

# Agilent 6495C トリプル四重極 LC/MS システムを用いた魚介類中 PFOS、 PFOA 分析

## 著者

滝埜昌彦

アジレント・テクノロジー株式会社

## 要旨

本アプリケーションノートでは、Agilent 6495C トリプル四重極 LC/MS (LC/TQ) を用いた魚介類中 PFOS (パーフルオロオクタンスルホン酸)、PFOA (パーフルオロオクタン酸) の定量分析法を紹介します。

PFOS と PFOA は有機フッ素化合物 (PFAS : Per- and polyfluoroalkyl substance) の代表的化合物であり、さまざまな用途で工業製品や家庭用品などの分野に幅広く利用されていた物質です。これら化合物は現在では製造、販売が禁止されていますが、非常に安定で残留性が高いことから水、土壌、植物、動物への残留が懸念され、ヒトへの影響も危惧されています。特に我が国では消費量が多い魚介類への残留が懸念されています。そこで魚介類に含まれる PFOS、PFOA について簡便な試料前処理および LC/TQ を用いた高感度分析を検討しました。

## 実験

PFOS、PFOA 標準液および内部標準液は Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 製直鎖 PFOS、直鎖 PFOA 標準液 (各 50 µg/mL) および内部標準物質に 13C8PFOS、13C8PFOA (各 50 µg/mL) を使用しました。試料前処理は Agilent Technologies 製 Bond Elut QuEChERS 抽出キット (P/N : 5982-5650CH)、ミニカラムに Agilent Technologies 製 Captiva EMR-Lipid (600 mg/6 mL) (P/N : 5190-1004) およびジューエルサイエンス製 InertSep mini MA-2 (280 mg) を使用しました。試料はスーパーで購入した近海産のサバ、アジ、ホタテ、エビ、イカ (Whole) およびノルウェー産サーモン (切り身) を使用しました。

予め Retsch 製 GRINDMIX GM200 で粉碎した試料は図 1 に示したとおり、日本精機製作所製エースホモジナイザー AM3 で抽出を行い、抽出液は塩析による脱水後脂質除去ミニカラム (Captiva EMR-Lipid) と弱陰イオン交換ミニカラム (InertSep mini MA-2) を連結し精製を行いました。

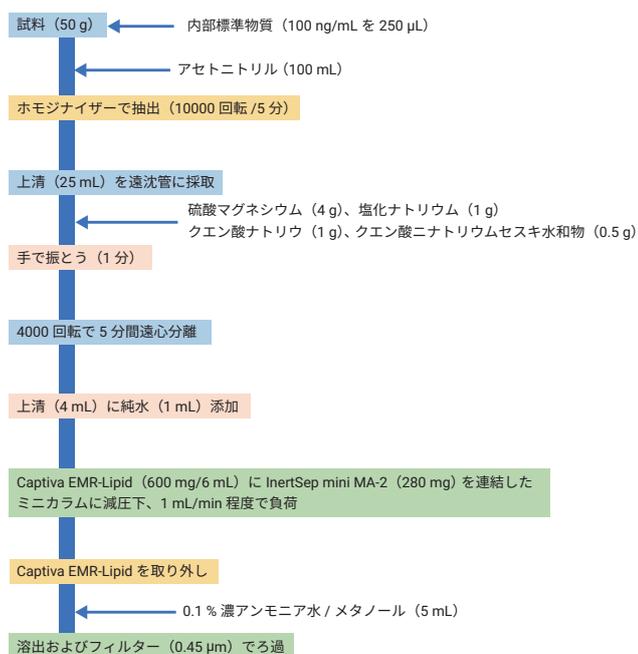


図1. 魚類の前処理方法

## 測定条件

### システム

1260 Infinity II Flexible Pump (G7104C)  
 1260 Infinity II Multisampler (G7167A)  
 1260 Infinity II Multicolumn Thermostat (G7116A)  
 6495C Triple quadrupole LC/MS system

PFOS、PFOA の LC/TQ による測定条件は表 1 に示したとおり、C18 カラムを用いました。移動相には 2 mM 酢酸アンモニウムを含む LC/MS 用超純水 (移動相 A) とアセトニトリル (移動相 B) を用いグラジエントで測定しました。また、オートサンプラーを除く LC システム由来の PFOS、PFOA を識別する目的でポンプとオートサンプラー間にディレイカラムを接続しました。イオン化は、Agilent Jet Stream (AJS) テクノロジーによるエレクトロスプレーイオン化法 (ESI 法) により行いました。多重反応モニタリング (MRM) 方式の測定は、プリカーサーイオンに脱プロトン化分子を用いプロダクトイオンは最大 S/N を示したイオンおよびコリジョンエネルギーとしました。

表 1. PFOS、PFOA の LC/TQ 測定条件

LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC System
カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD (2.1 mm×100 mm, 1.8 µm) (P/N : 959758-902)
ディレイカラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 mm×50 mm, 3.5 µm) (P/N : 959943-902)
流速	0.2 mL/min
移動相	A : 2 mM 酢酸アンモニウム B : アセトニトリル
グラジエント	30 % B→ (10 min) →100 % B
カラム温度	40 °C
注入量	2 µL
MS	Agilent 6495C Triple quadruple LC/MS System
イオン源	Agilent Jet Stream (AJS) 負イオンモード
MRM 条件	PFOA : 413>169, 369 (5, 15 eV) 13C8-PFOA : 421>376 (5 eV) PFOS : 499>80, 99 (55, 50 eV) 13C8PFOS : 507>80 (55 eV)
乾燥ガス	200 °C 20 L/min
シースガス	400 °C 12 L/min
ネブライザ圧	50 psi
キャピラリー電圧	3500 V
ノズル電圧	0 V

## 結果

PFOS、PFOA の MRM クロマトグラムを図 2 に示します。10 ppt で定量イオン、確認イオン共に検出が可能で定量イオンの S/N は 30 以上でした。また、PFOA は LC システム由来のピークが検出されましたが、ディレイカラムにより目的ピークとの分離が可能でした。

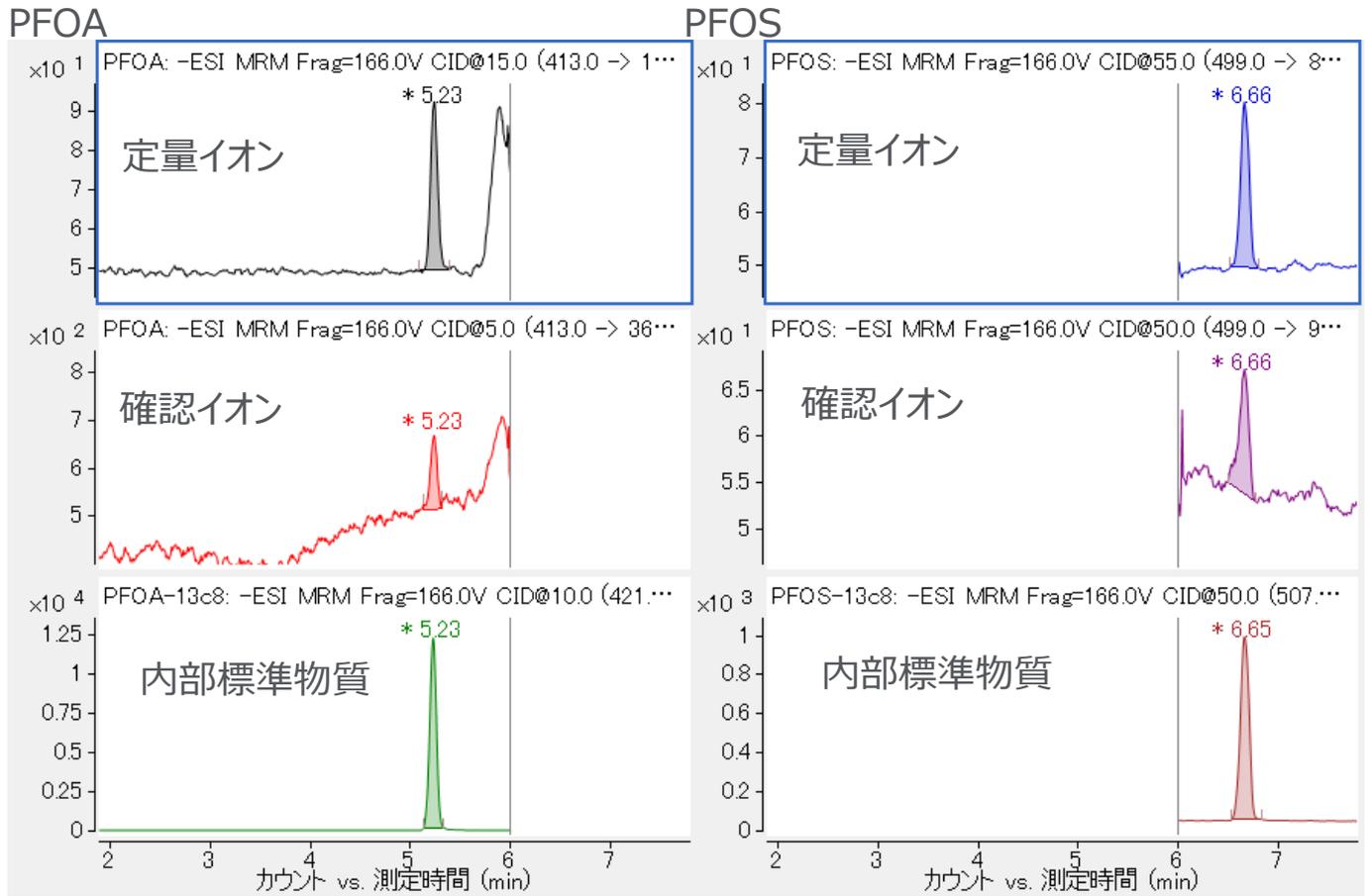


図2. PFOS、PFOAのMRMクロマトグラム（濃度：10 ppt）

直線性は内部標準物質を用いた内部標準法による検量線の決定係数が0.9999と良好でした。

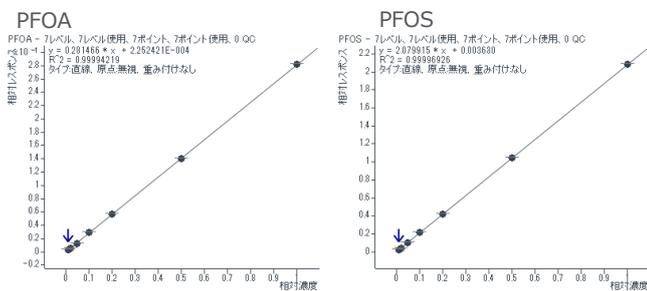


図3. PFOS、PFOAの検量線（濃度：10～1000 ppt）

魚介類の前処理法は図1に示したとおりですが、この方法で使用したミニカラムによる回収率およびマトリックス効果について確認しました。マトリックス効果は試料を図1の方法で処理した試料液にPFOS、PFOA標準液を添加した試験液を測定し、標準液の強度を100として評価しました。

回収率は、ホモジナイザーで試料を抽出した抽出液にPFOS、PFOA標準液を添加した標準添加抽出液を図1の方法で処理して得られた試験

液を測定し、マトリックス効果の評価に使用した試験液での強度を100として評価しました。結果は図4に示しました。

回収率は全試料で90～110%の範囲内でしたが、マトリックス効果はPFOAで120%を超える試料もありました。しかし今回は内部標準物質を使用したため、補正は可能でした。

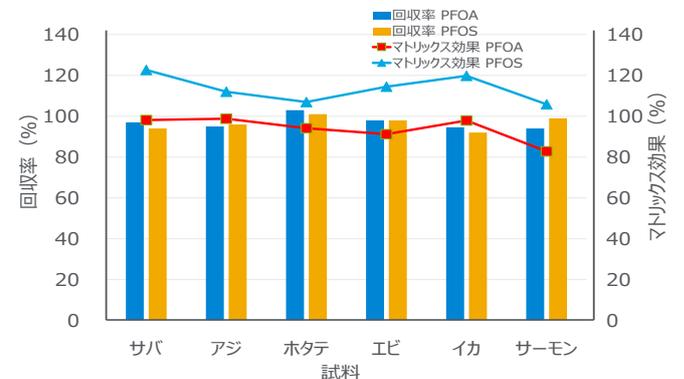


図4. PFOS、PFOAのマトリックス効果および回収率

粉碎した試料に PFOS、PFOA 標準液を添加した添加試料でのホモジナイザーによる抽出も含めた全工程の添加回収率は 3 試行での併行精度と共に表 2 に示しました。

回収率は 72 ~ 88 %、併行精度は相対標準偏差で 4.9 ~ 7.2 % でした。

表 2. 各試料中 PFOS、PFOA の回収率

試料	PFOA		PFOS		試料	PFOA		PFOS	
	回収率 (%)	併行精度 <sup>*1</sup> (%)	回収率 (%)	併行精度 <sup>*1</sup> (%)		回収率 (%)	併行精度 <sup>*1</sup> (%)	回収率 (%)	併行精度 <sup>*1</sup> (%)
サバ	72	5.2	92	5.5	エビ	83	6.2	81	7.1
アジ	75	6.8	97		イカ	88	5.8	85	6.5
ホタテ	81	7.2	89		サーモン	83	6.3	84	4.9

\*1: 相対標準偏差 (%), (3 試行)

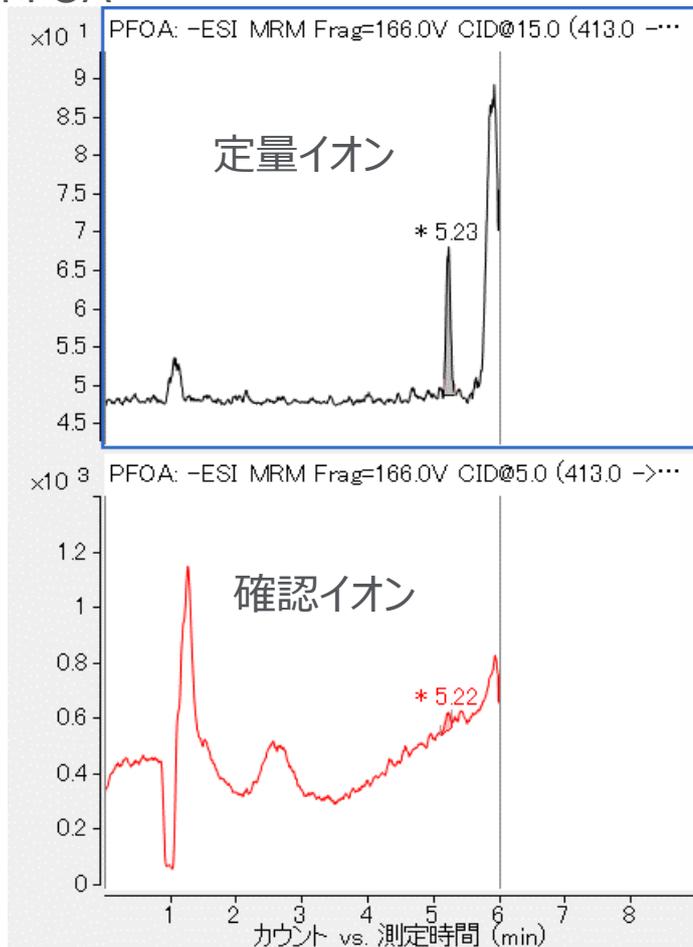
各試料中 PFOA および PFOS 濃度は、試料に内部標準物質を 1000 ppt 相当添加して内部標準法で測定しました。結果は表 3 に示しました。また、サーモンの MRM クロマトグラムを図 5 に示しました。

各試料中 PFOS 濃度は、サバで最も高く 322.66 ng/kg、PFOA はホタテで 45.93 ng/kg でした。また、すべての試料で PFOS が高い値を示しました。

表 3. 各試料中 PFOS、PFOA 濃度 (ng/kg)

試料	PFOA	PFOS	試料	PFOA	PFOS
サバ	6.04	61.33	エビ	4.33	33.71
アジ	23.86	322.66	イカ	4.42	5.80
ホタテ	45.93	56.60	サーモン	4.40	6.67

### PFOA



### PFOS

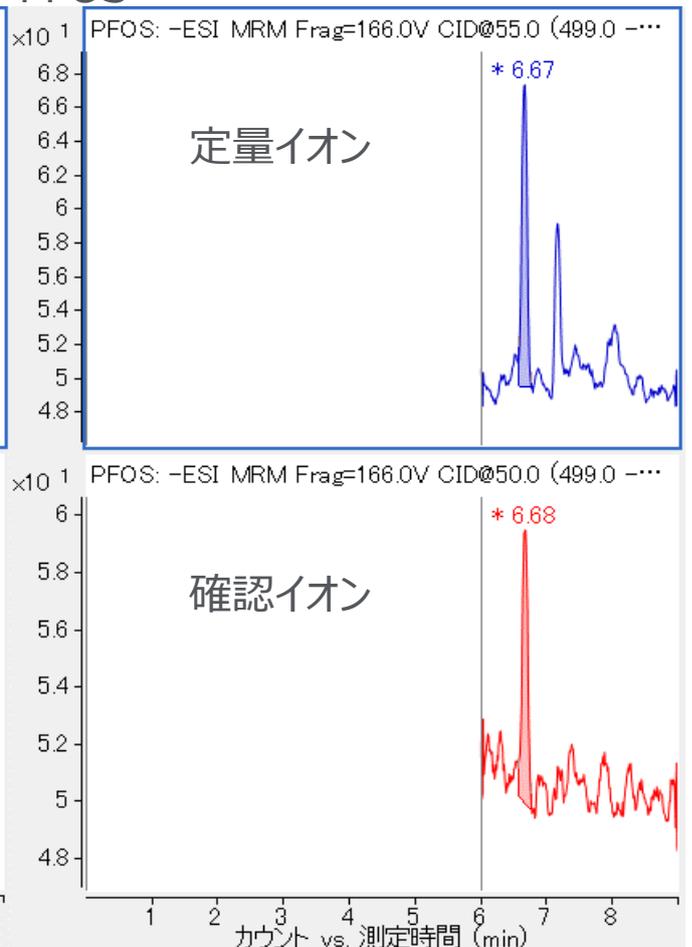


図5. サーモン中 PFOS、PFOA の MRM クロマトグラム

## まとめ

LC/TQ を用いた PFOS、PFOA の高感度分析法を確立しました。

魚介類の前処理に脂質除去ミニカラムおよび弱アニオン交換ミニカラムを連結した精製法を用いることで、効率的な精製が可能でした。

今回確立した分析法による魚介類中 PFOS、PFOA を測定した結果、顕著なマトリックスの影響はなく、回収率も 72~97 % と良好でした。魚介類中 PFOA 濃度は 4.33~45.93 ng/kg、PFOS 濃度は 5.80~322.66 ng/kg でした。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE70673954

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2023  
Printed in Japan, May 10, 2023  
5994-6159JAJP