

PFAS分析に向けた水産食品抽出液の精製手法に関する評価

○ 高柳 学, 陳 杏玲, 高原 玲華, 国枝 巧, 渡辺 愛花, 太田 茂徳 (ジーエルサイエンス株式会社)



目的

ポリおよびペルフルオロアルキル化合物（PFAS）は、環境中で極めて安定であり、生体内にも長期間蓄積することが知られている。近年では、飲料水に加え、食品摂取が一般集団における主要なPFAS曝露経路と示唆されており、特に魚介類などの水産食品はPFNAなどの体内濃度と有意な関連を示すと報告されている¹⁾。このような背景から、水産食品中のPFAS濃度を正確に定量することは、曝露評価および健康リスク低減に向けて重要である。本検討では、水産食品を対象に、EPA Method 1633²⁾に準拠した抽出法を用い、複数の固相抽出（SPE）法を適用し、40種のPFASについて精製効率の比較検討を行った。

分析条件

測定したPFASは、Native成分40種とLabeled成分24種の合計64種であり、Cambridge Isotope Laboratories社、Wellington Laboratories社およびAccuStandard社の標準試薬を使用した。測定対象成分と分析条件を表1および表2に示す。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、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。

Table 1 測定対象PFAS40成分およびMRMトランジション

No.	Compound	R.T.(min)	Transition 1			Transition 2			No.	Compound	R.T.(min)	Transition 1			Transition 2		
			Q1	Q3	CE	Q1	Q3	CE				Q1	Q3	CE	Q1	Q3	CE
1	PFBA	4.84	213	169	-14				22	PFHpS	12.43	449	80	-104	449	99	-70
2	PFMBA	5.97	229	85	-16				23	NMeFOSAA	13.00	570	419	-28	570	483	-22
3	3:3FTCA	6.14	241	177	-12	241	117	-50	24	PFDA	12.92	513	469	-19	513	219	-27
4	PFPeA	7.29	263	219	-11				25	NEtFOSAA	13.38	584	419	-28	584	526	-22
5	PFMPA	7.86	279	85	-14	279	235	-10	26	PFOS	13.29	499	80	-97	499	99	-77
6	4:2FTSA	8.47	327	307	-28	327	81	-54	27	PFUnDA	13.70	563	519	-19	563	269	-28
7	NFDHA	8.74	295	201	-12	295	85	-30	28	9Cl-PF3ONS	13.94	531	351	-40	531	83	-56
8	PFHxA	8.91	313	269	-15	313	119	-30	29	PFNS	14.09	549	99	-78	549	80	-88
9	PFBS	8.91	299	80	-59	299	99	-44	30	PFDoA	14.44	613	569	-17	613	269	-29
10	HFPO-DA	9.39	329	169	-16	285	185	-16	31	PFDS	17.22	498	78	-85	498	169	-40
			285	169	-16	329	285	-8	32	PFTdA	14.86	599	80	-94	599	99	-91
11	5:3FTCA	9.71	341	237.1	-20	341	217	-35	33	11Cl-PF3OUdS	15.15	663	619	-19	663	269	-32
12	PFEESA	9.60	315	135	-30	315	83	-24	34	PFTeDA	15.45	631	451	-40	631	83	-90
13	PFHpA	10.17	363	319	-14	363	169	-26	35	PFDoDS	15.84	713	669	-19	713	319	-36
14	ADONA	10.35	377	251	-14	377	85	-56	36	FOSA	16.24	699	99	-130	699	80	-138
15	PFPeS	10.58	349	80	-88	349	99	-38	37	N-MeFOSE	19.55	616	59	-71	616	219	-44
16	6:2FTS	10.79	427	407	-32	427	81	-72	38	NMeFOSA	19.78	512	169	-37	512	219	-34
17	PFOA	11.20	413	369	-14	413	169	-26	39	N-EtFOSE	20.08	630	59	-72	630	526	-11
18	PFHxS	12.13	399	80	-80	399	99	-80	40	NEtFOSE	20.26	526	169	-37	526	219	-34
19	7:3FTCA	11.48	441	316.9	-30	441	336.9	-20	ES1	MPFBA	4.83	217	172	-14			
20	PFNA	12.10	463	419	-16	463	219	-26	ES2	M5PFPeA	7.28	268	223	-12			
21	8:2FTS	12.52	527	507	-40	527	81	-82	ES3	M5PFHxA	8.89	318	273	-14			

Table 2 LC-MS/MS分析条件

System		LC-MS/MS(ExionLC-AE・Triple Quad 5500+)											
HPLC 条件	Column	InertSustain AQ-C18 1.9μm 2.1×50mm (GLScience Inc.)											
	Delay Column	Delay Column for PFAS 3.0×30 mm (GL Science Inc.)											
	Mobile phase : A	CH ₃ CN											
	Mobile phase : B	2 mmol/L aqueous ammonium acetate in 5% CH ₃ CN											
	Flow program	min	0	0.2	4.0	7.0	9.0	10.0	12.0	12.1	15.0		
		A %	2	2	30	55	75	95	95	2	2		
		B %	98	98	70	45	25	5	5	98	98		
	Flow rate (mL/min)	0.35 mL/min						Column Temp.(℃)	40				
Injection vol. (μL)	2						Sample cooler(℃)	10					
MS 条件	Ion Source	ESI											
	Mode	MRM											
	Polarity	Negative											
	CUR	35						TEM	400				
	CAD	12						Ion Source Gas1	40				
	IS	-4500						Ion Source Gas2	70				

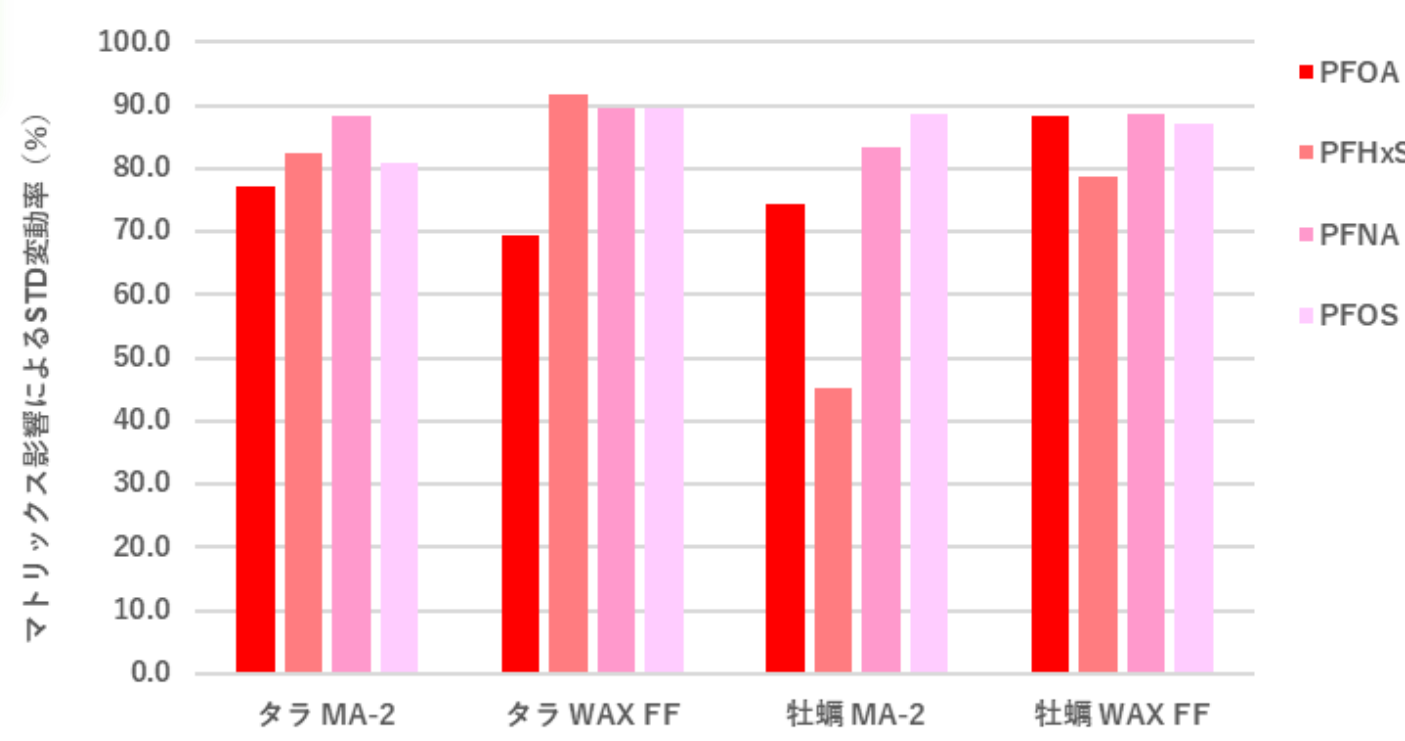


Fig.1 イオン交換固相の違いによるPFAS4成分のマトリックス影響

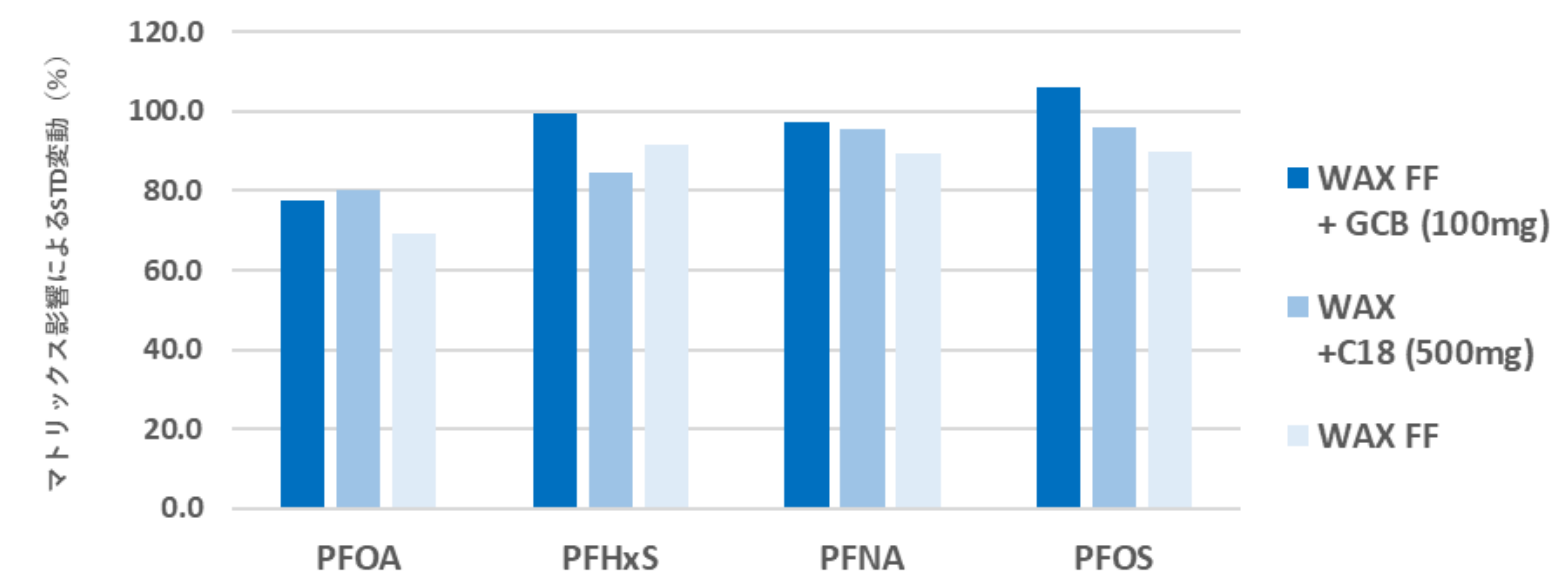


Fig.2 WAX FF 溶出液に対する追加精製の効果 (タラ)

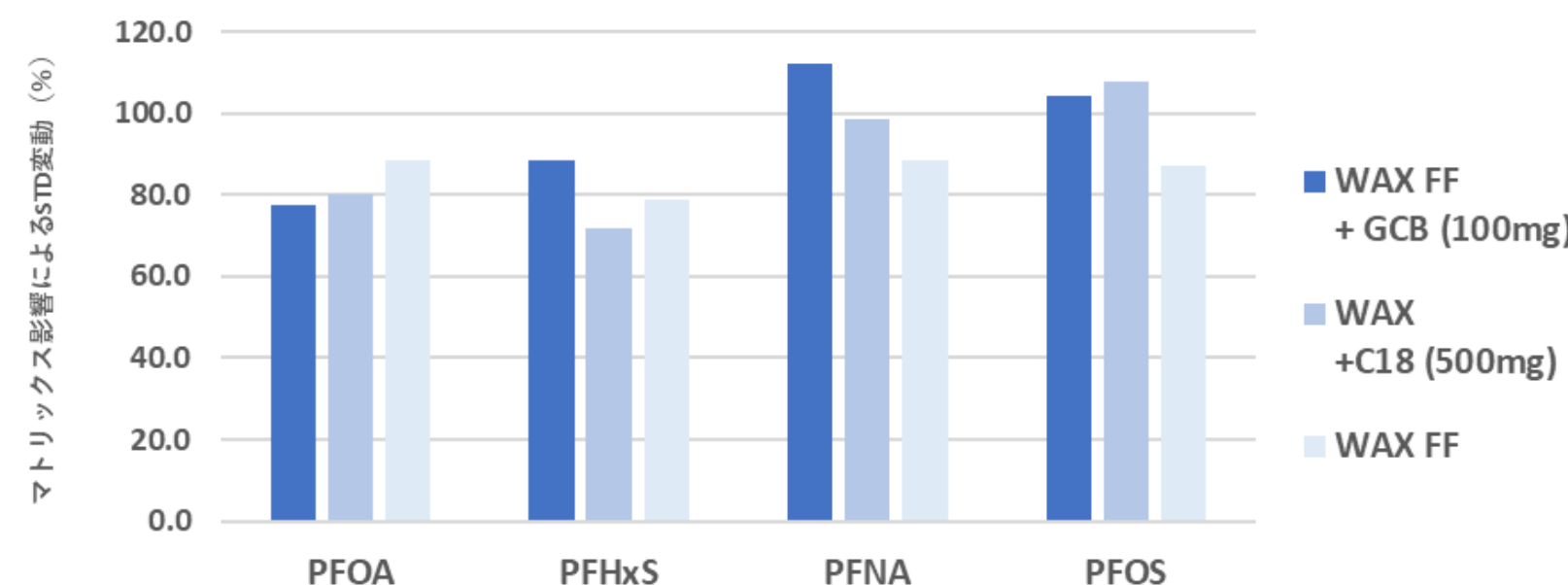


Fig.3 WAX FF 溶出液に対する追加精製の効果 (牡蠣)

(1) イオン交換固相カラムの選定

EPA Method 1633に準拠し、PFAS未添加のサンプル抽出液を作成し、WAX FFおよびMA-2の両カラムによる固相処理を行った。得られた精製液に対し、LC-MS/MS分析直前に既知濃度のPFAS 4成分（PFOA, PFHxS, PFNA, PFOS）を添加し、マトリックス影響を評価した。その結果、MA-2で処理した牡蠣抽出液では、PFHxSに対して顕著なマトリックス影響が認められた (Fig.1)。以上より、以降の検討ではWAX FFを用いることとした。

(2) 抽出液スパイクによる追加精製固相カラムの選定

WAX FF処理後の精製効果を確認するため、C18およびGCBのマトリックス除去性能を比較した。WAX FF処理済みのサンプルに対し、両カラムを通液し、項目 (1) と同様の評価を行った (Fig.2, Fig.3)。その結果、C18およびGCBのいずれも同程度の改善効果が認められたが、GCBは色素除去効果が高く、UV測定 (210 nm) におけるベースラインの安定性に優れていたことから、今回はGCBを採用した (Fig.4, Fig.5)。

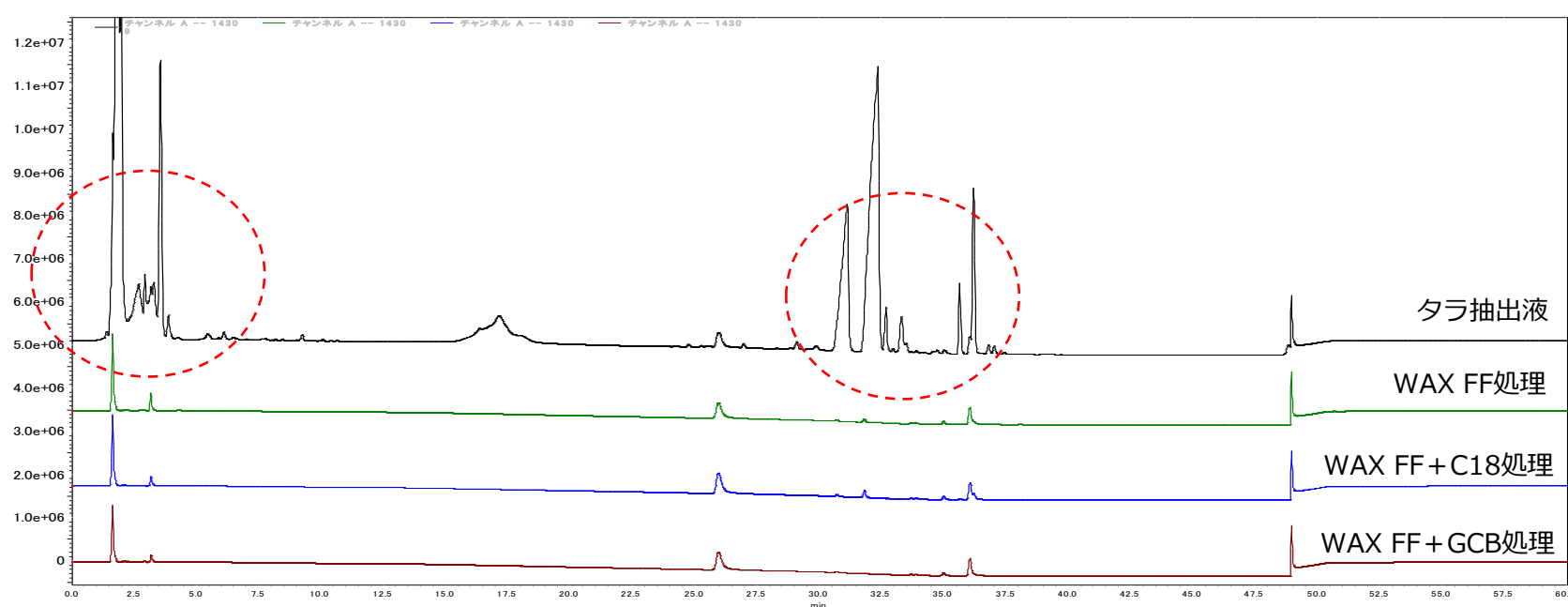


Fig.4 水産食品抽出液 (タラ) における精製効果の違い(UV210nm)

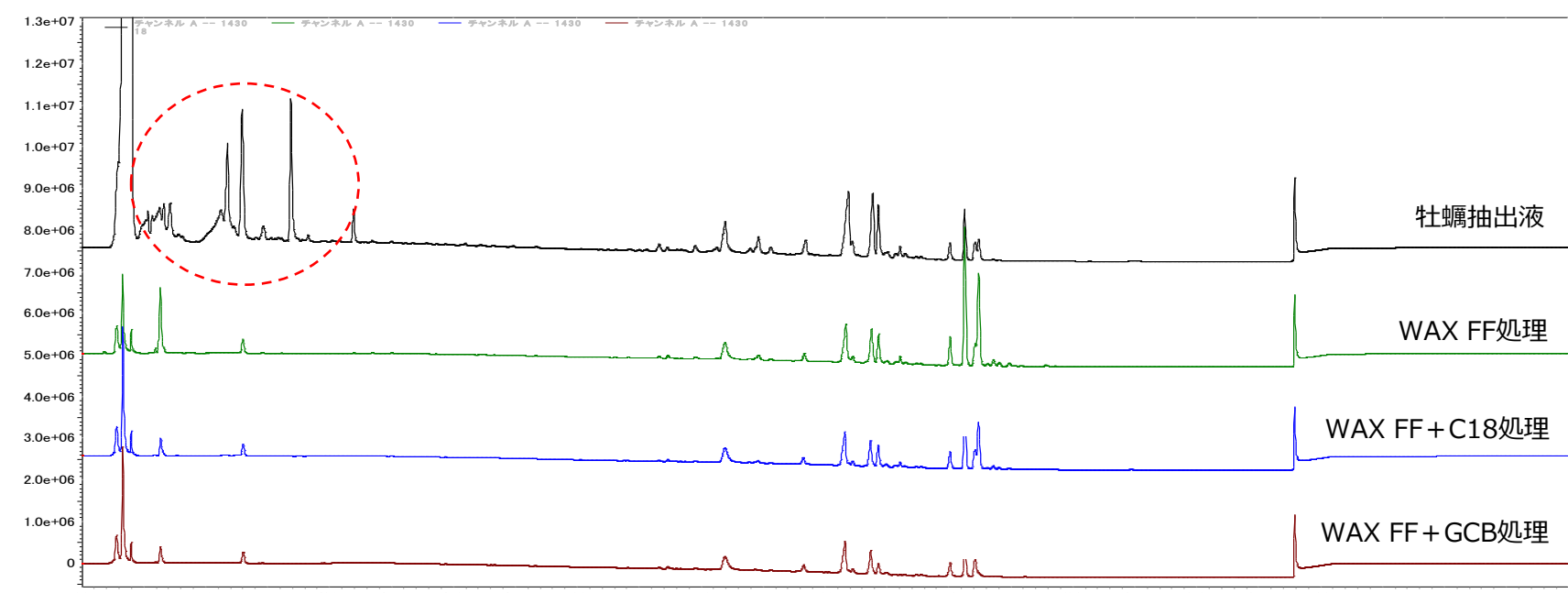


Fig.5 水産食品抽出液 (牡蠣) における精製効果の違い(UV210nm)

(3) 添加回収試験

これまでの検討結果を踏まえ、Fig.6の手順に従って添加回収試験を実施した。回収率の結果をTable 3に示す。タラに対しては、WAX FFによる前処理に加えてGCB 100 mgを併用することで、4:2 FTSやPFPeSの回収率が改善した。一方、PFTeDA以降の長鎖PFASでは、回収率の低下傾向がみられた。GCBは極性妨害成分の除去に効果的であったものの、長鎖PFASにおいては過剰な吸着の影響を受けると考えられた。妨害成分の多い牡蠣に対しては、WAX FFにGCB 300 mgを併用することで全体的な回収率の改善が確認され、特に色素成分の除去効果は良好であった。この結果は、複雑なマトリックスを有する試料において、GCBの使用が有効であることを示唆していると考えられた。

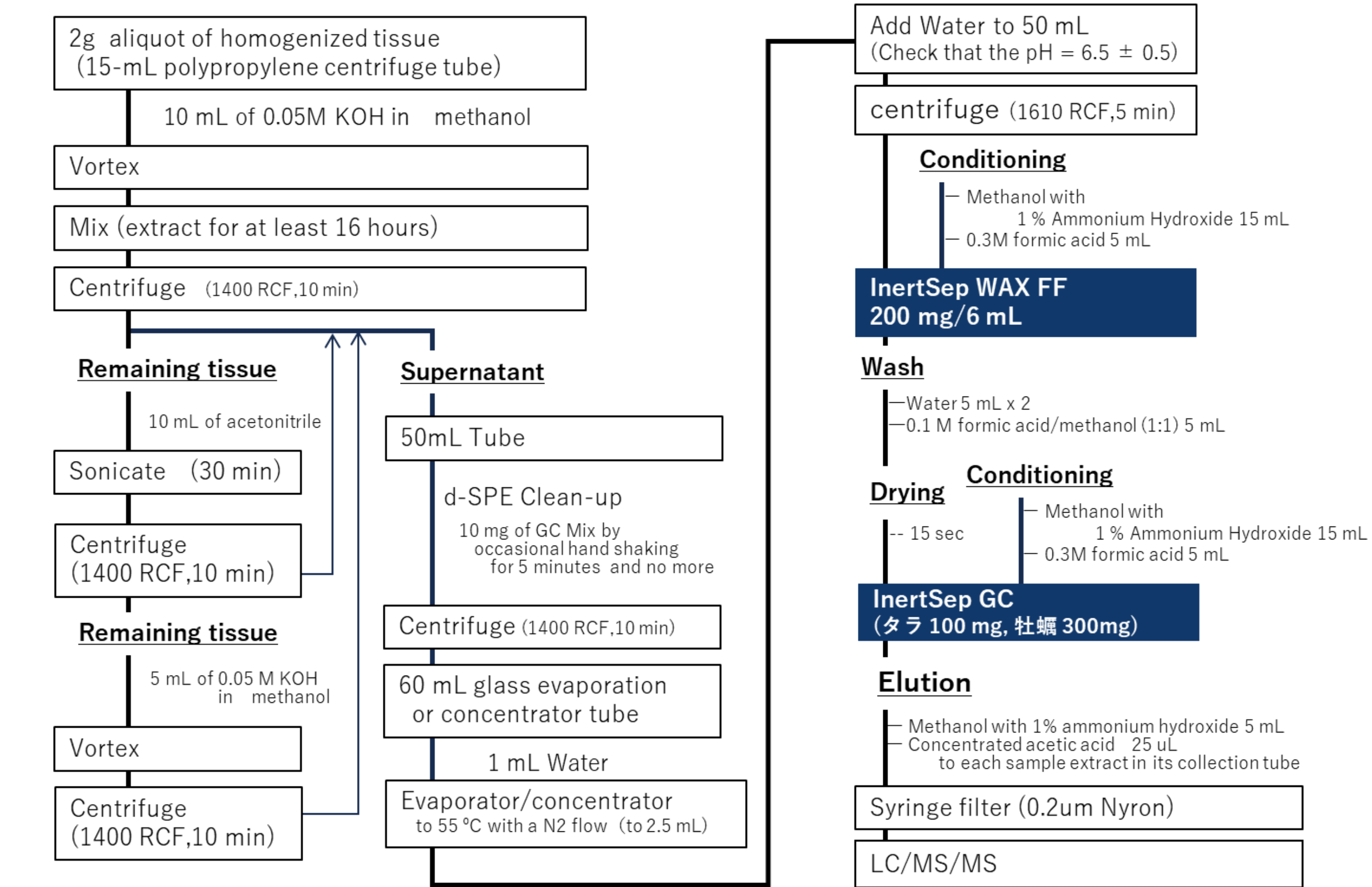


Fig.6 作業手順

Table 3 WAX FF および WAX FF+GCBによる添加回収試験結果 (左：タラ 右：牡蠣)

タラ	Compound	WAX FF	WAX FF GCB100mg	牡蠣	Compound	WAX FF	WAX FF GCB 300mg
1	PFBA	97.3	94.2	1	PFBA	87.3	90.5
2	PFMBA	95.7	99.3	2	PFMBA	84.1	93.9
3	3:3FTCA	—	—	3	3:3FTCA	—	—
4	PFPeA	98.6	102.0	4	PFPeA	83.7	93.3
5	PFMPA	93.2	100.4	5	PFMPA	83.7	100.6
6	4:2FTS	143.3	103.7	6	4:2FTS	227.1	248.8
7	NFDHA	108.0	110.4	7	NFDHA	61.0	85.1
8	PFHxA	99.4	88.4	8	PFHxA	81.7	86.6
9	PFBS	91.8	94.9	9	PFBS	99.0	88.0
10	HFPO-DA	105.7	100.5	10	HFPO-DA	100.0	90.2
11	5:3FTCA	80.5	95.6	11	5:3FTCA	87.6	113.6
12	PFEESA	100.3	99.3	12	PFEESA	94.9	100.7
13	PFHpA	93.1	85.6	13	PFHpA	83.0	95.1
14	PFPeS	63.7	79.3	14	PFPeS	12.0	46.7
15	ADONA	88.3	87.0	15	ADONA	79.3	87.9
16	6:2FTS	89.2	105.8	16	6:2FTS	—	74.8
17	PFOA	91.3	92.4	17	PFOA	111.2	92.8
18	7:3FTCA	76.3	99.4	18	7:3FTCA	48.6	69.5
19	PFHxS	102.6	82.6	19	PFHxS	89.0	87.7
20	PFNA	97.1	96.8	20	PFNA	88.5	93.6
21	8:2FTS	91.0	96.8	21	8:2FTS	95.6	85.6
22	PFHpS	48.6	49.7	22	PFHpS	35.4	39.8
23	N-MeFOSAA	94.3	106.9	23	N-MeFOSAA	80.3	102.9
24	PFDA	94.7	86.3	24	PFDA	96.5	109.1
25	N-EtFOSAA	82.5	87.1	25	N-EtFOSAA	86.0	94.9
26	PFOS	95.6	100.4	26	PFOS	67.5	88.3
27	PFUnDA	84.8	91.0	27	PFUnDA	93.7	116.0
28	9Cl-PF3ONS	93.7	100.3	28	9Cl-PF3ONS	75.4	103.7
29	PFNS	93.3	97.6	29	PFNS	80.8	101.5
30	PFDoDA	87.0	90.7	30	PFDoDA	83.1	98.1
31	FOSA	73.0	83.4	31	FOSA	82.6	98.9
32	PFDS	74.7	100.4	32	PFDS	60.9	97.6
33	PFTdA	67.4	84.2	33	PFTdA	38.5	105.4
34	11Cl-PF3OUdS	70.0	98.0	34	11Cl-PF3OUdS	71.6	97.8
35	PFTeDA	81.0	55.9	35	PFTeDA	93.5	104.5
36	PFDoDS	93.3	69.6	36	PFDoDS	26.2	76.7
37	NMeFOSE	61.3	45.2	37	NMeFOSE	25.6	27.6
38	N-MeFOSA	82.0	35.0	38	N-MeFOSA	92.6	76.5
39	NEtFOSE	155.7	172.4	39	NEtFOSE	66.0	187.3
40	N-EtFOSA	94.1	103.1	40	N-EtFOSA	88.5	94.7

まとめ

- イオン交換固相抽出カラムとしては、マトリックス影響が小さいWAX FFが適していた。
- 追加精製カラムとしてGCBを併用することで、牡蠣のような妨害成分の多い試料において色素除去や回収率の改善が確認された。
- 一方で、GCBの使用は長鎖PFASに対して吸着による回収率低下を引き起こす可能性があった、目的成分に応じた選択が重要である。

参考文献

- 1) Emily H. Pennoyer, et al. Environ. Sci. Technol., 59, 9896–9906 (2025) .
- 2) U.S. Environmental Protection Agency. EPA Method 1633(2024).