SHIMADZU
Excellence in Science

高速液体クロマトグラフ質量分析計

Application News

トリプル四重極質量分析計を用いた食品中のPFAS分析　その4 (エビ)

William Lipps[1]、Toshiya Matsubara[1]、 Dominika Gruszecka[1]、田中 真穂[2]
1 Shimadzu Scientific Instruments, Inc. 、2 株式会社島津製作所

ユーザーベネフィット

- ◆ 本メソッドおよび前処理方法を用いることで、AOACが指針値を出す30種類のPFASについて分析できます。
- ◆ 定量限界（LOQ）が低く、回収率にも優れた高精度な定量が可能です。
- ◆ 抽出には簡便で迅速なQuEChERS法を使用しています。

■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、1950年代から多くの製品に使用されている人工的につくられた化学物質群です。PFASは、環境汚染された地域での接触や食品加工中、または包装への曝露によって食品に入り込む可能性があります。PFASは深刻な健康影響と関連しているため、正確な分析手法が必要です。

本アプリケーションニュースでは、QuEChERS法を使用してエビ中の30種類のPFASを迅速に抽出しSPE固相カラムで精製しました。分析にはトリプル四重極質量分析計LCMS-8060NXと超高速液体クロマトグラフNexera™ (図1) を使用しました。優れたピーク形状と分離、感度を達成するために、分析条件を最適化しました。感度はPFAS、PFOA、PFHxS、PFNA、PFOSの4化合物で向上しました。

本分析では3種類の濃度の試料を3回繰り返し分析しました。精度を高めるために、安定同位体標識した内部標準物質 (ISTD) で補正し、マトリックス検量線法を用いて定量しました。その結果、回収率と精度、LOQにおいて良好な結果が得られました。

図 1　Nexera™ とLCMS™-8060NX

■サンプルと前処理

標準物質および 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PFAC30PARおよびMPFAC-HIF-ESを使用しました。冷凍エビを室温で解凍し、ドライアイスとともにグラインダーで4,000 rpm、30秒間粉砕しました。粉砕した試料は冷凍庫で一晩保存し、ドライアイスを除去したものを前処理で用いました。

試料を10 g計量し、アセトニトリル10 mLを加えました。1分間振とうし、Q-Sep QuEChERSを加えました。さらに1分間振とうした後、4,000 rpmで5分間遠心分離しました。アセトニトリル層6 mLを新しいチューブに移し、超純水24 mLで希釈しました。試料を弱陰イオン交換 (WAX) 固相抽出 (SPE) カートリッジに通し、塩基性メタノールで溶出しました。抽出液2 mLをメタノール-水混合液400 µLに濃縮し、LC-MS/MS分析しました。

■分析条件

分析条件を表1に示します。本研究では、PFOA、PFHxS、PFNA、およびPFOSの優れたピーク形状と分離、およびSN比の最大化を達成するために、1984種類のLC、MSパラメータと6種類のカラムおよび移動相比率の組み合わせを評価しました。質量分析はエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) のネガティブモードで行いました。MRM最適化によって得られた各化合物のMRMトランジションと補正に使用したISTDの組み合わせを表2に示します。

表 1　LC-MS/MS分析条件

[HPLC conditions] Nexera

Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 µm)
Delay column	: Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm x 2.1 mm I.D., 3 µm)
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)
Column temp.	: 40 ℃
Injection volume	: 10 µL

[MS conditions] LCMS-8060NX

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

表 2　MRMトランジションと内部標準

Analyte	Quantitation Ion	Qualifier Ion	Internal Standard
PFBA	212.9 > 168.8		$^{13}C_4$-PFBA
PFPeA	262.9 > 218.8		$^{13}C_5$-PFPeA
PFHxA	313.0 > 268.8	313.0 > 118.9	$^{13}C_5$-PFHxA
PFHpA	362.9 > 318.9	362.9 > 168.8	$^{13}C_4$-PFHpA
PFOA	412.9 > 368.9	412.9 > 168.8	$^{13}C_8$-PFOA
PFNA	462.9 > 418.5	462.9 > 218.6	$^{13}C_9$-PFNA
PFDA	512.9 > 468.95	512.9 > 268.55	$^{13}C_6$-PFDA
PFUnA	562.9 > 518.95	562.9 > 269.0	$^{13}C_7$-PFUnA
PFDoA	612.9 > 268.6	612.9 > 168.6	$^{13}C_7$-PFUnA
PFTrDA	663.0 > 618.6	663.0 > 168.5	$^{13}C_7$-PFUnA
PFTeDA	713.0 > 669.0	713.0 >168.5	$^{13}C_7$-PFUnA
PFBS	298.8 > 79.8	298.8 > 98.9	$^{13}C_5$-PFHxA
PFPeS	348.8 > 79.8	348.8 > 98.9	$^{13}C_4$-PFHpA

Analyte	Quantitation Ion	Qualifier Ion	Internal Standard
PFHxS	398.8 > 79.8	398.8 > 98.9	$^{13}C_3$-PFHxS
PFHpS	448.8 > 79.8	448.8 > 99.0	$^{13}C_6$-PFDA
PFOS	498.8 > 79.8	498.8 > 98.9	$^{13}C_8$-PFOS
PFNS	548.9 > 79.8	548.8 > 99.0	$^{13}C_7$-PFUnA
PFDS	598.8 > 99.0	598.8 > 79.8	$^{13}C_7$-PFUnA
PFUnDS	649.0 > 99.0	649.0 > 80.0	$^{13}C_8$-PFOS
PFDoS	699.0 > 80.0	699.0 > 99.0	$^{13}C_2$-PFDoA
PFTrDS	749 .0 > 80.0	749.0 > 279.6	$^{13}C_7$-PFUnA

Analyte	Quantitation Ion	Qualifier Ion	Internal Standard
PFOSA	498.0 > 78.0	498.0 > 477.95	$^{13}C_8$-PFOSA
9Cl-PF3ONS	530.8 > 350.8	532.9 > 352.95	$^{13}C_8$-PFOS
11Cl-PF3OUdS	631.0 > 451.0	632.9 > 452.95	$^{13}C_7$-PFUnA
HFPO-DA	284.8 > 168.8	284.8 > 118.9	$^{13}C_3$-HFPO-DA
DONA	376.9 > 250.8	376.9 > 84.9	$^{13}C_4$-PFHpA
4:2 FTS	326.9 > 80.9	326.9 > 306.8	$^{13}C_2$-4:2 FTS
6:2 FTS	426.9 > 80.8	426.9 > 406.9	$^{13}C_2$-6:2FTS
8:2 FTS	526.9 > 506.45	526.9 > 80.55	$^{13}C_3$-PFHxS
10:2 FTS	626.9 > 606.7	626.9 > 80.9	$^{13}C_7$-PFUnA

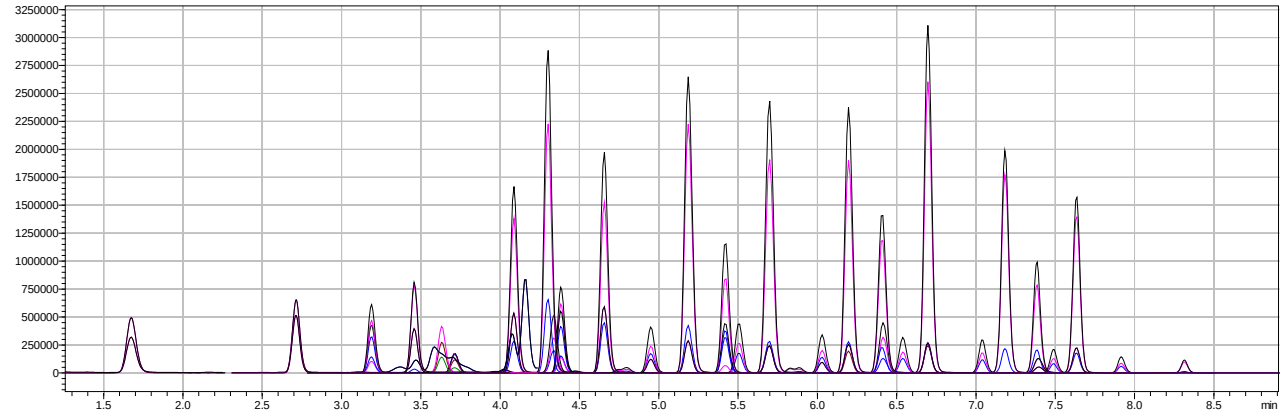

図 2　エビマトリックス中PFAS (添加濃度 0.55 µg/kg) のMRMクロマトグラム

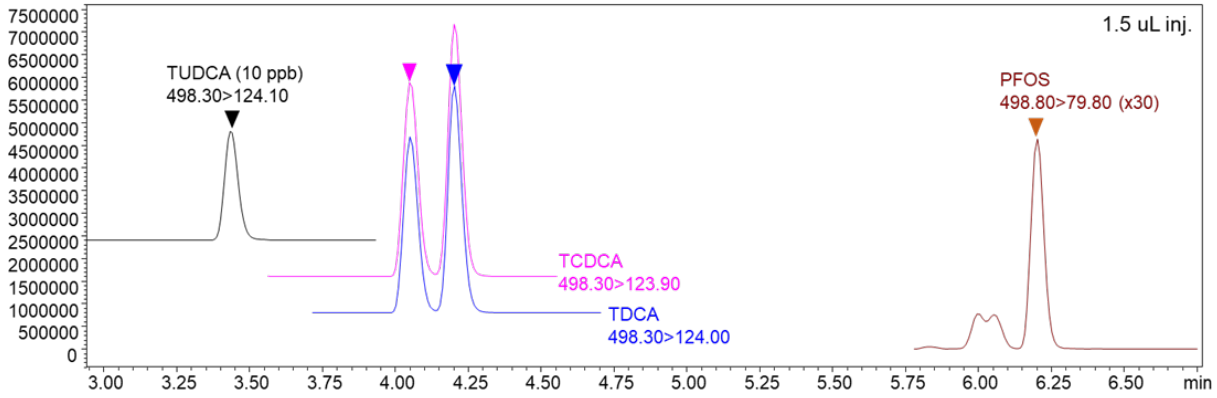

図 3　PFOSと三種の胆汁酸のMRMクロマトグラム

■MRMクロマトグラムと検量線

30化合物のPFASを一斉分析したMRMクロマトグラムを図2に示します。すべての化合物が9分以内に溶出しており、良好な分離を示しています。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 (図3)。

代表的な化合物の検量線を図4に示します。食品サンプルに標準品および内部標準を添加してから前処理したものを検量線用サンプルとして分析しています。すべての化合物で添加濃度0.001から10 µg/kgで検量線を作成しました。各濃度における測定結果の%RSDは25%以内であり、信頼性の高い結果が得られました。

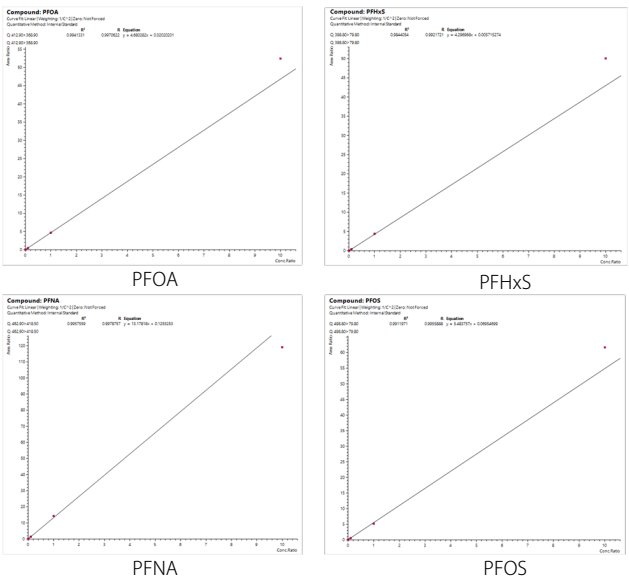

図 4　0.001から10 µg/kg (添加濃度) における検量線

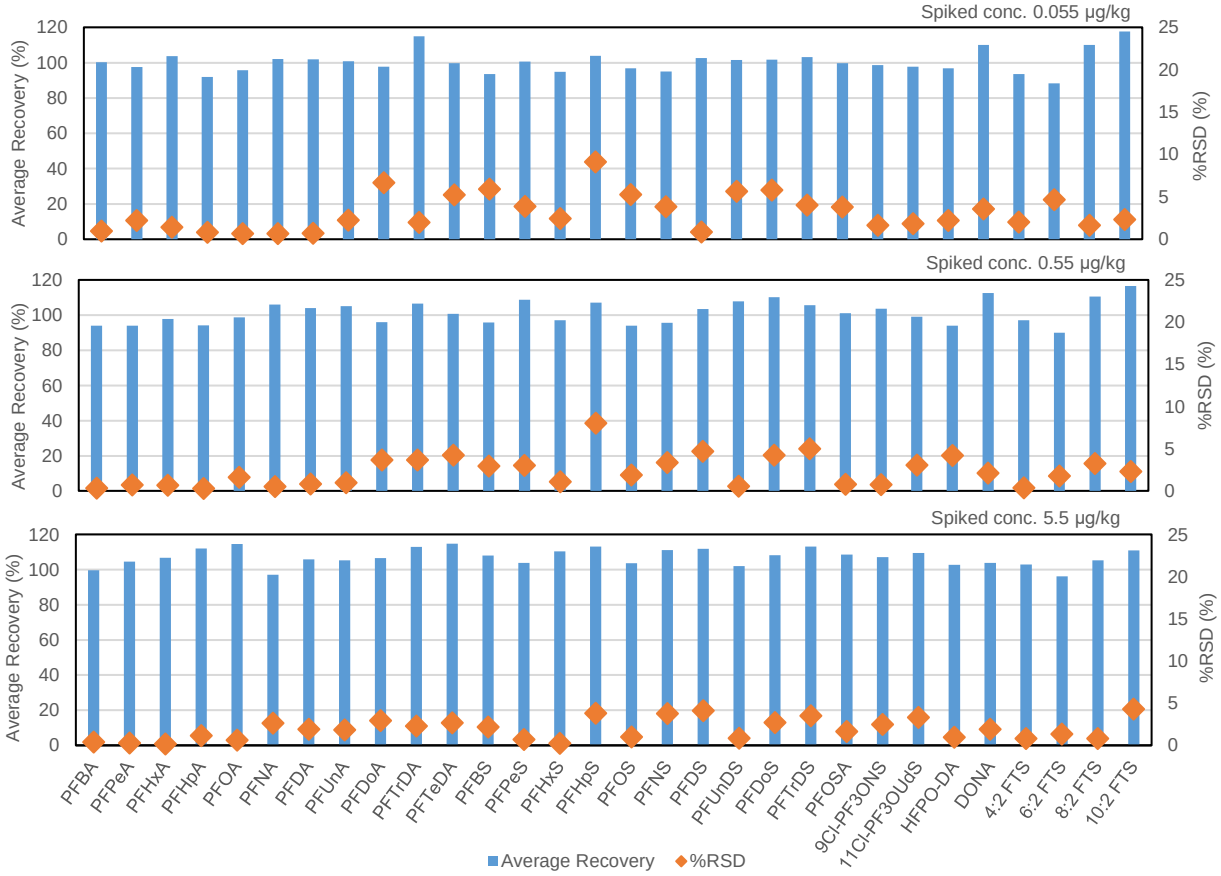

図 5　回収率と再現性 (n = 3)

■添加回収試験

添加濃度0.055、0.55、5.5 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、マトリックス検量線で定量しました。表3に示す組み合わせで面積値の補正を行いました。実験的に求めたLOQを表3に示します。シーフードに対するAOAC　SMPRの要求基準では、PFOS、PFOA、PFNA、PFHxSは、LOQが0.3　µg/kg、回収率が80-120%、再現性が20%以下となるよう指定されています (表4)。その他のPFASはLOQが3.0　µg/kg、回収率が65-135%、再現性が25%以下となっています。いずれの化合物でも、添加濃度0.055、0.55、5.5　µg/kgで回収率が80-120%以内、再現性は20%以下となり、良好な結果となりました。

表3　実験的に求めたLOQ

Acronym	LOQ (µg/kg)	Acronym	LOQ (µg/kg)
PFBA	0.055	PFOS	0.055
PFPeA	0.0055	PFNS	0.0055
PFHxA	0.0055	PFDS	0.0055
PFHpA	0.055	PFUnDS	0.0055
PFOA	0.0055	PFDoS	0.0055
PFNA	0.0055	PFTrDS	0.055
PFDA	0.0055	PFOSA	0.055
PFUnA	0.0055	9Cl-PF3ONS	0.0055
PFDoA	0.055	11Cl-PF3OUdS	0.0055
PFTrDA	0.055	HFPO-DA	0.055
PFTeDA	0.055	DONA	0.0055
PFBS	0.055	4:2 FTS	0.055
PFPeS	0.055	6:2 FTS	0.55
PFHxS	0.0055	8:2 FTS	0.0055
PFHpS	0.0055	10:2 FTS	0.0055

表 4　AOAC SMPRの基準(シーフード)

Compound	LOQ (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (%)
PFOS	≦0.3	80-120	≦20
PFOA	≦0.3	80-120	≦20
PFNA	≦0.3	80-120	≦20
PFHxS	≦0.3	80-120	≦20
Other PFAS	≦3	65-135	≦25

■まとめ

本アプリケーションニュースではエビ中のPFAS分析について紹介しました。分析はトリプル四重極質量分析計LCMS-8060NXと超高速液体クロマトグラフNexeraシステムを組み合わせて行いました。添加回収試験を行い、すべての化合物で良好な回収率および再現性を確認しました。特に、PFOS、PFOA、PFNA、PFHxSではすべての添加濃度における回収率が90-120%以内、再現性が10%以下になりました。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、低濃度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

<関連アプリケーション>

1.トリプル四重極質量分析計を用いた食品中のPFAS分析　その1 (魚の切身)　Application News No.01-00750

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-157-JP　初版発行：2025年 5月

島津コールセンター　0120-131691

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

食品汚染

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