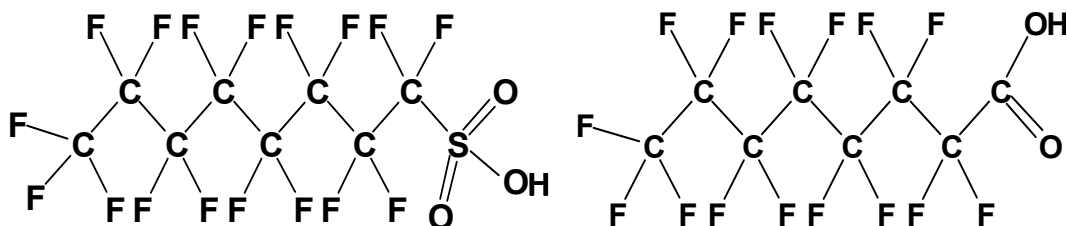


環境水・底質・生物中のペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)
ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) の分析

岩手県環境保健研究センター
佐々木和明 八重樫香 斎藤憲光

【対象物質の構造】



ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) ペルフルオロオクタン酸 (PFOA)

【物理化学的性状及び用途】

ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) 分析の標準試薬として用いたヘプタデカフルオロオクタンスルホン酸カリウム及びペルフルオロオクタン酸 (PFOA) の物性を下表に示す。

分子式	CAS No.	分子量	融点 (°C)	水溶解度	用途
C ₈ F ₁₇ SO ₃ K	2795-39-3	538.22	277~280	1g/L	消火剤、撥水剤、紙の表面処理剤
C ₇ F ₁₅ CO ₂ H	335-67-1	414.07	37~50	>1g/L	樹脂改質剤、合成原料

1. はじめに

人の血清と野生生物の血液及び肝臓中で、数から数千 ppb (ng/ml) の高濃度で perfluorooctane sulfonate (PFOS、C₈F₁₇SO₃⁻) が検出された⁽¹⁾。パーフルオロ化合物製造会社の中で最大手の 3M では、事態の重大さを考慮して 2000 年に製造を中止したが、K. Kannan 等の調査結果は「PFOS 汚染は広範囲に渡り、程度の差こそあれ地球上のあらゆる生物はすでに汚染を受けた」ことを示していた⁽²⁾。

野生生物や人の血液中から高濃度で検出された理由は、PFOS が持つ界面活性剤としての特性による。パーフルオロ化したフッ素化合物は、親水性と疎水性の両方の性質を持つために用途が広く、衣服の柔軟材、消火剤、紙の表面処理からワックスやクリーナーなど、日常生活のあらゆる方面で使用されてきた。「フッ素化合物の消費量が多かったこと」、「PFOS は分子構造が安定で、環境中で分解されにくかったこと」、「PFOS は親水性であるがために血液中への溶解性が高かったこと」、「食物連

鎖による生体濃縮が進んでいる可能性が高いこと」などの理由で、野生生物や人への蓄積が進んでいったと考えられる。

これまで野生生物や人の血液と臓器中 PFOS 分析は、イオンペア試薬を添加後に溶媒で抽出し、LC/MS/MS で測定する方法が用いられてきた。この従来法は多量の有機溶媒を必要とし、操作手順も煩雑で低濃度試料の分析に適用できない欠点があった。実際に、環境水中の PFOS 分析を行った例は少なく、バックグラウンドレベルすら把握されていなかった。

そのため、最初に環境水を対象に分析方法の検討を行ったが、河川水や海水中の PFOS は ng/L レベルの極端に低い濃度であるために、濃縮操作を行わずに測定することは困難であった。そこで、濃縮法として固相カートリッジ抽出を行い、LC/MS で分析を行う方法について検討したところ、本法は環境水中 PFOS 及びその類縁物質 PFOA の同時分析法として十分な実用性が確認された^(3~6)。

またさらに、底質及び生物中の PFOS 及び PFOA については、使用溶媒量が少なく、かつ分析エラーが少ない方法として高速溶媒抽出装置を用いた分析方法について検討を行った。本法により、東京湾底質からも初めて ng/g レベルの PFOS 及び PFOA を検出した⁽⁷⁾。

2. 分析法

(1) 分析法概要

水試料については、水試料を固相カートリッジに通水し PFOS 及び PFOA を同時に濃縮する。底質及び生物試料については高速溶媒抽出装置を用いて抽出し、抽出液を固相カートリッジで濃縮する。固相からの溶出液を LC/MS-SIM 法で同時定量する。

(2) 試薬・器具

[試薬]

標準物質 PFOS : Fluka 社 Heptadeca fluorooctane sulfonicacid potassium salt
純度 98%以上

標準試薬 PFOA : 和光純薬社の Pentadeca fluorooctanoic acid 純度 95%以上

メタノール、アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 用

固相カートリッジ : 和光純薬製 Presep-C Agri (220mg)

和光純薬製 Presep-C Alumina (1,700mg)

精製水 : Elix 純水製造装置 (ミリポア社製) で製造した逆浸透水を Milli-Q 超純水装置 (ミリポア社製) で処理し、固相カートリッジ (Presep-C Agri) に 10mL/min. で通水したもの。

酢酸アンモニウム、水酸化ナトリウム、塩酸 : 試薬特級

〔器具〕（注1）

メスシリンダー、メスフラスコ、KD 目盛付受器（5mL）

コンセンレーター：ウォーターズ社コンセンレーター-Concentrator Plus

高速抽出溶媒装置：ダイオネクス社 ASE-200

（3）分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う（注2）。

【試料の前処理及び試料液の調製】

〔水質〕

試料を 1N 塩酸又は 1N 水酸化ナトリウムを用いて、pH が 6 から 11 の範囲内に調整する。コンディショニングした固相カートリッジ（注3）をコンセンレーターにセットし、試料 1L を 10mL/min. で通水し抽出する。通水終了後の固相カートリッジに精製水 10mL を通して洗浄した後、シリンジで約 10mL の空気を送り間隙水を除去する。次いで 2mL のメタノールで溶出し 5mL 容 KD 目盛付受器に受ける。窒素ガスを吹き付けて 1mL の定容にし、試料液とする。

〔底質及び生物試料〕

33mL 高速溶媒抽出用セルの底に濾紙を入れてシリカ担体を約 10g 詰めてから、底質試料については 10g、生物試料についてはホモジナイザー等で十分に細切均一にした後 5g を秤量して入れ、さらに約 5g のシリカ担体を載せて試料をサンドイッチ状に充填する。試料を充填したセルを高速溶媒抽出装置にセットして、20%メタノール水溶液で抽出する（注4）。

次に、コンディショニングした固相カートリッジ（注3）を Alumina、Agri の順に試料液が通水するようにコンセンレーターにセットし、高速溶媒抽出液を精製水で希釈してメタノールの濃度を 10%以下（注5）にした後固相カートリッジに通水し濃縮する。通水終了後の固相カートリッジ Agri に精製水 10mL を通して洗浄してからシリンジで約 10mL の空気を送り間隙水を除去する。次いで底質試料は、2mL のメタノールで溶出し 5mL 容 KD 目盛付受器に受ける。生物試料は、固相カートリッジ Agri にメタノールで洗浄した固相カートリッジ Alumina を接続し、抽出液を通し底質同様に 5mL 容 KD 目盛付受器に受ける。これに窒素ガスを吹き付けて 1mL の定容にし、試料液とする。

【空試験液の調製】

試料を添加せずに高速溶媒抽出後、【試料の前処理及び試料液の調製】の項に従って操作し、得られた試料液を空試験液とする。

【標準液の調製】

ヘプタデカフルオロオクタンスルホン酸カリウム約 108mg 及びペンタデカフルオロオクタン酸約 100mg を夫々1,000mg- $C_8F_{17}SO_3^-/L$ 及び 1,000mg- $C_7F_{15}O_2^-/L$ 濃度になるよう正確に秤取り、精製水/メタノール (3 : 7) 100mL に溶解し混合原液とする。

標準原液を精製水/メタノール (3 : 7) で順次希釈し、 $0.1 \mu g/L$ から $100 \mu g/L$ の標準液を作成する。なお、分析に使用した標準品については、製造会社名及びロット番号を記録保管することとした。

【測定】

[LC/MS 条件] (注 6)

HPLC 条件

機種 : Agilent 1100

カラム : Zorbax XDB C-18 ($3.5 \mu m$ $2.1 \times 150mm$)

移動相 : A : 10mM CH_3COONH_4/H_2O B : CH_3CN

0→5min A:65→55 B:35→45 liner gradient (2%/min)

5→20min A:B=55 : 45

20→25min A:55→10 B:45→90 liner gradient (9%/min)

25→30min A:B=10:90

30→35min A:10→65 B:90→35 liner gradient (11%/min)

35→40min A:B=65:35

流量 : 0.2mL/min

カラム温度 : 40°C

注入量 : 10.0 μL

MS 条件

機種 : Agilent MSD SL

ドリフト (フラグメンター) 電圧

5→10min : 100V (PFOA 測定用)

10→20min : 200V (PFOS 測定用)

キャピラリー電圧 (Vcap) : 4000V

ネブライザー : N_2 (50psi)

ドラインガス流量及び温度 : N_2 (10.0 L/min 340°C)

モード : エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) , 負イオン測定,
選択イオン測定法 (SIM)

モニターイオン : PFOS 定量用 499 (m/z) $[M-K]^-$ 確認用 500 (m/z)

PFOA 定量用 413 (m/z) $[M-H]^-$ 確認用 369 (m/z)

〔検量線〕

標準溶液 10 μL を LC/MS に注入し、標準物質の注入量と PFOS 及び PFOA のピーク面積を用いて夫々各物質について検量線を作成する。

〔定量〕

試料液 10 μL を LC/MS に注入し、ピーク面積より試料液中の PFOS 濃度を C₈F₁₇SO₃⁻、PFOA の濃度を C₇F₁₅CO₂⁻ として測定する。

〔計算〕

水質

$$\text{計算値 (ng/L)} = \text{検出量 (pg)} \times \frac{\text{固相抽出後の最終液量 (mL)}}{\text{LC/MS 注入量 (μL)} \times \text{分析試料量 (L)}}$$

底質・生物

$$\text{計算値 (ng/g)} = \text{検出量 (pg)} \times \frac{\text{固相抽出後の最終液量 (mL)}}{\text{LC/MS 注入量 (μL)} \times \text{分析試料量 (g)}}$$

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS (Agilent 1100 MSD SL) の IDL を下表に示す (注 7)。

物質名	IDL (pg)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL水試料換算値 (ng/L)
PFOS	0.077	1	1	0.0077
PFOA	0.100	1	1	0.0100

〔定量下限〕

本分析法における検出下限及び定量下限を次に示す (注 8)。

物質名	水質 (ng/L)		底質 (ng/kg)	生物 (ng/kg)
	検出下限	定量下限	検出下限	検出下限
PFOS	0.05	0.14	22	88
PFOA	0.04	0.13	16	92

(4) 注解

(注 1)

ガラス器具等は、通常に洗浄後、メタノールで洗浄すること。また、コンセントレーターについては内部をメタノールで洗浄し、次に精製水を通水した後試料液を固相に通水すること。高速溶媒抽出装置については、セルに濾紙及び担体を充填しセル内

部及び装置内部経路をメタノールで洗浄すること。セルのメタノール洗浄液から分析対象物質が検出される場合は、セルを解体してメタノール中で超音波洗浄するとよい。

また、分析用の器材については、分析対象物質混入の可能性のあるフッ素樹脂あるいはフッ素樹脂を含む材質を使用しないこと。

(注2)

予めヘキサン、アセトン及びHPLC用メタノールで順に洗浄した容器(120mL)に採取する。

(注3)

固相カートリッジは、10mLのHPLC用メタノールと5mLの精製水でコンディショニングしたものを使用する。

(注4)

高速溶媒抽出時の条件を表1に示す。

表 1. 高速溶媒抽出装置抽出条件

Instrument	: DIONEX ASE-200
Cell size	: 33 mL
Oven temperature	: 100 °C
Pressure	: 1,500 psi (=10.5MPa)
Static time	: 10 min.
Flush volume	: 50% of extraction cell volume
Solvent	: 20% methanol solution
Nitrogen purge	: 150 psi (=1MPa) for 120sec.
Extraction cycle	: Three times

(注5)

試料溶液のメタノール濃度と固相カートリッジへの捕集率を図1に示す。

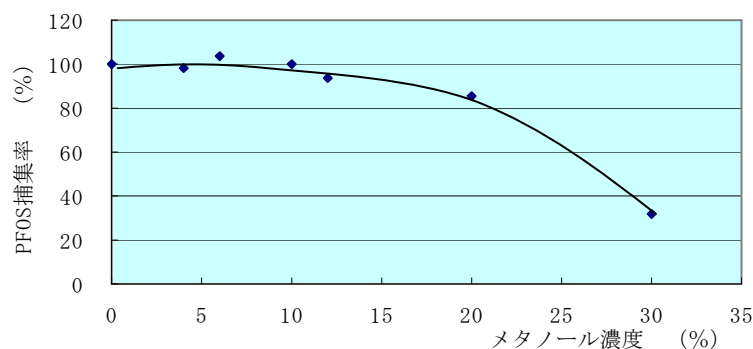


図 1. メタノール濃度と固相捕集率

(注6)

LC/MS の条件は、本測定に使用した機種 (Agilent MSD SL) 特有のものである。これらの条件の中で特にドリフト電圧については、PFOS のピーク強度を考慮して通常物質測定の設定値より数倍高い値を採用している。

また、類似の有機フッ素化合物は、LC 用イオンペア剤として各種市販されており、それらを使用する分析実施後はブランクとして大きなピークが検出されるので、HPLC 用メタノールを注入しても PFOS 及び PFOA のピークが検出しなくなるまで溶離液を流し装置全体をクリーニングしてから本分析を行うこと。

試料導入時のコンタミネーションを少なくする為、オートサンプラーは、ニードルの外側を洗浄できる型式の装置 (例 Agilent G 1367A) を使用して、メタノールで毎回ニードルを洗浄後、試料を LC 部に注入すること。

(注7)

装置検出下限 (IDL) は、「分析法開発調査における装置検出限界 (IDL) の算出手順」(平成 11 年度)に従って、表 2 のとおり算出した。測定時の代表的なクロマトグラムを図 2 に示す。

表 2. 装置検出下限 (IDL) の算出

物質名	PFOS	PFOA
試料量 (L)	1	1
最終液量 (mL)	1	1
注入量濃度 ($\mu\text{g/L}$)	0.1	0.1
装置注入量 (μL)	10	10
結果1	0.099	0.102
結果2	0.103	0.101
結果3	0.098	0.103
結果4	0.108	0.096
結果5	0.102	0.098
結果6	0.099	0.112
結果7	0.107	0.100
標準偏差	0.00399	0.00512
IDL ($\mu\text{g/L}$)	0.0077	0.0100
IDL試料濃度換算 (ng/L)	0.0077	0.0100
S/N	9.7	10.7
S/N適否	○	○
平均 ($\mu\text{g/L}$)	0.1023	0.1017
CV (%)	3.9	5.0

$$\text{IDL} = t(n-1, \alpha) \times S d$$

α : 危険率5% (片側) , $\alpha = 1.943$

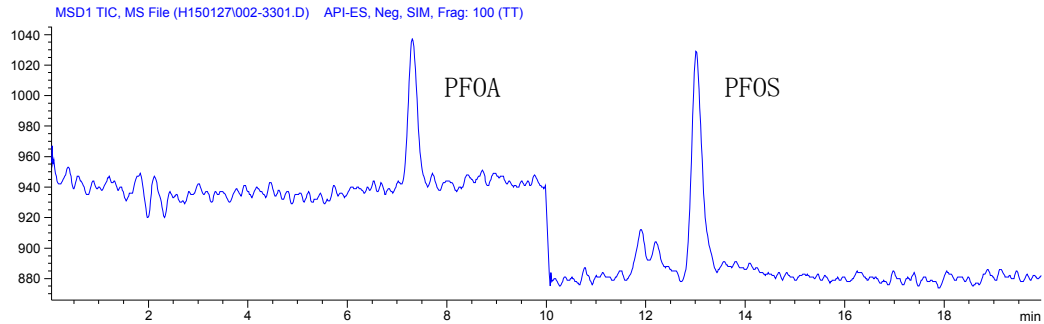


図 2. 装置検出下限 (IDL) 測定時の代表的なクロマトグラム

(注 8)

検出下限及び定量下限は、「検出限界及び定量限界の算定法」(昭和 62 年 3 月)により、次のとおり算出した。

表 3. 検出下限及び定量下限算出表

1 PFOS		水質			検出下限推定値 (ng/kg)	底質	生物
試料濃度 (ng/L)	0.25	0.50	0.75	検出下限推定値 (ng/kg)	14	28	
応答値 面積 10^4	0.4190	0.9152	1.3144	試料濃度 (ng/kg)	100	100	
標準偏差	0.01573	0.03303	0.02874	分析値 (ng/kg)	103	100	
検出力 (Dn) (ng/L)	0.00868	0.01669	0.01517	標準偏差	6.87	27.9	
検出力平均 (ng/L)		0.0135		検出下限	22	88	
検出下限 (D3) (ng/L)		0.05		95%信頼区間	14-48	56-194	
定量下限 (D10) (ng/L)		0.14					
	0.000247	0.001091	0.000826				
不偏分散 (Fd)		4.41					
$検出力 = t(n-1, 0.05) \times 標準偏差 / n^{1/2} \times (試料濃度 / 平均応答値)$ $検出下限 = 検出平均値 \times 3$ $定量下限値 = 検出力平均値 \times 10$							
2 PFOA		水質			検出下限推定値 (ng/kg)	底質	生物
試料濃度 (ng/L)	0.25	0.50	0.75	検出下限推定値 (ng/kg)	13	26	
応答値 面積 10^4	0.2753	0.5579	0.7582	試料濃度 (ng/kg)	100	100	
標準偏差	0.01341	0.01159	0.01707	分析値 (ng/kg)	101	111	
検出力 (Dn) (ng/L)	0.01126	0.00961	0.01562	標準偏差	4.82	29.1	
検出力平均 (ng/L)		0.0122		検出下限	16	92	
検出下限 (D3) (ng/L)		0.04		95%信頼区間	10-35	58-202	
定量下限 (D10) (ng/L)		0.13					
不偏分散 (Fd)		2.17					
$検出力 = t(n-1, 0.05) \times 標準偏差 / n^{1/2} \times (試料濃度 / 平均応答値)$ $検出下限 = 検出平均値 \times 3$ $定量下限値 = 検出力平均値 \times 10$							

3. 解説

【分析法】

[フローチャート]

分析のフローチャートを図3に示す。

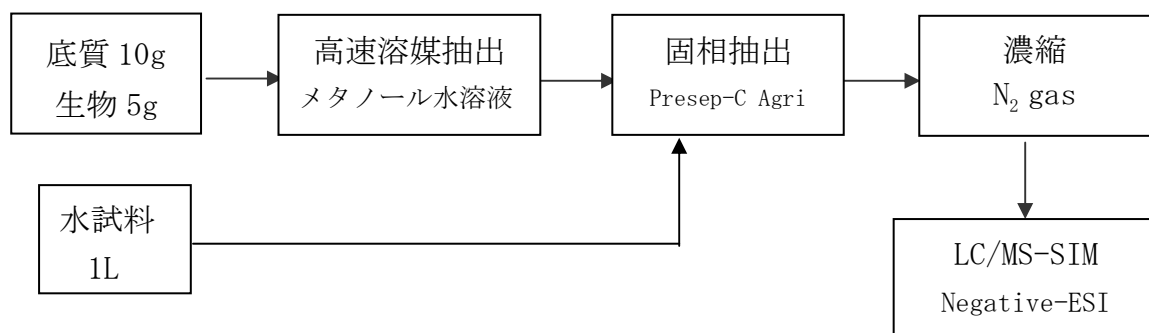


図3. PFOS 及び PFOA 分析フロー

[検量線、クロマトグラム及びマススペクトル]

代表的な標準 ($1\mu\text{g/L}$) のクロマトグラムと低濃度域検量線例を図4~5に示す。
マススペクトルを図6に示す。

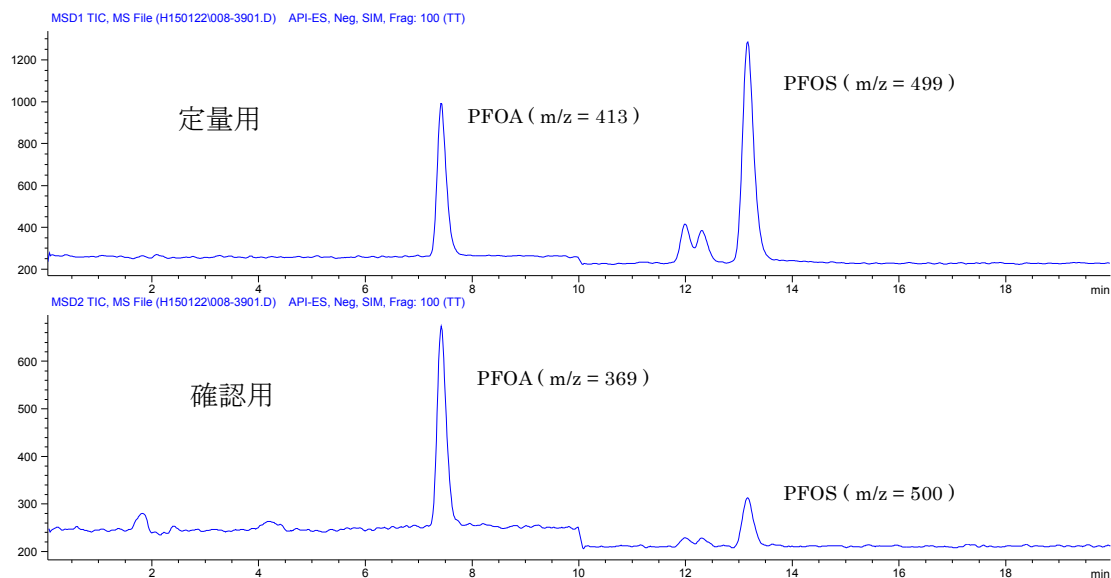


図4. 標準 ($1\mu\text{g/L}$) のクロマトグラム

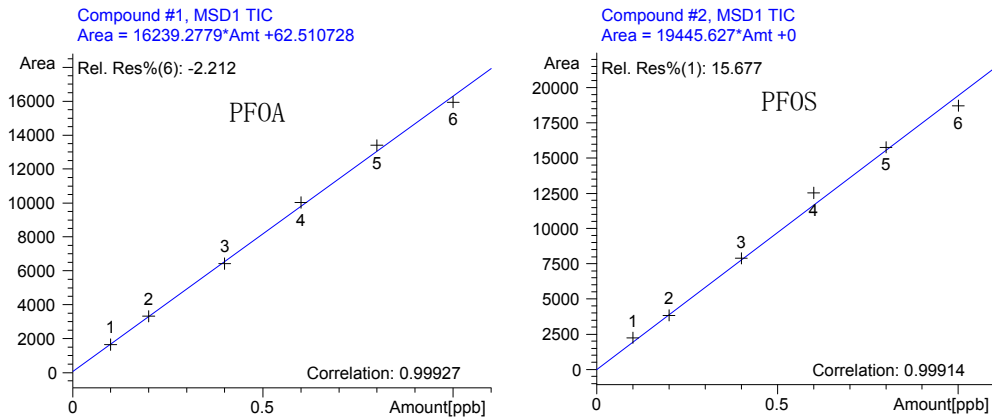


図 5. 低濃度域(0.1~1 μ g/L) 検量線

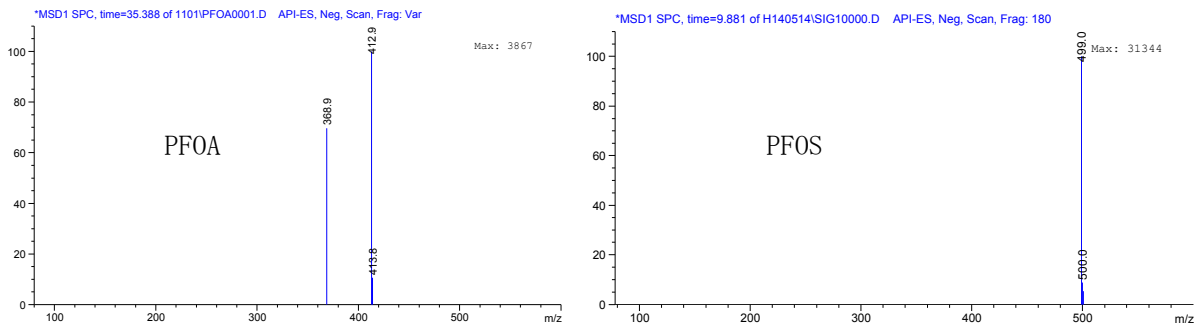


図 6. 標準物質マススペクトル

[抽出]

高速溶媒抽出におけるメタノール濃度と抽出率を図 7 に示す。

メタノール濃度 10%でほぼ抽出できるが、試料水分も考慮してメタノール濃度は 20%を選択した。

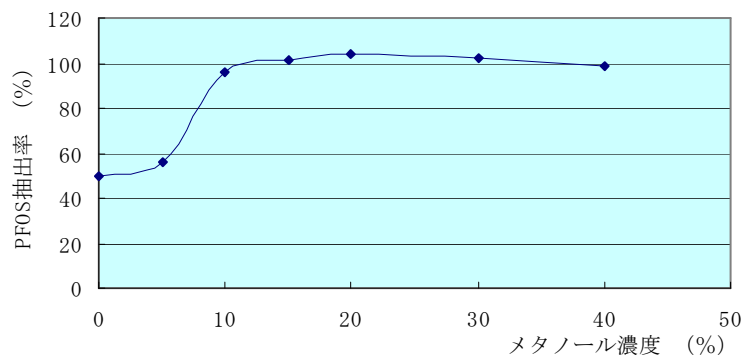


図 7. メタノール濃度と PFOS 抽出率

[添加回収実験結果]

河川水（北上川）、海水（宮古湾）、共通底質（東京湾）及びムラサキイガイ（山田湾）への標準物質添加回収実験結果を表4に示す。

表 4. 添加回収実験結果

1 PFOS						
試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	1	無添加	7	<0.05	—	—
	1	0.25	7	0.215	86.0	3.8
	1	0.50	7	0.454	90.8	3.7
	1	0.75	7	0.726	96.8	2.2
河川水	1	無添加	7	0.457	—	3.0
	1	1	7	1.519	106	2.4
海水	1	無添加	7	<0.04	—	—
	1	1	7	0.903	90.3	7.4
試料名	試料量 (g)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/g)	回収率 (%)	変動係数 (%)
東京湾底質	10	無添加	7	3.236	—	4.2
	10	20	7	4.857	81.1	2.2
生物	5	無添加	7	<0.088	—	—
	5	2.5	7	0.450	90.0	9.5
2 PFOA						
試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	1	無添加	7	<0.04	—	—
	1	0.25	7	0.253	101	4.9
	1	0.50	7	0.527	105	2.1
	1	0.75	7	0.749	100	2.3
河川水	1	無添加	7	0.539	—	9.9
	1	1	7	1.519	98.0	3.6
海水	1	無添加	7	0.16	—	—
	1	1	7	1.120	96.0	6.1
試料名	試料量 (g)	添加量 (ng)	測定回数	検出濃度 (ng/g)	回収率 (%)	変動係数 (%)
東京湾底質	10	無添加	7	0.332	—	5.0
	10	20	7	2.203	93.6	4.3
生物	5	無添加	7	<0.092	—	—
	5	2.5	7	0.535	107	8.2

[環境試料分析例]

河川水では、豊沢川（岩手県内）から PFOS 及び PFOA が共に 0.5 (ng/L) 検出された。また、東京湾底質試料からは、PFOS 3.2 (ng/g)、PFOA 0.3 (ng/g) が検出されたが、山田湾ムラサキイガイからは PFOS 及び PFOA は検出されなかった。

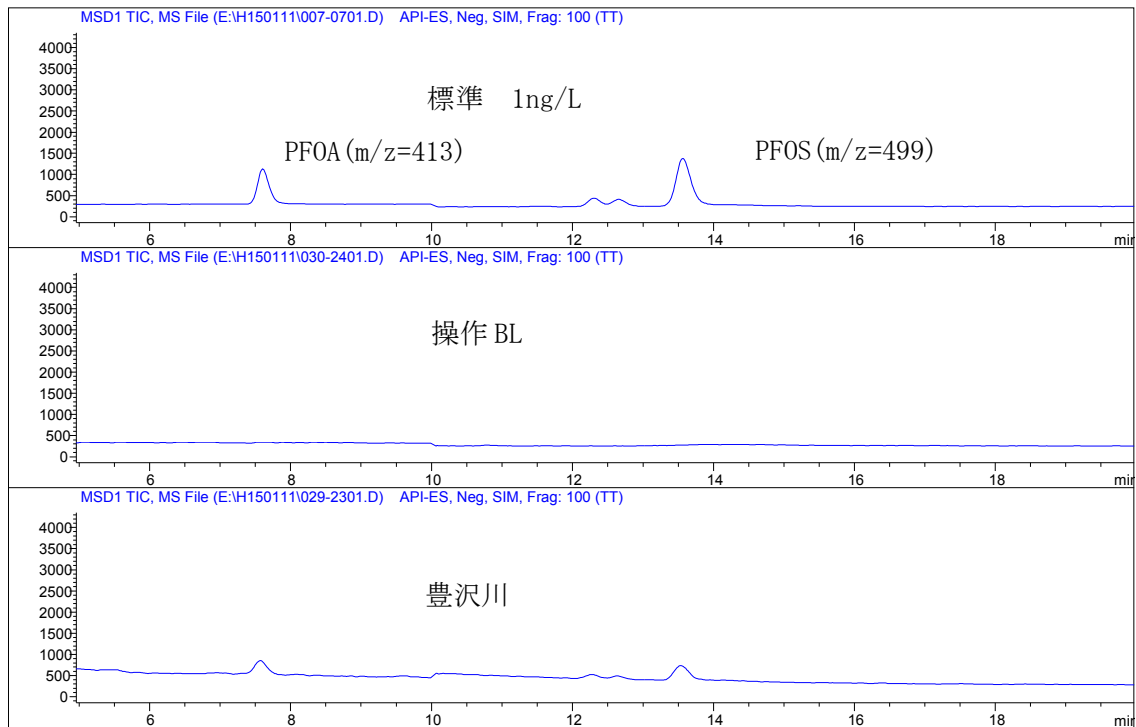


図 8. 河川水（岩手県豊沢川(1L)）クロマトグラム

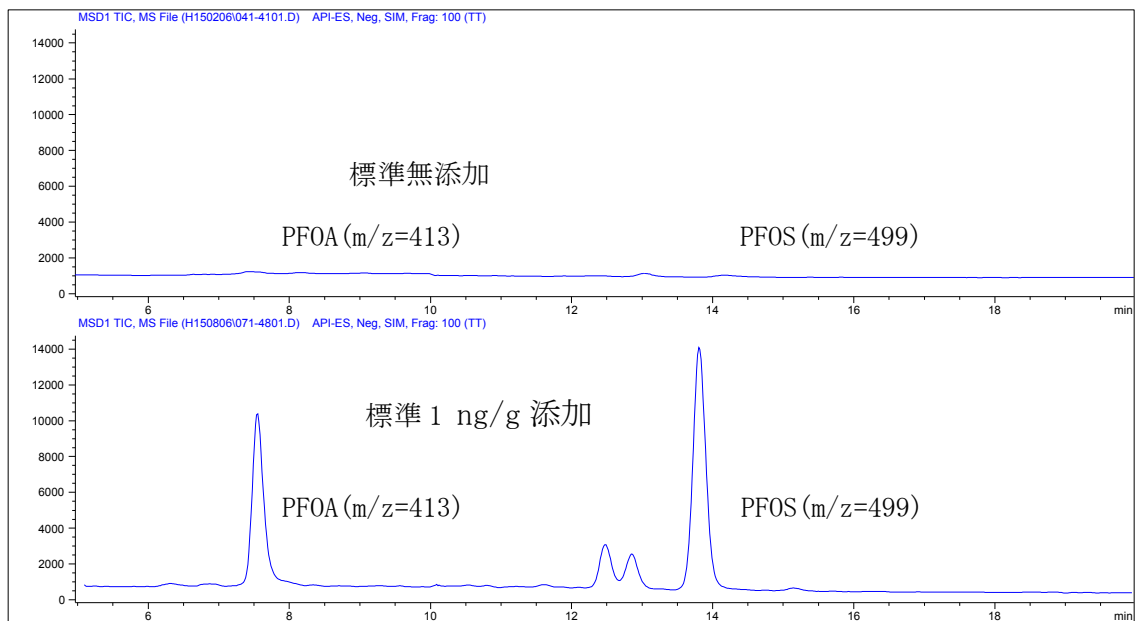


図 9. 底質（岩手県田老湾 (10g)）クロマトグラム

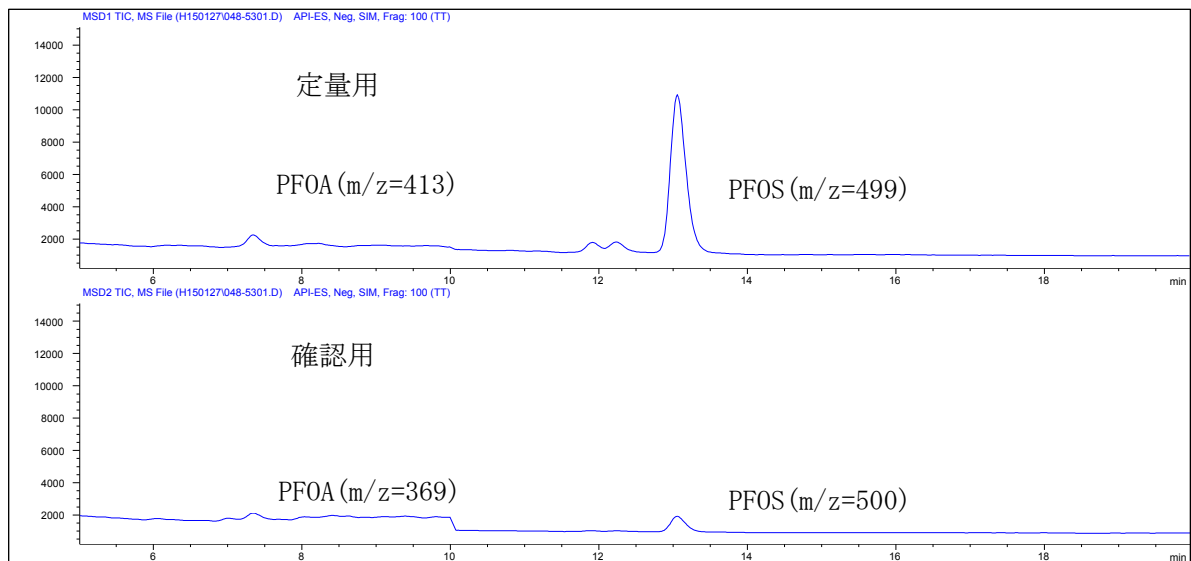


図 10. 東京湾底質 (5g) クロマトグラム

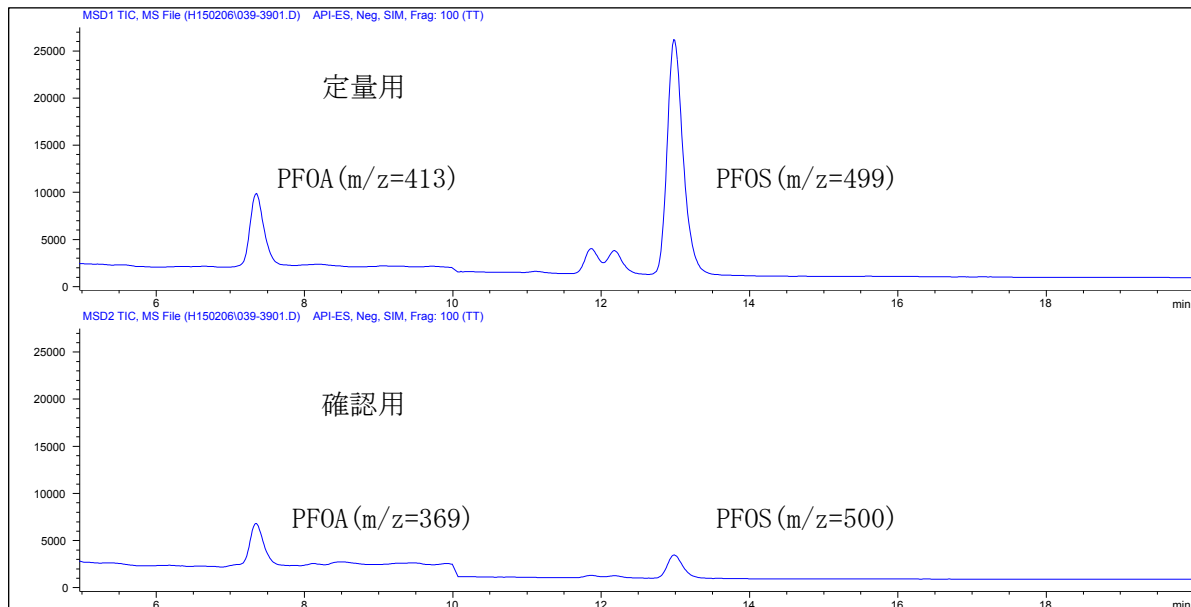


図 11. 東京湾底質 (5g) に標準 2ng/g 添加回収したクロマトグラム

【評価】

本法により、水試料中に ng/L レベル、底質及び生物中に ng/g 存在する PFOS 及び PFOA の定量が可能である。

【担当者氏名・連絡先】 岩手県環境保健研究センター

〒020-0852 盛岡市飯岡新田 1-36-1

佐々木和明 八重樫香 斎藤憲光

TEL : 019-656-5666 FAX : 019-656-5667

【参考文献】

1. Geary W. Olsen, Jean M. Burris, Jeffrey H. Mandel, Larry R. Zobel (1999) Serum Perfluorooctane sulfonate and Hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorochemical production employees JOEM .41:799-806
2. Giesy JP, Kannan K(2001) Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. Environ Sci Technol 35:1339-1342
3. 佐々木和明 齋藤憲光 , 第19回環境科学セミナー講演要旨集, 20-22、2002
4. 環境省「化学物質と環境」平成14年度 化学物質分析法開発調査報告書 p1-11
5. N. Saito, K. Sasaki, K. Nakatome, K. Harada, T. Yosinaga, A. Koizumi (2003) Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan. Arch Environ Contam Toxicol. 45:149-158
6. 八重樫香 他 第37回 日本水環境学会講演集 p554
7. 佐々木和明 他 第12回 環境化学討論会講演要旨集 p 298

Analytical Method for Perfluorooctanesulfonic Acid (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in Environmental Samples by LC/MS.

Abstract

An analytical method was developed for the determination of perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in water, sediment and biological samples by liquid-chromatography mass spectrometry (LC/MS) .

Water

A water sample was passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Presep-C Agri (Short)) at a flow rate of 10mL/min. The extract was eluted with 2mL of methanol and concentrated to 1mL. The concentrate was analyzed by negative ion-ESI-LC/MS-SIM. The recoveries for standard aqueous solutions containing 0.25, 0.50 and 0.75 ng/L were 86-105%. These relative standard deviations were 2.2-4.9%. The quantification limit in these standards were 0.14 ng/L.

The recoveries of PFOS and PFOA in surface water from the river and from the sea were 90-106%. These relative standard deviations were 2.4-7.4%.

Sediment and biological samples

A sample extracted by Accelerated Solvent Extractor (ASE) with 20% methanol solution. The extract solution was analyzed by the method same as the water samples.

The recoveries of PFOS and PFOA in sediment were 81 and 94%, respectively. These relative standard deviations were 2.2-4.3%. The recoveries of PFOS and PFOA in biological sample were 90 and 107%, respectively. These relative standard deviations were 8.2-9.5%.

