

食品中 PFAS の自動分析法の開発

○小西賢治¹, 佐々野僚一^{1,2}, 岩崎雄介², 伊藤里恵², 穂山浩²
¹株式会社アイスティサイエンス, ²星薬科大学薬学部

【目的】PFOA や PFOS に代表される有機フッ素化合物 (PFAS) は、非常に分解されにくく、環境中に長期間残留する。人体への発がん性などの影響も懸念されており、世界的に規制が進んでいる。食品分野においても PFAS 分析の需要が高まっている。そこで、作業者の習熟度に関係なく、迅速かつ簡便に分析できる自動固相抽出装置を用いた分析法を開発し、本報告で紹介する。

【方法】前処理：精製水および市販のほうれん草に PFAS 標準品を添加し、分析法の評価を行った。前処理のフローを図 1 に示す。

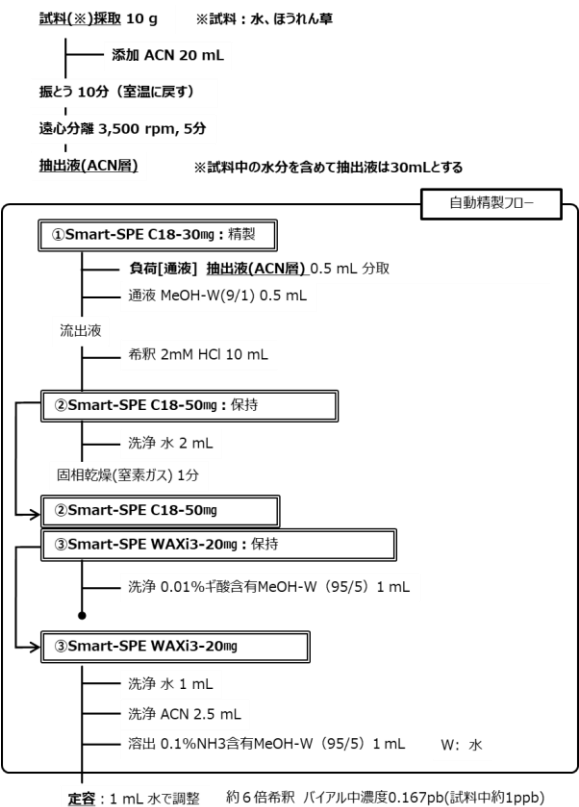


図 1 PFAS 分析前処理フロー

分析手順：1.試料をアセトニトリルで抽出し、自動固相抽出装置 ST-L400（アイスティサイエンス社製）を用いて前処理を行った。

2.抽出液を①C18-30 mg に負荷し、無極性の夾雑物を除去する。流出液を塩酸水で希釈し、②C18-50 mg に負荷することで目的成分を保持させ、イオン性の夾雑物を除去する。3.②C18 に**③WAXi3-20 mg (※) **を連結し、ギ酸含有メタノール/水で洗浄し、目的物質を③WAX に保持。4.②C18 を取り外し、③WAX からアンモニア含有メタノール/水で溶出したものを水で 1mL に定容し、LC-MS/MS で測定する。

(※WAX：弱陰イオン交換カラム)

【結果と考察】添加回収試験の結果を表 1 に示す。本研究で測定対象とした 4 種類の化合物 (PFOA、PFOS、PFHxS、PFNA) について、良好な回収率が得られた。食品には様々な夾雑物が含まれており、試料を直接 WAX カラムに通すと、目的物質が十分に保持されない場合がある。そこで、本手法では C18 カラムで目的物質を保持させ、イオン性の夾雑物を除去。その後、WAX カラムを連結し C18 カラムをギ酸含有メタノール/水で洗浄することで、目的物質を C18 カラムから溶出させ WAX カラムに保持する方法を採用した。この手法により、良好な結果が得られたと考えられる。今後、本分析法を他の試料にも適用可能か調査を進める予定である。

表 1 PFAS 添加回収試験結果

成分名	精製水に添加	ほうれん草に添加
	回収率(%)	回収率(%)
PFHxS	102	98
PFOA	92	86
PFNA	86	76
PFOS	94	100

食品中PFASの自動分析法の開発

©小西賢治¹, 佐々野僚一^{1,2}, 岩崎雄介², 伊藤里恵², 穂山 浩²
1 株式会社アイスティサイエンス, 2 星薬科大学薬学部



Beyond your Imagination

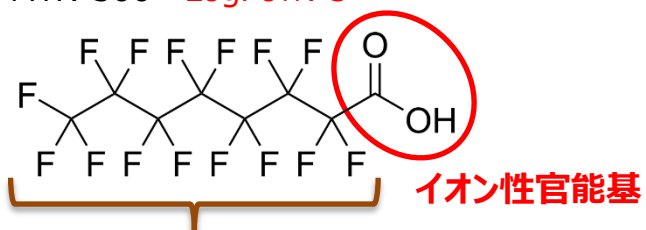
AiSTI SCIENCE

PFASについて

PFOA

PerFluoroOctanoic Acid

MW: 500 LogPow: 5



疎水性相互作用

PF側鎖 C4~C18

LogPow = 2~11

-COOH

-SO₃H

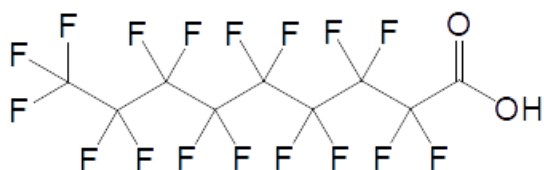
-SO₂-NH₂

-SO₂-N

PFNA

PerFluoroNonanoic Acid

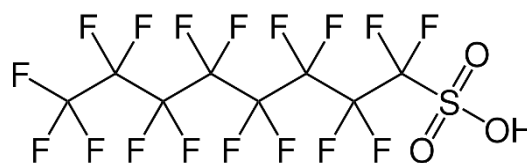
MW: 464 LogPow: 5.6



PFOS

PerFluoroOctaneSulfonic acid

MW: 414 LogPow: 4.9



(1) 疎水性相互作用の要因

フルオロカーボン鎖の低極性

PFASのフルオロカーボン鎖は、炭化水素鎖に比べてさらに極性が低く、水との相互作用が非常に弱いため、強い疎水性を示す。

ロンドン分散力（ファンデルワールス力）

PFASのフルオロカーボン鎖は、一般的な炭化水素に比べて相互作用が弱く、同じ鎖長の炭化水素と比べても水との混合が起こりにくい。

自己集合と凝集

疎水性のフルオロカーボン部分が水中で会合し、ミセルのような構造を形成することがある。

(2) 疎水性相互作用の具体例

水中での振る舞い

フルオロカーボン鎖同士が相互作用し、クラスターを形成。界面に集まり、水と接触する部分を最小化しようとする。

有機相との相互作用

疎水性の有機溶媒（ヘキサン、トルエンなど）と相互作用しやすい。

界面に吸着して、油中の成分を分散させる効果を持つ。

手動分析の課題

時間と労力がかかる：
手作業すると膨大な時間と労力



ヒューマンエラーのリスク：
操作ミスや試薬の取り違いによるミスが発生しやすい

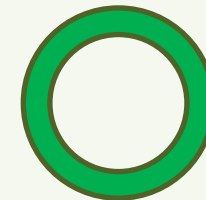


再現性や標準化の難しさ：
作業者の習熟度や器具の操作方法によるばらつき



自動分析法：

- 自動分析中はほかの作業ができる
- 正確な流量制御による再現性向上
- 操作ログによる分析結果の見直し



自動固相抽出装置による精製



全自動固相抽出装置
ST-L400



固相ミニカートリッジ
Smart-SPE

- 特徴： ①固相のコンディショニング～試料負荷～乾燥～溶出まで自動分析
②固相の連結、分離による複雑な精製が可能

前処理フロー

予冷式ドライアイス凍結粉碎

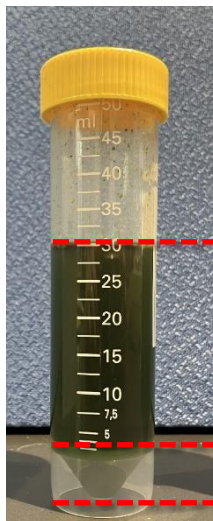
試料秤量 10 g

抽出溶媒 アセトニトリル 20 mL

振とう 10分（室温に戻す）

遠心分離 3,500rpm, 5分

抽出液（アセトニトリル-水層）



抽出液（アセトニトリル-水層）

※試料中水分（約10 mL）と合わせて30 mLとみなす

沈殿物層

自動前処理

C18-30 mg : 精製

負荷[通液] 抽出液 0.5 mL 分取

通液 メタノール-水(9/1) 0.5 mL

流出液

添加 2 mM HCl水溶液 20 mL

C18-50 mg : 保持

洗浄 水

窒素ガスで乾燥

C18-50 mg

WAXi3-20 mg : 保持

洗浄 ギ酸含有メタノール-水(95/5) 1 mL

WAXi3-20 mg

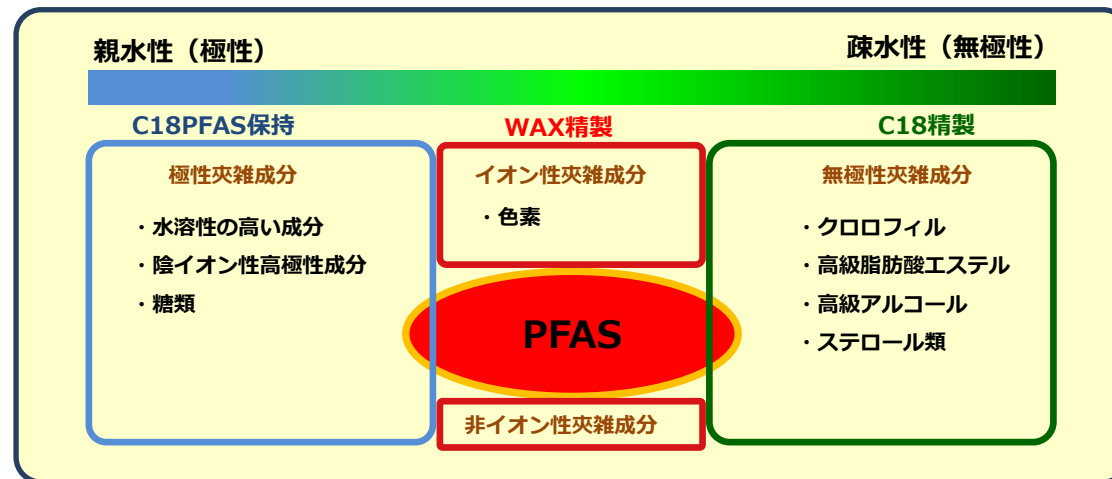
洗浄 水

溶出 0.05%NH3含有メタノール-水(95/5) 1 mL

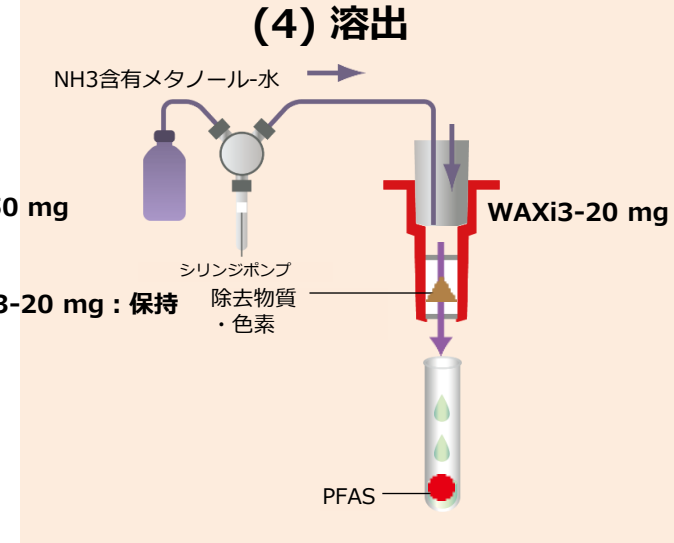
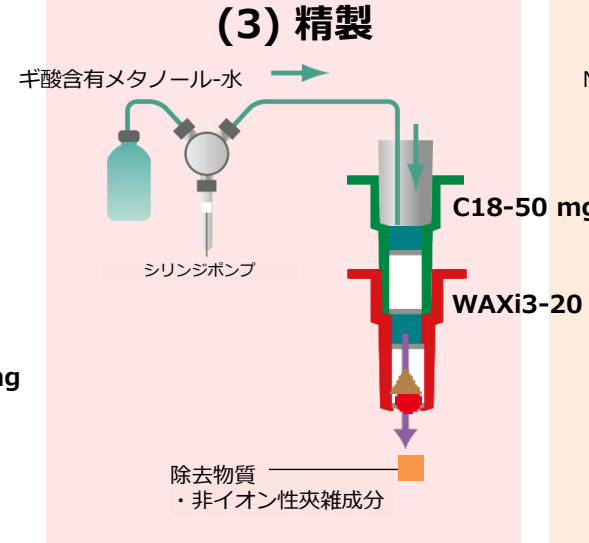
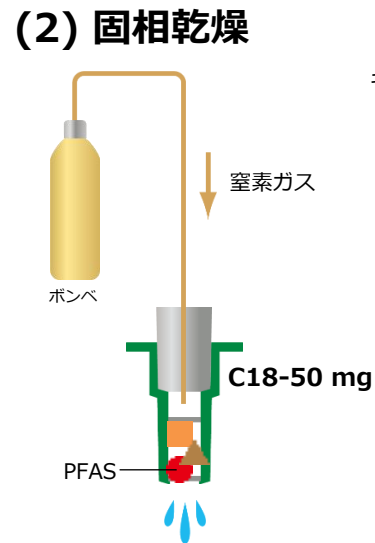
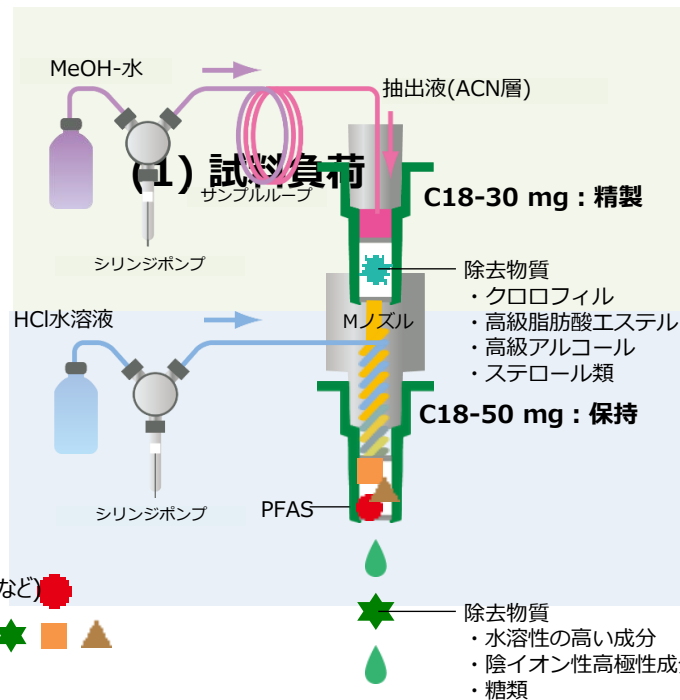
定容 : 1 mL 水で調整

LC-MS/MS測定 (5 μ L)

装置による固相抽出イメージ



※自動化ではC18にほとんど保持されず流出して除去されます。



測定条件

【HPLC条件】

分離カラム : ODS-3 3 μ m 2.1x75 mm

ディレイカラム : ODS-3 3 μ m 3.0x33 mm

移動相 A : 2 mM酢酸アンモニウム水溶液

B : 2 mM酢酸アンモニウム含有アセトニトリル-メタノール (1/1)

グラジエント条件 :

B conc. 30% (0-0.25 min) -40% (0.5-2.5 min) -100% (9-12 min) -30% (12.5-14 min)

【MS条件】

測定モード : ESI Negative, MRM

検討：C18洗浄溶媒量

C18-30 mg：精製

負荷[通液] 抽出液 0.5 mL 分取

通液 **メタノール-水(9/1) 0.5 mL**

流出液

添加 2 mM HCl水溶液 20 mL

C18-50 mg：保持

洗浄 水

窒素ガスで乾燥

C18-50 mg

WAXi3-20 mg：保持

洗浄 ギ酸含有メタノール-水(95/5) 1 mL

WAXi3-20 mg

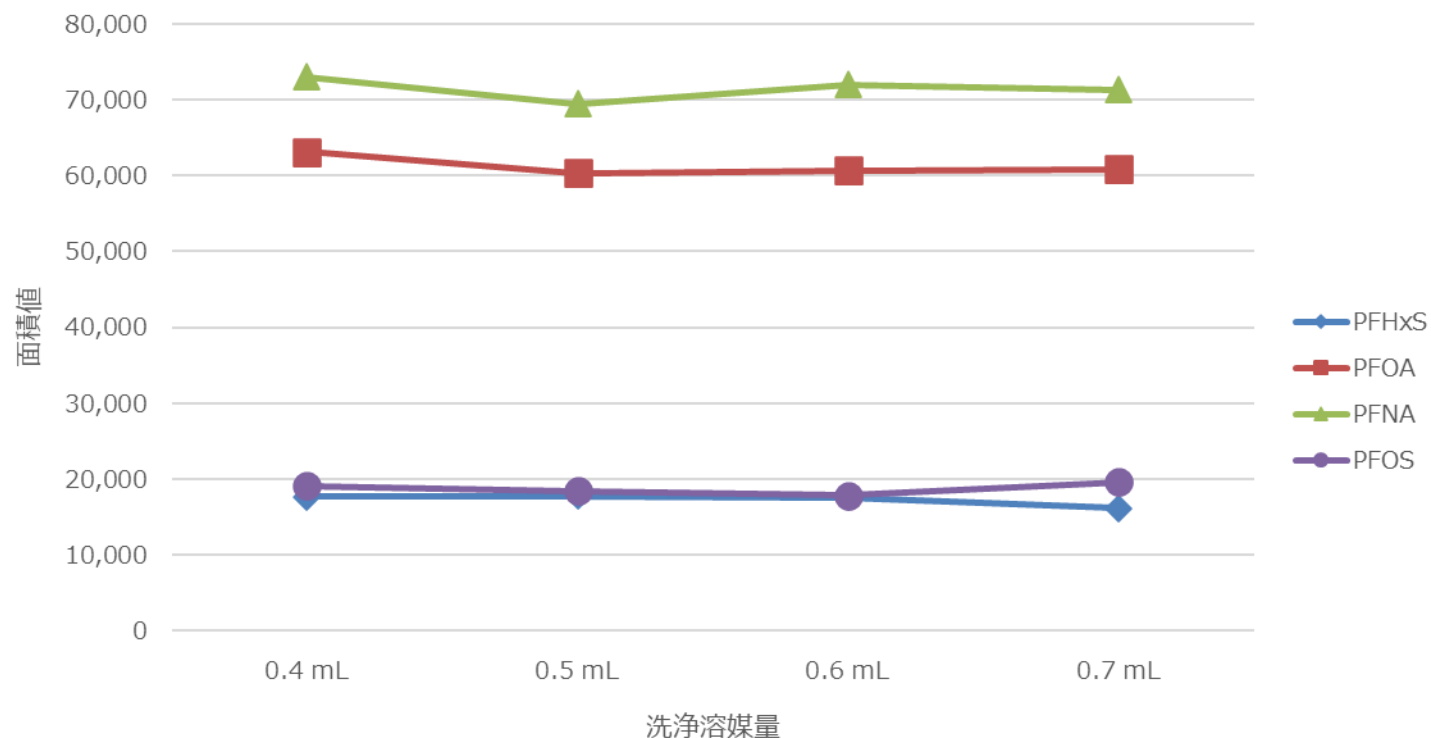
洗浄 水

溶出 0.05%NH₃含有メタノール-水(95/5) 1 mL

定容：1 mL 水で調整

LC-MS/MS測定 (5 μ L)

C18洗浄溶媒量が回収量に及ぼす影響



洗浄溶媒量による差はみられなかった

検討：C18保持の際のHCl濃度

C18-30 mg：精製

負荷[通液] 抽出液 0.5 mL 分取

通液 メタノール-水(9/1) 0.5 mL

流出液

添加 2 mM HCl水溶液 20 mL

C18-50 mg：保持

洗浄 水

窒素ガスで乾燥

C18-50 mg

WAXi3-20 mg：保持

洗浄 ギ酸含有メタノール-水(95/5) 1 mL

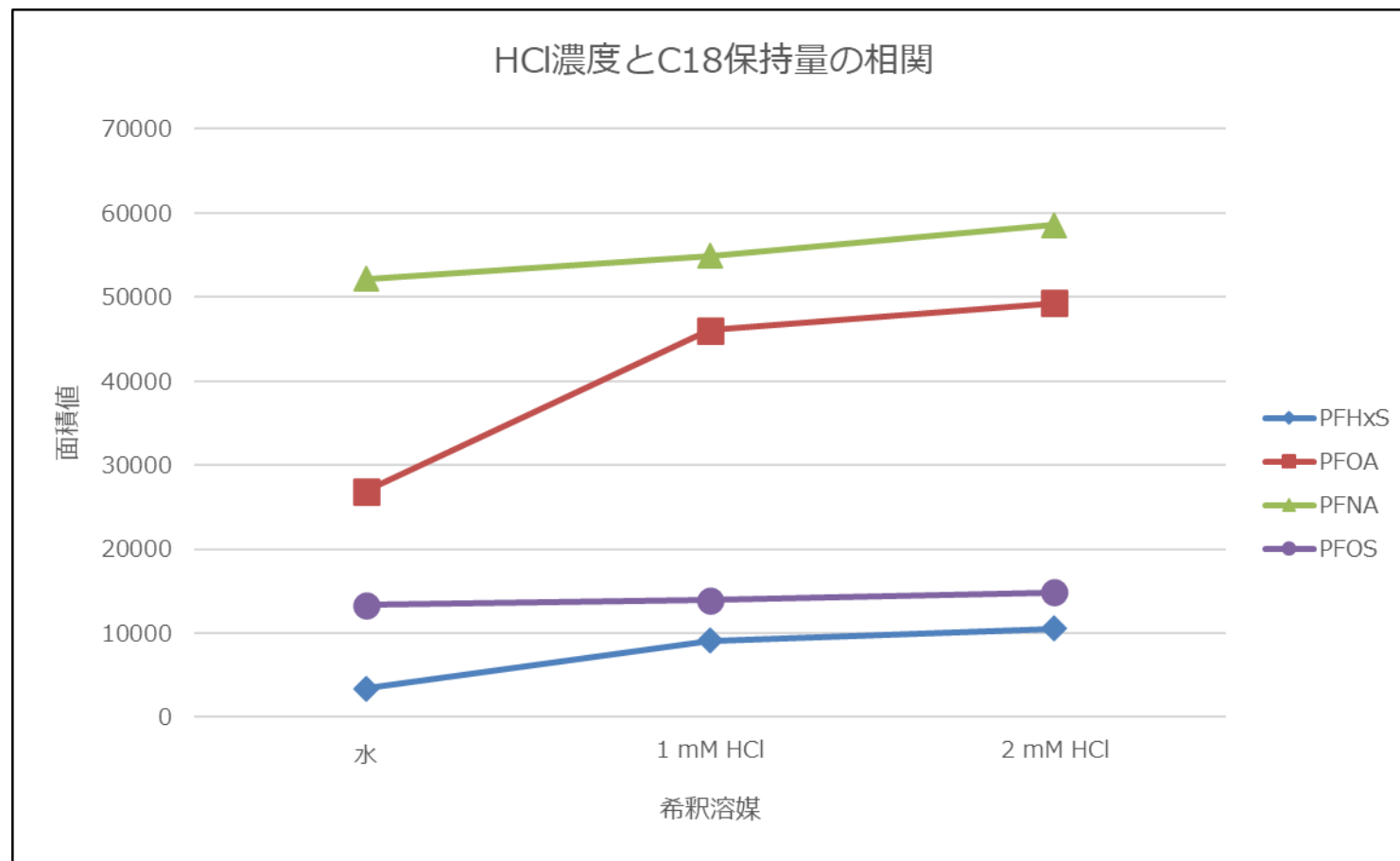
WAXi3-20 mg

洗浄 水

溶出 0.05%NH₃含有メタノール-水(95/5) 1 mL

定容：1 mL 水で調整

LC-MS/MS測定 (5 μL)



2 mM HClを選択

結果：添加回収試験

試料：ほうれん草、アジ

予冷式ドライアイス凍結粉碎

試料秤量 10 g

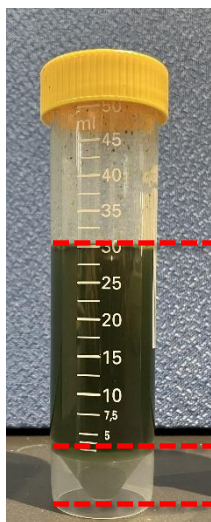
(アジ：添加 水 2 mL)

抽出溶媒 アセトニトリル 20 mL

振とう 10分 (室温に戻す)

遠心分離 3,500rpm, 5分

抽出液 (アセトニトリル-水層)



抽出液 (アセトニトリル-水層)

※試料中水分(約10 mL)と合わせて30 mLとみなす

沈殿物層

添加濃度：ほうれん草 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
アジ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

C18-30 mg : 精製

負荷[通液] 抽出液 0.5 mL 分取

通液 メタノール-水(9/1) 0.5 mL

流出液

添加 2 mM HCl水溶液 20 mL

C18-50 mg : 保持

洗浄 水

窒素ガスで乾燥

C18-50 mg

WAXi3-20 mg : 保持

洗浄 ギ酸含有メタノール-水(95/5) 1 mL

WAXi3-20 mg

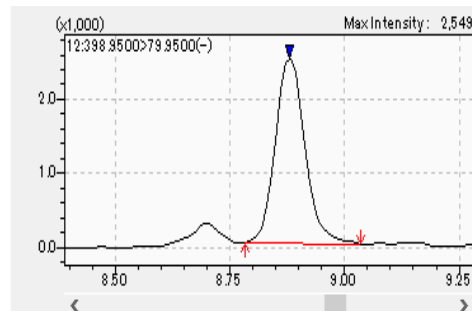
洗浄 水

溶出 0.05%NH₃含有メタノール-水(95/5) 1 mL

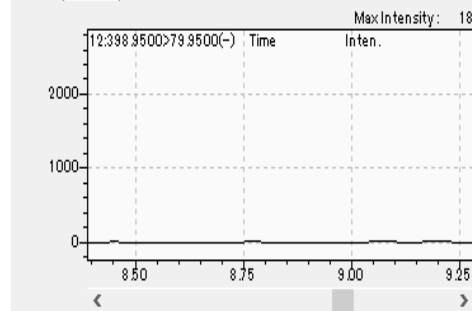
定容：1 mL 水で調整

LC-MS/MS測定 (5 μL)

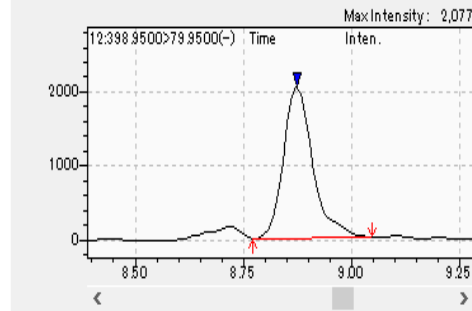
MRMクロマトグラム (ほうれん草)



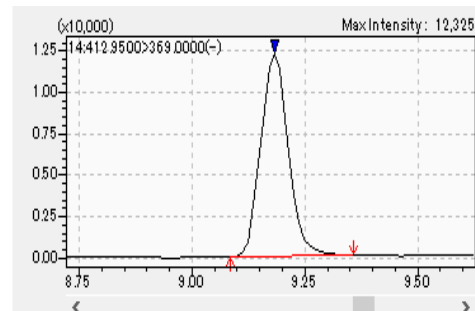
Data# 5 250521-2_ほうれんそうBlank_023.lcd



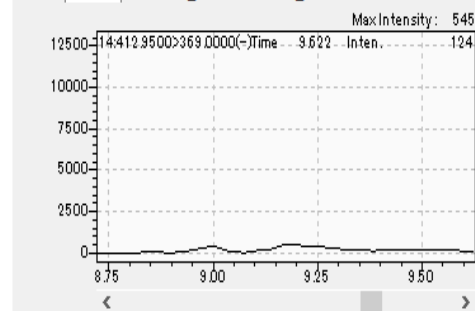
Data# 6 250521-2_ほうれんそう添加-1_024.lcd



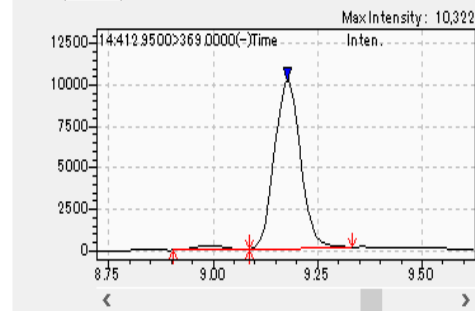
PFHxS



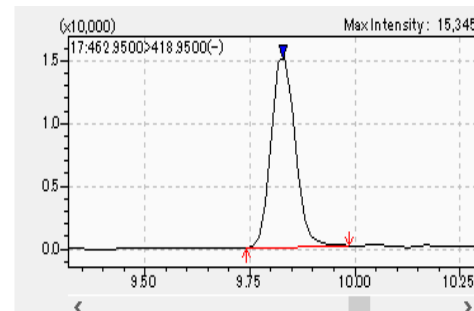
Data# 5 250521-2_ほうれんそうBlank_023.lcd



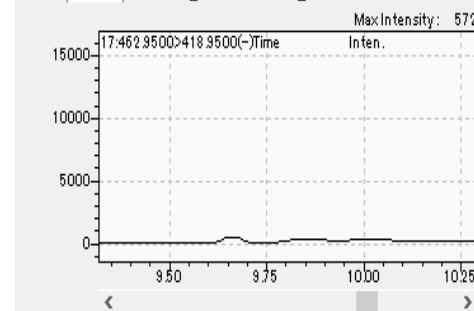
Data# 6 250521-2_ほうれんそう添加-1_024.lcd



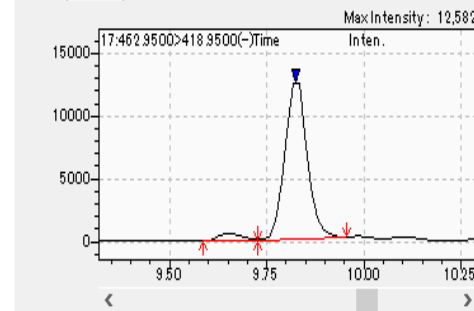
PFOA



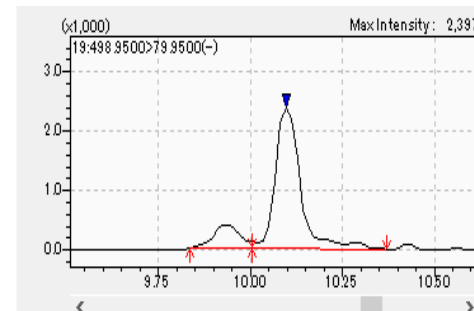
Data# 5 250521-2_ほうれんそうBlank_023.lcd



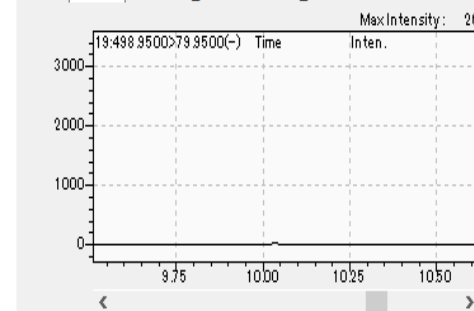
Data# 6 250521-2_ほうれんそう添加-1_024.lcd



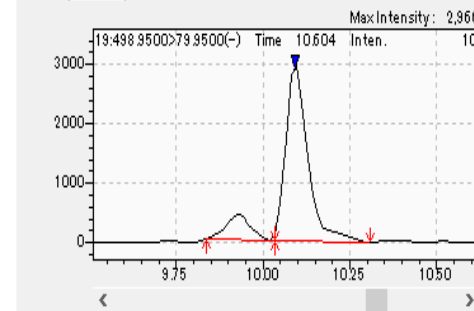
PFNA



Data# 5 250521-2_ほうれんそうBlank_023.lcd



Data# 6 250521-2_ほうれんそう添加-1_024.lcd



PFOS

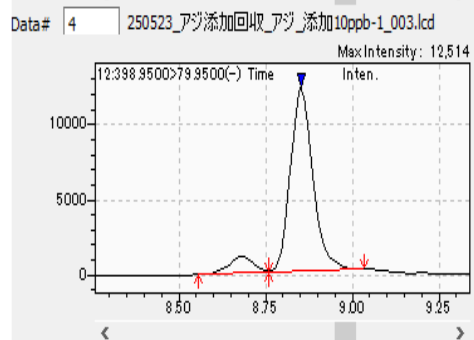
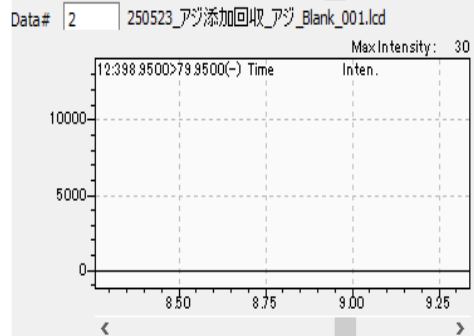
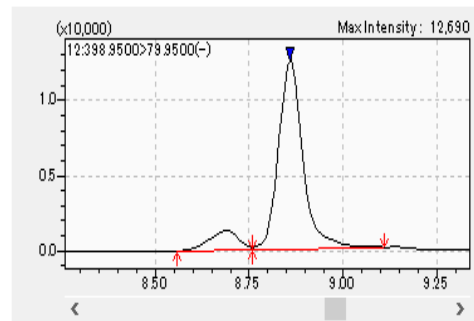
標準試料 (0.167 $\mu\text{g/L}$)
※試料中換算濃度 1 $\mu\text{g/kg}$

ほうれん草 (未知)

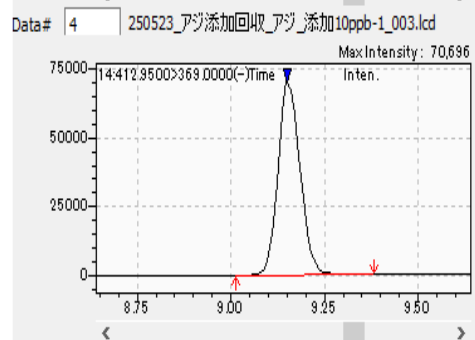
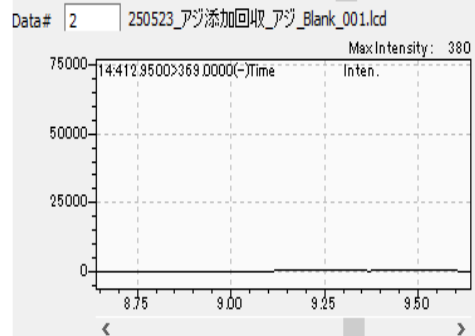
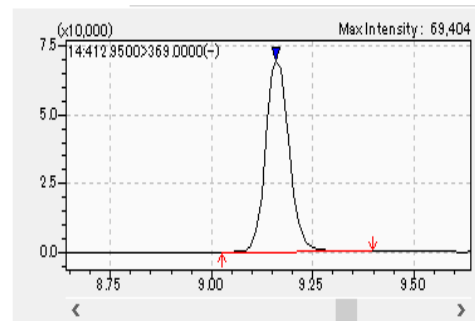
ほうれん草 (添加)

ほうれん草から検出されなかった

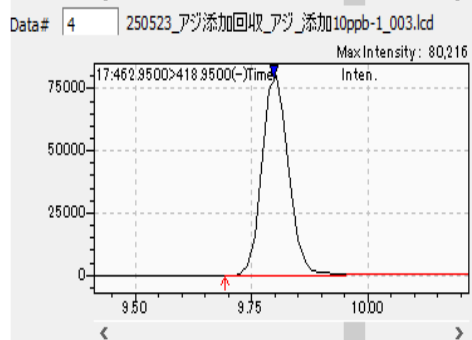
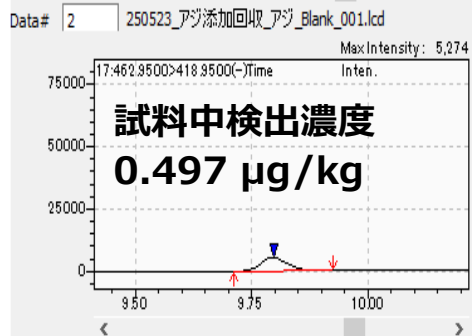
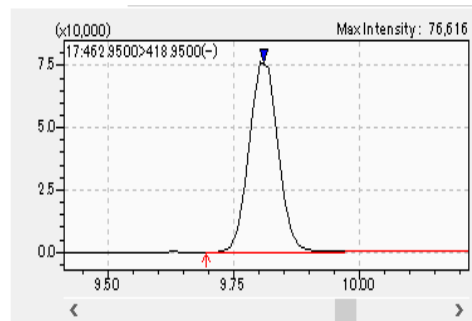
MRMクロマトグラム (アジ)



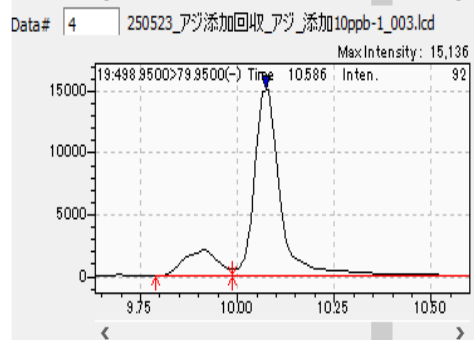
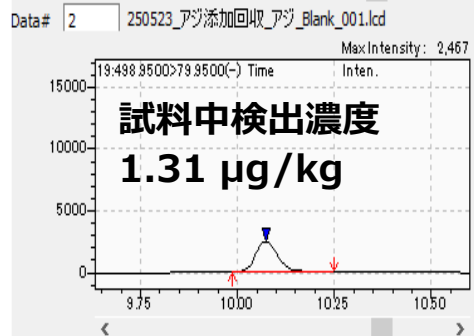
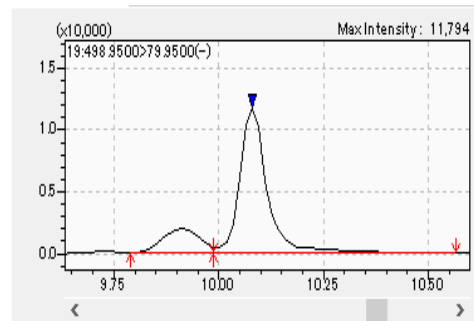
PFHxS



PFOA



PFNA



PFOS

標準試料 (1.67 $\mu\text{g/L}$)
※試料中換算濃度10 $\mu\text{g/kg}$

アジ (未知)

アジ (添加)

アジからPFNA,PFOSが検出された

結果



サンプル：ほうれん草 (n=5)
試料中添加濃度：1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
最終バイアル中濃度：0.167 $\mu\text{g}/\text{L}$

ほうれん草 (n=5)	回収率 (%)	RSD (%)
PFHxS	83	4.7
PFOA	71	4.3
PFNA	74	6.0
PFOS	92	3.5



サンプル：アジ (n=5)
試料中添加濃度：10 $\mu\text{g}/\text{kg}$
最終バイアル中濃度：1.67 $\mu\text{g}/\text{L}$

アジ (n=5)	回収率 (%)	RSD (%)
PFHxS	101	2.8
PFOA	98	3.0
PFNA	96	4.0
PFOS	104	3.7

真度、精度ともに良好な結果が得られた

まとめ

- 自動固相抽出装置を用いたPFAS分析法の開発を行った。
- ほうれん草：1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、アジ：10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で添加回収試験を行ったところ良好な結果が得られた。
- 今後は他の食品試料を含めた妥当性評価を行う予定である。