

# 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<sup>1</sup>、陳杏玲<sup>1</sup>、国枝巧<sup>1</sup>、高原玲華<sup>1</sup>、石井一行<sup>1</sup>、太田茂徳<sup>1</sup> (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え、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分析に適用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

No.	Compound	R.T.(min)	Transition 1			Transition 2		
			Q1	Q3	CE	Q1	Q3	CE
1	PFPA	3.51	163	119	-16			
E-1	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> PFBA	6.51	217	172	-14			
2	PFBA	6.52	219	169	-14			
3	PFPS	7.34	249	80	-52	249	99	-34
4	PFMBA	7.57	229	85	-16	229	135	-12
E-2	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFPA	9.29	258	223	-12			
5	PFPA	9.31	261	219	-11			
E-3	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFPS	9.79	302	80	-64			
6	PFBS	9.82	299	80	-59	299	99	-44
7	PFMPA	10.1	279	85	-14	279	235	-10
8	PFESA	10.8	315	135	-30	315	83	-24
9	NFOHA	11.4	295	201	-12	295	85	-30
10	4,2-FTS	11.5	327	307	-28	327	81	-54
11	PFHA	11.7	319	269	-15	319	119	-30
E-4	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFHA	11.7	318	273	-14			
12	PFPS	12.0	349	80	-88	349	99	-38
E-6	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFPOA	12.3	332	185	-32			
13	PFPOA	12.4	329	169	-16	329	285	-8
14	PFHA	13.7	363	319	-14	363	169	-26
E-6	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFHA	13.7	367	322	-14			
15	PFHS	13.8	399	80	-80	399	99	-80
E-7	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFHS	13.8	402	80	-84			
16	ADONA	13.9	377	251	-14	377	85	-56
17	6,2-FTS	15.1	427	407	-32	427	81	-72
E-8	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2-FTS	15.1	429	81	-72			
18	PFOA	15.2	413	369	-14	413	169	-26
E-9	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFOA	15.2	421	376	-14			
19	PFHs	15.3	449	80	-104	449	99	-70
E-9	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> -2-FTS	15.3	449	81	-72			
20	PFOS	16.5	499	80	-97	499	99	-77
E-10	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFOS	16.5	507	80	-86			
21	PFNA	16.5	463	419	-16	463	219	-26
E-11	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFNA	16.5	472	427	-16			
22	8,2-FTUCA	16.9	457	393	-18	457	343	-52
E-12	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2-FTUCA	16.9	459	394	-18			
23	9,0-PFOSNs	17.2	531	351	-40	531	83	-56
24	8,2-FTS	17.6	527	507	-40	527	81	-82
E-13	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2-FTS	17.6	529	81	-82			
E-14	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFDA	17.6	513	469	-19	513	219	-27
25	PFDA	17.6	519	474	-16			
26	NMFPoSAA	18.1	570	419	-28	570	483	-22
E-15	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> NMFPoSAA	18.1	573	419	-28			
27	PFDS	18.5	599	80	-94	599	99	-91
28	PFUdA	18.6	563	519	-19	563	269	-28
E-16	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFUdA	18.6	570	525	-16			
29	FOSA	18.6	498	78	-85	498	169	-40
E-17	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> FOSA	18.6	506	78	-85			
30	N-EFOSAA	18.7	584	419	-28	584	526	-22
E-18	d <sub>10</sub> -N-EFOSAA	18.7	589	419	-28			
31	10,2-FTUCA	19.0	557	493	-20	557	243	-52
32	<sup>11</sup> C <sub>10</sub> PF30LHS	19.2	631	451	-40	631	83	-80
33	PF30A	19.8	613	569	-37	613	269	-29
E-19	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PF30A	19.8	615	570	-18			
34	PFtDA	20.8	663	619	-19	663	269	-32
35	NMFPoSA	21.0	512	169	-37	512	219	-34
E-20	d <sub>10</sub> M-NMFPoSA	21.0	515	169	-37			
36	PFtDA	21.2	713	669	-19	713	319	-36
E-21	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFtDA	21.2	715	670	-20			
E-22	d <sub>10</sub> M-NMFPoSA	21.3	531	169	-37			
37	N-EFOSA	21.4	526	169	-37	526	219	-34
38	PFHdA	21.7	813	769	-20	813	319	-34
E-23	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> PFHdA	21.7	815	770	-24			
E-24	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -2-PAP	21.8	993	97	-112			
39	8,2-PAP	21.9	989	97	-88	989	543	-35
40	PFODa	22.0	913	869	-20	913	369	-40

表2 LC-MS/MS分析条件

System	LC-MS/MS(Evoion,C-AE-Triple Quad 5500-1)
Column	InertSustainAQ-C18 3 μm 2.1x150 mm (GL Science Inc.)
Delay Column	Delay Column for PFAS 3.0x30 mm (GL Science Inc.)
Mobile phase : A	2 mmol/L aqueous ammonium acetate solution / Methanol = 90:10
Mobile phase : B	Methanol
HPLC 条件	
Flow program	
min	0 3 15 18 19 27
A %	90 50 0 0 90 90
B %	10 50 100 100 10 10
Flow rate(mL/min)	0.22
Injection vol(μL)	5
Column Temp(°C)	40
Sample cooler(°C)	10
Ion Source	ESI
Mode	MRM
Polarity	Negative
CUR	35
CAD	12
IS	-4500
MS 条件	
TEM	450
Ion Source Gas1	40
Ion Source Gas2	70

## 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。

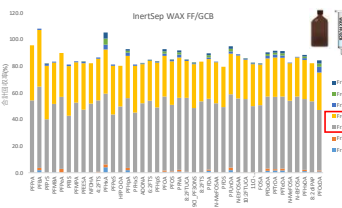


図2 InertSep WAX FF/GCBによるアセトニトリル中PFASの分画試験結果

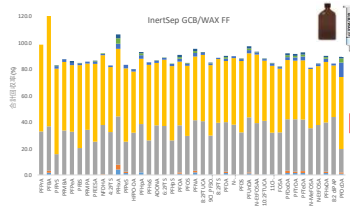


図3 InertSep GCB/WAX FFによるアセトニトリル中PFASの分画試験結果

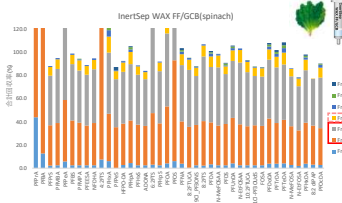


図4 InertSep WAX FF/GCBによるほうれん草抽出液中PFASの分画試験結果

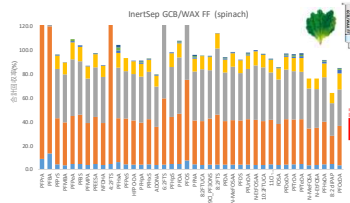


図5 InertSep GCB/WAX FFによるほうれん草抽出液中PFASの分画試験結果

### 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。

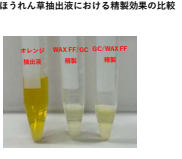
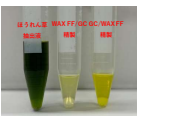
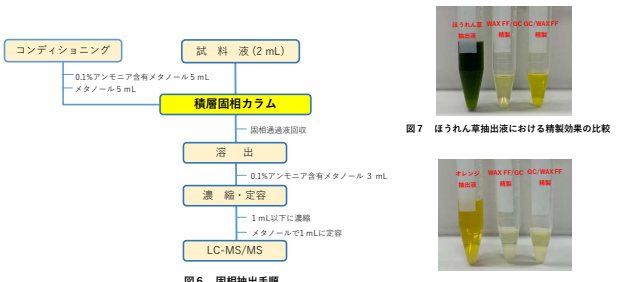


図8 オレンジ抽出液における精製効果の比較

### 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。

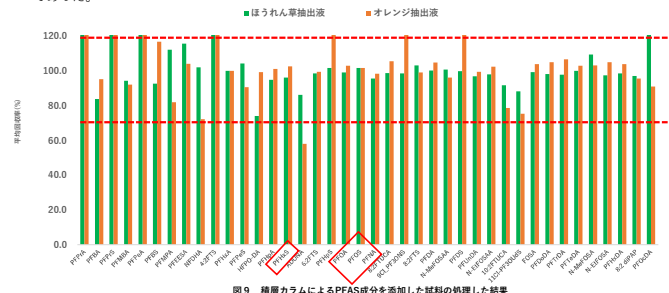


図9 積層カラムによるPFAS成分を添加した試料の処理した結果

## まとめ

InertSep WAX FF/GCBを用い、パススルー法で食品中のPFAS分析に適用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し、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%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(PFHs、PFOA、PFOSとPFNA)は90%程度で良好な回収率が得られた。