

食品試料を想定したPFAS分析前処理用積層カラムの検討

○ 高柳学¹、陳杏玲¹、国枝巧¹、高原玲華¹、石井一行¹、太田茂徳¹ (1 ジーエルサイエンス株式会社)



目的

有機フッ素化合物であるPFAS(Per-and PolyFluoroAlkyl Substances)は、環境汚染物質として広く注目されているが、食品への汚染影響も懸念されており、さまざまな分析法が検討されている。食品中のPFAS分析では、食品抽出液のクリーンアップとしてグラファイトカーボンなどの充填剤を直接入れて精製する方法(d-SPE法)と陰イオン交換固相カラムによる精製を行う例が多い。しかし、その方法では QuEChERS(EN)法で試料を抽出した後、溶媒を濃縮もしくは希釈してからの固相カラムへの保持が必要となし、洗浄、溶出操作が必要である。今回は、より効率的で簡便な前処理法の構築を目指し、弱陰イオン交換ミックスモード充填剤(InertSep WAX FF)とグラファイトカーボン(GCB)を積層した固相カラムを用いて、パススルー法で食品中のPFAS分析に適応できる精製法を検討した。

分析条件

測定したPFASは Native 40成分と Labeled 24成分の合計64成分で、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。測定対象成分と分析条件を表1、表2に示した。LCシステムや移動相からの汚染によるバックグラウンドの影響を低減するために、高純度活性炭ビーズを充填したディレイカラム、Delay Column for PFAS (GL Sciences Inc.)をインジェクターとポンプの間に接続した。

表1 測定対象PFAS40成分およびUMRM トランジション

Table with 12 columns: No., Compound, R.T.(min), Transition 1 (Q1, Q3, CE), Transition 2 (Q1, Q3, CE). Lists 40 PFAS compounds and their detection parameters.

表2 LC-MS/MS分析条件

Table with 2 columns: System, HPLC条件, MS条件. Details the LC-MS/MS setup including columns, mobile phases, flow rates, and ion source parameters.

方法と結果

項目1：PFAS成分の溶出分画試験

方法：固相カラムは、下記のGL Sciences 社製積層カラム2種類を使用した。

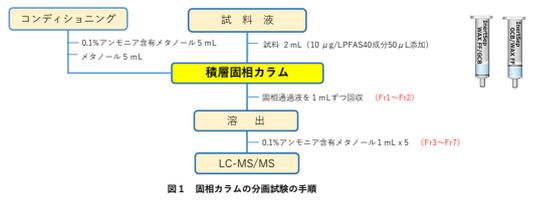
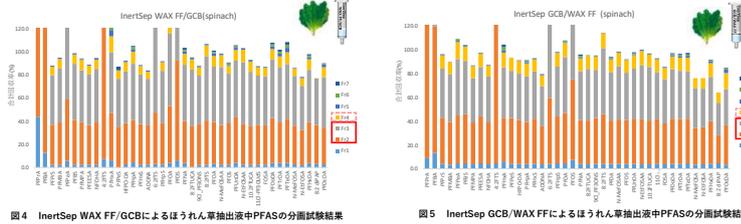
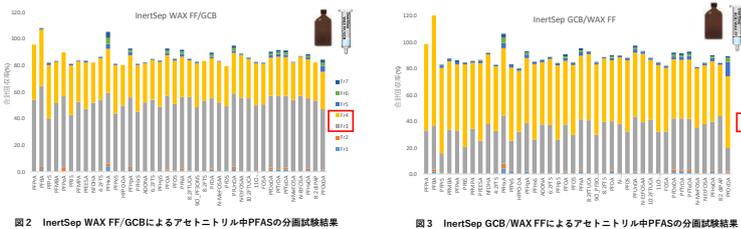
- ① InertSep WAX FF/GCB (200mg/50 mg/6 mL) ② InertSep GCB/WAX FF (50 mg/200 mg/6 mL)

溶出溶媒量を確認するために、アセトニトリル及びQuEChERS法によって作製したほうれん草抽出液2 mLにそれぞれPFAS40成分500 ngを添加し、負荷試料とした。

図1の手順で分画試験を行った。

結果：分画試験の結果は図2～図5に示す。

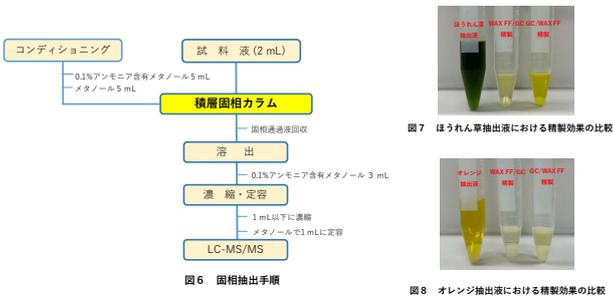
アセトニトリルでの分画試験(図2、図3)の場合、Fr3～Fr4でほとんどの成分が溶出された。それに対して、ほうれん草抽出液での分画試験(図4、図5)の場合、溶出が早まる傾向が見られ、Fr2～Fr3で多くの成分が溶出し、Fr4までには、ほとんどの成分が溶出された。その結果により、本検討では0.1%アンモニア含有メタノールの追加溶出量は3 mLにした。



項目2：積層固相カラムの精製効果の確認

方法：QuEChERS(EN)法によって作製したほうれん草抽出液及びオレンジ抽出液を用いて、積層固相カラムによる精製効果を確認した。固相抽出手順を図7に示した。

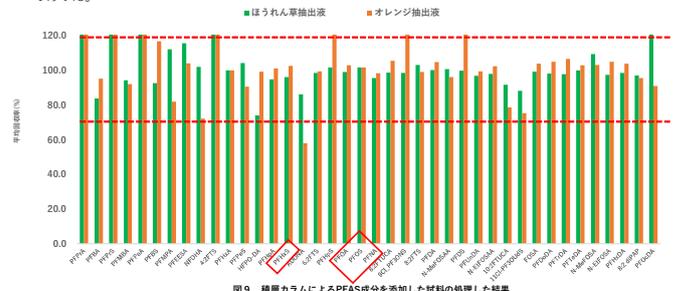
結果：InertSep GCB/WAX FFと比べて、InertSep WAX FF/GCBのほうが色素の除去効果が高かった(図7、図8)。以上の結果により、本検討はInertSep WAX FF/GCBを採用した。



項目3：積層固相カラムによる抽出液中のPFAS回収率の確認

方法：QuEChERS(EN)法によって作製したほうれん草抽出液及びオレンジ抽出液2 mLそれぞれにPFAS40成分500 ng及びサロゲート24成分500 ngを添加し、図6の手順に従って、InertSep WAX FF/GCBによる各成分の回収率の確認を行った(n=3)。

結果：平均回収率が70～120%範囲に入るのは、PFAS40成分中ほうれん草抽出液で35成分、オレンジ抽出液で32成分であった。



まとめ

InertSep WAX FF/GCBを用い、パススルー法で食品中のPFAS分析に適応できる精製法を検討した。一般的な方法と比べ、固相カラムに負荷する抽出液の濃縮及び希釈操作が必要なく、簡便な方法を構築することができた。

○ PFASの溶出分画試験

試料2 mLにPFASを添加し、固相カラムの溶出分画試験を行った。アセトニトリルでの分画試験の場合、Fr3、Fr4でほとんどのPFASが溶出された。ほうれん草抽出液での分画試験の場合、溶出が早まる傾向が見られ、Fr2、Fr3で多くの成分が溶出され、Fr4までほとんどの成分が溶出された。

⇒ 0.1%アンモニア含有メタノールによる追加溶出量は3 mLにした。

○ 積層固相カラムの精製効果の確認

QuEChERS法によって作製したほうれん草抽出液及びオレンジ抽出液を用いて、2種類の積層カラムで精製効果を確認した結果、InertSep WAX FF/GCBのほうが色素の除去効果が高かった。

⇒ 積層固相カラムはInertSep WAX FF/GCBを採用した。

○ 項目3：積層固相カラムによる抽出液中のPFAS回収率の確認

QuEChERS法によって作製したほうれん草抽出液及びオレンジ抽出液にPFAS40成分を添加し、InertSep WAX FF/GCBの添加回収率を行った。

その結果回収率が70～120%の範囲に入る成分は、ほうれん草抽出液で35成分、オレンジ抽出液で32成分であった。

⇒ 多くの成分の回収率が70～120%範囲内であった。食品分析で注目されている4成分(PFHxS、PFOA、PFOSとPFNA)は90%程度で良好な回収率が得られた。