

Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システムを用いた水産加工品中 29 種 PFAS の高感度一斉分析法

著者

滝埜 昌彦

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）は、優れた撥水性と撥油性の両性質を有していることから様々な分野で利用されています。一方で、これら化合物は安定性と難分解性のために生態系や人間への暴露が懸念されています。我が国では環境省が、環境水中 PFOS および PFOA の合算で暫定指針値を 0.05 µg/L (ppb) 以下に設定しました。

食品に関しては、食品安全委員会が 2024 年 6 月に PFOS/PFOA の耐容一日摂取量（TDI）を 20 ng/kg 体重/1 日と設定しました。特に、我が国では消費量の多さと過去の調査による残留量から水産物が最も懸念されています。既報¹⁾で LC/TQ 法と新規固相抽出カラムを用いた作物中 29 種 PFAS について高感度分析法を報告しました。

このアプリケーションノートでは水産加工品中 PFAS の分析に固相抽出カラムによる簡便な試料前処理法および大量注入 LC/TQ 法を用いた高感度一斉分析法を紹介します。

はじめに

既報¹⁾で野菜中 PFAS 分析に相分離抽出法と多機能カラムを用いた簡便な試料前処理法を報告しましたが、水産加工品を測定対象試料とした場合、野菜と異なり大量の脂質が存在します。一方、脂質を多く含む試料中 PFAS 分析に最適なパススルータイプの多機能固相抽出カラムが開発されています。この固相抽出カラムを使用することで、簡便な工程での精製が可能です。また、既報²⁾で報告している Agilent Infinity III ハイブリッドマルチサンプラーを用いた Feed 注入法は試料精製液（有機溶媒）を大量注入が可能ことから水産加工品においても PFAS の高感度分析が可能です。

そこでこのアプリケーションノートでは、PFAS 用多機能固相抽出カラムを用いた簡便な試料前処理と Feed 注入法を用いた LC/TQ 法による作物中 PFAS の高感度分析を検討した結果について報告します。

測定システム

- Agilent 1260 Infinity III LC システム
- G7104C フレキシブルポンプ
- G7167C ハイブリッドマルチサンプラー
- G7116B マルチカラムサーモスタット
- Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS

試料前処理

今回測定対象とした化合物は ISO 21675:2019 にて規定されている PFAS 30 成分とし、標準物質混合溶液は Wellington Laboratories 社より購入しました。検量線作成のため、混合溶液を 0.056 % アンモニア/メタノールで希釈し、濃度 0.2 ~ 100 ng/L の溶液を調製しました。コンタミネーションを防ぐため、バイアルはポリプロピレン製のものを用いました。

水産加工品は市場で購入した魚肉ソーセージ、はんぺん、かまぼこおよび練り物を使用しました。予め Restech 製 GRINDMIX GM200 で粉碎した試料（10 g）は純水 10 mL 添加後、既報³⁾と同様に QuEChERS 抽出キット（P/N：5982-5650CH）を使用し 50 mL 遠沈管に正確に秤量（10 g）し、付属のセラミックホモジナイザおよび 1 % 酢酸含有アセトニトリル（15 mL）を添加し 60 秒間激しく振とうすることで抽出しました。その後、付属の塩（4 g 硫酸マグネシウム、1 g 塩化ナトリウム、1 g クエン酸ナトリウムおよび 0.5 g クエン酸二ナトリウムセスキ水和物）を添加し 60 秒間激しく振とう後、遠心分離（4000 rpm/5 分）を行いました。

上記抽出法で得られた上清（4 mL）は図 1 に示した通り純水（1 mL）を添加後、予め 1 % 酢酸含有メタノール/アセトニトリル:1/1（4 mL）でコンディショニングした Captiva EMR Food II（750 mg/6 mL）（P/N：5610-2232）に負荷し初留（1 mL）を除去後 1 mL を捕集しました。精製液は 0.45µm のフィルター（P/N：5190-5107）でろ過後、LC-MS に供しました。

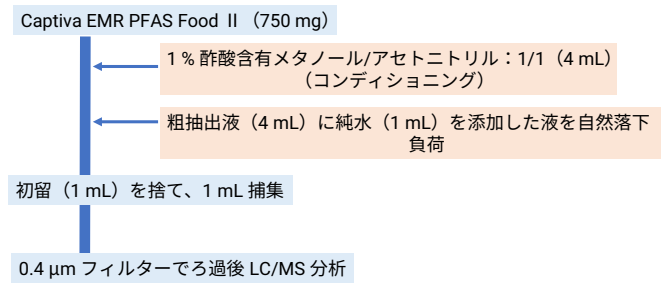


図 1. 機能固相抽出カラムによる水産加工品抽出液の精製法

分析条件

主な分析条件を表1に示します。Feed 注入ではサンプル注入量の他に、ループ内に残留したサンプルを押し流すための Feed 溶媒と注入速度を追加で設定します。今回はピーク形状の改善のために水系比率が高い初期移動相を用い、注入速度は流速の 10 % としました。

表 1. 分析条件結果

LC	1260 Infinity III Prime LC システム
注入量	30 µL Feed 注入
Feed 注入条件	Feed 速度：20 µL/min フラッシュアウト容量：20 µL
流量	0.2 mL/min
分析カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD (2.1 mm x 100 mm, 1.8 µm) (P/N：959758-902)
ディレイカラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 mm × 50 mm, 5 µm) (P/N：959946-902)
カラム温度	40 °C
移動相	A：2 mM 酢酸アンモニウム水溶液 B：メタノール
グラジエント	1 %B/1 min--- (4 min) ---40 %B--- (35 min) ---100 %B
試料溶媒	0.056 % アンモニア/メタノール
MS	Agilent 6475 トリプル四重極 LC/MS システム
イオンソース	Agilent Jet Stream (AJS-ESI)
極性	ネガティブ
測定モード	ダイナミック MRM モード
乾燥ガス設定	200 °C, 10 L/min
シースガス設定	350 °C, 12 L/min
ネブライザー (psi)	20
キャピラリー電圧 (V)	3000
ノズル電圧 (V)	0

結果

標準液での測定

Feed 注入法による大量注入では既報¹⁾ の通り PFBA は保持時間も早くピークがブロードであったことから測定対象から除外しました。その他 29 種 PFAS は 1 ng/L 以下での測定が可能でした。

相分離抽出

粉砕した水産加工品の PFAS 混合標準液を用いた添加回収試験（添加濃度：10 ng/kg）の結果は図 2 に示しました。結果は全ての水産加工品中 29 種 PFAS の回収率は 80 ～ 120 % と良好な結果でした。

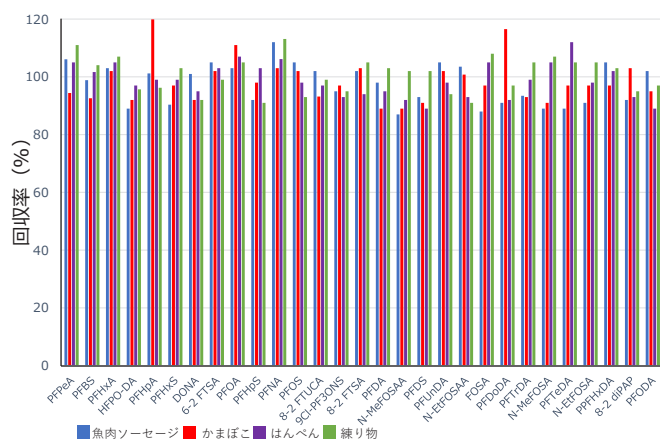


図 2. 水産加工品中各 PFAS の回収率（添加濃度：10 ng/kg）

固相抽出

水産加工品抽出液の精製には多機能固相抽出カラムである Captiva EMR PFAS Food I を使用しました。このカラムを用いて各水産加工品を使用して溶出プロファイルの確認を行いました。方法は標準品添加水産加工粗抽出液（4 mL）に純水（1 mL）を添加後、予めコンディショニングしたカラムに負荷し、その後 1 mL 毎に捕集しました。（Fr.1 ～ Fr.4）その後、0.056 % アンモニア/メタノール（1 mL）で溶出（Fr.5）し、各フラクションの回収率を求めることで、溶出プロファイルを作成しました。

練り物での結果を図 3（B）に示しましたが、Fr.2 では炭素数の多いカルボン酸（PFTeA, PFHxDA, PFODA）の回収率が低く Fr.4 および Fr.5 では 29 種 PFAS で良好な回収率を示しました。一方、各画分の Scan モードによるトータルイオンクロマトグラム（TIC）を図 3（A）に示しましたが、Fr.2 までは水産加工品の主マトリクス成分である EPA および DHA は溶出しませんでした。従って、Fr.2 のみを捕集することで炭素数の多いカルボン酸の回収率は低下しますが EPA および DHA によるマトリクス効果の低減が可能です。以上のことから水産加工品抽出液の精製は図 1 の通りとしました。

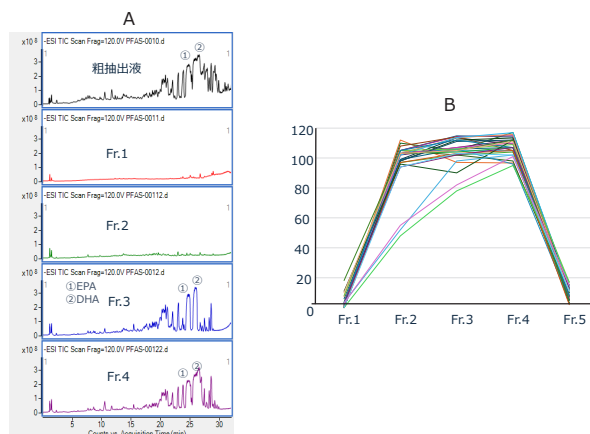


図 3. 練り物による溶出試験の各画分の TIC (A) および溶出プロファイル (B)（濃度：10 ng/kg）

図 1 に示した方法による Captiva EMR PFAS Food II による全水産加工品中各 PFAS の回収率（添加濃度：10 ng/kg）は図 4 に示しましたが、PFTeA, PFHxDA および PFODA を除いた PFAS の回収率が 80 ～ 120 % 以内でした。

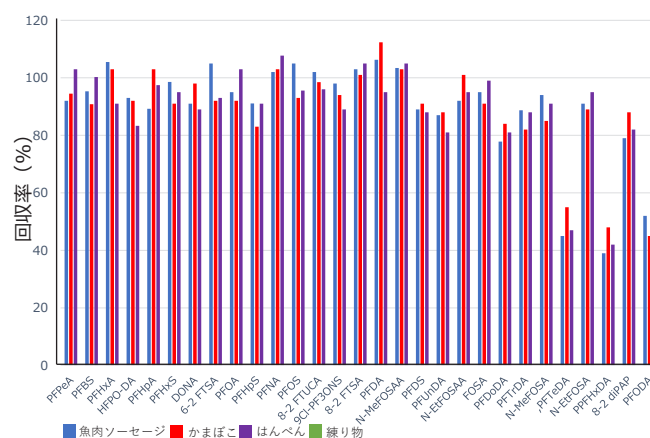


図 4. 水産加工品抽出液中各 PFAS の回収率（添加濃度：10 ng/kg）

図 5 は各水産加工品抽出精製液の TIC、図 6 は精製前後の抽出液の写真を示しました。TIC では保持時間 15 ～ 20 分にピークが検出されましたが、粗抽出液（図 3）と比較して保持時間の遅い多価不飽和脂肪酸類は低減し、PFAS 類の顕著なマトリクス効果は認められませんでした。また、図 6 の写真の通り、粗抽出液（A）では純水の添加したことにより大量の脂質により白濁していましたが、精製液（B）では脂質が除去され透明でした。

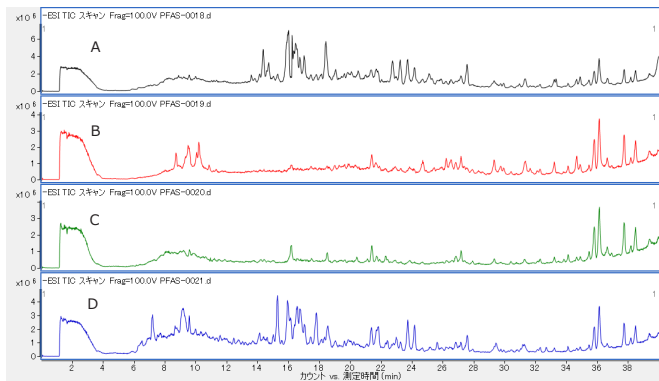


図 5. 水産加工品抽出液の TIC (左) および抽出液の写真 (右)
A: 魚肉ソーセージ B: かまぼこ C: はんぺん D: 練り物

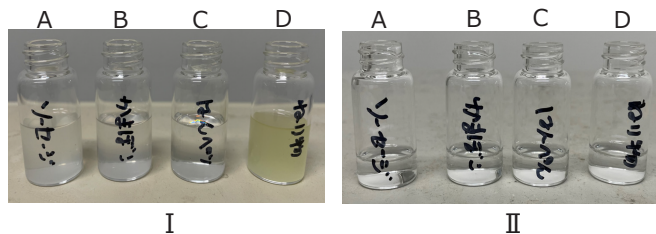


図 6. 抽出液の写真 I: 粗抽出液 II: 精製液
A: 魚肉ソーセージ B: かまぼこ C: はんぺん D: 練り物

図 7 には全試料前処理工程による全水産加工品中各 PFAS の回収率 (マトリックス効果も含む) を示しましたが、各 PFAS の回収率は PFTeA, PFHxDA および PFODA を除いて 80 ~ 120 % と良好でした。PFTeA, PFHxDA および PFODA の回収率は 41 ~ 52 % でした。これらの PFAS の低回収率は Captiva EMR Food II による精製工程での損失が原因です。これらの PFAS の定量には ^{13}C でラベル化された化合物をサロゲート物質として用いた内部標準法が有効と思われます。

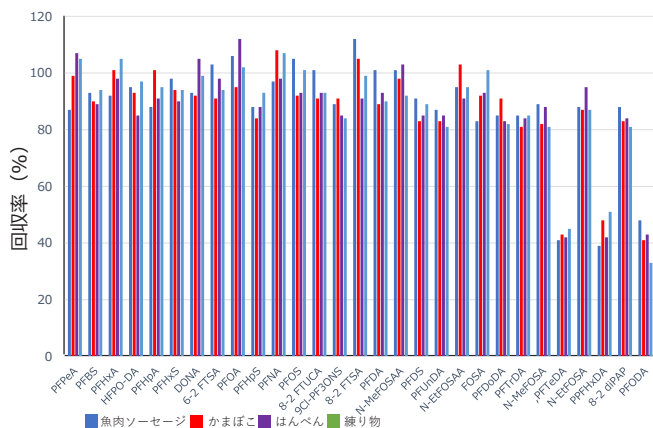


図 7. 水産加工品中各 PFAS の回収率 (添加濃度: 10 ng/kg)

図 8 には各水産加工品中 4 種 PFAS の MRM クロマトグラムを示しました。各 PFAS の S/N は 45 ~ 298 で、定量下限値は 0.34 ~ 2.2 ng/kg でした。

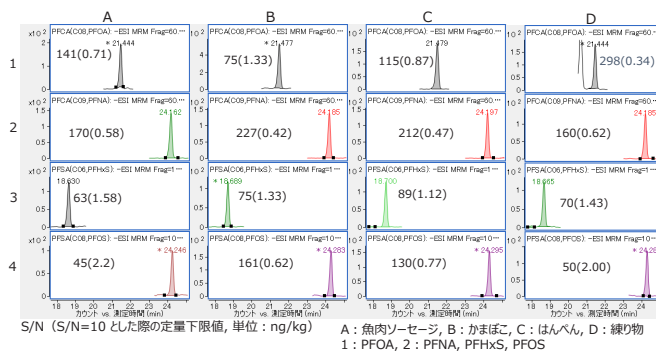


図 8. 水産加工品各 PFAS の回収率 (添加濃度: 10 ng/kg)

まとめ

本アプリケーションノートでは試料精製に Captiva EMR PFAS Food II、LC/TQ に Infinity III ハイブリッドマルチサンブラの Feed 注入法を用いることで、簡便な試料前処理で水産加工品（魚肉ソーセージ、かまぼこ、はんぺんおよび練り物）中 29 種 PFAS の高感度分析が可能でした。

水産加工品中 4 種 PFAS（PFOA、PFNA、PFHxS および PFOS）の定量下限値は 0.34 ～ 2.2 ng/kg でした。

参考文献

- 1) Agilent 6475 LC/MS システムおよび新規固相抽出カラムを用いた作物中 29 種 PFAS の高感度一斉分析法、5994-8271JAJP
- 2) 新規注入機構 オートサンブラを用いた河川水中 PFAS の高感度一斉分析 5994-7726JAJP.
- 3) Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS システムを用いた作物中農薬スクリーニング法の評価 5994-6221JAJP.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-005513

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, March 28, 2025

5994-8279JAJP