

Application News

トリプル四重極型質量分析計によるEPA M537.1に規定されたPFAS分析

東祐衣¹、Ruth Marfil-Vega²、Yuka Fujito¹、Christopher Gilles²
1 株式会社島津製作所、2 Shimadzu Scientific Instruments, Inc.

ユーザーベネフィット

- ◆ トリプル四重極型質量分析計LCMS-8045は、EPA M537.1で規定されている全てのPFASを高感度かつ高い回収率で分析できます。
- ◆ EPA M537.1に記載の注入量 (10 µL) より少量の5 µLを採用することで堅牢性が向上し、長期運用コストを削減できます。
- ◆ LCMS-8045は、より高感度モデルのLCMS-8050またはLCMS-8060に容易にアップグレードでき拡張性が高いモデルです。

■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、食品包装材料などの日用品や、ポリマー・プラスチック製造などの工業用途で広く使用されています。PFASは汎用性が高く、幅広い用途で使用されていますが、非常に安定で分解しづらい構造のため、環境中に蓄積しやすく、人体への影響が懸念されています。2009年11月に20種のPFAS (14のターゲット、3つのサロゲート、3つの内部標準) を分析するEPA Method 537が発表されました¹⁾。その後、PFAS製造方法の変更により、米国ではPFOAとPFOSが段階的に廃止されました²⁾。そしてEPAは2018年11月にEPA Method 537.1を発表し、近年飲料水中での含有が確認されている代替PFASであるGenX (HFPO-DA)、ADONA、11Cl-PF3OUdS、および9Cl-PF3ONSを新規に対象成分として追加しました。これにより、飲料水中の当初の14のターゲット化合物とともに、新たに追加された成分に対しても評価できるようになりました³⁾。

本稿では、EPA Method 537.1で対象とされているすべての成分に対してLCMS-8045 (図1) で分析した結果を示します。感度・回収率共にEPA Method 537.1の要求を満たす結果を示すことができました。また、すでにEPA Method 537 (参考: [アプリケーションニュースC184A](#)) を分析しているラボにおいても、機器の性能を維持しながらEPA Method 537.1に容易に移行することが可能です。

■装置構成と分析条件

HPLC条件とMS条件を表1に示します。PFASは、試料調製や試料容器、その他の消耗品に存在することがあります。このようなPFASのバックグラウンド汚染の影響を抑えるために、ディレイカラムを使用しました。注入量はEPA M537.1に記載の10 µL より少ない5 µLとすることで装置汚染の可能性を最小限に抑えました。

表1 分析条件

UHPLC (Nexera™-X2 System)	
Analytical Column	: Shim-pack Velox™, 2.1mm x 150mm, 2.7 µm, (P/N 227-32009-04)
Solvent Delay Column	: Shim-pack™ XR-ODS, 2mm x 50mm, 2.2µm, (P/N 228-41605-92)
Mobile phase A	: 20 mM Ammonium Acetate
Mobile phase B	: Methanol (*LCMS グレード)
Flow rate	: 0.25 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 µL
Run Time	: 35 min
MS (LCMS-8045)	
Ionization	: ESI negative
Mode	: MRM
Nebulizing gas	: 3 L/min
Drying gas flow	: 5 L/min
Heating gas flow	: 15 L/min
DL temp.	: 100 °C
Block heater temp.	: 200 °C
Interface temp.	: 100 °C



図1 LCMSTM-8045

■EPA Method 537.1

EPA Method 537.1は、4種のサロゲートと3種の内部標準物質を含む25種のPFAS化合物を分析します。ターゲット化合物およびそれぞれの頭字語、サロゲートと内部標準物質およびそれらの化学分類を表2に示します。本稿では以降、表2の頭字語で化合物名を示します。

表2 ターゲット化合物と頭文字一覧

頭文字	化合物	分類
HFPO-DA	Hexafluoropropylene oxide dimer acid	PFECA
PFHxA	Perfluoro-n-hexanoic acid	PFCA
PFBS	Potassium perfluoro-1-butanedisulfonate	PFAS
PFHpA	Perfluoro-n-heptanoic acid	PFCA
PFOA	Perfluoro-n-octanoic acid	PFCA
PFHxS	Sodium perfluoro-1-hexanesulfonate	PFAS
PFNA	Perfluoro-n-nonanoic acid	PFCA
PFHpS	Sodium perfluoro-1-hexanesulfonate	PFAS
N-MeFOSAA	N-methylperfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid	FOSAA
PFDA	Perfluoro-n-decanoic acid	PFCA
N-EtFOSAA	N-ethylperfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid	FOSAA
PFOS	Sodium perfluoro-1-octanesulfonate	PFAS
PFUdA	Perfluoro-n-undecanoic acid	PFCA
PFDoA	Perfluoro-n-dodecanoic acid	PFCA
PFDS	Sodium perfluoro-1-decanedisulfonate	PFAS
PFTrDA	Perfluoro-n-tridecanoic acid	PFCA
11Cl-PF3OUdS	11-chloroicosafuoro-3-oxaundecane-1-sulfonic acid	PFES
9Cl-PF3ONS	9-chlorohexadecafluoro-3-oxanone-1-sulfonic acid	PFES
ADONA	P4,8-dioxa-3H-perfluorononanoic acid	PFPE
内部標準物質		
13C2-PFOA		IS1
13C4-PFOS		IS2
D3-NMeFOSAA		IS3
サロゲート		
13C2-PFHxA		Surr1
13C2-PFDA		Surr2
D5-NEtFOSAA		Surr3
13C3-HFPO-DA		Surr4

PFECA - Perfluoroalkyl Ether Carboxylic Acids
PFCA - Perfluorinated Carboxylic Acid
PFAS - Per- and Polyfluoroalkyl Substances
FOSAA - Perfluoroalkane Sulfonamido Substances
PFES - Perfluoroelastomers
PFPE - Perfluoropolyethers

MRMクロマトグラム

図2と図3は、EPA Method537と最新のEPA Method537.1でターゲットとなるすべてのPFASのクロマトグラムを示します。分析カラムにはShim-pack Velox, 2.1mmID×150 mm, 2.7μm (P/N 227-32009-04) を用いて PFHxSおよびPFOS異性体を含む化合物を分離することができました。

MRMトランジションは、全化合物に対してフローインジェクション分析 (FIA) で最適化しました。

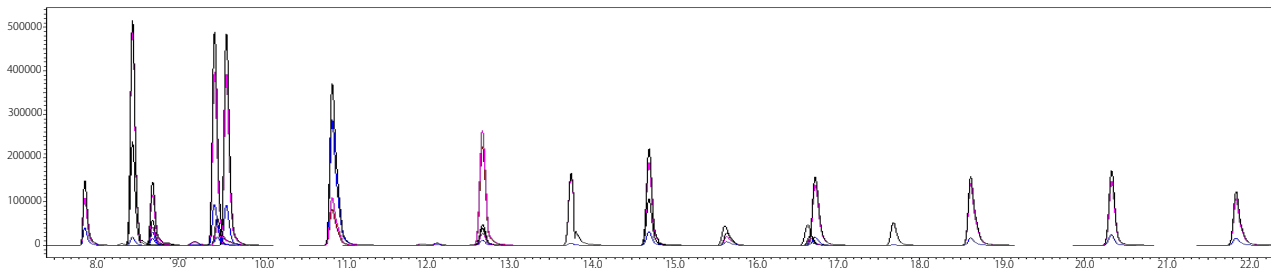


図2 サンプル濃度80 ng/LでのEPA 537.1中の全PFASのMRM (ピンクおよび青) およびTIC (黒) クロマトグラム

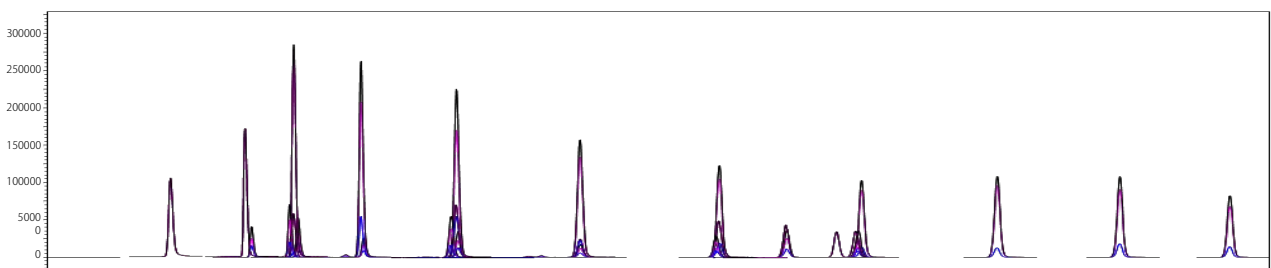


図3 サンプル濃度80 ng/LでのEPA 537中の全PFASのMRM (ピンクおよび青) およびTIC (黒) クロマトグラム

検量線と添加回収試験

5 μLの注入量で、1.25 μg/Lから100 μg/Lの範囲で検量線を作成しました。代表的な検量線とクロマトグラムを図4に示します。これらの溶液濃度は、EPA法537.1で要求される250倍の試料濃度値に対応しています (250 mlの試料を1mLまで濃縮したものをLC/MS/MSに導入)。

作成した検量線を用いて、Low (サンプル濃度 80 ng/L, 溶液濃度 20 μg/L)、Mid (サンプル濃度 200 ng/L, 溶液濃度 50 μg/L)、High (サンプル濃度 400 ng/L, 溶液濃度 100 μg/L) の3つの試料濃度で添加回収試験を行いました。表3に、EPA Method 537.1の全ターゲット化合物の添加回収試験の結果を示します。回収率は全濃度で92~111 %で良好な結果を得ることができました。

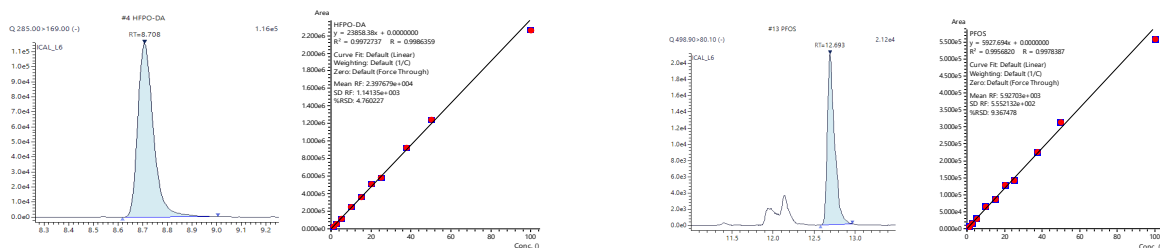


図4 HFPO-DAおよびPFOSのMRMクロマトグラム (試料濃度 80 ng/L) および検量線

表3 EPA Method 537.1におけるすべてのターゲット化合物におけるLow、MidおよびHighレベル添加時の算出濃度と回収率一覧

化合物	保持時間	R ²	Low (80 ng/L)		Mid (200 ng/L)		High (400 ng/L)	
			濃度	添加回収率 (%)	濃度	添加回収率 (%)	濃度	添加回収率 (%)
PFBS	7.883	0.99328	86.8	108	217	108	384	96
PFHxA	8.462	0.99632	84.0	105	210	105	379	94.7
HFPO-DA	8.704	0.99727	85.2	107	210	105	380	94.9
PFHpA	9.451	0.99459	88.8	111	212	106	368	92.1
PFHxS	9.487	0.99419	84.8	106	212	106	369	92.2
ADONA	9.593	0.99770	84.4	106	211	106	383	95.8
PFOA	10.885	0.99611	84.4	106	213	106	374	93.6
PFNA	12.678	0.99633	86.0	108	210	105	375	93.7
PFOS	12.681	0.99568	87.2	109	212	106	378	94.4
9Cl-PF3ONS	13.743	0.99833	83.6	105	210	105	386	96.5
PFDA	14.678	0.99718	85.2	107	212	106	381	95.3
N-MeFOSAA	15.610	0.99724	82.8	104	214	107	382	95.4
N-EtFOSAA	16.618	0.99557	85.6	107	212	106	376	93.9
PFUnA	16.677	0.99736	81.6	102	212	106	382	95.4
11Cl-PF3OUds	17.635	0.99810	82.0	102	212	106	388	96.9
PFDoA	18.590	0.99653	83.6	105	214	107	376	94.1
PFTriA	20.309	0.99644	85.2	107	211	106	376	94.0
PFTreA	21.835	0.99753	85.2	107	210	105	382	95.4

■ MDLの確認

Method detection limit (MDL) は、4 ng/Lの標準試料を添加して、40 CFR Part 136 Appendix Bに記載の方法で算出しました。表4に、検量線から算出した平均濃度、添加回収率、%RSD及びMDL値を示します。また、EPA Method 537.1で新たに追加された化合物のMDL確認時のクロマトグラムを図5に示します。

EPA方法537.1に記載されているすべてのターゲット化合物のMDLは、試料濃度で0.48 ng/L~1.64 ng/Lでした。また、n=8で繰り返し再現性を確認したところ、%RSDは全ての化合物で16%以下と良好な値を示しました。

表4 Method Detection Limit (MDL) の確認結果

化合物	添加濃度 (ng/L)	平均濃度 (ng/L)	平均添加回収率 (%)	%RSD (n=8)	MDL (ng/L)
PFBS	4	3.84	96.0	4.4	0.484
PFHxA	4	3.70	92.5	7.3	0.787
HFPO-DA	4	3.55	88.8	8.6	0.881
PFHpA	4	3.87	96.8	6.2	0.693
PFHxS	4	3.74	93.5	5.7	0.615
ADONA	4	3.72	93.0	5.4	0.585
PFOA	4	3.71	92.8	5.5	0.595
PFNA	4	3.79	94.8	5.2	0.566
PFOS	4	3.76	94.0	11.1	1.213
9Cl-PF3ONS	4	3.63	90.8	7.9	0.825
PFDA	4	3.67	91.8	5.7	0.602
N-MeFOSAA	4	3.55	88.8	15.9	1.637
N-EtFOSAA	4	3.81	95.3	7.3	0.808
PFUnA	4	3.56	89.0	10.2	1.052
11Cl-PF3OUdS	4	3.41	85.2	12.7	1.255
PFDoA	4	3.73	93.3	5.4	0.584
PFTriA	4	3.74	93.5	5.7	0.618
PFTreA	4	3.67	91.8	5.7	0.601

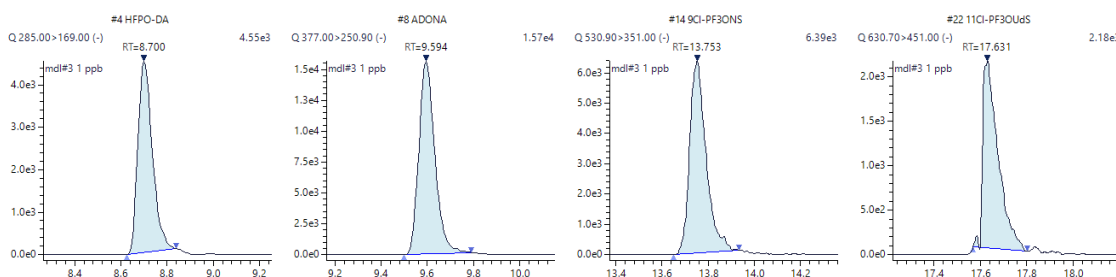


図5 EPA 537.1で新規に登録された化合物のMDL確認時のクロマトグラム (試料濃度 4ng/L)

■ 精度と正確性試験

装置の性能を評価するために、精度と正確性試験を行いました。40 ng/Lと80 ng/Lの2つの濃度でn=8で注入した精度・正確性試験の結果を表5に示します。全化合物の回収率は両濃度で±15%以内であり、EPA Method 537.1のすべてのQC要件を満たしました。

EPA Method 537.1のQC要件には、%RSDが20%未満、検量線の間濃度におけるPFBSおよびPFHxA(最初に溶出する2つの化合物)のシンメトリ係数が0.8~1.5も含まれます。

表5 精度および正確性試験の結果

化合物	添加濃度 (ng/L)	平均濃度	平均添加回収率 (%)	併行精度 (%RSD)	添加濃度 (ng/L)	平均濃度	平均添加回収率 (%)	併行精度 (%RSD)
PFBS	40	43.7	109	3.9	80	87.7	110	5.1
PFHxA	40	43.5	109	4.2	80	85.9	107	5.0
HFPO-DA	40	39.6	99	4.8	80	86.5	108	5.0
PFHpA	40	44.7	112	4.7	80	88.6	111	6.2
PFHxS	40	43.9	110	18.5	80	87.0	109	4.9
ADONA	40	40.6	101	4.2	80	88.6	111	7.4
PFOA	40	42.4	106	4.7	80	84.6	106	5.7
PFNA	40	44.2	110	5.5	80	88.3	110	5.4
PFOS	40	44.6	111	5.5	80	90.0	113	8.3
9Cl-PF3ONS	40	41.1	103	5.0	80	82.7	103	7.4
PFDA	40	42.5	106	3.9	80	84.2	105	5.6
N-MeFOSAA	40	44.1	110	5.7	80	87.0	109	7.7
N-EtFOSAA	40	42.7	107	6.4	80	84.2	105	7.5
PFUnA	40	43.0	108	5.2	80	85.7	107	5.8
11Cl-PF3OUdS	40	41.7	104	4.9	80	82.8	103	10.2
PFDoA	40	43.6	109	4.9	80	85.5	107	5.4
PFTriA	40	42.3	106	5.9	80	85.0	106	5.1
PFTreA	40	42.7	107	3.8	80	84.8	106	5.9

■まとめ

LCMS-8045は、すべてのターゲット化合物についてEPA Method 537.1で定められた性能基準を満たす結果を得ることができました。全ターゲット化合物に対してMDLは0.48~1.64 ng/Lの範囲かつ、85%以上の回収率を得ることができました。これによりLCMS-8045は、EPA Method 537.1で示される飲料水中のPFAS化合物に対して、迅速かつ高感度で信頼性の高い結果を示すことができました。さらに、本稿ではEPA Method 537.1に記載されている注入量(10 uL)より少量の5 uL注入で分析しているため、装置の汚染の要因を最小限にすることで、堅牢性が上がり長期保有時のメンテナンスコスト削減が期待されます。

そしてLCMS-8045は、よりハイエンドモデルのLCMS-8050またはLCMS-8060に容易にアップグレードできるため、検出限界をさらに向上することもできる拡張性の高いモデルです。

■参考文献

- 1) US EPA. Method 537.1, Detections of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Version 1.0, November 2018 <https://www.epa.gov/water-research/epa-drinking-water-research-methods>
- 2) US EPA. Basic Information about Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). <https://www.epa.gov/pfas/basic-information-about-and-polyfluoroalkyl-substances-pfass>
- 3) US EPA. Drinking Water Health Advisories for PFOA and PFOS. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/drinking-water-health-advisories-pfoa-and-pfos>

LCMS、Nexera、Shim-pack VeloxおよびShim-Pack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/>

02-SSI-LCMS-102-JP 初版発行：2024年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

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。