

Agilent 6475 トリプル四重極 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

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さまざまな分野で利用されています。一方、PFAS は環境中に放出されるとその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おり、我が国では環境省が 2020 年に、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 2025 年に 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。また、欧州では、EFSA が PFOS、PFOA、PFNA および PFHxS の動物性食品中の最大基準値が設定されるべきとしています。

このアプリケーションノートでは PFAS の汚染が懸念されるウリ科および葉物野菜中 PFAS の分析に新規固相抽出カラムによる迅速試料精製法および大量注入 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

作物中 PFAS 分析は環境水中 PFAS と比較して試料中マトリックスが多く、環境水などで使用されている弱アニオン交換充填剤 (WAX) だけでなく、食品中に存在する色素や脂質を除去する充填剤との組み合わせが必要であるため、試料精製法が複雑です。一方、さまざまな充填剤を混合した多機能カラムは試料中マトリックスを充填剤に吸着させ、目的化合物を通過させるパスルータイプの固相抽出カラムであり、簡便な工程で精製が可能です。また、既報¹⁾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) の大量注入が可能なることから作物抽出液中 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、新規 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、混合溶液をアセトニトリルで希釈し、濃度 0.2 ~ 100 ng/L の溶液を調製しました。吸着を防ぐため、バイアルはポリプロピレン製のものを用いました。

作物は市場で購入したウリ科野菜のズッキーニ、キュウリ、ナス科のナスおよび葉物のホウレン草を使用しました。予め Restech 製 GRINDMIX GM200 で粉碎した試料は既報²⁾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、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 I (340 mg/6 mL) (P/N: 5610-2230) に負荷し、初留 (1 mL) を除去後 3 mL を捕集しました。精製液は 0.45 μm のフィルター (P/N: 5190-5107) でろ過後、LC/MS に供しました。

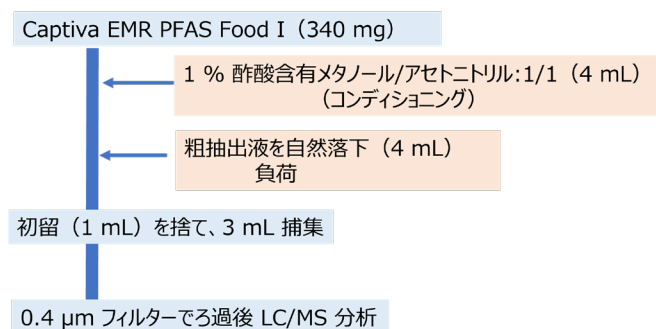


図 1. 多機能固相抽出カラムによる作物抽出液の精製法

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 Feed 溶媒として水系比率が高い初期移動相を用い、注入速度は流量の 10 % としました。

表 1. 分析条件

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 x 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 → 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
ネプライザー (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の各 PFAS の MRM クロマトグラムは図 2 に示しました。PFBA はカラム先端で保持できず、注入時間 (1.5 分) でピークがブロードとなりましたが、その他 29 種 PFAS のピーク形状は良好でした。今回の結果から 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。

このクロマトグラムは 10 ng/L での結果ですが、S/N から 29 種 PFAS は 1 ng/L で測定可能でした。

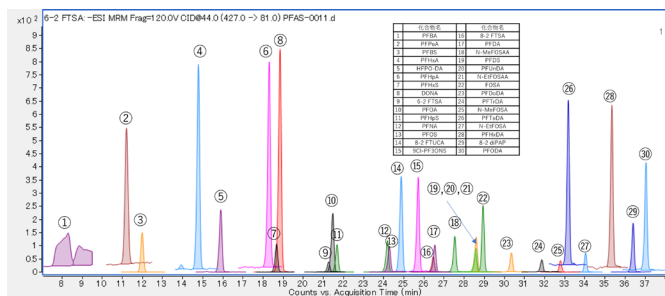


図 2. 各 PFAS の MRM クロマトグラム (濃度: 10 ng/L)

相分離抽出

粉碎した野菜は試料前処理で示した通り、1% 酢酸含有アセトニトリルと塩析効果による相分離抽出法を使用しました。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 3 に示しました。結果は全ての野菜中全 PFAS の回収率は 80 ~ 120 % と良好な結果でした。

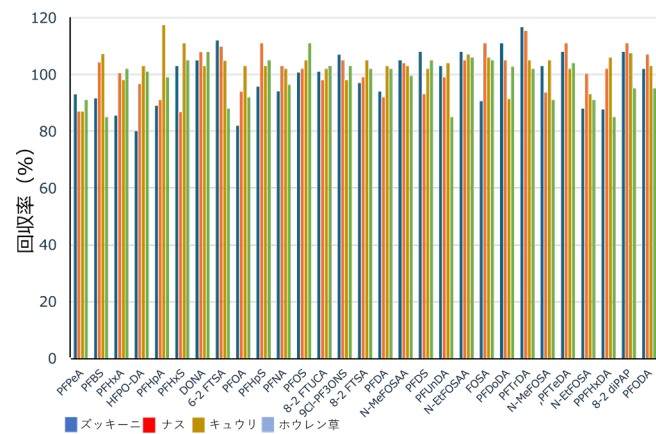


図 3. 野菜中各 PFAS の回収率 (添加濃度: 10 ng/kg)

固相抽出

野菜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標準液および各野菜抽出液を使用して溶出プロファイルの確認を行いました。方法は標準液および標準添加野菜抽出液を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) 更に、追加溶出として 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ました。この結果から作成した溶出プロファイルは図 4 に示しました。

その結果、標準液では中性 PFAS 以外は Fr.1 ~ Fr.4 で全く溶出せず Fr.5 で全て溶出しました。一方野菜抽出液では Fr.2 ~ Fr.4 では安定した高回収率を示しました。この結果はパススルー型カラムは目的化合物を保持せずマトリックスを保持し除去するメカニズムであることから、標準液では充填剤にマトリックスが保持しないことから目的化合物が吸着し回収率が悪かったと考えられます。一般的にパススルー型固相抽出カラムを用いた溶出挙動の検討には試料抽出液を用いることが多く、今回検討したカラムも同様の結果でした。

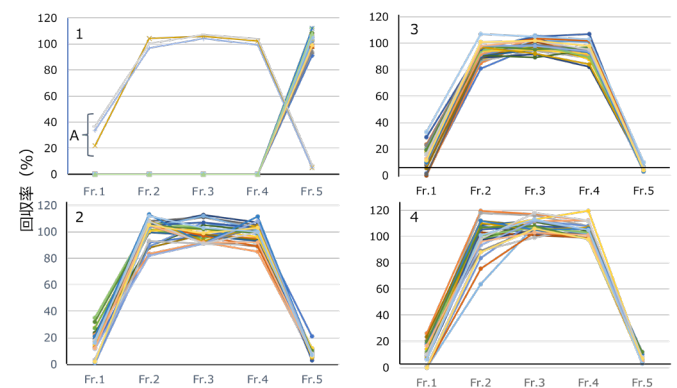


図 4. 標準液および野菜抽出液での各 PFAS の溶出挙動

A: 中性 PFAS 類

1: 標準液、2: スズキーニ、3: ナス、4: ホウレン草

図 1 に示した方法による Captiva EMR PFAS Food I の全野菜中各 PFAS の回収率（添加濃度：10 ng/kg）は図 5 に示しましたが、各 PFAS の回収率は 80 ~ 120 % 以内でした。

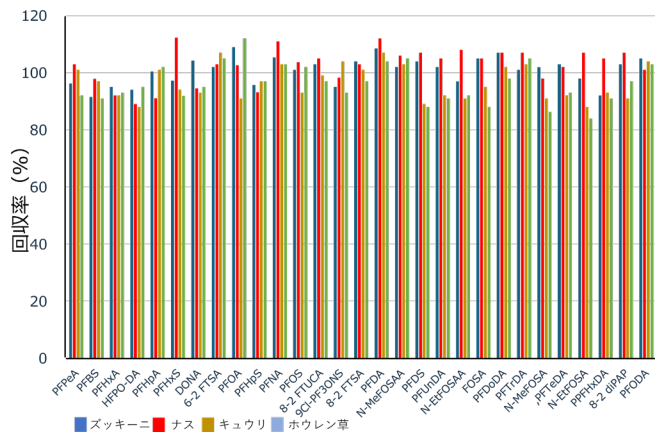


図 5. 野菜抽出液中各 PFAS の回収率（添加濃度：10 ng/kg）

図 6 は各野菜抽出精製液の Scan モードによるトータルイオンクロマトグラム（TIC）と精製前後での抽出液の写真を示しました。TIC では保持時間の遅い部分に遊離不飽和高級脂肪酸が検出されましたが、保持時間の遅い PFAS 類の顕著なマトリクス効果は認められませんでした。また粗抽出液で野菜色素により着色していましたが、精製液では色素は完全に除去されていました。

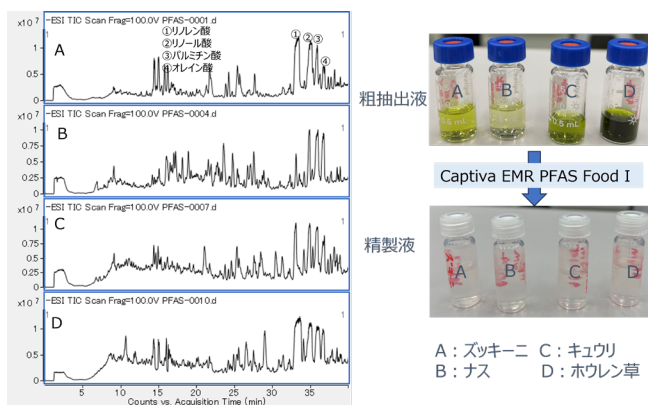


図 6. 野菜抽出液の TIC (左) および抽出液の写真 (右)

図 7 には試料前処理による全野菜中各 PFAS の回収率（マトリクス効果も含む）を示しましたが、各 PFAS の回収率は 80 ~ 120 % と良好でした。

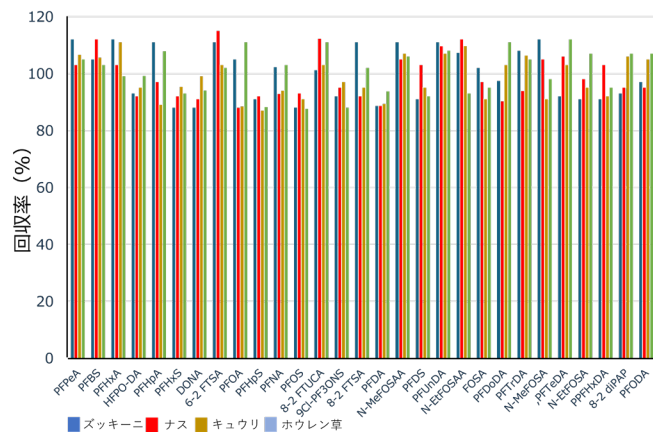


図 7. 野菜中各 PFAS の回収率（添加濃度：10 ng/kg）

図 8 には各野菜中代表的な 4 種 PFAS の MRM クロマトグラムを示しました。各 PFAS の S/N は 28 ~ 433 で、定量下限値は 0.23 ~ 3.57 ng/kg でした。

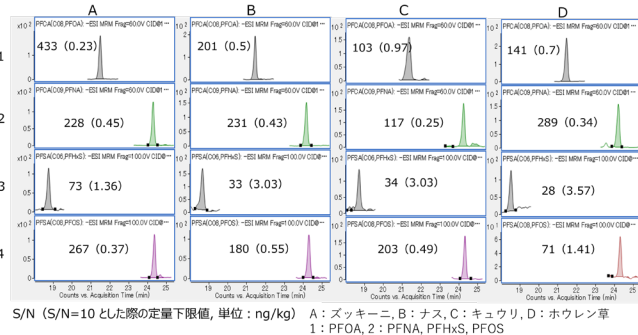


図 8. 全野菜中 4 種 PFAS の MRM クロマトグラム
濃度：10 ng/kg

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 I、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作物（ズッキーニ、キュウリ、ナスおよびホウレン草）中 29 種 PFAS の高感度分析が可能でした。

野菜中 4 種 PFAS (PFOA、PFNA、PFHxS および PFOS) の定量下限値は 0.23 ~ 3.57 ng/kg でした。

参考文献

- 1) 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.
- 2) Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS システムを用いた作物中農業スクリーニング法の評価 5994-6221JAJP.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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-005317

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, March 25, 2025

5994-8271JAJP