

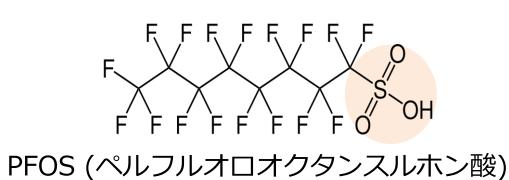
オンラインSPE-LC/MSシステムによる牛乳と魚中PFAS全自動分析法の開発

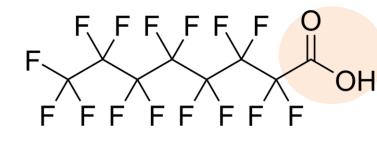
〇田中 真穂, 前島 希, 小林 まなみ (株) 島津製作所

1. はじめに

PFAS (Per- and Polyfluoroalkyl Substances)とは

- 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の総称
- 炭素鎖長、官能基、構造異性体などにより、1万種類以上存在する
- 撥水、撥油性や耐熱性などの有用な特性から、幅広い製品に使われている
- 難分解性、高蓄積性、分解されにくくに自然界に滞留する





PFOA (ペルフルオロオクタン酸)

PFAS分析法確立の必要性

- PFOA、PFOS、PFHxSは、化審法に基づく第一種特定化学物質に指定され、その製造及び輸入が原則禁止されている
- 食事を通した曝露に対する懸念から、各国で食品中のPFAS含有量の調査が行われている
- 2024年1月に内閣府食品安全委員会が実施したヒトへの影響評価ではヒトが1日に食品や飲料などから摂取する許容量 (TDI)はPFOSとPFOAはそれぞれ20 ng/kg体重/日と発表された
- 2023年11月にAOAC Internationalは、農産物、飲料、乳製品、鶏卵、魚介類、肉製品、飼料に含まれる30種類のPFAS分析の要求仕様SMPRsおよび定量下限(LOQ)を発表し、分析法を募集した

PFASがどれだけ含まれているか高感度に分析する必要性あり

PFAS分析における前処理

- 抽出、精製過程で行う作業が多く煩雑
- 大量の試料を固相充填剤に負荷する必要があるため長時間を要する
- 前処理に使用する器具や分析装置の部材などに使用されている
 - ⇒一連の分析操作時による汚染すなわちコンタミネーションに注意する必要がある

分析現場での前処理の迅速化・省力化の需要増

生乳と魚(マグロの切り身)中の43種類のPFASの定量分析法を検討 AOAC Internationalが設定するLOQに対応可能なメソッドの構築

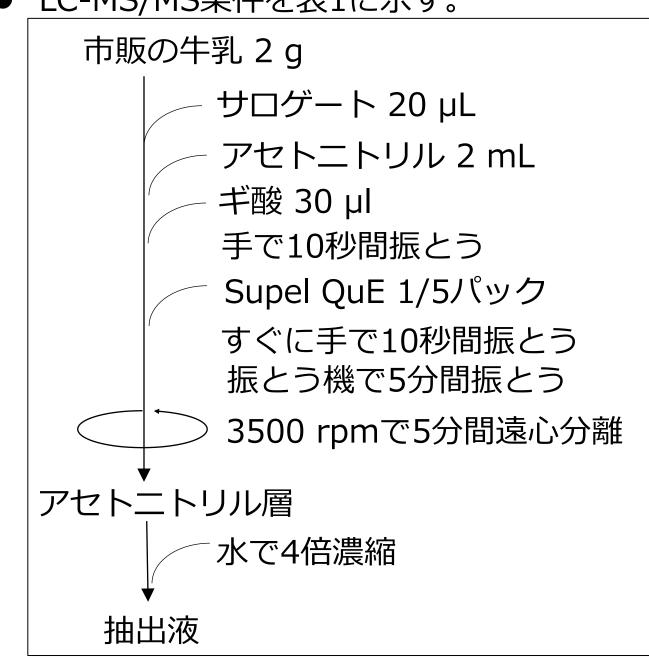
LC-MS/MSと自動前処理装置を用いて省力化・時間短縮を実現した前処理・分析法を開発(図1)



図1 自動前処理装置:SPL-W100 (AiSTI SCIENCE) LC-MS/MS:LCMSTM-8060RX (島津製作所)

2. 方法

- **▲・ノ」/|** Wellington Laboratoriesから購入したPFAC-MXG、PFAC-MXI、PFAC-MXJ、PFAC30PARおよび MPFAC-HIF-ESを標準またはISTDとして使用した。
- 抽出操作はQuEChERS法を参考に行った。フローを図2に示す。
- 抽面操作はQuechers法を参考に行うた。プローを図とに示す。
 自動精製にはオンラインSPE-LCインターフェイスSPL-W100 (アイスティサイエンス社) を用いた。
 フローを図3に示す。
- LC-MS/MS条件を表1に示す。



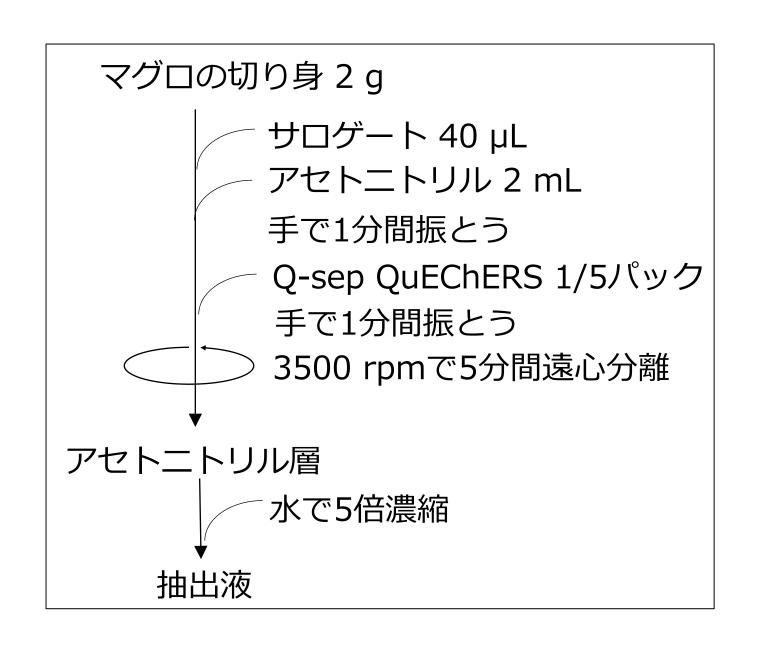


図2 抽出フロー

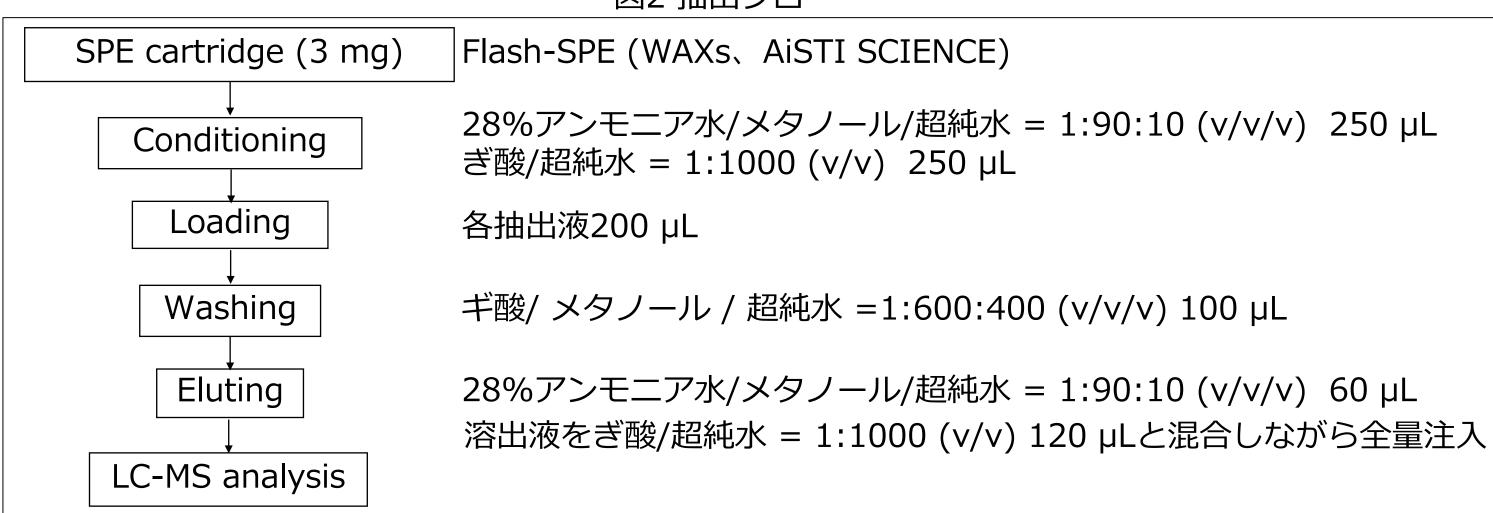
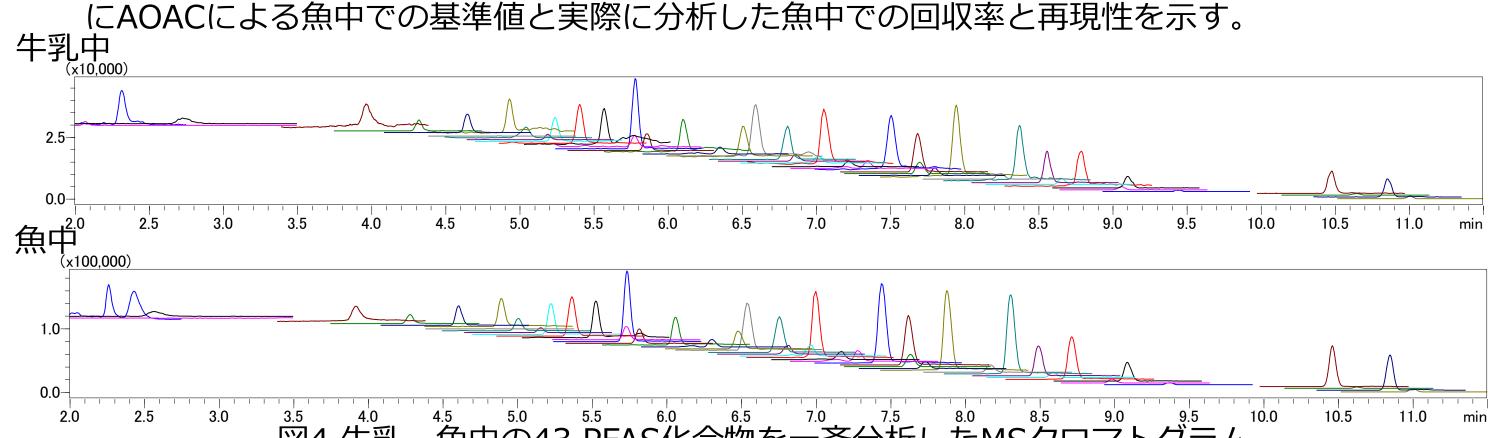


図3 自動精製フロー

[HPLC conditions]	表1分析条件 (Nexera TM X3)	[MS conditions]	(LCMS-8060RX)
分析カラム:	Shim-pack Scepter C18-120	インターフェイス:	ESI Negative mode
	(100 mm \times 2.1 mm I.D., 3 μ m)	モード:	MRM
ディレイカラム :	Shim-pack Scepter C18-120	インターフェイス電圧:	-1 kV
	(50 mm \times 2.1 mm I.D., 3 μ m)	イオンフォーカス電圧:	-1 kV
移動相A:	2 mM Ammonium acetate in	インターフェイス温度:	300°C
	water / Acetonitrile=95:5	ネブライザーガス流量:	3 L/min
移動相B:	Acetonitrile	ドライイングガス流量:	10 L/min
分析時間:	16 min	ヒーティングガス流量:	10 L/min
カラム温度 :	40 ℃	ヒートブロック温度:	500°C
		· — —	

DL温度: 200℃ プローブ位置: +2 mm 3. 結果

- 43種類のPFAS化合物を一斉分析した牛乳中は0.01 μg/kg、魚中は0.1 μg/kgのMSクロマトグラムを図4に、代表的な化合物の検量線を図5に示す。いずれの化合物も11分以内に溶出し、良好な分離が得られた。
- 牛乳中では、3:3 FTCA以外の化合物は0.005から1 μg/kgの範囲で、3:3 FTCAは0.05から1 μg/kgの範囲で良好な検量線が得られた。
- 魚中では、すべての化合物において0.05から5 µg/kgの範囲で良好な検量線が得られた。
- 牛乳中では、0.01, 0.1, 1 μg/kgの濃度で添加回収試験を行い、回収率と再現性を検証した。表2と図6にAOACによる牛乳中での基準値と実際に分析した牛乳中での回収率と再現性を示す。
- 魚中では、0.1, 1, 5 µg/kgの範囲で添加回収試験を行い、回収率と再現性を検証した。表3と図7



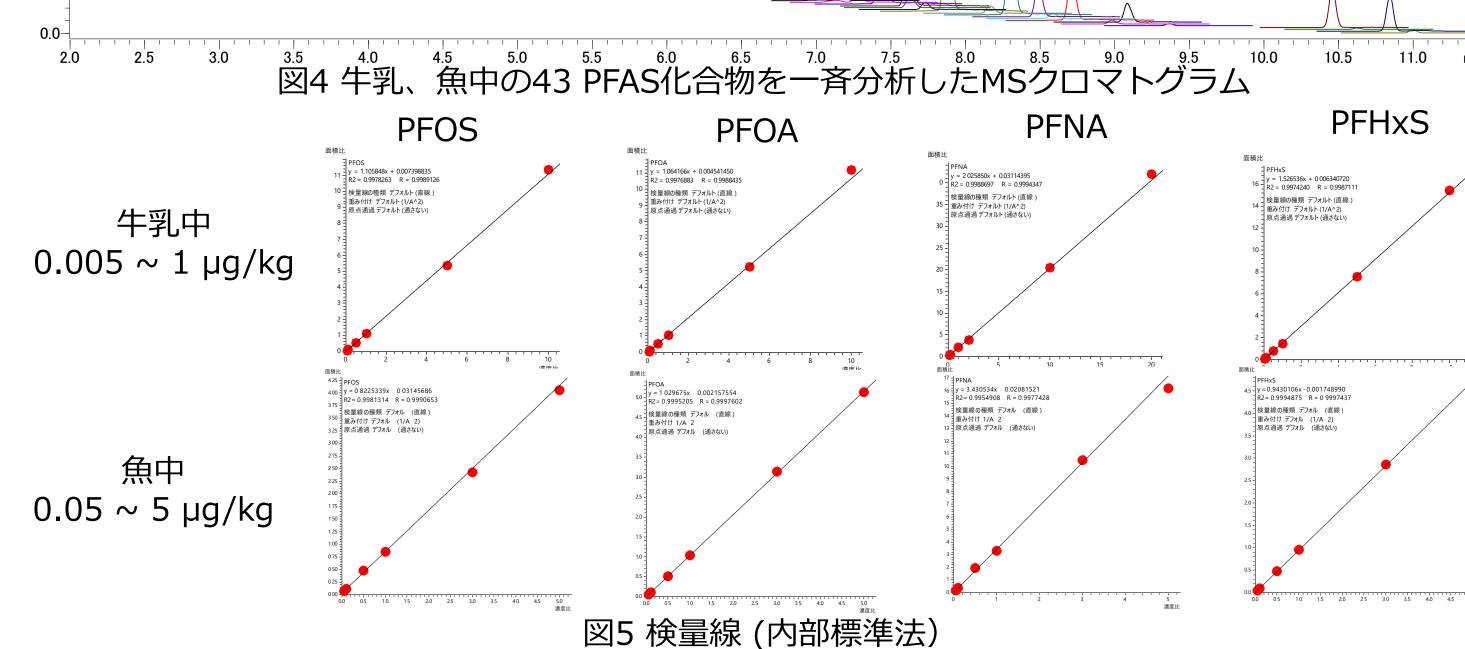


表2 AOAC SMPRの牛乳中PFAS分析の基準値と実測値

AOACの牛乳中PFAS分析の基準値

AUACU	1 70.1						•	
Compound	LOQ (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (%)	Compound	Conc. (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (%)	
PFOS	≦0.01	65-135	≦25	PFOS	0.01	113.3	11.2	
PFOA	≦0.01	65-135	≦25	PFOA	0.01	102.0	2.6	
PFNA	≦0.01	65-135	≦25	PFNA	0.01	104.7	6.4	
PFHxS	≦0.01	65-135	≦25	PFHxS	0.01	101.0	6.9	
PFBA and PFPeA	≦ 1.0	-	-	PFBA	0.1	99.3	0.8	
Other PFAS	≦0.1	-	-	PFPeA	0.1	98.6	2.0	
				3:3 FTCA	0.1	112.1	6.4	
				Other PFAS	0.01	75.3-137.0	≤18.5	

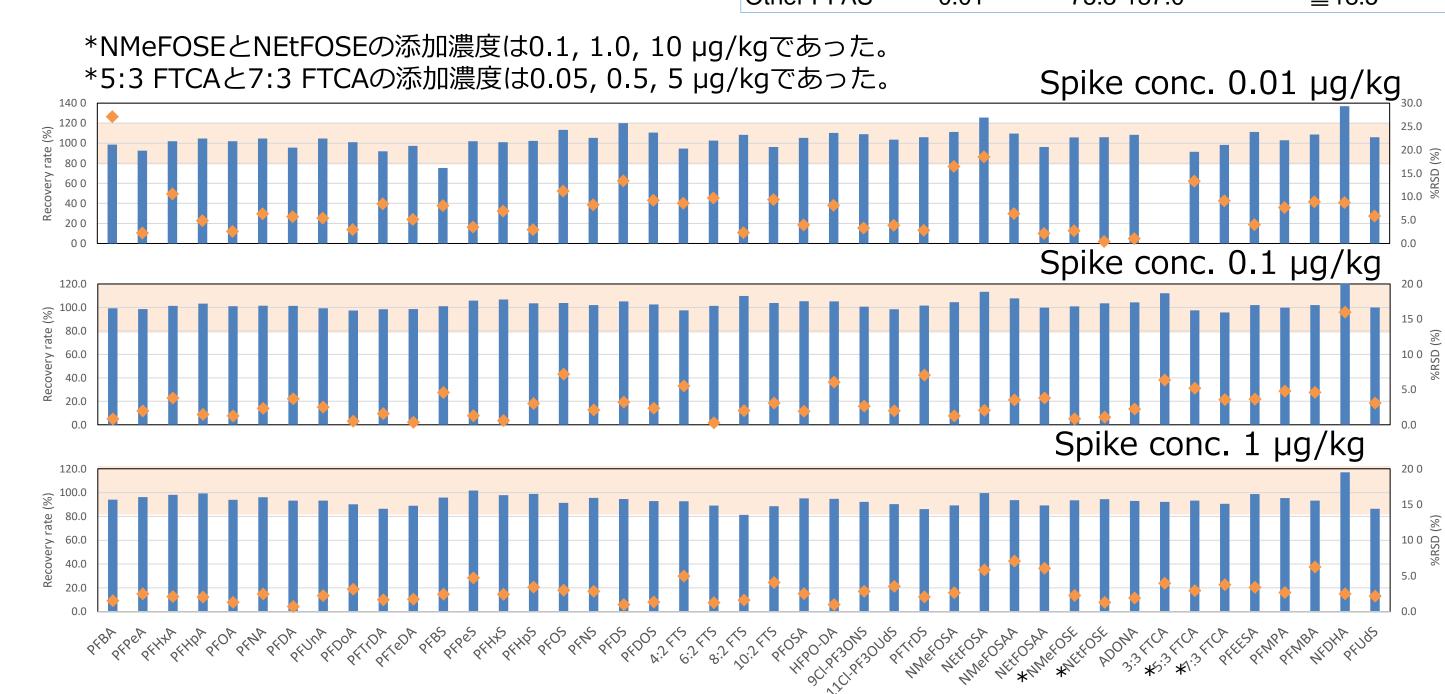


図6 牛乳中のPFASの回収率および再現性 (n=3)

表3 AOAC SMPRの魚中PFAS分析の基準値と実測値 この魚中PFAS分析の基準値 魚中PFASの回収率

AOACの魚中PFAS分析の基準値				
Compound	LOQ (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (%)	
PFOS	≦ 0.1	80-120	≦20	
PFOA	≦ 0.1	80-120	≦20	
PFNA	≦ 0.1	80-120	≦20	
PFHxS	≦ 0.1	80-120	≦20	
Other PFAS	≦1.0	65-135	≦25	

Compound	Conc. (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (%)
PFOS	0.1	96.2	3.0
PFOA	0.1	95.1	1.5
PFNA	0.1	100.1	3.4
PFHxS	0.1	101.8	3.4
PFBA	1	91.5	2.2
Other PFAS	≤0.1	87.4-108.7	≤13.1

牛乳中PFASの回収率

*NMeFOSEとNEtFOSEの添加濃度は1.0, 10, 50 μg/kgであった。
*5:3 FTCAと7:3 FTCAの添加濃度は0.5, 5, 25 μg/kgであった。

Spike conc. 0.1 μg/kg

Spike conc. 1.0 μg/kg

Spike conc. 5.0 μg/kg

■recovery rate ◆%RSD 図7 魚中のPFASの回収率および再現性 (n=3)

4. まとめ

- LC-MS/MS法を開発し、43種類のPFASを自動前処理により11分で分析した。
- 牛乳と魚の添加回収試験の結果は、すべての化合物がAOAC基準値を達成した。
- 牛乳中、魚中からは定量限界以上のPFASは検出されなかった。