

# 乾燥大豆中の 30 種類の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測定

Agilent Captiva EMR PFAS Food II  
パススルークリーンアップと LC/MS/MS を使用

## 著者

Limian Zhao,  
Matthew Giardina, and  
Emily Parry  
Agilent Technologies, Inc.

## はじめに

Agilent Captiva EMR PFAS Food カートリッジは、食品中の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) の分析専用開発および最適化されています。本研究の目的は、乾燥大豆中の 30 種類の PFAS を測定する完全なワークフローを開発してバリデーションすることです。このメソッドでは、QuEChERS 抽出の後に、Captiva EMR PFAS Food II カートリッジによる拡張マトリックス除去 (EMR) ミックスモードパススルークリーンアップと、Agilent 6495D トリプル四重極 LC/MS (LC/TQ) による検出を使用しています。このメソッドの適合性、感度、真度、精度などについて、AOAC 標準メソッド性能要件 (SMPR) 2023.003<sup>1</sup> に従ってバリデーションしました。

## 実験方法

### 材料および試薬

非標識 PFAS および同位体標識された内部標準 (ISTD) 溶液は、Wellington Laboratories (ゲルフ、オンタリオ州、カナダ) から購入しました。

### 溶液および標準

標準溶液とその他の試薬の前処理は、以前のアプリケーションノートに記載しています。<sup>2</sup>

### 実験装置および材料

本研究では、Agilent 1290 Infinity II LC システム、および 6495D LC/TQ と Agilent Jet Stream iFunnel エレクトロスプレーイオン (ESI) 源を組み合わせ使用しました。データの取り込みと解析には、Agilent MassHunter Workstation ソフトウェアを使用しました。

本研究でサンプル前処理に使用したその他の機器は、過去の研究と同じです。<sup>2</sup>

1290 Infinity II LC システムの変更には、Agilent InfinityLab PFC デイレイカラム、4.6 × 30 mm (部品番号 5062-8100) を含む Agilent InfinityLab PFC フリー HPLC 変換キット (部品番号 5004-0006) を使用しました。クロマトグラフィーによる分離には、Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、95 Å、2.1 × 100 mm、1.8 μm (部品番号 959758-902) と ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、2.1 mm、1.8 μm、圧力上限 120 MPa、UHPLC ガード (部品番号 821725-901) を使用しました。

この他に、次のようなアジレントの消耗品を使用しました。

- Bond Elut QuEChERS EN 抽出キット、EN 15662 メソッド、バッファ塩、セラミックホモジナイザ (部品番号 5982-5650CH)
- Captiva EMR PFAS Food II カートリッジ、6 mL、750 mg (部品番号 5610-2232)

- ポリプロピレン (PP) スナップキャップ およびバイアル、1 mL (部品番号 5182-0567 および 5182-0542)
- PP スクリューキャップ型バイアルおよびキャップ、2 mL (部品番号 5191-8150 および 5191-8151)
- チューブおよびキャップ、50 mL、50 個 (部品番号 5610-2049)
- チューブおよびキャップ、15 mL、100 個 (部品番号 5610-2039)。

研究で使用した消耗品はすべて、許容可能な PFAS 清浄度についてテストおよび検証済みです。

### LC/MS/MS 機器の条件

LC/MS/MS メソッドの条件は、以前のアプリケーションノートに記載しています。<sup>2</sup>

### サンプル前処理

乾燥大豆を食料品店で購入し、ミキサーで細かい粉末にしました。この大豆粉末を、サンプル抽出に使用しました。5 g のサンプルを計量して、抽出のために清潔な PP 50 mL チューブに入れました。非標識 PFAS スパイク溶液と ISTD スパイク溶液を品質管理 (QC) サンプルに適切に添加し、ISTD のみをマトリックスブランクに添加しました。これで、図 1 のサンプル前処理手順を進める準備ができました。

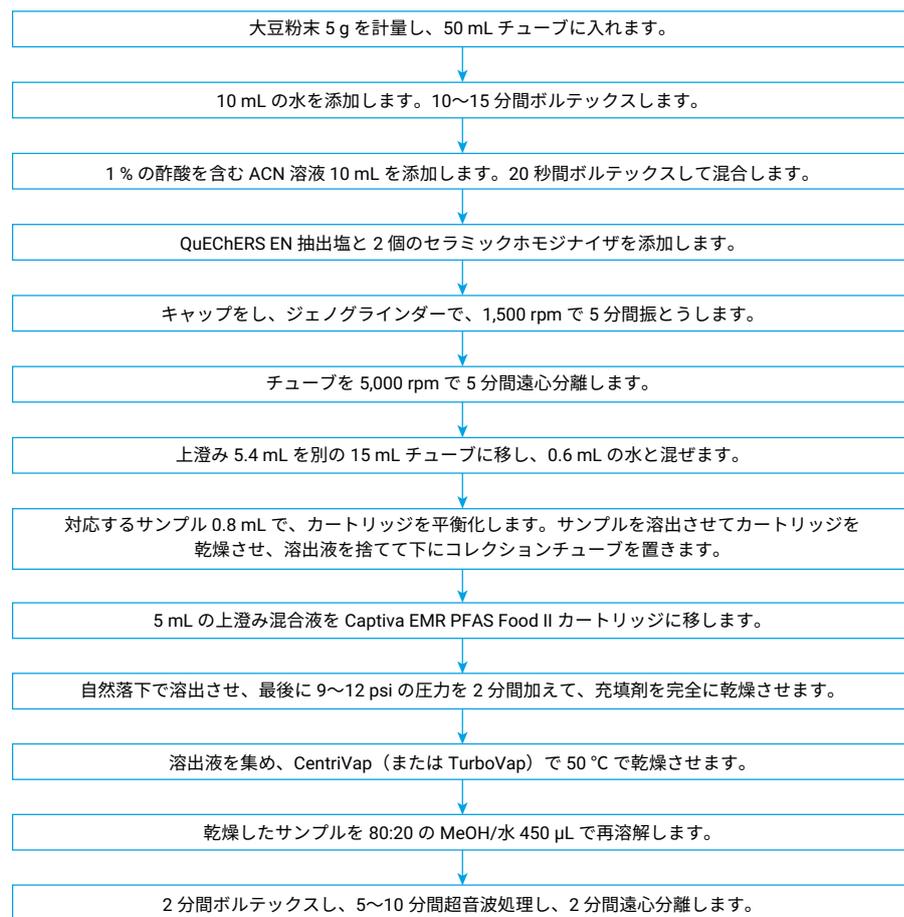


図 1. 乾燥大豆での PFAS 分析のサンプル前処理手順

## メソッド性能の評価

このメソッドの定量下限 (LOQ)、測定、回収率の真度と精度をバリデーションしました。大豆粉末では、5 種類のプレスパイクした QC レベルサンプルを、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の各レベルで 4 ~ 5 回レプリケートして前処理しました。大豆粉末での ISTD プレスパイクレベルは 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  でした。さらに、定量用にプレスパイクした 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の ISTD で、マトリックスブランクを 5 ~ 7 回繰り返し前処理しました。

## 結果と考察

### EMR ミックスモードパススルークリーンアップ

EMR ミックスモードパススルークリーンアップと従来の分散固相抽出 (dSPE) クリーンアップの間で、PFAS ターゲット回収率と大豆マトリックス除去を比較しました。これは LC/Q-TOF トータルイオンクロマトグラム (TIC) スキャンを用いて評価しました。図 2 に、(A) PFAS ターゲット回収率の比較、および (B) TIC スキャンマトリックスサンプルバックグラウンド (LC/Q-TOF を使用) を示します。

これらの結果から、EMR ミックスモードパススルークリーンアップと Captiva EMR PFAS Food II カートリッジを組み合わせると、従来の dSPE と比べて、PFAS ターゲット回収率と大豆マトリックス除去が大幅に改善されることがわかりました。

### メソッドバリデーション

AOAC SMPR ガイダンスに従い、大豆中の 30 種類の PFAS ターゲットを測定するための新規開発メソッドをバリデーションしました。乾燥大豆を「飼料」マトリックスカテゴリと見なすと、必要な LOQ は、4 種類の主要な PFAS ターゲット (PFOS、PFOA、PFNA、PFHxS) で  $\leq 0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、その他の PFAS ターゲットで  $\leq 5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$  でした。<sup>2</sup>

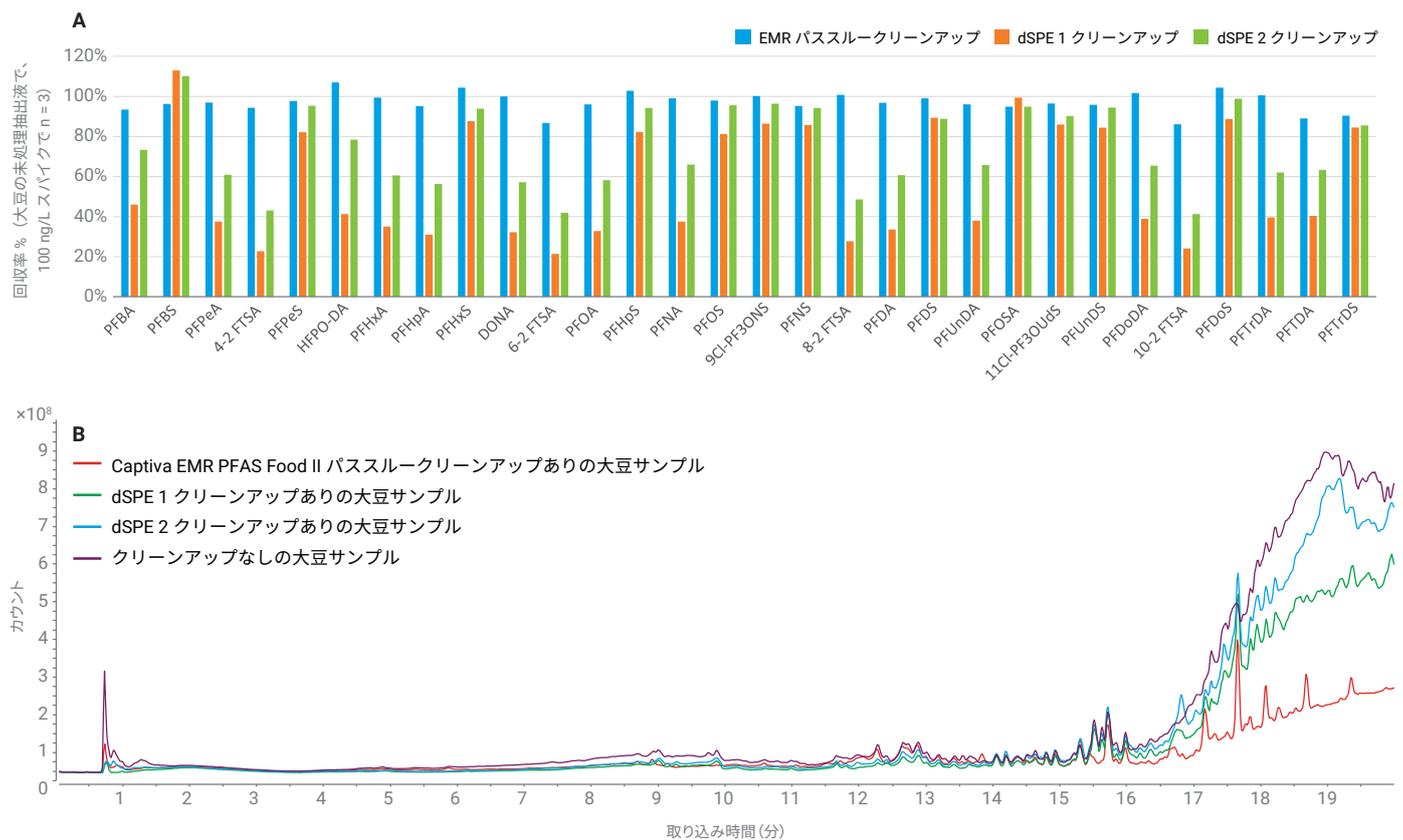


図 2. Agilent Captiva EMR PFAS Food II カートリッジによる EMR パススルークリーンアップと従来の dSPE クリーンアップの比較。  
(A) PFAS 回収率 (B) マトリックス清浄度 (LC/Q-TOF と ESI TIC スキャンを使用)

## メソッド LOQ

メソッド LOQ は、以前のアプリケーションノートに記載されている手法に基づいて測定しました。<sup>2</sup> 表 1 に、大豆中の各ターゲットのレポート対象最小算出 LOQ (LOQ<sub>cal</sub>) とバリデーション済みメソッドの LOQ (LOQ<sub>val</sub>) を示します。バリデーション済みメソッドの LOQ はすべて、飼料マトリックスで必要な LOQ 以下でした。図 3 に、4 種類の主要な PFAS ターゲットの、大豆マトリックスブランクとバリデーション済み LOQ レベルのクロマトグラムを示します。

表 1. 大豆マトリックス中の 30 種類のターゲットの、メソッドのレポート対象最小算出 LOQ (LOQ<sub>cal</sub>) とバリデーション済み LOQ (LOQ<sub>val</sub>)

ターゲット	大豆 LOQ (µg/kg)		ターゲット	大豆 LOQ (µg/kg)	
	LOQ <sub>cal</sub>	LOQ <sub>val</sub>		LOQ <sub>cal</sub>	LOQ <sub>val</sub>
PFBA	2.191	5	8:2 FTS	0.002	0.05
PFPeA	0.011	0.1	PFNS	NA	0.05
PFBS	0.008	0.05	PFDA	0.007	0.05
4:2 FTS	NA	0.05	PFDS	NA	0.05
PFPeS	NA	0.05	PFUnDA	NA	0.05
PFHxA	0.03	0.05	PFOSA	0.003	0.05
HFPO-DA	NA	0.05	11CI-PF3OUdS	0.001	0.05
PFHpA	0.029	0.05	PFUnDS	0.001	0.05
PFHxS*	0.007	0.05	PFDODA	0.004	0.05
DONA	0.002	0.5	10:2 FTS	NA	0.05
6:2 FTS	0.072	0.1	PFDoS	NA	0.05
PFOA*	0.031	0.05	PFTriDA	NA	0.05
PFHpS	NA	0.05	PFTriDS	NA	0.05
PFNA*	0.007	0.05	PFTeDA	0.015	0.05
PFOS*	0.003	0.05			
9CI-PF3ONS	0.001	0.05			

\* 主要な PFAS ターゲット  
NA = 該当せず

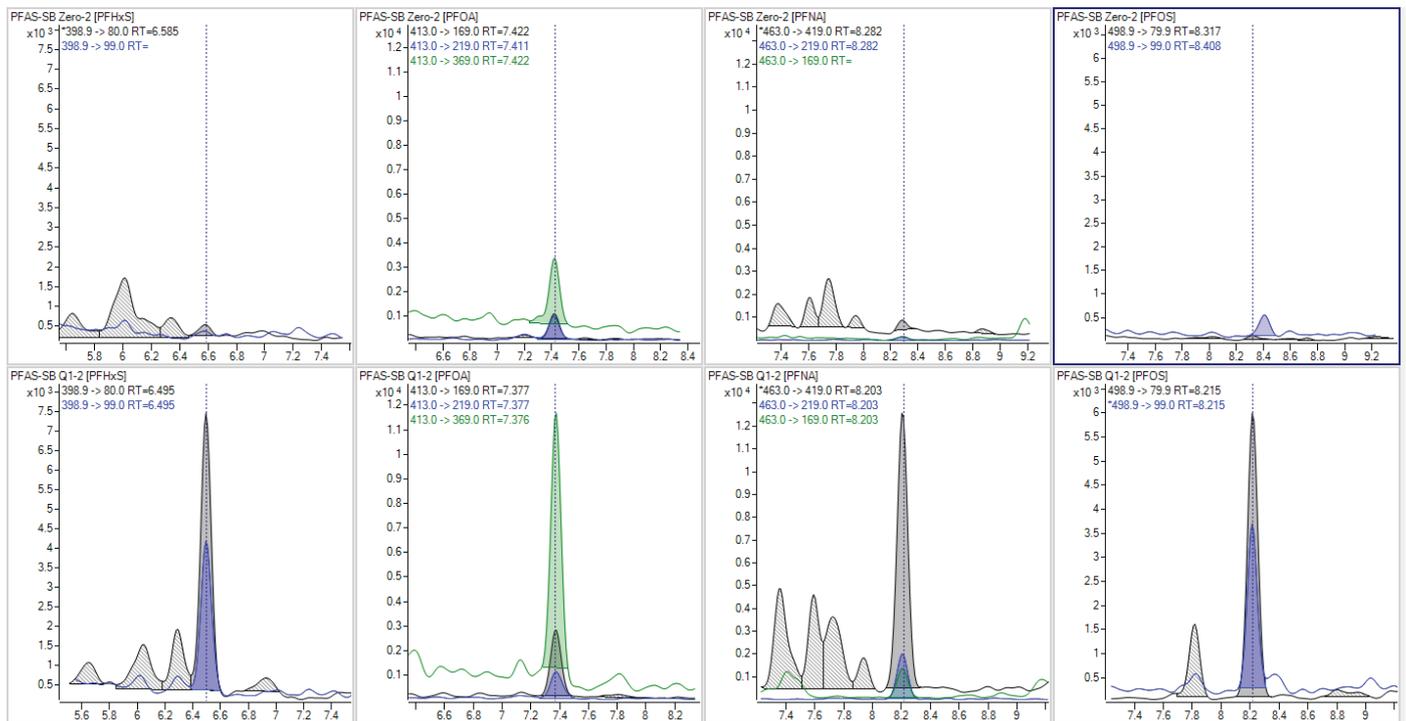


図 3. 大豆のマトリックスブランク (上) および LOQ (0.05 µg/kg) サンプル (下) の、主要な PFAS ターゲットのクロマトグラム：(左から右に) PFHxS, PFOA, PFNA, PFOS

## メソッドの真度と精度

飼料中の対応する ISTD ありの PFAS ターゲットの許容基準は、メソッド回収率が 65 ~ 135 %、メソッド再現性の RSD% が ≤ 25 % です。対応する同位体 ISTD なしの PFAS ターゲットの場合、この基準は回収率が 40 ~ 140 %、RSD% が ≤ 30 % です。図 4 の最終レポート用バリデーション結果には、大豆での 3 つの QC レベル (LOQ、中、高) が含まれており、乾燥大豆中の 30 種類の PFAS ターゲットすべてについて、メソッドの回収率と再現性が許容基準を満たしていることを示しています。

## 結論

大豆中の 30 種類の PFAS ターゲット用に、QuEChERS 抽出の後に Agilent Captiva EMR PFAS Food II カートリッジによる EMR ミックスモードパススルークリーンアップと LC/MS/MS 検出を使用する、シンプルで迅速かつ信頼性の高いメソッドを開発してバリデーションしました。許容性能を用いて、メソッドが AOAC SMPR 2023.003 に記載されている要件を満たすことを証明しました。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto: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。

DE99389632

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, June 1, 2024

5994-7371JAJP

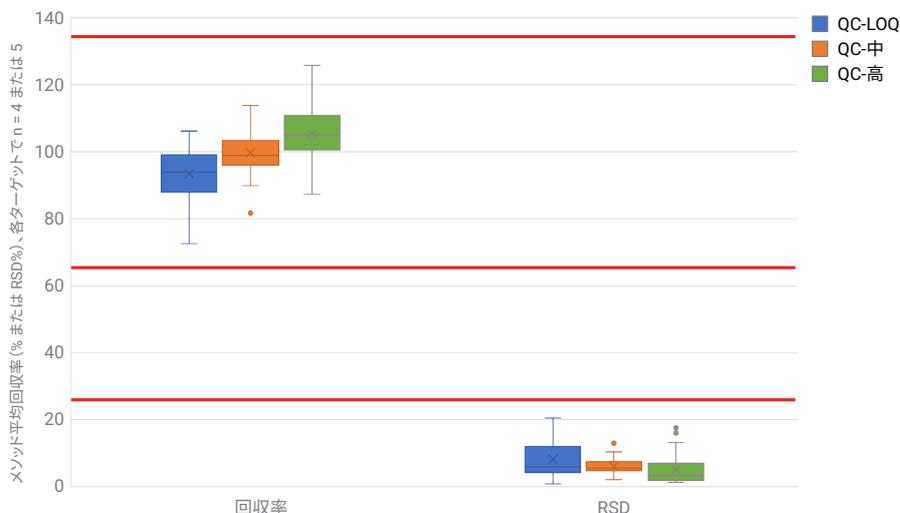


図 4. 乾燥大豆での PFAS 分析のメソッドバリデーションの回収率と再現性 (RSD%) のまとめ

## 参考文献

1. AOAC (2023) Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Produce, Beverages, Dairy Products, Eggs, Seafood, Meat Products, and Feed (AOAC SMPR 2023.003).
2. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. Determination of 30 Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Infant Formula, Milk, and Eggs Using Agilent Captiva EMR PFAS Food II Passthrough Cleanup and LC/MS/MS Detection, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-7366EN, 2024.