

Application News

高速液体クロマトグラフ質量分析計

EPA Method 1633Aに準拠した高い堅牢性を有するPFASの高感度分析

Om Shrestha¹、Eishi Imoto¹、Toshiya Matsubara¹、田中 真穂²

¹ Shimadzu Scientific Instruments, R&D center、² 島津製作所

ユーザーベネフィット

- ◆ LCMS™-8065XEを用いることで、EPA Method 1633Aの定量下限（LLOQ）に対して最大で80倍の感度で分析可能です。
- ◆ 本手法を用いることで、EPA Method 1633Aの要件を満たしつつ、測定時間を10分に短縮した分析が実現可能です。
- ◆ 本手法により、マトリックス試料を7日間で900回以上連続注入しても性能が安定しており、高い堅牢性を有する分析が可能です。

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化合物（PFAS）は、産業用途や消費者製品で広く使用される合成化学物質群です。PFASは環境中に残留しやすく、潜在的な健康リスクが指摘されているため、重要な環境問題となっています。米国環境保護庁（EPA）は、さまざまな環境および生物学的マトリックスにおけるPFAS汚染を監視するため、EPA Method 1633Aなどの標準化された分析手法を策定しました。

本アプリケーションでは、EPA Method 1633Aに基づき、PFAS分析における LCMS-8065XE（図1）の性能を評価しました。1週間にわたる安定性の評価を通じて、本手法が日常的なPFAS分析に適しているかを検証しました。サンプルの抽出、調製、分析を含むすべてのワークフローは、EPA Method 1633Aのガイドラインに従って実施しました。

得られた結果は、装置の堅牢性と最小限のダウンタイムを示しており、迅速かつ信頼性の高いPFAS測定を求める検査機関や研究室にとって有用であることを示しています。



図1 LCMS™-8065XE
低拡散ネブライザーノズルとIonFocus™技術の組み合わせにより、高感度と堅牢性を両立しています。

メソッドの概要

本アプリケーションでは、24種類の抽出内部標準（EIS）および7種類の非抽出内部標準（NIS）を用いて、40種類のPFAS化合物を対象に分析を行いました。標準混合液には、Wellington Laboratories（オンタリオ州、カナダ）のメタノール中PFAS標準混合物（PFAC-MXF、PFAC-MXG、PFAC-MXH、PFAC-MXI、PFAC-MXJ、MPFAC-HIF-ES、MPFAC-HIF-IS）を使用しました。対象成分、EIS、NISの化合物を表1に示します。

対象成分、EIS、NISの三種類を含む添加試料は、メタノールで希釈して調製しました。検量線は、メタノールに4%の水、1%水酸化アンモニウム、および0.625%酢酸を添加した溶媒を用いて作成しました。希釈により得られた濃度範囲は対象成分では2.5~62、400 ng/L、EISでは1.0~20.0 µg/L、NISでは1.0~4.0 µg/Lでした。対象成分の2.5 ng/Lは組織中で0.00625 ng/gに相当します。すべての標準溶液は、200 µL インサート入りの1.5 mL 褐色シラン化ガラスバイアルを用い、PE/シリコン製スクリュウキャップで密封しました。2 gの鶏組織サンプルを処理し、5 mLの溶媒を用いて、抽出作業を行いました。

表1 EPA Method1633A 化合物リスト

#	Type	Name	#	Type	Name
1	Target	PFBA	1	EIS	13C4-PFBA
2	Target	PFMPA	2	EIS	13C5-PFPeA
3	Target	3:3 FTCA	3	EIS	13C2-4:2 FTS
4	Target	PFPeA	4	EIS	13C5-PFHxA
5	Target	PFMBA	5	EIS	13C3-PFBS
6	Target	4:2 FTS	6	EIS	13C3-HFPO-DA
7	Target	NFDHA	7	EIS	13C4-PFHpA
8	Target	PFHxA	8	EIS	13C2-6:2FTS
9	Target	PFBS	9	EIS	13C8-PFOA
10	Target	HFPO-DA	10	EIS	13C3-PFHxS
11	Target	5:3 FTCA	11	EIS	13C9-PFNA
12	Target	PFEESA	12	EIS	13C2-8:2FTS
13	Target	PFHpA	13	EIS	D3-NMeFOSAA
14	Target	PFPeS	14	EIS	13C6-PFDA
15	Target	ADONA	15	EIS	D5-NEtFOSAA
16	Target	6:2 FTS	16	EIS	13C8-PFOS
17	Target	PFOA	17	EIS	13C7-PFUnA
18	Target	PFHxS	18	EIS	13C2-PFDoA
19	Target	7:3 FTCA	19	EIS	13C8-PFOSA
20	Target	PFNA	20	EIS	13C2-PFTeDA
21	Target	PFHpS	21	EIS	D7-NMeFOSE
22	Target	8:2 FTS	22	EIS	D3-NMeFOSA
23	Target	NMeFOSAA	23	EIS	D9-NEtFOSE
24	Target	PFDA	24	EIS	D5-EtFOSA
25	Target	NEtFOSAA	1	NIS	13C3-PFBA
26	Target	PFOS	2	NIS	13C2-PFHxA
27	Target	PFUnA	3	NIS	13C4-PFOA
28	Target	9CI-PF3ONS	4	NIS	18O2-PFHxS
29	Target	PFNS	5	NIS	13C5-PFNA
30	Target	PFDOA	6	NIS	13C2-PFDA
31	Target	PFOSA	7	NIS	13C4-PFOS
32	Target	PFDS			
33	Target	PFTeDA			
34	Target	11CI-PF3OUdS			
35	Target	PFTeDA			
36	Target	PFDOS			
37	Target	NMeFOSE			
38	Target	NMeFOSA			
39	Target	NEtFOSE			
40	Target	NEtFOSA			

■ サンプルの前処理方法

本アプリケーションでは、EDGE PFASシステム（図2）を用いて自動抽出を行いました。サンプル前処理のフローを図3に示します。マトリクスとして、約2 gの鶏組織をQカップに秤量しました。各サンプルには、25 μ LのMPFAC-HIF-ESおよび40 μ LのPFAS混合溶液を添加しました。抽出液に10 mgの活性炭を添加し、5分間手で振とうして混合しました。

メソッドブランク（MB）は、EISのみを添加して、調製を行いました。その後、抽出液を固相抽出（SPE）を用いて精製を行いました。各カートリッジには抽出前にシリラン化ガラスウールを充填し、1%水酸化アンモニウムを含むメタノールでプレコンディショニングしました。

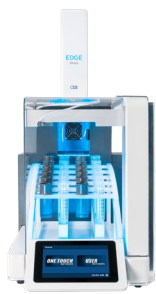


図2 EDGE PFAS (CEM)
実サンプルからのPFAS抽出を自動化します。

EDGE PFASによる自動抽出手順

Cycle 1	<ul style="list-style-type: none"> • Weigh 2 grams of tissue sample into Q-Cup • 0.05 M KOH in methanol, 10mL, 65 °C, 3 min
Cycle 2	<ul style="list-style-type: none"> • Acetonitrile, 10mL, 65 °C, 3 min
Wash 1	<ul style="list-style-type: none"> • IPA, 10 mL
Wash 2	<ul style="list-style-type: none"> • 0.05 M KOH in methanol, 10 mL, 65 °C, 0.5 min
Wash 3	<ul style="list-style-type: none"> • 0.05 M KOH in methanol, 10 mL

精製手順

Condition	<ul style="list-style-type: none"> • Insertion of silanized glass wool to the WAX SPE cartridge • 15 mL 1% methanolic ammonium hydroxide • 5mL 0.3 M formic acid
Sample Loading	<ul style="list-style-type: none"> • 5 mL/min
Washing	<ul style="list-style-type: none"> • 5 mL Water (twice) • 5mL 1:1 0.1M formic acid/methanol
Elution	<ul style="list-style-type: none"> • 5mL 1% methanolic ammonium hydroxide
Cleanup	<ul style="list-style-type: none"> • 25 μL Acetic Acid • Handshake • Transfer to LC vial

図3 抽出と精製の手順

サンプルを5 mL/minの流速でWAXカートリッジにロードしました。カートリッジはまずLC/MS用の水で洗浄し、次に0.1 mol/Lギ酸：メタノール=1：1 (v/v)の溶媒で洗浄した後、真空下で15秒間乾燥させました。チューブ内面を1%水酸化アンモニウムを含むメタノールですすぎ、その溶出液をWAXカートリッジに通して溶出を行いました。各抽出液に酢酸を添加し、5分間振とうした後、10分間遠心分離しました。上清を1 mLの褐色シリラン化ガラスバイアルに移し、0.5 μ LのMPFAC-HIF-ISを添加した後、ボルテックスで攪拌してLC-MS/MS分析に供しました。

■ 分析条件

LC-MS/MS分析は、島津製作所のトリプル四重極質量分析計 LCMS-8065XE と Nexera™ 40 シリーズ UHPLC を組み合わせて実施しました。PFAS の装置由来の汚染を最小限に抑えるため、ミキサーと高圧バルブの間にディレイカラムを設置しました。LC および MS の分析条件は表2および表3に示します。解析には、検量線、インストゥルメントブランク（IB）、検量線検証（CV）、メソッドブランク（MB）、および標品を添加した鶏組織サンプルを含めました。

堅牢性試験は、CV、MB、および標品を添加した鶏組織サンプルを継続的にモニターすることで実施しました。バイアル壁に吸着している可能性のあるPFAS 化合物を再懸濁するため、各バイアルをボルテックスで攪拌してからLC-MS/MS分析に供しました。PFAS はガラス表面に吸着しやすいことが知られているため、この操作により相対標準誤差（RSE）の改善が得られました。

表2 LC条件

System	Nexera X3
Delay Column	Shim-pack Scepter C18-120, 2.1 \times 100 mm, 3 μ m*1
Analytical Column	Shimadzu Scepter C18-120, 2.1 \times 50 mm, 1.9 μ m*2
Flow rate	0.3 mL/min
Mobile phase A	2mM Ammonium Acetate in Water
Mobile phase B	Acetonitrile
Injection volume	5 μ L standard injection
Oven temperature	35°C
Measurement time	10 min

*1 P/N: 227-31014-05 *2 P/N: 227-31012-03

表3 MS条件

System	LCMS-8065XE
Nebulizing gas	1.1 L/min
Heating gas	15.0 L/min
Drying gas	5.0 L/min
Interface Temperature	225 °C
DL Temperature	200 °C
Heat Block Temperature	250 °C
Interface voltage	-0.5 kV
Focus voltage	0 kV

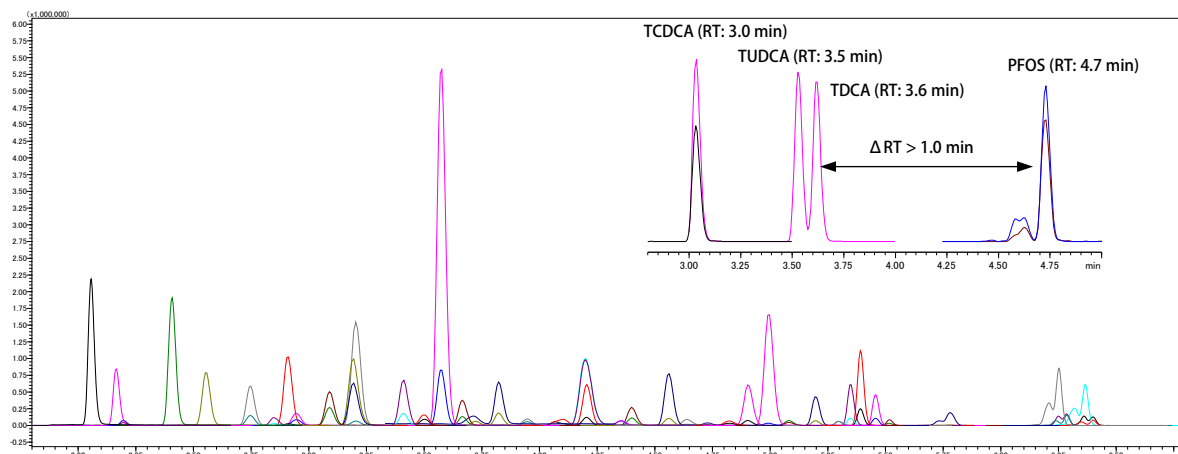


図4 40種のPFASおよび3種の胆汁酸のMSクロマトグラム
40種のPFASは10分以内に溶出しました。

■ クロマトグラフィーによる胆汁酸との分離

タウロデオキシコール酸 (TDCA)、タウロケノデオキシコール酸 (TCDCA)、タウロルソデオキシコール酸 (TUDCA) などの胆汁酸は、プリカーサーイオンとプロダクトイオンが類似しているため、PFOSのイオン化を阻害する可能性があります。これらの胆汁酸は組織や廃水試料中に存在することが知られています。したがって、EPA Method 1633Aによって、PFOSとこれらの胆汁酸との間で少なくとも1分の保持時間を確保することが指定されています。本アプリケーションでは、この要件を満たすために移動相Bにアセトニトリルを採用しました。図4に、EPA Method 1633Aに記載された40種のPFASのMSクロマトグラムを示します。移動相にアセトニトリルを用いた場合、胆汁酸は分岐型および直鎖型のPFOSよりもかなり早く溶出し、保持時間差は約1.5分であり、必要とされる1分の分離要件を上回りました。

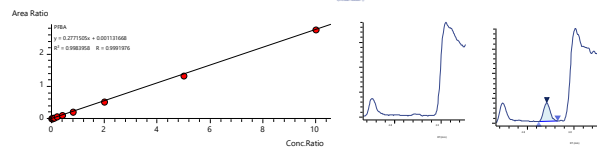
■ 検量線

40種のPFAS化合物すべてにおいてRSEは3~17%であり、EPA Method 1633Aで定められた上限値20%を下回っていました。表4には、40種のPFAS化合物について、濃度範囲、RF RSE値、および検量線の決定係数をまとめています。定量下限における検量線、ブランク、およびMSクロマトグラムを図5に示します。すべての化合物において7点以上の濃度点で測定し、検量線を作成しました。すべての化合物において検量線の決定係数 R^2 が 0.995 を超えており、直線性が非常に良好でした。また、各検量点の正確さはすべて 70~130% の範囲内でした。

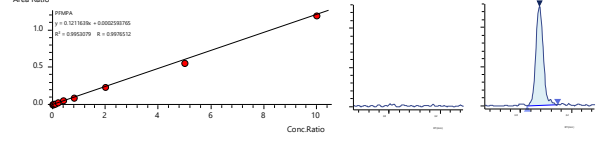
表4 40種のPFAS化合物の濃度範囲、RF RSE値、直線性および各検量点の正確さ

#	Name	Calibration Range [ng/L]	Equivalent LLOQ in tissue [ng/g]	EPA LLOQ conc. [ng/L]	RF RSE (curve)	Linearity (R^2)	% Accuracy range
1	PFBA	10-10000	0.025	800	4	0.998	95-105
2	PFMPA	5-5000	0.0125	400	7	0.995	92-113
3	3:3 FTCA	62.4-62400	0.156	998	7	0.995	90-113
4	PFPeA	5-5000	0.0125	400	4	0.998	95-106
5	PFMBA	5-5000	0.0125	400	6	0.996	92-110
6	4:2 FTS	10-10000	0.025	800	7	0.995	88-106
7	NFDHA	5-5000	0.0125	400	7	0.995	89-111
8	PFHxA	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	94-114
9	PFBS	2.5-2500	0.00625	200	6	0.997	92-110
10	HFPO-DA	10-10000	0.025	800	4	0.998	93-106
11	5:3 FTCA	2.5-2500	0.00625	4992	5	0.997	92-106
12	PFEESA	5-5000	0.0125	400	3	0.999	95-104
13	PFHpA	2.5-2500	0.00625	200	5	0.997	92-109
14	PFPeS	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	92-108
15	ADONA	10-10000	0.025	800	5	0.998	91-105
16	6:2 FTS	2.5-2500	0.00625	800	7	0.995	94-111
17	PFOA	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	95-113
18	PFHxS	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	87-107
19	7:3 FTCA	25-25000	0.0625	4992	5	0.997	94-106
20	PFNA	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	94-109
21	PFHpS	2.5-2500	0.00625	200	7	0.995	92-111
22	8:2 FTS	2.5-2500	0.00625	800	17	0.995	85-116
23	NMeFOSAA	6.3-2500	0.01575	200	7	0.995	89-108
24	PFDA	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	92-109
25	NEtFOSAA	6.3-2500	0.01575	200	7	0.995	90-109
26	PFOS	6.3-2500	0.01575	200	6	0.997	94-110
27	PFUnA	2.5-2500	0.00625	200	4	0.998	94-105
28	9Cl-PF3ONS	10-10000	0.025	800	6	0.997	91-109
29	PFNS	2.5-2500	0.00625	200	7	0.995	90-110
30	PFDOA	2.5-2500	0.00625	200	5	0.997	94-109
31	PFOSA	2.5-2500	0.00625	200	5	0.997	95-111
32	PFDS	2.5-2500	0.00625	200	7	0.995	92-112
33	PFTTrDA	2.5-2500	0.00625	200	5	0.997	90-106
34	11Cl-PF3OUds	10-10000	0.025	800	4	0.998	94-106
35	PFTeDA	2.5-2500	0.00625	200	6	0.996	93-111
36	PFDOS	6.3-2500	0.01575	200	9	0.997	84-116
37	NMeFOSE	25-25000	0.0625	2000	6	0.996	93-113
38	NMeFOSA	2.5-2500	0.00625	200	5	0.997	92-111
39	NEtFOSE	25-25000	0.0625	2000	3	0.999	95-110
40	NEtFOSA	6.3-2500	0.01575	200	5	0.997	96-106

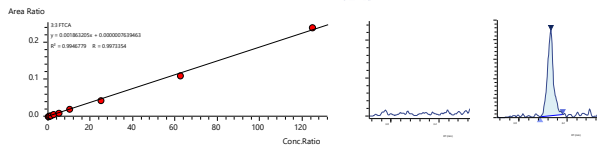
PFBA



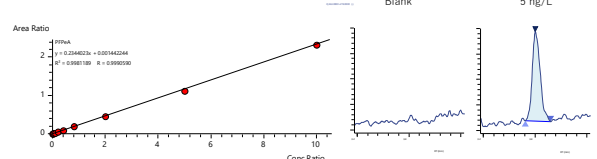
PFMPA



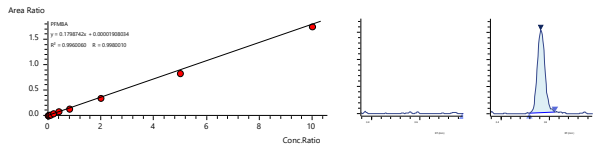
3:3 FTCA



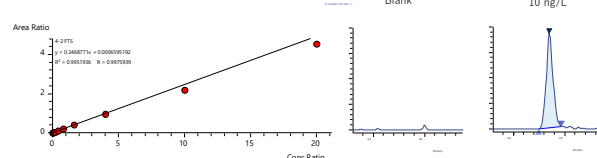
PFPeA



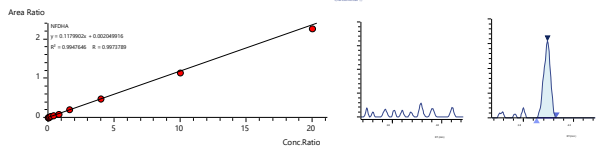
PFMBA



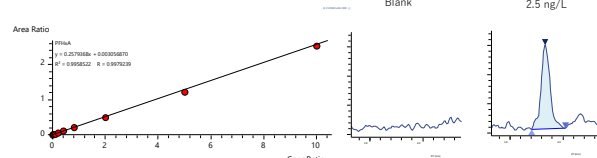
4:2 FTS



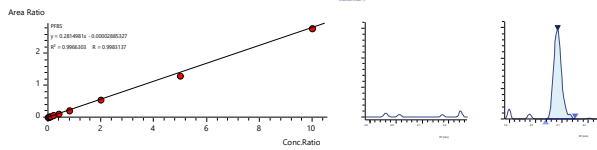
NFDHA



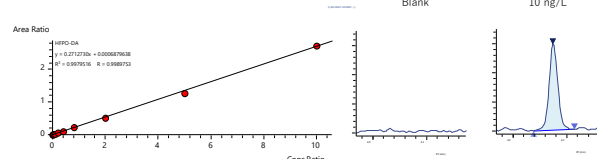
PFHxA



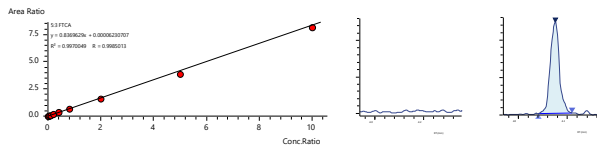
PFBS



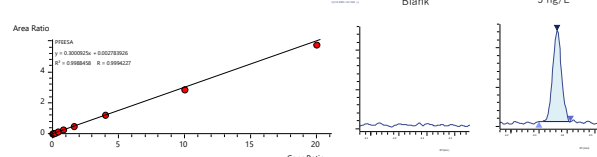
HFPO-DA



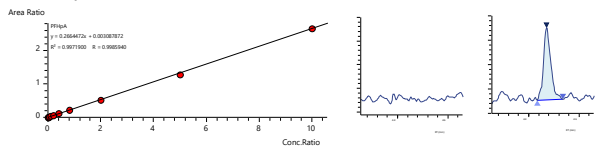
5:3 FTCA



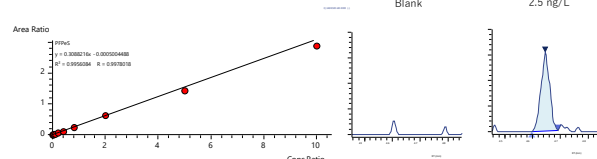
PFEESA



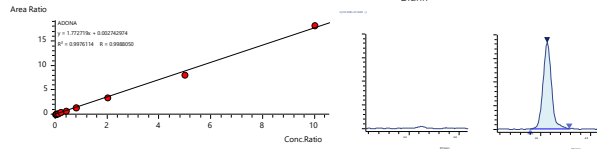
PFHpA



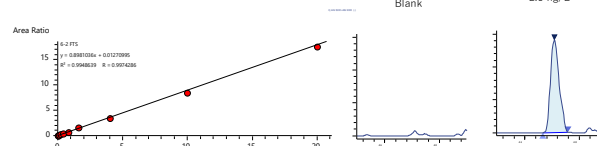
PFPeS



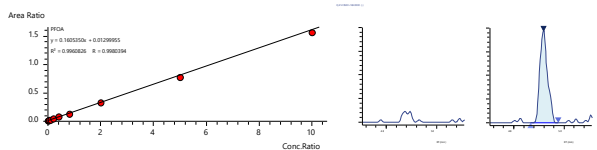
ADONA



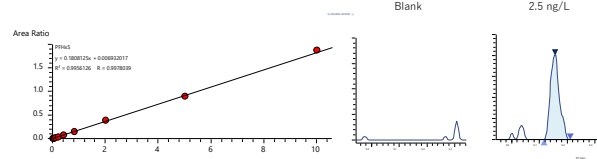
6:2 FTS



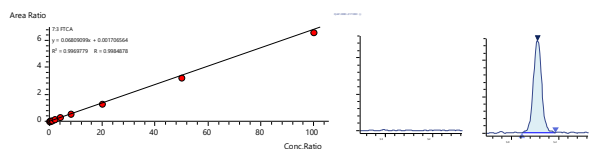
PFOA



PFHxS



7:3 FTCA



PFNA

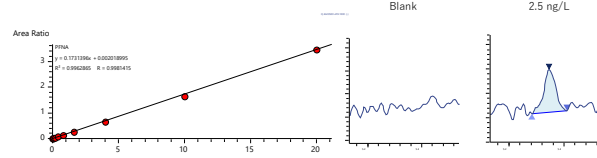


図5 40種のPFAS化合物のブランクおよび定量下限の検量線およびMSクロマトグラム

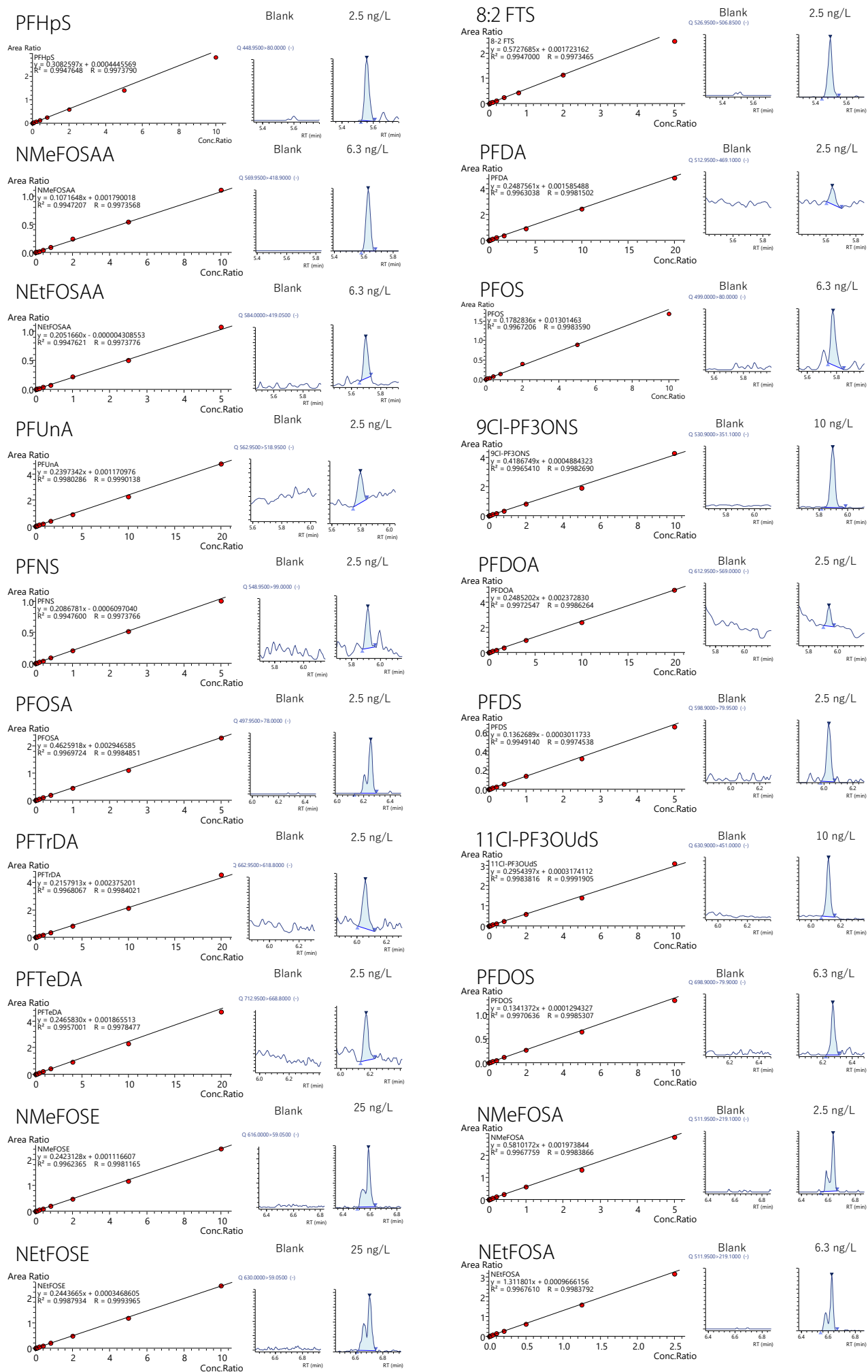


図5 (続き) 40種のPFAS化合物の blanks および定量下限の検量線およびMSクロマトグラム

■ 堅牢性

継続較正検証 (Continuing Calibration Verification)には検量点レベル5の較正標準を使用しました。この濃度は、EPA Method 1633Aで定められたLLOQの1/4に相当します。定量性能の安定性を評価するため、EPAのQA/QC要件に従ってCCVを解析しました。CCVにおける代表的なPFBS、HFPO-DA、PFOA、PFHxS、PFNA、およびPFOSの正確さ(%)を図6に示しました。

抽出した組織試料を合計で930回注入しました。図6に示した全てのCCV (n = 73) は、正確さが70~130%の範囲内でした。これらの結果は、複雑な試料マトリックスに対するLCMS-8065XEの高い堅牢性を示しています。

■ まとめ

LCMS-8065XEは、標準混合液において、EPA Method 1633Aが要求するLLOQの1/80の濃度まで検出することができました。本アプリケーションにて開発した手法は、RSEが20%未満であり、R²も高値を示すことから、優れた直線性と再現性を示しています。本手法は、頻繁なメンテナンスや洗浄を必要とせずに複雑な鶏組織マトリックスの正確な定量を維持できることから、高スループットかつ堅牢な装置性能を実証しました。

<謝辞>

本研究にあたり、試料を提供して頂いたCEM Corporationに深く感謝申し上げます。

<参考文献>

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

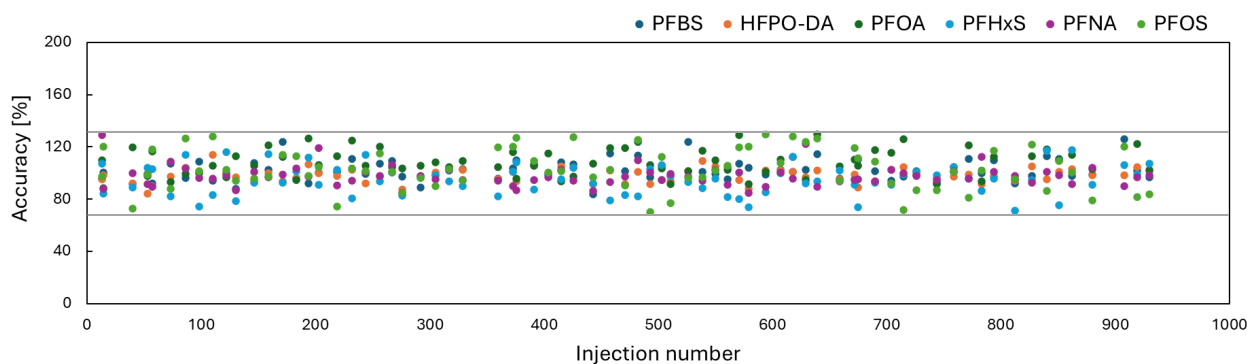


図6 CCVに用いた検量点レベル5の正確さ (PFBS、HFPO-DA、PFOA、PFHxS、PFNA、PFOS)
CCVは複数の鶏組織注入後に定期的に行いました。全てのCCV (n=73) は指定濃度の±30% (灰色線) 以内でした。

LCMS、IonFocus、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：2026年3月
01-01046A-JP A改訂版発行：2026年4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。



＞ LCMS-8065XE
トリプル四重極質量分析計



＞ Nexera™シリーズ
超高速液体クロマトグラフ

関連分野

＞ 食品・飲料

＞ 食品汚染

＞ 環境

＞ 有機フッ素化合物
(PFAS)

＞ 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