

超短鎖 PFAS 分析におけるクロマトグラフィー性能の比較

Agilent Altura Poroshell 120 PFAS カラムとその他の混合モード LC カラムを用いた食品マトリックス抽出液中の超短鎖 PFAS の分析

著者

Limian Zhao and
Chenchen He
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、新しい Agilent Altura Poroshell 120 PFAS LC カラムと USC PFAS 分析用に設計された数種類の市販 LC カラムを使用した、食品マトリックス抽出液中の超短鎖 (USC) および短鎖 (SC) PFAS 成分のクロマトグラフィー性能を比較評価した結果を紹介します。4 種類の複雑な食品マトリックス (離乳食、プロテインパウダー、ペットフード、エビ) を抽出してマトリックスブランクとし、この抽出液に USC および SC PFAS 成分を含む標準混合液をポストスパイクしました。次に、スパイク済みの抽出液を Altura Poroshell 120 PFAS カラムと USC PFAS アプリケーション用として市販されているその他 3 種類の混合モード LC カラムで分析しました³。

その結果から、Altura Poroshell 120 PFAS カラムの PFAS 成分の保持能が、USC PFAS 分析用に市販されているその他の混合モード LC カラムよりもはるかに優れ、今回評価したすべての USC および SC 成分に対して 3 を超える保持係数を達成することが実証されました。この高い保持能により、ターゲット PFAS が食品マトリックス中の干渉物質からより明確に分離され、マトリックス効果が抑えられたことで、マトリックス中の USC および SC の両化合物に対する検出感度が向上しました。また、堅牢な保持メカニズムにより、早期に溶出する分析成分のピーク形状を損なうことなく、有機溶媒比率の高いサンプル抽出液を直接注入することができました。

はじめに

近年、食品中の PFAS 残留物の測定に対する関心がますます高まっています。2023 年 4 月に、欧州委員会は、複数の食品カテゴリにわたり 4 種類の PFAS 化合物 (PFOS、PFOA、PFNA、PFHxS) に関する規制を施行しました¹。2023 年 11 月には、AOAC が SMPR 2023.003 を公表し、11 カテゴリの食品に含まれる 30 種類の PFAS 化合物の分析に関する性能要件を定めました²。こういった状況から、食品中の PFAS 濃度をモニタリングし、施行されている規制に準拠して公衆衛生を守るために、正確で信頼性の高い分析メソッドが不可欠となっています。近年、水環境や食品生産における極性 USC および SC PFAS の移動性およびバイオアベイラビリティへの懸念から、高含水率の食品や加工食品に含まれるこれらの PFAS の測定に対する関心が高まっています。

USC PFAS は分子が小さく、C1 ~ C3 の炭素鎖を持つ高極性化合物で、トリフルオロ酢酸 (TFA、C2) やペルフルオロプロパン酸 (PFPrA、C3) がこれに該当します。また、SC PFAS は一般に C4 ~ C7 の炭素鎖を持つ種であり、ペルフルオロブタン酸 (PFBA、C4) やペルフルオロブタンスルホン酸 (PFBS、C4) がこれに該当します。これらの化合物は高極性で強水溶性であり、分子が小さいため、クロマトグラフィー性能からサンプル前処理まで、分析上の大きな課題を伴います。USC および SC PFAS 成分は、従来の逆相 LC カラムでは十分に保持されずに不良なピーク形状になります。また、極性の干渉物質の共溶出により深刻なマトリックス効果の影響を受け、最終的には検出感度や定量の真度および精度が損なわれます。その結果、特に複雑なマトリックスでは、これらの分析成分の定量分析が失敗に終わるケースも少なくありません。

新しい Agilent Altura Poroshell 120 PFAS LC カラムは、Altura のハードウェアに P120 混合モード C18 粒子が充填されたカラムです。強い保持能、対称のピーク形状、および高 pH への耐久性を備え、USC および SC 成分をより明確に分離できます。今回の研究では、食品マトリックス抽出液中の USC 成分に対する Altura Poroshell 120 PFAS カラムのクロマトグラフィー性能を評価し、USC PFAS 分析用として市販されているその他 3 種類の混合モード LC カラムと比較しました。評価および比較では、分析成分のクロマトグラフィー保持能、溶媒効果に対する耐性、マトリックス干渉物質からの分析成分の分離、およびマトリックス効果の緩和に注目しました。

実験方法

材料および試薬

非標識 USC および SC PFAS の各原液は Wellington Laboratories 社 (カナダ オンタリオ州、米国) から購入しました。メタノール (MeOH)、アセトニトリル (ACN)、イソプロピルアルコール (IPA) は VWR 社 (米国 ペンシルベニア州ラドナー) から入手しました。酢酸 (AAS) および酢酸アンモニウムは Millipore Sigma 社 (米国マサチューセッツ州バーリントン) から調達しました。

標準混合スパイク溶液は、8 種類の各原液を MeOH で希釈して 10 µg/mL に調製し、2 mL ポリプロピレン (PP) 製バイアルに入れて 4 °C で保管しました。この標準スパイク溶液は、使用前に必ず室温に戻し、ボルテックスで十分に攪拌する必要があります。

サンプル抽出溶媒には、1 % の酢酸を含む ACN を使用しました。LC/MS/MS 分析には、移動相 A (MPA) として 5 mM 酢酸アンモニウム (NH₄OAc) と 0.05 % 酢酸を含む水溶液、移動相 B (MPB) として 95:5 ACN:水を使用しました。ニードル洗浄溶媒には、1:1 IPA/ACN、90:10 MPA/MPB、および ACN を使用しました。

実験装置および器具

今回の研究には、Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)、Agilent 1290 Infinity III ハイブリッドマルチサンプル (G7137B)、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、Agilent Jet Stream iFunnel エレクトロスプレーイオン源を搭載した Agilent 6495D トリプル四重極 LC/MS システムに連結しました。データの取り込みと解析には、Agilent MassHunter Workstation ソフトウェアを使用しました。

1290 Infinity III LC システムは、Agilent InfinityLab PFAS 分析用 HPLC 変換キット (部品番号 5004-0006) で改造しました。ただし、変換キットに含まれる標準の PFC ディレイカラムの代わりに、Agilent Poroshell 120 PFAS ディレイカラム、4.6 × 30 mm (部品番号 025403-007) を使用しました。クロマトグラフィー分離には、Agilent Altura Poroshell 120 PFAS HPLC カラム、2.1 × 50 mm、2.7 µm (部品番号 227205-007) を使用しました。

サンプル前処理に使用したアジレントの消耗品は以下のとおりです。

- Bond Elut QuEChERS EN 抽出キット、EN 15662 メソッド、バッファ塩、セラミックホモジナイザ（部品番号 5982-5650CH）
- Captiva EMR PFAS Food I カートリッジ、6 mL、340 mg（部品番号 5610-2230）
- Captiva EMR PFAS Food II カートリッジ、6 mL、750 mg（部品番号 5610-2232）
- ポリプロピレン（PP）製スクリューキャップバイアルおよびキャップ、2 mL（部品番号 5191-8121 および 5191-8151）
- チューブおよびキャップ、50 mL、50 個（部品番号 5610-2049）
- チューブおよびキャップ、15 mL、100 個（部品番号 5610-2039）

今回の研究で使用した消耗品はすべて、PFAS 許容清浄度に適合していることが試験により確認されています。

LC/MS/MS 機器の条件

表 1 に、今回の研究で使用した LC メソッドの条件を示します。分析成分の保持挙動が 4 種類の LC カラムにわたって著しく異なるため、これらの挙動に対応するために 2 種類の LC プログラムを適用しました。グラジエント A は Altura Poroshell 120 PFAS カラムと市販 LC カラム 1 の評価に使用し、グラジエント B は市販 LC カラム 2 および 3 の評価に使用しました。

表 2 に、1290 Infinity II ハイブリッドマルチサンブラを使用した LC マルチサンブラ注入設定を示します。

質量分析計（MS）での取り込みは、ネガティブイオンモードで、フラグメント電圧を 166 V で一定に設定して行いました。表 3 に、取り込みメソッドの条件をまとめます。分析成分のリテンションタイムは LC カラムおよびグラジエントによって異なります。

質量分析計のエレクトロスプレーイオン源（ESI）は、乾燥ガスを 240 °C、18 L/min、シースガスを 350 °C、11 L/min、ネブライザガスを 15 psi、キャピラリ電圧を 2,500 V（NEG）、ノズル電圧を 0 V（NEG）に設定しました。

表 1. LC/MS/MS 分析の LC ポンプ条件

パラメータ	設定値			
移動相 A	5 mM NH ₄ OAc の 0.05 % 酢酸水溶液			
移動相 B	95:5 ACN/水			
グラジエント A (Altura カラムおよびカラム 1 に使用)	時間 (分)	A%	B%	流量 (mL/min)
	0.0	90	10	0.5
	0.5	90	10	0.5
	9.0	25	75	0.5
10.0	0	100	0.5	
グラジエント B (カラム 2 および 3 に使用)	時間 (分)	A%	B%	流量 (mL/min)
	0.0	98	2	0.5
	2.0	98	2	0.5
	9.0	25	75	0.5
10.0	0	100	0.5	
ストップタイム	12 分			
ポストタイム	3 分			
カラム温度	40 °C			
注入量	10 µL			

表 2. Agilent 1290 Infinity II ハイブリッドマルチサンブラの LC 注入プログラム

パラメータ	設定値		
Feed 注入	注入モード：Feed 注入量：10 µL フィード速度：適応可能、ポンプ流量の 10 % フラッシュアウトモード：自動		
注入路の クリーニング	内側洗浄モード：拡張		
	外側洗浄モード：拡張		
	サンプル吸引		
	ステップ	処理	期間
	1	外側洗浄	S1 = ACN 10 秒
	2	外側洗浄	S3 = 1:1 ACN/IPA 10 秒
	注入		
	ステップ	処理	注入量
	1	内側洗浄	S2 = 90:10 MPA/MPB 150 µL
	2	内側洗浄	S2 = 90:10 MPA/MPB 150 µL
3	シート洗浄	S1 = ACN 150 µL	
4	シート洗浄	S3 = 1:1 ACN/IPA 150 µL	
5	再コンディショニング	S2 = 90:10 MPA/MPB	

表 3. USC および SC ターゲットの取り込みメソッド

ターゲット	省略記号	プリカーサイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	コリジョンエネルギー (V)	コリジョンセル加速電圧 (V)	iFunnelモード
トリフルオロ酢酸	TFA	113	68.9	10	5	Fragile
トリフルオロメタンスルホン酸	TFMS	149	98.9 79.9	30 26	5	Fragile
ペルフルオロプロピオン酸	PFPrA	163	118.9	6	4	Fragile
ペンタフルオロエタンスルホン酸	PFETs	199	98.9 79.8	30 34	4 5	Fragile
ペルフルオロブタン酸	PFBA	213	169	7	2	標準
ペルフルオロプロパンスルホン酸	PFPrS	248.9	98.9 79.8	30 38	2	Fragile
ペルフルオロペンタン酸	PFPeA	263	219	7	2	標準
ペンタフルオロブタンスルホン酸	PFBS	293.9	99 80	36 43	2	標準

マトリックスサンプルの前処理法

今回の研究では、食品マトリックスとして2種類の離乳食、ホエイプロテインパウダー、ペットフード、およびエビの4種類を使用しました。サンプルは、QuEChERS抽出に続いてEMRミックスモードパススルークリーンアップを行う確立済みのプロトコルに従って抽出しました^{4, 5}。この前処理法は複数の食品マトリックス中のPFASのルーチン分析に有効なことは確認されていますが、USC PFAS分析については評価されていません。今回の研究では、この前処理法のみを使用して、クロマトグラフィー性能に対するマトリックスバックグラウンド効果の評価に用いるマトリックスブランク抽出液を生成しました。EMRの溶出液はそれ以上の処理を行わず、そのままポストスパイクに使用しました。

マトリックスの複雑さがそれぞれ異なることから、抽出液の質量はサンプルの種類によって異なり、離乳食のピュールは10g、均質化したエビは5g、プロテインパウダーおよびペットフード粉末は2gでした。

EMRでクリーンアップした抽出液の収集後、各サンプルの一部に、USC/SC標準スパイク溶液を1ng/mLおよび0.1ng/mLでスパイクしました。クロマトグラフィー性能の評価には、マトリックスブランク(MB)と添加QCサンプルの両方を使用しました。Altura Poroshell 120 PFASと市販カラム1については、MBおよびQCサンプルをLC/MS/MSシステムに直接注入して分析しました。市販カラム2および3については、すべてのマトリックスサンプルをさらに水により1:1の比率で希釈してからLC/MS/MS分析に使用しました。これは、4種類のカラムにおける溶媒効果の緩和の違いに適応するためです。

結果と考察

LCグラジエントと注入用のサンプル溶媒

固形の食品マトリックスに一般的に適用されるサンプル抽出手順では、通常、最終的に得られる抽出液に有機溶媒が高比率で含まれています。アセトニトリル(ACN)やメタノール(MeOH)など水に混和する有機溶媒を使用しても、有機溶媒含有率の高い抽出液を逆相LCカラムに注入すると、多くの場合、早期に溶出する分析成分のピークが歪み、一貫性のないピーク積分となり、定量の信頼性が損なわれます。そのため、溶媒効果の緩和手段が必要となりますが、乾燥と再溶解によるオフラインでの溶媒交換がアプローチとして広く用いられています。ただし、分析成分が揮発性の場合、その成分の損失を防ぐために蒸発ステップを避ける必要があります。いくつかのUSC化合物、特にTFAは高揮発性のため、USC PFAS分析では特にこの点に気を付けなければなりません。

こういった状況では、水による希釈が唯一実行可能な溶媒効果の緩和手段となり、この作業はオフラインでもオンラインでも実行できます。ただし、オフライン希釈は検出感度と定量感度の低下につながり、これが分析上の大きなトレードオフになります。

今回の研究では、Altura Poroshell 120 PFASカラムを評価し、USC PFAS分析用として市販されている3種類の混合モードLCカラムと比較しました。4種類すべてのカラムは同一寸法(2.1 × 50 mm)で、試験には同じ組成の移動相を使用しました。最初の実験設計では、同じサンプルを使用し、すべてのカラムに単一のLCグラジエントプログラム(グラジエントA)を適用しました。ところが、この条件下では、市販LCカラム2および3が早期に溶出する分析成分に対して許容できないクロマトグラフィー性能を示しました。そのため、これらの2種類のカラムに適用するLCグラジエントを、最初の水系組成物の比率を高くし、保持時間を長くするように修正して(グラジエントB)、極性成分がより強く保持されるように改善しました。

今回の研究で評価した食品サンプル抽出液には90~100%のACNが含まれており、直接注入によって最小限の検出下限が達成されることを想定していました。また、混合モードLCの保持メカニズムにより、極性のUSC成分に対して高い保持能が得られ、溶媒効果がカラムで直接かつより効果的に緩和されると予測していました。ところが、市販LCカラム2および3に改良後のグラジエントBを適用したにも関わらず、依然としてクロマトグラフィー性能は、信頼性の高い一貫した比較に使えるレベルに達しませんでした。そのため、これらの2種類にカラムに合わせて標準原液をACN/水(1:1, v/v)で調製し、食品サンプル抽出液は注入前に水により1:1の比率で希釈しました。

4種類のカラムの比較研究に適用されたメソッド上の違いは、許容可能なクロマトグラフィー性能を確保し、意味のある比較に適した信頼性の高いデータを生成するために必要な措置でした。比較に必要なこれらの調整は、Altura Poroshell 120 PFASカラムと市販LCカラム1が、溶媒効果を緩和する能力がより高いことをさらに示しています。水系組成物の比率が低い移動相から始まるグラジエントを使用でき、クロマトグラム性能を損なうことなく有機溶媒比率の高い溶媒でサンプルを直接注入できるのは、この優れた耐性によるものです。表4に、各LCカラムの評価に使用したLCグラジエントプログラムとサンプル溶媒組成をまとめます。

表 4. 各 LC カラムに使用した LC グラジエントと STD/サンプル溶媒

LC カラム	使用グラジエント	サンプル中の有機溶媒 %	食品サンプル抽出液の希釈倍率	注入量
Altura PFAS カラム	グラジエント A	90 ~ 100 % ACN	希釈なし	10 μ L
カラム 1	グラジエント A	90 ~ 100 % ACN	希釈なし	10 μ L
カラム 2	グラジエント B	50 % ACN	2 倍	10 μ L
カラム 3	グラジエント B	50 % ACN	2 倍	10 μ L

Altura Poroshell 120 PFAS カラムと市販 LC カラム 1 はどちらも、すべての USC および SC PFAS 成分に対し、許容可能なピーク形状と十分な保持能を示しました。これに対し、市販 LC カラム 2 および 3 は、はるかに穏やかな LC グラジエントと弱いサンプル溶媒組成を適用しても、許容できるクロマトグラフィー性能は得られませんでした。これらの 2 種類のカラムは溶媒効果の緩和能力が限定的だったことが、十分なクロマトグラフィー性能が得られず、必要な分析基準が満たされない結果につながりました。

溶媒効果の緩和

LC グラジエントおよびサンプル溶媒組成に必要な調整を行った後、4 種類すべての LC カラムの初期評価を、直接比較できるように標準注入を使用して行いました。図 1 に、標準注入モードで各 LC カラムに 10 ppb の標準原液を注入（注入量 10 μ L）して得られたクロマトグラムを示します。

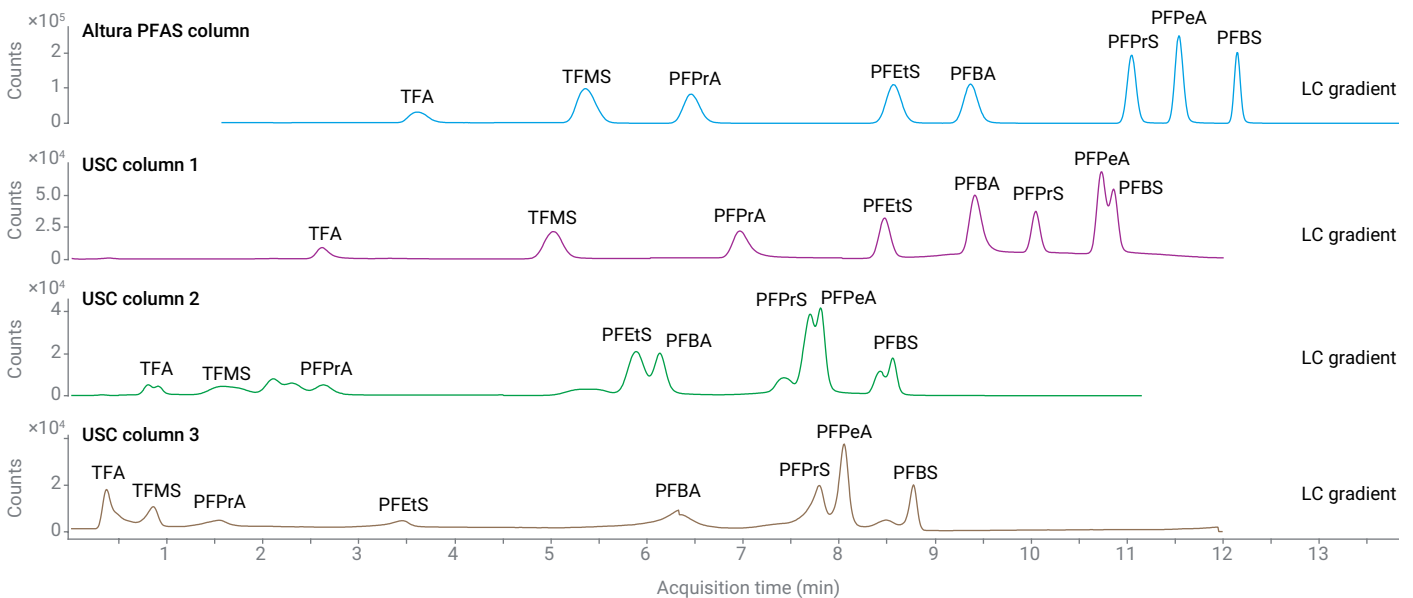


図 1. 標準マルチサンプルで標準注入を使用して 4 種類の混合モード LC カラムで分析した標準原液（1 ng/mL）のクロマトグラム

これらの制限を解決し、LC カラム 2 および 3 の溶媒効果の緩和を改善するために、オンライン注入プログラムを実装しました。以前報告されたアプローチ¹をもとに、1290 Infinity III ハイブリッドマルチサンブラを使用して Feed 注入プログラムを適用しました。この非常に有効なオンライン希釈手段により、LC カラム 2 および 3 でのクロマトグラフィー挙動が大幅に改善し、早期に溶出する分析成分に対して許容できるピーク完全性になりました。図 2 は、1290 Infinity III ハイブリッドマルチサンブラで Feed 注入プログラムを組み入れて得られたクロマトグラムです。

より穏やかな LC グラジエントの適用、より弱いサンプル溶媒組成の使用、および Feed 注入プログラムの実行を組み合わせたアプローチにより、溶媒効果が最も効果的に緩和され、早期に溶出する化合物のピーク形状の完全性は改善したものの、市販 LC カラム 2 および 3 では、依然としてこれらの分析成分のピーク形状が広がり、顕著なフロンティングまたはテーリングが認められました。これに対し、Altura Poroshell 120 PFAS カラムと市販 LC カラム 1 は、優れた溶媒効果の緩和能力を示し、クロマトグラフィー性能を損なうことなく、LC グラジエント条件、注入手段、およびサンプル溶媒組成に対する高い耐性と柔軟性をもたらしました。

総合的なクロマトグラフィー評価

Altura Poroshell 120 PFAS カラムと市販 LC カラム 1 は、強い初期 LC グラジエント、サンプル溶媒中の高い有機溶媒含有率、オンライン希釈を用いない標準注入の使用などより厳しい条件下でも、堅牢なクロマトグラフィー性能を維持しました。これらの特長から、どちらのカラムでもメソッド開発における柔軟性が高まり、対応可能なサンプル抽出溶媒組成の幅が広がり、LC システム要件に対する制約が少なくなります。

Altura Poroshell 120 PFAS カラムは、試験対象のカラムの中で分析成分の保持能が最も高く、最小の保持係数は最初に溶出する分析成分 (TFA) に対する 9.4 でした。ピーク幅は若干広がったものの、すべての分析成分が優れたピーク対称性を示しました。また、すべての分析成分に対してベースライン分離を達成し、最も接近して溶出するピークペアの最小分離度は 2 を超えました。分析成分のピークがクロマトグラムの保持ウィンドウにわたって均等に分散していたことも、堅牢な分離性能の要因となっています。

市販 LC カラム 1 は、分析成分の保持時間はわずかに短いですが、全体的には Altura Poroshell 120 PFAS カラムと同等の性能が得られました。ただし、いくつかの分析成分、具体的には TFA、PFPrA、および PFBA については、ピークテーリングがより顕著に現れました。また、PFPeA と PFBS は十分に分離されず、その分離度 (Re) は 0.48 でした。

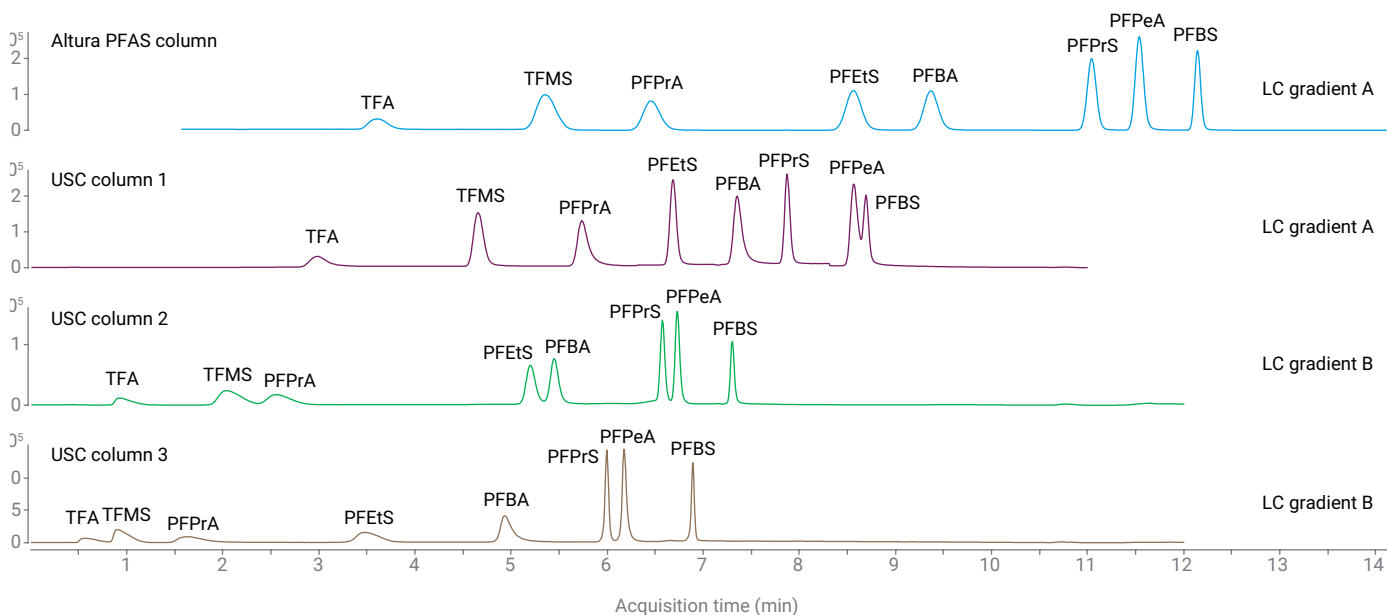


図 2. Agilent 1290 Infinity II ハイブリッドマルチサンブラでアジレントの Feed 注入プログラムを使用して 4 種類の混合モード LC カラムで分析した標準原液 (1 ng/mL) のクロマトグラム

市販 LC カラム 2 および 3 は、複数の溶媒効果緩和手段を適用しても、早期に溶出する分析成分に対する保持能の有効性は劣っていました。とは言え、溶出の遅い PFPrS、PFPeA、PFBS などの分析成分についてはよりシャープなピーク形状を生成し、分析後半でのクロマトグラフィー性能の向上に寄与しています。

市販 LC カラム 2 の保持能は、TFMS および PFPrA についてはかろうじて許容できるレベルでした。また、TFA についてはわずかな保持能にとどまりました。一方、2 つの分析成分ペア (PFEtS/PFBA および PFPrS/PFPeA) は接近して溶出しましたが、シャープなピーク形状により許容可能な分離状態を保ち、分離度はそれぞれ 0.97 と 1.08 でした。市販 LC カラム 3 は、リテンションタイム 0.6 ~ 1.5 分で溶出する TFA、TFMS、および PFPrA に対して最も弱い保持能を示しました。その他の分析成分については、ベースライン分離を達成しましたが、早期に溶出する化合物では、主に溶媒効果による顕著なピークフロンティングまたはテーリングが観察されました。

表 5 に、評価した 4 種類の混合モード LC カラムにおける全分析成分のリテンションタイム、保持係数、ピーク幅をまとめます。

マトリックス効果 (ME)

マトリックス適合スパイクサンプル中の分析成分のレスポンスと、同等の濃度の標準原液で得られたレスポンスを比較して、マトリックス効果の評価しました。5 種類の食品マトリックス抽出液で、8 種類の USC および SC PFAS 成分に対するマトリックス効果を計算しました。全体的な傾向を図 3 にまとめます。

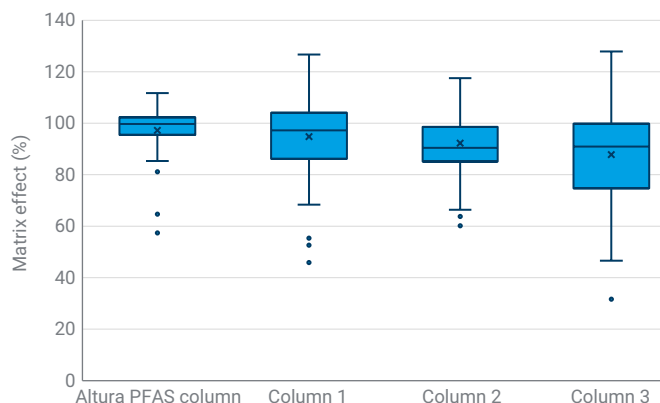


図 3. 4 種類の異なる混合モード LC カラムを使用した場合の USC/SC PFAS 成分に対するマトリックス効果

その結果、Altura Poroshell 120 PFAS カラムでは、TFA 以外の全分析成分に対して 90 ~ 110 % のマトリックス効果が生じたことがわかりました。この値は、マトリックスによる分析成分のレスポンスの抑制または増大が最小限に抑えられたことを示します。このマトリックス抑制の効果的な低減は、分析成分に対する Altura Poroshell 120 PFAS カラムの強い保持能によるものです。この優れた保持能により、分析成分を極性のマトリックス干渉物質からより効率的にクロマトグラフィー分離し、共溶出種に起因するイオン抑制を最小化できます。

これに対し、その他 3 種類の混合モード LC カラムは、評価対象の食品マトリックスにわたり、USC および SC PFAS 成分に対して、Altura Poroshell 120 PFAS カラムより低く、ばらつきのあるマトリックス効果値を示しました。これらの結果は、より強く、より不均一なマトリックス抑制を表し、分析成分と共溶出するマトリックス干渉物質とのクロマトグラフィー分離効力に劣ることが原因と考えられます。

表 5. 4 種類の混合モード LC カラムにおける全分析成分のリテンションタイム、保持係数 (k)、ピーク幅のまとめ

カラム	パラメータ	分析成分							
		TFA	TFMS	PFPrA	PFEtS	PFBA	PFPrS	PFPeA	PFBS
Altura PFAS カラム	RT(分)	3.603	5.364	6.461	8.582	9.373	11.055	11.547	12.149
	k'	9.4	14.49	17.65	23.78	26.06	30.92	32.34	34.08
	幅(分)	0.634	1.021	0.918	0.841	0.774	0.514	0.466	0.360
カラム 1	RT(分)	2.527	4.856	6.833	8.336	9.294	9.943	10.643	10.764
	k'	6.3	13.02	18.73	23.07	25.83	27.71	29.73	30.08
	幅(分)	0.707	1.019	0.914	0.672	0.686	0.511	0.549	0.449
カラム 2	RT(分)	0.930	2.044	2.557	5.206	5.448	6.584	6.733	7.305
	k'	1.69	4.9	6.38	14.03	14.73	18.01	18.44	20.09
	幅(分)	0.579	1.237	1.083	0.527	0.468	0.282	0.268	0.246
カラム 3	RT(分)	0.623	0.903	1.624	3.484	4.936	5.987	6.170	6.873
	k'	0.80	1.61	3.69	9.06	13.25	16.29	16.81	18.84
	幅(分)	0.936	0.977	1.257	1.081	0.662	0.202	0.293	0.243

最初に溶出する分析成分である TFA は、極性のマトリックス干渉物質と共溶出することから、最も深刻なイオン抑制を受けます。サンプル前処理時に極性化合物を部分的に除去した後も、最終的な抽出液には糖や塩など極性の共溶出物が相当量残っている可能性があります。一般に、これらの極性の干渉物質は LC カラムにわずかに保持された後に非常に早く溶出するため、マトリックスによるイオン抑制を最小化するには、TFA とこれらの共溶出種を効果的にクロマトグラフィー分離することがきわめて重要になります。つまり、TFA に対して強い保持能を持つ LC カラムほど、マトリックス効果の改善において有利に働きます。

図 4 に、この効果を、さまざまな LC カラムで分析した離乳食抽出液中の TFA に対するレスポンスの比較で示します。Altura Poroshell 120 PFAS カラムを適用した場合、TFA のレスポンスに著しい改善が観察されました。これは、このカラムの TFA に対する優れた保持能によるものです ($k' = 9.4$)。市販 LC カラム 1 は TFA に対して次に高い保持能を示し、2 番目に強いレスポンスを生成しました。これに対し、市販 LC カラム 2 および 3 は TFA に対して不十分な保持能を示し、レスポンスが最小になるか (カラム 3)、同重体干渉物質と共溶出しています (カラム 2)。

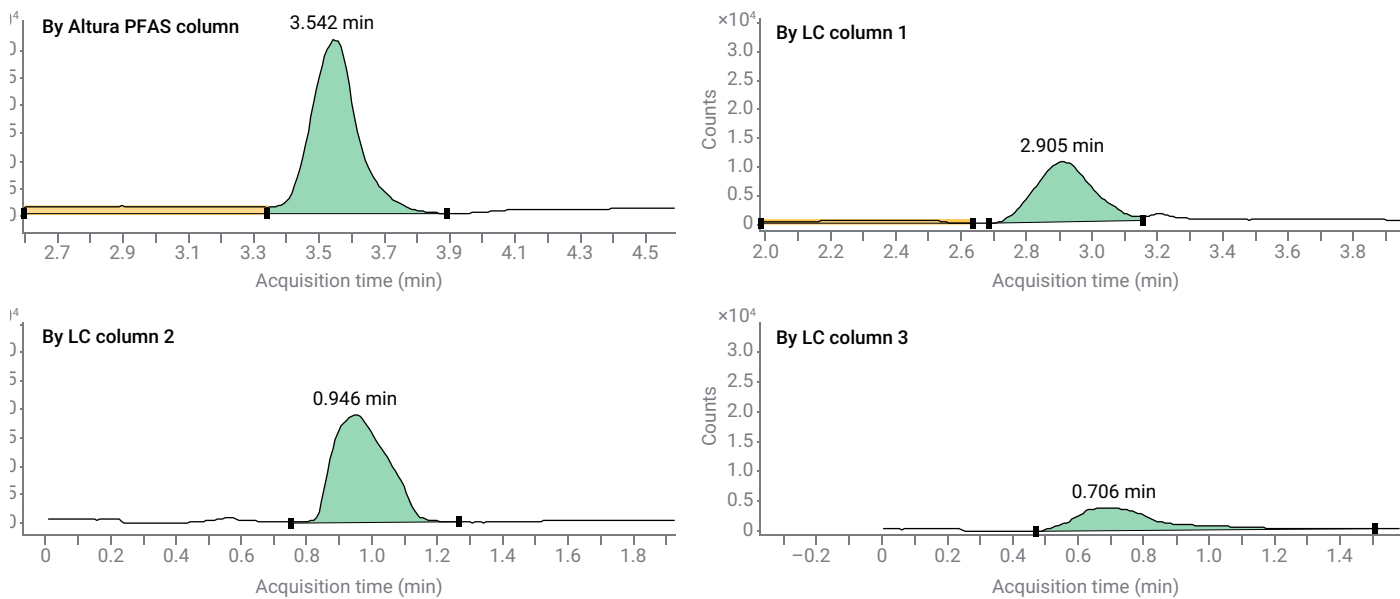


図 4. さまざまな LC カラムで分析した離乳食抽出液中の TFA のレスポンス

分析成分とマトリックス干渉物質の分離

分析成分をより強く保持し、極性のマトリックス干渉物質からより効果的に分離できれば、マトリックス効果が低減するだけでなく、同重体マトリックス干渉物質のピークとの分離度が高まります。わかりやすい例として、植物由来食品マトリックス中の PFBA の分析があります。一般に、これらのマトリックスには、PFBA の取り込みウィンドウ内で溶出する強い同重体干渉物質が含まれます。従来の逆相 LC カラムでは、この同重体干渉物質は PFBA と共溶出する場合がほとんどです。図 5 に、従来の逆相 C18 カラムと Altura Poroshell 120 PFAS カラムの性能を比較します。この評価には、PFBA をポストスパイクした離乳食抽出液とポストスパイクなしの抽出液を使用しています。PFBA の MRM トランジションは 1 つのみで、二次確認用の確認イオンがないため、完全に共溶出すると、偽陽性の PFBA の検出リスクが高まり、結果的にメソッド LOQ が高くなります (図 5、左)。これに対し、Altura Poroshell 120 PFA カラムは、この干渉物質のピークを PFBA から完全に分離する十分な保持能と選択性を備えているため、正確な同定と定量が可能です (図 5、右)。

また、AOAC の SMPR ガイダンスでは、PFBA および PFPeA に適した確認イオンがないことから、これらの分析成分の二次確認を義務付けています²。この確認を高い信頼性で行うために、一般には高分解能 LC/MS が用いられています。高分解能 LC/MS 機器は効果的である一方、その高いコストが多くラボにとって大きな障害となる可能性があります。Altura Poroshell 120 PFAS カラムは、PFBA および PFPeA のオーソゴナルなクロマトグラフィー分離が可能のため、高分解能 LC/MS に代わって食品マトリックス中のこれらの分析成分を確認同定できる、有望でよりコスト効率の高い選択肢となります。このクロマトグラフィー確認アプローチについては、今後の研究でさらに調査する予定です。

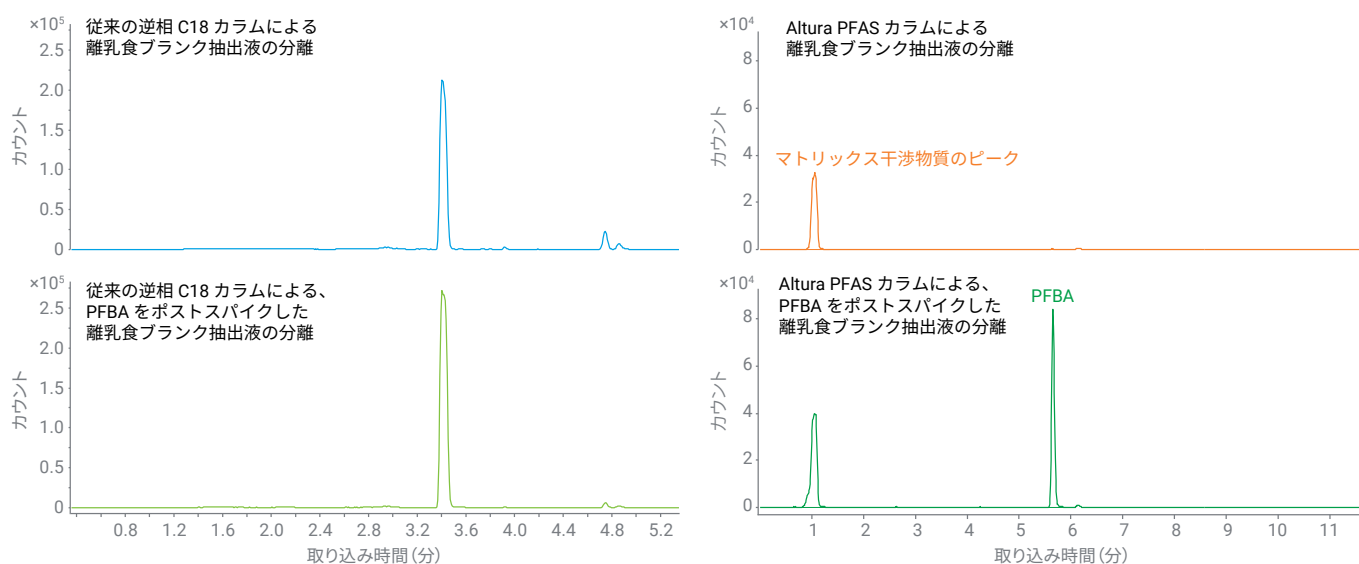


図 5. 従来の逆相 C18 (RP-C18) カラムと Agilent Altura Poroshell 120 PFAS カラムによる離乳食抽出液中の同重体干渉物質からの PFBA の分離性能の比較

結論

新しい混合モードの Agilent Altura Poroshell 120 PFAS カラムは、食品マトリックス抽出液中の超短鎖（USC）および短鎖（SC）PFAS 成分に対し、USC PFAS 分析用として市販されているその他の混合モード LC カラムより大幅に強い保持能と卓越したクロマトグラフィー分離を示しました。溶媒効果の緩和にも優れているため、有機溶媒比率の高い食品抽出液を直接注入でき、LC グラジエントの設計やサンプル注入条件の柔軟性が高まります。これらの機能により、より適応性のあるメソッド最適化を通してメソッドの検出感度と選択性を維持または向上しながら、サンプル前処理ワークフローを簡略化できます。

また、Altura Poroshell 120 PFAS カラムの高度なクロマトグラフィー性能により、マトリックスによるイオン抑制を効果的に低減し、マトリックス由来の同重体干渉物質をターゲット成分からより明確に分離することが可能です。以上の利点が、複雑な食品マトリックス中の USC および SC PFAS 成分のより正確で信頼性の高い同定と定量に貢献します。

参考文献

1. European Commission. Consolidated Text: Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006. EUR-Lex 2023.
2. AOAC. Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Produce, Beverages, Dairy Products, Eggs, Seafood, Meat Products, and Feed, AOAC SMPR 2023.003 2023.
3. Battisti, I.; Trentin, A. R.; Franzolin, E.; Nicoletto, C.; Masi, A.; Renella, G. Uptake and Distribution of Perfluoroalkyl Substances by Grafted Tomato Plants Cultivated in a Contaminated Site in Northern Italy. *Sci. Total Environ.* **2024**, 915, 170032. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170032>.
4. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. 離乳食中の 30 種類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 5994-7367JAJP, 2025.
5. Zhao, L.; Parry, E. 魚油、粉末コーヒー、プロテインパウダーの PFAS 30 種の測定. Agilent Technologies application note, publication number 5994-8610JAJP, **2025**.
6. Zhao, L. Determination of 43 PFAS in Beer and Wine. Agilent Technologies application note, publication number 5994-8813EN, **2025**.

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-014137

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2026
Printed in Japan, May 26, 2026
5994-9182JAJP