

Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS による 飲料水中のペル/ポリフルオロアルキル化合物 (PFAS) の分析

著者

Tarun Anumol
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, DE, USA

Dan-Hui Dorothy Yang,
Theresa Sosienski, and
Patrick Batoon
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA, USA

概要

ペル/ポリフルオロアルキル化合物 (PFAS) は環境への懸念が高まっている化合物の 1 つです。米国環境保護庁 (US EPA) は飲料水の健康に関する勧告を発表しており、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) とペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) の合計濃度を 70 ng/L としています。一部の州が発表した公衆衛生ガイドラインでは、特定の PFAS について、さらに低い値が定められています。このアプリケーションノートでは、US EPA メソッド 537 に記載された 14 種類の PFAS を含む 17 種類の PFAS を対象に、Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS 用に開発されたメソッドを用いて実施した分析を解説します。このメソッドは抽出を含めて US EPA メソッド 537 に準拠しました。すべての分析対象物が、US EPA メソッドの規定よりも低い濃度レベル、短い分析時間、半分の注入量で検出されました。

はじめに

ペル/ポリフルオロアルキル化合物 (PFAS) は合成化合物で、界面活性剤、難燃剤、防水剤、焦げ付き防止剤、汚れ防止剤として幅広く使用されています。PFAS はその独自の特性のために、環境中や動物の体内に残留し、遍在しています。研究により、PFAS が、生殖および発育の問題や、肝臓、腎臓、免疫系への有害な作用、コレステロールの変性の原因となる可能性が示されています。7 個以上の長い炭素鎖を持つ PFAS が、生体内蓄積について最大のリスクを伴うことが調査から明らかになりました¹。

これを受けて、米国環境保護庁 (US EPA) は飲料水の健康に関する勧告を発表し、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) とペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) の 2 種類の PFAS の合計濃度を 70 ng/L と決めました。ニュージャージー州やミネソタ州といった一部の州では、水中の PFOA や PFOS などの特定の PFAS に対して、14 ~ 35 ng/L というより低い濃度を公衆衛生ガイドライン値として指定しています。US EPA メソッド 537 では、固相抽出 (SPE) および LC/MS/MS を使用した、飲料水中の 14 種類の PFAS のメソッドを解説しています²。しかし、この他にも複数の PFAS が現在使用されており、影響を評価するためのモニタリングが実施されています。

このアプリケーションノートでは、US EPA メソッド 537 に記載された 14 種類の PFAS を含む 17 種類の PFAS (表 1) を対象に、Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS で開発されたメソッドを用いて実施した分析を解説します。すべての分析対象物を 22 分以内に、US EPA メソッドで規定された濃度よりも十分に低いレベルで検出しました。

Ultivo は、驚異的なパワーと驚くべきコンパクトさを備えた装置です。Ultivo のボルテックスコリジョンセル、サイクロンイオンガイド、VacShield から成る 3 本柱の革新的な技術

(T³) が、高スループットでのサンプル分析の課題に対応するために必要な感度、堅牢性、信頼性、性能を提供します。また、Ultivo は初めて積み重ねが可能となったアジレントのトリプル四重極 LC/MS で、質量分析計を液体クロマトグラフスタックに統合することにより、占有スペースの縮小を実現できます。

分析方法

溶液および標準試料の準備

すべての PFAS 標準は 2 ~ 50 mg/L の範囲のアセトニトリル溶液またはメタノール溶液として Wellington Laboratories 社 (オンタリオ州、カナダ) から購入しました。各標準はキャリブレーション標準で必要とされる濃度を得るために、96:4 (v/v) メタノール:水で希釈しました。LC/MS グレードのメタノールおよびアセトニトリルは Honeywell 社 (マスキゴン、ミシガン州)、酢酸アンモニウムは Sigma-Aldrich 社 (セントルイス、ミズーリ州) から購入しました。超純水は Millipore 社の装置から 18.2 MΩ の純度で精製しました。

サンプル前処理

US EPA メソッド 537 に従って、Agilent SampliQ Weak Anion Exchange (WAX) カートリッジ (p/n 5982-3667) を使用してスパイク済みの水サンプルと実際の飲料水サンプル (すべて 250 mL) を抽出しました。抽出条件は US EPA メソッド 537 に記載された条件と同様でした。温水槽内で窒素を用いて抽出物を濃縮乾固した後、96:4 (v/v) メタノール:水を用いて 1 mL に調整しました。その後、内部標準 (IS) を加えました。

LC/MS/MS 分析

Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプと Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS を組み合わせて LC/MS/MS 分析に使用しました。

PFAS は製造プロセスにおいて日常的に使用されているため、液体クロマトグラフのルーチン分析で使用されている溶媒、チューブ、フィッティング、フィルタなどの部品が原因で、LC/MS/MS システムが汚染される可能性があります。フルオロポリマーはすべての主要 (U)HPLC システムで使用されており、LC/MS/MS 分析中に PFAS 汚染源となる可能性があります。ポンプシステム内の PFAS を捕らえるために、ディレイカラム (Agilent Eclipse Plus C18、4.6 × 50 mm、3.5 μm) をミキシングバルブの後かつオートサンブラの前に取り付けました。ガラス製バイアルへの PFAS 付着物によって生じる可能性のある問題を回避するために、1.0 mL クリンプトップのポリプロピレンバイアル (p/n 5182-0567、100 個) およびポリプロピレン製のスナップキャップ (p/n 5182-0542、100 個) を使用しました。

LC システム内の潜在的な PFAS 汚染源と、Agilent 1260 Infinity II や Agilent 1290 Infinity II システムから PFAS バックグラウンド干渉を大幅に低減するソリューションについては、アジレント文献 5991-7863EN³ をご覧ください。

表 1. 分析した PFAS と内部標準 (IS) および対応するトリプル四重極 dMRM のパラメータ。US EPA メソッド 537 対象外の化合物は青色でハイライト

化合物	略語	ブリーカーサ イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	RT (分)	フラグメンタ (V)	コリジョン エネルギー
ペルフルオロテトラデカン酸	PFTeDA	712.9	669	14.8	100	7
ペルフルオロテトラデカン酸	PFTeDA	712.9	169	14.8	100	23
ペルフルオロトリデカン酸	PFTrDA	663	619	14.3	91	7
ペルフルオロトリデカン酸	PFTrDA	663	169	14.3	100	23
ペルフルオロドデカン酸	PFDoA- ¹³ C ₂	614.9	570	13.9	79	4
ペルフルオロドデカン酸	PFDoA	613	569	13.9	79	4
ペルフルオロドデカン酸	PFDoA	613	268.7	13.9	100	15
ペルフルオロデシルスルホン酸	PFDS	598.9	99	12.2	100	45
ペルフルオロデシルスルホン酸	PFDS	598.9	80	12.2	100	60
N-エチル-N-((ヘプタデカフルオロオクチル)スルホニル)グリシン	N-EtFOSAA	584	525.9	13.3	115	15
N-エチル-N-((ヘプタデカフルオロオクチル)スルホニル)グリシン	N-EtFOSAA	584	418.9	13.3	115	15
N-(ヘプタデカフルオロオクチル)スルホニル)-N-メチルグリシン	N-MeFOSAA	570	482.9	13.0	115	12
N-(ヘプタデカフルオロオクチル)スルホニル)-N-メチルグリシン	N-MeFOSAA	570	418.9	13.0	115	15
ペルフルオロウンデカン酸	PFUdA- ¹³ C ₂	565	520	13.3	73	4
ペルフルオロウンデカン酸	PFUdA	563	519	13.3	73	4
ペルフルオロウンデカン酸	PFUdA	563	218.7	13.3	100	15
ペルフルオロオクタタン酸	PFDA- ¹³ C ₂	514.9	469.9	12.7	81	3
ペルフルオロオクタタン酸	PFDA	513	469	12.7	81	3
ペルフルオロオクタタン酸	PFDA	513	218.7	12.7	100	12
ペルフルオロオクチルスルホン酸	PFOS- ¹³ C ₄	502.9	99	11.9	100	38
ペルフルオロオクチルスルホン酸	PFOS- ¹³ C ₄	502.9	80	11.9	100	38
ペルフルオロオクチルスルホン酸	PFOS	498.9	99	11.9	100	38
ペルフルオロオクチルスルホン酸	PFOS	498.9	80	11.9	100	38
ペルフルオロノナン酸	PFNA- ¹³ C ₅	468	423	12.75	66	3
ペルフルオロノナン酸	PFNA	463	419	11.9	66	3
ペルフルオロノナン酸	PFNA	463	169	11.9	66	13
ペルフルオロオクタタン酸	PFOA- ¹³ C ₄	416.9	371.9	11.0	69	3
ペルフルオロオクタタン酸	PFOA	413	369	11.0	69	3
ペルフルオロオクタタン酸	PFOA	413	169	11.0	69	9
ペルフルオロヘキシルスルホン酸	PFHxS- ¹⁸ O ₂	403	103	10.0	100	34
ペルフルオロヘキシルスルホン酸	PFHxS	398.9	99	10.0	100	34
ペルフルオロヘキシルスルホン酸	PFHxS	398.9	80	10.0	100	37
ペルフルオロヘプタン酸	PFHpA	362.9	319	9.9	72	0
ペルフルオロヘプタン酸	PFHpA	362.9	169	9.9	72	9
ペルフルオロヘキサン酸	PFHxA ¹³ C ₂	315	270	8.5	70	6
ペルフルオロヘキサン酸	PFHxA	313	268.9	8.5	70	6
ペルフルオロヘキサン酸	PFHxA	313	119	8.5	70	14
ペルフルオロブチルスルホン酸	PFBS	298.9	98.9	7.0	100	22
ペルフルオロブチルスルホン酸	PFBS	298.9	80	7.0	100	34
ペルフルオロペンタン酸	PFPeA	263	218.9	6.5	60	6
ペルフルオロブタン酸	PFBA- ¹³ C ₄	217	172	3.9	60	6
ペルフルオロブタン酸	PFBA	213	168.9	3.9	60	6

表 2 に LC の分析条件を示します。Ultivo は感度が高いため、US EPA メソッド 537 に記載されているように、10 μ L ではなく 5 μ L のサンプル抽出物を LC システムに直接注入しました。

表 3 に、Agilent Jet Stream (AJS) イオン源のパラメータと MS の分析条件を示します。化合物はダイナミックマルチプルリアクションモニタリング (dMRM) を使用して分析しました。表 1 に、モニタリング対象の各 PFAS 化合物のトリプル四重極 dMRM 取り込みパラメータを示します。プリカーサイオン、プロダクトイオン、フラグメンタ電圧、コリジョンエネルギーを含むすべてのパラメータを、各分析対象物に合わせて最適化しました。モニタリングしたリテンションタイムウィンドウは 2 分で、Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS セル加速電圧 (CAV) はすべての分析対象物について 9V に設定しました。

機器の制御およびデータ取り込みには、Agilent MassHunter Acquisition ソフトウェア C.01 を使用しました。データの処理および解析には、Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェア (B.09) と Quant-My-Way 機能を使用しました。

1 か月間にわたって検量線の直線性を評価しました。1 ppb レベルでの 11 種類の定期キャリブレーション確認 (CCV) サンプルについての応答の相対標準偏差 (% RSD) が、26 時間にわたるバッチ分析で計算されました。

表 2. LC の分析条件

パラメータ	設定値												
液体クロマトグラフシステム	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、冷却器付き (G7167B) Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)												
ディレイカラム	Agilent Eclipse Plus C18, 4.6 \times 50 mm, 3.5 μ m (p/n 959943-902)												
分析カラム	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.0 \times 50 mm, 1.8 μ m (p/n 959757-302)												
注入量	5 μ L												
カラム温度	50 $^{\circ}$ C												
移動相	A) 5 mM 酢酸アンモニウム / 水 B) 5 mM 酢酸アンモニウム / 95 % MeOH												
流量	0.4 mL/min												
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>% B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>2.0</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>14.0</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>14.5</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (分)	% B	0.0	10	0.5	10	2.0	30	14.0	95	14.5	100
時間 (分)	% B												
0.0	10												
0.5	10												
2.0	30												
14.0	95												
14.5	100												
分析時間	16.5 分												
ポストタイム	5.5 分												

表 3. AJS ESI ソースパラメータと MS の分析条件

パラメータ	設定値
質量分析計	Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS と Agilent Jet Steam ESI ソース
イオン化モード	ネガティブ
ガス温度	230 $^{\circ}$ C
ガス流量	5 L/min
ネブライザ	15 psi
キャピラリー	2,500 V
ソースガス温度	350 $^{\circ}$ C
ソースガス流量	12 L/min
ノズル電圧	0 V

結果と考察

クロマトグラフィー性能

US EPA メソッド 537 には、分析時間が 35 ～ 37 分と記載されています。1 ppb の標準溶液の MRM クロマトグラム (図 1) から、16.5 分以内に適切な分離ピーク形状および S/N 比が得られたことが分かります。つまり、US EPA メソッドに記載されている分析時間の半分未満です。

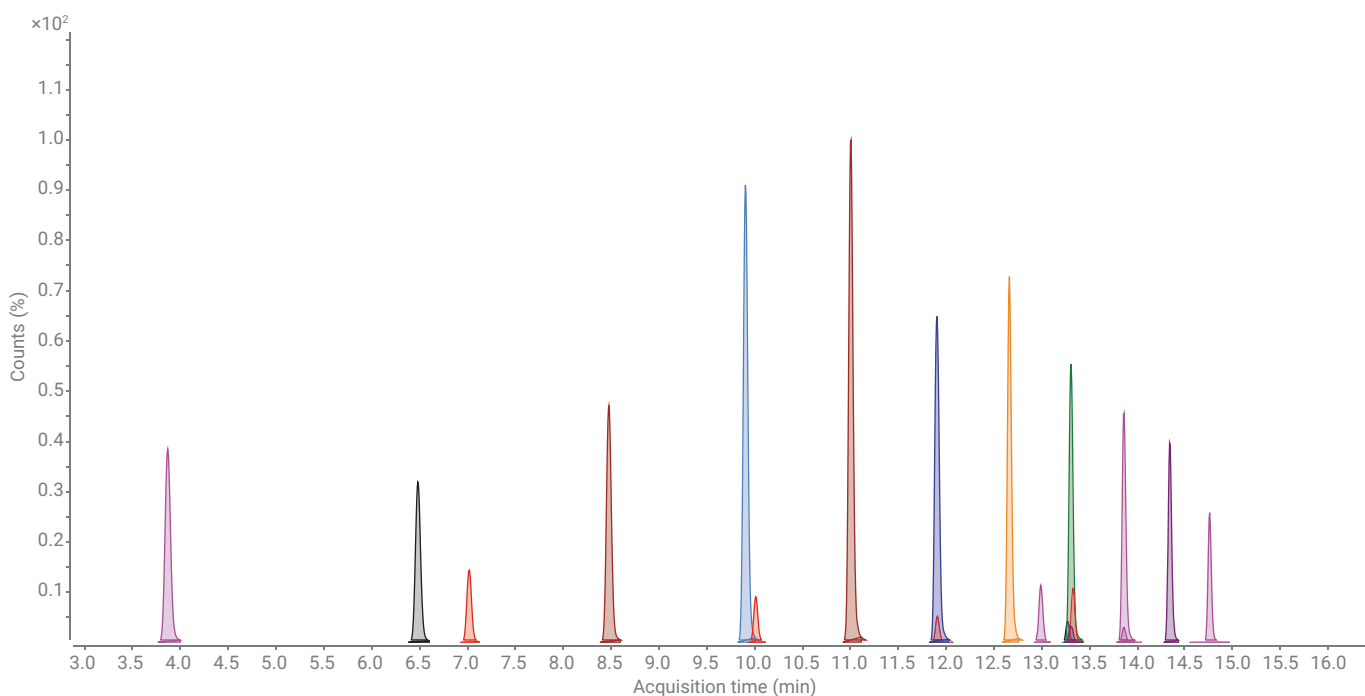


図 1. 分析対象 17 種類の PFAS に関する 1 ppb 標準溶液の MRM クロマトグラム

応答の直線性と再現性 (% RSD)

分析した 17 種類すべての PFAS で、直線性のある検量線が $R^2 > 0.99$ で得られました (表 4)。1 か月にわたる分析で 0.2 ~ 100 ppb の 8 点 (0.2、0.5、1、5、10、25、50、100 ppb) の検量線の 3 回の平均に基づいて R^2 が計算されました。テストした 1 か月間の直線性は非常に安定していました。

US EPA メソッド 537 では、10 個のサンプルを分析するたびにキャリブレーションサンプルを注入して分析する必要があります。1 ppb レベルでの 11 種類の CCV サンプルの % RSD 応答が、26 時間にわたるバッチで計算されました。1 つの化合物 (N-EtFOSAA) を除くすべての分析対象物が 5 % RSD 未満でした (表 4)。図 2 は、IS で補正されていない相対レスポンスが、分析した 11 種類の CCV サンプルで 26 時間にわたって安定していたことを示しています。

表 4. 26 時間にわたる定期キャリブレーション確認 (CCV) サンプル 1 ppb の直線性 (R^2) と %RSD

化合物	R^2	CCV RSD (%)
PFBA	0.9965	2.1
PFPeA	0.9996	2.7
PFBS	0.9964	3.1
PFHxA	0.9988	3.0
PFHpA	0.9985	3.4
PFHxS	0.9995	1.7
PFOA	0.9971	1.2
PFOS	0.9991	1.9
PFNA	0.9811	3.7
PFDA	0.9941	3.6
N-MeFOSAA	0.9999	3.6
PFDS	0.9999	2.3
PFUDA	0.9940	2.3
N-EtFOSAA	0.9996	5.2
PFDoA	0.9974	3.6
PFTTrDA	0.9984	3.5
PFTTeDA	0.9986	3.2

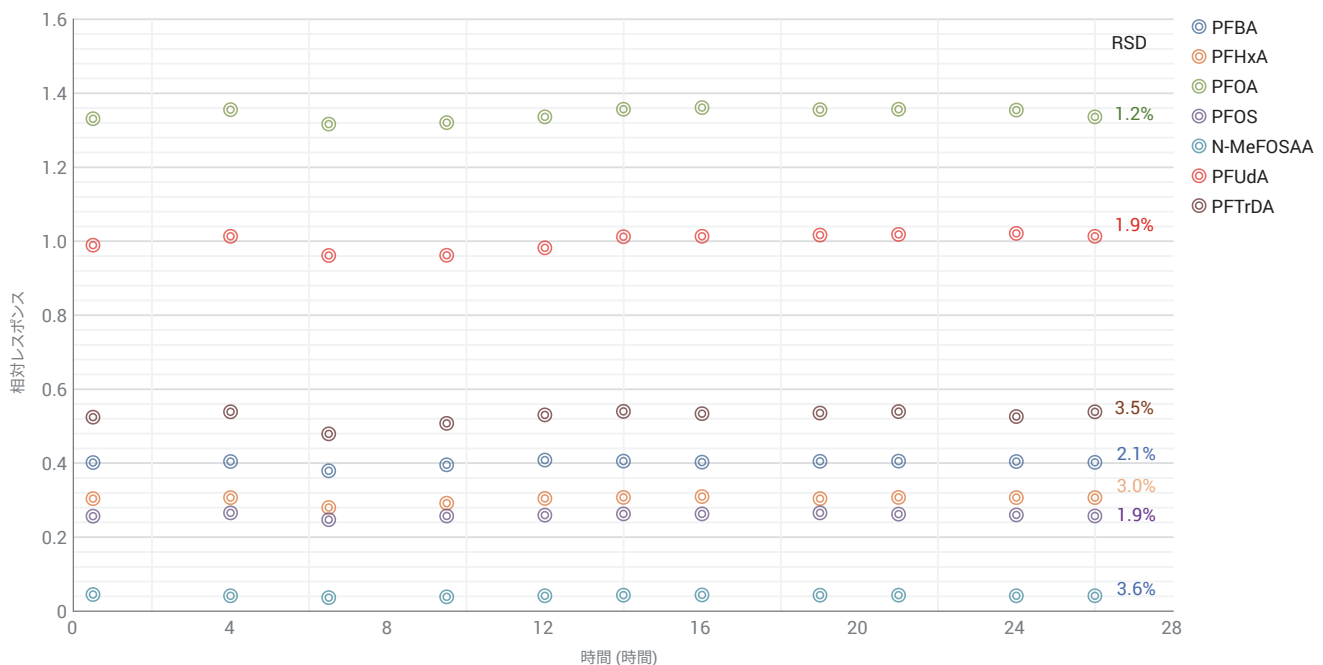


図 2. 11 CCV サンプル中の PFAS のうち 7 種類の PFAS の 26 時間にわたる相対レスポンス (IS で未補正)

飲料水実サンプルの分析

米国カリフォルニア州の飲料水をこのメソッドで分析し、17種類のPFASについて調べました。図3は、PFBS、PFOS、PFOA、PFNAがそれぞれ10、4、0.6、8 ng/Lで検出されたことを示しています。US EPA メソッド 537でのサンプル抽出後に Ultivo トリプル四重極 LC/MS を使用して、米国で最も厳しい州の要

件よりも低い ng/L レベルの PFAS の存在を検出することができました。このメソッドが実際の飲料水サンプルの分析において優れた感度と堅牢性を発揮することが実証されました。

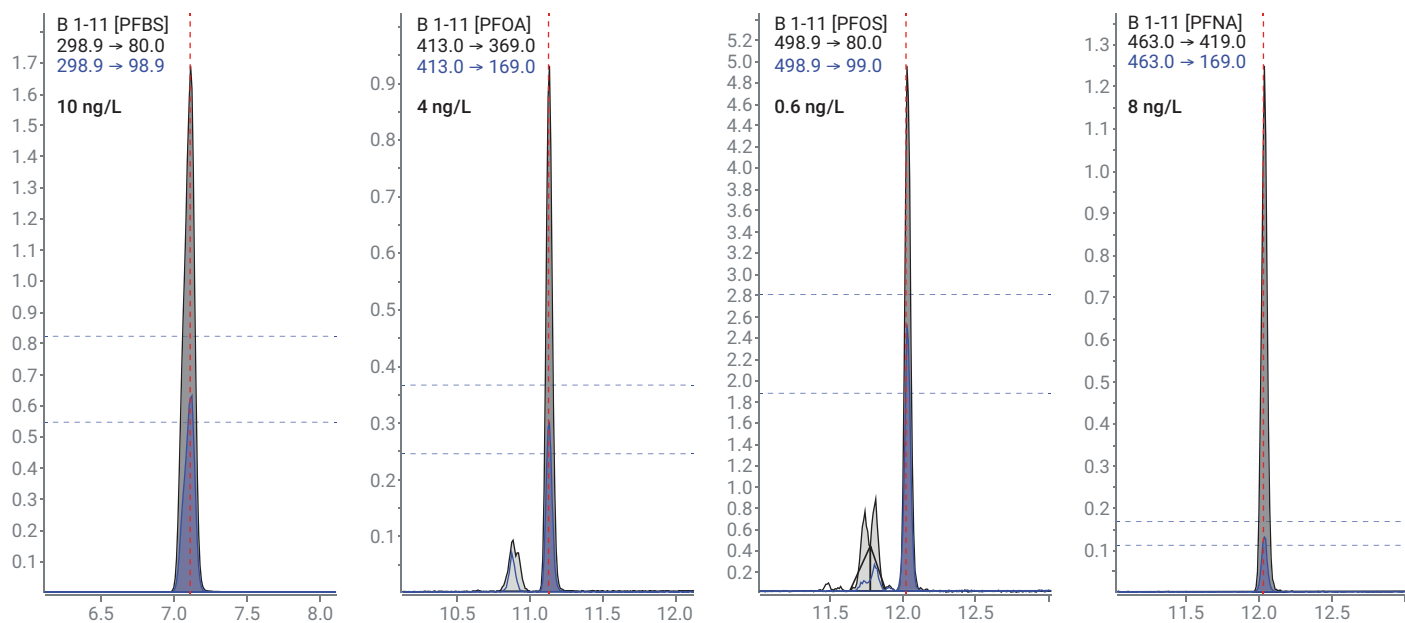


図3. 低 ng/L レベルで検出された飲料水実サンプル中の4種類のPFAS

結論

このアプリケーションノートでは、US EPA メソッド 537 に記載された 14 種類の PFAS を含む 17 種類の PFAS を対象に、Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS を用いて分析しました。US EPA メソッドの規定よりも格段に低い濃度レベルで、大幅な時間短縮を実現しつつ、少ない注入量で、すべての PFAS を検出できました。

Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS は、水中の PFAS の定量において、優れた感度、信頼性、堅牢性を示しました。PFAS 1 ppb の分析は、最適な分離ピーク形状と適切な S/N 比を得ることができました。PFAS の 8 つの濃度レベル (0.2 ~ 100 ppb) での応答は、1 か月間にわたって R^2 が 0.99 以上という安定性を実証しました。EPA メソッド 537 に従った CCV サンプルの分析では、26 時間にわたるバッチにおいて、1 つを除くすべての分析対象物が RSD 5% を下回る応答となりました。

参考文献

1. United States Environmental Protection Agency. Research on Per- an Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). Retrieved October 11, 2017. <https://www.epa.gov/chemical-research/research-and-polyfluoroalkyl-substances-pfas>
2. Method 537. Determination Of Selected Perfluorinated Alkyl Acids In Drinking Water By Solid Phase Extraction. And Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Version 1.1. September **2009**. J. A. Shoemaker US EPA, Office of Research and Development.
3. Anumol, T.; et al. Recommended Plumbing Configurations for Reduction in Per/Polyfluoroalkyl Substance Background with Agilent 1260/1290 Infinity (II) LC Systems, Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-7863EN.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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. 2018
Printed in Japan, February 2, 2018
5991-8969JAJP