

テラーメイド型固相抽出カラムを用いた農作物中PFAS分析の検討評価

○ 国枝巧¹、高柳学¹、高原玲華¹、太田茂徳¹、殷熙洙²
(¹ジーエルサイエンス株式会社、²国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構)



はじめに

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国内外での懸念が高まっている。近年、多くの国で水に対する検査方法が開示され、実態調査が進められている。一方で、PFASの人への影響は水だけでなく、様々な環境媒体（大気、土壌、雨など）や、特に食品からの曝露も指摘されている。このように環境から様々な食品に至るまでPFASが検出されることから、水に限らず、全ての環境媒体や食品に対する正確な分析手法の確立が強く求められている。

しかし、現時点で提案されている分析法では、これらの分析ニーズに十分に対応できているとは言い難く、国内外の分析実施現場では試行錯誤を繰り返す状況に置かれている。理由として、試料毎にPFAS分析における夾雑成分の種類と量が多様であるため、抽出や精製を一律の手法で行うことが困難であることが挙げられる。特に、底質や食品、農産物に含まれるPFAS分析の夾雑成分を除去することは非常に難しい。米国FDAからは、QuEChERS法をベースにした手法が提案されており、簡易的でスクリーニングには有効であるが、全量を正確に定量する手法としては多くの問題点を残している。

そこで本研究では、上記のように分析が極めて難しい試料に対して、農研機構が提案したメソッドを基に、試料毎の精製に適した固相抽出カラム（InertSep Seiseiohシリーズ）を新たに開発し、国内外で注目されている主要PFASであるPFHxS、PFOA、PFOS、PFNAの4成分に対して、一度の精製工程で定性・定量分析が可能であることを確認した。各種試料を用いて評価した結果を報告する。

評価内容

本検討では、InertSep Seiseiohシリーズを用いて、2項目について評価を行った。

検討1. 各試料の精製効果の確認

検討2. 各試料の固相抽出操作における4成分PFASの回収率評価

分析対象製品：PFHxS、PFOA、PFOS、PFNA及び各内部標準物質

評価試料：底質および野菜5種（ジャガイモ、キュウリ、トマト、ホウレンソウ、米（玄米））

使用器具：PFAS用自然落下マニホールド、リアクティサーモ・リアクティブアップ、PTFEフリー活性炭フィルター、ニトロミニNM9100（すべてGL Sciences Inc.）

分析方法

使用した分析機器、LCカラムと分析条件を表1に、各成分のトランジション条件を表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である、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。

評価方法

検討1：各試料の精製効果の確認

底質、野菜5種類の各試料について、最適な抽出及び試料調整操作を行い、得られた抽出液に対して、図1に示す方法に従い、InertSep Seiseioh（3種類：01、02、03）を用いた固相抽出前処理を行った。

その際、各試料において固相抽出液の色が透明にある条件を満たす固相抽出カラムを選抜した。

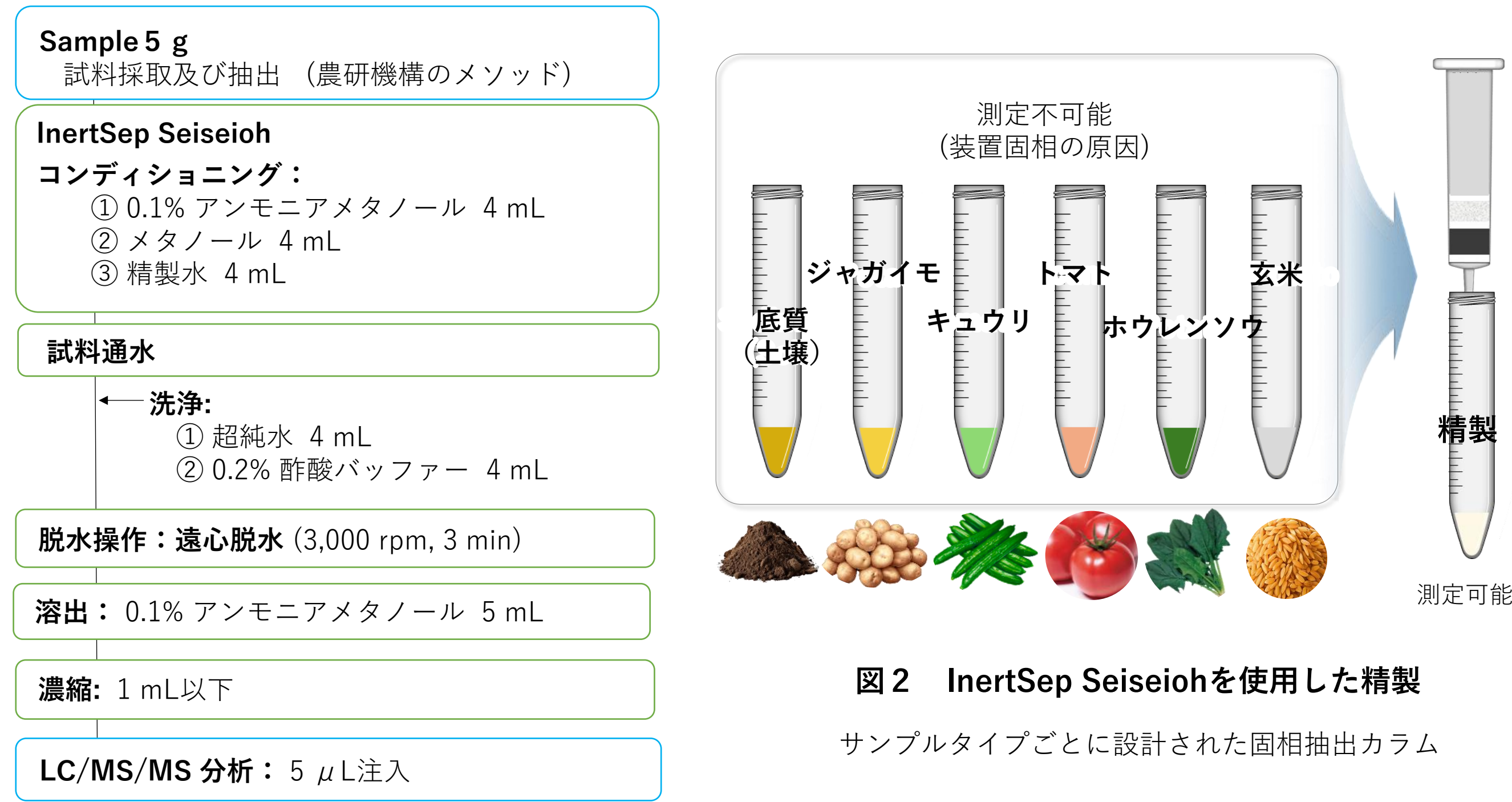


図1 試料抽出及び固相抽出操作フロー手順

検討2：各試料の固相抽出操作における4成分のPFASの回収率評価

各試料について、抽出操作を行い得られた抽出液に内部標準液を添加し、試料溶液を加水してpH 4以下に調製したものを、「検討1」の結果で透明の溶液になったテラーメイド型固相抽出カラムを用いて図1に示す方法で生成を行った。

得られた固相抽出液をLC-MS/MSで測定し、4成分PFASの回収率を求めた。

考察と結論

今回開発した農研機構の試料抽出メソッドとInertSep Seiseiohを用いることで、試料毎のマトリックスに応じて精製効果を上げながらも安定かつ良好な回収率が得られることが確認できた。試料毎の抽出から精製工程を最適化することで、従来課題とされていた分注を基本とした米国FDAの方法を克服し、一度の精製工程で測定が可能な状態まで試料精製が完了できる手法を確立した。この方法により、従来困難だったPFAS分析業務の簡便化・迅速化・高度化に貢献できた。今後は、より多様な試料に対応可能な固相抽出カラムの開発を進めるため、適用事例の蓄積を図る。

謝辞

本検討にご尽力いただきました、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）・PFAS Task Force Team (PFAS TFT)の皆様に御礼申し上げます。

参考文献

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構「土壌に含まれるPFASの一斉分析暫定マニュアル～土壌採取から測定まで～」

URL: <https://forms.office.com/pages/responsepage.aspx?id=MBzgSGhzkUq9DL7StxstrydBQT-yXn9Plcify-E6he1URE1t1JJRkdOWUVBWUNPMUZNWjhHWkhEMy4u&route=shorturl>



表1 LC-MS/MS条件

HPLC System	Exion AE (SCIEX)						
分析カラム	InertSustain AQ-C18 3 µm 2.1×150 mm (GL Sciences Inc., 5020-89924)						
ガードカラム	InertSustain AQ-C18 3 µm 2.1×10 mm (GL Sciences Inc., 5020-89825)						
ディレイカラム	Delay Column for PFAS 3.0×30 mm (GL Sciences Inc., 5020-90005)						
移動相 (A)	2 mmol/L 酢酸アンモニウム						
移動相 (B)	メタノール						
グラジエント条件	Time (min)	0	2.5	16.0	19.0	20.1	27.0
	A %	95	50	0	0	95	95
	B %	5	50	100	100	5	5
流速	0.3 mL/min		カラムオープン温度		40°C		
注入量	5 µL		オートサンプラー温度		10°C		

MS/MS System	Triple Quant 5500+
機器の種類	トリプル四重極
イオン化	ESI Negative
分析モード	スケジュールモニタリング (sMRM)
ソース温度	450°C
カーテングス	35 psi
コリジョンガス	12 psi
イオンソースガス 1	40 psi
イオンソースガス 2	70 psi
イオンスプレー	-4500V

表2 PFAS 4 成分と内部標準のMRMトランジション条件

No.	化合物	Transition 1			Transition 2		
		Q1	Q3	CE	Q1	Q3	CE
1	PFHxS	399	80	-80	399	99	-80
2	PFOA	413	369	-14	413	169	-26
3	PFOS	499	80	-97	499	99	-77
4	PFNA	463	419	-16	463	219	-26

No.	化合物	Transition 1		
		Q1	Q3	CE
E-1	¹³ C ₃ -PFHxS	402	80	-84
E-2	¹³ C ₈ -PFOA	421	376	-14
E-3	¹³ C ₈ -PFOS	507	80	-86
E-4	¹³ C ₉ -PFNA	472	427	-16

結果

検討1：各試料の精製効果の確認

3種類のテラーメイド型固相抽出カラムを用いて各試料の固相抽出操作を行い、抽出液の色をの結果を表3に、各試料の抽出前とクリーンアップ処理後の写真を図3に示す。

試料によって抽出液が透明になる固相が異なることが確認できた。

表3 各試料の固相抽出精製効果の確認

InertSep Seiseioh	01	02	03
底質（土壌）	×	○	○
ジャガイモ	×	△	○
キュウリ	△	○	○
トマト	×	△	○
ホウレンソウ	×	×	○
玄米	△	○	○

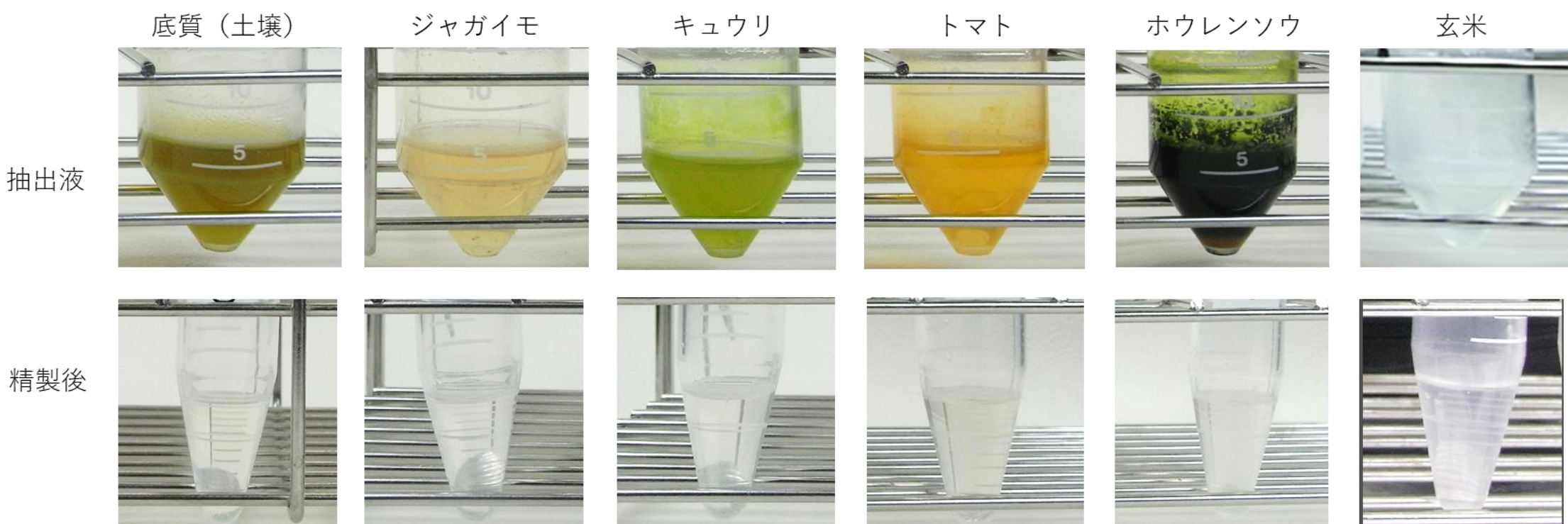


図3 各試料の固相抽出精製効果の確認

検討2：各試料の固相抽出操作における4成分のPFASの回収率評価

各試料におけるPFHxS、PFOA、PFOS、PFNAの添加回収試験結果を表4に示す。すべての試料において良好な回収率と標準偏差が得られた。

表4 InertSep Seiseiohによる各サンプルの4成分PFASの回収*

	底質（土壌） （再現性）	ジャガイモ （再現性）	キュウリ （再現性）	トマト （再現性）	ホウレンソウ （再現性）	玄米 （再現性）
PFHxS	81%(4%)	82%(3%)	95%(8%)	76%(2%)	88%(12%)	84%(2%)
PFOS	78%(4%)	75%(3%)	96%(6%)	93%(2%)	77%(3%)	80%(6%)
PFOA	86%(4%)	92%(3%)	86%(8%)	95%(1%)	84%(12%)	86%(2%)
PFNA	81%(3%)	76%(4%)	103%(6%)	98%(1%)	80%(8%)	80%(4%)

* データは、InertSep Seiseiohを使用した各サンプルの3回の繰り返しテストの結果です。