



# LC/MS/MSによる環境水中のPFOSsの迅速一斉分析法の検討 -前処理編-

株式会社アイステイサイエンス 谷澤春奈 佐々野僚一  
アプライドバイオシステムズジャパン株式会社 大関由利子



## 目的

人工有機フッ素化合物であるPFOSは、コーティング剤や撥水剤、ワックス、テフロン加工原料、半導体分野など、我々の生活の中で広く使用されており、しかしその用途の多さの反面、難分解性と高残留性から環境や人体への影響が懸念されており、近年POPs候補物質として世界的な使用量削減と適切な管理が急務になっている。PFOSをはじめ、炭素鎖の異なるPFOS関連物質の分析の必要性も高まっている中で、今回PFOSとPFOAおよびその関連物質について、LC/MS/MSと固相ミニカラムを用いた一斉分析法の検討を行い、特に固相における挙動についていくつかの知見が得られたので報告する。

## 保持カラムの選定

PFOSやPFOAおよびその関連物質を保持するカラムとして、疎水性相互作用(PLS3, C18)および弱陰イオン交換作用(PSA, NH2)の検討を行った。またPLS3の充填量が20mgと少量のため、負荷オーバーしていないか2連結(PLS3+PLS3)を確認した。

PLS3およびC18ミニカラムからの目的成分の溶出溶媒として、ヘキサン、アセトン/ヘキサン(1/9)(2/8)、メタノール、アセトニトリル、メタノール/アセトニトリル(2/8)で比較を行った。また、陰イオン交換カラムのPSAおよびNH2からの溶出条件として、酸性(pH2)とアルカリ性(pH10)と比較した。

保持カラム(疎水性相互作用): PLS3-20mg, C18-50mg

| Compound | RT  | PLS3  |       |       |       |         |       | PLS3+PLS3 |       |         |       |         |       | C18   |       |       |       |         |       |
|----------|-----|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-----------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|
|          |     | 空白    |       | ヘキサ   |       | アセト/ヘキサ |       | ヘキサ       |       | アセト/ヘキサ |       | アセト/ヘキサ |       | 空白    |       | ヘキサ   |       | アセト/ヘキサ |       |
|          |     | (1/9) | (2/8) | (1/9) | (2/8) | (1/9)   | (2/8) | (1/9)     | (2/8) | (1/9)   | (2/8) | (1/9)   | (2/8) | (1/9) | (2/8) | (1/9) | (2/8) | (1/9)   | (2/8) |
| PFBA     | 1.5 | 0     | 0     | 1     | 0     | 0       | 2     | 3         | 4     | 2       | 1     | 2       | 0     | 0     | 2     | 0     | 0     | 0       | 3     |
| PFPeA    | 1.7 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 7     | 6         | 9     | 8       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 1     |
| PFHxA    | 2.2 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 19    | 21        | 31    | 22      | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 1       | 6     |
| PFHpA    | 3.2 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 47    | 51        | 68    | 20      | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 15      | 43    |
| PFOA     | 4.3 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 74    | 78        | 92    | 7       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 6       | 38    |
| PFNA     | 5.2 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 84    | 90        | 95    | 1       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 4       | 39    |
| PFDA     | 6.0 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 85    | 95        | 93    | 0       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 5       | 40    |
| PFUdA    | 6.8 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 74    | 89        | 99    | 0       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 6       | 41    |
| PFDA     | 7.5 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 72    | 67        | 72    | 0       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 7       | 38    |
| PFTeDA   | 8.2 | 0     | 1     | 1     | 1     | 1       | 61    | 60        | 65    | 0       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 8       | 35    |
| PFTeDA   | 8.8 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 58    | 51        | 45    | 5       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 6       | 32    |
| L-PFBS   | 2.5 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 23    | 23        | 35    | 25      | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 3     |
| L-PFHs   | 4.7 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 73    | 84        | 95    | 6       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 78    |
| L-PFHs   | 5.6 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 90    | 93        | 97    | 1       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 88    |
| L-PFOS   | 6.4 | 0     | 0     | 1     | 1     | 1       | 89    | 96        | 97    | 0       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 1       | 84    |
| L-PFDS   | 7.8 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 76    | 79        | 84    | 0       | 0     | 0       | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0       | 69    |

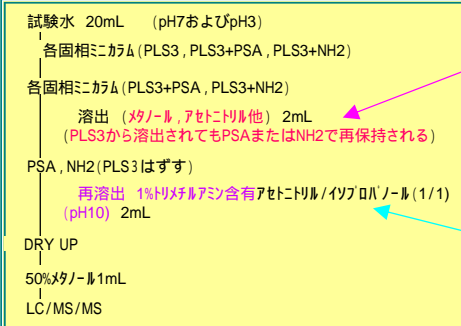
試験水 20mL (pH7)  
各固相ミニカラム (PLS3, PLS3+PLS3, C18)  
吸引乾燥 3分間  
溶出 (ヘキサ, アセト/ヘキサ, アセト/ヘキサ他) 2mL  
DRY UP  
50%メタノール 1mL  
LC/MS/MS  
PLS3から溶出した目的成分をPSA, NH2で再保持できるかを確認。  
メタノール 2mLに目的成分を溶解  
PSA or NH2に負荷  
酸性orアルカリ性 溶媒で溶出  
溶出液のメタノールも測定

保持カラム(弱陰イオン交換作用): PSA-30mg, NH2-30mg

| Compound | RT  | PSA(酸性溶出pH2)       |                    | PSA(7.0初溶出pH10)    |                    | NH2(酸性溶出pH2)       |                    | NH2(7.0初溶出pH10)    |                    |
|----------|-----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|          |     | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             | 1%酢酸含有             |
|          |     | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) |
| PFBA     | 1.5 | 0                  | 0                  | 0                  | 106                | 0                  | 0                  | 0                  | 113                |
| PFPeA    | 1.7 | 0                  | 0                  | 0                  | 101                | 0                  | 0                  | 0                  | 101                |
| PFHxA    | 2.2 | 0                  | 0                  | 0                  | 94                 | 0                  | 0                  | 0                  | 99                 |
| PFHpA    | 3.2 | 0                  | 0                  | 0                  | 95                 | 0                  | 0                  | 0                  | 99                 |
| PFOA     | 4.3 | 0                  | 0                  | 0                  | 94                 | 0                  | 0                  | 0                  | 101                |
| PFNA     | 5.2 | 0                  | 0                  | 0                  | 93                 | 0                  | 0                  | 0                  | 93                 |
| PFDA     | 6.0 | 0                  | 0                  | 0                  | 93                 | 0                  | 0                  | 0                  | 95                 |
| PFUdA    | 6.8 | 0                  | 0                  | 0                  | 79                 | 0                  | 0                  | 0                  | 95                 |
| PFDA     | 7.5 | 0                  | 0                  | 0                  | 53                 | 0                  | 0                  | 0                  | 76                 |
| PFTeDA   | 8.2 | 0                  | 0                  | 0                  | 17                 | 0                  | 0                  | 0                  | 62                 |
| PFTeDA   | 8.8 | 1                  | 1                  | 0                  | 4                  | 1                  | 0                  | 1                  | 43                 |
| L-PFBS   | 2.5 | 0                  | 0                  | 0                  | 97                 | 0                  | 0                  | 0                  | 99                 |
| L-PFHs   | 4.7 | 0                  | 0                  | 0                  | 101                | 0                  | 0                  | 0                  | 102                |
| L-PFHs   | 5.6 | 0                  | 0                  | 0                  | 94                 | 0                  | 0                  | 0                  | 100                |
| L-PFOS   | 6.4 | 0                  | 0                  | 0                  | 92                 | 0                  | 0                  | 0                  | 99                 |
| L-PFDS   | 7.8 | 0                  | 0                  | 0                  | 72                 | 0                  | 0                  | 0                  | 94                 |

保持カラムからの溶出溶媒を検討した結果、PLS3およびC18からヘキサやアセト/ヘキサ混液では目的物質は溶出されず、極性溶媒であるメタノールやアセト/ヘキサ混液で溶出する傾向が見られた。一方、弱陰イオン交換作用を持つPSAやNH2からはメタノールで溶出されず、pHを酸性とアルカリ性でそれぞれ検討した結果、1%酢酸含有メタノール/アセトニトリル(1/4)(pH10)で溶出されることがわかった。これはPFOSやPFOAおよび関連物質がそれぞれKaを持ち、PFOSはKa < 1、PFOAはKa ~ 1であるため、イオン交換で保持された目的物質はメタノールでは溶出されず、pHをアルカリ性にする事でPSAやNH2の弱陰イオン交換基が非解離になり、目的物質が溶出されたためと考えられた。

## 前処理方法



## 保持条件の検討(中性pH7と酸性pH3の比較)

試料負荷条件(カラムへの保持条件)を中性(pH7)および酸性(pH3)で比較を行った。

| Compound | RT  | 試験水 pH7            |                    | 試験水 pH3            |                    | 試験水 pH3            |                    |   |     |
|----------|-----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---|-----|
|          |     | PLS3+PSA           | PLS3+NH2           | PLS3+PSA           | PLS3+NH2           | WAX                | WAX                |   |     |
|          |     | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) | メタノール/アセトニトリル(2/8) |   |     |
| PFBA     | 1.5 | 1                  | 2                  | 1                  | 107                | 0                  | 110                | 5 | 114 |
| PFPeA    | 1.7 | 0                  | 0                  | 0                  | 104                | 0                  | 109                | 0 | 98  |
| PFHxA    | 2.2 | 0                  | 27                 | 0                  | 96                 | 0                  | 96                 | 0 | 94  |
| PFHpA    | 3.2 | 0                  | 63                 | 0                  | 65                 | 0                  | 65                 | 0 | 94  |
| PFOA     | 4.3 | 0                  | 91                 | 0                  | 91                 | 0                  | 94                 | 0 | 89  |
| PFNA     | 5.2 | 0                  | 103                | 0                  | 89                 | 0                  | 75                 | 0 | 69  |
| PFDA     | 6.0 | 0                  | 94                 | 0                  | 84                 | 0                  | 64                 | 0 | 62  |
| PFUdA    | 6.8 | 0                  | 90                 | 0                  | 88                 | 0                  | 46                 | 0 | 60  |
| PFDA     | 7.5 | 0                  | 66                 | 0                  | 72                 | 0                  | 64                 | 0 | 51  |
| PFTeDA   | 8.2 | 0                  | 49                 | 1                  | 63                 | 0                  | 20                 | 0 | 44  |
| PFTeDA   | 8.8 | 2                  | 39                 | 4                  | 64                 | 0                  | 6                  | 0 | 12  |
| L-PFBS   | 2.5 | 0                  | 30                 | 1                  | 30                 | 0                  | 100                | 0 | 99  |
| L-PFHs   | 4.7 | 0                  | 98                 | 0                  | 93                 | 0                  | 95                 | 0 | 90  |
| L-PFHs   | 5.6 | 0                  | 102                | 0                  | 93                 | 0                  | 80                 | 0 | 78  |
| L-PFOS   | 6.4 | 0                  | 101                | 0                  | 94                 | 0                  | 64                 | 0 | 65  |
| L-PFDS   | 7.8 | 0                  | 75                 | 0                  | 77                 | 0                  | 37                 | 0 | 49  |

試験水 20mL (pH3 or pH7)  
各固相ミニカラムを2連結 (PLS3+PSA, PLS3+NH2, WAX)  
溶出 メタノール 2mL (PLS3から溶出されてもPSAまたはNH2に再保持される)  
PSA, NH2 (PLS3ははずす), WAX  
再溶出 1%酢酸含有メタノール/アセトニトリル(2/8)(pH10) 2mL  
DRY UP  
50%メタノール 1mL  
LC/MS/MS

試料負荷条件として、試料は酸性(pH3)で保持させるほうが炭素鎖の短い(極性が低い)成分の回収率が良好であった。試験水をpH7で保持させた場合は炭素鎖の短い成分の回収率が低く、これは疎水性相互作用で保持される。また弱陰イオン交換作用でも十分保持されないためであると考えられた。したがって試料を酸性にすることで弱陰イオン交換基を活性化し保持力が上がり、炭素鎖の短い成分の回収率が上がったと考えられた。一方、試料は酸性(pH3)で保持させた場合は、PFOS, PFOAとともに炭素鎖の長い(極性が低い)成分の回収率は低かった。この現象はWAXでも同様であり、これはカラムに保持できていないのではなく、カラムから溶出しきれていないことが推測された。

## 標準品および固相ミニカラム

- 【混合標準溶液】  
PFC-MXA (PFOAおよび炭素鎖の異なるPFOA関連物質計11種) 2ppm/メタノール (関東化学社製, ヌリコトナメタノール社製)  
PFS-MXA (PFOSおよび炭素鎖の異なるPFOS関連物質計5種) 2ppm/メタノール (関東化学社製, ヌリコトナメタノール社製)
- 【固相ミニカラム】  
SAIKA-SPE PLS3-20mg (メタノール系コンビネーションカラム), SAIKA-SPE C18-50mg, SAIKA-SPE PSA-30mg (弱陰イオン交換カラム), SAIKA-SPE NH2-30mg (弱陰イオン交換カラム) (以上アイステイサイエンス社製)  
Oasis WAX-60mg (メタノール系の弱陰イオン交換カラム) (Waters社製) 比較用として使用

## 分析条件

|          |   |
|----------|---|
| 装置       | MS: API3200 Q TRAP (Applied Biosystems)<br>LC: Prominence HT (SHIMADZU) |
| カラム      | Shim-pack XR-ODS (粒径2.1 μm, 2.0 × 100mm) (SHIMADZU)                     |
| 移動相      | A液 10mM酢酸アンモニウム水溶液<br>B液 アセトニトリル  |
| 分析時間     | 15min   |
| グラジエント条件 | Bconc.40% 100%(10min) 40%(0.1min) 40%(5min)                             |
| 流速       | 0.2mL/min, 注入量 10 μL  |
| イオン化モード  | ESI(-)  |
| 測定モード    | MRM(Multiple Reaction Monitoring)                                       |

## 溶出溶媒の検討

PLS3のみ PLS3+NH2

| Compound | PLS3のみ  |       |                      |       |                      |       | PLS3+NH2 |       |                      |       |                      |       |   |    |   |    |
|----------|---------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|----------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|---|----|---|----|
|          | メタノール溶出 |       | アセトニトリル/メタノール(1/1)溶出 |       | アセトニトリル/メタノール(1/1)溶出 |       | メタノール溶出  |       | アセトニトリル/メタノール(1/1)溶出 |       | アセトニトリル/メタノール(1/1)溶出 |       |   |    |   |    |
|          | 0.2mL   | 2.3mL | 0.2mL                | 2.3mL | 0.2mL                | 2.3mL | 0.2mL    | 2.3mL | 0.2mL                | 2.3mL | 0.2mL                | 2.3mL |   |    |   |    |
| PFBA     | 43      | 0     | 39                   | 0     | 33                   | 0     | 31       | 0     | 0                    | 96    | 0                    | 87    | 0 | 79 | 0 | 76 |
| PFPeA    | 104     | 1     | 87                   | 1     | 84                   | 2     | 72       | 1     | 0                    | 88    | 1                    | 87    | 0 | 88 | 0 | 84 |
| PFHxA    | 94      | 0     | 90                   | 0     | 93                   | 1     | 79       | 0     | 0                    | 85    | 0                    | 89    | 0 | 87 | 0 | 83 |
| PFHpA    | 97      | 1     | 87                   | 0     | 91                   | 2     | 79       | 1     | 0                    | 87    | 0                    | 87    | 0 | 89 | 0 | 84 |
| PFOA     | 96      | 0     | 82                   | 0     | 85                   | 0     | 79       | 0     | 0                    | 81    | 0                    | 85    | 0 | 79 | 0 | 80 |
| PFNA     | 83      | 0     | 75                   | 0     | 81                   | 1     | 75       | 2     | 0                    | 77    | 0                    | 79    | 0 | 79 | 0 | 65 |
| PFDA     | 80      | 0     | 65                   | 0     | 76                   | 2     | 73       | 0     | 0                    | 70    | 0                    | 71    | 0 | 80 | 0 | 66 |
| PFUdA    | 70      | 0     | 60                   | 0     | 72                   | 0     | 67       | 0     | 0                    | 69    | 0                    | 69    | 0 | 72 | 0 | 60 |
| PFDA     | 60      | 0     | 49                   | 0     | 63                   | 0     | 59       | 0     | 0                    | 59    | 0                    | 61    | 0 | 64 | 0 | 49 |
| PFTeDA   | 41      | 0     | 39                   | 0     | 42                   | 0     | 45       | 0     | 0                    | 59    | 0                    | 41    | 0 | 53 | 0 | 44 |
| PFTeDA   | 29      | 0     | 34                   | 0     | 33                   | 0     | 30       | 0     | 0                    | 52    | 0                    | 30    | 0 | 55 | 0 | 41 |
| L-PFBS   | 89      | 2     | 95                   | 1     | 88                   | 2     | 81       | 1     | 1                    | 88    | 7                    | 94    | 0 | 84 | 0 | 67 |
| L-PFHs   | 92      | 0     | 99                   | 0     | 90                   | 0     | 90       | 0     | 0                    | 91    | 0                    | 79    | 0 | 92 | 0 | 85 |
| L-PFHs   | 85      | 0     | 87                   | 0     | 84                   | 0     | 81       | 0     | 0                    | 93    | 8                    | 74    | 0 | 87 | 0 | 78 |
| L-PFOS   | 78      | 1     | 77                   | 0     | 77                   | 1     | 74       | 1     | 1                    | 76    | 8                    | 65    | 0 | 91 | 0 | 70 |
| L-PFDS   | 61      | 1     | 59                   | 1     | 63                   | 0     | 63       | 0     | 1                    | 66    | 5                    | 49    | 0 | 69 | 0 | 63 |

試料を酸性(pH3)で保持させた場合に、PFOS, PFOAとともに炭素鎖の長い(極性が低い)成分の回収率が低くなったため、PLS3またはNH2(またはPSA)からの溶出溶媒の再検討を行った。PLS3からの溶出溶媒として、メタノールでは低極性成分の溶出力が弱いかもしれないため、メタノールより溶出力の強いアセトニトリル/メタノール(1/1)溶出液、アセトニトリル/メタノール(1/1)溶出液、アセトニトリル/メタノール(1/1)溶出液で比較を行った結果、溶出力に大きな差は認められず、メタノールまたはアセトニトリルが良好であった。溶出量は各溶液ともに2mLで問題なかったが、炭素鎖の長い成分の溶出は十分でなかった。この結果を受けPLS3+NH2連結カラムで検討した結果、PLS3からアセトニトリル溶出、NH2からは1%酢酸含有アセトニトリル/メタノール(1/1)で溶出した場合が、今回の検討では最も回収率が良好であった。

まとめ  
以上より、保持カラムは疎水性相互作用と弱陰イオン交換作用の組合せ、保持条件は試料水を酸性(pH3)にすることで、PFOS, PFOAおよびその関連物質の分析が可能であることがわかった。今後、炭素鎖の長い成分の回収率をさらに向上させるため、溶出溶媒の再検討を行う予定である。また実試料を用いて添加回収試験を行いマトリクスによる影響や、検出感度に伴う試料の濃縮倍率等の検討などを行いたい。