

水および埋立地地下水中の 超短鎖 PFAS の信頼性の高い分析

Agilent Altura Poroshell PFAS カラムと LC/MS/MS を
用いた分析

著者

Emily Parry and Ivan Huang
Agilent Technologies, Inc.

概要

Agilent Altura Poroshell PFAS カラムは、Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFAS ディレイカラムおよび Agilent 6495D トリプル四重極 LC/MS と組み合わせて使用することにより、複雑な環境マトリックス中の超短鎖 PFAS を分析するための強力なソリューションを提供します。このカラムは、高濃度の塩を含んだラボ合成水（検証目的でラボで調製した試料水）と実際の地下水の両方のサンプルにおいて、安定したリテンションタイム、優れた分析間再現性、信頼性の高い性能を実現します。このワークフローは、最も分析困難である保持時間が非常に短い PFAS に対し、システム由来の妨害成分の影響を抑えつつ、堅牢な検出を可能としています。環境試料の分析を行うラボに対して、超短鎖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）分析用の信頼性が高く、効率的なアプローチを提供します。

はじめに

環境水において超短鎖 PFAS が検出される頻度が増加しているため¹、分析困難なこれらの化合物を分離して定量することができる、高感度で信頼性の高い分析メソッドに対する必要性が高まっています。TFA や DFA などの超短鎖 PFAS は、一般的な C18 カラムではほとんど保持されないため、分析するには、専用の分析およびディレイカラム、最適化された移動相、厳格な汚染管理が必要になります。

このアプリケーションノートでは、ラボで調製したマトリックスおよび実際の地下水サンプル中の超短鎖 PFAS の分析において、Altura Poroshell PFAS カラム (Altura PFAS カラム) を、Agilent 1290 Infinity III LC システムおよび 6495D LC/TQ と組み合わせた際の性能を評価します。本研究では、ラボ合成水 (検証目的でラボで調製した試料水)、および埋立地地下水からの現場サンプルの検出下限、イオン強度条件下でのリテンションタイムの安定性、およびマトリックス添加回収率と精度の結果を示します。また、地下水サンプルについては、外部協力者も EPA 1633A² に従って分析し、PFBA の結果を比較しました。ラボ合成水を用いた実験は、高塩条件下でこのメソッドを明確に検証するように設計しました。7 か所の埋立地からの地下水サンプルにより、実際の干渉物質やマトリックスの挙動に関する知見が得られました。

実験方法

溶液および標準

表 1 に、本研究で使用した化合物とそれぞれのサプライヤをまとめています。酢酸および酢酸アンモニウムは Sigma-Aldrich から入手し、LC/MS グレードのアセトニトリル、メタノール、その他すべての化学薬品は VWR から調達しました。移動相の調製には Milli-Q 水を使用し、標準溶液、添加物、ブランクの調製には逆浸透 (RO) 水を使用しました。陰イオン濃度が高いサンプルにおける性能を検証するた

めに、EPA 557³ で提案されている配合に基づいて、ラボ合成 (LS) 水を調製しました。LS は、次の濃度になるようにナトリウム塩を用いて調製しました。硝酸塩 20 mg/L、重炭酸塩 150 mg/L、塩化物 250 mg/L、硫酸塩 250 mg/L。

サンプル

サンプルは、埋立地の定期的なモニタリング活動の一環として採取された地下水で構成されていました (図 1)。同一サンプルについて、EPA 1633A² に従った抽出結果は、外部協力者から提供されました。

表 1. 今回の研究で使用した化合物

化合物名	省略記号	化合物の分子式	CAS 番号	サプライヤ
¹³ C ₂ -TFA	13C2-TFA	[¹³ C] ₂ HF ₃ O ₂	-	Cambridge Isotopes
¹³ C ₃ -PFPrA	13C3-PFPrA	[¹³ C] ₃ HF ₃ O ₂	-	Wellington Labs
ペンタフルオロエタンスルホン酸	PFEtS	C ₂ F ₅ SO ₃ H	354-88-1	Wellington Labs
トリフルオロメタンスルホン酸	PFMeS	CF ₃ SO ₃ H	1493-13-6	Wellington Labs
ペルフルオロ-2-メトキシ酢酸	PFOMAA	C ₃ F ₇ O ₃ H	674-13-5	Cambridge Isotopes
ペンタフルオロプロピオン酸	PFPrA	C ₃ F ₅ O ₂ H	422-64-0	Cambridge Isotopes
ペルフルオロプロパンスルホン酸	PFPrS	C ₃ F ₇ SO ₃ H	423-41-6	Wellington Labs
トリフルオロ酢酸	TFA	C ₂ F ₃ O ₂ H	76-05-1	Cambridge Isotopes
ジフルオロ酢酸	DFA	C ₂ H ₂ F ₂ O ₂	381-73-7	Sigma Aldrich
ヘプタフルオロ酪酸	PFBA	C ₄ HF ₇ O ₂	375-22-4	Wellington Labs
ビス(トリフルオロメタン)スルホンイミドリチウム塩/トリフルオロメタンスルホン (TFSI)	HQ115/TFSI	C ₂ F ₆ LiNO ₄ S ₂	90076-65-6	Accustandard

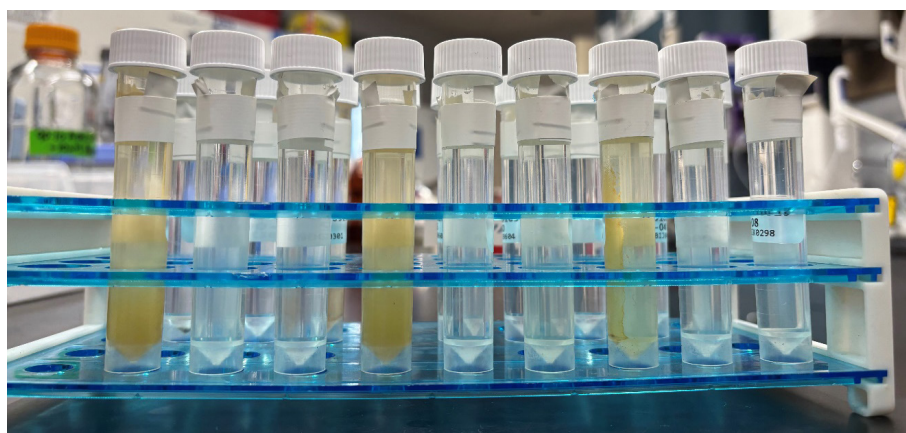


図 1. 埋立地のモニタリング井戸からの地下水サンプル

サンプル調製

サンプルをボルテックスして、1.2 mL を Eppendorf チューブに分注し、135,000 rpm で 10 分間遠心分離しました。上清 (1 mL) を LC バイアルに移し、2 種類の標識された類似体の混合物を 0.1 ng/mL の濃度で添加しました。

LC/TQ 条件

分析には、Agilent 1290 Infinity III ハイスピードポンプ (G7120A)、Agilent 1290 Infinity III マルチサンプラ (G7167B)、および Agilent 1290 Infinity III マルチカラムサーモスタット (G7116A) で構成された、1290 Infinity III LC システムを使用しました。LC システムは、Agilent InfinityLab PFC フリー HPLC 変換キット (部品番号 50040006) を用いて変更し、Agilent InfinityLab PFC デレイカラム (部品番号 5062-8100) を Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFAS デレイカラム (部品番号 027403-007) に交換しました。クロマトグラフィー分離は、Altura PFAS カラムを用いて行いました。分離の詳細は表 2 のとおりです。

MS/MS 取り込みおよびトランジション

この LC システムを、Agilent Jet Stream イオン源を搭載した 6495D LC/TQ に連結しました。6495D のイオン源条件を表 3 に示します。これらは、TFA のベースラインを最小限に抑えるように最適化したものです。化合物のトランジションを表 4 に示します。これらは、MassHunter Optimizer を使用して 6495D 向けに最適化したものです。データの取り込みおよび解析は、Agilent MassHunter Workstation ソフトウェアを用いて行いました。

表 2. クロマトグラフィー条件

LC 条件																	
カラム	Agilent Altura Poroshell PFAS、2.1 × 100 mm、2.7 μm (部品番号 227210-007)																
デレイカラム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 PFAS デレイカラム、4.6 × 30 mm (部品番号 027403-007)																
カラム温度	40 °C																
注入量	25 μL																
オートサンブラ温度	20 °C																
標準洗浄	1:1 メタノール:水、5 秒洗浄																
移動相	A) 0.1 % 酢酸水溶液 B) 90:10 アセトニトリル:水 + 10 mM 酢酸アンモニウム																
流量	0.5 mL/min																
グラジエントプログラム	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>10</td></tr> <tr><td>0.5</td><td>10</td></tr> <tr><td>2</td><td>40</td></tr> <tr><td>6</td><td>40</td></tr> <tr><td>10</td><td>98</td></tr> <tr><td>12</td><td>98</td></tr> <tr><td>12.1</td><td>10</td></tr> </tbody> </table>	時間 (分)	B (%)	0	10	0.5	10	2	40	6	40	10	98	12	98	12.1	10
時間 (分)	B (%)																
0	10																
0.5	10																
2	40																
6	40																
10	98																
12	98																
12.1	10																
ストップタイム	12.50 分																
ポストタイム	4.00 分																

表 3. Agilent 6495D トリプル四重極 LC/MS のイオン源条件

パラメータ	設定値
ガス温度	240 °C
乾燥ガス流量	18 L/min
シースガス温度	350 °C
シースガス流量	11 L/min
ネプライザ圧力	20 psig
Vcap	2,000 V
ノズル	0 V

表 4. 化合物のトランジション

化合物	RT	プリカーサ m/z	プロダクト m/z	フラグメンタ (V)	CAV (V)	CE (V)	iFunnel モード	イオン化
13C2-TFA	5.25	115	69.9	166	5	14	Fragile	ネガティブ
13C3-PFPrA	7.514	166	121	166	5	10	Fragile	ネガティブ
PFETS	8.602	199	98.9	166	5	30	標準	ネガティブ
PFETS	-	199	79.9	166	5	34	標準	ネガティブ
PFMeS	6.729	149	98.9	166	5	30	標準	ネガティブ
PFMeS	-	149	79.9	166	5	30	標準	ネガティブ
PFOMAA	8.097	179	85	166	5	14	Fragile	ネガティブ
PFPrA	7.515	163	119	166	5	10	Fragile	ネガティブ
PFPrS	9.236	249	98.9	166	5	30	標準	ネガティブ
PFPrS	9.236	249	79.9	166	5	36	標準	ネガティブ
TFA	5.25	113	68.9	166	5	14	Fragile	ネガティブ
HQ-115/TFSI	9.937	279.9	210.9	166	5	20	Fragile	ネガティブ
HQ-115/TFSI	-	279.9	146.9	166	5	30	Fragile	ネガティブ
HQ-115/TFSI	-	279.9	77.9	166	5	40	Fragile	ネガティブ
DFA	4.185	95	51	166	5	18	Fragile	ネガティブ

結果と考察

汚染管理と検出下限

初期試験により、すべてのサンプルにバックグラウンド TFA が存在することが示されました。機器ブランクはクリーンでしたが、メソッドブランクでは一貫して TFA が検出されました。このラボは複合用途のスペースであるため、環境中の TFA を完全に除去することはできませんでした。したがって、メソッド検出下限 (MDL) の評価は、TFA の添加濃度を増加させ、永続的なバックグラウンドレベルと明確に区別できるようにして調整しました。MDL は、EPA の手順に従って決定しました。⁴TFA を除くすべての化合物は 0.01 ng/mL で添加しましたが、TFA は 0.1 ng/mL で添加しました。

図 2 は、TFA に対して 0.004 ~ 0.054 ng/mL の範囲で計算された検出下限を示しています。TFA および PFMeS の両方については、バックグラウンドレベルが添加実験から計算された値を上回っていたため、最終的な検出下限は、メソッドブランクでの濃度に基づいて決定しました。

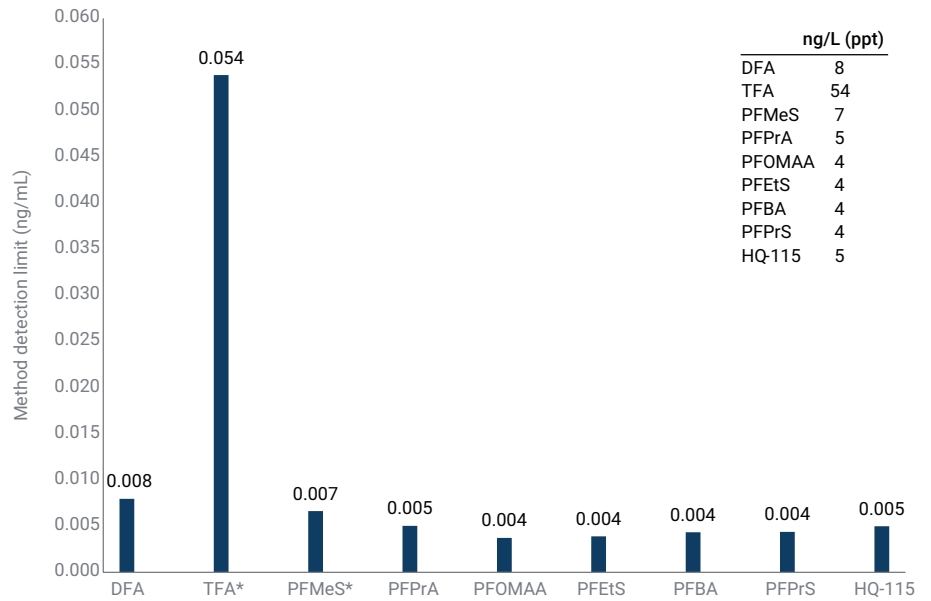


図 2. メソッド検出下限 (ng/mL)。* MDL が、ブランクレベルにより決定されたことを示します (1 ng/mL = 1,000 ng/L)。

イオン強度条件下でのリテンションタイムの安定性

イオン強度を増加させた条件下でのリテンションタイム (RT) の安定性とピーク形状を確認するために、ラボ合成水を評価しました。図 3 は、標準の逆浸透 (RO) 水で生成されたクロマトグラムと、ラボ合成水で得られたクロマトグラムを比較したものです。ピーク形状はガウス分布を維持しており、観察された最

大のリテンションタイムシフトは、ラボ合成水中の PFPrA の 0.1 分前方シフトであり、イオンマトリックスにおいて一貫性のある性能を示しました。

添加回収率と精度

ラボ合成水を 3 つの濃度で添加して、メソッドの再現性と回収率を評価しました。最低の添加濃度は 0.01 ng/mL (TFA の場合は 0.1

ng/mL) であり、続いて最低濃度の 1.5 倍および 2 倍の濃度に行いました。相対標準偏差は、DFA と TFA を除いて優れた値 (< 15%) を示しており、回収率は 70 ~ 130% の範囲内に収まりました。DFA を除くすべての化合物について、結果を図 4 に示しています。

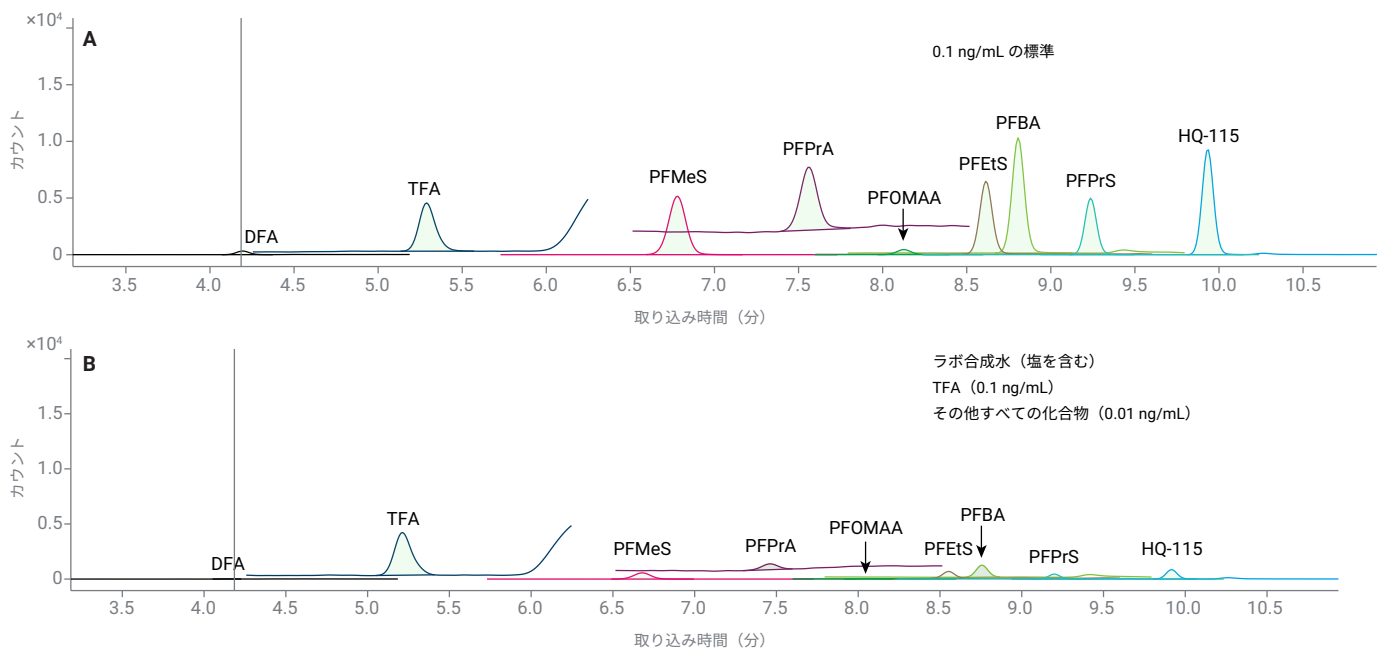


図 3. (A) 0.1 ng/mL 標準溶液中の超短鎖 PFAS のクロマトグラム。(B) TFA (0.1 ng/mL) を除くすべての化合物の 0.01 ng/mL でのラボ合成水 (塩を含む) のクロマトグラム

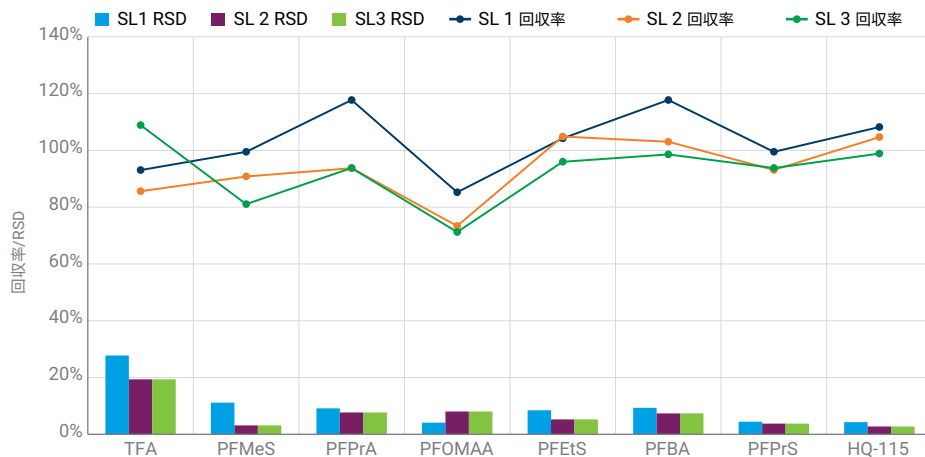


図 4. ラボ合成水 (塩を含む) の回収率と繰り返し分析 (n = 4) の RSD

DFA は低い回収率を示しましたが、これはラボ合成水の高塩含有量によるマトリックス抑制が原因であると考えられます。DFA の同位体標識された類似体を使用できなかったため、 $^{13}\text{C}_2$ -TFA を用いて定量を補正しましたが、これが精度と再現性の両方に悪影響を与えました。

同位体標識された TFA 類似体は、TFA に対して良好な分析性能を示しましたが、添加濃度を増加させた後でも、一時的なバックグラウンドコンタミネーションが持続しました。最低濃度の添加セットでは、1 回の繰り返し分析でバックグラウンドレベルが上昇しており、結果的に、繰り返し分析の RSD が増加しました。この問題を軽減するために、移動相の添加物としての使用など、いかなるラボプロセス時にも TFA が使用されたことのないラボスペースにおいて、サンプルを調製することを推奨します。

現場サンプルの分析：埋立地地下水

埋立地のモニタリングのための、7 か所の異なる埋立地にある複数の現場から採取されたさまざまな地下水サンプルを分析し、その結果を図 5 に示しています。すべてのサンプルにおいて TFA が検出されており、その次に頻度が高いのは、PFPrA、PFMeS、DFA、PFBA でした。これらの地下水サンプルは、ラボ合成水と比較して、リテンションタイムのばらつきがほとんどなく、リテンションタイムは標準溶液と厳密に一致していました。内部標準の性能にも一貫性があり、回収率は 66 ~ 99 % の範囲で信頼性の高い値を示しました。

PFBA の分析結果は、EPA 1633A とここで示した直接注入メソッドとの間で部分的に一致していました。EPA 1633A には、SPE 抽出および濃縮が含まれているため、直接注入ワークフローと比較して、より低い検出レベルが達成されました。一貫性のある比較を可能にするために、直接注入メソッドの MDL をわずかに下回る濃度についても、PFBA に関し

ては 3 ng/L まで報告しました。図 6 に示すように、同一セットのサンプルの濃度を比較したところ、評価した濃度範囲全体において、メソッド間で良好に一致していました。さらに、Altura および Poroshell PFAS カラムを用いて得られた PFBA の結果は、強い直線相関関係 ($r = 0.84$, $p < 0.001$) を示しており、これら 2 種類のカラム (1 つは外部協力者からの結果) が、試験したマトリックス中の PFBA の

濃度を一貫して追跡していることを示唆しています。予想どおり、これらの相関関係は、全体の傾向が一致していることを示しています。



図 5. 埋立地のモニタリング井戸からの地下水サンプルの結果。埋立地は、LX とその後の現場番号で示されています。

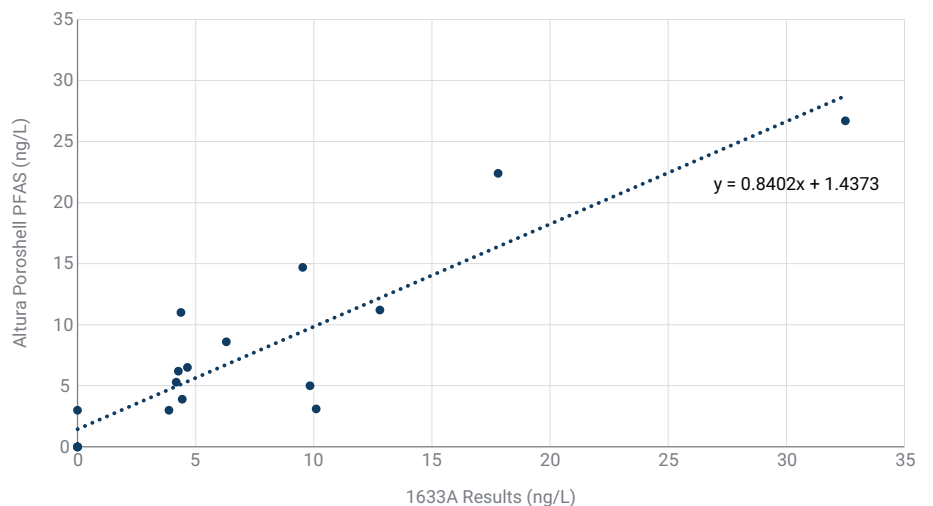


図 6. 1633A 分析による PFBA の結果と、Agilent Poroshell PFAS カラムを用いたメソッドによる結果を比較したグラフ

結論

Agilent Altura Poroshell PFAS カラムと Agilent LC/TQ 技術を組み合わせることで、RO 水および高イオン強度ラボ合成水の両方において、超短鎖 PFAS の安定したクロマトグラフィーが得られました。本研究で計算された検出下限は低 ng/L の範囲内に収まっており、評価した条件下では、メソッドブランクレベルが添加に基づいた推定値を上回ったため、TFA および PFMeS はブランク限界となりました。リテンションタイムの安定性はイオン強度全域で維持されており、観測された最大シフトは 0.1 分 (PFPrA) でした。ラボ合成水マトリックスの添加では、DFA と TFA を除くほとんどの分析対象物において、70 ~ 130 % の回収率と < 15 % の RSD が得られました。DFA の性能は、高塩マトリックスの結果および DFA の同位体標識された類似体 (サロゲート補正に $^{13}\text{C}_2$ -TFA を使用) の欠落により影響を受けました。7 か所の埋立地からの地下水による現場試験では、リテンションタイムが標準溶液と一致しており、内部標準の挙動にも一貫性がありました。

参考文献

1. Arp, H. P. H.; Gredelj, A.; Glüge, J.; Scheringer, M.; Cousins, I. T. The Global Threat from the Irreversible Accumulation of Trifluoroacetic Acid (TFA). *Environ. Sci. Technol.* **2024**, 58(45), 19925–19935. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c06189>
2. Method 1633A: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LCMS/MS (EPA 820R24007). U.S. Environmental Protection Agency, 2024. <https://www.epa.gov/system/files/documents/2024-12/method-1633a-december-5-2024-508-compliant.pdf>
3. Method 557: Determination of Haloacetic Acids, Bromate, and Dalapon in Drinking Water by Ion Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (ICESIMS/MS) (Version 1.0, EPA Document No. 815B09012). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC, 2009.
4. Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit (MDL), Revision 2 (EPA 821R16006). U.S. Environmental Protection Agency, 2016. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-12/documents/mdl-procedure_rev2_12-13-2016.pdf

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-013054

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2026

Printed in Japan, March 10, 2026

5994-9019JAJP