

新規注入機構 オートサンプラを用いた河川水中 PFAS の高感度一斉分析

著者

城代 航
滝埜 昌彦

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ペル/ポリフルオロアルキル化合物 (PFAS) の分析において、前処理後の試料の有機溶媒比率が高い場合、注入量を増やすとブレイクスルーによる強度低下やピーク形状が悪化する問題があります。Agilent Infinity II ハイブリッドマルチサンプラは新しい注入機構である Feed 注入を採用しており、有機溶媒試料であっても大容量注入が可能となります。

このアプリケーションノートでは河川水中 PFAS の一斉分析を行った際の結果について説明します。Feed 注入により有機溶媒 100 % の試料を大量注入した場合でも良好なピーク形状が得られ、優れた再現性と検出感度を達成することが可能です。

はじめに

PFAS は環境中での安定性と難分解性のために生態系や人間への暴露が懸念されています。日本では環境省が、環境水中のペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) およびペルフルオロオクタン酸 (PFOA) の暫定目標値として、合算で 50 ng/L が設定されています。EU や米国ではさらに規制対象の種類が多く、短鎖・長鎖 PFAS や、代替 PFAS であるヘキサフルオロプロピレンオキシド (HFPO-DA) など評価が進められており、さらなる規制値の引き下げも検討されています。

環境試料中 PFAS 分析では前処理に弱アニオン交換充填剤 (WAX) を用いた固相抽出法が主に使用されており、この方法での最終試料溶液は 80~100 % 有機溶媒となります。この試料をそのままカラムに大容量注入すると保持の弱い化合物がカラム先端で適切に保持されず、ピーク割れやブレイクスルーなどの問題が生じます。試料溶液に水を加えると長鎖 PFAS が吸着を起してしまうため、大量注入による高感度化のためには有機溶媒組成の高い溶液をそのまま注入するための工夫が必要となります。

Agilent Infinity II ハイブリッドマルチサンプラは従来の注入機構 (フロースルー) とは全く異なる Feed 注入方式が使用可能です。Feed 注入は吸引した試料溶液を一定速度で移動相と混合しながらカラムに送液するため、試料溶液の有機溶媒が希釈され化合物がカラム先端に保持されるようになります⁽¹⁾。

本アプリケーションノートでは、試料抽出液 (有機溶媒) を大容量注入可能な Feed 注入を利用し、簡便な試料濃縮による河川水中 PFAS の微量分析を検討した結果について報告します。

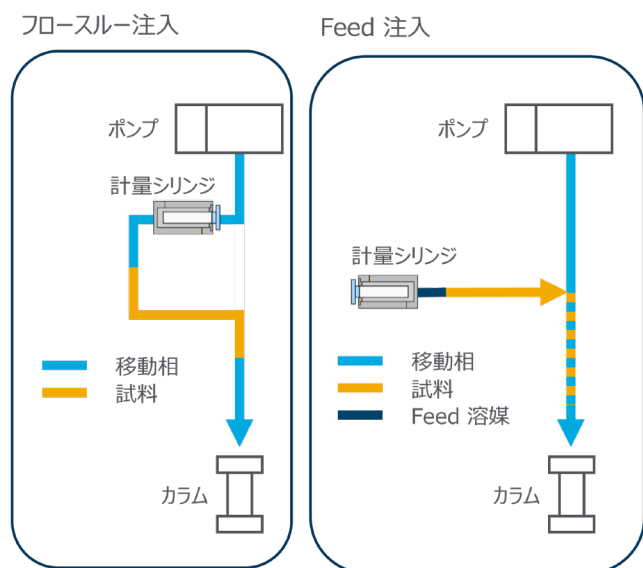


図 1. フロースルー注入と Feed 注入の概念図

測定システム

Agilent 1260 Infinity II LC システム
G7104C フレキシブルポンプ
G7167C ハイブリッドマルチサンプラ
G4225A ミクロデガッサ
G7116B マルチカラムサーモスタット
Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS

試薬および試料前処理

今回測定対象とした化合物は ISO 21675:2019⁽²⁾ にて規定されている PFAS 30 成分とし、標準物質混合溶液は Wellington Laboratories 社より購入しました。検量線作成のため、混合溶液を 0.056 % アンモニア/メタノールで希釈し、濃度 0.2 ~ 100 ng/L の溶液を調製しました。コンタミネーションを防ぐため、バイアルはポリプロピレン製のものを用いました。

3 か所の河川水から採取した試料に遠心分離 (4000 回転/4 分) を行い上清を回収しました。予め、0.056 % アンモニア/メタノール 3 mL と超純水 3 mL で洗浄、コンディショニングした Bond Elut PFAS WAX (Agilent Technologies、150 mg、6 mL、P/N : 5610-2150) に上清 10 mL を負荷し、減圧マニフォールドを使用し自然落下で通液させました。固相に残った水分を減圧下でカートリッジから除去後、0.056 % アンモニア/メタノール 1 mL で PFAS を溶出させ、メタノールで 1 mL に定容しました。この抽出液を試料検液としました。

分析条件

主な分析条件を表 1 に示します。Feed 注入ではサンプル注入量の他に、ループ内に残留したサンプルを押し流すための Feed 溶媒と注入速度を追加で設定します。今回はピーク形状の改善のために水系比率が高い初期移動相を用い、注入速度は流量の 10% としました。

表 1. 分析条件

流量	0.2 mL/min
分析カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD (2.1x100 mm, 1.8 μm, P/N : 959758-902)
ディレイカラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 mm×50 mm, 5 μm, P/N : 959946-902)
移動相	A : 2 mM 酢酸アンモニウム水溶液 B : メタノール
グラジエント	1 %B/1 min → (4 min) → 50 %B → (25 min) → 100 %B/1 min
注入量	30 μL Feed 注入
Feed 注入条件	注入速度 : 20 μL/min フラッシュアウト容量 : 20 μL (初期移動相)
試料溶媒	0.056 % アンモニア/メタノール
カラム温度	40 °C

イオンソース	Agilent Jet Stream (AJS-ESI)
極性	ネガティブ
測定モード	ダイナミック MRM モード
乾燥ガス設定	200 °C, 10 L/min
シースガス設定	350 °C, 12 L/min
ネプライザー (psi)	20
キャピラリー電圧 (V)	3000
ノズル電圧 (V)	0

結果

クロマトグラム形状の比較

図 2 に 30 μL 注入時の Feed 注入とフロースルー注入のピーク形状を示します。フロースルーでは短鎖 PFAS である PFBA のピーク形状が崩れているほか、PFOA など他の成分についてもピーク割れが起きています。一方 Feed 注入では PFBA のピーク形状もそこまで悪化しておらず、他の成分は非常に良好なピーク形状が得られました。

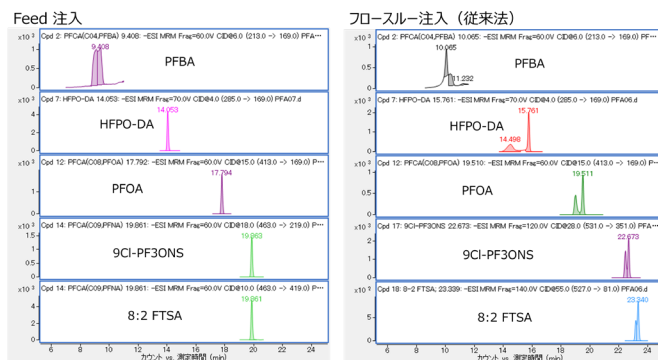


図 2. (左) Feed 注入と (右) フロースルー注入のピーク形状比較
フロースルーではピーク割れが起きているが、Feed 注入では良好なピーク形状となった。

図 3 に標準品 1 ng/L 測定時のクロマトグラムを示します。いずれの成分も良好にピークが検出されました。表 2 に各成分の検量線および検出限界、n=5 の再現性を示しました。検量線は 0.2 – 100 ng/L の範囲で良好な直線性が得られ、再現性も良好でした。このことから Feed 注入は再現性を損なうことなく有機溶媒の大量注入が可能であることが示されました。

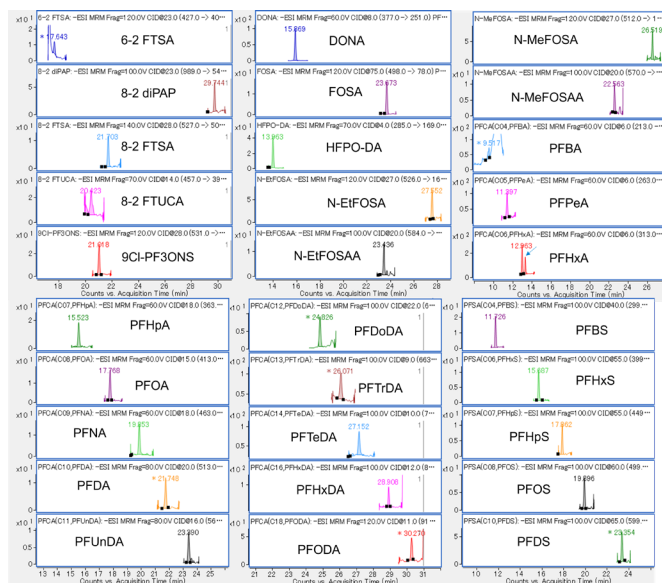


図 3. 標準品 1 ng/L における各 PFAS 30 成分のクロマトグラム

河川水試料の測定結果

河川水 A 試料測定時のクロマトグラムを図 4 に示します。C4 ~ C9 のカルボン酸 PFAS が数 ng/L で検出されたため、河川水試料に標準品 10 ng/L をスパイクし添加回収試験を行いました。図 5 にその結果を示します。まず超純水に 1 ng/L スパイクした場合、すべての成分で回収率が 80~120 % の範囲に収まり、使用した Bond Elut PFAS WAX 固相で良好に回収が可能であることが示されました。河川水試料についてもおよそすべての成分で良好な再現性を示しました。

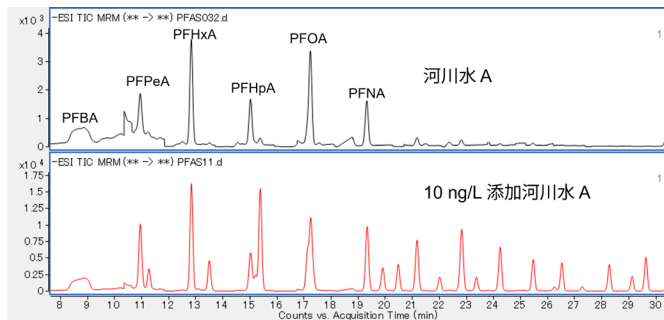


図 4. (上段) 河川水 A サンプルおよび (下段) 10 ng/L 添加サンプルのクロマトグラム
カルボン酸系 PFAS が検出された。

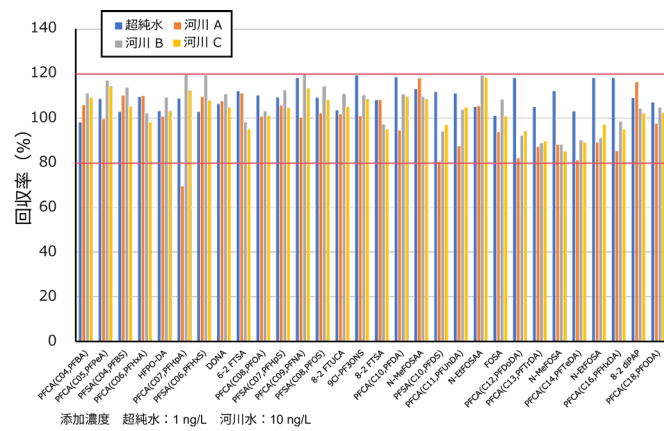


図 5. 超純水および河川水サンプルにおける添加回収率
超純水は 1 ng/L、河川水は 10 ng/L となるよう添加を行った。
添加前から検出された成分については差し引いて回収率を求めた。

まとめ

本アプリケーションノートでは Infinity II ハイブリッドマルチサンブラの Feed 注入機能を用い、有機溶媒比率の高い試料溶媒の大容量注入時においても良好な測定結果が得られることを示しました。良好なピーク形状は検出感度を改善するだけでなく、分岐異性体を含む PFAS の判別の際にも重要となります。また河川水だけでなく土壌や食品抽出液中の PFAS 測定時にも同様に有機溶媒が最終溶媒となるため、Feed 注入は有効になりうる手法です。

表 2. 各化合物の検量線および検出限界、標準品 1 ng/L における再現性

名前	RT	直線性	感度		再現性	名前	RT	直線性	感度		再現性
		相関係数 0.2 – 100 ng/L	S/N 1 ng/L	LOD (ng/L) S/N =3	%RSD (n=5)			相関係数 0.2 – 100 ng/L	S/N 1 ng/L	LOD S/N =3	%RSD (n=5)
PFBA	9.25	0.9997	15	0.20	3.45	PFBS	11.76	0.9999	67	0.04	2.15
PFPeA	11.41	0.9993	36	0.08	3.21	PFHxS	15.78	0.9997	62	0.05	2.15
PFHxA	13.36	0.9999	108	0.03	1.98	PFHpS	17.92	0.9999	23	0.13	1.87
PFHpA	15.60	0.9999	24	0.13	1.59	PFOS	19.93	0.9999	29	0.10	1.63
PFOA	17.82	0.9999	36	0.08	2.87	PFDS	23.36	0.9996	20	0.15	0.97
PFNA	19.90	0.9999	51	0.06	1.58	6:2 FTSA	17.69	0.9999	59	0.05	2.15
PFDA	21.78	0.9999	45	0.07	1.38	8:2 FTSA	21.73	0.9987	24	0.13	1.28
PFUnDA	23.42	0.9998	26	0.12	1.28	FOSA	23.69	0.9999	73	0.04	1.05
PFDoDA	24.86	0.9998	23	0.13	3.12	N-MeFOSA	26.52	0.9999	21	0.14	2.72
PFTTrDA	26.08	0.9998	20	0.15	2.18	N-EtFOSA	27.56	0.9999	20	0.15	2.18
PFTeDA	27.18	0.9999	48	0.06	1.39	N-MeFOSAA	22.60	0.9996	85	0.04	2.37
PFHxDA	28.95	0.9996	48	0.06	2.18	N-EtFOSAA	23.47	0.9999	15	0.20	2.86
PFODA	30.32	0.9999	26	0.12	1.09	9Cl-PF3ONS	21.06	0.9999	40	0.08	1.26
HFPO-DA	14.04	0.9999	125	0.02	2.68	8:2 diPAP	29.79	0.9987	17	0.18	1.25
DONA	15.95	0.9999	220	0.01	0.98	8:2 FTUCA	20.49	0.9990	40	0.19	2.36

参考文献

- 1) More Sensitive Quantification of PFAS by LC/MS with the Agilent 1260 Infinity II Hybrid Multisampler
Agilent Technologies application note, publication number 5994-6994EN.
- 2) International Organization for Standardization. (2019).
Determination of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in water. (ISO 21675:2019).

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-000141

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, August 21, 2024

5994-7726JAJP