

## 7 有機ふっ素化合物の分析

白井裕治<sup>1</sup>, 沼寄佳奈子<sup>1</sup>, 秋元里乃<sup>1</sup>

**キーワード** 有機ふっ素化合物, PFOS, PFOA, 汚泥肥料, 液体クロマトグラフタンデム質量分析計

### 1. はじめに

有機ふっ素化合物(以下、「PFASs」という。また、個別の物質の名称は Table 1 に示す略号を用いる。)は、PFOS を含むペルフルオロアルキルスルホン酸(以下、「PFASs」という。), PFOA を含むペルフルオロアルキルカルボン酸(以下、「PFCAs」という。)等の総称であり、消火剤、洗剤等を始めとし、多用途に用いられてきた。これらは結合が強固であり、環境中で分解され難く、生態蓄積することが報告されている。下水処理場における流入水中の PFOS 及び PFOA はその工程において懸濁物や汚泥に移行することが報告<sup>1~3)</sup>されている。このことから、PFOS 及び PFOA の分析法を開発し、単一試験室の妥当性確認(以下、「SLV」という。)を実施した<sup>4)</sup>。SLV の検討に用いた肥料から直鎖体の PFOS 及び PFOA のみならず、分岐異性体の PFOS 及び PFOA が検出されたことから、共同試験による複数試験室の妥当性確認では、直鎖体の PFOS 及び PFOA の含有量のみならず、それらに分岐異性体の PFOS 及び PFOA の含有量を加えた合量(以下、「合量」という。)についても実施した<sup>5)</sup>。その結果、肥料等試験法<sup>6)</sup>の附属書 A の分析法の性能要件を満たしていることを確認した。

しかしながら、PFOS 及び PFOA 以外の PFASs のうち同様な用途で流通していた物質もあり<sup>7)</sup>、米国有害物質疾病登録局(ATSDR)の毒性プロファイル<sup>7)</sup>では、PFOS, PFOA, PFHxS, PFDA 及び PFUDa に発がん性があると示された。また、欧州では PFOS 及び PFOA の他に PFHxS, PFHxA, PFNA, PFDA, PFUDa, PFDa, PFTrDA, PFTeDA 等について規制する動きがある<sup>8~10)</sup>。

このことから、妥当性を確認した PFOS 及び PFOA の分析法(以下、「既報」という。)<sup>5)</sup>の試料溶液の調製操作を用いて PFASs のうち測定可能な成分を検討した。更に、適用可能であった PFASs の分析値並びに PFOS 及び PFOA の分岐鎖異性体を含む合量の分析値を取りまとめたのでその概要を報告する。

Table 1 List of PFASs included in the resent study

Component	Abbreviation	Carbon <sup>a)</sup>	Chemical formula
Perfluoroalkylsulfonic acids	PFASs		
Perfluorobutanesulfonic acid	PFBS	C4	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluoropentanesulfonic acid	PFPeS	C5	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluorohexanesulfonic acid	PFHxS	C6	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluoroheptanesulfonic acid	PFHpS	C7	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluorooctanesulfonic acid	PFOS	C8	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluorononanesulfonic acid	PFNS	C9	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluorodenesulfonic acid	PFDS	C10	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> SO <sub>3</sub> H
Perfluorododenesulfonic acid	PFDoS	C12	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> SO <sub>3</sub> H

a) Number of carbon

<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

Table 1 continued

Component	Abbreviation	Carbon <sup>a)</sup>	Chemical formula
Perfluoroalkylcarboxylic acids	PFCAs		
Perfluorobutanoic acid	PFBA	C4	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
Perfluoropentanoic acid	PFPeA	C5	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH
Perfluorohexanoic acid	PFHxA	C6	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
Perfluoroheptanoic acid	PFHpA	C7	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOH
Perfluorooctanoic acid	PFOA	C8	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
Perfluorononanoic acid	PFNA	C9	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Perfluorodecanoic acid	PFDA	C10	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH
Perfluoroundecanoic acid	PFUDA	C11	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> COOH
Perfluorododecanoic acid	PFDoA	C12	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
Perfluorotridecanoic acid	PFTTrDA	C13	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> COOH
Perfluorotetradecanoic acid	PFTeDA	C14	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
Perfluorohexadecanoic acid	PFHxDA	C16	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
Perfluorooctadecanoic acid	PFODA	C18	CF <sub>3</sub> (CF <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH

a) Number of carbon

## 2. 材料及び方法

### 1) 試料の収集及び調製

汚泥肥料 86 点及び乾燥菌体肥料 10 点を試験品とし、それぞれ 40 °C で約 70 時間乾燥した後、それぞれ超遠心粉砕機 (Retsch ZM 200) で 500 μm のスクリーンを通過するまで粉砕し、混合して分析用試料を調製した。分析用試料は、ポリエチレン製袋に入れて輪ゴムで密閉し、直射日光を避け、常温で保存した。

### 2) 装置及び器具

- (1) 液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC-MS/MS) : SHIMADZU LCMS-8045  
 分離用カラム: GL-Sciences InertSustain C18 (内径 2.1 mm, 長さ 150 mm, 粒径 3 μm)  
 ガードカラム: GL-Sciences Inertsil ODS-SP HP (内径 3.0 mm, 長さ 10 mm, 粒径 3 μm)  
 ディレイカラム: GL-Sciences Delay Column for PFAS (内径 3.0 mm, 長さ 10 mm)
- (2) 超音波発生器: Yamato 8510
- (3) 遠心分離機: KUBOTA テーブルトップ遠心機 4000
- (4) 超遠心分離機: AS ONE MCD-2000
- (5) 弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラム: GL-Sciences InertSep MA-2 500 mg/6 mL, Waters Oasis WAX 6 cc (500 mg), Waters Oasis WAX for PFAS Analysis 6 cc (500 mg), phenomenex Strata-XL-AW 500 mg/6 mL
- (6) グラファイトカーボンカートリッジカラム: GL-Sciences InertSep Slim GC 400 mg
- (7) マニホールド: GL-Sciences, WATERS
- (8) 濃縮器具: GL-Sciences 窒素吹き付け分岐ユニット
- (9) 試験管ミキサー: AS ONE 試験管ミキサー TRIO TM-2N
- (10) 目盛り付き試験管: GL-Sciences GL-SPE 7 mL 濃縮管 (0.5 mL&1.0 mL 標線付き)
- (11) 標準液保存用ねじ口容器: Labcon 15 mL ポリプロピレン製遠沈管メタルフリータイプ

(12) LC用バイアル: WATERS ポリプロピレン製バイアル(300  $\mu$ L), セプタムレスポリエチレン製ねじ口キャップ

(13) ポリプロピレン製ねじ口試験管: GL-Sciences 50 mL DigiTUBEs, GL-Sciences 15 mL DigiTUBEs

(14) ポリプロピレン製共栓遠心沈殿管: トレフ 1.5 mL クリックキャップチューブ ナチュラル

(15) パスツールピペット: CORNING ほうけい酸ガラス製パスツールピペット(146 mm), CORNING ほうけい酸ガラス製パスツールピペット(229 mm)

### 3) 試薬

(1) 水: 超純水製造装置(MILLIPORE 製 Milli-Q Integral 5)を用いて精製した超純水(比抵抗値 18 M $\Omega$ cm 以上)を使用した. JIS K 0557 に規定する A4 の水

(2) メタノール: 残留農薬・PCB 試験用(5000 倍濃縮)(富士フィルム和光純薬)

(3) メタノール(器具洗浄用): JIS K 8891 特級試薬(富士フィルム和光純薬)

(4) アセトニトリル(溶離液用): LC-MS 用試薬(富士フィルム和光純薬)

(5) アンモニア水: JIS K 8085 特級試薬(濃度(NH<sub>3</sub>)質量分率 28 %)(富士フィルム和光純薬)

(6) ぎ酸: JIS K 8264 特級試薬(濃度(HCOOH)質量分率 98 %以上)(関東化学)

(7) 酢酸アンモニウム溶液(1 mol/L): 高速液体クロマトグラフ用試薬.(富士フィルム和光純薬)

(8) 酢酸アンモニウム溶液(10 mmol/L): 酢酸アンモニウム溶液(1 mol/L)を水で 100 倍に希釈した.

(9) メタノール-水(1+1):(2)のメタノールの体積 1 と水の体積 1 とを混合した.

(10) アンモニア水-メタノール(1+100):(5)のアンモニア水の体積 1 と(2)のメタノールの体積 100 とを混合した.

(11) PFASs 標準液: PFAC-MXC (8 成分の PFASs 及び 13 成分の PFCAs 混合溶液, それらの成分及び濃度は Table 2 参照, 1.2 mL メタノール溶液)(WELLINGTON) 1 mL の PFAC-MXC を 10mL 全量フラスコに入れ, 標線までメタノールを加えて PFASs 標準溶液(200 ng/mL)を調製した.

(12) <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS 内標準液: MPFOS (Sodium perfluoro-1-[1,2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>]- octanesulfonate 1.2 mL)(WELLINGTON) 1 mL を 50 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノールを加えて <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS 内標準液(1  $\mu$ g/mL)を調製した.

(13) <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS 内標準液: M8PFOS (Sodium perfluoro-1-[<sup>13</sup>C<sub>8</sub>]- octanesulfonate 1.2 mL)(WELLINGTON) 1 mL を 50 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノールを加えて <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS 内標準液(1  $\mu$ g/mL)を調製した.

(14) <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA 内標準液: MPFOA (Perfluoro-n-[1,2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>]-octanoic acid 1.2 mL)(WELLINGTON) 1 mL を 50 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノールを加えて <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA 内標準液(1  $\mu$ g/mL)を調製した.

(15) <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA 内標準液: M8PFOA (Perfluoro-n-[<sup>13</sup>C<sub>8</sub>]-octanoic acid 1.2 mL)(WELLINGTON) 1 mL を 50 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノールを加えて <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA 内標準液(1  $\mu$ g/mL)を調製した.

(16) <sup>13</sup>C-混合内標準液: <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS 内標準液(1  $\mu$ g/mL) 10 mL, <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS 内標準液(1  $\mu$ g/mL) 10 mL, <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA 標準液(1  $\mu$ g/mL) 10 mL 及び <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA 内標準液(1  $\mu$ g/mL) 10 mL を 50 mL 全量フラスコにとり混合し, 標線までメタノールを加えて <sup>13</sup>C-混合内標準液(200 ng/mL)を調製した.

(17) 検量線用混合標準液(0.1 ng/mL~50 ng/mL): PFASs 標準液(200 ng/mL)を水で希釈して

PFASs 標準液 (100 ng/mL) を調製し, PFASs 標準液 (100 ng/mL) をメタノール-水 (1+1) で 10 倍及び 100 倍に希釈し, PFASs 標準液 (10 ng/mL) 及び (1 ng/mL) を調製した.  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (200 ng/mL) 2.5 mL を 25 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノール-水 (1+1) を加えて混合内標準液 (20 ng/mL) を調製した.

PFASs 標準液 (100 ng/mL) の 1 mL, 2 mL 及び 5 mL を 10 mL 全量フラスコに段階的にとり,  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (20 ng/mL) 1 mL をそれぞれ加え, 標線までメタノール-水 (1+1) を加えた. PFASs 標準液 (10 ng/mL) の 1 mL, 2 mL 及び 5 mL を 10 mL 全量フラスコに段階的にとり,  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (20 ng/mL) 1 mL を加え, 標線までメタノール-水 (1+1) をそれぞれ加えた. PFASs 標準液 (1 ng/mL) の 1 mL, 2 mL 及び 5 mL を 10 mL 全量フラスコに段階的にとり,  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (20 ng/mL) 1 mL をそれぞれ加え, 標線までメタノール-水 (1+1) を加えた.

(18) 分析試料添加用  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液:  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (200 ng/mL) 10 mL を 100 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノールを加えて分析試料添加用  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (20 ng/mL) を調製した. 分析試料添加用  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (20 ng/mL) 5 mL を 50 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノールを加えて試験検討用  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液 (2 ng/mL) を調製した.

(19) 試験検討用 PFASs 標準液: PFASs 標準液 (200 ng/mL) を 2 倍, 20 倍及び 100 倍にメタノールで希釈し, 試験検討用 PFASs 標準液 (100 ng/mL, 10 ng/mL 及び 2 ng/mL) を調製した. 試験検討用 PFASs 標準液 (100 ng/mL) 1 mL を 100 mL 全量フラスコにとり, 標線までメタノール-水 (1+1) を加えて試験検討用 PFASs 標準液 (1 ng/mL) を調製した (精製操作の検討用).

なお, 上記 (11) ~ (19) の標準液は, ねじ口試験管 (ポリプロピレン製) に移し入れ, 検討期間中 8 °C 以下で保管した.

Table 2 Components of PFASs standard solution and their concentrations

Abbreviation	PFASs			PFCAs	
	Concentration (ng/mL)		coefficient (Acid/Salt)	Concentration (ng/mL)	
	as salt	as acid		Abbreviation	as acid
PFBS	2000	1770	0.885	PFBA	2000
PFPeS	2000	1880	0.940	PFPeA	2000
PFHxS	2000	1900	0.950	PFHxA	2000
PFHpS	2000	1910	0.955	PFHpA	2000
PFOS	2000	1920	0.960	PFOA	2000
PFNS	2000	1920	0.960	PFNA	2000
PFDS	2000	1930	0.965	PFDA	2000
—	—	—	—	PFUdA	2000
PFDoS	2000	1940	0.970	PFDoA	2000
—	—	—	—	PFTriDA	2000
—	—	—	—	PFTeDA	2000
—	—	—	—	PFHxDA	2000
—	—	—	—	PFODA	2000

#### 4) 分析操作

##### (1) 抽出

分析試料 2.00 g をはかりとって 50 mL ねじ口試験管(A)に入れ, 分析試料添加用  $^{13}\text{C}$ -混合内標準液(20 ng/mL)1 mL を加えた. 更に, メタノール 15 mL 及びぎ酸 0.1 mL を加え, 超音波発生器を用いて 20 分間超音波処理し, 遠心力約  $1700\times g$  で約 5 分間遠心分離し, 上澄み液を 50 mL ねじ口試験管(B)に移した. さらに, この操作を 2 回繰返し, 上澄み液をねじ口試験管(B)に加えた. 50 mL ねじ口試験管(B)の目盛までメタノールを加え, 抽出液とした.

##### (2) クリーンアップ

弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムを予めアンモニア水-メタノール(1+100)約 5 mL, メタノール約 5 mL 及びメタノール-水(1+1)約 5 mL で順次洗浄した. また, グラファイトカーボンカートリッジカラムを予めメタノール約 5 mL で洗浄した.

抽出液 5 mL を 15 mL ねじ口試験管(C)にとり, 水 5 mL を加えて振り混ぜ(浮遊物又は沈降物がある場合は遠心力約  $1700\times g$  で約 5 分間遠心分離), 弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムに負荷し, 液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた. ねじ口試験管(C)をメタノール-水(1+1)約 5 mL で洗浄し, 洗液を同じカラムに負荷し, 液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた. 更にメタノール約 5 mL を 2 回弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムに加え, 液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた. グラファイトカーボンカートリッジカラムを弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムの下に連結し, アンモニア水-メタノール(1+100)2 mL を加え, 液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた. 目盛付き試験管(D)をカートリッジカラムの下に置き, アンモニア水-メタノール(1+100)4 mL をカートリッジカラムに加えて PFOS, PFOA 及びそれらの内標準物質を溶出させた.

窒素ガスを溶出液に穏やかに吹き付け, 0.5 mL の目盛まで濃縮し, 水約 0.4 mL を加え, 試験管ミキサーで振り混ぜ, 更に 1 mL の目盛まで水を加え, 試験管ミキサーで振り混ぜ, 1.5 mL 共栓遠心沈殿管(E)に入れた. 遠心力  $8000\times g$  で約 5 分間遠心分離し, 上澄み液を試料溶液とした. 概要を Scheme 1-1 及び Scheme 1-2 に示した.

#### 5) 測定

各検量線用混合標準液及び試料溶液を LC-MS/MS に注入し, Table 3-1 及び Table 3-2 の測定条件に従って各イオンの選択反応検出(MRM: Multiple Reaction Monitoring)クロマトグラムを記録し, それぞれのピーク面積を求めた. 各成分とそれらの内標準物質の定量用イオンのピーク面積比を算出した. 各検量線用混合標準液の各成分の濃度と求めたピーク面積比の重み付け( $1/x^2$ )検量線を作成し, 試料溶液中の各成分の濃度を求め, 分析試料中の各成分の濃度を算出した.

各検量線用混合標準液及び試料溶液の各成分とそれらの内標準物質の定量用イオンと確認用イオンのピーク面積比を算出して比較した.

Table 3-1 Operating conditions of LC-MS/MS

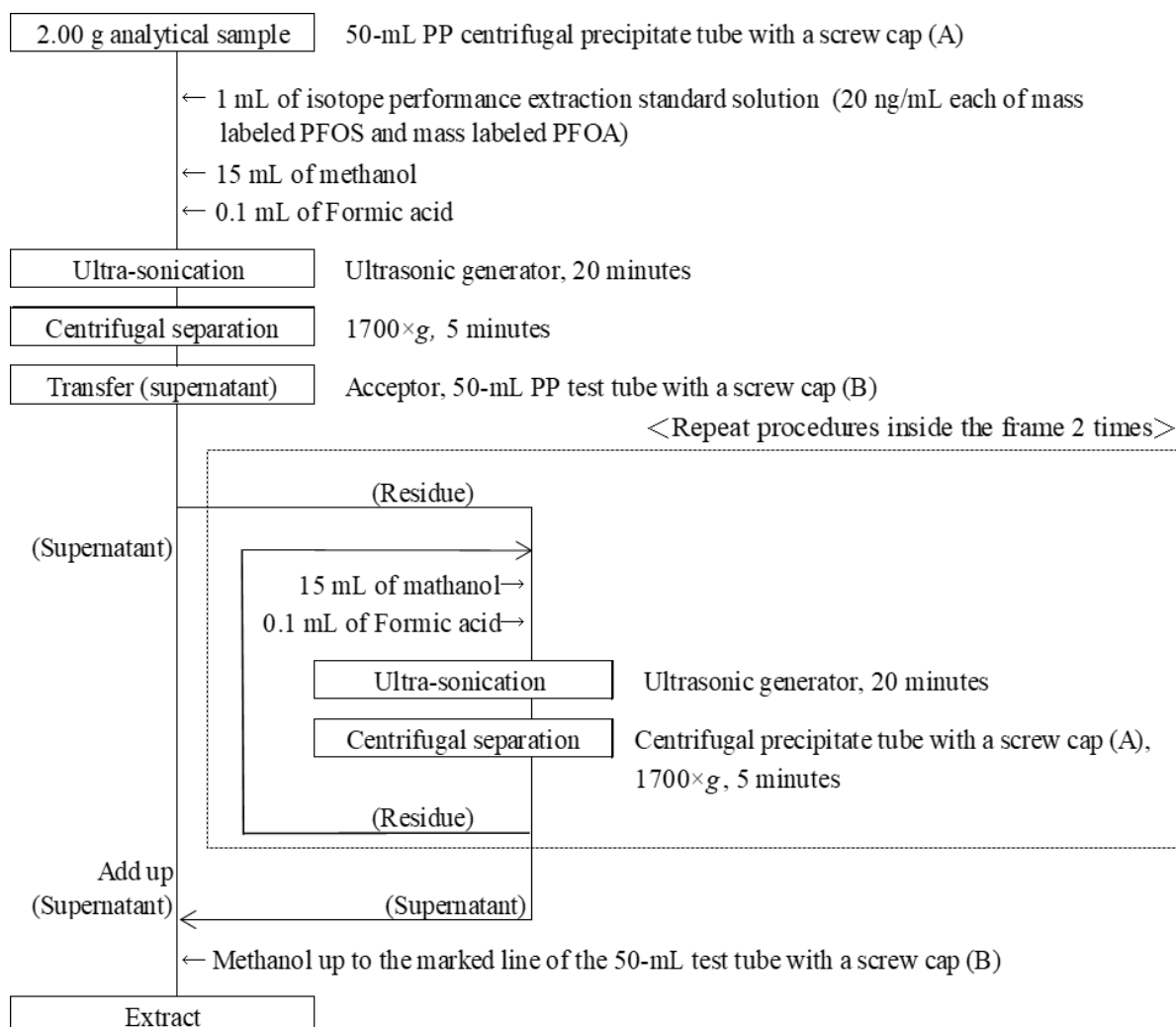
[HPLC conditions] SHIMADZU Nexera Series	
Delay column: Delay Column for PFAS (3.0 mm I.D., 10 mm L)	
Guard column: Cartridge Guard Column E Inertsil (3.0 mm I.D., 10 mm L, 3 μm)	
Analytical column: InertSustain C18 (2.1 mm I.D., 150 mm L, 3 μm)	
Mobile phase (A): A: 10 mmol/L ammonium acetate solution B: Acetonitrile	
Gradient program: 0 min (20 %B)→2.0 min (20 %B)→15 min (100 %B)→ 16 min (100 %B)→16.1 min (20 %B)→21 min (20 %B)	
Flow rate: 0.3 mL/min	
Column temperature: 40 °C	
Injection volume: 5 μL	
[MS conditions] SHIMADZU LCMS-8045	
Ionization: Electrospray ionization (ESI)	
Mode: Positive	
Probe voltage: -1 kV	
DL temperature: 200 °C	
Heat block temperature: 300 °C	
Interface temperature: 300 °C	
Nebulizing gas flow: 3 L/min	
Drying gas flow: 5 L/min	
Heating gas flow: 15 L/min	

Table 3-2 MRM parameters for detection of PFASs

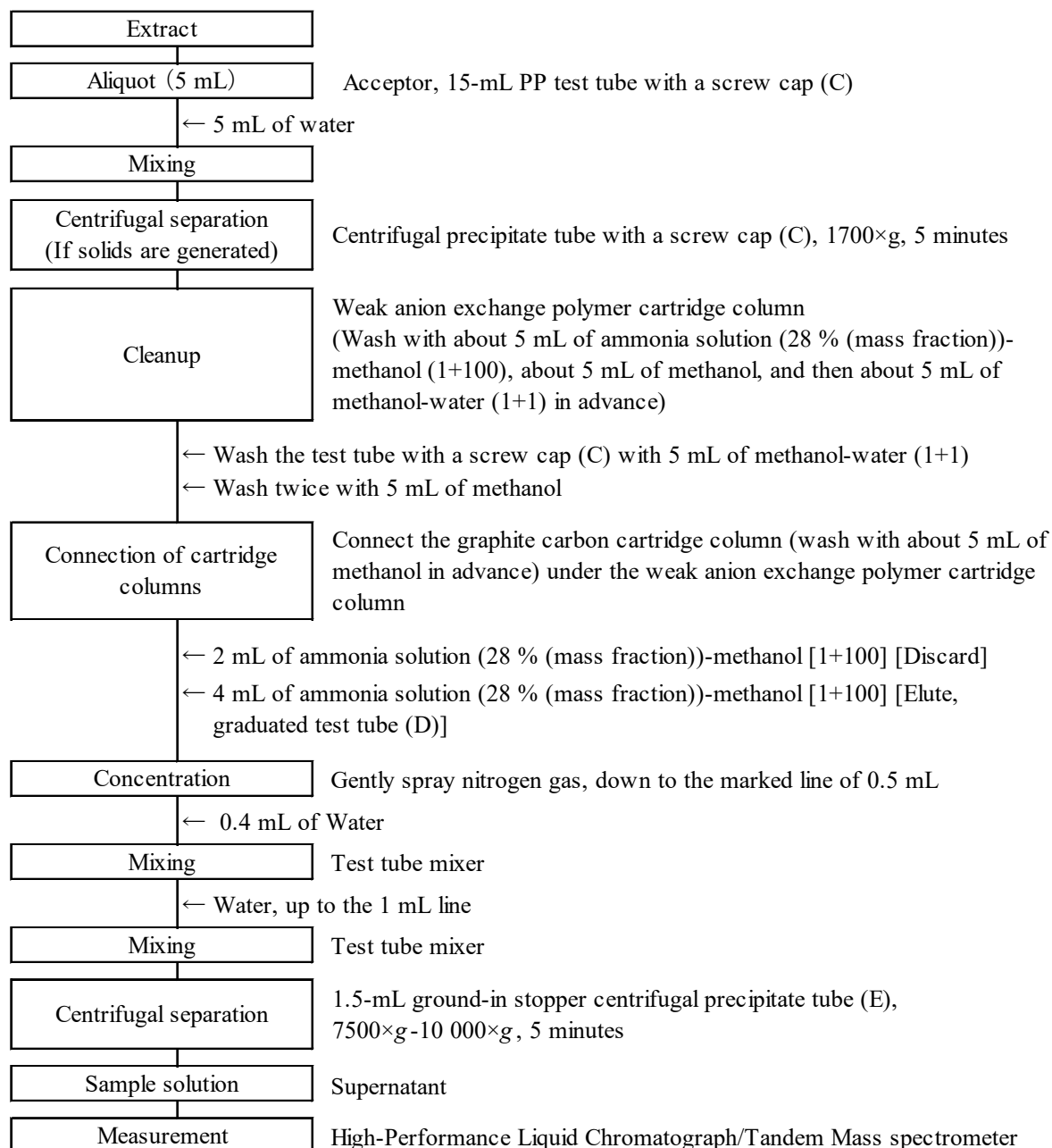
Abbreviation	For determination			For validation		
	Precursor ion <i>m/z</i>	Product ion <i>m/z</i>	Collision energy (eV)	Precursor ion <i>m/z</i>	Product ion <i>m/z</i>	Collision energy (eV)
PFBS	298.9	80	33	298.9	99.0	28
PFPeS	348.9	80	44	348.9	98.9	33
PFHxS	399	80	44	399.0	99.0	35
PFHpS	448.9	80	51	448.9	98.9	38
PFOS	498.8	80	54	498.8	98.9	44
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOS	502.8	80	52	502.8	98.9	45
<sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOS	506.8	80	54	506.8	99.0	46
PFNS	548.9	80	55	548.9	99.0	46
PFDS	598.9	80	55	598.9	99.0	51
PFDoS	698.9	80	55	698.9	98.9	55
PFBA	212.9	169	10	—	—	—
PFPeA	262.9	219	8	—	—	—
PFHxA	312.9	269	8	312.9	119.0	19
PFHpA	362.9	319	9	363.0	169.0	16
PFOA	413	169	18	412.8	369.0	10
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOA	416.9	169	18	416.8	372.0	10
<sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOA	420.9	172	19	421.1	376.0	9

Table 3-2 continued

Abbreviation	For determination			For validation		
	Precursor	Product	Collision	Precursor	Product	Collision
	ion <i>m/z</i>	ion <i>m/z</i>	energy (eV)	ion <i>m/z</i>	ion <i>m/z</i>	energy (eV)
PFNA	463	419	10	463.0	219.0	17
PFDA	512.9	468.9	11	512.9	269.0	18
PFUdA	562.9	518.9	12	562.9	269.0	18
PFDoA	612.9	569.1	12	612.9	169.1	26
PFTTrDA	662.9	618.9	13	662.9	169.0	28
PFTeDA	712.9	668.9	14	712.9	169.1	30
PFHxDA	812.8	768.9	15	812.8	219.0	27
PFOdA	912.8	868.8	16	912.8	219.0	32



Scheme 1-1 Flow sheet for PFASs in sludge fertilizers (Extraction procedure)



Scheme 1-2 Flow sheet for PFASs in sludge fertilizers (Cleanup and measurement procedures)

### 3. 結果及び考察

#### 1) LC-MS/MS の測定条件の検討

PFASs の分離のために既報<sup>5)</sup>で検討した分離カラム等を用い、グラジエント等の LC 条件は使用した分離カラムのアプリケーション<sup>11)</sup>を参考に設定し、また、MS/MS のイオン化法、イオン化モード等は既報の条件を用いた (Table 3-1) . <sup>13</sup>C 標識及び非標識の PFOS 並びに PFOA は既報で最適化したモニターイオンを用いた. その他の成分のモニターイオンについては、LC-MS/MS (SHIMADZU LCMS-8050) のアプリケーション<sup>12)</sup>を参考に設定し、更に PFASs 標準液 (200 ng/mL) を用いて、それぞれの成分の最適化を実施して測定条件を Table 3-2 のとおり作成した.

検量線用混合標準液 (50 ng/mL) 及び試料溶液 (汚泥肥料) について 2. 4) (3) に従って測定して得ら



れたクロマトグラムを Fig. 1-1 及び Fig. 1-2 に示した. PFOS 及び PFOA の直鎖体のピークの保持時間は約 11.65 分及び約 9.82 分で, 試料溶液では PFOS 及び PFOA の分岐異性体のピークを分離できた.

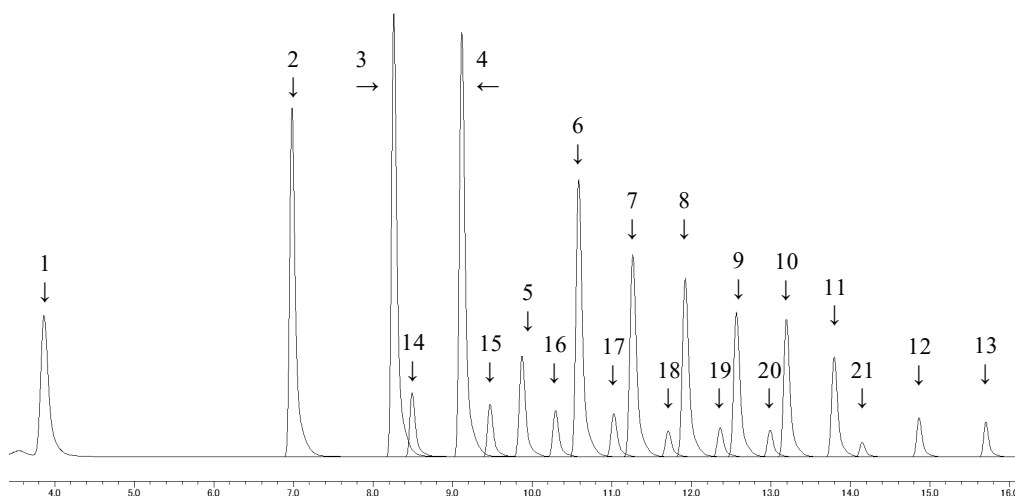


Fig 1-1 MRM chromatogram of PFASs in a mixed standard solution, with each PFAS at 50 ng/mL

Peak position (↓→←)

1. PFBA 2. PFPeA 3. PFHxA 4. PFHpA 5. PFOA 6. PFNA 7. PFDA 8. PFUdA
9. PFDaA 10. PFTrDA 11. PFTeDA 12. PFHxDA
13. PFODA 14. PFBS 15. PFPeS 16. PFHxS 17. PFHpS 18. PFOS 19. PFNS
20. PFDS 21. PFDoS

Condition of LC-MS/MS As shown in Table 3-1 and Table 3-2.

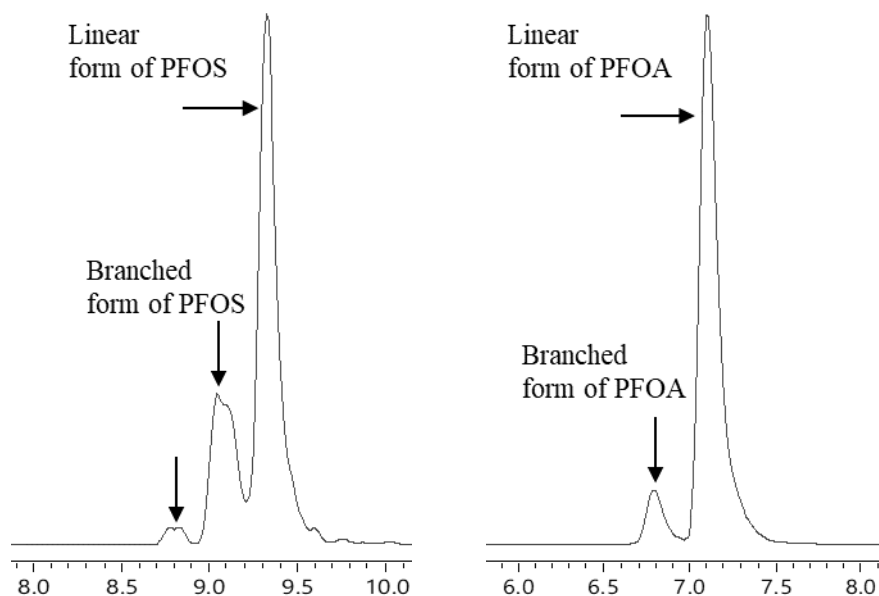


Fig 1-2 MRM chromatograms of PFOS and PFOA in a sample solution extracted Sludge fertilizer

Condition of LC-MS/MS As shown in Table 3-1 and Table 3-2.

各検量線用混合標準液(PFASsとして0.5 ng/mL~50 ng/mL含有,  $^{13}\text{C}_4$ -PFOS,  $^{13}\text{C}_8$ -PFOS,  $^{13}\text{C}_4$ -PFOA

及び  $^{13}\text{C}_8$ -PFOA として各 2 ng/mL 含有)について 2 回測定し, 8 成分の PFASs は  $^{13}\text{C}_4$ -PFOS 又は  $^{13}\text{C}_8$ -PFOS に対するピーク面積比, また, 13 成分の PFCAs は  $^{13}\text{C}_4$ -PFOA 又は  $^{13}\text{C}_8$ -PFOA ピーク面積比をもとめ<sup>13)</sup>, 各 PFASs 濃度とそれら面積比の重み付け ( $1/x^2$ ) 検量線を作成し, その回帰式の係数及び決定係数を Table 4 に示した. その結果, PFDoS, PFHxDA 及び PFODA を除く PFASs の 18 成分の検量線のパラメータは肥料等試験法 (2021)<sup>6)</sup> 附属書 A に示されている基準を満たしていた. なお, 参考のため, PFOS 及び PFOA の濃度 - 内標準ピーク面積比の検量線を Fig. 2-1 及び Fig. 2-2 に示し, それらの標準残差を Fig. 3-1 及び Fig. 3-2 に示した.

Table 4 Calibration Curve

Analytes		Isotope abbreviation <sup>a)</sup>	Linear equation <sup>b)</sup>		Confidence interval of $a$ <sup>c,d)</sup>		Coefficient of determination <sup>e)</sup> $r^2$
Abbreviation	Range (ng/mL)		Inclination $b$	Intercept $a$	Lower limit	Upper limit	
PFBS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.852	0.008	-0.018	0.033	0.997
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.949	0.001	-0.028	0.030	0.997
PFPeS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.655	-0.005	-0.030	0.020	0.993
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.727	-0.008	-0.036	0.020	0.993
PFHxS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.583	0.001	-0.023	0.026	0.991
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.647	0.000	-0.028	0.027	0.991
PFHpS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.593	0.015	-0.009	0.039	0.994
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.659	0.014	-0.013	0.040	0.994
PFOS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.425	-0.012	-0.018	0.006	0.998
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.454	-0.003	-0.019	0.013	0.994
PFNS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.477	-0.008	-0.021	0.005	0.996
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.529	-0.010	-0.026	0.065	0.999
PFDS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.422	0.009	-0.004	0.022	0.995
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.467	0.009	-0.002	0.015	0.999
PFDoS	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	0.229	-0.002	-0.021	0.016	0.969
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	0.254	-0.003	-0.023	0.017	0.970
PFBA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.337	-0.003	-0.013	0.007	0.995
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.293	-0.004	-0.015	0.007	0.993
PFPeA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.695	0.002	-0.015	0.019	0.997
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.603	-0.001	-0.017	0.016	0.996
PFHxA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.844	0.007	-0.015	0.029	0.997
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.732	0.003	-0.022	0.028	0.994
PFHpA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.860	0.013	-0.007	0.033	0.997
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.745	0.008	-0.003	0.019	0.999
PFOA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.518	0.002	-0.009	0.013	0.998
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.450	0.000	-0.012	0.011	0.997
PFNA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.606	0.014	-0.005	0.033	0.995
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.450	0.000	-0.012	0.011	0.997

a) Calibration standard solution containing 2 ng as each isotope performance PFOS and PFOA

b) Linear equation  $y=bx+a$

c) Confidence interval 95%

d) Recommended criteria shown in Testing Methods for Fertilizers (2021) (lower limit  $\leq 0 \leq$  upper limit)

e) Coefficient of determination usable as calibration curve shown in Testing Methods for Fertilizers (2021) ( $r^2 \geq 0.99$ )

f) Unable to create calibration curve

Table 4 continued

Analytes		Isotope abbreviation <sup>a)</sup>	Linear equation <sup>b)</sup>		Confidence interval of $a$ <sup>c,d)</sup>		Coefficient of determination <sup>e)</sup> $r^2$
Abbreviation	Range (ng/mL)		Inclination $b$	Intercept $a$	Lower limit	Upper limit	
PFDA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.495	0.013	-0.004	0.031	0.994
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.524	0.009	0.000	0.017	0.999
PFUdA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.446	0.016	-0.007	0.038	0.990
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.390	0.011	-0.003	0.026	0.994
PFDoA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.406	0.014	-0.001	0.029	0.993
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.351	0.010	-0.002	0.018	0.997
PFTrDA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.300	0.007	-0.005	0.018	0.993
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.258	0.005	-0.002	0.011	0.997
PFTeDA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	0.228	-0.004	-0.014	0.007	0.990
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	0.197	-0.004	-0.011	0.003	0.994
PFHxDA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	— <sup>f)</sup>	—	—	—	—
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	—	—	—	—	—
PFODA	0.1 - 50	$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	—	—	—	—	—
		$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	—	—	—	—	—

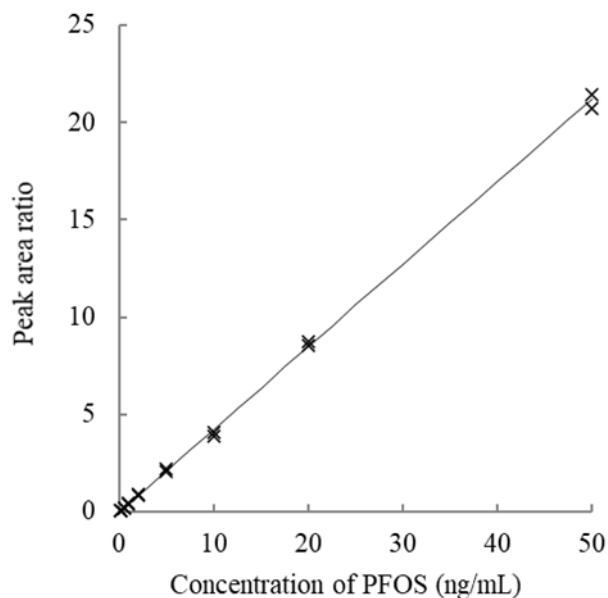


Fig. 2-1 PFOS calibration curve

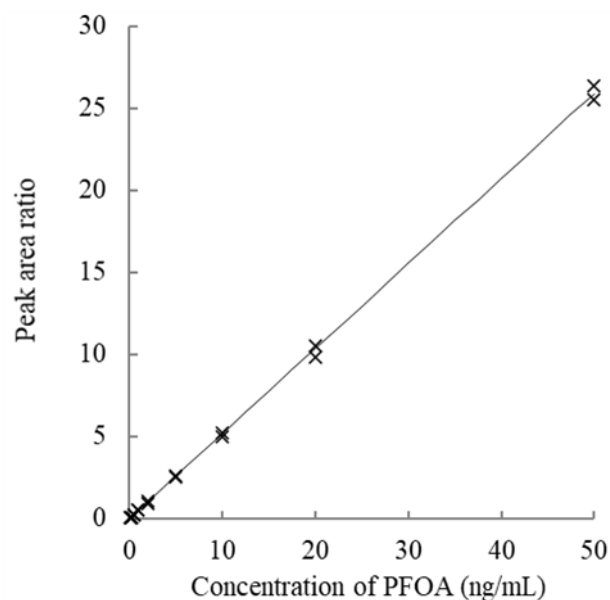


Fig. 2-2 PFOA calibration curve

×: Plot of peak area ratio of native to isotope performance analyte at each native analyte concentration (Concentration of isomer performance analytes: Each 2 ng/mL)

Solid line: Regression line

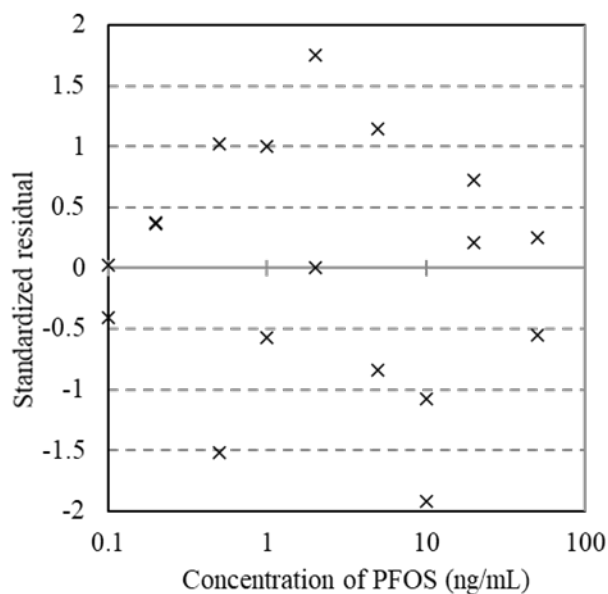


Fig.3-1 Evaluation of PFOS calibration curve

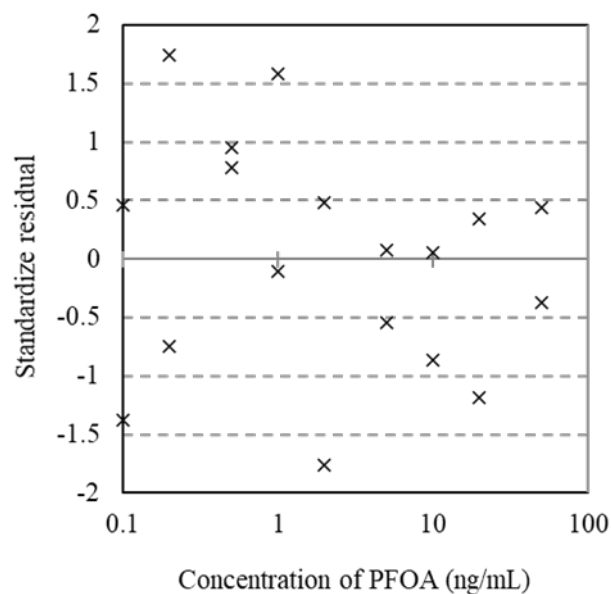


Fig.3-2 Evaluation of PFOA calibration curve

×: Plot of the standardized residual of peak area ratio at each native analyte concentration

## 2) 精製操作の検討

筆者らは、既報<sup>5)</sup>と同様に、ルアーデバイス型のグラファイトカーボンカートリッジカラム (InertSep Slim GC) を用いて、弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムの下に連結して使用し、PFOS 及び PFOA の溶出する画分について PFASs を測定した。

PFASs 濃度が各 1 ng/mL となるように調製したメタノール-水 (1+1) 溶液 10 mL を **2.4)** (2) クリーンアップの操作に用いる 4 種類の弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラム (InertSep MA-2, Oasis WAX, Oasis WAX for PFAS Analysis, Strata-XL-AW) にそれぞれ負荷し、以下同様にメタノール-水 (1+1) 及びメタノール 10 mL での洗浄操作をした。グラファイトカーボンカートリッジカラムを連結した後、溶出溶媒 1 mL を 8 回それぞれのカラムに加え、各流出液をそれぞれの濃縮管にとった。

各流出液に試験検討用 <sup>13</sup>C-混合内標準液 (2 ng/mL) 1 mL を加え、濃縮及び水による希釈をして試料液とし、18 成分の PFASs を測定した。その結果、Table 5 のとおり、各 PFASs は流出画分 0 mL~2 mL では溶出せず、流出画分 2 mL~6 mL で溶出した。PFTTrDA 及び PFTTeDA を除く 16 成分の PFASs の回収率は、72.3 %~119.7 %であった。PFTTrDA 及び PFTTeDA の回収率は 70 %未満であったので今後の検討からは外すこととした。

Table 5 Elution pattern of PFASs<sup>a)</sup> from the cleanup column<sup>b)</sup>

Abbreviation	The name of the cleanup column at the top <sup>c)</sup>	Elution amount of PFASs (ng)								Total <sup>d)</sup>	Recovery (%)
		Fraction volume (mL)									
		0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8		
PFBS	InertSep MA-2	— <sup>e)</sup>	—	—	7.4	1.4	—	—	—	8.8	88.0
	Oasis WAX	—	—	—	0.3	8.5	0.5	—	—	9.3	92.8
	Oasis WAX(P) <sup>f)</sup>	—	—	—	0.7	7.1	2.5	—	—	10.3	103.4
	Strata-XL-AW	—	—	1.8	7.0	0.2	—	—	—	9.0	89.9
PFPeS	InertSep MA-2	—	—	0.2	8.1	1.3	0.1	—	—	9.7	97.1
	Oasis WAX	—	—	0.5	8.9	0.5	—	—	—	10.0	100.0
	Oasis WAX(P)	—	—	0.9	8.4	1.9	0.1	—	—	11.4	114.2
	Strata-XL-AW	—	—	2.5	7.3	0.2	—	—	—	9.9	99.0
PFHxS	InertSep MA-2	—	—	0.3	8.5	1.1	—	—	—	9.9	99.0
	Oasis WAX	—	—	1.0	8.5	0.5	—	—	—	10.1	100.6
	Oasis WAX(P)	—	—	0.7	8.9	1.1	—	—	—	10.7	106.9
	Strata-XL-AW	—	—	2.7	6.7	0.1	—	—	—	9.6	95.8
PFHpS	InertSep MA-2	—	—	0.4	8.4	0.8	—	—	—	9.7	97.0
	Oasis WAX	—	—	1.7	7.9	—	—	—	—	9.6	96.0
	Oasis WAX(P)	—	—	0.5	8.3	0.8	—	—	—	9.6	96.3
	Strata-XL-AW	—	—	2.9	6.4	—	—	—	—	9.3	93.2
PFOS	InertSep MA-2	—	—	0.7	7.9	0.8	—	—	—	9.4	93.8
	Oasis WAX	—	—	2.4	7.0	0.1	—	—	—	9.6	95.6
	Oasis WAX(P)	—	—	0.7	8.3	0.4	—	—	—	9.3	93.3
	Strata-XL-AW	—	—	2.8	6.1	0.1	—	—	—	9.1	91.0
PFNS	InertSep MA-2	—	—	0.8	8.4	0.6	—	—	—	9.8	98.1
	Oasis WAX	—	—	3.0	6.0	0.1	—	—	—	9.1	91.0
	Oasis WAX(P)	—	—	1.0	7.7	0.5	—	—	—	9.2	91.8
	Strata-XL-AW	—	—	3.1	5.8	0.2	—	—	—	9.0	90.3
PFDS	InertSep MA-2	—	—	1.0	8.1	0.5	—	—	—	9.5	95.0
	Oasis WAX	—	—	3.1	5.8	—	—	—	—	8.9	88.8
	Oasis WAX(P)	—	—	1.2	7.2	0.4	—	—	—	8.8	88.0
	Strata-XL-AW	—	—	2.7	5.7	0.1	—	—	—	8.4	84.5
PFBA	InertSep MA-2	—	—	1.6	8.3	—	—	—	—	9.9	98.6
	Oasis WAX	—	—	3.0	7.9	—	—	—	—	10.9	109.1
	Oasis WAX(P)	—	—	1.4	8.9	1.6	—	—	—	12.0	119.7
	Strata-XL-AW	—	—	3.1	6.5	—	—	—	—	9.7	96.5
PFPeA	InertSep MA-2	—	—	2.3	6.7	—	—	—	—	9.0	89.9
	Oasis WAX	—	—	4.0	5.8	—	—	—	—	9.9	98.6
	Oasis WAX(P)	—	—	2.1	7.8	1.3	—	—	—	11.2	112.2
	Strata-XL-AW	—	—	3.5	5.5	—	—	—	—	8.9	89.4

a) Each PFASs was loaded with 20 ng.

b) Cleanup column with the graphite carbon cartridge column (InertSep Slim GC) connected under the anion exchange polymer cartridge column

c) The anion exchange polymer cartridge column

d) Total amount of PFASs eluted from 2 mL to 6 mL

e) Less than the lower limit (0.1 ng / mL) of calibration curve

f) Oasis WAX for PFASs Analysis

Table 5 Continued

Abbreviation	The name of the cleanup column at the top <sup>c)</sup>	Elution amount of PFASs (ng)								Total <sup>d)</sup>	Recovery (%)
		Fraction volume (mL)									
		0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8		
PFHxA	InertSep MA-2	—	—	3.3	5.8	—	—	—	—	9.1	91.1
	Oasis WAX	—	—	5.0	4.8	—	—	—	—	9.8	98.2
	Oasis WAX(P)	—	—	3.1	7.2	1.1	—	—	—	11.3	113.3
	Strata-XL-AW	—	—	3.9	4.9	—	—	—	—	8.8	88.2
PFHpA	InertSep MA-2	—	—	4.1	5.0	—	—	—	—	9.1	91.3
	Oasis WAX	—	—	6.0	4.0	—	—	—	—	10.0	99.7
	Oasis WAX(P)	—	—	3.7	6.5	0.5	—	—	—	10.7	107.1
	Strata-XL-AW	—	—	4.2	4.7	—	—	—	—	8.9	89.4
PFOA	InertSep MA-2	—	—	4.8	4.4	—	—	—	—	9.2	91.8
	Oasis WAX	—	—	6.4	3.5	—	—	—	—	9.9	99.1
	Oasis WAX(P)	—	—	4.2	5.3	—	—	—	—	9.5	94.9
	Strata-XL-AW	—	—	4.2	4.3	—	—	—	—	8.5	84.8
PFNA	InertSep MA-2	—	—	5.1	3.7	—	—	—	—	8.8	87.8
	Oasis WAX	—	—	6.6	2.8	—	—	—	—	9.4	94.5
	Oasis WAX(P)	—	—	4.2	4.5	—	—	—	—	8.7	87.0
	Strata-XL-AW	—	—	4.4	4.3	—	—	—	—	8.7	87.2
PFDA	InertSep MA-2	—	—	5.5	3.6	—	—	—	—	9.1	91.3
	Oasis WAX	—	—	6.9	2.6	—	—	—	—	9.6	95.5
	Oasis WAX(P)	—	—	4.6	4.2	—	—	—	—	8.9	88.5
	Strata-XL-AW	—	—	4.4	4.0	—	—	—	—	8.4	83.9
PFUdA	InertSep MA-2	—	—	5.4	3.3	—	—	—	—	8.8	87.6
	Oasis WAX	—	—	7.0	2.3	—	—	—	—	9.3	92.7
	Oasis WAX(P)	—	—	4.5	3.9	—	—	—	—	8.4	83.9
	Strata-XL-AW	—	—	4.3	3.8	—	—	—	—	8.1	81.0
PFDoA	InertSep MA-2	—	—	4.3	3.0	—	—	—	—	7.2	72.3
	Oasis WAX	—	—	5.7	1.9	—	—	—	—	7.6	75.9
	Oasis WAX(P)	—	—	4.0	3.3	—	—	—	—	7.4	73.7
	Strata-XL-AW	—	—	3.7	3.7	—	—	—	—	7.4	74.0
PFTTrDA	InertSep MA-2	—	—	2.5	3.0	—	—	—	—	5.5	54.7
	Oasis WAX	—	—	3.7	1.8	—	—	—	—	5.5	54.8
	Oasis WAX(P)	—	—	3.2	3.1	—	—	—	—	6.3	63.4
	Strata-XL-AW	—	—	3.0	3.8	—	—	—	—	6.8	67.7
PFTeDA	InertSep MA-2	—	—	—	2.9	—	—	—	—	2.9	29.0
	Oasis WAX	—	—	0.7	2.1	—	—	—	—	2.8	28.1
	Oasis WAX(P)	—	—	0.9	2.8	—	—	—	—	3.7	37.3
	Strata-XL-AW	—	—	0.7	3.5	—	—	—	—	4.2	41.9

### 3) 添加回収試験による真度の評価及び定量下限等の推定

真度を評価するため、汚泥肥料にそれぞれ 1 µg/kg, 5 µg/kg 及び 50 µg/kg 相当量を添加した試料を用い、4 種類の弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムについて 3 点併行でそれぞれ添加回収試験を実施した結果を Table 6 に示した。

その結果、3.2) で満足する結果が得られた 16 成分の PFASs の平均回収率は、1 µg/kg～50 µg/kg の

範囲で 65.2 %~124.8 %であり、いずれも肥料等試験法(2021)<sup>6)</sup>に示されている真度の目標範囲以内であった。

Table 6 Result of recovery test

Analytes		InertSep MA-2		Oasis WAX		Oasis WAX (P) <sup>a)</sup>		Strata-XL-AW	
Abbreviation	Concentration <sup>b)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Mean <sup>c)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery <sup>d)</sup> (%)	Mean ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)	Mean ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)	Mean ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)
PFBS	50	47.5	95.1	50.6	101.1	49.2	98.5	48.3	96.6
	5	4.87	97.3	4.68	93.6	4.79	95.8	5.10	102.1
	1	0.74	73.6	0.84	84.0	0.91	91.0	0.86	86.1
PFPeS	50	47.3	94.5	54.6	109.2	53.3	106.6	51.5	103.0
	5	4.95	99.0	5.12	102.4	5.19	103.8	5.44	108.9
	1	0.73	72.7	0.66	66.3	0.89	89.3	0.86	86.2
PFHxS	50	49.6	99.1	53.6	107.1	52.5	105.0	49.9	99.9
	5	5.00	100.0	5.00	99.9	5.13	102.7	5.60	112.0
	1	1.00	99.9	0.77	77.0	0.88	88.0	0.66	65.9
PFHpS	50	51.4	102.9	53.4	106.7	52.9	105.9	51.5	103.0
	5	5.32	106.4	5.04	100.9	5.06	101.2	5.41	108.1
	1	0.87	86.6	0.73	72.5	0.63	63.3	0.76	76.5
PFOS	50	52.3	104.6	49.4	98.7	50.6	101.1	49.7	99.5
	5	5.43	108.6	4.91	98.3	4.85	97.0	4.93	98.6
	1	0.99	98.8	0.91	91.3	0.88	88.2	0.94	94.4
PFNS	50	48.4	96.8	35.1	70.2	38.0	76.0	39.7	79.5
	5	5.21	104.3	3.87	77.5	4.01	80.3	3.89	77.7
	1	0.89	88.9	0.90	90.5	0.92	91.6	0.91	91.2
PFDS	50	45.2	90.4	35.5	71.0	36.8	73.6	36.7	73.4
	5	4.90	98.0	3.36	67.2	4.05	80.9	3.24	64.7
	1	0.85	85.0	0.79	79.2	0.82	82.1	0.74	74.5
PFBA	50	53.5	107.0	50.5	101.0	50.9	101.8	50.9	101.7
	5	5.65	113.1	5.50	110.0	5.80	116.0	5.92	118.5
	1	1.04	103.5	1.16	115.5	1.01	100.5	0.89	89.1
PFPeA	50	50.7	101.4	48.0	96.0	48.4	96.7	47.9	95.8
	5	5.33	106.6	4.95	99.0	5.13	102.6	5.19	103.8
	1	1.16	116.0	1.18	118.2	1.24	123.9	1.25	124.8
PFHxA	50	49.4	98.8	48.5	97.0	49.0	97.9	48.6	97.1
	5	5.06	101.1	5.18	103.7	5.43	108.7	5.45	109.0
	1	1.04	103.6	0.94	93.5	0.97	97.4	0.97	97.4

a) Oasis WAX for PFASs Analysis

b) The concentration of PFASs spiked to the sample

c) Mean value ( $n=3$ )

d) Tolerance range of recovery rate shown in Testing Methods for Fertilizers (2021)

(70 %-120 % for 50 ng/mL of the analyte, 60 %-125 % for 5 ng/mL and 1 ng/mL of the analyte)

Table 6 Continued

Analytes		InertSep MA-2		Oasis WAX		Oasis WAX (P) <sup>a)</sup>		Strata-XL-AW	
Abbreviation	Concentration <sup>b)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Mean <sup>c)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery <sup>d)</sup> (%)	Mean ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)	Mean ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)	Mean ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)
PFHpA	50	48.8	97.5	48.6	97.1	48.6	97.3	48.6	97.3
	5	4.99	99.7	5.02	100.4	5.15	103.0	5.18	103.5
	1	1.06	106.4	1.01	101.5	1.05	104.9	0.98	98.2
PFOA	50	46.4	92.9	49.1	98.2	49.7	99.4	49.8	99.6
	5	5.30	106.0	5.31	106.3	5.22	104.5	5.18	103.7
	1	0.99	99.2	1.06	105.8	1.07	106.7	1.01	101.3
PFNA	50	49.2	98.3	44.1	88.1	45.6	91.2	46.4	92.8
	5	5.02	100.4	4.65	92.9	4.67	93.4	4.64	92.9
	1	1.09	109.1	1.10	109.6	1.13	112.9	0.98	97.9
PFDA	50	48.7	97.4	36.8	73.6	39.1	78.1	42.2	84.3
	5	4.98	99.6	3.74	74.7	3.97	79.3	3.71	74.2
	1	0.85	85.0	0.88	88.0	0.92	91.5	0.95	95.5
PFUdA	50	45.6	91.1	37.3	74.5	42.9	85.9	46.8	93.7
	5	4.88	97.5	3.50	70.1	3.98	79.7	3.64	72.9
	1	0.74	74.0	0.65	65.2	0.69	68.8	0.69	69.5
PFDoA	50	38.5	76.9	35.7	71.5	46.2	92.3	46.1	92.1
	5	4.45	89.0	3.12	62.4	3.46	69.1	3.19	63.8
	1	0.70	70.2	0.74	73.8	0.77	77.5	0.73	73.2

PFASs の検量線用の標準液の各最小濃度は  $0.1 \text{ ng/mL}$  であり、いずれのピークも SN 比 10 を超えていた。このことから、定量下限を推定するため、①汚泥肥料に PFASs 各  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加して 7 点併行で分析した併行試験の結果、②用いた検量線 ( $0.1 \text{ ng/mL} \sim 2 \text{ ng/mL}$ ) の残差及び③試料溶液の SN 比を基として、16 成分の PFASs についてそれぞれ肥料等試験法 (2021)<sup>6)</sup> 附属書 A の手順に従って定量下限及び検出下限を Table 7 のとおり算出した。

その結果、PFASs の各定量下限は  $0.5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 1 \mu\text{g}/\text{kg}$  程度と推定され、また、上記①における 16 成分の PFASs の平均回収率は 72.6 % から 114.8 % であり、すべて肥料等試験法 (2021) に示されている精度の基準に適合していた。



Table 7 Result of estimation of the lower limit of quantification

Abbreviation	Replicate test <sup>a)</sup>						Calibration curve <sup>a)</sup>		SN ratio <sup>a)</sup>		Estimation of LOQ (μg/kg)
	Concentration <sup>b)</sup> (μg/kg)	Mean <sup>c)</sup> (μg/kg)	$s_r$ <sup>d)</sup> (μg/kg)	Recovery (%)	LOQ <sup>e)</sup> (μg/kg)	LOD <sup>f)</sup> (μg/kg)	LOQ (μg/kg)	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)	LOD (μg/kg)	
PFBS	1	0.81	0.10	81.4	1	0.4	0.3	0.1	0.4	0.1	1
PFPeS	1	0.94	0.14	93.8	1	0.5	0.7	0.3	0.6	0.2	1
PFHxS	1	1.04	0.08	104.5	0.8	0.3	0.7	0.3	0.4	0.1	0.8
PFHpS	1	0.86	0.04	85.7	0.4	0.2	0.3	0.1	0.5	0.1	0.5
PFOS	1	0.98	0.05	98.4	0.5	0.2	0.5	0.2	0.3	0.1	0.5
PFNS	1	0.90	0.14	89.9	1	0.6	0.5	0.2	0.4	0.1	1
PFDS	1	0.85	0.14	85.2	1	0.5	0.9	0.4	0.4	0.1	1
PFBA	1	1.03	0.11	103.0	1	0.4	0.3	0.1	1	0.3	1
PFPeA	1	1.15	0.05	114.8	0.5	0.2	0.4	0.2	0.7	0.2	0.7
PFHxA	1	1.03	0.07	102.6	0.7	0.3	0.7	0.3	0.5	0.2	0.7
PFHpA	1	1.04	0.04	104.1	0.4	0.2	0.6	0.3	0.3	0.1	0.6
PFOA	1	0.98	0.04	98.0	0.4	0.1	0.5	0.2	0.1	0.04	0.5
PFNA	1	1.09	0.04	109.2	0.4	0.2	0.7	0.3	0.4	0.1	0.7
PFDA	1	0.97	0.10	97.4	1	0.4	1	0.5	0.2	0.06	1
PFUdA	1	0.95	0.11	94.9	1	0.4	1	0.5	0.2	0.05	1
PFDoA	1	0.73	0.08	72.6	0.8	0.3	1	0.6	0.2	0.05	1

a) The Procedure shown in Testing Methods for Fertilizers (2021)

b) The concentration of PFAS spiked the sample

c) Mean value ( $n=7$ )

d) Repeatability standard deviation

e) Lower limit of quantitation

f) Lower limit of detection

#### 4) PFASs の分岐鎖異性体の分析

PFASs の定量において、直鎖体及び分岐鎖異性体を合わせた含量で評価することが求められている<sup>2)</sup>ことから、PFOS 及び PFOA の各含量について算出した。

PFASs の分岐鎖異性体 (PFHxS, PFOS, PFDS, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUdA, PFDoA) のピークを持つクロマトグラムを Fig. 4 に示す。Benskin ら<sup>14)</sup>及び Jin ら<sup>15)</sup>によって報告されているように、これらの分岐鎖異性体ピークの保持時間は、直鎖体ピークの保持時間よりも短かった。

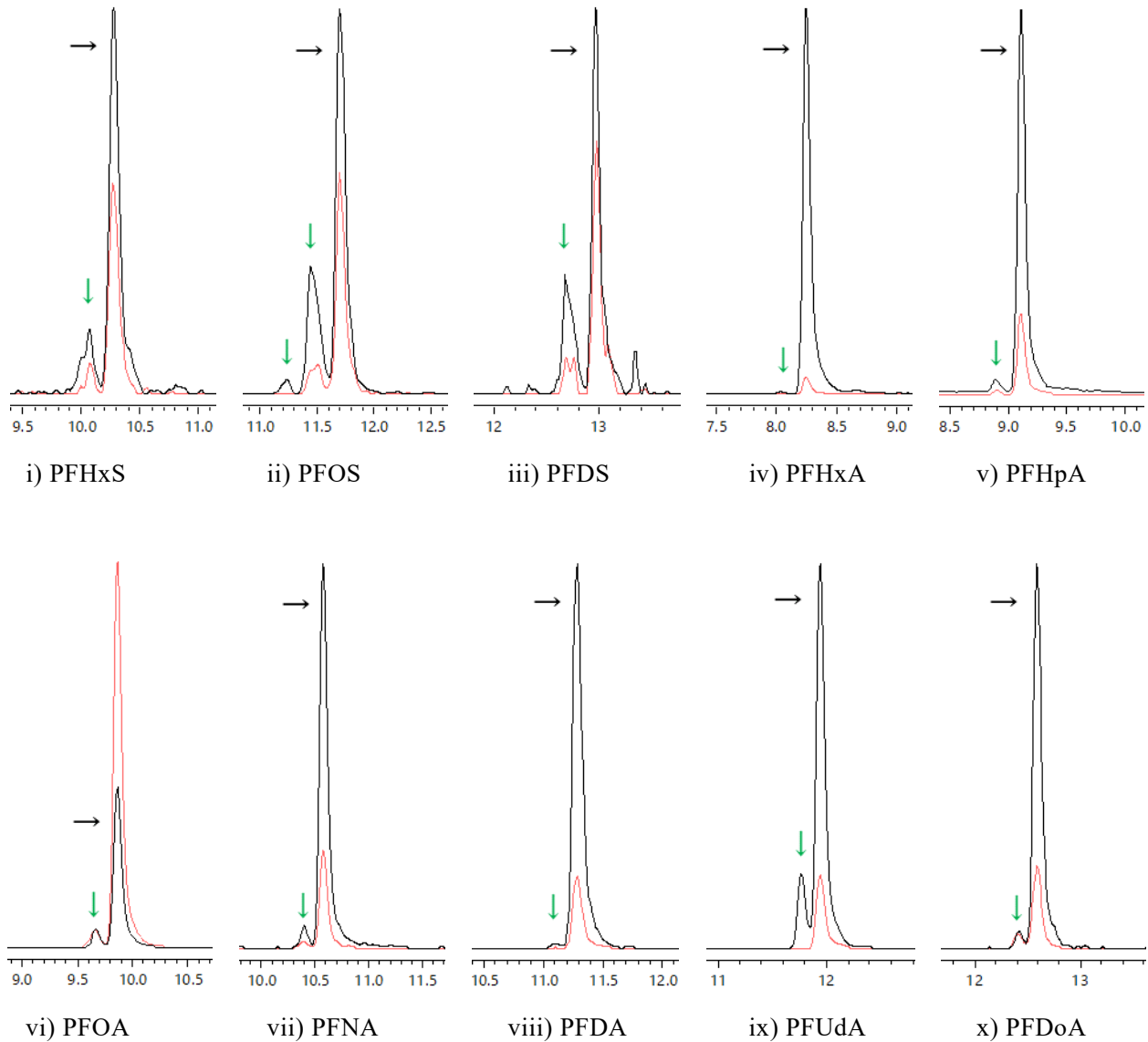


Fig. 4 Example of MRM chromatogram of sample solution in which branched isomers are detected

Black line drawing: MRM chromatogram with product ion for determination

Red line drawing: MRM chromatogram with product ion for validation

→: Linear form of PFAS

↓: Branched form of PFAS

Table 7 に示した定量下限未満の分析値は  $0 \mu\text{g}/\text{kg}$  として PFOS 及び PFOA の各含量を定量し、各含量に対するその直鎖体の分析値の占める割合は 57%~96% (平均値 83%) 及び 85%~100% (平均値 97%) であり、中山ら<sup>16)</sup> 及び Fang ら<sup>17)</sup> の報告と同等であった。PFOS 及び PFOA の各含量に対するその直鎖体の分析値のプロットの回帰直線を求めたところ、傾きは 0.797~0.942 であり、それらの相関係数は共に 0.999 であり、強い相関を示した。

#### 4. まとめ

21 成分の PFASs について既報の試料溶液の調製操作を実施したところ、(1)～(5)のとおり 16 成分の PFASs に適用して測定できることを確認した。

(1) グラジエントプログラムを変更することにより、既報で用いた分離カラムで 21 成分の PFASs 並びに PFOS 及び PFOA の分岐異性体を分離することができた。

(2) 21 成分含有する PFASs 標準液(各 0.1 ng/mL～50 ng/mL)を測定したところ、18 成分の PFASs について直線性のある検量線を作成できた。

(3) 既報の試料溶液の調製の精製操作を検討したところ、カートリッジカラムから PFOS 及び PFOA と同じ画分に 16 成分の PFASs が溶出した。

(4) 汚泥肥料を用いて添加回収試験により真度の確認を行った結果、16 成分の PFASs 各 1 µg/kg～50 µg/kg の濃度範囲で平均回収率 65.2 %～124.8 %であり、いずれも肥料等試験法附属書 A に示されている真度の目標範囲以内であった。

(5) 16 成分の PFASs の定量下限は試料中で 0.5 µg/kg～1 µg/kg 程度と推定された。

(6) クロマトグラムには、PFHxS, PFOS, PFDS, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUdA, PFDoA の PFAS 分岐異性体ピークが現れた。PFOS と PFOA の分岐異性体を含む各含量に対する直鎖体の占める割合は 57 %～96 % (平均値 82 %) 及び 85 %～100 % (平均値 97 %) であり、中山らと Shuhong らの報告と同等であった。

#### 文 献

- 1) Ewan Sinclair, Kurunthachalam Kannan: Mass loading and fate of perfluoroalkyl surfactants in wastewater treatment plants, *Environmental Science & Technology*, **40** (5), 1408-1414 (2006)
- 2) Melissa M Schultz, Douglas F Barofsky, Jennifer A Field: Quantitative determination of fluorinated alkyl substances by large-volume-injection liquid chromatography tandem mass spectrometry-characterization of municipal wastewaters, *Environmental Science & Technology*, **40** (1), 289-295 (2006)
- 3) 野添宗裕, 藤井滋穂, 田中周平, 田中宏明, 山下尚之: 残留性有機フッ素化合物 PFOS, PFOA の下水処理場における挙動調査, *環境工学研究論文集*, **43**, p.105-110 (2006)  
< [https://www.jstage.jst.go.jp/article/proes1992/43/0/43\\_0\\_105/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/proes1992/43/0/43_0_105/_pdf/-char/ja) >
- 4) 白井裕治, 沼寄佳奈子: LC-MS/MSを用いた汚泥肥料中の PFOS 及び PFOA の分析, *肥料研究報告*, **14**, 123~140 (2021)
- 5) 沼寄佳奈子, 白井裕治: LC-MS/MS を用いた汚泥肥料中の PFOS 及び PFOA の分析(共同試験による妥当性確認), *肥料研究報告*, **15**, 66~86 (2022)
- 6) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC): 肥料等試験法 (2021)  
< [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho\\_2021.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_2021.pdf) >  
< [http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho\\_fuzokusho\\_A.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikhenho_fuzokusho_A.pdf) >
- 7) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR): Toxicological profile for Perfluoroalkyls (2021).  
< <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp200.pdf> >

- 8) THE EUROPEAN COMMISSION: Commission Regulation (EU) 2021/1297 of 4 August 2021 amending Annex XVII to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council as regards perfluorocarboxylic acids containing 9 to 14 carbon atoms in the chain (C9-C14 PFCAs), their salts and C9-C14 PFCA-related substances (Text with EEA relevance), Official Journal of the European Union, L 282, 29~33 (2021)  
< <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R1297> >
- 9) European Chemicals Agency (ECHA): PFHxS, its salts and PFHxS-related substances, ANNEX XV RESTRICTION REPORT (2019)  
< <https://echa.europa.eu/documents/10162/a22da803-0749-81d8-bc6d-ef551fc24e19> >
- 10) European Chemicals Agency (ECHA): Undecafluorohexanoic acid (PFHxA), its salts and related substances, ANNEX XV RESTRICTION REPORT (2019)  
< <https://echa.europa.eu/documents/10162/c4e04484-c989-733d-33ed-0f023e2a200e> >
- 11) GL Sciences: 固相抽出ー液体クロマトグラフ質量分析計を用いた有機フッ素化合物 (PFAS) の分析, LC Technical Note, LT181  
< <https://www.gls.co.jp/viewfile/?p=LT181> >
- 12) SHIMADZU Excellence in Science: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Specified in EPA M8327 using the LCMS-8050 Triple Quadrupole Mass Spectrometer, Application News, No. LCMS-106  
< <https://www.ssi.shimadzu.com/sites/ssi.shimadzu.com/files/Products/literature/lcms/application-news-lcms-106.pdf> >
- 13) 三島聡子, 小沢憲司, 中山駿一, 菊池宏海: 相模湾漂着マイクロプラスチックの有機フッ素化合物の吸着実態と流入河川の影響, 環境化学, **30**, 66-81 (2020)  
< [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jec/30/0/30\\_66/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jec/30/0/30_66/_pdf/-char/ja) >
- 14) Jonathan P. Benskin, Amila O. De Silva, Jonathan W. Martin: Isomer Profiling of Perfluorinated Substances as a Tool for Source Tracking: A Review of Early Findings and Future Applications, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, **208**, 111-160 (2010)
- 15) Hangbiao Jin, Yifeng Zhang, Lingyan Zhu, Jonathan W. Martin: Isomer Profiles of Perfluoro-alkyl Substances in Water and Soil Surrounding a Chinese Fluorochemical Manufacturing Park, Environmental Science & Technology, **49** (8), 4946-4954 (2015)
- 16) NAKAYAMA F. Shoji, ISOBE Tomohiko, IWAI-SHIMADA Miyuki, KOBAYASHI Yayoi, NISHIYAMA Yukiko, TANIGUCHI Yu, SEKIYAMA Makiko, MICHIKAWA Takehiro, YAMAZAKI Shin, NITTA Hiroshi, ODA Masako, MITSUBUCHI Hiroshi, SANEFUMI Masafumi, OHGA Shouichi, MISE Nathan, IKEGAMI Akihiko, SUGA Reiko, SHIMONO Masayuki: Poly- and perfluoroalkyl substances in maternal serum: Method development and application in Pilot Study of the Japan Environment and Children's Study, Journal of Chromatography A, **1618**, 460933, 1-11 (2020)
- 17) Shuhong Fang, Xinwei Chen, Shuyan Zhao, Yifeng Zhang, Weiwei Jiang, Liping Yang, Lingyan Zhu: Trophic Magnification and Isomer Fractionation of Perfluoroalkyl Substances in the Food Web of Taihu Lake, China, Environmental Science & Technology, **48** (4), 2137-2182 (2014)

## Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs)

SHIRAI Yuji<sup>1</sup>, NUMAZAKI Kanako<sup>1</sup> and AKIMOTO Satono<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC), Fertilizer and Feed Inspection Department

We improved the PFOS and PFOA measurement methods to develop determination method of 16 PFASs in sludge fertilizers using liquid chromatograph/tandem mass spectrometer (LC-MS/MS). After the analytical portion was added the isotope performance extraction standard solution (20 ng/mL each of mass labeled PFOS and mass labeled PFOA), PFASs were extracted with methanol containing a small amount of formic acid. The extract was purified with weak anion exchange polymer cartridge column and graphite carbon cartridge column. PFASs were measured by LC-MS/MS. As a result of 3 replicate analysis in sludge fertilizer sample prepared to contain with PFASs at 1 µg/kg, 5 µg/kg and 50 µg/kg, the mean recoveries ranged from 62.4 % to 124.8 %. Their lower limit of quantification (*LOQ*) ranged from 0.5 µg/kg to 1 µg/kg (analytical sample). The following PFASs branched isomer peaks appeared on the chromatogram of the sample solution, which were PFHxS, PFOS, PFDS, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUDA and PFDoA. The proportions of the linear forms of PFOS and PFOA to the total amount including those of the branched form were the mean values of 83 % and 97 %, respectively.

*Key words* PFASs, PFOS, PFOA, sludge fertilizer, LC-MS/MS

(Research Report of Fertilizer, **15**, 87-107, 2022)