

Q-TOF 型質量分析計 LCMS™-9030 を用いた 地表水に含まれる有機フッ素系化合物 (PFAS) のスクリーニング分析

はじめに

ペルフルオロアルキルおよびポリフルオロアルキル物質 (PFAS) は人工的に作られた有機フッ素化合物であり、環境中の水、土壌、食品、生体中に長期間残存することが知られています。米国環境保護庁 (EPA) は、飲料水に含まれる PFAS を測定するための試験法 537.1 を制定しました¹⁾。この試験法は MRM 法に基づくスクリーニング法であり、最大約 30 成分の PFAS を対象とした分析メソッドです。しかしながら、サンプルには対象外の有機フッ素化合物も含まれているため、既存の分析メソッドで全ての成分を検出することは困難です^{1), 2)}。このため、環境中に含有している PFAS のリスクは過少に評価されている可能性があります。本稿では高分解能、優れた質量安定性を有する Q-TOF 型質量分析計 LCMS-9030 (図 1) を用い、MS/MS で得られたフラグメントパターンや特異的なマスディフレクトを基に、水域に含まれる既知および未知 PFAS 成分のスクリーニング手法を紹介いたします。



図 1 LCMS™-9030 の外観図

測定方法

Wellington Laboratories から PFAS 標準物質 34 成分を購入しました。超純水を用いて PFAS の混合標準溶液を調製し、スクリーニングメソッド作成に用いました。地下水および河川水を分析サンプルとし、フィルター濾過した後、窒素ガス吹付により 50 倍濃縮し、分析に供しました。本測定には加熱 ESI を搭載した LCMS-9030 を用いました。LC および MS の分析条件を表 1 に示します。分析カラムは Shim-pack™ GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2.1 μm, P/N: 227-30001-04) を用い、測定時間 45 分のグラジエント分析を行いました。

表 1 測定条件

<HPLC Conditions (Nexera™ X2) >	
Column	: Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm)
Mobile phases	: A) 5mM Ammonium acetate in water B) Acetonitrile
Flow rate	: 0.4 mL/min
Column oven temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μL
Gradient program	: 10 % (0 – 2 min) → 95 % (35 – 40 min) (%B) → 10 % (40.1 – 45 min)
<MS Conditions (LCMS-9030) >	
Ionization	: ESI (Negative mode)
Mode	: Data Dependent Acquisition (DDA)
Nebulizing gas flow	: 3 L/min
Drying gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
DL temp.	: 250 °C
Block heater temp.	: 300 °C
Interface temp.	: 400 °C

表 2 PFAS の化合物情報、精密質量の理論値および LCMS-9030 から得られた実測値

化合物名	組成式	CAS No.	保持時間 (分)	精密質量 (理論値)	精密質量 (実測値)	質量精度 (ppm)	
1	PFBA	C ₄ HF ₃ O ₂	375-22-4	4.85	212.9792	212.9787	2.2
2	PFPA	C ₅ HF ₄ O ₂	2706-90-3	8.78	262.976	262.9755	1.8
3	PFFxA	C ₆ HF ₅ O ₂	307-24-4	11.58	312.9728	312.9725	1.2
4	PFFhA	C ₇ HF ₆ O ₂	375-85-9	13.78	362.9696	362.9693	0.8
5	PFOA	C ₈ HF ₇ O ₂	335-67-1	15.65	412.9664	412.9662	0.6
6	PFNA	C ₉ HF ₈ O ₂	375-95-1	17.32	462.9632	462.9631	0.3
7	PFDA	C ₁₀ HF ₉ O ₂	335-76-2	18.90	512.9600	512.9598	0.4
8	PFUDa	C ₁₁ HF ₁₀ O ₂	2058-94-8	20.41	562.9568	562.9571	0.5
9	PFDoA	C ₁₂ HF ₁₁ O ₂	307-55-1	21.88	612.9537	612.9537	0.1
10	PFTriDA	C ₁₃ HF ₁₂ O ₂	72629-94-8	23.32	662.9505	662.9506	0.2
11	PFTeDA	C ₁₄ HF ₁₃ O ₂	376-06-7	24.71	712.9473	712.9471	0.3
12	PFFhDA	C ₁₆ HF ₁₅ O ₂	67905-19-5	27.40	812.9409	812.9409	0.0
13	PFODA	C ₁₈ HF ₁₇ O ₂	16517-11-6	29.87	912.9345	912.9355	1.1
14	PF-3,7-DMOA	C ₁₀ HF ₁₉ O ₂	172155-07-6	17.97	468.9702	468.9704	0.5
15	HPFFhA	C ₈ H ₂ F ₁₂ O ₂	1546-95-8	11.94	344.9790	344.9789	0.3
16	PFBS	C ₈ HF ₉ O ₂ S	29420-49-3	11.63	298.9430	298.9436	2.1
17	PFFhS	C ₈ H ₁₃ O ₃ S	82382-12-5	16.26	398.9366	398.9371	1.2
18	PFFhPS	C ₈ H ₁₅ O ₃ S	21934-50-9	18.07	448.9334	448.9343	1.9
19	L-PFOS	C ₈ HF ₁₇ O ₂ S	4021-47-0	19.74	498.9302	498.9308	1.2
20	L-PFDS	C ₁₀ HF ₂₁ O ₂ S	2806-15-7	22.82	598.9238	598.9243	0.7
21	H4PFuNA	C ₁₁ HF ₂₁ O ₂	2058-94-8	20.41	562.9568	562.957	0.3
22	FOSA	C ₈ H ₂ F ₁₇ NO ₂ S	754-91-6	21.90	497.9462	497.946	0.5
23	N-MeFOSA	C ₉ H ₄ F ₁₇ NO ₂ S	2355-31-9	18.78	511.9619	511.9608	2.0
24	N-EtFOSA	C ₁₀ H ₆ F ₁₇ NO ₂ S	2991-50-6	19.39	525.9775	525.9774	0.2
25	N-MeEtFOSAA	C ₁₁ H ₈ F ₁₇ NO ₂ S	2355-31-9	18.78	569.9673	569.9674	0.2
26	N-EtFOSAA	C ₁₂ H ₁₀ F ₁₇ NO ₂ S	2991-50-6	19.40	583.9830	583.983	0.0
27	FHEA	C ₈ H ₃ F ₁₃ O ₂ S	53826-12-3	13.03	376.9853	376.985	0.7
28	FOEA	C ₁₀ H ₃ F ₁₇ O ₂ S	27854-31-5	16.45	476.9789	476.9783	1.3
29	6:2 FTS	C ₈ H ₄ F ₁₃ NaO ₃ S	27619-94-9	14.89	426.9674	426.9679	1.3
30	8:2 FTS	C ₁₀ H ₄ F ₁₇ NaO ₃ S	27619-96-1	18.13	526.9610	526.9615	1.1
31	HFPO-DA	C ₈ HF ₁₁ O ₃	13252-13-6	12.45	328.9677	328.9672	1.8
32	9Cl-PF3ONS	C ₈ ClF ₁₆ O ₂ S	73606-19-6 (F-53B)	20.88	530.8950	530.8961	2.1
33	11Cl-PF3OUdS	C ₁₀ ClF ₂₀ O ₂ S	83329-89-9	23.88	630.8886	630.8896	1.5
34	ADONA	C ₇ H ₂ F ₁₂ O ₄	958445-44-8	14.51	376.9689	376.9689	0.0

■ 結果および考察

1. PFAS 34 成分のスクリーニングメソッドおよびライブラリの構築

PFAS 34 成分の混合標準溶液を用いて、スクリーニングメソッドを構築しました。PFAS 34 成分の混合溶液から得られた TIC を図 2 に示します。ネガティブモードで測定を行い、PF-3,7-DMOA を除く全ての PFAS は [M-H]⁻ として検出しました。PF-3,7-DMOA は [M-HCOO]⁻ として検出しました。TOF 較正は外部標準法により実施しました。PFAS 34 成分の精密質量の理論値および実測値を表 2 に示します。

理論値および実測値を比較したところ、34 成分の相対質量誤差は 3 ppm 以内でした（ロックマスや内部標準物質を用いた再解析中の TOF 較正は実施していません）。Data-dependent acquisition (DDA) モードで分析を行い、34 成分の MS/MS スペクトルを取得しました。プリカーサイオン、MS/MS スペクトル、保持時間の情報を LabSolutions™ 上でライブラリに登録しました。

2. 地表水に含まれる PFAS のターゲット分析

地表水から得られた PFOA および PFOS の測定結果 (TIC) を図 3 に示します。データ取得は MS スキャンおよび DDA 測定で行いました。サンプルはフィルタリング濾過した後、精製は行わず、50 倍に乾燥濃縮して測定を行いました。溶媒および移動相由来のイオンを除外イオンリストに登録し、DDA 測定を行いました。

予めインハウスライブラリに登録した 34 成分を対象にデータ解析を行いました。登録した PFAS の保持時間、精密質量、MS/MS スペクトルを指標にしたマッチングリストを作成し、ライブラリ検索を行いました。地表水に含まれる PFOA の分析結果を図 4 に示します。PFOA の MS/MS スペクトルの類似度は 92 であり、相対質量誤差は 0.18 ppm でした。

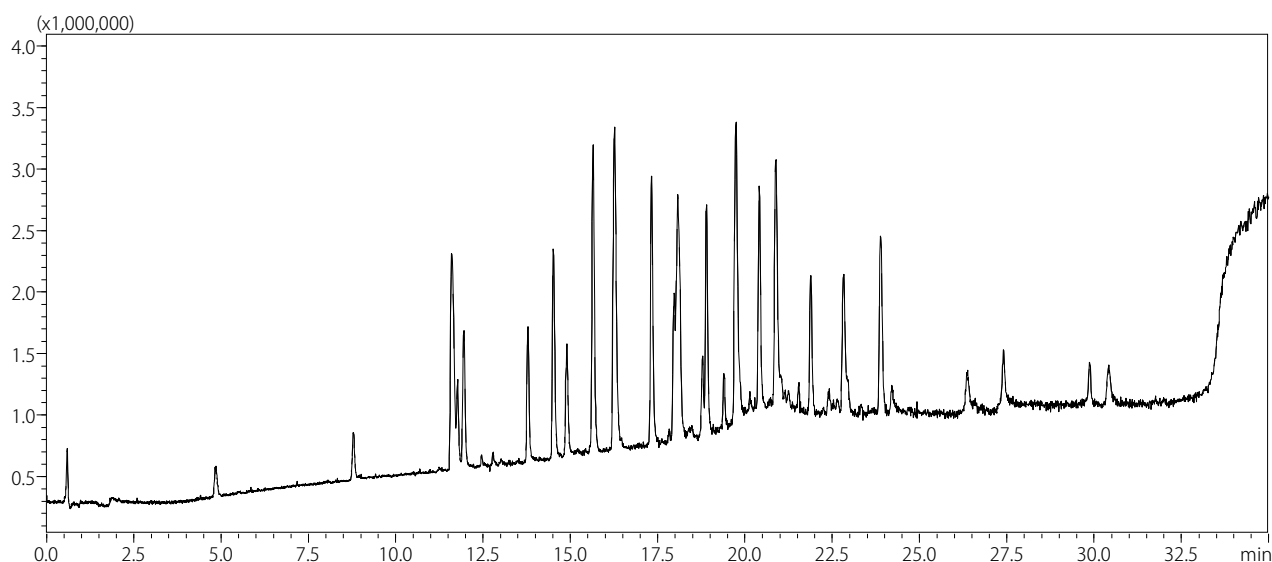


図 2 超純水を用いて 100 ng/mL に希釈した PFAS 34 成分混合溶液の TIC
Peak ID、保持時間、精密質量、相対質量誤差は表 2 参照

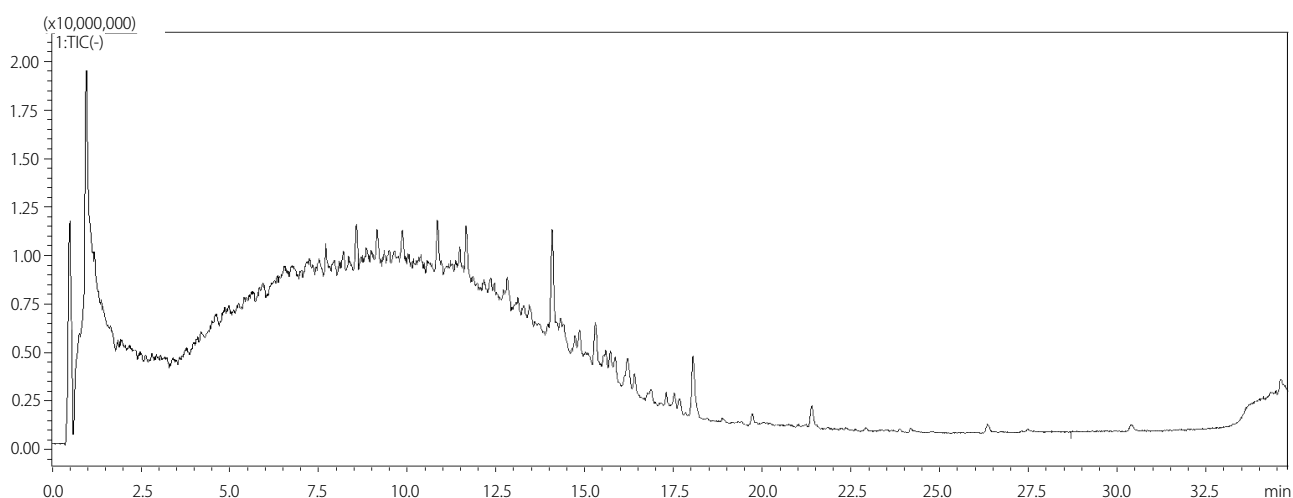


図 3 LCMS-9030 を用いて地表水から得られた TIC

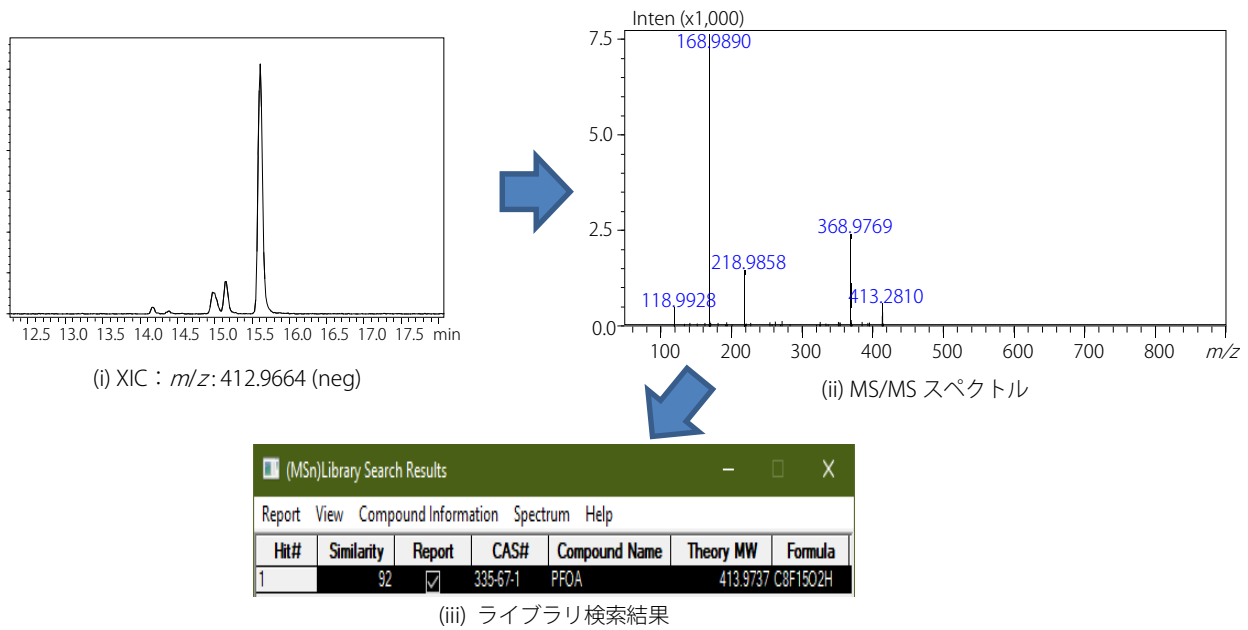


図4 地表水に含まれる PFOA の同定結果
(i) 抽出クロマトグラム (m/z 412.9664) (ii) MS/MS スペクトル (iii) ライブラリ検索結果 (スコア : 92)

3. 未知 PFAS 成分の解析フロー

Q-TOF の DDA 測定では、既知 PFAS 成分を対象としたターゲット分析だけでなく、同時に未知 PFAS 成分の測定および解析が可能です。ここでは未知 PFAS 成分の解析フローを示します。一般的に未知 PFAS 成分の同定を目的としたノンターゲット分析は、化合物の情報が十分でないことから非常に困難です^{2), 3)}。このため、構造情報から詳細に化合物を同定する前に、精密質量情報を用いて PFAS の候補となるピークを探索する、つまり一意の情報を基に絞り込むワークフローを最初に構築する事が重要です。

Mass defect filtering (MDF) 法 :

とりわけ PFAS に対しては、Mass defect filtering (MDF) 法によるスクリーニングが有効です。MDF 法はモノアイソトピック質量から整数質量を差し引いた値 (マスディフェクト) でフィルタリングを行う手法です。PFAS は異なるフッ化炭素鎖の構造を有する一方で、水素 (1.0078 Da) ではなくフッ素 (18.9984 Da) が C 骨格に結合しているという共通の特徴があります。このため、PFAS から負のマスディフェクトが得られます。この規則性を活用して、未知ピークから PFAS 候補のピークをフィルタリングすることができます。今回測定を実施した 34 成分では、-14.7 mDa (FHEA, (-) m/z 376.9853) から -111.4 mDa (11Cl-PF3OUdS, (-) m/z 630.8886) のマスディフェクトが生じるので、マスディフェクトの範囲を -10 mDa から -120 mDa に設定しました。

特徴的なフラグメントイオン :

PFAS を MS/MS 測定した場合、 $C_2F_5^-$ (m/z 118.9926) や $C_3F_7^-$ (m/z 168.9893) などの特徴的なフラグメントイオンが生成されます。その他の部分構造からも特徴的なフラグメントイオンが検出されます。例えば、スルホ基 (-SO₃H) から SO₃⁻ (m/z 79.9574) のイオンが生成されます。また、高いコリジョンエネルギーで MS/MS 測定を行った場合、FSO₃⁻ (m/z 98.9558) が生成されます。これらの非常に特異的なフラグメントイオンを指標として、DDA で取得した MS/MS スペクトルから PFAS の候補となるピークを探索することができます。以上を踏まえて、未知 PFAS 成分のスクリーニングを図 5 のワークフローに沿って実施しました。

4. 地表水に含まれる未知 PFAS の解析

ターゲット分析と同じ地表水をサンプルとして、未知 PFAS 成分のノンターゲット分析を行いました。ノンターゲット分析では上述した MDF 法を用いており、マスディフェクトの閾値を -10 mDa から -120 mDa に設定しました。さらにフラグメントイオン $C_2F_5^-$ および $C_3F_7^-$ の有無を PFAS の判断指標としました。組成推定および構造解析のソフトウェアは LabSolutions Insight Explore™ を使い、後述する構造決定および同定を行いました。未知 PFAS 成分の解析フローを図 6 に示します。その結果、PFAS の候補としてプリカーサイオン m/z 382.94179 を検出しました。このイオンはマスディフェクトが -58.2 mDa であり、MS/MS 測定の結果から $C_2F_5^-$ 、 $C_3F_7^-$ の両イオンを有していることが分かりました。また、組成推定を行った結果、トップヒットした組成式が C₆F₁₃SO₂H であり、相対質量誤差が +0.26 ppm であったことから未知 PFAS 成分の候補としました。MS/MS 測定の結果、C₆F₁₃ および PFAS の末端部を示す FSO₂⁻ が検出されたため、地表水から得られた未知 PFAS 成分は perfluorohexyl sulfinic acid もしくはその類縁体である可能性が高いという結果が得られました。

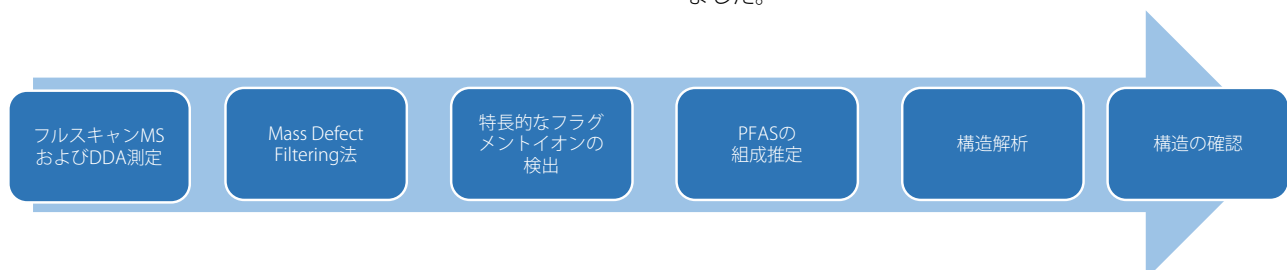
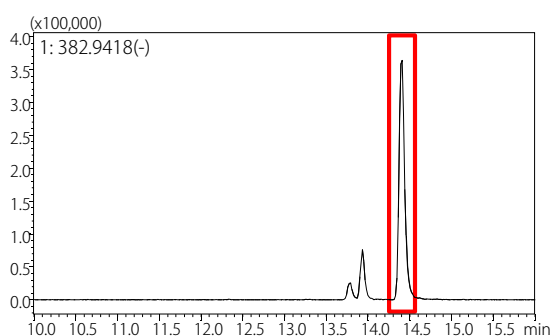
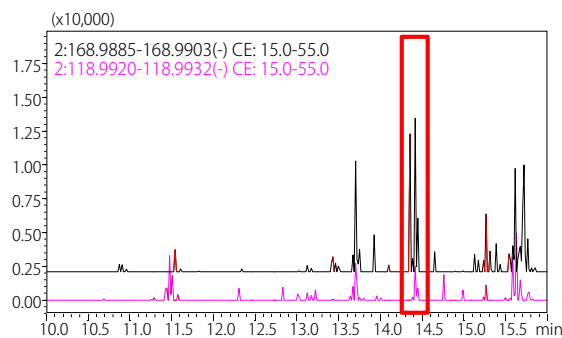


図5 LCMS-9030 を用いた未知 PFAS 成分のスクリーニングおよび解析フロー

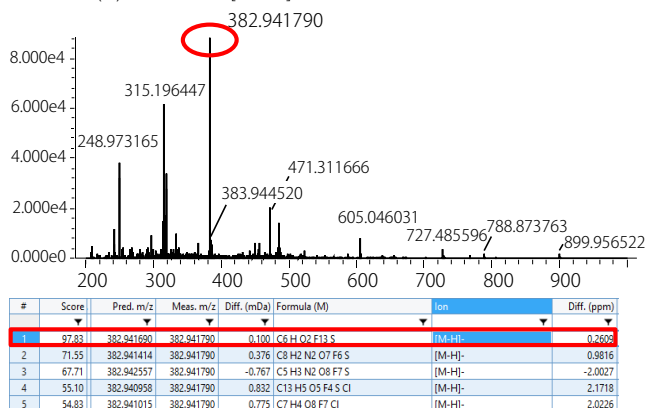


(i) MS スキャン (XIC: m/z 382.9418)
Mass Defect: -58.2 mDa



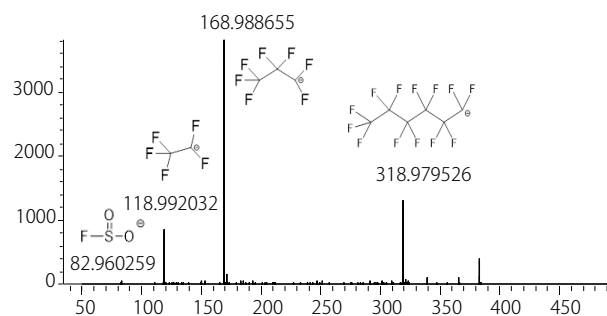
(ii) DDA 測定 (XIC: $C_7F_5^-$, $C_3F_7^-$)

Event#: 1 MS(E-) Ret. Time: [14.409]

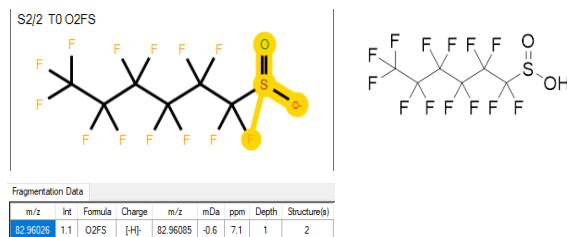


(iii) MS スペクトルと組成推定結果 (スコア: 97)

Event#: 2 MS/MS(E-) Precursor: 382.9418 CE:15.0-55.0 Ret. Time: [14.417]



(iv) MS/MS スペクトルとフラグメントイオンの構造式



(v) perfluoro-hexyl sulfonic acid から得られたフラグメントイオンのアサインメント

図6 未知 PFAS 成分の解析例

(i) MS スキャンから得られた XIC: m/z 382.9417 (ii) DDA 測定から得られた $C_7F_5^-$ および $C_3F_7^-$ の XIC (iii) MS スペクトル組成推定結果
(iv) MS/MS スペクトルとフラグメントイオンの構造式 (v) フラグメントイオンのアサインメント

まとめ

高分解能かつ優れた質量安定性を有する LCMS-9030 を用いて既知および未知 PFAS 成分のスクリーニングメソッドを構築しました。PFAS34 成分の保持時間、MS スペクトル、MS/MS スペクトルを有するインハウスイブラリを用いて既知 PFAS 成分の同定を行いました。MDF 法および PFAS 特有のフラグメントイオンの情報を基に、未知 PFAS 成分の探索及び同定を行いました。今回構築したスクリーニングメソッドを用いて、地表水から PFOA および PFOS を検出すると同時に、PFAS 成分である perfluorohexyl sulfonic acid ($C_6F_{13}SO_2H$) もしくはその類縁体を検出しました。

<参考文献>

- Shoemaker, J. and Dan Tettenhorst. Method 537.1: Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC, 2018.
- EPA Researchers Use Innovative Approach to Find PFAS in the Environment, <https://www.epa.gov/sciencematters/epa-researchers-use-innovative-approach-find-pfas-environment> (Accessed 21 April 2019)
- Y. Liu et al., High-resolution mass spectrometry (HRMS) methods for non target discovery and characterization of poly and per-fluoroalkyl substances (PFASs) in environmental and human samples, Trends in Analytical Chemistry, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.021>

本稿は、SHIMADZU (Asia Pacific) Pte. Ltd より発行された内容 (AD-200A) です。

LCMS、Shim-pack、LabSolutions、および LabSolutions Insight Explore は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行: 2020年7月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。