

Altura PFAS カラムを用いた飲料水中の PFAS の大容量希釈-注入分析



著者

Olutobi Daniel Ogunbiyi,
Emily Parry, and Ivan Huang
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) は有機合成化学物質群の一種で、環境中に広く残存していることが確認されています。その残留性と潜在的な健康リスクから、主に環境における大きな懸念事項となっており、飲料水中の濃度が厳しく制限されています。こういった状況を背景に、ラボのスループットを高レベルに保ちながらサンプル前処理時間を短縮する高感度のメソッドが求められています。このアプリケーションノートでは、Agilent 1290 Infinity II LC と Agilent 6495D トリプル四重極 LC/MS を組み合わせたシステムで Agilent Altura Poroshell 120 PFAS カラム (Altura PFAS カラム) を用いた、飲料水中の選択した従来の PFAS (C4 ~ C10) を分析するための、大容量希釈-注入による液体クロマトグラフィー / 質量分析 (LC/MS) メソッドを紹介します。このメソッドでは、メタノールに希釈した水サンプル 200 μ L を注入しました。これにより、サンプル前処理時間が短縮され、良好なピーク形状、直線性、堅牢性が維持されました。また、マトリックススパイクサンプルにおけるメソッド検出下限 (MDL) は 0.37 ~ 1.15 ng/L、精度および再現性はそれぞれ 75 ~ 99 % と 7 % 未満でした。このように、このワークフローは、従来の PFAS のルーチン分析に取り組む飲料水検査ラボにとって実用的なハイスループットのオプションとなります。

はじめに

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) は合成フッ素化合物であり、その撥油性と撥水性が有用とみなされてきましたが、環境における残留性と移動性から、飲料水のモニタリングに関する規制はますます厳格化されています。EPA 8327 や ASTM D7979 など既存の希釈-注入メソッドは、もともと非飲料水中の PFAS のスクリーニング用に策定されたものです。通常、これらのメソッドは 10 ~ 30 µL の注入量を必要とし、実質的な定量下限は約 10 ng/L に設定されています^{1,2}。

このアプリケーションノートでは、これらのメソッドの性能を飲料水中の微量 PFAS の定量にも適用できるよう拡張した大容量注入ワークフローを紹介します。Agilent 6495D トリプル四重極 LC/MS (LC/TQ) と 1290 Infinity II LC を組み合わせたシステムで Altura PFAS カラムを使用することにより、SPE による濃縮なしで、メタノールで希釈した水 200 µL の注入に成功しました。Altura PFAS カラムでは、このような注入条件下でもピークの対称性とリテンションの安定性が保たれました。また、この構成により、0.25 ~ 25 ng/L という有効なキャリブレーション範囲が実現し、公開されている希釈-注入メソッドと比べて微量検出感度が大幅に拡張されました^{1,2}。

この性能の向上により、手間のかかる抽出ステップが排除されて操作が簡略化され、同時に規制ガイドラインで要求される感度も確保できます。こういった利点が、飲料水のルーチン分析に適したハイスループットの PFAS ワークフローの支えとなります。今回の実験では、PFAS 化合物として PFBS、HFPO-DA、PFHpA、PFHxA、PFHxS、PFOA、PFOS、PFNA、PFDA を分析しました。これらの化合物は、現行の規制措置との関連性と、飲料水に対して提案されている最大汚染物質レベル (MCL) を考慮して選択しました。

この実験における具体的な注目ポイントは以下のとおりです。

- 200 µL の水/メタノール (1:1) の注入でピークテーリングおよび溶媒効果を最小化
- 固相抽出 (SPE) を排除することによりスループットを向上
- 飲料水の希釈-注入メソッドにおける 6495D LC/TQ の微量 (0.25 ng/L) 検出感度が向上

実験方法

使用装置

LC/MS/MS 分析には、Agilent 1290 Infinity II LC と Agilent 6495D LC/TQ を組み合わせたシステムを使用しました。延長マルチドロークャピラリチューブ (G7137-68307) を装着した Infinity II マルチサンブラを大容量注入 (200 µL) 用ユニオンでニードルシートおよびインジェクションバルブに接続しました。データの取り込みには MassHunter acquisition ソフトウェアバージョン 12.2 を使用しました。すべての LC/MS パラメータを表 1 および表 2 に示します。PFAS マルチプルリアクションモニタリング (MRM) トランジションメソッドを PFAS MRM データベース (G1736AA) からインポートし、正確な MRM トランジションが得られるように標識同族体を最適化しました (表 3)。

表 1. LC の分析条件

パラメータ	設定値																		
LC	Agilent 1290 Infinity II LC および以下のコンポーネント : - 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) - Agilent 1290 マルチカラムサーモスタット (G7116B)																		
カラム	Agilent Altura Poroshell 120 PFAS, 2.1 × 50 mm, 2.7 µm (部品番号 227215-007)																		
ディレイカラム	Agilent Poroshell 120 PFAS ディレイカラム, 4.6 × 30 mm (部品番号 027403-007)																		
カラム温度	50 °C																		
移動相	A) 2 mM 酢酸アンモニウム水溶液 B) 2 mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液																		
注入量	200 µL																		
流量	0.400 mL/min																		
LC グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.00</td><td>35</td></tr> <tr><td>1.00</td><td>35</td></tr> <tr><td>3.00</td><td>70</td></tr> <tr><td>5.00</td><td>90</td></tr> <tr><td>7.00</td><td>100</td></tr> <tr><td>11.00</td><td>100</td></tr> <tr><td>11.30</td><td>35</td></tr> <tr><td>12.00</td><td>35</td></tr> </tbody> </table>	時間 (分)	%B	0.00	35	1.00	35	3.00	70	5.00	90	7.00	100	11.00	100	11.30	35	12.00	35
時間 (分)	%B																		
0.00	35																		
1.00	35																		
3.00	70																		
5.00	90																		
7.00	100																		
11.00	100																		
11.30	35																		
12.00	35																		
ストップタイム	12.00 分																		
ポストタイム	2.00 分																		
ニードル洗浄モード	標準洗浄																		
洗浄溶媒 1 (S1)	IPA:H ₂ O (90:10)																		

表 2. MS メソッド

パラメータ	設定値
MS イオン源	Agilent Jet Stream
ガス温度	200 °C
ガス流量	11 L/min
ネブライザ圧力	33 psi
キャピラリ電圧	2,100 V
シースガス温度	310 °C
シースガス流量	12 (L/min)
ノズル電圧	0 V

表 3. MRM のパラメータ

化合物名	氏名	CAS No.	プリカーサイオン	プロダクトイオン	RT (分)	フラグメンタ (V)	コリジョン エネルギー (V)
¹³ C ₄ -PFBS	ペルフルオロブタンスルホン酸 (¹³ C ₄)	—	302.9	80	6.08	166	44
¹³ C ₃ -HFPO-DA	テトラフルオロ-2-(ヘプタフルオロプロポキシ)プロパン酸 (¹³ C ₃)	—	288	172	6.54	166	20
¹³ C ₃ -HFPO-DA			288	188	6.54	166	4
¹³ C ₆ -PFHxA	ペルフルオロヘキサン酸 (¹³ C ₆)	—	319	273.9	6.47	166	8
¹³ C ₆ -PFHxA			319	121	6.47	166	24
¹³ C ₆ -PFHxS	ペルフルオロヘキサンスルホン酸 (¹³ C ₆)	2687960-06-9	405	99.3	6.77	166	50
¹³ C ₆ -PFHxS			405	80.4	6.77	166	50
¹³ C ₈ -PFOA	ペルフルオロオクタンスルホン酸 (¹³ C ₈)	1350614-84-4	421	376	7.12	166	8
¹³ C ₈ -PFOA			421	172	7.12	166	20
¹³ C ₈ -PFOS	ペルフルオロ-1-オクタンスルホン酸カリウム (¹³ C ₈)	—	507	99	7.36	166	52
¹³ C ₈ -PFOS			507	80	7.36	166	54
¹³ C ₉ -PFDA	ペルフルオロデカン酸 (¹³ C ₉)	—	522	476.6	7.69	166	20
¹³ C ₉ -PFDA			522	222.8	7.69	166	20
¹³ C ₉ -PFNA	ペルフルオロノナン酸 (¹³ C ₉)	2283397-80-6	472	427	7.41	166	8
¹³ C ₉ -PFNA			472	223	7.41	166	16
PFBS	ペルフルオロブタンスルホン酸	29420-49-3	298.9	99	6.08	166	34
PFBS			298.9	80	6.08	166	36
PFDA	ペルフルオロデカン酸	3830-45-3	513	469	7.69	166	16
PFDA			513	219	7.69	166	20
PFHpA	ペルフルオロヘプタン酸	375-85-9	363	219	6.81	166	8
PFHpA			363	319	6.81	166	16
PFHxA	ペルフルオロヘキサン酸	2923-26-4	313	269	6.47	166	8
PFHxA			313	119	6.47	166	24
PFHxS	ペルフルオロヘキサンスルホン酸、異性体混合物	3871-99-6	398.9	99	6.77	166	40
PFHxS			398.9	80	6.77	166	56
PFNA	フルオロノナン酸	375-95-1	463	419	7.41	166	8
PFNA			463	216	7.41	166	16
PFNA			463	169	7.41	166	20
PFDA	ペルフルオロデカン酸	3830-45-3	513	269	7.69	166	16
PFDA			513	219	7.69	166	20
PFOA	ペルフルオロオクタンスルホン酸	335-67-1	413	369	7.12	166	8
PFOA			413	219	7.12	166	16
PFOA			413	169	7.12	166	16
PFOS	ペルフルオロオクタンスルホン酸、異性体混合物	1763-23-1	498.9	99	7.36	166	50
PFOS			498.9	80	7.36	166	54
HFPO-DA	テトラフルオロ-2-(ヘプタフルオロプロポキシ)プロパン酸	13252-13-6	285	185	6.54	166	20
HFPO-DA			285	169	6.54	166	4
HFPO-DA			285	119	6.54	166	32

サンプル前処理とキャリブレーション

今回の分析では、水サンプルとして試薬水、デラウェア州水道水、およびペンシルベニア州処理水の試験を実施し、ペンシルベニア州処理水サンプルにはプレフィルタ、ポストフィルタ、逆浸透 (RO) のラベルを付けて使用しました。各水サンプル 3 mL に、非標識 PFAS 混合物をそれぞれ 1 ng/L および 10 ng/L の濃度でスパイクしました。これらのサンプルに、同位体標識された PFAS 混合物を 10 ng/L で添加し、3 mL のメタノールで希釈しました。この混合液にアスコルビン酸 (10 µg/mL) を加えて、

水サンプルを脱塩素化しました。次に、ピーク形状を改善するために、希釈したサンプル全量に 10 µL の酢酸を加えました³。これにより生成された混合液 (6 mL) をボルテックスで 2 分間攪拌し、RC フィルタ (ポアサイズ 0.2 µm、25 mm) でろ過しました。ターゲットの検量線を 0.25 ~ 25 ng/L で作成しました。この濃度範囲は水サンプルにおける 0.5 ~ 50 ng/L に相当します。

結果と考察

クロマトグラム

Agilent Altura Poroshell PFAS カラムにより 9 種類の PFAS 化合物すべてが分離されました。図 1 に示すように、クロマトグラムには、200 μ L の注入で C4 ~ C10 の短鎖および長鎖パーフルオロアルキル酸 (PFAA) のすべてについて正規分布形のピークが現れています。

直線性

すべての化合物のキャリブレーションには、1/x 重み付き線形回帰曲線設定を使用しました。分析したすべての PFAS の R^2 は 0.99 を超えています。この結果は、検量線に用いたすべての濃度で 95 ~ 115 % の精度が得られ、低サブ ppt レベルでもこのメソッドが直線的レスポンスを示すことを意味しています。検量線のインバイアル濃度範囲は 0.25 ~ 25 ng/L で、これは水サンプル中の濃度 0.5 ~ 50 ng/L に相当します。9 種類の全 PFAS の検量線を図 2 に示します。

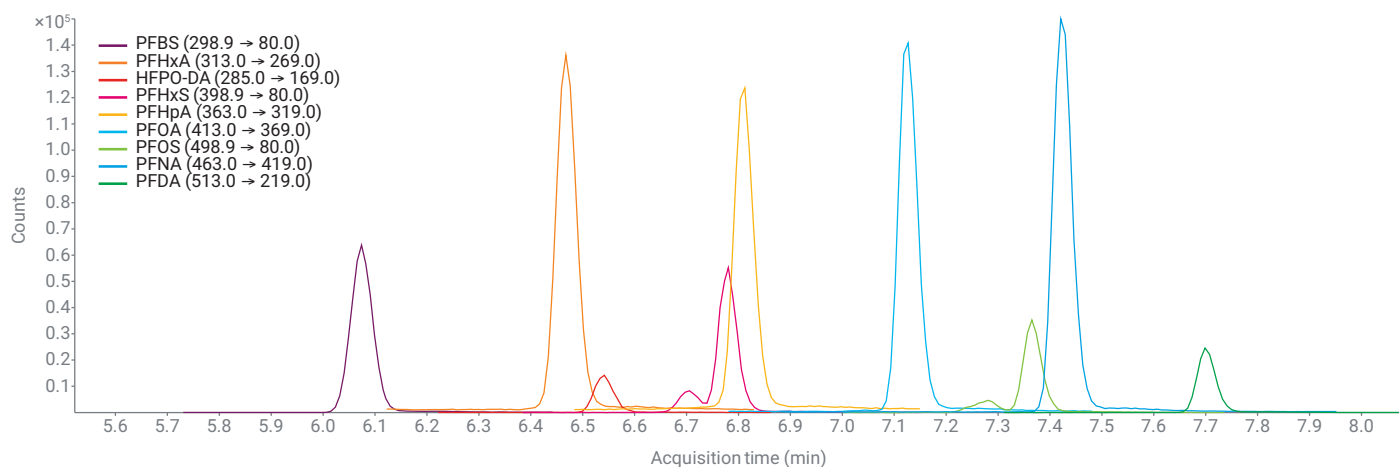


図 1. Agilent Altura Poroshell PFAS カラムに 200 μ L 注入して分析したすべての PFAA (25 ng/L) のクロマトグラム

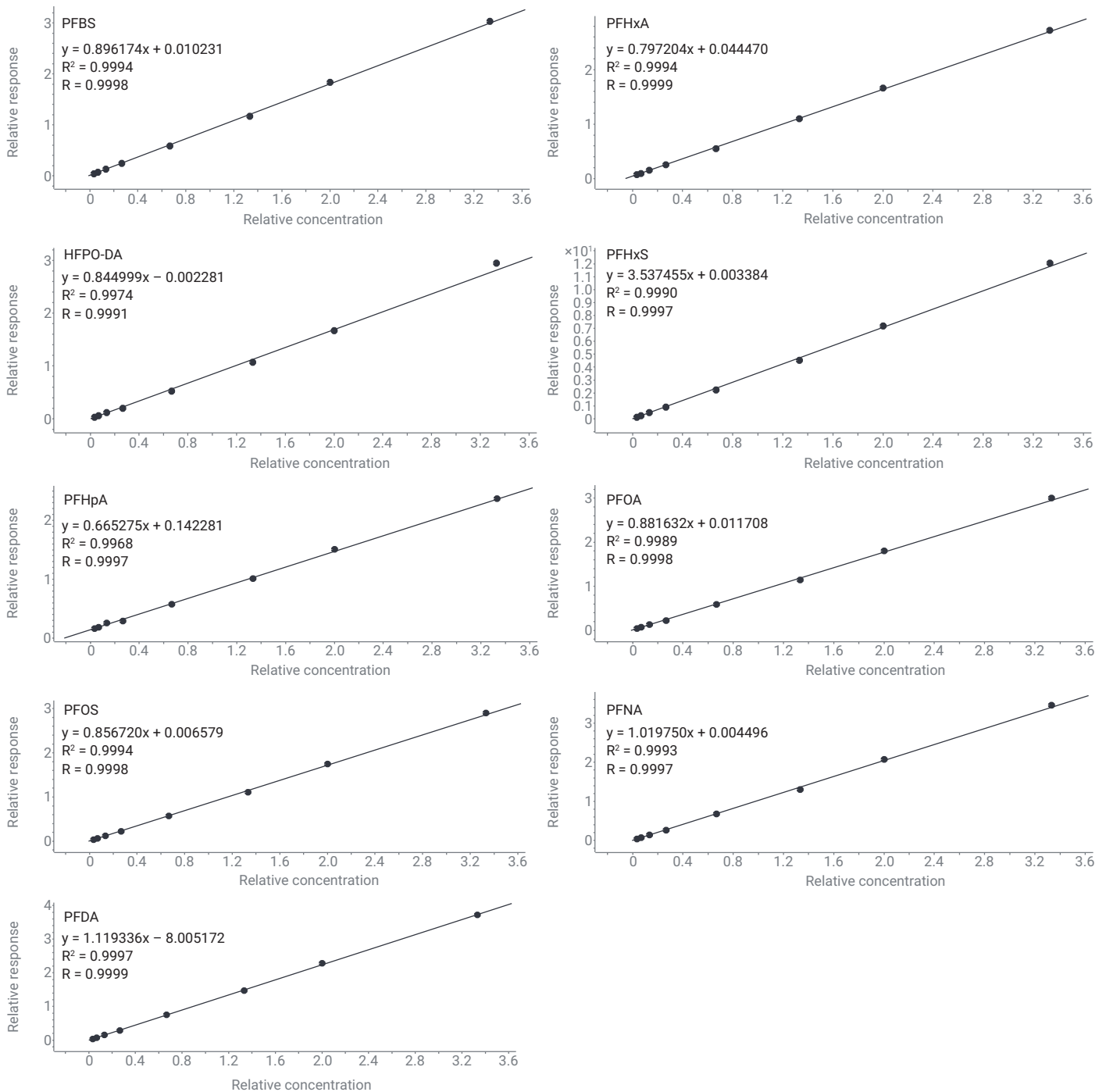


図 2. PFAS の検量線：Agilent 6495D LC/TQ で C4～C10 のすべての PFAA と C6 の PFECA (HFPO-DA) に対して優れた直線性が得られています。

カラム安定性評価

カラムの安定性を評価するために、PFAS をサブ ppt レベル（それぞれ 0.25 ng/L および 2 ng/L）でスパイクした繰り返し分析サンプルを分析しました。各濃度のサンプルを 7 回繰り返し注入して分析し、性能の一貫性をモニタリングしました。すべての PFAS について、0.25 ng/L のスパイクサンプルでは、精度が 82 ~ 108 %、%RSD が 11 % 未満でした。また、2 ng/L のスパイクサンプルでは、精度が 87 ~ 106 %、%RSD が 12 % 未満でした。さらに、RT の %RSD はどちらの濃度でも 0.1 未

満でした。この値は、カラム安定性に優れていることを示しています。選択した PFAS のクロマトグラムを図 3 に示します。以上の結果から、Altura Poroshell 120 PFAS カラムが、大量注入条件下で微量の PFAS に対して高い再現性と堅牢性を発揮することが確認されました。

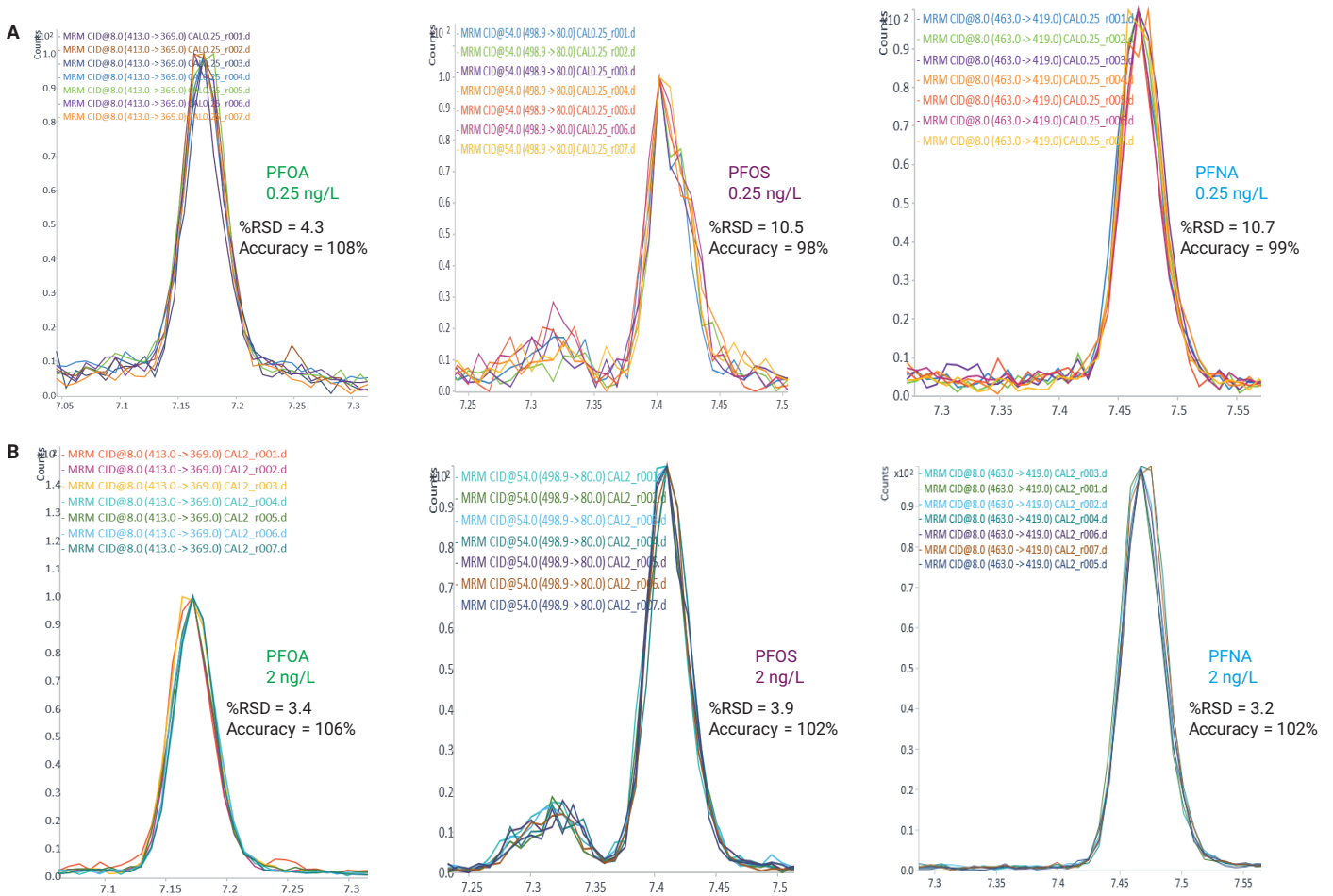


図 3. 選択した PFAA (A : 0.25 ng/L, B : 2 ng/L) に対する安定性。注：グラフ中の %RSD はアバンダンスにもとづいています。リテンションタイムにもとづく %RSD は、どちらの濃度でもほぼ 0.1 未満です。

メソッド性能

低スパイクレベル 0.25 ng/L で、メソッドブランクを 7 回繰り返し分析して真度と精度を評価しました。図 4A および 4B に示すように、このメソッドは優れた回収率 (82 ~ 108 %) と %RSD (11 % 未満) を示しました。

全体的に、これらの結果は、サブ ppt レベルでも、このメソッドによりすべての非標識標準に対して一貫した真度と精度で信頼性の高い定量が可能なことを示しています。

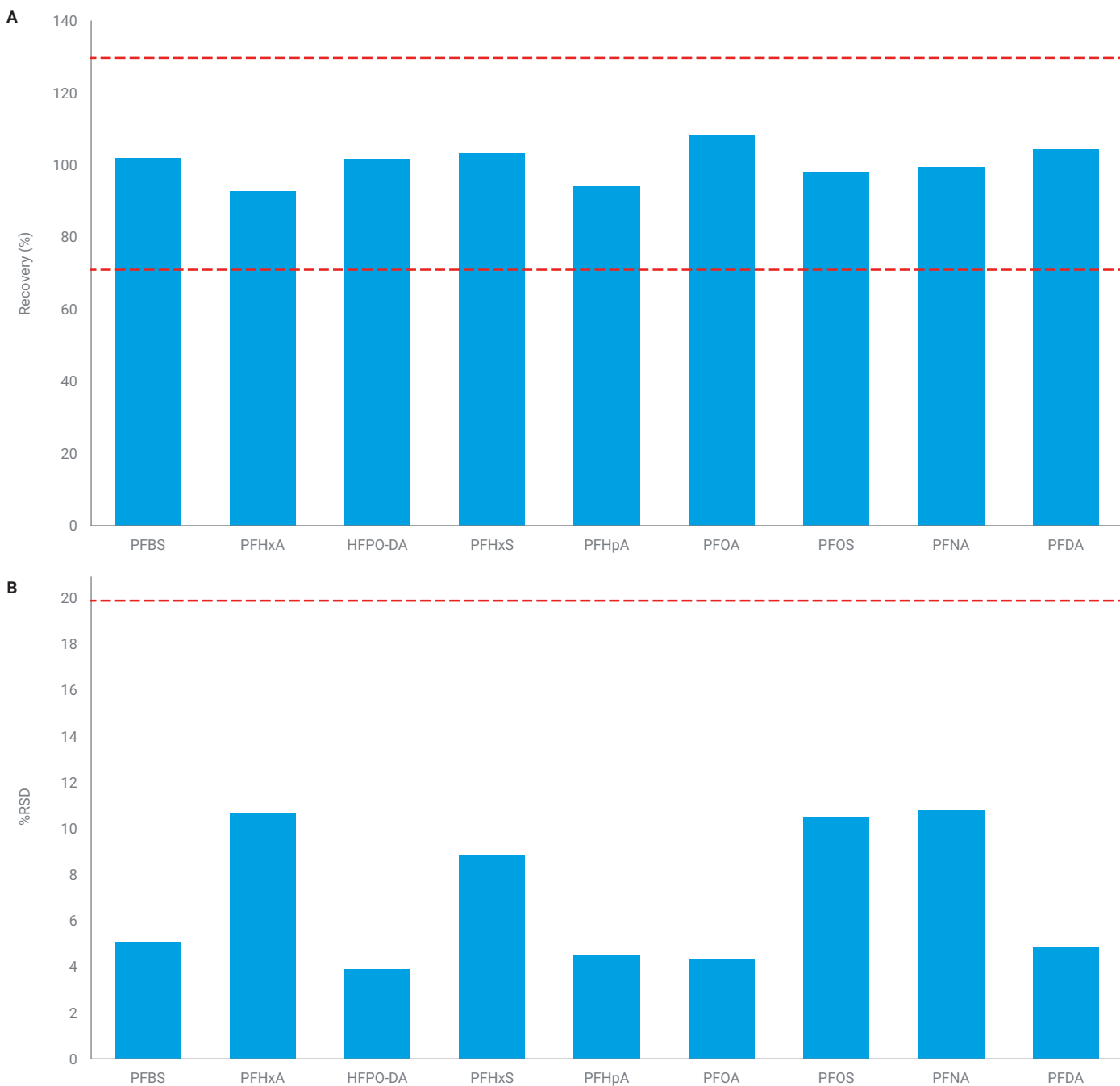


図 4. バイアルに 0.25 ng/L でスパイクした非標識標準の回収率 (A) と %RSD (B)。点線は、回収率 (70 ~ 130 %) と %RSD (20 % 以下) の規制限界値を示します。

メソッド検出下限 (MDL)

開発したメソッドの感度を評価するために、MDL を求めました。MDL は、メソッドブランクと識別可能な低濃度スパイクサンプルを 7 回繰り返し分析した結果にもとづいて計算しました⁴。スパイクサンプル (MilliQ 水に 0.5 ng/L でスパイク) とメソッドブランクには、同じサンプル処理プロセスを行いました。ブランクでの MDL が最小スパイク濃度より高い場合は、ブランクの MDL を採用しました。表 4 に示すように、MDL の範囲は 0.37 ~ 1.15 ng/L、回収率と %RSD は許容限度^{1, 2}内でした (70 ~ 130%)。MDL の計算には次式を使用しました。

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

各記号の意味は以下のとおりです。

SD = 繰り返し分析サンプルの標準偏差

t = 自由度 n-1 で信頼区間 99 % の場合の t 値

マトリックススパイクの定量性能

この実験には、ペンシルベニア州の住宅内に設置されたる過システムから採取した水サンプル、具体的にはプレフィルタ、ポストフィルタ、および逆浸透 (RO) の各処理水を使用しました。デラウェア州の水道水も水サンプルとして使用しました (表 5)。各水サンプルに低濃度 (水サンプルに 1 ng/L) および中濃度 (水サンプルに 10 ng/L) で PFAS をスパイクした後、サンプル処理プロセスを実施しました。それと並行して、同位体

表 4. 200 µL の注入にもとづく低濃度スパイクサンプルの MDL。*注:ブランクの MDL が最小スパイク濃度より高い場合は、ブランクの MDL を採用しています。

化合物	MDL (ng/L)	キャリブレーション範囲、ng/L (サンプル)	回収率 (%)	%RSD
PFBS	0.50	0.5 ~ 50	102	5.1
PFHxA	1.01	0.5 ~ 50	93	10.6
HFPO-DA	0.37	0.5 ~ 50	102	3.9
PFHxS	0.86	0.5 ~ 50	103	8.8
PFHpA*	0.58	0.5 ~ 50	94	4.5
PFOA	0.44	0.5 ~ 50	108	4.3
PFOS	1.13	0.5 ~ 50	98	10.5
PFNA	1.01	0.5 ~ 50	100	10.7
PFDA	0.48	0.5 ~ 50	105	4.9

標識された標準のみを添加したマトリックスブランクを分析し、各マトリックススパイクの平均値から減算しました (表 5)。このメソッドで分析したすべての化合物が期待した範囲内でした。この結果は、マトリックスの影響が最小限に抑えられ、各種類の水サンプルに対するメソッド性能が優れていることを意味しています。すべてのサンプルを 3 回繰り返し分析した結果 (n = 3)、%RSD は 7 % 未満でした。これは、今回試験したさまざまな飲料水に対するメソッドの再現性の高さを示しています (表 5)。

表 5. さまざまな水サンプルを 200 µL 注入した場合のメソッド性能。表中の「低スパイク」は 0.5 ng/L でのスパイクを示し、サンプル中濃度 1.0 ng/L に相当します。「高スパイク」は 5 ng/L でのスパイクを示し、サンプル中濃度 10 ng/L に相当します。

サンプル	スパイクレベル	性能指数	PFBS	PFHxA	HFPO-DA	PFHxS	PFHpA	PFOA	PFOS	PFNA	PFDA
水道水	水道水ブランク	濃度 (ng/L)	0.96	1.63	—	0.35	1.09	1.20	0.37	0.23	0.10
		回収率 (%)	96	81	95	84	79	94	85	76	81
	低スパイク	%RSD	1.6	1.0	0.6	2.3	0.3	4.2	6.5	3.3	3.8
		回収率 (%)	88	86	92	91	91	80	93	90	86
	高スパイク	%RSD	0.2	3.6	4.8	1.4	0.2	1.5	1.3	0.2	0.2
		濃度 (ng/L)	1.70	1.90	—	0.50	1.02	2.31	1.36	0.36	0.18
プレフィルタ	プレフィルタブランク	濃度 (ng/L)	1.70	1.90	—	0.50	1.02	2.31	1.36	0.36	0.18
		回収率 (%)	93	77	84	95	93	76	97	78	82
	低スパイク	%RSD	0.6	0.4	1.5	0.6	0.6	1.4	2.2	3.8	1.7
		回収率 (%)	95	98	85	85	92	82	93	89	95
	高スパイク	%RSD	0.4	0.1	2.2	0.1	1.0	0.5	1.0	0.2	0.8
		濃度 (ng/L)	0.04	0.53	0.36	—	0.21	0.08	0.07	0.04	0.04
ポストフィルタ	ポストフィルタブランク	濃度 (ng/L)	0.04	0.53	0.36	—	0.21	0.08	0.07	0.04	0.04
		回収率 (%)	83	87	96	83	81	75	86	75	83
	低スパイク	%RSD	5.7	0.2	1.1	1.9	1.4	1.6	1.5	1.4	2.1
		回収率 (%)	93	90	94	94	81	84	95	90	96
	高スパイク	%RSD	1.6	0.5	1.5	1.2	0.6	0.2	0.5	0.9	0.4
		濃度 (ng/L)	0.06	0.11	—	—	0.70	0.07	—	0.05	0.08
RO	RO ブランク	濃度 (ng/L)	0.06	0.11	—	—	0.70	0.07	—	0.05	0.08
		回収率 (%)	88	87	91	97	93	76	99	88	75
	低スパイク	%RSD	0.3	2.5	2.4	3.4	4.4	1.1	0.7	1.1	0.2
		回収率 (%)	92	89	97	97	79	89	94	92	94
	高スパイク	%RSD	0.5	2.0	0.8	1.5	3.1	0.6	1.4	1.8	0.3
		濃度 (ng/L)	0.06	0.11	—	—	0.70	0.07	—	0.05	0.08

結論

今回の研究では、Agilent 1290 Infinity II LC と 6495D トリプル四重極 LC/MS を組み合わせたシステムで Agilent Altura Poroshell PFAS カラムを使用して飲料水中の PFAS を測定する実用的な大容量希釈-注入ワークフローについて取り上げました。このメソッドでは、メタノールで希釈した 200 µL の水サンプルを直接注入できるため、SPE による濃縮が不要になり、サンプル前処理時間が大幅に短縮されます。また、良好な感度、精度、再現性が得られます。Altura PFAS カラムにより、低サブ ppt レベルの濃度でもピーク性能とリテンションの安定性が一貫して保たれました。このことは、微量 PFAS のモニタリングにおける長期的な信頼性を裏付けています。以上の結果から、このメソッドが、飲料水試験ラボにおける高感度の PFAS のルーチンモニタリングの支えとなる見込みがあることが明らかになりました。

消耗品

消耗品	部品番号
2 mL バイアル	5191-8121
セブタム付きスクリュウキャップ	5191-8151
延長シートキャピラリー (500 µL)	G7137-68307
RC フィルタ	5190-5110
InfinityLab PFAS 分析 HPLC 変換キット	5004-0006
533 ネイティブ化合物 PDS	PFS-533-NAS
533 同位体希釈 PDS	PFS-533-IDS

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。

DE-014409

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2025
Printed in Japan, May 26, 2026
5994-9186JAJP

参考文献

1. United States Environmental Protection Agency. Method 8327. SW-846 Test Method 8327: Per- and polyfluoroalkyl Substances (PFAS) by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). July 2021. <https://www.epa.gov/system/files/documents/2021-07/8327.pdf>
2. ASTM International. ASTM D8421-22: Standard Test Method for Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous Matrices by Co-solvation Followed by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Last updated June 2024. <https://www.astm.org/d8421-22.html>.
3. Fu, R.; Yao, W.; Wang, Z.; Huang, I. Simultaneous C1-C18 PFAS Analysis in Drinking Water by Large-Volume Direct Injection Using an Altura Poroshell 120 PFAS Column. Agilent Technologies application note, publication number 5994-8895EN, **2026**.
4. U.S. Environmental Protection Agency. (2016). Definition and procedure for the determination of the method detection limit (MDL), Revision 2 (EPA 821-R-16-006). https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-12/documents/mdl-procedure_rev2_12-13-2016.pdf.