ポスター番号：P-33

食品試料を想定したPFAS分析用クリーンアップ固相の検討

○ 高柳学[1]、国枝巧[1]、髙原玲華[1]、坂井拓斗[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、ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）やペルフルオロオクタン酸（PFOA）だけでなく、その類縁化合物や前駆物質、分解物質を含めた多くの成分が存在する。PFASは、主に環境汚染物質として注目されているが、食品への汚染影響も危惧されている。食品抽出液には様々な夾雑成分が混在しているため、マトリックスに応じたクリーンアップ処理が必須であると考えられる。本検討では、複数のPFASに対し、様々なクリーンアップ固相を適用させ、基礎的な挙動を確認するものとした。

分析条件

測定したPFASは Native 40成分で、Cambridge Isotope Laboratories社製、Wellington La-boratories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(Table1,Table2)、及びクロマトグラムを(Fig.1)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。。オートサンプラーのバイアルには高純度ポリプロピレンバイアル(GL Sciences Inc.)を使用し、オートサンプラーのバイアルキャップは、シリコンとアルミシートの二層のセプタムが組み込まれたもの(GL Sciences Inc.)を使用した。

方法と結果（１:PFASを保持させて溶出する方法を想定した場合）

試料液中のPFASを精製する場合、**弱陰イオン交換ポリマー固相で保持させた後に溶出させる手法**が広く使われている。そこで、市販されている数種類の弱陰イオンポリマー固相(table3)に対し、基礎的な溶出試験を実施した。コンディショニングした各固相に各PFASを1ng直添加し、2%濃アンモニア水含有メタノール(5mL)で溶出した。分画の回収率を合計した結果を見るとどの固相も同様に良好に抽出されていることがわかった(Fig.2)。また、PFASをこれら固相に保持させた後、1mol/Lの酢酸アンモニウム(10mL)とメタノール(1mL)で洗浄後、2%濃アンモニア水含有メタノール(5mL)で溶出させたところ、40成分中、4種類の固相すべてでN-MeFOSA、N-EtFOSAの回収率が20%以下となっていた(Fig.3)。「InertSep MA-2」ではFOSAが、「市販固相」では、PFPrAの回収率が20%以下であった。InertSep WAXとInertSep WAX FFの保持・溶出挙動は安定していたが、両性・中性PFASを弱陰イオン交換ポリマー固相で保持させる際には、固相の洗浄条件に注意が必要である事が示唆された。

Table 3 Types and specifications of polymer anion exchange SPE

固相の種類		製品名	粒子径	充填剤	サイズ
弱陰イオン交換	①	InertSep WAX FF	70 µm	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（逆相モードが強い）	200 mg/6 mL
	②	InertSep WAX	30 µm		
	③	InertSep MA-2	70 µm	メタクリレート母体に弱陰イオン交換を修飾したイオン交換固相（逆相モードは極めて弱い）	
	④	市販ミックスモード固相	30 µm	ー	

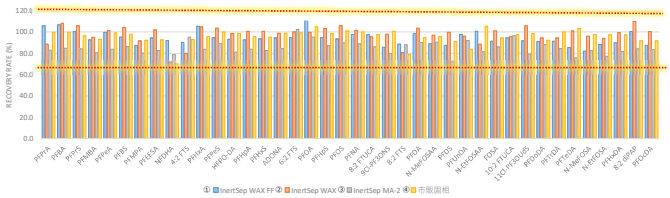


Fig. 2 The results of the fractionation test of 40 PFAS compounds using for different SPEs.

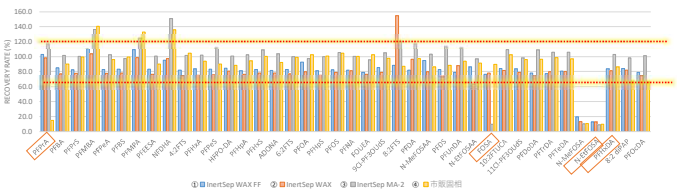


Fig. 3 The results of the breakthrough test of 40 PFAS compounds using for different SPEs.

Table 1 MRM Transition for PFAS Native 40 compounds

No.	Compound	R.T.(min)	Transition 1 Q1	Transition 1 Q3	Transition 1 CE	Transition 2 Q1	Transition 2 Q3	Transition 2 CE
1	PFPrA	3.51	163	119	-16			
2	PFBA	6.52	213	169	-14			
3	PFPrS	7.34	249	80	-52	249	99	-34
4	PFMBA	7.57	229	85	-16	229	135	-12
5	PFPeA	9.31	263	219	-11			
6	PFBS	9.82	299	80	-59	299	99	-44
7	PFMPA	10.1	279	85	-14	279	235	-10
8	PFEESA	10.8	315	135	-30	315	83	-24
9	NFDHA	11.4	295	201	-12	295	85	-30
10	4:2 FTS	11.5	327	307	-28	327	81	-54
11	PFHxA	11.7	313	269	-15	313	119	-30
12	PFPeS	12	349	80	-88	349	99	-38
13	HFPO-DA	12.4	329	169	-16	329	285	-8
14	PFHpA	13.7	363	319	-14	363	169	-26
15	PFHxS	13.8	399	80	-80	399	99	-80
16	ADONA	13.9	377	251	-14	377	85	-56
17	6:2 FTS	15.1	427	407	-32	427	81	-72
18	PFOA	15.2	413	369	-14	413	169	-26
19	PFHpS	15.3	449	80	-104	449	99	-70
20	PFOS	16.5	499	80	-97	499	99	-77
21	PFNA	16.5	463	419	-16	463	219	-26
22	8:2 FTUCA	16.9	457	393	-18	457	343	-52
23	9Cl_PF3ONS	17.2	531	351	-40	531	83	-56
24	8:2 FTS	17.6	527	507	-40	527	81	-82
25	PFDA	17.6	513	469	-19	513	219	-27
26	N-MeFOSAA	18.1	570	419	-28	570	483	-22
27	PFDS	18.5	599	80	-94	599	99	-91
28	PFUnDA	18.6	563	519	-19	563	269	-28
29	FOSA	18.6	498	78	-85	498	169	-40
30	N-EtFOSAA	18.7	584	419	-28	584	526	-22
31	10:2 FTUCA	19	557	493	-20	557	243	-52
32	11Cl-PF3OUdS	19.2	631	451	-40	631	83	-90
33	PFDoDA	19.8	613	569	-17	613	269	-29
34	PFTrDA	20.8	663	619	-19	663	269	-32
35	N-MeFOSA	21	512	169	-37	512	219	-34
36	PFTeDA	21.2	713	669	-19	713	319	-36
37	N-EtFOSA	21.4	526	169	-37	526	219	-34
38	PFHxDA	21.7	813	769	-20	813	319	-34
39	8:2 diPAP	21.9	989	97	-88	989	543	-35
40	PFOcDA	22	913	869	-20	913	369	-40

Table 2 LC-MS/MS Conditions

HPLC System	Nexera X2 UHPLC（Shimadzu Corporation）
Column	InertSustain AQ-C18 (GL Sciences Inc.) 1.9 µm, 2.1 mm I.D. × 100 mm
Delay Column	Delay Column for PFAS 3.0 × 30 mm (GL Sciences
Mobile Phase (A)	20 mmol/L ammonium acetate aqueous solution
Mobile Phase (B)	Methanol
Gradient	Time (min) 0.0 0.5 3.0 16 18 20 22 25 35 A % 95 95 60 20 20 5 5 95 95 B % 5 5 40 80 80 95 95 5 5
Flow Rate	0.3 mL/min
Injection Volume	2 µL
Column	40°C
Sample	10°C

MS/MS System	API 4000 QTRAP (SCIEX)
Ion Source	ESI
Mode	SMRM
Polarity	Negative
Temp.	500 °C
CUR	25
CAD	12
IS	-4500
Ion Source gas1	50
Ion Source gas2	30

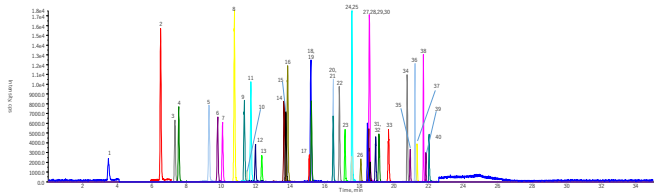
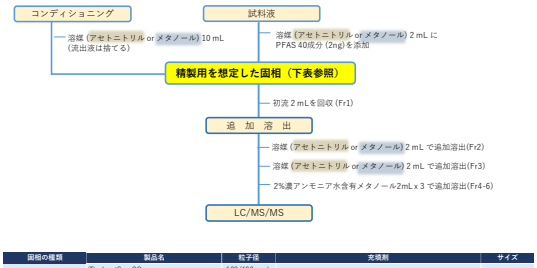


Fig.1 MRM Chromatogram of PFAS 40 Compounds

方法と結果（2:PFASを素通しさせて精製する方法を想定した場合）

アセトニトリルやメタノールで抽出した食品試料等を固相カラムで精製する場合、**夾雑成分を保持させてPFAS類を素通しさせる方法**が運用されると考えられる。精製用に使われる固相カラム数種を用意しアセトニトリルとメタノールに対してのPFAS類溶出挙動を確認すると同時に、素通りせずに吸着したPFASに対し2%濃アンモニア水含有メタノールで追加溶出を行うこととした（Fig.4)。得られた結果をTable3 Table4に示す。



固相の種類		製品名	粒子径	充填剤	サイズ
カーボン	⑤	InertSep GC	120/400mesh	グラファイトカーボン	500 mg/6 mL
	⑥	InertSep GC-e	100/200mesh		
逆相	⑦	InertSep C18	60 µm	オクタデシルシリル化シリカゲル（高不活性処理）	1 g/6 mL
	⑧	InertSep C18-C		オクタデシルシリル化シリカゲル（低不活性処理）	
弱陰イオン交換	⑨	InertSep WAX FF	70 µm	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（逆相モードが強い）	200mg/6mL
リン脂質除去用カラム	⑩	InertSep Phospholipid Remover	30 µm	酸化チタンおよび酸化ジルコニウムの混合担体	100 mg/3 mL

Fig. 4 Elution Test of PFAS Considering the Pass-Through Method.

Table 3 Results of PFAS Pass-Through Method (Acetonitrile)

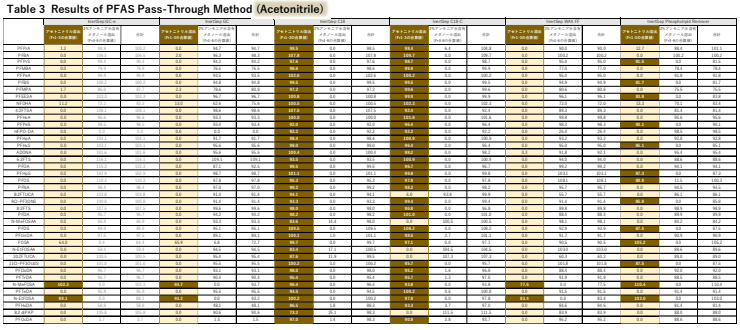
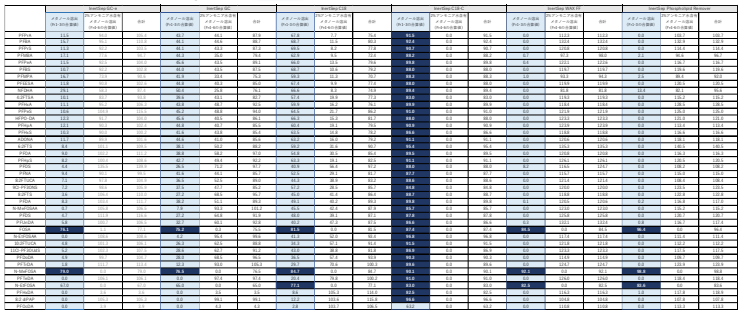


Table 4 Results of PFAS Pass-Through Method (Methanol)



まとめ

○ 一斉分析を想定した固相によるクリーンアップを想定したPFAS 40成分の溶出挙動調査を行った。
○ PFASを保持させ溶出する目的で弱陰イオン型ミックスモードポリマー固相を用いる場合、2%濃アンモニア水含有メタノールで良好な回収が得られた。
ただし、両性・中性PFAS化合物では保持が弱く、固相洗浄行程において注意が必要である。
○ 素通し法の挙動を見るとメタノールとアセトニトリルでの挙動差が見られた。
脱脂目的を想定した場合、高不活性処理したC18固相をアセトニトリルにて運用することで、良好な回収率が得られる。グラファイトカーボンはFOSA,N-MeFOSA,N-EtFOSA以外のほとんどのPFASが吸着される。色素除去目的で使用する場合は追加溶出条件の設定が必要。
○ リン脂質除去用固相では、メタノール通液時にスルホン酸を持つPFASとカルボン酸を持つPFASを分離している傾向が確認され、興味深い結果となった。