

## ASTM 7968 に準拠し、簡素化したサンプル前処理を使用した土壌中のパーフルオロアルキル化合物（PFAS）分析向けの大容量注入法

---

Kari L. Organtini, Kenneth J. Rosnack

Waters Corporation

---

### 要約

このアプリケーションノートでは、土壌中 PFAS の高感度で信頼性の高い分析のための、Waters Xevo TQ-XS タンデム四重極質量分析計に適用した、ASTM 7968 メソッドの使用について説明します。このメソッドでは、土壌サンプルのスループットを高めるために限定したサンプル前処理手法を使用するとともに、非常に高感度な LC-MS/MS システムへの大容量注入を行うことにより、この分析に必要な感度を実現しています。

### アプリケーションのメリット

- ASTM 7968 メソッドに準拠した、土壌中の既知および新規の PFAS の検出および定量のためのトータルソリューション
  - このソリューションにより、低 ng/kg (ppt) 範囲の PFAS の高感度分析におけるルーチン要件を満たしつつ、サンプル前処理を最小限に抑えてサンプルスループット向上を実現
  - 結果として、時間とリソースの節約を達成
- 

### はじめに

パーフルオロアルキル化合物（PFAS）は、至るところに存在する環境汚染物質であり、世界中で幅広い関心を集めて

---

います。水中および土壌中に最も多く存在しますが、多くの種類のサンプルで懸念されている汚染物質です。PFAS は、産業廃液の排出、PFAS および PFAS の前駆体を含む消費財の使用および廃棄、泡消火剤の使用など、さまざまな汚染源から環境に入ります。その化学的性質のため、PFAS は分解に対する耐性が非常に強く、生体内蓄積性が非常に高い物質です。ヒトの健康に対するリスクは PFAS への曝露と関係付けられており、その影響が現在、各国の組織によって詳しくモニタリングされています。

ヒトの PFAS への曝露は、汚染された飲料水、汚染された土壌や水の存在下で栽培された食物を介した摂取など、様々な経路で発生する可能性があります。したがって、これらの汚染源に起因する曝露レベルの理解およびモニタリングに重点が置かれています。また、修復および汚染源特定の実施計画は、水および土壌中の PFAS の環境レベル測定に用いる頑健なソリューションに依存しています。

さまざまな種類の水サンプル中の PFAS 分析用ソリューションが、以前のアプリケーションノートで提案されています<sup>1,2,3</sup>。このアプリケーションノートでは、土壌中 PFAS の高感度で信頼性の高い分析のための、Waters Xevo TQ-XS タンデム四重極質量分析計に適用した、ASTM 7968 メソッドの使用について説明します。このメソッドでは、土壌サンプルのスループットを高めるために限定したサンプル前処理手法を使用するとともに、非常に高感度な LC-MS/MS システムへの大容量注入を行うことにより、この分析に必要な感度を実現しています。

---

## 実験方法

工業製品には PFAS が蔓延しているため、サンプルを PFAS について分析する際は特別な注意が必要です。必要な検出下限は ng/kg (ppt) の範囲であるため、サンプルの採取、前処理、分析における課題すべてに対処する必要があります。Teflon や PTFE を含む材料、および防水設計された衣類や物品には注意が必要です。サンプルの採取から分析に至るまで、高密度ポリプロピレン (HDPE) 製の容器やバイアルを使用する必要があります。サンプルに触る前は、パーソナルケア製品（ローション、化粧品など）を使用してはなりません。実際には、すべてのラボ備品の使用前に PFAS 汚染をチェックすることを推奨します。

クロマトグラフィーシステムには、PFAS を含む材料を使用して、または PFAS の存在下で製造されている LC の重要なコンポーネントが含まれるため、クロマトグラフィーシステムからの汚染は避けられません。システムの PFAS 汚染を完全に除去することはできませんが、汚染を低減し、クロマトグラフィー上で遅らせるように対策を取ることができます。PFAS 分析を使用する前に、Waters PFAS 分析キット（製品番号：176004548）を UPLC システムに取り付ける必要があります。このキットは、PFAS を含まない部品（従来の Teflon コートの溶媒ラインに替わる PEEK チューブなど）と、分析ピークとの共溶出への残留バックグラウンド干渉を遅らせることができるアイソレーターカラムで構成されています。PFAS 分析キットの取り付けは手早く行えます<sup>4</sup>。

土壌サンプルは、U.S. EPA Region 5 から提供を受けました。サンプルは、砂、沈泥、粘性の低い粘土、粘性の高い粘

土などでした。すべてのサンプルには、ラボで受領する前に、EPAによってさまざまな濃度の 24 種の PFAS 化合物がスパイクされています。事前スパイク濃度がわからない状態で、盲検でサンプルの抽出および分析を行いました。

各 2 グラムのサンプルを受領し、ASTM 7968 メソッドに従って前処理を行いました<sup>5</sup>。10 mL の 1:1 水:メタノールを各サンプルに添加しました。サンプルの pH を 20  $\mu$ L の水酸化アンモニウムで 9 ~ 10 に調整しました。機械式シェーカーを用いてサンプルを 1 時間振とうし、続いて 1900 rpm で 10 分間遠心分離しました。25 mm のデュアルグラスファイバーと GHP メンブレンフィルター付き使い捨てポリプロピレンシリンジ（製品番号: WAT200802）を使用して、上清全量をろ過しました。ろ過後、酢酸 50  $\mu$ L を各サンプルに添加しました。各サンプルのアリコートポリプロピレン製オートサンプラーバイアルに移し、ポリエチレン製キャップ（製品番号: 186005230）で密閉しました。

抽出後、既知濃度の 7 種の追加の PFAS（GenX、ADONA、9Cl-PF3ONS、11Cl-PF3OUdS、PFMBA、PFEESA、NFDHA）をサンプルにスパイクし、これらの新規 PFAS をメソッドに統合できるかどうかを評価しました。

## 分析条件

LC システム:	PFAS キットを取り付けた ACQUITY UPLC I-Class PLUS（製品番号: 176004548）
カラム:	ACQUITY UPLC CSH Phenyl Hexyl 2.1 $\times$ 100 mm、1.7 $\mu$ m（製品番号: 186005407）
カラム温度:	35 $^{\circ}$ C
サンプル温度:	10 $^{\circ}$ C
注入量:	30 $\mu$ L
移動相 A:	95: 5 水: メタノール + 2 mM 酢酸アンモニウム
移動相 B:	メタノール + 2 mM 酢酸アンモニウム

## グラジエント

時間 (分)	流速 (mL/分)	%A	%B
0	0.3	100	0
1	0.3	80	20
6	0.3	55	45
13	0.3	20	80
14	0.4	5	95
17	0.4	5	95
18	0.3	100	0
22	0.3	100	0

## MS 条件

MS システム:	Xevo TQ-XS
イオン化モード:	ESI-
キャピラリー電圧:	0.5 kV
脱溶媒温度:	350 °C
脱溶媒ガス流量:	1100 L/時間
コーンガス流量:	150 L/時間
イオン源温度:	100 °C

## 結果および考察

ASTM 7968 メソッドでは、試薬ブランク、メソッドブランク、定量下限値 (LLOQ) チェック、ラボコントロールサン

プル（LCS）などの一連のコントロールサンプルをサンプルバッチそれぞれについて抽出および分析する必要があります。各コントロールの説明および合格基準を図1で概説しています。提供された土壌サンプルを3バッチに分けて前処理したところ、各バッチのコントロールはすべての基準を満たしていました。

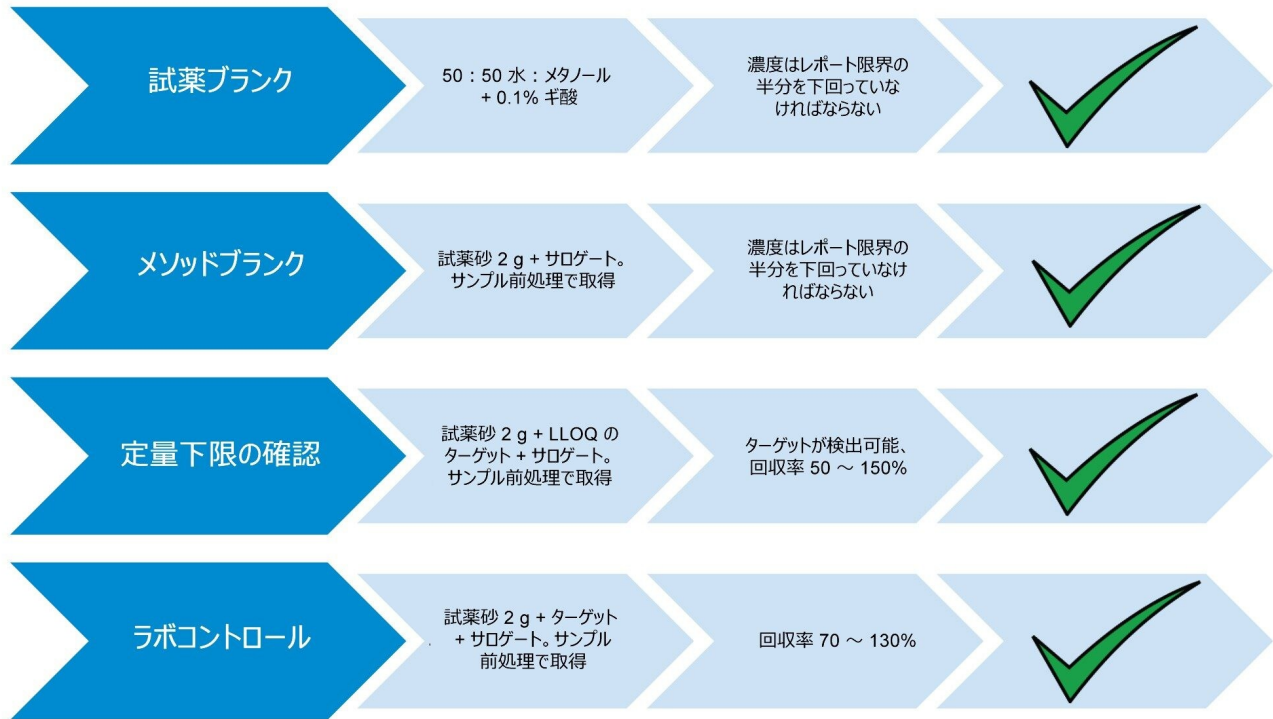


図 1. サンプルのすべてのバッチの前処理および分析に含めた必須のコントロールサンプル

この試験の定量下限値（LLOQ）は、サンプルで分析したキャリブレーション範囲を用いて決定した値で、ASTM 7968 メソッドの推奨キャリブレーション範囲から導出された値です。ASTM 7968 では、LLOQ が検量線の最低点であることを求めています。したがって、この検量線の最低点（5 ng/L または 25 ng/kg）が、この評価で PFAS の大半について決定された LLOQ となりました。一部の PFAS では若干高い LLOQ が示されましたが、この値は、Xevo TQ-XS を使用した場合のこのメソッドの感度や検出下限を反映していません。検出下限の計算値（表 1）は通常、このメソッドの規定の検量線範囲より 5 ~ 10 倍低い値です。これにより、メソッドに変更を加えて（さらにサンプルを希釈する、注入量を少なくする、サンプル重量を少なくするなど）、メソッドの頑健性をさらに向上させることが可能になります。コントロールの一環として、抽出した試薬砂中の LLOQ レベルを、各サンプルバッチについて評価しました。LLOQ チェックの回収率（表 1）はすべて 77 ~ 135% の範囲内にあり、LLOQ サンプルの許容範囲 50 ~ 150% を容易に満たしています。表 1 には、ASTM 7968 に記載されているレポート範囲も示されており、Xevo TQ-XS を使用してすべての被験化合物が要件の範囲内に収まっていることが実証されました。最後に、表 1 に、 $R^2$  値が 0.995 を超えるすべての被

験化合物（ $R^2$  値が 0.994 の 6:2 FTS は除く）の直線性も示しています。一部の検量線を、示している化合物の LLOQ での定量 MRM クロマトグラムおよび定性 MRM クロマトグラムとともに、図 2 に示します。

化合物	バイアル中での LLOQ (ng/L)	土壌中での LLOQ (ng/kg)	検出下限 (ng/L)	レポート範囲* (ng/kg)	LLOQ (ng/L) での回収率	R <sup>2</sup>
PFBA	25	125	10.0	125~1000	100.0	0.999
PFPeA	5	25	0.8	125~1000	98.9	0.999
PFHxA	5	25	0.8	25~1000	85.6	0.999
PFHpA	5	25	0.8	25~1000	93.7	0.999
PFOA	5	25	0.6	25~1000	99.2	0.999
PFNA	5	25	0.2	25~1000	95.1	0.998
PFDA	5	25	1.3	25~1000	99.3	0.998
PFUnDA	5	25	0.2	25~1000	91.2	0.998
PFDoDA	5	25	1.1	25~1000	77.2	0.999
PFTriDA	5	25	1.9	25~1000	99.0	0.999
PFTreDA	5	25	2.1	25~1000	109.8	0.996
PFBS	5	25	0.2	25~1000	94.3	0.999
PFPeS	5	25	0.6	25~1000	83.9	0.999
PFHxS	5	25	0.6	25~1000	80.4	0.999
PFHpS	5	25	1.1	25~1000	111.9	0.998
PFOS	5	25	1.1	25~1000	135.8	0.998
PFNS	5	25	2.3	25~1000	128.0	0.995
PFDS	5	25	1.7	25~1000	133.0	0.997
FOSA	5	25	1.1	25~1000	94.3	0.999
N-Et-FOSAA	5	25	1.9	25~1000	102.8	0.997
N-Me-FOSAA	5	25	0.4	25~1000	124.2	0.999
4:2 FTS	5	25	1.3	25~1000	87.8	0.999
6:2 FTS	5	25	1.9	25~1000	NA	0.994
8:2 FTS	5	25	0.6	25~1000	95.2	0.997
ADONA	5	25	0.7	-	-	0.999
9Cl-PF3ONS	5	25	1.3	-	-	0.997
11Cl-PF3OUdS	5	25	0.9	-	-	0.998
GenX	5	25	5.0	-	-	0.999
PFMBA	5	25	0.7	-	-	0.995
PFEESA	5	25	1.1	-	-	0.998
NFDHA	10	50	10.0	-	-	0.995

表 1. Xevo TQ-XS で ASTM 7968 を使用した分析のメソッド仕様。この試験で使用したバイアル中 LLOQ 値およびサンプル中 LLOQ 値、検出下限機能、LLOQ のサンプルの回収率、検量線の直線性。（\*ASTM

7968 メソッドで指定されているレポート範囲)

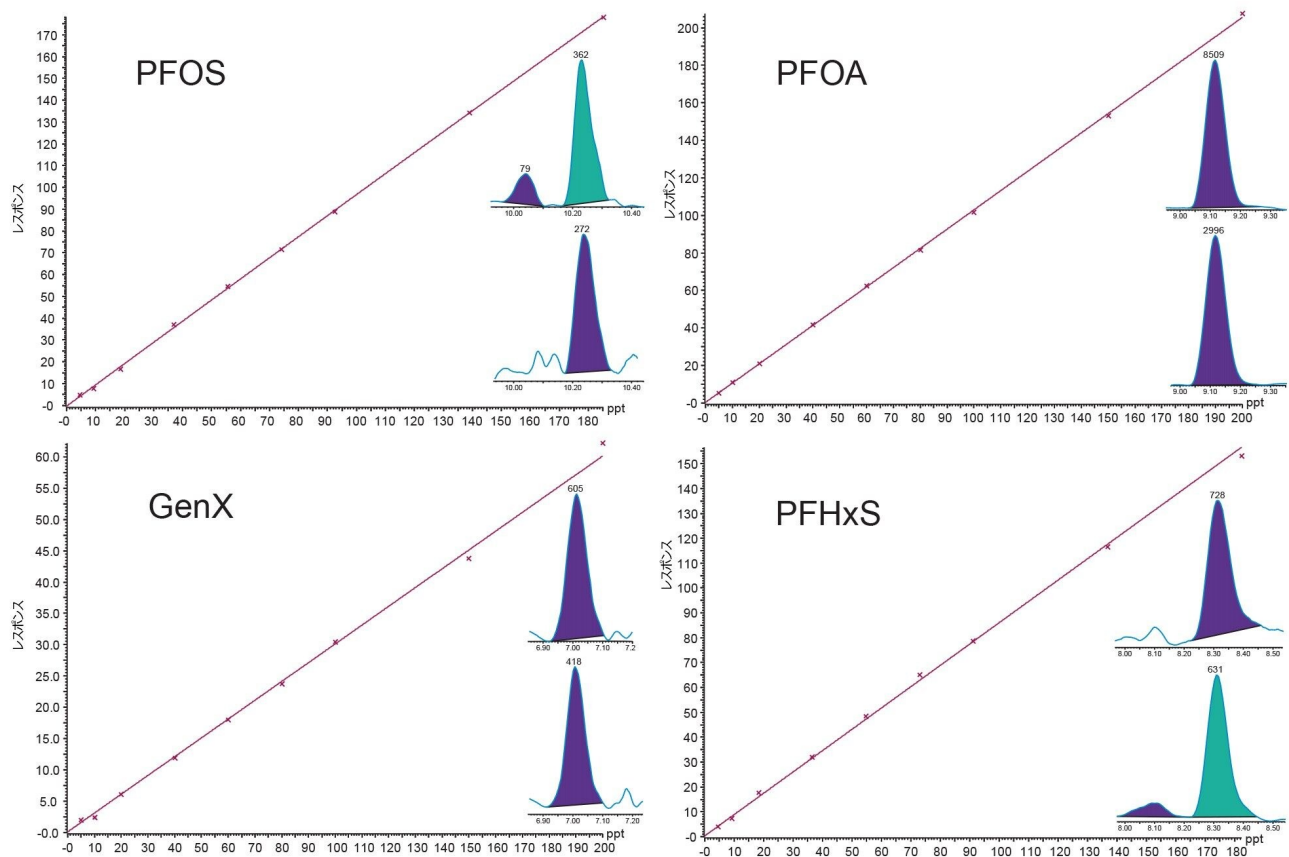


図2. メソッドおよびクロマトグラムに含まれる一部の PFAS の検量線、および LLOQ での定量トランジションおよび定性トランジション

ASTM 7968 メソッドでは、回収率は、サンプル前処理の前に土壌サンプルにスパイクした同位体標識サロゲート標準試料に基づいて計算します。このメソッドでは、70 ~ 130% の範囲の回収率が必要です。図3には、この評価に関わるメソッドの回収率を示しており、この試験で使用したさまざまな同位体標識サロゲートの範囲が表示されています。分析した4種類の土壌マトリックスすべてにおける回収率を示しています。エラーバーは、各種類の土壌の15サンプルについて得られた回収率の標準偏差を示します。すべてのPFASの回収率が70 ~ 130%の範囲内に収まり、6:2 FTSと8:2 FTSのみ回収率の値の標準偏差が130%をわずかに超えていました。6:2 FTSは多くのラボで既知の汚染物質であり、8:2 FTSはエレクトロスプレーでイオン化しにくいPFAS化合物の1つであるため、それぞればらつきが若干高



くなっています。

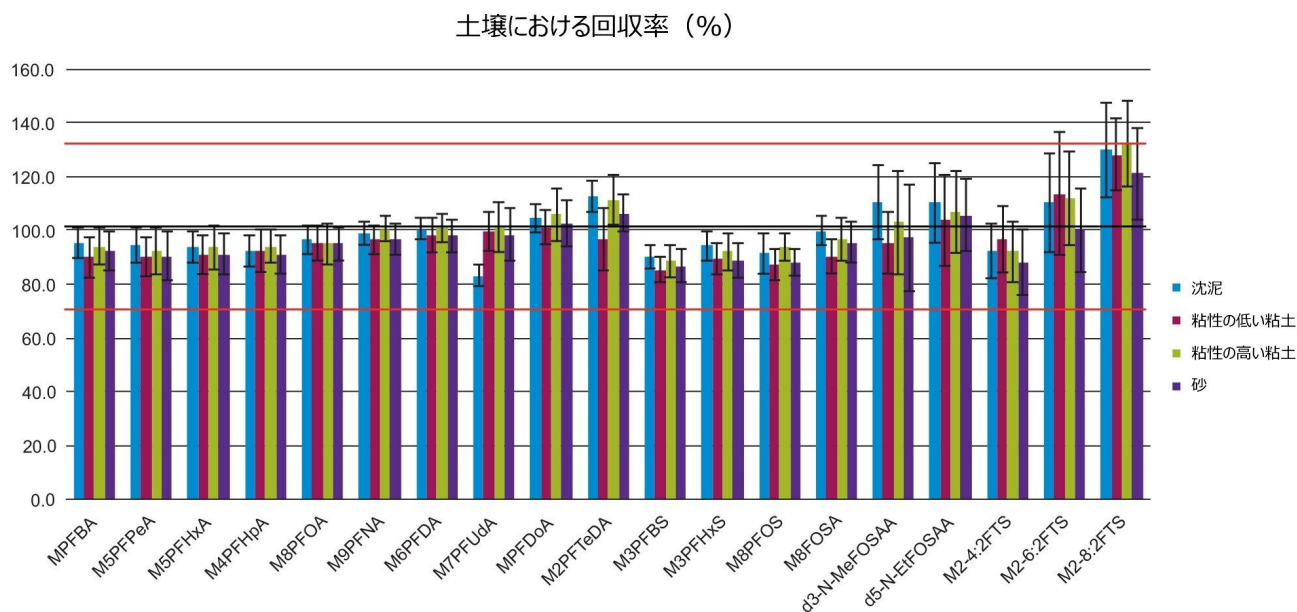


図 3. サンプル前処理の前にスパイクした各サロゲート標準試料の回収率および標準偏差 ( $n=15$ )。赤線は、ASTM 7968 で指定されている回収率の許容範囲 70 ~ 130% を示しています。

サンプルに事前にスパイクされていたさまざまな 24 種の PFAS と、サンプルにスパイクした 7 種の新規 PFAS すべてが、4 種類の土壌すべてにおいて容易に検出できました。粘性の低い粘土のサンプル中に検出されたすべての PFAS の例を図 4 に示します。サンプルの定量は、ASTM 7968 の指定に従い、TargetLynx で外部キャリブレーションを使用して行いました。一部のコントロールサンプルおよび土壌サンプルの定量の例を図 5 に示します。回収率およびイオン比の値は、TargetLynx で自動的に計算されます。この特定のメソッドでは必要ありませんが、サンプル中で化合物が同定された際に、さらなるレベルの確認用にイオン比の情報を使用することができます。

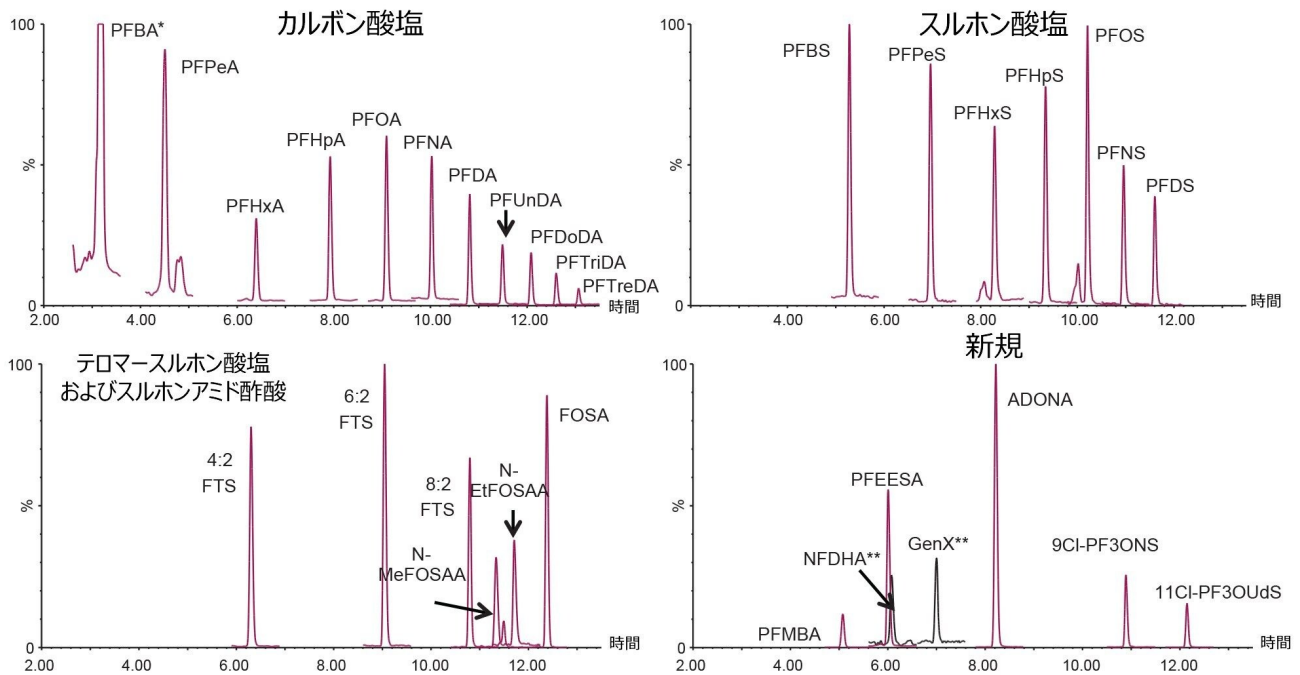


図 4. ASTM 7968 メソッドには現在含まれていない新規 PFAS を含む、粘性の低い粘土サンプル中に検出された PFAS を示すクロマトグラム

\*この化合物はオフスケールで表示されています。

\*\*これらの化合物は拡大して表示されています。

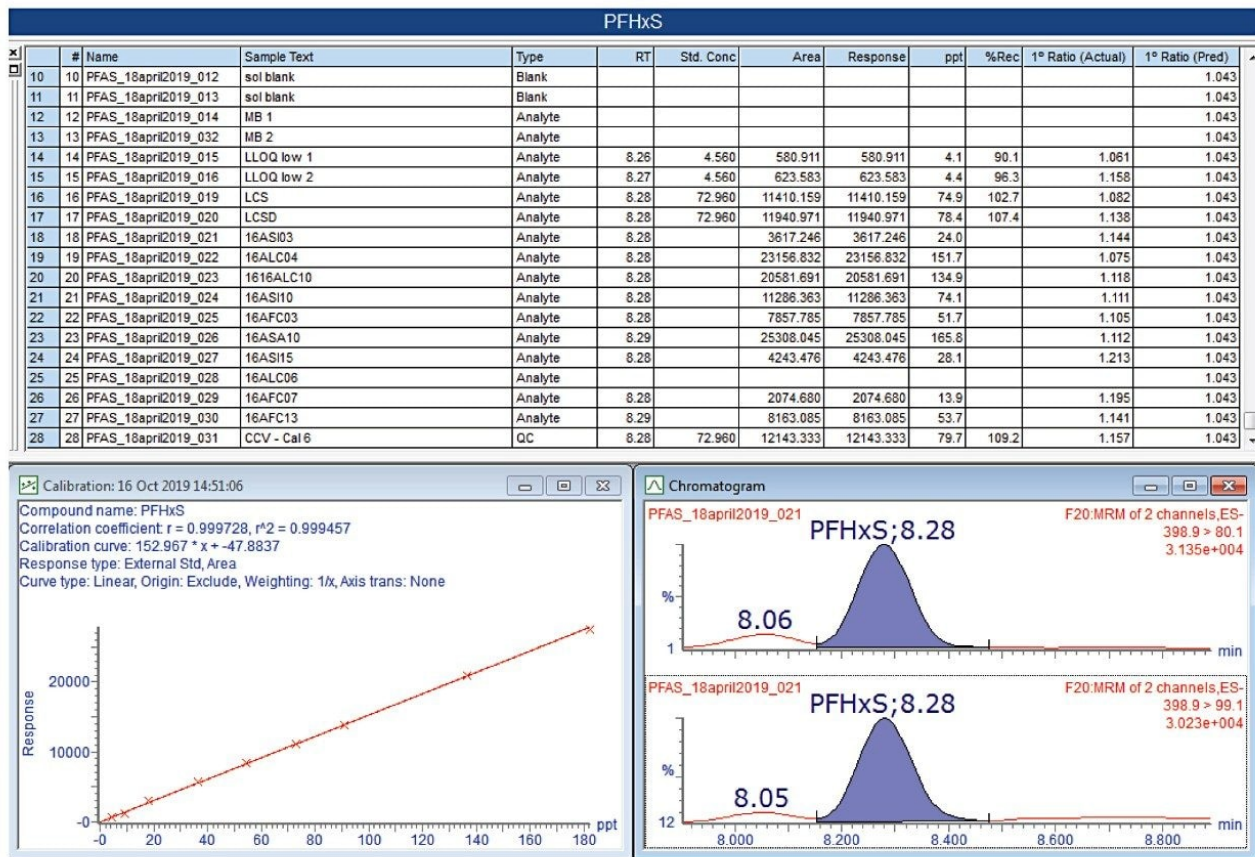


図 5. 一部のコントロールサンプルおよび土壌サンプルの定量を示す、直鎖型 PFHxS の TargetLynx の例。分岐型異性体は、RT 8.05 とラベル付けされたピークとして示されています。

装置の安定性を確保するため、土壌サンプル 10 点ごとに継続キャリブレーション検証 (CCV) 注入を行いました。検量線上の中ほどのレベルの濃度ポイントを CCV レベルとして使用しました。各 CCV 注入は、サンプルの蒸発によるバイアスがかからないように、個別のバイアル中で調製しました。サンプルキューの全体は、36 時間の分析期間にわたる計 90 回の注入で構成されています。図 6 の PFOA の例でわかるように、CCV 注入の安定性は非常に優れていました。このシステムが、高マトリックスロードのサンプルでの長時間に及ぶ一連の注入にわたって頑健であることが示されています。

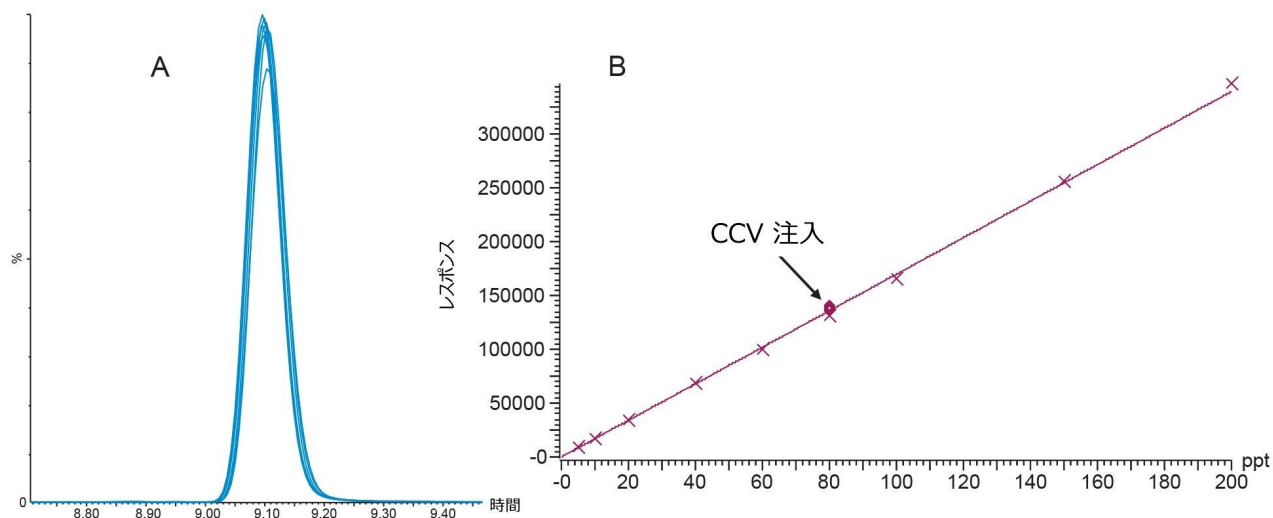


図 6. (A) 約 36 時間にわたって実行した 6 回の CCV 注入での PFOA ピークおよび関連する検量線ポイントのクロマトグラムの重ね描き。(B) 検量線上に示された 6 回の CCV 注入。

## 結論

- Xevo TQ-XS および PFAS キットを含むこのソリューションは、ASTM 7968 メソッドの要件を満たすという目的に適合していることが示され、システムおよび分析法を簡単にルーチンのラボ設定に採用し、取り入れることができます。
- ASTM 7968 メソッドにより、さまざまな種類の土壌および堆積物において、PFAS のハイスループット分析が可能になります。
- ASTM 7968 には新規 PFAS は含まれていませんが、ラボで検査の範囲を拡張する必要がある場合、分析法に容易に取り入れることができます。
- このトータルソリューションにより、さまざまな土壌や堆積物中の PFAS を、最小限のサンプル前処理を使用して高感度で正確かつ頑健に分析することができるため、費用とリソースの節約に役立ちます。

## 参考文献

1. Organtini, K.; Cleland, G.; Rosnack, K. Large Volume Direct Injection Method for the Analysis of Perfluorinated Alkyl Substances (PFAS) in Environmental Water Samples in Accordance with ASTM 7979-17. Waters Corporation Application Note 720006329EN.2018.
2. Organtini, K.; Rosnack, K.; Stevens, D.; Ross, D. Analysis of Legacy and Emerging Perfluorinated Alkyl Substances (PFAS) in Environmental Water Samples Using Solid Phase Extraction (SPE) and LC-MS/MS. Waters Corporation Application Note 720006471EN.2019.
3. Organtini, K.; Brinster, K.; Rosnack, K. Perfluorinated Alkyl Substances (PFAS) in Drinking Water: Extraction Using the PS2 Cartridge in Accordance with EPA 537.1. Waters Corporation Application Note 720006695EN.2019.
4. Mullin, L.; Burgess, J. Ultra Low-Level Detection of Perfluoroalkyl Substances (PFASs) Using the PFAS Analysis Kit. Waters Corporation Technology Brief 720005701EN.2016.
5. ASTM D7968, Standard Test Method for Determination of Polyfluorinated Compounds in Soil by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS), ASTM International, West Conshohocken, PA, 2017, [www.astm.org](http://www.astm.org).

# 付録

化合物	CAS 番号	ブライカー	フラグメント	CV	CE	RT
PFBA	375-22-4	213.0	169	8	5	3.08
PFPeA	2706-90-3	262.9	218.9	5	5	4.48
PFHxA	307-24-4	312.9	268.9	16	6	6.35
			118.9	16	21	
PFHpA	375-85-9	362.9	318.9	14	8	7.9
			168.9	14	14	
PFOA	335-67-1	412.9	368.9	22	7	9.06
			168.9	22	15	
PFNA	375-99-1	462.9	418.9	18	9	10.01
			218.9	18	15	
PFDA	335-76-2	512.9	468.9	6	9	10.80
			218.9	6	15	
PFUnDA	2059-94-8	562.9	518.9	8	8	11.47
			268.9	8	14	
PFDoDA	307-55-1	612.9	568.9	12	12	12.06
			168.9	12	21	
PFTriDA	72629-94-8	662.9	618.9	14	22	12.59
			218.9	14	20	
PFTreDA	376-06-7	712.9	668.9	14	22	13.05
			168.9	14	20	
PFBS	29420-49-3	298.9	80.1	7	27	5.25
			99.1	7	27	
PFPeS	2706-91-4	348.9	79.9	32	31	6.92
			98.9	32	29	
PFHxS	3871-99-6	398.9	80.1	38	35	8.25
			99.1	38	29	
PFHpS	375-92-8	448.9	79.9	16	34	9.31
			98.9	16	34	
PFOS	1763-23-1	498.9	79.9	30	42	10.18
			98.9	30	40	
PFNS	N/A	548.9	80.1	24	40	10.94
			99.1	24	36	
PFDS	335-77-3	598.9	80.1	46	46	11.58
			99.1	46	46	
FOSA	754-91-6	498.0	77.9	40	29	12.38
N-EFOSAA	2991-50-6	584.0	418.9	34	15	11.68
			525.9	34	18	
N-MeFOSAA	2355-31-9	569.9	418.9	36	15	11.33
			168.9	36	27	
4:2 FTS	757124-72-4	328.9	306.9	42	18	6.25
			80.9	42	27	
6:2 FTS	29420-49-3	427.0	406.9	12	22	9.01
			80.1	12	32	
8:2 FTS	39108-34-4	526.9	506.9	28	26	10.77
			80.9	28	37	
ADONA	958445-44-8	376.9	251	12	10	8.18
			84.9	12	22	
9Cl-PF3ONS	73606-19-6	531.0	351	14	22	10.87
			82.9	14	20	
11Cl-PF3OUGS	73606-19-6	631.0	450.9	16	26	12.12
			82.9	16	26	
GenX	13252-13-6	285.0	119	5	35	6.95
			185	5	7	
PFMBA	863090-89-5	278.9	95	10	10	5.02
			235	10	5	
NFDHA	151772-58-6	294.9	201	5	10	6.05
			95	5	20	
PFEESA	113507-82-7	314.9	135	15	20	5.96
			83	15	20	
<sup>12</sup> C-PFBA	-	217	172	7	8	3.08
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFPeA	-	268	223	11	7	4.48
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFHxA	-	318	273	10	6	6.35
			120	10	18	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFHpA	-	367	322	16	7	7.9
			172	16	15	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFOA	-	421	376	6	8	9.06
			172	6	16	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFNA	-	472	427	7	18	10.01
			223	7	18	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFDA	-	519	473.9	25	7	10.80
			219	25	13	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFUnDA	-	569.9	524.9	9	8	11.47
			273.9	9	14	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFDoDA	-	615	569.9	23	10	12.06
			168.9	23	22	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFTreDA	-	715	668.9	18	25	13.05
			219	18	25	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFBS	-	301.9	80.1	34	28	5.25
			99.1	34	24	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFHxS	-	402	80.1	13	38	8.25
			99.1	13	30	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -PFOS	-	507	80.1	38	34	10.18
			99.1	38	34	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -FOSA	-	506	77.9	13	28	12.38
D <sub>1</sub> -N-EFOSAA	-	589	418.9	24	17	11.68
			462.9	24	13	
D <sub>1</sub> -N-MeFOSAA	-	573	418.9	17	18	11.33
			515	17	18	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -4:2 FTS	-	329	309	14	18	6.25
			80.9	14	21	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -6:2 FTS	-	429	409	48	21	9.01
			80.9	48	27	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -8:2 FTS	-	529	509	20	27	10.77
			80.9	20	37	
<sup>13</sup> C <sub>1</sub> -GenX	-	287	169	5	12	6.95
			119	5	12	

---

## ソリューション提供製品

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS システム <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)

[Xevo TQ-XS タンデム四重極質量分析計 <https://www.waters.com/134889751>](https://www.waters.com/134889751)

[MassLynx MS ソフトウェア <https://www.waters.com/513662>](https://www.waters.com/513662)

[TargetLynx <https://www.waters.com/513791>](https://www.waters.com/513791)

[QuanOptimize <https://www.waters.com/534330>](https://www.waters.com/534330)

720006764JA、2020 年 2 月



©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#) [プライバシー](#) [商標](#) [サイトマップ](#) [キャリア](#) [クッキー](#) [クッキー環境設定](#)