

Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS システムによる水中のパーフルオロアルキル 化合物およびポリフルオロアルキル化合物 (PFAS) のターゲット定量

著者

Lee Sun New, Matthew Giardina, Tarun Anumol, Farah Mavandadi, Chee Sian Gan
Agilent Technologies, Inc.

概要

パー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) は広く使用されており、環境での持続性があり、さらに生体内に蓄積する傾向があるため、これらの物質の飲料水中の存在が新たに世界的な懸念事項となっています。¹ したがって、正確で信頼できる分析メソッドを用いて、水マトリックス中で複数の PFAS のスクリーニングと定量を容易に行えることが重要です。ラボでのルーチン試験の高速化・簡素化を目的として、水中の 100 種類を超える非標識および同位体標識 PFAS の分析用に、固相抽出と LC/MS/MS を用いた包括的なワークフローを開発しました。化合物の分離は PFC フリー HPLC 変換キットを取り付けた Agilent 1290 Infinity II LC システムで行い、分析は Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS で実施しました。分析成分の MRM トランジションと最適化された MS パラメータを、LC/TQ 用の Agilent PFAS MRM データベースから簡単かつ迅速にエクスポートし、取り込みメソッドを構築しました。水マトリックスから分析成分を抽出するために、アジレントの弱アニオン交換カートリッジを使用した固相抽出 (SPE) プロトコルを開発しました。メソッドの検出限界を超純水サンプルを使用して測定したところ、60 種類の PFAS で 0.14 ~ 14 ng/L の範囲でした。これら 60 種類の飲料水中の成分のバッチ間精度と回収率は、それぞれ 2.2 ~ 16.7 % RSD と 76 ~ 119 % であり、許容範囲内でした。表流水中の 60 種類の PFAS のバッチ間精度は 1.6 ~ 19.9 % RSD の範囲で、回収率は 72 ~ 120 % でした。この結果から、ルーチン分析とより包括的な分析へのメソッドの適用性が確認され、これら 2 つの水マトリックスにおける PFAS テストの範囲を拡大できるようになりました。

このアプリケーションノートで説明するメソッドは、eMethod : PFAS in Drinking and Surface Water by LC/TQ (G5285AA) として利用できます。eMethod には、ステップバイステップの包括的なワークフローガイド、すぐに実行できる取り込みおよび定量メソッド、新しい PFAS 分析ワークフローの導入を簡単に実施するための詳細な製品情報が含まれています。

はじめに

パー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) は、その特徴的な好ましい化学的特性により、消費者製品および工業プロセスで広く使用されている合成化学物質のグループです。広範に使用され、環境内に持続的に存在し、生体内に蓄積されやすい性質のために、レガシー PFAS は自然環境の至るところに存在し、新たなフルオロケミカル物質が環境で頻繁に検出されています。¹PFAS に関連する環境および人間の健康への影響の証拠が増えるにつれ、これらの化学物質に対する一般の認識が高まり、環境グループが飲料水および水道水からこれらの汚染物質を除去するように求めています。²現在、飲料水用の USA EPA メソッド 537.1 および 533、非飲料水用の USA EPA メソッド 8327、ASTM 7979、ISO メソッドなどのさまざまな標準メソッドがあります。通常、これらのメソッドでは最大 30 種類の化合物の分析が必要ですが、さまざまな地域や国で規制イニシアチブが急速に進展しているため、より多くのターゲット化合物が導入され、時間の経過とともに変化することが予想されます。そのため、ラボが PFAS 分析の最新の状況に対応するには多くの労力を使い、メソッドプロトコルを頻繁に更新する必要があります。

トリプル四重極 LC/MS (LC/MS/MS) は感度と特異性が高いため、PFAS 分析および定量に最も広く使用されている手法です。SPE は、US EPA 飲料水メソッドや ISO21675 などの複数の標準メソッドで示されているように、水マトリックスから PFAS を抽出するための最も一般的なサンプルクリーンアップ手法です。このアプリケーションノートでは、6470 トリプル四重極 LC/MS と接続した Agilent 1290 Infinity II LC を用いて、飲料水および表流水中の 100 を超える非標識および同位体標識 PFAS の正確かつ信頼性高い分析を行うため

に開発した包括的なメソッドについて紹介します。導入を簡素化し、メソッド開発要件を軽減するために、eMethod には、サンプル抽出、クロマトグラフィー分離、電子メソッドを含む MS 検出の包括的なガイドに加えて、ターゲット定量とデータ処理の詳細が含まれます。

実験方法

試薬および標準物質

非標識および同位体標識された PFAS 標準は、個別の原液、溶液混合物、または粉末標準として、Wellington Laboratories Inc. (ゲルフ、オンタリオ州、カナダ) および Toronto Research Chemicals (トロント、オンタリオ州、カナダ) から購入しました。LC/MS グレードのメタノール、酢酸アンモニウム (LC/MS グレード)、氷酢酸、および水酸化アンモニウム (28 % アンモニア水溶液、99.99 % 以上) は、Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から購入しました。2-プロパノールは Merck KGaA (ダルムシュタット、ドイツ) から購入しました。超純水は、Milli Q 純水装置で精製しました。

標準液

非標識 PFAS の原液と溶液混合物を組み合わせて、PFAS 濃度が 250 ~ 2,500 ng/mL になるようにメタノールでキャリアレーション混合物を調製しました。サロゲート混合物は、主に同位体標識された PFAS の原液と溶液混合物を 250 ~ 2,000 ng/mL で組み合わせることにより、メタノールで調製しました。500 または 1,500 ng/mL の 3 つの同位体標識 PFAS からなる同位体性能標準混合物を、1mM 水酸化ナトリウムを含むメタノールで調製しました。

キャリアレーション混合物を 80/20 メタノール/水で希釈して、PFPA、MeFBSA、MeFOSE、および EtFOSE については濃度が 0.04 ~ 100 ng/mL、n : 2 FTCA については 0.1 ~ 250 ng/mL、他のすべての PFAS については 0.01 ~ 25 ng/mL の標準液を調製しました。各サロゲートの最終濃度が次の値になるように、サロゲート混合物を各標準液に一定量追加しました。²H₇-MeFOSE、²H₉-EtFOSE、Cl-PFOPA では 20ng/mL、¹³C₂-n:2 FTCA では 40 ng/mL、その他すべての標識 PFAS では 5 ng/mL です。同位体性能標準混合物も各標準液に一定量で添加し、各標識 PFAS の最終濃度を 5 または 15 ng/mL としました。

PFSA、DONA、diPAP、PFESA、FTSA、PFPIA、diSAmPAP などの一部の標準は、塩形態で購入しました。したがって、これらの成分の濃度は、遊離酸 (アニオン) として報告されます。

メソッド検出下限

メソッド検出限界 (MDL) は、40 CFR Part 136 付録リビジョン 2.3 に記載の手順に基づいて計算しました。簡単に説明すると、250 mL の超純水に、1 ~ 25 ng/L の非標識 PFAS を含む PFAS スパイク混合溶液をスパイクし、7 回繰り返し分析を実施しました。これらのサンプルにサロゲート混合物を添加し、次のセクションで説明する SPE プロトコルを使用して抽出し、別々の 3 日にわたって分析しました。MDL は、次の式を用いて計算しました。³

$$MDL = s \times t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$$

ここで

s = スパイクされたサンプルの繰り返し分析の標準偏差

$t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$ = 自由度 n-1 で信頼度 99 % の場合の学生 t 値

n = 繰り返し回数

サンプル前処理

250 mL の水サンプルをそれぞれポリプロピレンボトルに収集し、2.5 mL の氷酢酸を添加して pH を約 3 に調整しました。この後、サンプルに 20、80、および 160 ng/L の濃度のサロゲート混合物をスパイクして、最終抽出物の 5、20、および 40 ng/mL の予想濃度に合わせました。マトリックススパイクサンプルを調製するために、EPA メソッド 533⁴ で使用されているアプローチ、すなわち 5 ~ 50 ng/L の低スパイクと 20 ~ 200 ng/L の高スパイクを用いる方法を参照して、適切な量の非標識 PFAS スパイク混合溶液を 2 つの濃度レベルで添加しました。スパイクされていないマトリックスサンプル（マトリックスブランク）は、PFAS スパイク混合溶液の添加なしで調製しました。SPE は、Agilent SampliQ 弱アニオン交換（WAX）、6 mL、150 mg カートリッジ（部品番号 5982-3667）を使用して実施しました。カートリッジは、0.1 % アンモニア・

メタノール溶液 4 mL、メタノール 4 mL、水 4 mL、1 % 酢酸水溶液 3 mL で調整しました。水サンプルは真空下で、約 2 ~ 3 mL/分 でカートリッジにロードしました。カートリッジを 4 mL の 25 mM 酢酸バッファ液（pH 4）、続いて 4 mL の水で洗浄し、高真空下で 10 分間乾燥させました。分析成分は、4 mL のメタノール、続いて 4 mL の 0.1 % アンモニアメタノール溶液を使用してカートリッジから溶出させました。溶出液は、30 ~ 35 °C のウォーターバスで穏やかな窒素ガス流下で 0.5 mL まで濃縮しました。濃縮抽出物に同位体性能標準混合物を添加して、その容量をメタノールと水で 1 mL に調整し、メタノールと水の比率を 80/20 にしました。これにより、サンプル濃度係数は 250 倍になります。サンプル前処理法を図 1 にまとめます。

装置構成

クロマトグラフィーによる分離は、次のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity II UHPLC システムに取り付けられた Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、2.1 × 100 mm、1.8 μm カラム（部品番号 959758-902）を使用して実施しました。

- 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、マルチウォッシュオプション付き（G7167B）
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット（G7116B）

5 mM 酢酸アンモニウム水溶液（移動相 A）とメタノール（移動相 B）を使用して、0.4 mL/分 で 12 分間のグラジエント溶出を行いました。総分析時間は約 18 分（注入から注入まで）でした。バックグラウンドの PFAS 汚染を最小限に抑えるために、Agilent PFC フリー HPLC 変換キット（部品番号 5004-0006）を UHPLC システムに取り付けました。

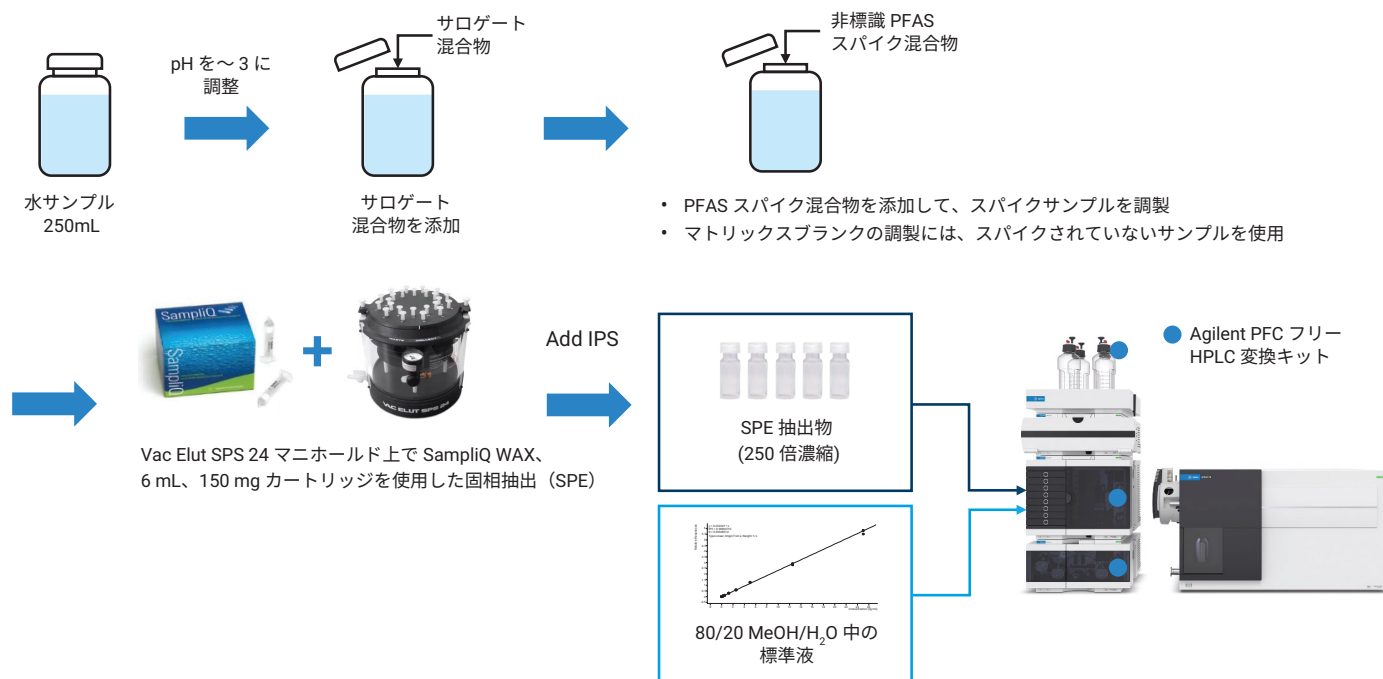


図 1. Agilent SampliQ WAX カートリッジを使用した固相抽出プロトコルのフローチャート

この取り付けが簡単な変換キットには、有機フッ素化合物を含む LC システムのすべての重要部品の代替品と、移動相からの潜在的なパーフルオロケミカルまたはポリフルオロケミカル不純物を遅延させる新開発の PFC ディレイカラム (部品番号 5062-8100) が含まれます (図 1)。

ダイナミック MRM (dMRM) 分析を、負イオン化モードで動作する Agilent Jet Stream (AJS) イオン源を備えた 6470 LC/TQ を使用して実施しました。LC/TQ オートチューンを、レポート $m/z < 100$ モードを有効にしてユニットモードで実行しました。データ取り込みと処理はそれぞれ、Agilent MassHunter Data LC/MS 取り込みソフトウェアバージョン 10.1 と、定量分析ソフトウェアバージョン 10.2 を利用して実施しました。

結果と考察

Agilent トリプル四重極 LC/MS 用 PFAS MRM データベース

Agilent PFAS MRM データベース (部品番号 G1736AA) は、対象のターゲットリストまたは標準メソッドに基づいた MRM サブメソッドのカスタマイズを可能とする厳選されたデータベースであり、次のものが含まれます。

- 化合物名、分子式、CAS 番号などの固有のプロパティと識別子
- 最新のすべての Agilent LC/TQ モデルの 14 の PFAS グループから 72 種類の非標識および 36 種類の同位体標識された成分を取り込むために最適化された MRM パラメータ設定 (図 2A)。これらの成分には、欧州飲料水指令などの規制や、EPA、

ASTM、ISO の標準メソッドに記載されているもの、および新たな PFAS 化合物が含まれています。

- 最適化されたクロマトグラフィーメソッドから得られたリテンションタイムの情報 (図 2B)

この研究では、MassHunter LC/MS データ取り込みソフトウェアを使用して 108 種類の成分すべての MRM トランジションと最適化された MS パラメータをこのデータベースからエクスポートし、取り込みメソッドを作成しました。このメソッドは、71 種類の非標識 PFAS 成分、33 種類の標識 PFAS、および 1 種類の非標識 PFAS の分析用に設定され、これらの成分を非標識 PFAS の同位体希釈または内部標準定量のサロゲートとして使用しました。サロゲートの回収率を計算するための内部標準として、3 つの標識 PFAS を使用しました。

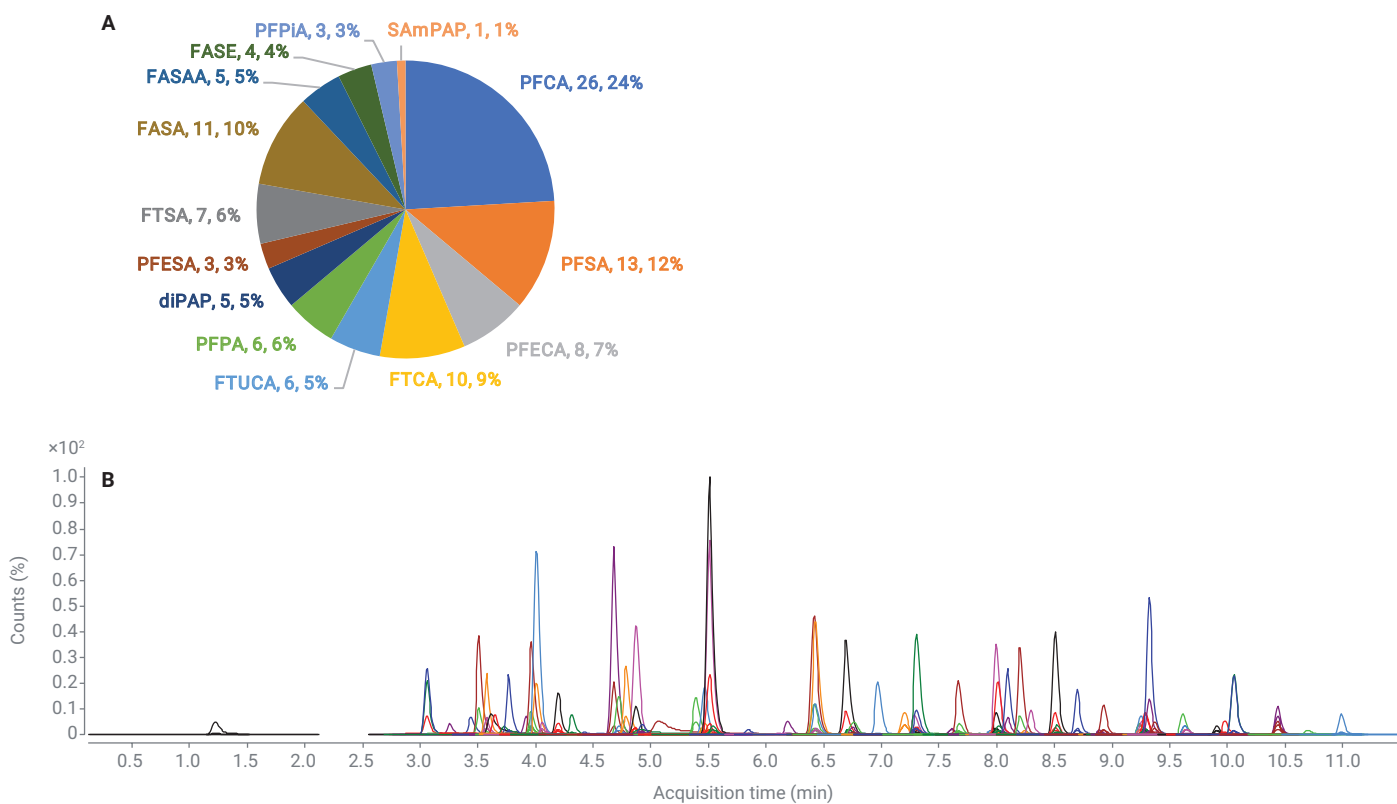


図 2. (A) データベース内の PFAS 化合物の分類 (グループ、PFAS の数、および総 PFAS の % で表示)。 (B) 5 ~ 50 ng/L でスパイクされた飲料水サンプルの SPE 抽出物中の 108 種類の非標識および同位体標識 PFAS の MRM クロマトグラム。大部分の成分の対称的な鋭いピークは、リテンションタイムウィンドウ内での成分の効率的なクロマトグラフィー分離を示しています。

検量線と精度

FTSA を除く PFAS についてそれぞれ、1/x の重み付けで原点を通過させることにより、直線回帰を使用して検量線を生成しました。FTSA に対しては、二次回帰を使用しました。71 種類の成分はすべて、 $R^2 \geq 0.99$ の良好な線形または二次曲線近似で、少なくとも 3 桁の広い定量範囲を有することが示されました (図 3 および表 1)。すべての成分について、検量線に含まれる標準液の精度は、70 ~ 130 % という一般的な許容範囲内であり、精度は 20 % RSD 以下でした。

バックグラウンドの干渉

この研究では、Agilent PFC フリー HPLC 変換キットを使用することにより、バックグラウンドの PFAS 汚染を効果的に低減しました。機器ブランク (注入なしのグラジエントプログラム) と溶媒ブランク (80/20 メタノール/水) のルーチン分析で PFAS ピークは検出されませんでした。さらに、システムバックグラウンドが低いことが、最大濃度の標準液の直後にラボ用試薬ブランク (LRB) を注入することによって示されました。LRB は、サロゲート混合物をスパイクした 250 mL の超純水から調製

し、マトリックスブランクサンプルと同じ SPE プロトコルを使用して処理したものです。複数の微量の PFAS が LRB で確認されましたが、その濃度はすべて MDL を下回りました。したがって、ラボ機器・試薬・ガラス器具・または抽出装置からの汚染が最小限であったことが示されました。

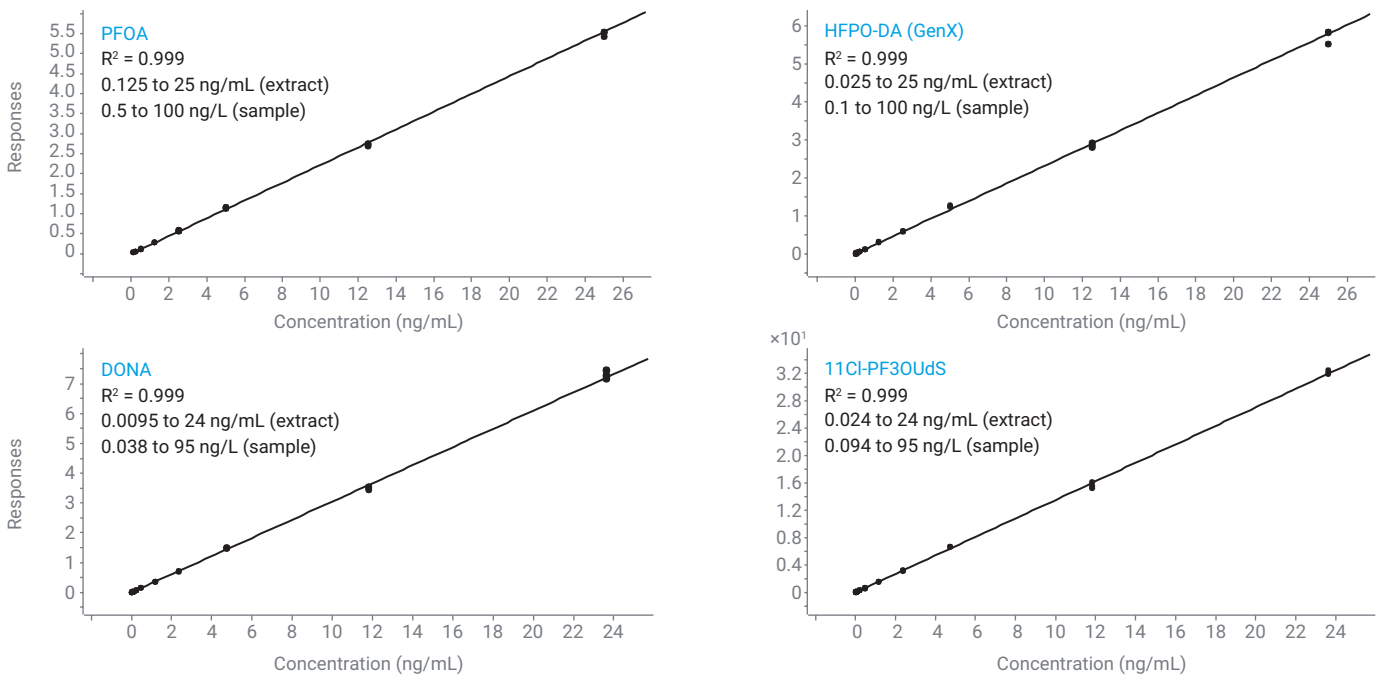


図 3. PFAS のうち 4 成分の検量線の直線性 (キャリブレーションレベルごとに 3 回の注入)

表 1. MDL、キャリブレーション分析範囲、メソッド精度、メソッド回収率を含むメソッド性能結果の概要。メソッドの精度と回収率は、低スパイク飲料水と低スパイク表流水サンプルのバッチ間分析の結果に基づいています（マトリックスあたり 8 回の繰り返し分析）。

No.	化合物	PFAS グループ	CAS 番号	サロゲート	MDL (ng/L)	キャリブレーション 分析範囲 (ng/L)	低スパイク飲料水		低スパイク表流水	
							精度 (%RSD)	回収率 (%)	精度 (%RSD)	回収率 (%)
1	PFBA	PFCA	375-22-4	¹³ C ₄ -PFBA	0.24	0.2 ~ 100	7.5	102	8.6	103
2	PFPeA	PFCA	2706-90-3	¹³ C ₅ -PFPeA	0.24	0.5 ~ 100	4.8	98	7.9	100
3	PFHxA	PFCA	307-24-4	¹³ C ₅ -PFHxA	0.35	1 ~ 100	3.3	103	8.5	104
4	PFHpA	PFCA	375-85-9	¹³ C ₄ -PFHpA	0.30	0.2 ~ 100	3.2	102	8.9	107
5	PFOA	PFCA	335-67-1	¹³ C ₈ -PFOA	0.38	0.5 ~ 100	3.9	97	6.4	106
6	PFNA	PFCA	375-95-1	¹³ C ₉ -PFNA	0.29	0.2 ~ 100	4.7	104	8.7	105
7	PFDA	PFCA	335-76-2	¹³ C ₆ -PFDA	0.28	0.1 ~ 100	5.2	104	8.3	107
8	PFUnDA	PFCA	2058-94-8	¹³ C ₇ -PFUnDA	0.30	0.1 ~ 100	8.1	102	9.9	108
9	PFDoDA	PFCA	307-55-1	¹³ C ₂ -PFDoDA	0.32	0.2 ~ 100	5.0	104	7.0	107
10	PFTTrDA	PFCA	72629-94-8	¹³ C ₂ -PFDoDA	0.26	0.2 ~ 100	8.2	95	9.1	94
11	PFTDA	PFCA	376-06-7	¹³ C ₂ -PFTDA	0.28	0.2 ~ 100	4.5	104	11.5	105
12	PFHxDA	PFCA	67905-19-5	¹³ C ₂ -PFHxDA	2.1	0.5 ~ 100	4.2	98	8.2	102
13	PFODA	PFCA	16517-11-6	¹³ C ₂ -PFHxDA	N.D.	0.1 ~ 100	35.1	14	53.1	73
14	PFBS	PFSA	375-73-5	¹³ C ₃ -PFBS	0.21	0.088 ~ 89	4.7	106	11.4	111
15	PFPeS	PFSA	2706-91-4	¹³ C ₃ -PFHxS	0.35	0.094 ~ 94	5.3	96	8.0	99
16	PFHxS	PFSA	355-46-4	¹³ C ₃ -PFHxS	0.27	0.18 ~ 91	5.1	103	7.1	106
17	PFHpS	PFSA	375-92-8	¹³ C ₆ -PFOS	0.52	0.095 ~ 95	8.2	97	6.4	97
18	PFOS	PFSA	1763-23-1	¹³ C ₈ -PFOS	0.27	0.19 ~ 93	6.9	100	5.7	100
19	PFNS	PFSA	68259-12-1	¹³ C ₈ -PFOS	0.50	0.096 ~ 96	7.9	100	4.0	99
20	PFDS	PFSA	335-77-3	¹³ C ₈ -PFOS	0.54	0.19 ~ 96	10.0	95	3.9	92
21	PFDoS	PFSA	79780-39-5	¹³ C ₈ -PFOS	0.50	0.48 ~ 97	14.7	77	17.4	66
22	4-PFecHS	PFSA	646-83-3	¹³ C ₈ -PFOS	0.40	0.037 ~ 92	7.4	90	7.9	89
23	HFPO-DA	PFECA	13252-13-6	¹³ C ₃ -HFPO-DA	0.24	0.1 ~ 100	7.4	103	7.7	103
24	HFPO-TA	PFECA	13252-14-7	¹³ C ₉ -PFNA	0.26	0.095 ~ 95	4.2	86	3.6	84
25	DONA	PFECA	919005-14-4	¹³ C ₄ -PFHpA	0.23	0.038 ~ 95	6.4	101	8.9	102
26	PFMPA	PFECA	377-73-1	¹³ C ₄ -PFBA	0.22	0.1 ~ 100	9.8	97	10.4	104
27	NFDHA	PFECA	151772-58-6	¹³ C ₅ -PFHxA	0.25	0.1 ~ 100	5.4	95	8.7	100
28	PFMBA	PFECA	863090-89-5	¹³ C ₅ -PFPeA	0.19	0.1 ~ 100	3.3	115	5.3	110
29	P5MeODIOXOAc	PFECA	1190931-41-9	¹³ C ₃ -HFPO-DA	0.27	0.5 ~ 100	6.3	107	9.4	114
30	6:2 FTCA	FTCA	53826-12-3	¹³ C ₂ -6:2 FTCA	3.2	5 ~ 1000	8.6	116	14.4	113
31	8:2 FTCA	FTCA	27854-31-5	¹³ C ₂ -8:2 FTCA	5.8	10 ~ 1000	9.9	104	15.8	100
32	10:2 FTCA	FTCA	53826-13-4	¹³ C ₂ -10:2 FTCA	14	10 ~ 1000	12.5	106	19.9	115
33	3:3 FTCA	FTCA	356-02-5	¹³ C ₅ -PFPeA	0.60	0.5 ~ 100	10.4	100	9.9	91
34	5:3 FTCA	FTCA	914637-49-3	¹³ C ₂ -6:2 FTUCA	0.45	0.2 ~ 100	3.6	86	4.1	97
35	7:3 FTCA	FTCA	812-70-4	¹³ C ₂ -8:2 FTUCA	0.39	0.2 ~ 100	4.7	80	4.2	100
36	8:3 FTCA	FTCA	34598-33-9	¹³ C ₅ -PFDA	N.D.	0.2 ~ 50	8.1	55	6.6	73
37	6:2 FTUCA	FTUCA	70887-88-6	¹³ C ₂ -6:2 FTUCA	0.23	0.2 ~ 100	6.1	110	3.6	111
38	8:2 FTUCA	FTUCA	70887-84-2	¹³ C ₂ -8:2 FTUCA	0.19	0.2 ~ 100	8.2	110	3.0	111
39	10:2 FTUCA	FTUCA	70887-94-4	¹³ C ₂ -10:2 FTUCA	0.24	0.2 ~ 100	9.7	111	4.1	109
40	PFBPA	PFPA	52299-24-8	Cl-PFOPA	N.D.	0.8 ~ 400	43.6	108	10.9	68
41	PFHxPA	PFPA	40143-76-8	Cl-PFOPA	N.D.	2 ~ 400	27.3	221	9.6	177
42	PFOPA	PFPA	40143-78-0	Cl-PFOPA	N.D.	2 ~ 400	7.1	134	9.4	148
43	PFDPa	PFPA	52299-26-0	Cl-PFOPA	N.D.	4 ~ 400	13.7	54	12.9	65

No.	化合物	PFAS グループ	CAS 番号	サロゲート	MDL (ng/L)	キャリブレーション 分析範囲 (ng/L)	低スパイク飲料水		低スパイク表流水	
							精度 (%RSD)	回収率 (%)	精度 (%RSD)	回収率 (%)
44	Cl-PFHxPA	PFPA	—	Cl-PFOPA	N.D.	2 ~ 400	15.6	151	9.2	112
45	6:2 diPAP	diPAP	57677-95-9	(¹³ C ₂) ₂ -6:2 diPAP	0.38	0.19 ~ 97	4.7	103	6.0	103
46	6:2/8:2 diPAP	diPAP	943913-15-3	(¹³ C ₂) ₂ -6:2 diPAP	N.D.	0.2 ~ 98	27.1	73	7.3	56
47	8:2 diPAP	diPAP	678-41-1	(¹³ C ₂) ₂ -8:2 diPAP	0.67	0.2 ~ 98	5.9	110	8.0	110
48	PFEESA	PFESA	113507-82-7	¹³ C ₃ -PFBS	0.15	0.089 ~ 89	2.9	102	7.2	105
49	9Cl-PF3ONS	PFESA	756426-58-1	¹³ C ₈ -PFOS	0.26	0.094 ~ 94	7.3	94	7.2	95
50	11Cl-PF3OUdS	PFESA	763051-92-9	¹³ C ₉ -PFOS	0.25	0.094 ~ 95	9.9	87	9.6	67
51	4:2 FTSA	FTSA	757124-72-4	¹³ C ₂ -4:2 FTSA	0.24	0.19 ~ 93	3.9	105	4.7	108
52	6:2 FTSA	FTSA	27619-97-2	¹³ C ₂ -6:2 FTSA	0.23	0.19 ~ 95	3.7	101	6.0	107
53	8:2 FTSA	FTSA	39108-34-4	¹³ C ₂ -8:2 FTSA	0.28	0.19 ~ 96	4.8	103	4.3	107
54	10:2 FTSA	FTSA	120226-60-0	¹³ C ₂ -8:2 FTSA	0.54	0.19 ~ 96	8.4	85	12.0	87
55	FBSA	FASA	30334-69-1	¹³ C ₉ -PFHxS	0.39	0.2 ~ 100	11.2	90	3.8	94
56	FHxSA	FASA	41997-13-1	¹³ C ₈ -PFOS	0.38	0.1 ~ 100	13.1	90	5.6	92
57	PFOSA	FASA	754-91-6	¹³ C ₈ -PFOSA	0.14	0.1 ~ 100	8.4	111	3.8	110
58	FDSA	FASA	—	¹³ C ₈ -PFOSA	0.21	0.2 ~ 100	9.8	95	7.4	86
59	MeFBSA	FASA	68298-12-4	¹³ C ₉ -PFOSA	0.69	0.8 ~ 400	5.1	91	7.6	88
60	MeFHxSA	FASA	68259-15-4	¹³ C ₈ -PFOSA	0.31	0.45 ~ 90	10.7	76	9.6	74
61	N-MeFOSA	FASA	31506-32-8	² H ₅ -N-MeFOSA	1.0	0.2 ~ 100	6.5	104	5.3	113
62	N-EtFOSA	FASA	4151-50-2	² H ₅ -N-EtFOSA	1.0	0.5 ~ 100	6.5	106	5.7	106
63	FOSAA	FASAA	2806-24-8	² H ₅ -N-MeFOSAA	N.D.	0.2 ~ 100	19.4	48	17.5	72
64	N-MeFOSAA	FASAA	2355-31-9	² H ₅ -N-MeFOSAA	0.28	0.2 ~ 100	4.7	102	8.7	103
65	N-EtFOSAA	FASAA	2991-50-6	² H ₅ -N-EtFOSAA	0.20	0.2 ~ 100	6.1	95	5.2	96
66	MeFOSE	FASE	24448-09-7	² H ₇ -MeFOSE	0.97	0.8 ~ 400	7.3	110	3.8	116
67	EtFOSE	FASE	1691-99-2	² H ₉ -EtFOSE	0.50	0.8 ~ 400	7.4	114	7.0	114
68	6:6 PFPI	PFPIA	40143-77-9	¹³ C ₂ -PFDoDA	0.26	0.19 ~ 97	7.0	81	8.7	79
69	6:8 PFPI	PFPIA	610800-34-5	(¹³ C ₂) ₂ -6:2 diPAP	0.51	0.49 ~ 97	16.7	87	8.1	48
70	8:8 PFPI	PFPIA	40143-79-1	(¹³ C ₂) ₂ -6:2 diPAP	N.D.	0.2 ~ 98	55.8	60	16.9	40
71	diSAmPAP	SAmPAP	2965-52-8	(¹³ C ₂) ₂ -8:2 diPAP	N.D.	0.2 ~ 98	51.9	44	42.8	38

N.D. : Not determined

メソッドの感度

メソッドの感度を、MDL の計算により評価しました。71 成分のうち 60 成分について、MDL は単一の分析メソッド内で 0.14 ~ 14 ng/L の範囲でした (図 4 および表 1)。これら 60 成分の精度と回収率は、それぞれ 3.7 ~ 19.3 % RSD と 70 ~ 121 % でした。回収率が低いため、11 成分、具体的には 8:3 FTCA、6:2/8:2 diPAP、8:8 PFPi、PFODA、5 つの PFPA、FOSAA、および diSAmPAP の MDL は測定されませんでした。46 ~ 59 % の回収率がユーザーに許容されれば、8:3 FTCA、6:2/8:2 diPAP、8:8 PFPi などの成分は、このメソッドで分析できます。5 つの PFPA、PFODA、FOSAA、および diSAmPAP に関して、回収率が低く、精度が低かった理由は (それぞれ <20 % および >47 % RSD)、これらの成分が SPE カートリッジから完全に溶出されなかったためと考えられます。それにもかかわらず、このメソッドはほぼすべての PFAS で良好な感度を示し、そのうち 51 個の MDL は 0.60 ng/L 以下でした。特に PFOS では、その MDL は 0.27 ng/L (図 4B) でしたが、この値は内陸部の表流水の PFOS およびその誘導体に対して確立された EU Water Framework 指令の年間平均環境品質基準 (AA-EQS) の規制値 0.65 ng/L を下回るものです。⁵一部の成分 (例: HFPO-DA) は低いソース温度を必要としますが、高温でより良好に機能する成分 (例: PFSA) もあります。しかし、一部の成分ではソースパラメータに妥協したにもかかわらず、メソッドは全体的に良好な感度を示しました。

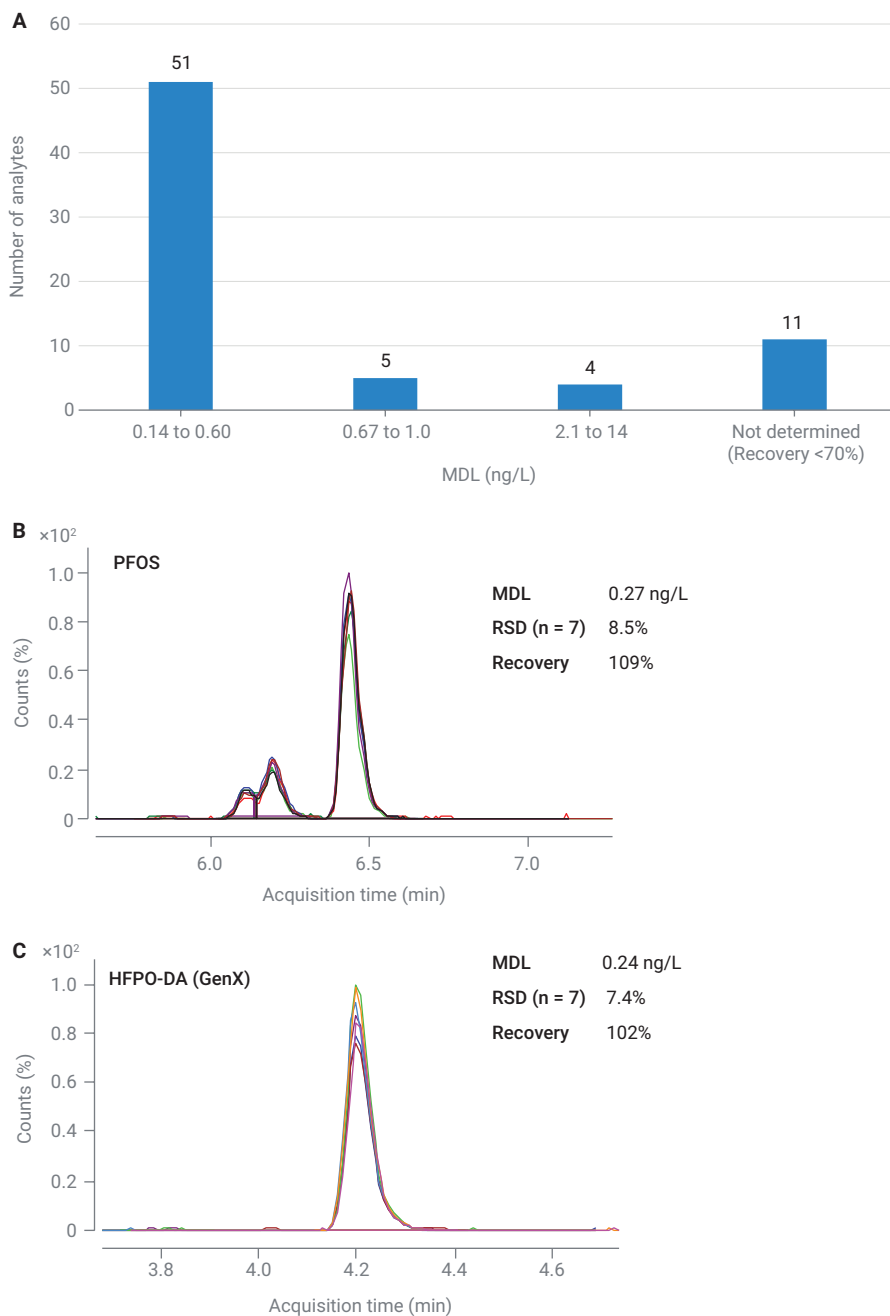


図 4. 超純水中の 71 種類の PFAS の MDL の分布 (A)。1 ng/L の PFOS (B) および HFPO-DA (C) を添加した、スパイクされた超純水サンプルの 7 回の繰り返し分析の MRM クロマトグラムの重ね表示

バッチ間メソッドの精度と回収率

スパイクされた飲料水と表流水マトリックスを使用して、メソッドの精度と回収率を評価しました。スパイクされたマトリックスサンプル中の各成分の測定濃度は、スパイクされていないマトリックスサンプルに存在するその天然の濃度を差し引くことによって補正しました。各水マトリックスについてバッチ間メソッドの精度は、低スパイク (5 ~ 50 ng/L) および高スパイク (20 ~ 200 ng/L) の水サンプルの 8 回および 6 回の繰り返し抽出からの補正濃度のパーセント相対標準偏差 (%RSD) からそれぞれ決定しました。複数のオペレータまたはシフトで行われる実際のラボ条件を再現するため、サンプルは 2 人の分析技術者が別々に準備した 2 回のバッチから調製し、2 日間にわたって 6470 LC/TQ の 2 つの異なるユニットを使用して分析しました。バッチ間メ

ソッドの回収率を決定するために、同じ繰り返しデータのセットを使用して平均回収率を計算しました。通常、許容可能な精度と回収率の限界値は、それぞれ $\leq 20\%$ RSD と 70 ~ 130 % です。⁴

低スパイク飲料水サンプルの場合、71 成分のうち 60 成分が、2.9 ~ 16.7 % RSD の範囲のバッチ間精度と 76 ~ 116 % の回収率を示し、許容範囲内でした (表 1)。同じ 60 成分に関して、高スパイク飲料水サンプルでは 2.2 ~ 11.7 % RSD の精度および、79 ~ 119 % の回収率を示し、高スパイク濃度で SPE 吸着剤の飽和が最小限であることが示されました。低スパイクの表流水サンプルの場合、71 成分のうち 60 成分が、3.0 ~ 19.9 % RSD の範囲のバッチ間精度と 72 ~ 116 % の回収率を示しました (表 1)。同じ 60 成分に関して、高スパイク表流水サンプルで 1.6 ~ 16.5

% RSD の範囲の精度と、73 ~ 120 % の回収率を示しました。表流水中のこれら 60 成分のうち 57 成分は、許容限度を満たした飲料水中の成分と同一です。両方のマトリックスで、一部の成分の回収率が 70 % 未満または 130 % 以上でしたが、精度は 17 % RSD 以内で、各調製内で一貫性があることが示されました。そして、このメソッドを使用した成分の回収率の再現性が確認されました。

71 成分のうち 80 % を超えるターゲットの結果が、20 % RSD および 70 ~ 130 % の回収率限界内でした。これらの結果は、2 つの水マトリックスのさまざまな実験条件におけるメソッドの性能の精度を裏付けるものです。

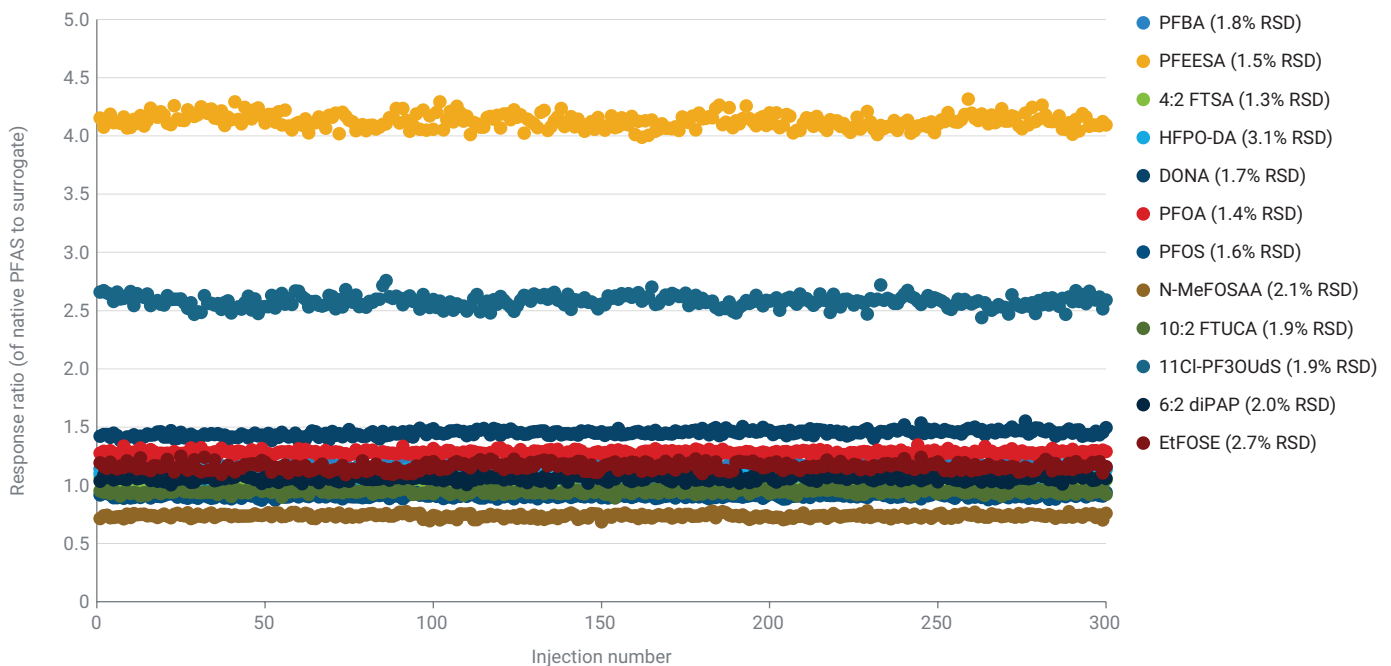


図 5. 高スパイク表流水サンプルの 93 時間の連続注入における、RT の昇順でソートした 12 の代表的な PFAS のレスポンス比。各 PFAS のレスポンス比の再現性 (% RSD) は、右側の凡例の括弧内に示されています。

メソッドの堅牢性

無人機器で 93 時間に及ぶ連続バッチで、高スパイク表流水サンプル (20 ~ 200 ng/L) の 300 回の連続注入を分析することによって、メソッドの堅牢性を評価しました。9 つの異なる PFAS グループ、具体的には、PFCA、PFSA、PFECA、FTUCA、FTSA、diPAP、PFESA、FASAA、および FASE を示すために、12 の成分を選択しました (図 5)。これらの化合物のリテンションタイム (RT) は 3.05 ~ 9.63 分の範囲で、溶出ウィンドウ全体に均等に分布しています。図 5 に示すように、300 回の注入で 12 成分すべてについて、3.1 % RSD 以下の良好なレスポンス比の再現性、および 0.10 % 以下の RT RSD が観察されました。ほぼ 4 日間の継続的なデータ取得から計算されたメソッドの堅牢性が示すように、頻繁なメンテナンスが必要なく、日常の操作において LC/MS/MS メソッドの性能を維持できることが確認されました。

結論

単一の LC/MS/MS および SPE メソッドを使用して、最新の EPA、ASTM、および ISO メソッドに記載されているすべての PFAS を含む 14 種類の異なる PFAS グループから 71 の PFAS をターゲット定量するメソッドを開発し、飲料水と表流水マトリックスに適用しました。この研究では Agilent PFAS MRM データベースを使用することにより、108 の非標識および標識 PFAS の LC/MS/MS 取得メソッドを迅速に作成し、より包括的なターゲット PFAS 分析を行うことができました。このメソッドでは、SampliQ WAX カートリッジを備えた SPE を使用します。これにより、選択性と再現性に優れた抽出が可能になり、効果的なサンプルのクリーンアップと水マトリックス中の PFAS の濃縮が可能になりました。ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラムを使用した 18 分間の LC メソッドは、すべての成分について良好なクロマトグラフィーおよび RT 分布を実証しました。

メソッドの性能を、検量線の分析範囲と精度、メソッドの感度 (MDL)、メソッドの精度、およびメソッドの回収率に基づいて検証しました。このメソッドは良好な感度を示し、大半の成分が低 ng/L からサブ ng/L の濃度の MDL を有しました。2 つの異なる水マトリックスの 2 つのバッチ分析をもとに、メソッドの精度と回収率を検証し、飲料水と表流水マトリックス中の少なくとも 60 種類の PFAS に対する定量分析メソッドの適用性を実証しました。

謝辞

プロジェクト中、表流水サンプルの提供、およびご指導いただいた Shane Snyder 教授および Mauricius Marques dos Santos 博士 (南洋環境水処理研究所) に感謝いたします。

参考文献

1. Coggan, L.C. *et al.* A Single Analytical Method for the Determination of 53 Legacy and Emerging Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous Matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, 411(16), 3507-3520.
2. Fenton, S. E. *et al.* Per- and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research. *Environ. Toxicol. Chem.* **2021**, 40(3), 606-630.
3. US EPA. Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, Revision 2. EPA 821-R-16-006, December **2016**.
4. Rosenblum, L.; Wendelken, S. C. EPA Method 533: Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water by Isotope Dilution Anion Exchange Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. EPA Document No. 815-B-19-020, November **2019**.
5. European Environment Agency. Emerging chemical risks in Europe — 'PFAS'. December 12, **2019**. Retrieved from <https://www.eea.europa.eu/publications/emerging-chemical-risks-in-europe> (accessed on April 14, 2021).

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, June 1, 2021
5994-3600JAJP
DE44350.2772569444