



Application Note AN-M-017

DIN 38407-53に準拠したトリフルオロ酢酸のIC-MS/MS分析

TFA(トリフルオロ酢酸):懸念が高まるPFAS分解生成物

地表水および飲料水中のトリフルオロ酢酸(TFA)は、その持続性、移動性、ならびに対策手段の限界から懸念されています[1~3]。TFAはPFAS(パーおよびポリフルオロアルキル化合物)の分解生成物として、主に工業施設から放出されますが、二次的な供給源としては、トリフルオロメチル基を含む化合物(例:特定の農薬や冷媒)の分解も挙げられます[4~6]。信頼性の高いモニタリングを確保するため、ドイツの標準化機関DINは直接注入LC-MS/MSを用いた

TFA分析の規格案を策定しました。本手法では、0.1~3.0 µg/Lの範囲でTFAを定量でき、ドイツおよびスイスの12の研究所で検証されています[7,8]。

本アプリケーションノートでは、イオンクロマトグラフィー(IC)とその後のトリプル四重極-質量分析計による質量検出を組み合わせ、検証済みの測定法の設定について説明します。

背景

トリフルオロ酢酸(TFA)は、ポリフルオロカルボン酸類に属する超短鎖のPFAS(ペルフルオロおよびポリフルオロアルキル物質)であり、ペルフルオロオクタン酸(PFOA)と同じグループに属しています(図1)[9]。全体として、TFAの濃度は他のPFASよりも著しく高く、この理由はTFAがそれらの物質の分解生成物であるためです[3]。例えば、ドイツで分析された複数の飲料水において、TFAは測定された総PFASの90%以上を占めていました[9]。

TFAは吸着性がほとんどないため移動性が高く、環境中で広く存在する持続性物質として浮上しており、いくつかの環境的および規制上の懸念を引き起こしています[3~6,10]。TFAの継続的な排出は、雨水や土壌、飲料水に留まらず、人間の血清、植物、植

物性食品においても不可逆的な濃度上昇をもたらしています[3]。

降水中のTFA濃度の測定中央値は、米国で0.29 µg/L [11]、ドイツで0.21 µg/L [1]、中国で0.70 µg/L [12]に達しています。さらに、飲料水中のTFA濃度の中央値は、米国で0.08 µg/L、スイスで0.5 µg/L、さらにはドイツで1.5 µg/Lに及び、これはEU飲料水指令で提案されている飲料水中の総PFASの制限値(0.5 µg/L)と同等かそれを上回る値です[9,13]。

不可逆的影響の閾値は明確ではありませんが、哺乳類を対象とした毒性試験では、TFAが肝臓や生殖に有害であることも示唆されています[3]。

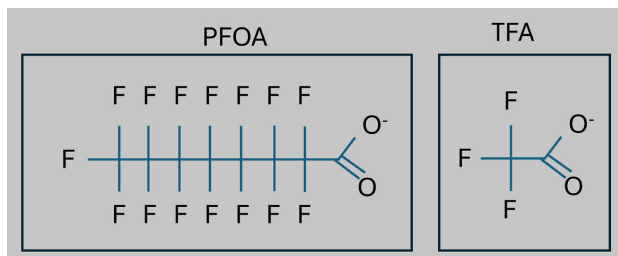


図1. TFAとPFOAはポリフルオロカルボン酸の一種です。PFOAは「C8」と呼ばれ、炭素原子が8個含まれています。一方、このサブグループの中で最も小さいTFAは炭素原子が2個含まれています(Burtscher-Schadenら[9]を参考に改変)。

従来の水処理技術ではTFAの除去効率がほとんどないため、TFAの蓄積リスクが高まっています[3]。そのため、環境・保健当局は、PFAS含有農薬やフッ化ガスの使用制限など、TFAのさらなる生成を抑制するためのより厳格な規制措置を求めています[3,8,9]。

2020年、ドイツ連邦環境庁(UBA)は飲料水中のトリフルオロ酢酸(TFA)の健康ガイドライン値を60 µg/Lに設定しましたが、予防措置として10 µg/Lを超えないように推奨しています[14]。デ

ンマークでは9 µg/L、オランダでは2.2 µg/Lなど、他の国でも同様の制限値が設定されています[15,16]。

信頼性の高いモニタリングの必要性を認識し、ドイツの標準化機関であるDINは、TFA分析の規格案の策定に着手しました[7]。この方法は、直接注入法(LC-MS/MS)を用いて0.1~3.0 µg/Lの範囲のTFAを定量し、ドイツとスイスの12の研究所で検証されています[8]。

DIN 38407-53は、他の多くの規格とは異なり、

HILIC(親水性相互作用クロマトグラフィー)、ミックスモード、逆相(RP)カラムを用いたHPLC、イオンクロマトグラフィーなど、様々なLC技術の使用を認めています[7,8]。

メトロームは、DIN 38407-53 [7,8]に記述されている要件を満たすために、IC-MS/MS分析用にメソッドを改良・カスタマイズしました。本アプリケーション

サンプルと前処理

サンプルセットには8つのサンプルが含まれていました。地下水サンプル2つ、雨水サンプル1つ、飲料水サンプル1つ、表層水サンプル2つ、そしてTFA公称濃度1.18 µg/Lおよび2.87 µg/L [8]でスパイクされた表層水サンプル2つです。

測定

標準試料およびサンプルは、追加の前処理を行うことなく直接注入されました(図 2)。陰イオン交換カラムで分離した後、TFA は アジレント社製 6475 トリプル四重極質量分析計により検出されました。サンプルおよび標準試料の取り扱いは、測定対象液体の安定性を高めるため、889 IC サンプルセンター-coolを用いて行いました。100 µLのフルループ注入を行った。標準試料、ブランク(超純水中の0.1%メタノール)、およびサンプルを含むすべての測定は、3回繰り返して実施した。

TFA は、Metrosep A Supp 17 – 150/4.0 カラムを用いて他の陰イオン種から分離され、さらに陰イオン性有機化合物との分離を改善するためにMetrosep RP2 Guard/3.5 カラムが併用されました。イソクラティック条件下で、炭酸塩系溶出液にメタノールを添加した溶液(5 mmol/L Na₂CO₃、0.2 mmol/L NaHCO₃、および 10% メタノール)を用い、エレクトロスプレーイオン化(ESI)時の蒸発性を向上させました。

ICはMagIC Netソフトウェアによってコントロールされ、導電率測定により、標的のトリフルオロ酢酸に加えて主要な陰イオンの検出が可能になりました。MS信号は、アジレント 6475 TQ MSを用いて記録しました。フラグメンテーション電圧は65.0 Vで

ョンノートでは、メトロームのイオンクロマトグラフ、Metrosep A Supp 17分離カラム、およびAgilentの6475トリプル四重極質量分析計による質量検出(m/z 113および69)を用いたメソッド設定について説明します。このメソッドはすべての要件を満たし、試験室間試験で正常に検証されました。

サンプルはクーラーボックスで輸送され、分析前に4° Cで冷蔵されました。すべてのサンプルは7日以内に分析されました。サンプルおよび標準物質への内部標準は使用されませんでした。

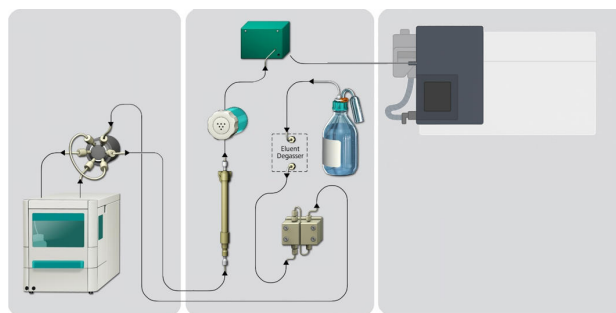


図 2. 水サンプル中の TFA 分析のセットアップは、サンプル注入および冷却用に 889 IC サンプルセンター-cool (左)、メトローム 940 プロフェッショナル IC、およびアジレント・テクノロジーズ社製 6475 TQMS (右) で構成されました。導電率検出器は必須ではありませんが、分析手法開発時には使用を強く推奨いたします。これは、高濃度の陰イオン化合物を効果的にモニターし、これらが ESI-MS/MS に入るのを防ぐことができるためです。

、m/z 113と69のイオンを分離しました。データ取得はアジレント MassHunter Workstation (LC/TQ)ソフトウェアを用いて行いました。2つの装置を同期させるには、リモートボックスが必須です。

システムは 0.2 から 4.0 $\mu\text{g/L}$ の範囲でキャリブレーションされました(図 3)。しかし、キャリブレーション

範囲を 6.0 $\mu\text{g/L}$ まで拡大しても、質量分析 (MS)信号において十分な直線性が確認されました。

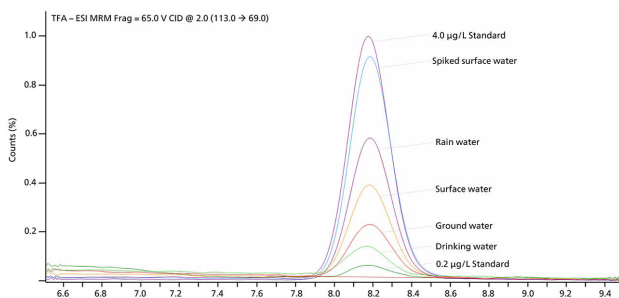


図 3. 様々な水サンプルとTFA標準溶液0.2 $\mu\text{g/L}$ および4.0 $\mu\text{g/L}$ のクロマトグラムを重ね合わせた図。クロマトグラムは、アジレント 6475 TQを用いて、dMRMモード（フラグメンテーション電圧65.0 V（衝突誘起解離、CID）、質量分率113.0~69.0）でMS/MSモードで記録されました。

測定結果

MS 信号の検量線は、DIN 法で要求される通り直線的な関係を示し、 R^2 値は 0.9998 でした。標準試料の精度は、目標濃度と測定濃度との相関に基づいて算出され、98.1%から 110.1% の範囲でした。検出限界(LOD)および定量限界(LOQ)は、それぞれ 0.017 $\mu\text{g/L}$ および 0.062 $\mu\text{g/L}$ と算出され、DIN 32645 [17] に準拠しています。

サンプルを繰り返し3回測定した結果、TFA の測定濃度は飲料水で 0.38 $\mu\text{g/L}$ 、雨水で 1.93 $\mu\text{g/L}$ まで変動しました(表 1)。スパイクした表流水サンプルの名目濃度はそれぞれ 1.18 $\mu\text{g/L}$ および 2.87 $\mu\text{g/L}$ でした。バリデーション試験の結果は 1.28 $\pm$

0.01 $\mu\text{g/L}$ および 2.92 ± 0.01 $\mu\text{g/L}$ であり、それぞれ回収率は 109% および 102% となりました。

サンプルの繰り返し3回測定における変動は 0.3% から 2% の範囲でした。TFA の保持時間(RT)は平均で 8.2 分であり、変動は 0.1% 未満でした。

濃度 0.6 $\mu\text{g/L}$ および 2.0 $\mu\text{g/L}$ の品質管理 (QC) 標準の場合、サンプルシリーズ測定内の繰り返し3回測定での回収率はそれぞれ 100% および 99% でした。

すべての測定結果は、分析方法の妥当性を確認するための国際比較試験の要件を満たしていました。

表 1. TFA に関する水サンプル 繰り返し3回測定結果の概要.

サンプル	1回目 [μg/L]	2回目 [μg/L]	3回目 [μg/L]	平均値 [μg/L]	標準偏差 [μg/L]
地下水	0.7058	0.7031	0.6922	0.7004	0.01
地下水	0.7745	0.7728	0.7602	0.7692	0.01
雨水	1.9488	1.9382	1.9116	1.9329	0.02
飲料水	0.3812	0.3796	0.3856	0.3821	0.00
地表水	1.2145	1.2214	1.2165	1.2175	0.00
地表水	0.9859	0.9649	0.9478	0.9662	0.02
地表水 (1.18 μg/L TFA スパイク)	1.2930	1.2820	1.2732	1.2827	0.01
地表水 (2.87 μg/L TFA スパイク)	2.9365	2.9203	2.9139	2.9236	0.01

結論

DIN 38407-53 の IC-MS/MS による開発およびバリデーションは、イオンクロマトグラフィー(IC)とタンデム質量分析(MS/MS)を組み合わせた分析手法における大きな進展を示しています。特に、IC-MS/MS は TFA のような短鎖フッ素化合物の分析において、マトリックス耐性が高く、カラム寿命が長いという明確なアドバンテージを示しています。

これにより、IC-MS/MS は従来の HPLC 法に対する妥当な代替手法となります。

開発された方法はDIN 38407-53の要件を満たしています。インライン希釈などの自動化機能により、ICを用いたトリフルオロ酢酸分析の実用性がさらに向上します。

参考文献

1. Freeling, F.; Björnsdotter, M. K. Assessing the Environmental Occurrence of the Anthropogenic Contaminant Trifluoroacetic Acid (TFA). *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2023**, *41*, 100807. DOI:10.1016/j.cogsc.2023.100807
2. de los Angeles Garavagno, M.; Holland, R.; Khan, M. A. H.; et al. Trifluoroacetic Acid: Toxicity, Sources, Sinks and Future Prospects. *Sustainability* **2024**, *16* (6), 2382. DOI:10.3390/su16062382
3. Arp, H. P. H.; Gredelj, A.; Glüge, J.; et al. The Global Threat from the Irreversible Accumulation of Trifluoroacetic Acid (TFA). *Environ. Sci. Technol.* **2024**, *58* (45), 19925–19935. DOI:10.1021/acs.est.4c06189
4. Freeling, F.; Behringer, D.; Heydel, F.; et al. Trifluoroacetate in Precipitation: Deriving a Benchmark Data Set. *Environ. Sci. Technol.* **2020**, *54* (18), 11210–11219. DOI:10.1021/acs.est.0c02910
5. Scheurer, M.; Nödler, K.; Freeling, F.; et al. Small, Mobile, Persistent: Trifluoroacetate in the Water Cycle – Overlooked Sources, Pathways, and Consequences for Drinking Water Supply. *Water Res.* **2017**, *126*, 460–471. DOI:10.1016/j.watres.2017.09.045
6. Joerss, H.; Freeling, F.; van Leeuwen, S.; et al. Pesticides Can Be a Substantial Source of Trifluoroacetate (TFA) to Water Resources. *Environ. Int.* **2024**, *193*, 109061. DOI:10.1016/j.envint.2024.109061
7. DIN. DIN 38407-53: German Standard Methods for the Examination of Water, Waste Water and Sludge – Jointly Determinable Substances (Group F) – Part 53: Determination of Trifluoroacetic Acid (TFA) in Water – Method Using Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection (LC-MS/MS) after Direct Injection (F 53), 2024. DOI:10.31030/3581402
8. Dorgerloh, U.; Becker, R.; Freeling, F.; et al. Standardising the Quantification of Trifluoroacetic Acid in Water: Interlaboratory Validation Trial Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometric Detection (LC–MS/MS). *Accreditation Qual. Assur.* **2025**. DOI:10.1007/s00769-025-01640-2
9. Burtcher-Schaden, H.; Clausing, P.; Lyssimachou, A.; Roynel, S. *TFA - A Forever Chemical in the Water We Drink*; PAN Europe Report, 10 July 2024; PAN Europe: Brussels, Belgium, 2024; p 32.
10. ECHA. *Trifluoroacetic acid*. ECHA Chemicals Database. <https://chem.echa.europa.eu/100.000.846/overview?searchText=trifluoroacetic> (accessed 2025-06-17).
11. Pike, K. A.; Edmiston, P. L.; Morrison, J. J.; et al. Correlation Analysis of Perfluoroalkyl Substances in Regional U.S. Precipitation Events. *Water Res.* **2021**, *190*, 116685. DOI:10.1016/j.watres.2020.116685
12. Sun, B.; Wang, J. Food Additives. In *Food Safety in China: Science, Technology, Management and Regulation*, Joseph J. Jen, Junshi Chen (Eds.); John Wiley & Sons Ltd, 2017.
13. European Parliament. DIRECTIVE (EU) 2020/2184 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2020 on the Quality of Water Intended for Human Consumption, 2020.
14. Umweltbundesamt. Ableitung Eines Gesundheitlichen Leitwertes Für Trifluoressigsäure (TFA). *UBA Ger.* **20201305**.
15. Ministry of the Environment and Gender Equality. Executive Order on Water Quality and Supervision of Water Supply Facilities, BEK Nr 1023 of 29/06/2023. **2023**.
16. Dutch National Institute for Public Health. Appendix to RIVM Letter to ILT: "Advice Indicative Drinking Water Guideline Value Trifluoroacetic Acid (TFA)." *Natl.*

Inst. Public Health Environ. RIVM
20230704 2023.

17. DIN. DIN 32645:2008-11: Chemical Analysis - Decision Limit, Detection Limit and Determination Limit under Repeatability Conditions - Terms, Methods, Evaluation, 2008.
[DOI:10.31030/1465413](https://doi.org/10.31030/1465413)

CONTACT

メトロームジャパン株式会
社
143-0006 東京都大田区平
和島6-1-1
null 東京流通センター アネ
ックス9階

metrohm.jp@metrohm.jp

装置構成



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

940 プロフェッショナル IC Vario TWO/SeS/PP は連続サプレッション(1チャンネル)とサプレッサー再生のためのペリスタリックポンプを備えた2チャンネルタイプの-IC装置です。この装置は任意の分離メソッドおよび検出メソッドによって使用することができます。

典型的な使用領域:

- 陰イオンおよび陽イオンの並行測定のための標準装置
- 陰イオンおよび陽イオンのためのトレース分析
- 陰イオンおよび陽イオンのオンラインモニタリング



889 IC Sample Center – cool

889 IC サンプルセンタ – cool は、使用できるサンプルがごく少量である場合の適切なオートメーションのソリューションです。889 IC サンプルセンタに対して本製品は更に冷却機能を有しているので、生化学的に重要な、または熱化学的に不安定なサンプルに最適なサンプルチェンジャーです。



Metrosep A Supp 17 - 150/4.0

分離カラムMetrosep A Supp 17 - 150/4.0 は、環境温度において高い分離性能と短い分離時間を要する陰イオン測定で選択されるカラムです。更に1.4 mL/minという最高流量により、測定を最適化することができます。Metrosep A-Supp-17カラムは、そのコストパフォーマンスの高さで際立っています。



Metrosep RP 2 Guard/3.5

Metrosep RP 2 Guard/3.5 は、分析用分離カラムを汚れからしっかりと保護する、汎用性のある保護カラムです。微粒子、微量の酸化鉄または細菌を確実に取り除きます。Metrosep RP 2 Guard/3.5は、僅かな操作でフィルターディスクを交換できるため、費用節約の助けとなります。