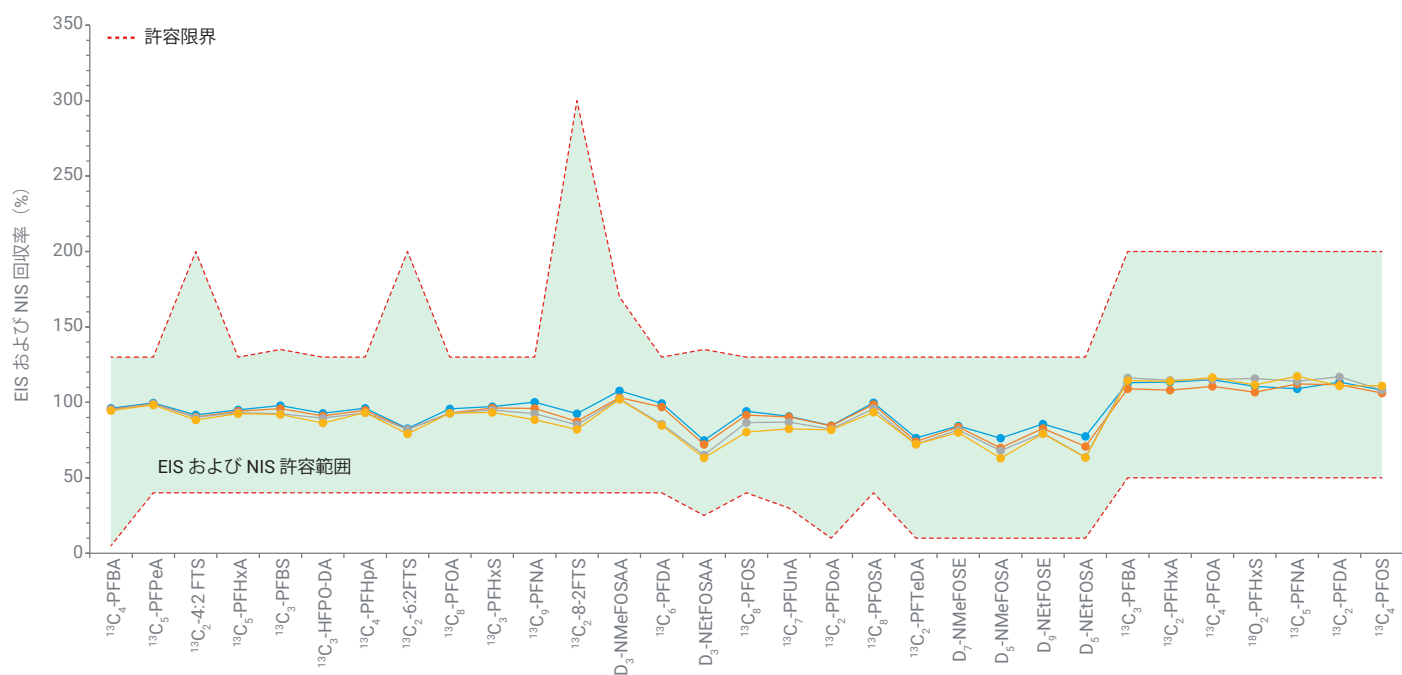


図 5. 4 回の繰り返し IPR 抽出における EIS と NIS の回収率の重ね表示。赤い破線は、EIS と NIS の許容限界の上限と下限を示しています。

メソッド検出限界 (MDL) : EPA メソッド 1633 で要求されているように、ラボは、複数日にわたり実施された 7 回の低レベルの添加およびブランク測定に基づいて、40 CFR Part 136、付録 B⁶ の手順に従い、メソッド検出限界 (MDL) を設定する必要があります。MDL は、添加またはブランク測定値の標準偏差に、信頼度 99 % における 7 回の測定値の学生 t 臨界値である 3.143 を乗算した値から計算しました。表 9 に、45 種類のターゲット PFAS に対する MDL の計算値を示します。42 種類のターゲットについて、MDL は繰り返し添加回収率に基づいて計算しました。PFBA、PFHxS、PFPrA の 3 種類のターゲットについては、繰り返しブランク測定に基づいて MDL を計算しました。比較のため、表 9 に、水性マトリックスのメソッド 1633 マルチラボバリデーション試験に基づいたプール MDL を示します。

表 9. メソッド検出限界 (MDL)

分析対象物	Bond Elut 混合ベッド SPE (ng/L)	EPA 1633 Aq.MDL (ng/L)	分析対象物	Bond Elut 混合ベッド SPE (ng/L)	EPA 1633 Aq.MDL (ng/L)	分析対象物	Bond Elut 混合ベッド SPE (ng/L)	EPA 1633 Aq.MDL (ng/L)	分析対象物	Bond Elut 混合ベッド SPE (ng/L)	EPA 1633 Aq.MDL (ng/L)
PFBA	0.10	0.79	PFHpA	0.09	0.37	NETFOSAA	0.22	0.59	NMeFOSE	0.21	3.81
PFMPA	0.05	1.46	ADONA	0.10	0.50	PFOS	0.19	0.63	NMeFOSA	0.28	0.43
3:3FTCA	0.19	2.47	PFPeS	0.20	0.50	PFUnA	0.06	0.45	NETFOSE	0.26	4.84
PFPeA	0.08	0.54	6:2FTS	0.11	2.45	9Cl-PF3ONS	0.14	1.38	NETFOSA	0.31	0.45
PFMBA	0.06	1.41	PFOA	0.19	0.54	PFNS	0.10	0.47	PFPrA	0.09	--
4:2FTS	0.10	1.69	PFHxS	0.22	0.54	PFDaA	0.06	0.4	PFPrS	0.06	--
NFDHA	0.15	0.75	7:3FTCA	0.26	8.71	PFDS	0.12	0.6	PFBSA	0.13	--
PFHxA	0.07	0.46	PFNA	0.12	0.45	PFTTrDA	0.14	0.46	PFECHS	0.09	--
PFBS	0.07	0.37	8:2FTS	0.38	2.50	11Cl-PF3OUdS	0.12	1.67	PFHxSA	0.10	--
HFPO-DA	0.22	0.51	PFHpS	0.16	0.50	PFOSA	0.11	0.32			
5:3FTCA	0.16	9.59	NMeFOSAA	0.16	0.68	PFTeDA	0.14	0.49			
PFEESA	0.04	1.17	PFDA	0.12	0.52	PFDoS	0.22	0.6			

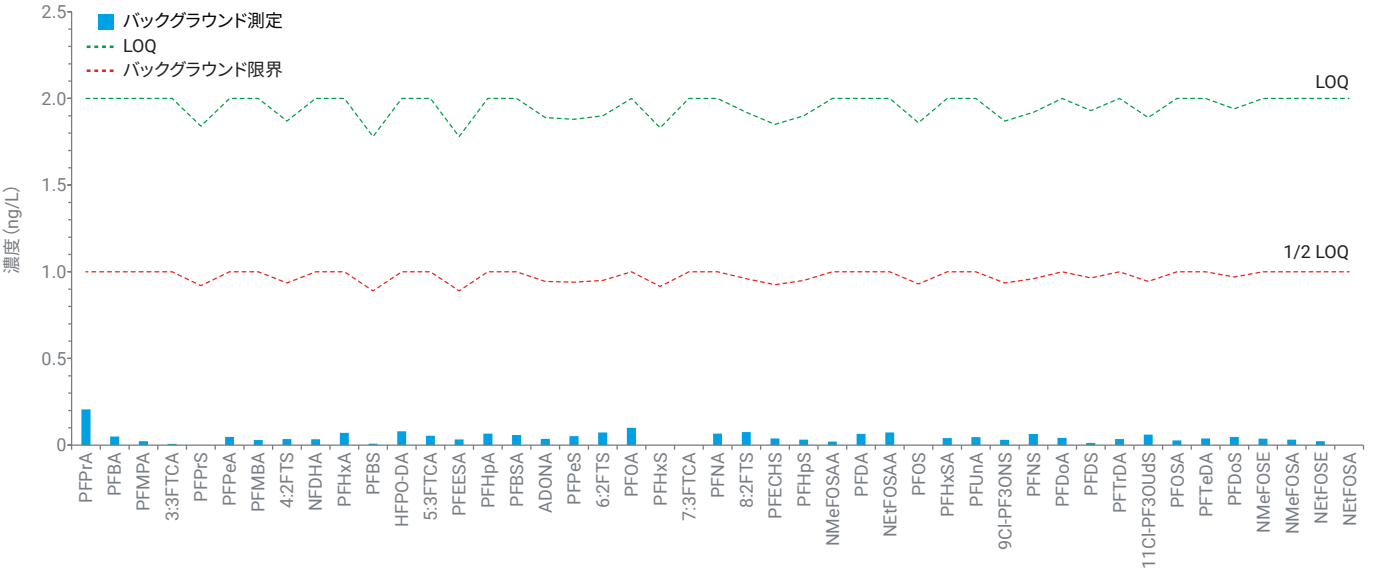


図 6. メソッドブランク分析。バックグラウンド測定、LOQ、バックグラウンド限界を示しています。

メソッドブランク : IDC は、サンプルバッチごとに少なくとも 1 つのメソッドブランクを分析して報告することを要求しています。メソッドブランクの要件は複雑であり、特定の分析に依存しています。いずれかの PFAS ターゲットが LOQ を超えて検出された場合、規制限界の 3 分の 1 の濃度、またはサンプルバッチ中のサンプルの濃度の 10 分の 1 超のいずれかが高い方に対しては、是正措置を講じる必要があります。これらの指標を実施することが現実的ではない場合があるため、国防総省およびエネルギー省の品質システムマニュアルに沿った、より厳格な基準である < 1/2 LOQ を採用しました。⁵図 6 は、ブランク限界を < 1/2 LOQ または 1 ng/L に設定した、メソッドブランク分析の結果を示しています。すべての PFAS ターゲットがこれらの基準に合格しています。

サンプル分析

メソッド性能を実証するために、PFAS 分析を異なる水性マトリックスサンプルで実施しました。最初の 2 つは地理的位置が異なる住宅用個人井戸からの地下水サンプル、3 つ目は廃水貯蔵池からの流出物サンプル、4 つ目は埋立地モニタリング井戸からのサンプルでした。結果は良好であり、表 10 に示しています。表に記載されていないその他の分析対象物はすべて LOQ 未満でした（PFPrA はマトリックス添加回収率が低いため、報告されませんでした）。

表 10. マトリックスサンプル中の PFAS 分析対象物の濃度

化合物	地下水 サンプル 1 (ng/L)	地下水 サンプル 2 (ng/L)	埋立地 モニタリング井戸 (ng/L)	廃水貯蔵池 (ng/L)
PFBA	3.88	2.41	35.66	4.13
3:3FTCA	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
PFPeA	< LOQ	< LOQ	8.28	4.01
PFHxA	2.09	< LOQ	8.55	7.20
PFBS	4.95	< LOQ	3.41	2.42
PFOA	2.78	< LOQ	2.67	3.07
PFHxS	3.17	2.45	< LOQ	< LOQ
PFDA	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
PFOS	< LOQ	< LOQ	< LOQ	2.61
PFUnA	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

DOD/DOE QSM で要求されるマトリックス添加（MS）およびマトリックス添加繰り返し分析サンプル（MSD）を調製するために、2 種類の住宅サンプルを中レベルの濃度（40 ng/L）で添加しました。⁵MS/MSD サンプルは、マトリックスにおけるメソッド性能の追加検証を提供します。表 7 に、MS および MSD サンプルの結果を示します。2 種類のサンプルの回収率精度および相対パーセント偏差（RPD）の許容範囲は、図 7 に記載されています。すべてのターゲット回収率は、精度および真度限界内でした（PFPrA はマトリックス添加回収率が低いため、報告されませんでした）。

EPA メソッド 1633 で要求されているように、EIS および NIS 回収率は、分析したすべてのサンプルについて検証する必要があります。図 8 は、フィールドブランク（FB）およびトリップブランク（TB）を含む、分析したマトリックスサンプルの EIS および NIS 回収率を示しています。破線は、水性マトリックスの EIS と NIS の許容限界を示しています。すべての EIS と NIS について、回収率は許容限界内です。

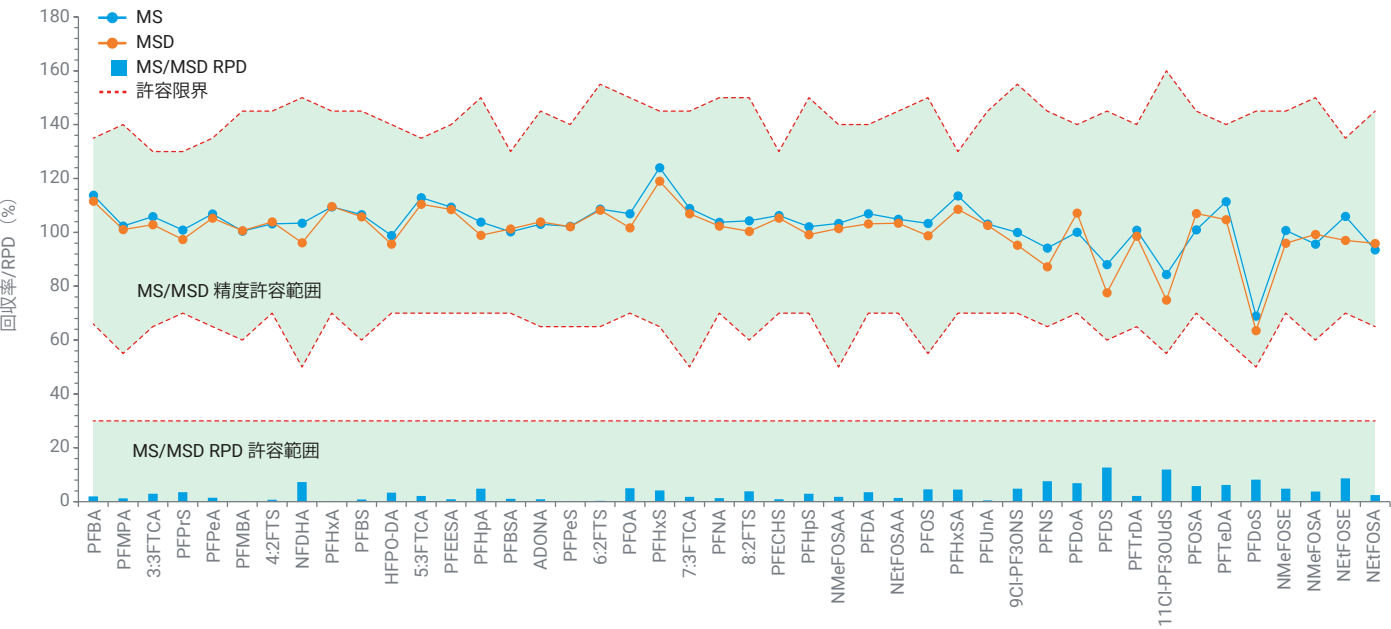


図 7. 2 種類の住宅地下水サンプルから調製した MS と MSD

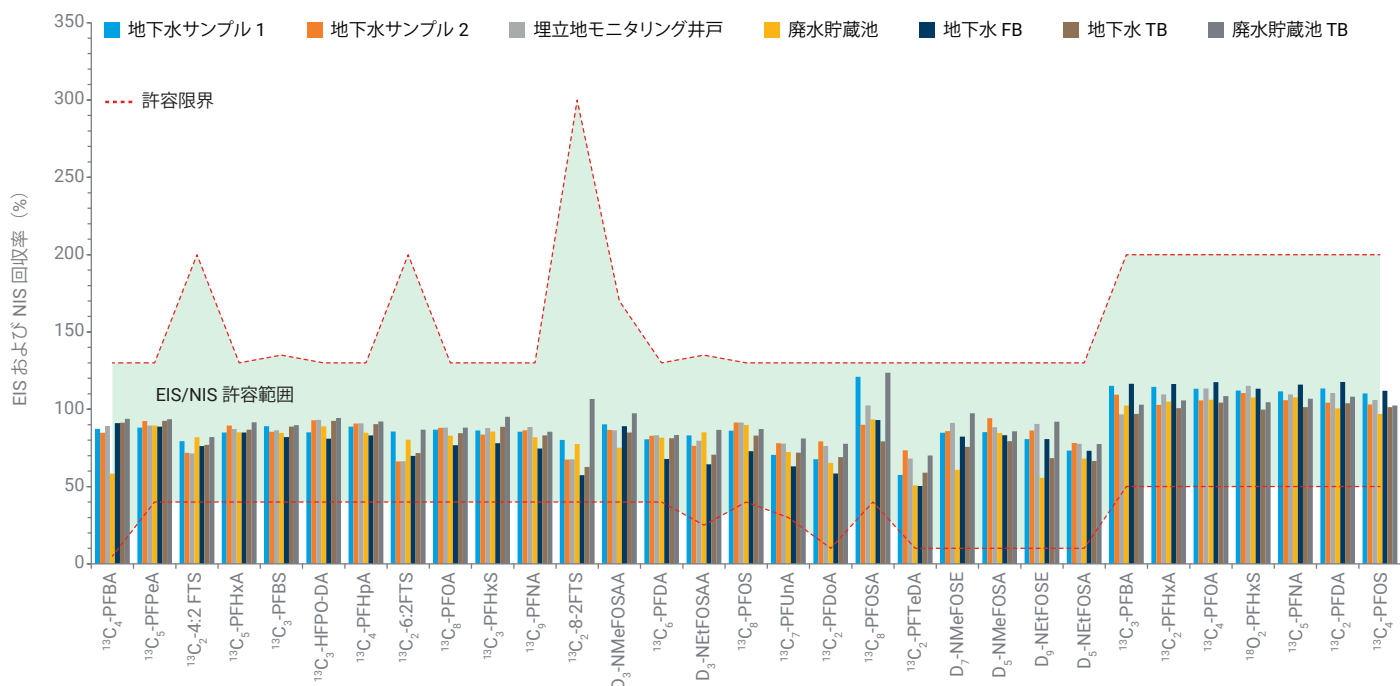


図 8. EIS および NIS 回収率

結論

環境マトリックス中の PFAS 分析に自動化固相抽出 (SPE) を採用することにより、ラボの効率が大幅に向上し、人的ミスの可能性が低減します。5 つの抽出プロトコルを評価した結果、200 mg の PFAS WAX と 10 mg の Carbon S を含む混合充填剤が、回収率、マトリックス干渉の低減、外れ値の減少の点において、最高レベルの性能を発揮することが明らかになりました。この構成は、さまざまな環境サンプルに適切に適用されており、その汎用性と信頼性が実証されました。この結果は、PFAS 分析の堅牢なメソッドとして、最適化された充填剤カートリッジを用いた自動化 SPE が使用できることを立証するものであり、US EPA メソッド 1633 の品質管理指標に一致しています。今後の研究では、自動化 SPE 技術をさらに改良して、他の環境マトリックスへの適用を検討することに重点的に取り組む必要があります。

謝辞

Michigan Department of Environment, Great Lakes, and Energy Laboratories の Alyssa Arnold 氏と James Austin Alexander 氏には、本研究に対してきわめて貴重な支援と多大な貢献をいただきました。著者は、両者に対して感謝の意を表します。

参考文献

1. Raynie, D. E. Trends in Sample Preparation, Part 1: Current State of the Field. LCGC Europe **2023**, 36(09), 369–374. <https://www.chromatographyonline.com/view/trends-sample-preparation-part-1-current-state-field>.
2. U.S. Environmental Protection Agency. Method 1633A: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS; EPA 820-R-24-007; Office of Water, Engineering and Analysis Division: Washington, DC, December **2024**. <https://www.epa.gov/system/files/documents/2024-12/method-1633a-december-5-2024-508-compliant.pdf>.
3. Giardina, M. Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water Using Agilent Bond Elut PFAS WAX SPE and LC/MS/MS. Agilent Technologies application note, publication number 5994-4960EN, **2023**.
4. Giardina, M. Carbon S SPE と LC/MS/MS による土壌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測定. Agilent Technologies application note, publication number 5994-4770JAJP, **2022**.
5. Department of Defense; Department of Energy. Quality Systems Manual for Environmental Laboratories; Version 6; Department of Defense: Washington, DC, **2023**. <https://www.denix.osd.mil/edqw/denix-files/sites/43/2024/01/QSM-Version-6.0-FINAL-Dec-13-2023.pdf>.
6. U.S. Environmental Protection Agency. Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit—Revision 2; Appendix B to Part 136, Title 40 Code of Federal Regulations; U.S. Government Printing Office: Washington, DC, **2025**. <https://www.ecfr.gov/current/title-40/chapter-I/subchapter-D/part-136>.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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。

DE-006588

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, August 29, 2025

5994-8289JAJP