

血清マトリクス中におけるPFAS分析前処理の為の
固相抽出法の検討

○ 坂井 拓斗、高原 玲華、国枝 巧、石井 一行、高柳 学、太田 茂徳
(ジーエルサイエンス株式会社)



目的

PFASは、有機フッ素化合物の一群として知られ、環境中での残留性および生体内蓄積性から注目されている。PFASは農畜水産物や飲料水などを介してヒトへ暴露する可能性があり、その健康影響を評価する上では、血中PFAS濃度を正確に把握することが重要である。生体試料中のPFAS分析では、夾雑成分の多いマトリクスにより、前処理条件が分析性能に影響しやすい。そこで本検討では、血清中PFAS分析における前処理法として固相抽出法に着目し、回収率および再現性の観点から前処理条件を評価した。

方法

固相カラムとして、スチレンジビニルベンゼンに弱陰イオン交換を修飾したミックスモードのInertSep WAX (30 mg/1 mL, ジーエルサイエンス社製) を用い、血清試料中のPFASの前処理条件を検討した。血清試料は、L-コンセーラ I EX (島津ダイアグノスティクス社製) を用いた。固相抽出フローを図1に示す。検討は以下の3つに分けて行った。
検討①：「除タンパクのみ」と「除タンパク+WAX FF処理」による固相精製効果の確認
検討②：除タンパク後の血清試料を用いた添加回収試験(n=5、操作ブランク: n=1)
検討③：血清試料を用いた回収試験(n=5、操作ブランク: n=1)

測定対象成分・分析条件

【対象成分】
分析対象成分は、標準液の入手性および既存分析法との比較可能性を考慮し、ISO 21675で対象とされるPFAS群30成分 (Wellington Laboratories社製) と内標準物質 24成分 (Wellington Laboratories社製) を用いた。
分析条件を表1・表2に示す。

表1 HPLC条件								表2 MS/MS条件	
HPLC System	ExionLC (SCIEX)							MS/MS System	QTRAP 5500+ (SCIEX)
Column	InertSustain AQ-C18 (GL Sciences Inc.) 3 μm, 2.1 mm I.D. × 150 mm							Ion Source	ESI
Delay Column	Delay Column for PFAS 3.0 × 30 mm (GL Sciences Inc.)							Mode	SMRM
Mobile Phase (A)	10 mmol/L ammonium acetate aqueous solution							Polarity	Negative
Mobile Phase (B)	Acetonitrile							Temp.	400 °C
Gradient	Time (min)	0	2.0	15.0	17.0	17.1	23.0	CUR	35
	A %	80	80	0	0	80	80	CAD	12
	B %	20	20	100	100	20	20	IS	~4500
Flow Rate	0.3 mL/min			Column Temp.		40°C		Ion Source gas1	40
Injection Volume	2 μL			Sample Cooler		10°C		Ion Source gas2	70

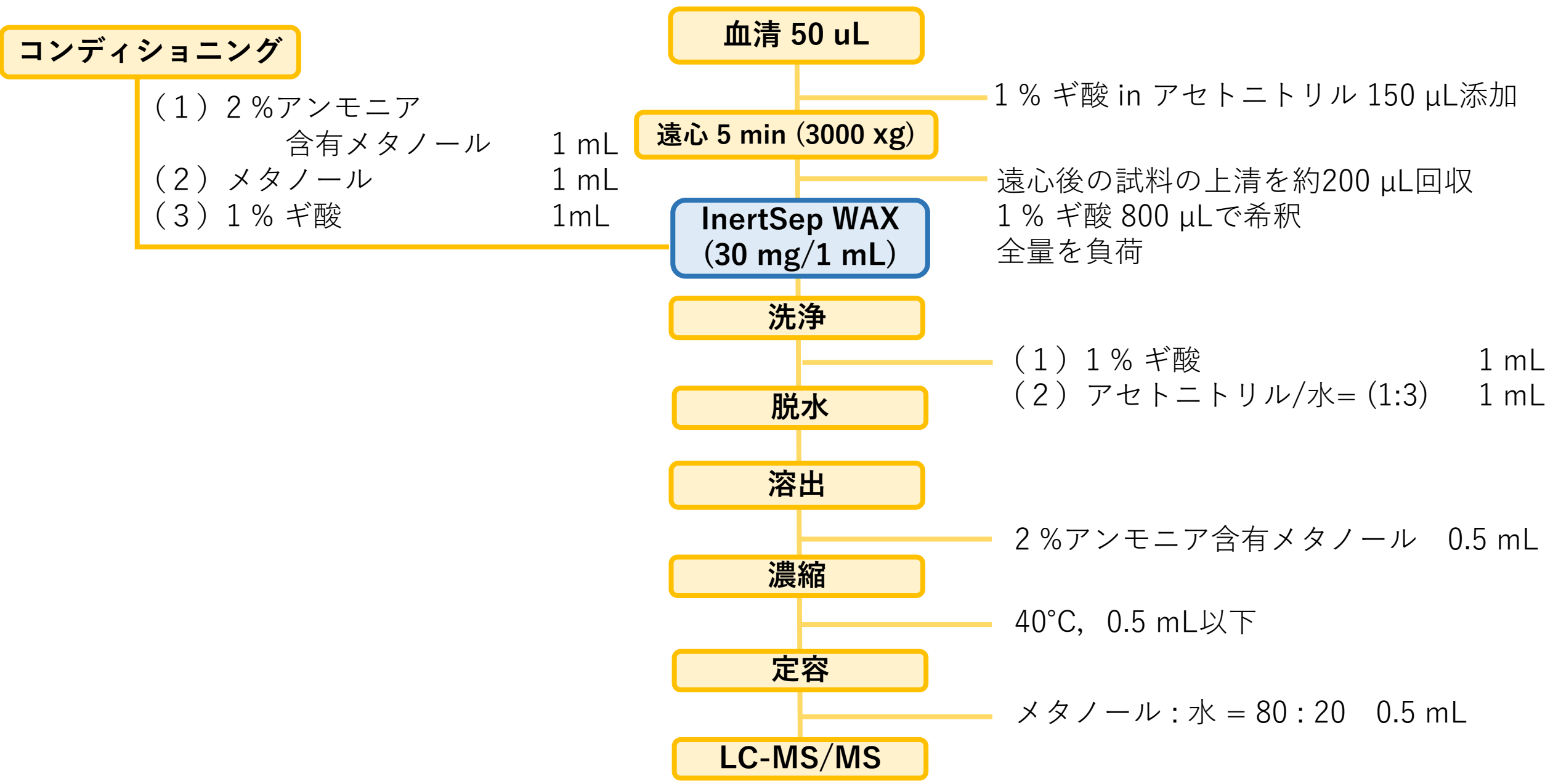


図1 固相抽出フロー

結果

検討①：精製効果の確認

図2に、InertSep WAXを用いた固相抽出による血清マトリクス影響の低減効果を示す。除タンパク後の血清試料へPFAS標準物質と内部標準物質をそれぞれ100 ng/Lとなるよう添加した試料を用い、固相抽出処理の有無による回収率の比較を行った。PFAS 30成分では、回収率70～120%の範囲内であった成分数は、固相抽出処理無で8成分、固相抽出処理有で28成分であった。また、内標準物質 24成分では、固相抽出処理無で16成分、固相抽出処理有で24成分が回収率70～120%の範囲内であった。固相抽出処理無では回収率が高値側へ移行する傾向が認められたことから、固相抽出操作により血清由来成分の影響が低減され、イオンエンハンスメントが抑制された可能性が示唆された。

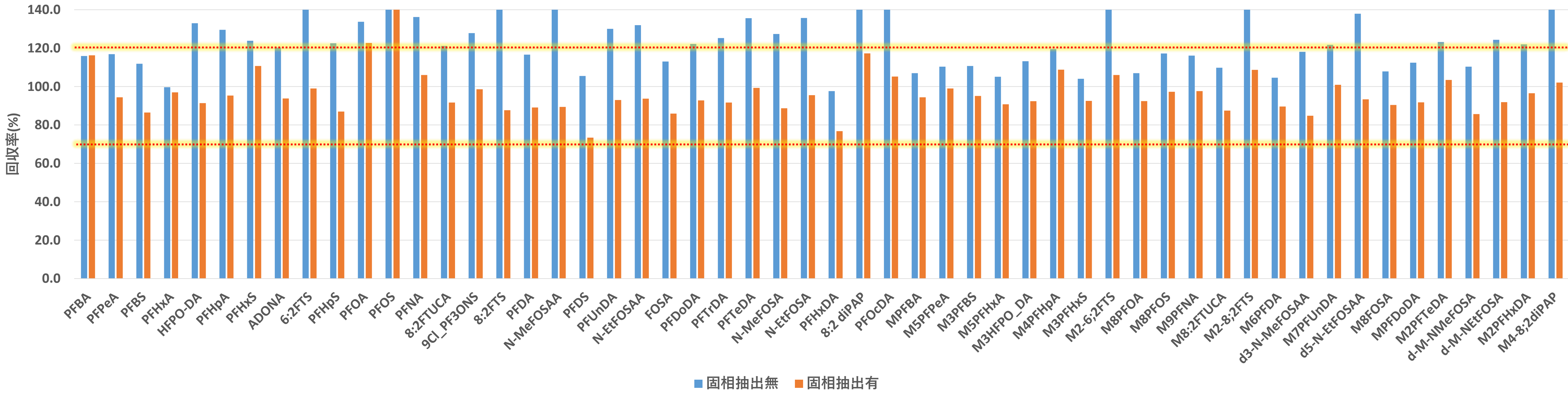


図2 固相抽出処理の有無によるPFAS回収率の比較

検討②：除タンパク後の血清試料を用いた添加回収試験

除タンパク後にPFAS標準物質と内部標準物質をそれぞれ100 ng/Lとなるよう添加したサンプル (n=5) と、内標準のみを添加した操作ブランク試料(n=1)を用いて添加回収試験を行った。各PFASの回収率結果 (内部標準補正後) を図3に示す。30成分中29成分で回収率70～120%を満たす結果が得られた。

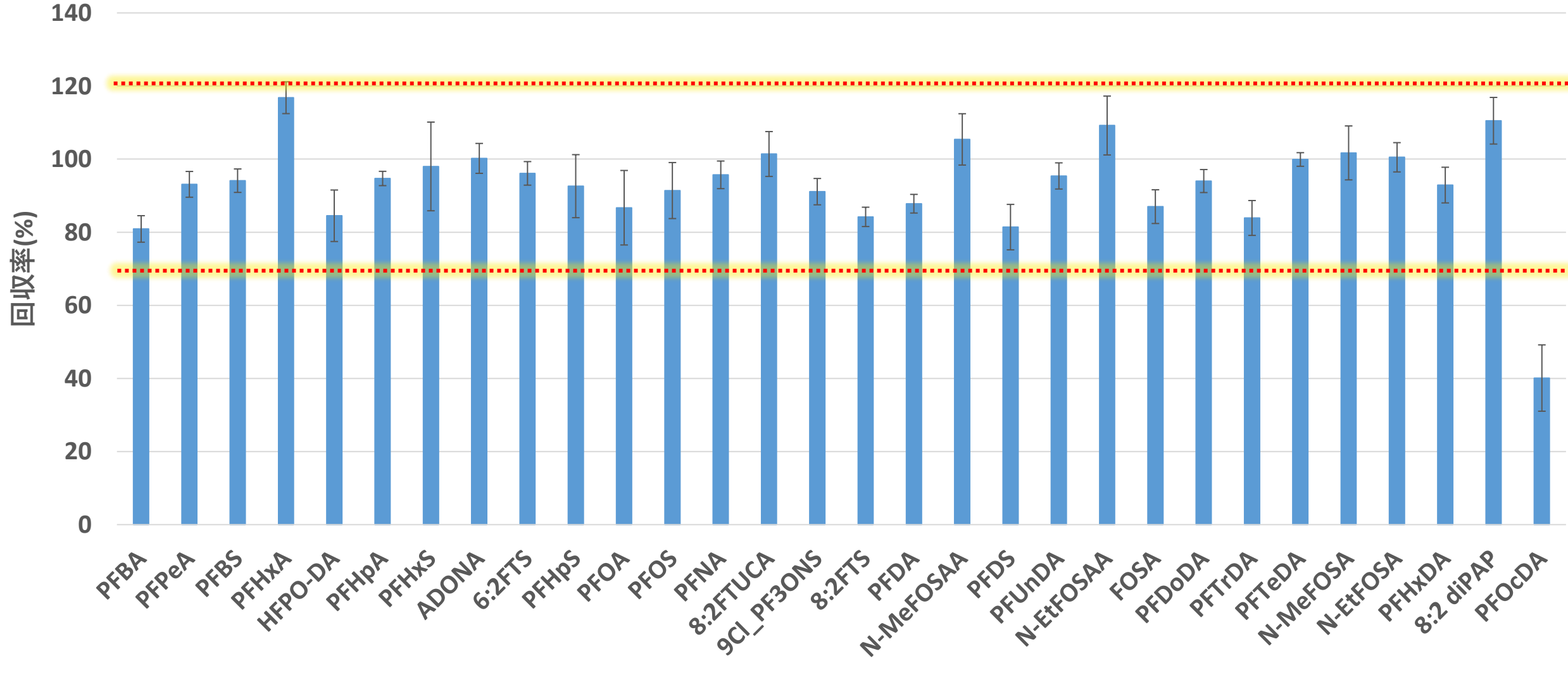


図3 除タンパク後の血清試料を用いた添加回収試験結果

検討③：血清試料を用いた添加回収試験

除タンパク前の血清試料にPFAS標準物質および内標準物質をそれぞれ100 ng/Lとなるよう添加した試料 (n=5) と、内標準物質のみを添加した操作ブランク試料 (n=1) を用いて、添加回収試験を行った。各PFASの回収率結果 (内標準補正後) を図4に示す。30成分中29成分で回収率70～120%を満たし、検討②と同等の結果が得られたことから、除タンパク操作によるPFASの顕著な損失は、本評価においては確認されなかった。

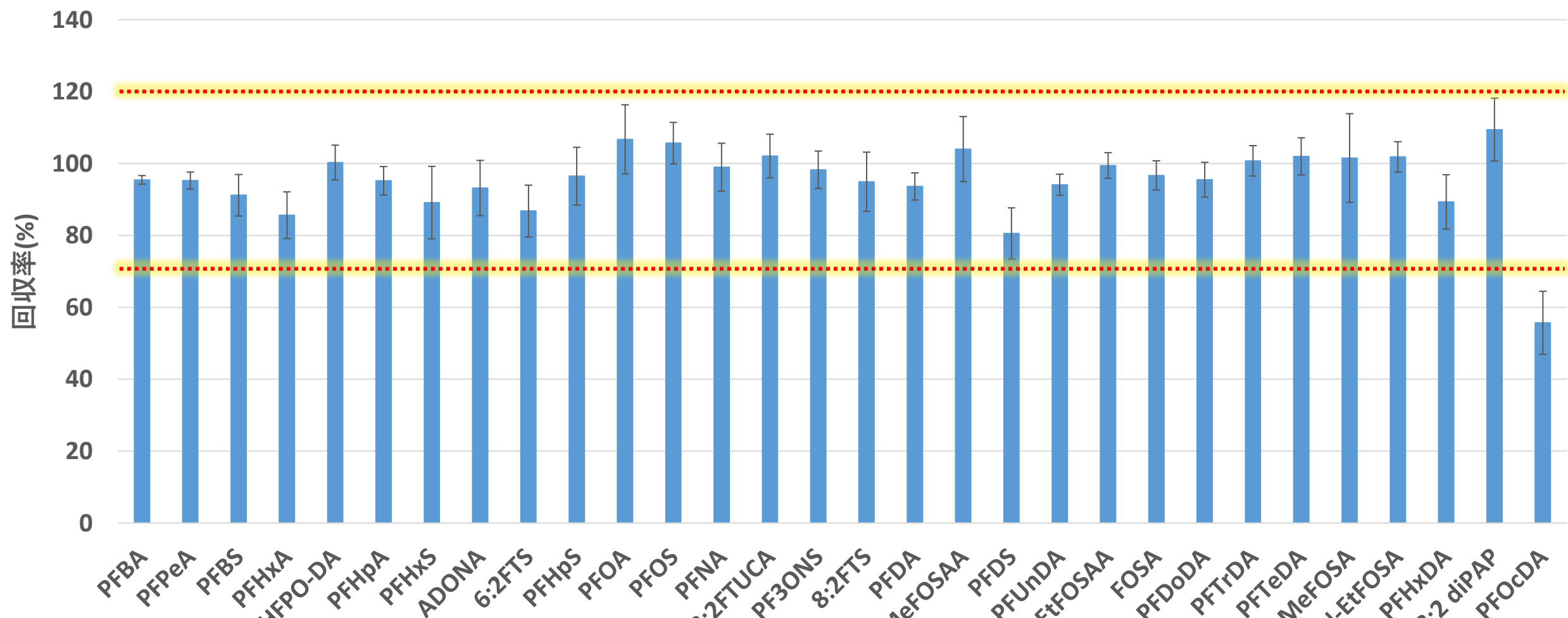


図4 血清試料を用いた添加回収試験結果

結論

本検討では、血清試料中PFASの前処理法について検討した。InertSep WAXを用いた固相抽出により、血清マトリクスの影響低減が示唆された。また、添加回収試験では30成分中29成分で良好な回収率が得られ、除タンパク操作によるPFASの顕著な損失は、本評価の範囲では確認されなかった。以上より、血清試料中PFAS分析の前処理法として、InertSep WAXを用いた固相抽出法が有効であることが示された。一方で、PFOcDAでは良好な回収率が得られず、検討課題として残された。