演題番号 P-141

第30回 環境化学討論会 (2022/6/14〜16, 富山国際会議場)

# オンラインSPE-LC/MSシステムを用いた河川水中のPFOA分析法の開発

○佐々野 僚一[1,3]，浅井 智紀[1]，渡辺 淳[2]，伊藤 里恵[3]，穐山 浩[3]

（[1]株式会社アイスティサイエンス，[2]株式会社島津製作所，[3]星薬科大学）

※ E-mail: sasano@aisti.co.jp

## 【はじめに】

ペルフルオロオクタン酸（PFOA）はフッ素樹脂の加工助剤、塗料、撥水剤、乳化剤などに使用されていた。この物質は不揮発性で難分解性のため環境に長く残留することが懸念されている。そのため、環境汚染や人体暴露リスク評価として調査されており、環境省では水環境に係る暫定的な目標値として低濃度の50 ng/Lを設定している。そのため、従来の河川水中のPFOAの分析方法では試料採取量が多く、前処理が煩雑で長時間を要していた。また、前処理に使用する器具などからの汚染にも注意を払う必要がある。本研究では、自動で固相抽出からLC注入し測定までを密閉系で行うオンラインSPE-LC/MSシステムを使用して、試料の少量化／窒素ガスパージ濃縮の省略／前処理の短時間化かつ自動化を目的とした、河川水中のPFOAの分析法の開発を検討したので報告する。

**PFOA PerFluoroOctanoic Acid**

MW: 414.1
沸点：189℃
Logpow = 6.3
水溶解度：3400 mg/L

## 【実験方法】

### (1) オンラインSPE-LC/MSシステム

本研究ではオンライン用固相抽出装置 SPL-W100（アイスティサイエンス社製）と液体クロマトグラフ-トリプル四重極質量分析計LCMS-8045（島津製作所社製）を組み合わせたオンラインSPE-LC/MSシステム（Fig.1）を使用した。固相カラムはシリカゲル系C18を充填したオンライン専用固相カートリッジ（Flash-SPE C18, 5mg）を使用した。河川水をバイアルに入れ、本システムにセットし、分析した。

Fig. 1 オンラインSPE-LC/MSシステム

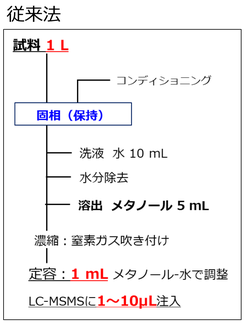
Table 2 LC/MS条件

【LC条件】
分析カラム：Inertsil ODS-3, 3 μm, 2.1 mmID × **75 mm**
移動相　A液：10mM 酢酸アンモニウム-水
　　B液：アセトニトリル
流速：0.3 mL/min
グラジエント：B.Conc. 20 %(0-1 min)→98 %(9-12 min)
カラム温度：40 ℃

【MS条件】
イオン化モード：**ESI Negative**
**MRM：　412.9 > 169.1**

### (2) 前処理方法

自動前処理では、バイアル中の試料0.5 mLを採取し、固相に負荷して、目的成分を固相に保持させた。そのままメタノール-水（1/4）250 μLで洗浄して、固相を溶出配管へ接続し、水-MeOH（1/9）60 μLで溶出しながら、水を混合し、溶出ループに溜めた。そして、バルブを切り替えて、溶出した目的成分を全量LCへ導入し、MS（MRM）で測定した。



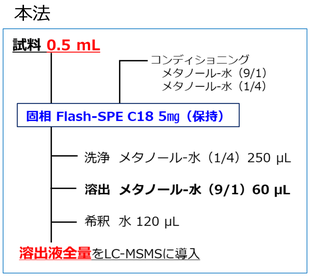
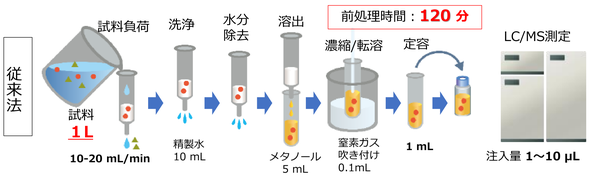




Fig. 2 前処理フロー



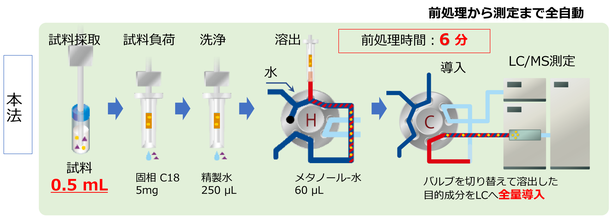




Fig. 3 従来法と本法の比較

## 【結果と考察】

### (1) 前処理の検討

1. 負荷量について

精製水にPFOAを添加して、負荷量を250, 500, 750μLとして得られたピーク面積値との関係をFig. 4に示した。良好な直線関係が得られ、固相C18 5mgにおいて十分な保持能力があることが確認できた。

2. 洗浄について

精製水にPFOAを添加して、固相に負荷した後の洗浄について検討した。洗浄液はPFOAを固相に保持しながら、できるだけ親水性の夾雑成分を洗浄できるようにMeOH-水（1/4）とした。その洗浄液の量を100, 250, 400 μLとして得られたピーク面積値との関係をFig. 5に示した。その結果から洗浄によるPFOAの損失は見受けられなかったことから、洗浄量は250 μLとした。

3. 溶出について

精製水にPFOAを添加して、固相に負荷した後の溶出について検討した。溶出液はできるだけ疎水性の夾雑成分は固相に保持されたまま、PFOAが固相から溶出できるようにMeOH-水（9/1）とした。その溶出量を40, 50, 60, 70 μLとして得られたピーク面積値との関係をFig. 6に示した。その結果から溶出量60 μLで十分に溶出していることが分かった。

4. LCへの導入について

溶出液をそのままLCへ全量導入すると、PFOAのピーク形状がブロードになってしまうことが懸念された。そこで、溶出液に水を混合させて、MeOHの濃度比を下げてからLCへ全量導入することできれいなピーク形状をえることができた。

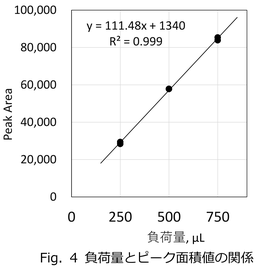



Fig. 4 負荷量とピーク面積値の関係

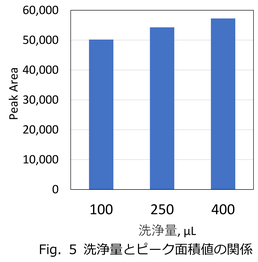



Fig. 5 洗浄量とピーク面積値の関係

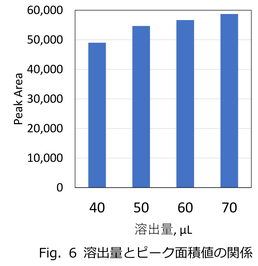



Fig. 6 溶出量とピーク面積値の関係

従来法では前処理後の抽出液1 mLに対して数μLしかLCに注入しないため、過剰な前処理を行っていたが、本システムでは固相からの溶出液を無駄なくLCへ全量導入可能なことから試料採取量を0.5 mLとすることが可能となり、固相の量を5 mgに、溶出量を60 μLに少量化することで、窒素ガスによる濃縮操作を省き、前処理時間を6分に短縮することができた。LCカラムと同じ材質の固相を用いて、溶出する溶媒をMeOH-水（9/1）にすることで、LCからの溶出が遅い疎水性の夾雑成分を予め固相で取り除くことによりLCカラムの洗浄時間を省略することができ、迅速な測定を可能とした。また、LC/MSで測定している間に次の検体の前処理（固相抽出）を並行して行うことで、LC/MSのサイクルタイム（15分間隔）で検体を分析することができハイスループットな分析を達成した。

### (2) 検量線について

精製水に標品を添加し、試料中濃度が1 – 50 ng/Lになるように調製した試料を本システムで測定し作成したPFOAの検量線をFig. 7に示した。相関係数=0.9993で、良好な直線性を得ることができた。

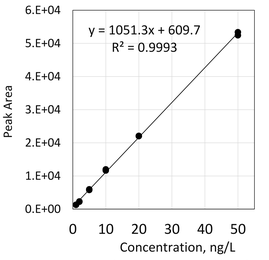


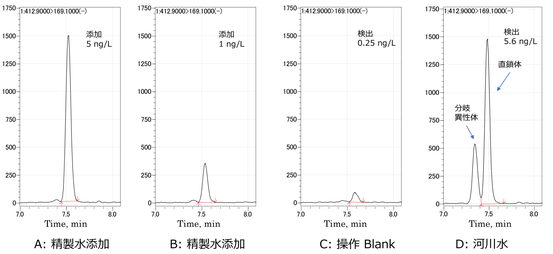

Fig. 7 本システムによる検量線
濃度：1, 2, 5, 10, 20, 50 ng/L

### (3) 河川水での添加回収試験

採取した河川水に試料中濃度が5 ng/L増加するように標準溶液を添加して本システムで得られたピーク面積値と、河川水をそのまま本システムで得られたピーク面積値と、STDを直接LCへ注入して得られたピーク面積値（基準）と、それらの面積値から得られた回収率と連続測定（n=6）の再現性をTable 2に示した。回収率81 %、連続測定RSD =3.9 %の良好な結果が得られた。本試験で河川水から検出されたPFOA（直鎖体）の濃度はFig.7の検量線から算出した結果5.6 ng/Lだった。また、PFOA（分岐異性体）も検出された（Fig. 8-D）。

Table 2 添加回収試験結果と再現性

| Sample | No. | Peak Area |
|---|---|---|
| STD, 500 ng/L 直接LC注入5 μL 試料中濃度 :5 ng/L 相当 | S-1 | 6,700 |
| | S-2 | 6,643 |
| | S-3 | 6,674 |
| | *Ave.* | *6,672* |
| 河川水 SPE-LC, 0.5 mL | U-1 | 6,523 |
| | U-2 | 6,465 |
| | *Ave.* | *6,494* |
| 河川水添加 濃度：5 ng/L SPE-LC, 0.5 mL | A-1 | 12,709 |
| | A-2 | 11,361 |
| | A-3 | 11,964 |
| | A-4 | 11,994 |
| | A-5 | 11,545 |
| | A-6 | 11,988 |
| | *Ave.* | *11,927* |
| | **RSD, %** | **3.9** |
| (A-U) /S×100 | **REC.,%** | **81** |




A: 精製水添加　B: 精製水添加　C: 操作 Blank　D: 河川水

Fig. 8 本システムで得られた各MRMイオンクロマトグラム

暫定的な目標値である50 ng/Lの1/10の5 ng/L（A）とさらにその1/5の1 ng/L（B）をFig. 8に示した。いずれも良好なピーク形状を得ており、1 ng/Lにおいても十分な感度を得ていることが分かった。一方、操作ブランク（C）では0.25 ng/Lを検出した。

## 【まとめ】

本研究により、河川水をバイアルに入れ、セットするだけで、河川水中PFOAの前処理から測定までの完全な自動かつ迅速な分析が可能となった。今後、PFOSも含めて検討していく予定である。