

環境模擬試料を用いたPFAS分析用クリーンアップ固相抽出カラムの基礎評価

Basic Study of Clean-up Solid-phase Extraction Columns for PFAS Analysis Using Simulated Environmental Samples

○ 高原玲華*, 陳杏玲, 坂井拓斗, 高柳学, 石井一行, 太田茂徳 (ジールサイエンス株式会社)



はじめに

有機フッ素化合物の総称であるPFAS (Per- and PolyfluoroAlkyl Substances) の健康影響は、近年ますます注目されており、各国で規制が進みつつある。環境中の実態調査では、水道水に加えて、環境水や土壌、大気などの様々な分野で研究が進められている。環境水や土壌などの環境試料では、分析結果に影響を与える可能性のある夾雑成分が含まれていることが多い。夾雑成分のクリーンアップ方法として、EPA Method 1633では、弱陰イオン交換ミックスモード (WAX) 固相抽出カラムと、dispersive Solid-Phase Extraction (d-SPE)法によるグラファイトカーボン(GCB)の使用が記されている。しかし、d-SPE法は、クリーンアップ後のサンプルの採取や攪拌操作が煩雑であるため、GCB固相抽出カラムによるクリーンアップも記されている。

本研究では、WAXとGCBを積層した固相を用い、環境試料におけるPFAS分析の固相抽出操作と夾雑成分のクリーンアップ効果について基礎的な評価を行ったので報告する。

使用器具及び試薬

本検討で使用した固相抽出カラムは、以下3種類の自社固相抽出カラムとした。



- ① InertSep WAX FF (150 mg/6 mL) : 弱陰イオン交換ミックスモード固相
- ② InertSep WAX FF/GCB (200 mg/50 mg/6 mL) : 弱陰イオン交換ミックスモード/GCB積層固相
- ③ InertSep GCB/WAX FF (50 mg/200 mg/6 mL) : GCB/弱陰イオン交換ミックスモード積層固相

固相抽出操作では、自動固相抽出装置のアクアローダー AL898とPFAS用自然落下ラック (いずれもGL Sciences Inc.) を使用した。

測定対象成分のPFASは、以下分析方法で示すNative 40成分とLabeled 24成分の合計64成分とし、Cambridge Isotope Laboratories社製、Wellington Laboratories社製およびAccuStandard社製の標準試薬を使用した。

Table 1: LC-MS/MS Conditions

HPLC System	Exion (SCIEX)						MS/MS System	QTRAP 6500+ (SCIEX)	
Column	InertSustain AQ-C18 3 μm 2.1 × 150 mm (GL Sciences Inc.)						Ion Source	ESI	
Delay Column	Delay Column for PFAS 3.0 × 30 mm (GL Sciences Inc.)						Mode	sMRM	
Mobile Phase (A)	2 mmol/L ammonium acetate aqueous solution / Methanol - 90:10						Polarity	Negative	
Mobile Phase (B)	Methanol						Temp.	300 °C	
Gradient	Time (min)	0	3.0	15.0	20.0	20.1	27.0	CUR	35
	A %	90	50	0	0	90	90	CAD	12
	B %	10	50	100	100	10	10	IS	-4500
Flow Rate	0.22 mL/min			Column Temp.	40°C		Ion Source gas1	40	
Injection Volume	2 μL			Sample Cooler	10°C		Ion Source gas2	70	

Table 2: MRM Transition for PFAS Native 40 and Labeled 24 compounds

No.	Compound	Transition 1			Transition 2			No.	Compound	Transition 1			Transition 2		
		Q1	Q3	CE	Q1	Q3	CE			Q1	Q3	CE	Q1	Q3	CE
1	PFPrA	163	119	-16				22	8:2 FTUCA	457	393	-18	457	343	-52
E-1	¹³ C ₁₂ -PFBA	217	172	-14				E-12	¹³ C ₁₂ -8:2 FTUCA	459	394	-18			
2	PFBA	213	169	-14				23	9Cl-PFOHSA	531	351	-40	531	83	-56
3	PFPrS	249	80	-52	249	99	-34	24	8:2 FTS	527	507	-40	527	81	-82
4	PFMBA	229	85	-16	229	135	-12	E-13	¹³ C ₁₂ -8:2 FTS	529	81	-82			
E-2	¹³ C ₁₂ -PFPrA	268	223	-12				25	PFDA	513	469	-19	513	219	-27
5	PFPA	263	219	-11				E-14	¹³ C ₁₂ -PFDA	519	474	-16			
E-3	¹³ C ₁₂ -PFBS	302	80	64				26	N-MeFOSAA	570	419	-28	570	483	-22
6	PFBS	299	80	-59	299	99	-44	E-15	d ₁₅ -N-MeFOSAA	573	419	-28			
7	PFMPA	279	85	-14	279	235	-10	27	PFDS	599	80	-94	599	99	-91
E-4	¹³ C ₁₂ -PFHxA	318	273	-14				30	N-EiFOSAA	554	419	-28	554	269	-28
12	PFAS	349	80	-88	349	99	-38	E-16	¹³ C ₁₂ -PFUdA	570	525	-16			
E-5	¹³ C ₁₂ -HFPO-DA	332	185	-32				29	FOSA	498	78	-85	498	169	-40
11	PFHxA	313	269	-15	313	119	-30	E-17	¹³ C ₁₂ -FOSA	506	78	-85			
13	HFPO-DA	329	169	-16	329	285	-8	31	10:2 FTUCA	557	493	-20	557	243	-52
E-6	¹³ C ₁₂ -PFHSA	363	319	-14	363	169	-26	32	11Cl-PF3OHSA	631	451	-40	631	83	-90
9	NFDHA	295	201	-12	295	85	-30	33	PFUDA	563	519	-17	613	269	-29
10	4:2 FTS	327	307	-28	327	81	-54	E-18	d ₁₅ -N-EiFOSAA	589	419	-28			
11	PFHxA	313	269	-15	313	119	-30	34	10:2 FTUCA	557	493	-20	557	243	-52
E-7	¹³ C ₁₂ -PFHxS	402	80	-84				35	N-MeFOSA	512	169	-37	512	219	-34
14	PFHSA	363	319	-14	363	169	-26	E-20	d ₁₅ -M-N-MeFOSA	515	169	-37			
E-8	¹³ C ₁₂ -6:2 FTS	429	81	-72				36	PFTeDA	713	669	-19	713	319	-36
15	PFHxS	399	80	-80	399	99	-80	E-21	¹³ C ₁₂ -PFTeDA	715	670	-20			
E-9	¹³ C ₁₂ -PFDA	421	376	-14				E-22	d ₁₅ -M-N-EiFOSA	531	169	-37			
17	6:2 FTS	427	407	-32	427	81	-72	37	N-EiFOSA	526	169	-37	526	219	-34
E-10	¹³ C ₁₂ -PFOS	507	80	-86				38	PFHDA	813	769	-20	813	319	-34
20	PFOS	499	80	-97	499	99	-77	E-23	¹³ C ₁₂ -PFHDA	815	770	-24			
E-11	¹³ C ₁₂ -PFNA	472	427	-16				E-24	¹³ C ₁₂ -8:2 diPAP	993	97	-112			
								39	8:2 diPAP	989	97	-88	989	543	-35
								40	PFODA	913	869	-20	913	369	-40

実験方法及び結果

検討1: InertSep WAX FF/GCBおよびInertSep GCB/WAX FFの溶出挙動の確認

検討内容: 1%アンモニアメタノールとメタノールでコンディショニングを行った2種類の積層固相にメタノールで調製したPFAS40成分の標準試料を1 mL固相に負荷した。その後、1%アンモニアメタノールで1 mLずつ5回溶出操作を行い、試験管に採取した溶出液をそれぞれLC-MS/MSで分析した。

検討結果: 溶出画分を合計した総回収率結果をFig. 1に示す。

InertSep WAX FF/GCB及びInertSep GCB/WAX FFのいずれの固相においても、PFAS40成分の回収率は70%以上であった。また、画分ごとの抽出率を比較したところ、3分画目 (3mL) で全成分が回収可能であることが確認された。

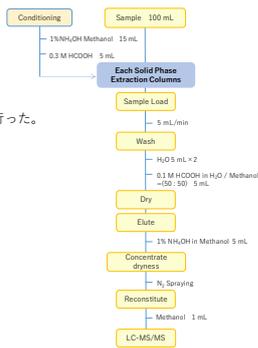
PFBA, PFDA, PFODaのInertSep WAX FF/GCB及びInertSep GCB/WAX FFの1mLずつの分画溶出挙動をFig. 2に示す。

InertSep WAX FF/GCBは、ほとんどの成分で1分画目におよその成分が溶出していることが確認でき、PFODaのみ1分画目、2分画目で徐々に溶出されていることが確認できた。これは、長鎖のPFODaがGCBと疎水性相互作用での保持が強いことではないかと考えられる。

InertSep GCB/WAX FFは、すべての成分で1分画目、2分画目で徐々に溶出されていることが確認できた。GCBが上段にあることで、PFAS成分がGCBとの疎水性相互作用による保持が強いため、溶出に溶媒量が必要になったと考えられる。

検討2: 環境模擬試料における色素除去効果の確認

検討内容: 腐葉土50 gを精製水500 mLで抽出して環境模擬試料水を作製した。この環境模擬試料水をEPA Method 1633に示す操作手順 (Fig. 3) で、InertSep WAX FF/GCB、InertSep GCB/WAX FFおよびInertSep WAX FFを用いて固相抽出操作を行い、得られた抽出液の色素除去効果について確認を行った。



検討結果: 3種の固相抽出カラムで色素除去効果と比較したところ、InertSep WAX FF/GCBのクリーンアップ効果が最も高かった (Fig.4)。



Fig. 4: Purification of Environmental Simulated Samples Using Solid Phase Extraction Columns

検討3: 環境模擬試料を用いたクリーンアップ効果の確認

検討内容: 「検討2」で得られた抽出液にPFAS40成分の混合標準試料を500 ng/Lになるように添加して分析を行い、夾雑成分による影響について確認を行った。

検討結果: InertSep WAX FF/GCBにおける環境模擬試料を用いて得られた夾雑成分の影響結果をFig. 5に示す。

3種類の固相抽出カラムで比較したところ、InertSep WAX FF/GCBにおいて、最も夾雑成分による影響が少ないことが確認された。

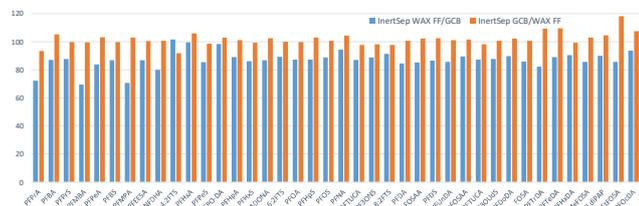


Fig. 1: Solid Phase Extraction Fractionation Results Using InertSep WAX FF/GCB and InertSep GCB/WAX FF

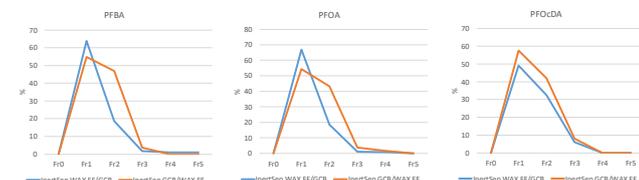


Fig. 2: Fractionation Behavior of Perfluorinated Compounds in InertSep WAX FF/GCB and InertSep GCB/WAX FF

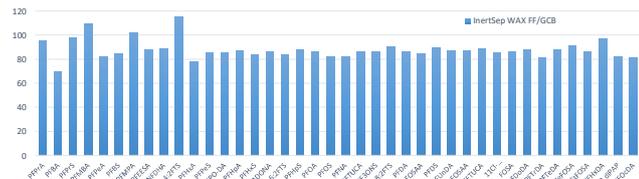


Fig. 5: Matrix Effects Comparison of InertSep WAX FF/GCB from Environmental Simulated Samples

結論

- ✓ 弱陰イオン交換ミックスモード固相とGCBを積層して用いることで、環境試料の濃縮およびクリーンアップ操作が同時に実施可能となった。
- ✓ InertSep WAX FF/GCB及びInertSep GCB/WAX FFのPFASに対する分画溶出挙動はいずれも3mLで溶出できることが確認された。
- ✓ 環境模擬試料におけるクリーンアップ効果は、InertSep WAX FF/GCBが最も良好であった。

謝辞

本検討を実施するにあたり、標準試薬を提供して頂いた大塚製薬株式会社の藤峰様、渋谷様に深く感謝いたします。

参考文献

U.S. EPA Method 1633: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS