

Application News

高速液体クロマトグラフ質量分析計

オンライン固相抽出装置とトリプル四重極質量分析計を用いた水中のPFAS分析

田中 真穂、前島 希

ユーザーベネフィット

- ◆ 最適化された前処理手法およびLC-MS/MS分析メソッドを用いることで、AOACとEPAがターゲットとする化合物を網羅した43種類のPFASについて0.004 µg/kg、PFOAとPFOSについては0.0004 µg/kgから精度よく定量可能です。
- ◆ オンライン固相抽出装置を用いることで前処理の大幅な省力化と時間短縮が実現可能です。

■はじめに

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 (Per- and Polyfluoroalkyl Substances, PFAS) は、4,000以上の有機フッ素化合物の総称です。代表的な化合物としてはペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) やペルフルオロオクタン酸 (PFOA) が挙げられます。これらの化合物は優れた撥水性や撥油性、耐熱性、耐薬品性を持ち、化学的に非常に安定です。これらの特徴から防火剤や食品包装材、非粘性コーティング剤など幅広い用途に使用されています。PFASは構造的に非常に安定であるため自然界で分解されにくく、環境中における残留性があります。

PFASに汚染された水が供給されている地域では、PFASを含む水道水や飲料水を摂取することによる健康被害が懸念されています。各国において規制が施行されていますが、2024年4月にEPAはPFOAとPFOSに関して世界一低いMaximum Contaminant Levels (MCLs)を発表しました。

本稿では、このEPAのMCLsレベルの検査を目的として、水道水と飲料水中に含まれるPFASを固相 (SPE) カートリッジのコンディショニング、試料負荷、溶出、LC注入を自動化したオンライン固相抽出装置で精製処理し、LC-MS/MSで分析した例を紹介します。AOAC SMPR 2023.003¹⁾がターゲットとする30化合物とEPA method 1633²⁾がターゲットとする40化合物を網羅した43種類のPFASについて定量を行いました。オンライン固相抽出装置を用いた精製方法を検討し、添加回収試験において妥当性を検証しました。SPEによる精製条件やLC-MS/MS分析条件を最適化することにより、すべての化合物で良好な回収率を得ました。また、手作業にかかる時間や作業の手間、精製処理に使用する溶媒量も大幅に削減することが可能となりました。

■サンプルと前処理

標準物質および内部標準物質 (ISTD) は、Wellington Laboratoriesから購入した L-PFUDs、L-PFTrDS、L-PFDoS、10:2 FTSと混合液であるPFAC-MXG、PFAC-MXI、PFAC-MXJ、PFAC30PARおよびMPFAC-HIF-ESを使用しました。サンプルにはラボから採取した水道水と市販の飲料水を使用しました。試料の調製方法を図1に示します。サンプルの水 600 µLに標準物質およびISTDを含めたメタノール溶液をバイアル中に添加で2倍希釈し、調製液としました。

自動固相抽出にはオンラインSPE-LCインターフェイス SPL-W100 (アイスティサイエンス社) を用いました。フローを図2に示します。28%アンモニア水/メタノール/超純水 (1:90:10, v/v/v) 250 µLとギ酸/超純水 (1:1000, v/v) 250 µLでオンラインSPE-LC専用固相カートリッジ「Flash-SPE」をコンディショニング後、調製液 1000 µL を負荷しました。ギ酸/メタノール/水 (1:400:600, v/v/v) 100 µLで洗浄後、28%アンモニア水/メタノール/水 (1:90:10, v/v/v) 60 µLで溶出しました。溶出液はギ酸/超純水 (1:1000, v/v) 120 µLで希釈しながら全量注入し、LC-MS/MS分析しました。

■分析条件

分析はトリプル四重極質量分析計LCMSTM-8060RXと超高速液体クロマトグラフNexeraTM X3 UHPLCシステムを組み合わせて行いました。また、カラム には良好な分離とピーク形状が得られるShim-pack ScepterTM を使用しました。分析条件を表1に示します。溶媒やガラス器具などの分析システム由来のPFAS混入を抑えるため、ディレイカラムを使用しました。本分析ではSUS配管 (300 mm x 0.3 mm I.D., P/N: 228-69955-41) を用いてミキサとオートサンプラの間にディレイカラムを設置しました。ディレイカラムにより移動相由来のPFASの溶出時間が遅くなるため、バイアル中のPFASと分離することができ、サンプル中のPFAS濃度を正確に算出することができます。また、バイアルはPFASが検出されないことを確認したPPバイアル (島津ジーエルシー、P/N: GLC-IVS-100) を使用しました。表2に示す組み合わせで得られたピーク面積値の補正を行いました。

表1 LC-MS/MS分析条件

[HPLC conditions] Nexera X3

Column	: Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 µm) ^{*1}
Delay column	: Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm x 2.1 mm I.D., 3 µm) ^{*2}
Mobile phase A	: 2 mmol/L Ammonium Acetate in Acetonitrile/Water (5:95, v/v)
Mobile phase B	: Acetonitrile
Flow rate	: 0.3 mL/min (0.6 mL/min only between 10.01-12 min)
Gradient program	: B conc. 20% (0 min) → 100% (10-12 min) → 20% (12.01-15 min) The flow was introduced into the mass spectrometer between 1 to 9.6 min using a flow switching valve.
Column temp.	: 40°C

[MS conditions] LCMS-8060RX

Ionization	: ESI, Negative mode
Nebulizing gas	: 2 L/min
Heating gas	: 10 L/min
Drying gas	: 10 L/min
DL temp.	: 200°C
Interface temp.	: 250°C
Heat block temp.	: 400°C
Probe position	: +2 mm

*1 P/N: 227-31014-05

*2 P/N: 227-31014-03

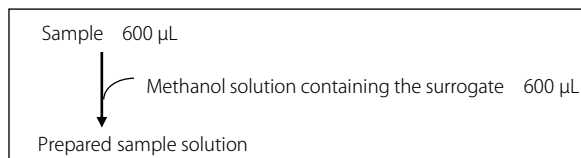


図1 試料調製

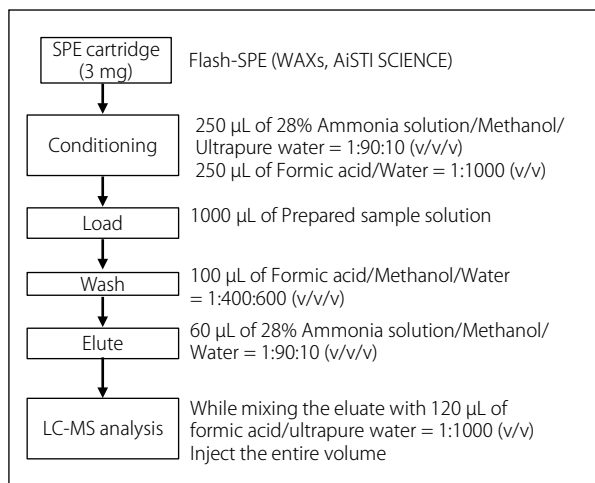


図2 オンライン固相抽出装置による精製操作

表2 補正に使用した内部標準物質

Compound	ISTD	Compound	ISTD
PFBA	$^{13}\text{C}_4$ -PFBA	9Cl-PF3ONS	$^{13}\text{C}_8$ -PFOS
PFPeA	$^{13}\text{C}_5$ -PFPeA	11Cl-PF3OUs	$^{13}\text{C}_3$ -HFPO-DA
PFHxA	$^{13}\text{C}_5$ -PFHxA	HFPO-DA	$^{13}\text{C}_3$ -HFPO-DA
PFHpA	$^{13}\text{C}_4$ -PFHpA	DONA	$^{13}\text{C}_3$ -HFPO-DA
PFOA	$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	4:2 FTS	$^{13}\text{C}_2$ -4:2 FTS
PFNA	$^{13}\text{C}_9$ -PFNA	6:2 FTS	$^{13}\text{C}_2$ -6:2 FTS
PFDA	$^{13}\text{C}_6$ -PFDA	8:2 FTS	$^{13}\text{C}_2$ -8:2 FTS
PFUnA	$^{13}\text{C}_7$ -PFUnA	10:2 FTS	$^{13}\text{C}_2$ -PFDOA
PFDOA	$^{13}\text{C}_2$ -PFDOA	NMeFOSA	D3-NMeFOSA
PFTeDA	$^{13}\text{C}_8$ -PFOSA	NetFOSA	D5-NetFOSA
PFTeDA	$^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA	NMeFOSAA	D3-NMeFOSAA
PFBS	$^{13}\text{C}_3$ -PFBS	NetFOSAA	D5-NetFOSAA
PFPeS	$^{13}\text{C}_4$ -PFHpA	NMeFOSE	$^{13}\text{D}_7$ -NMeFOSE
PFHxS	$^{13}\text{C}_3$ -PFHxS	NetFOSE	D9-NetFOSE
PFHpS	$^{13}\text{C}_6$ -PFDA	3:3 FTCA	$^{13}\text{C}_5$ -PFPeA
PFOS	$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	5:3 FTCA	$^{13}\text{C}_3$ -PFBS
PFNS	$^{13}\text{C}_7$ -PFUnA	7:3 FTCA	$^{13}\text{C}_5$ -PFHxA
PFDS	$^{13}\text{C}_2$ -PFDOA	PFEESA	$^{13}\text{C}_5$ -PFHxA
PFUnDS	$^{13}\text{C}_8$ -PFOSA	PEMPA	$^{13}\text{C}_5$ -PFPeA
PFDOS	$^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA	PEMBA	$^{13}\text{C}_5$ -PFPeA
PFTeDS	$^{13}\text{C}_2$ -PFTeDA	NFDHA	$^{13}\text{C}_5$ -PFHxA
PFOSA	$^{13}\text{C}_8$ -PFOSA		

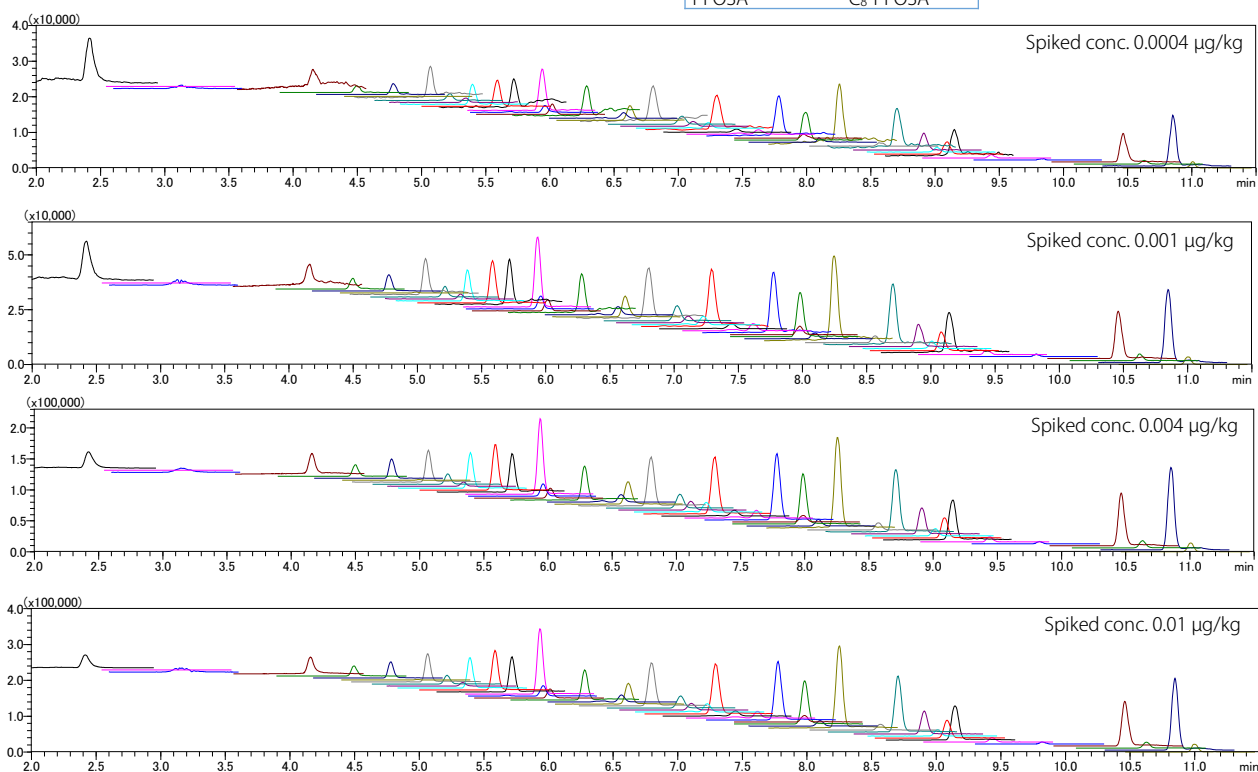
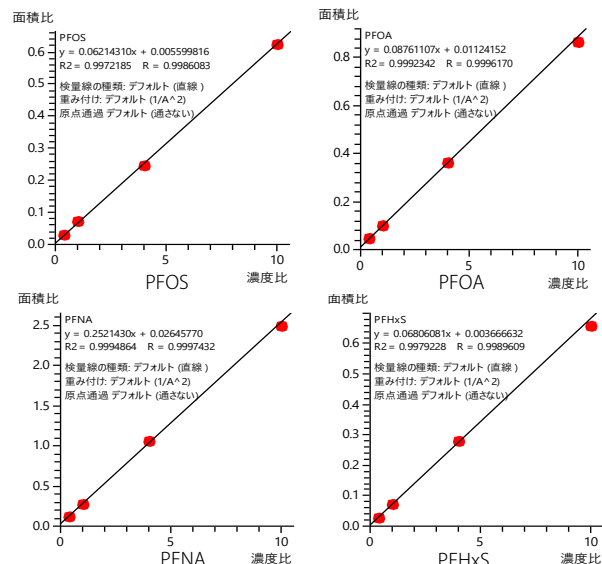


図3 検量線用サンプルのマスキロマトグラム

■ マスキロマトグラムと検量線

43化合物のPFASを一斉分析したマスキロマトグラムを図3に示します。すべての化合物が11分以内に溶出しており、良好な分離を示しています。図には示しませんが、PFOSのMRMトランジションへの影響が懸念されるタウロデオキシコール酸 (TDCA) やタウロケノデオキシコール酸 (TCDCA)、タウロウルソデオキシコール酸 (TUDCA) は、PFOSと十分に分離していることを確認しています。

代表的な化合物 (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS) の検量線を図4に示します。標準品および内部標準を超純水に添加したものを検量線用サンプルとして分析しています。代表的な化合物で添加濃度0.0004から0.01 $\mu\text{g/kg}$ 、PFBA、NMeFOSE、NetFOSE、3:3 FTCA、NFDHAで0.004から0.1 $\mu\text{g/kg}$ の範囲で、5:3 FTCAと7:3 FTCAで0.002から0.05 $\mu\text{g/kg}$ の範囲で検量線を作成しており、決定係数 R^2 がPFBAとPFPeAでは0.98、それ以外の化合物では0.99以上と良好な直線性となっています。

図4 0.0004から0.01 $\mu\text{g/kg}$ (添加濃度) における検量線

*NMeFOSEとNEtFOSEの添加濃度は0.004, 0.01, 0.04, 0.1 µg/kgであった。
*5:3 FTCAと7:3 FTCAの添加濃度は0.002, 0.005, 0.02, 0.05 µg/kgであった。

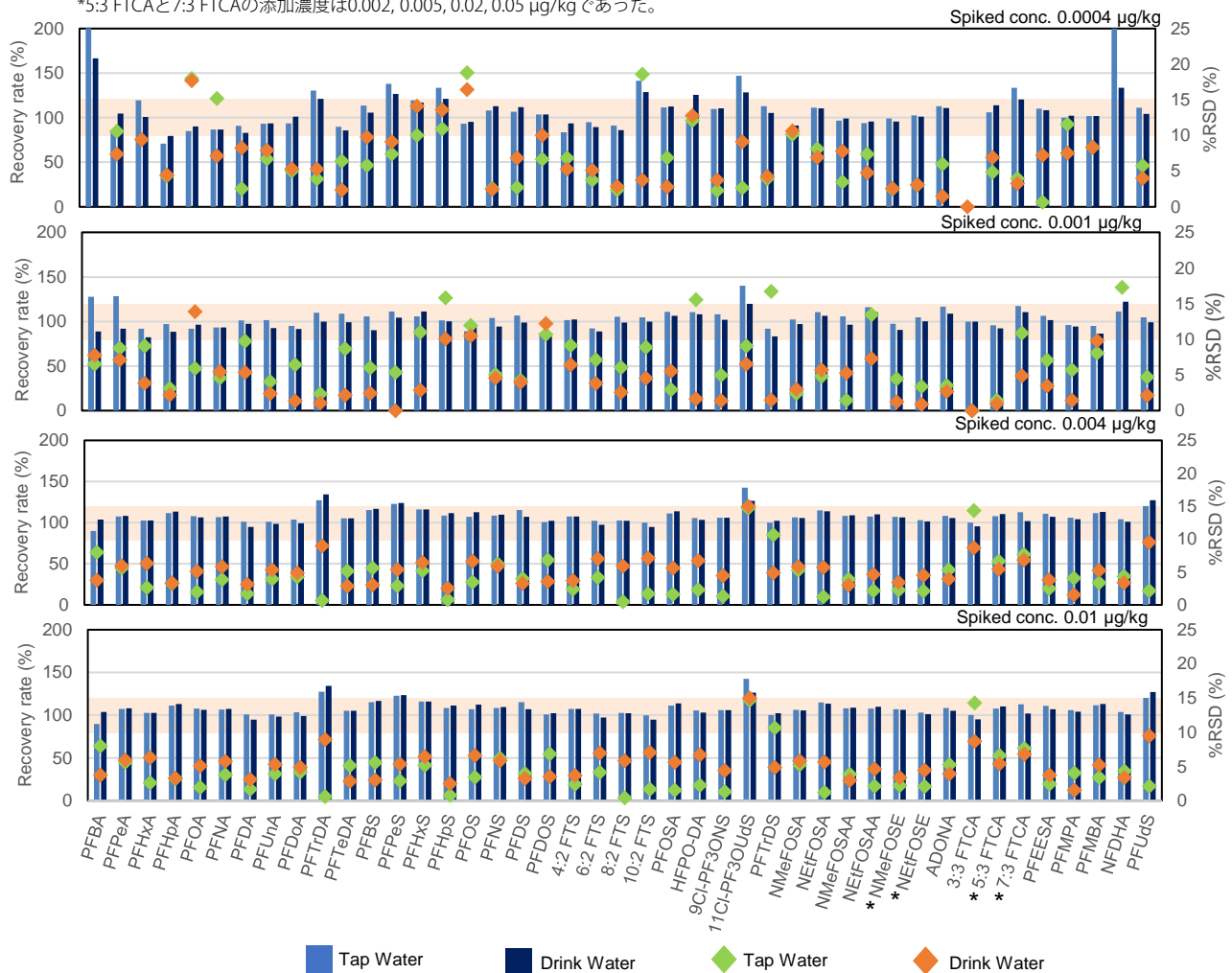


図5 回収率と再現性 (n=3)

■ 添加回収試験

0.0004, 0.001, 0.004, 0.01 µg/kgで添加回収試験を行い、回収率と繰り返し再現性を検証しました。結果を図5に示します。n=3で前処理を行い、内部標準法で作成した検量線で定量しました。EPAの要求基準では、PFOS、PFOAのLOQが0.0004 µg/kg、PFNA、PFHxS、HEPO-DAのLOQが0.001 µg/kgとなるよう指定されています(表3)。今回の検証では、PFOS、PFOAの2成分において添加濃度0.0004 µg/kgで水道水の回収率は93.1%、85.0%で再現性は18.8%以下であり、飲料水の回収率は95.1%、90.0%で再現性は17.7%以下でした。PFNA、PFHxS、HEPO-DAの3成分において添加濃度0.001 µg/kgで水道水の回収率は92.8-110.4%以内、再現性は15.6%以下であり、飲料水の回収率は93.3-111.3%以内、再現性は5.5%でした。他の全化合物において添加濃度0.004 µg/kgで水道水の回収率は92.3-131.9%以内で再現性は14.4%以下、飲料水の回収率は91.8-138.1%以内で再現性は13.3%以下となりました。

表3 EPAの基準

Compound	LOQ (ppt)
PFOS	≤0.4
PFOA	≤0.4
PFNA	≤1
PFHxS	≤1
HEPO-DA	≤1

■ まとめ

本アプリケーションニュースでは水道水と飲料水サンプル中のPFAS分析について紹介しました。添加回収試験を行ったところ、PFOS、PFOAの2成分において添加濃度0.0004 µg/kgで水道水の回収率は93.1%、85.0%で再現性は18.8%以下であり、飲料水の回収率は95.1%、90.0%で再現性は17.7%以下でした。PFNA、PFHxS、HEPO-DAの3成分において添加濃度0.001 µg/kgで水道水の回収率は92.8-110.4%以内、再現性は15.6%以下であり、飲料水の回収率は93.3-111.3%以内、再現性は5.5%でした。他の全化合物において添加濃度0.004 µg/kgで水道水の回収率は92.3-131.9%以内で再現性は14.4%以下、飲料水の回収率は91.8-138.1%以内で再現性は13.3%以下となり、良好な結果が得られたことを確認しました。特に、PFOA、PFNA、PFHxS、PFOSではいずれの添加濃度においても回収率は83.8-119.4%以内となりました。最適化された前処理および分析メソッドを用いることで、0.0004 µg/kgから正確に定量することが可能です。

<参考文献>

- 1) [AOAC SMPR®2023.003](#)
- 2) [Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances \(PFAS\) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS, EPA, 1633A](#)

LCMS、Nexera、およびShim-pack Scepterは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

初版発行：2025年9月
A改訂版発行：2025年10月

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。
本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

＞ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ Nexera™シリーズ
超高速液体クロマトグラフ



＞ LCMS-TQ RX シリーズ
トリプル四重極質量分析計

関連分野

＞ 食品・飲料

＞ 食品添加物

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ