

## 6 LC-MS/MS を用いた肥料中の PFOS 及び PFOA の分析法の性能評価

— 室間共同試験による妥当性確認 —

沼寄佳奈子<sup>1</sup>, 白井裕治<sup>1</sup>

**キーワード** PFOS, PFOA, 汚泥, 液体クロマトグラフタンデム質量分析計, 共同試験

### 1. はじめに

ペルフルオロオクタンズルホン酸(以下、「PFOS」という。Fig. 1-1 はコーティング剤, 泡消火剤, 界面活性剤など<sup>1)</sup>に, また, ペルフルオロオクタン酸(以下、「PFOA」という。Fig. 1-2 はふっ素樹脂の加工助剤, 塗料, 乳化剤など<sup>2)</sup>に使用されていた有機ふっ素化合物であり, 生分解をほとんど受けず環境中に長い間残存する<sup>3~5)</sup>。PFOS は平成 22 年, PFOA は令和 3 年に化審法第 2 条第 2 項に示される第一種特定化学物質として指定されており, その製造・輸入・使用が制限されている<sup>6, 7)</sup>。また, 令和 2 年に厚生労働省は水道水中の<sup>8, 9)</sup>, 環境省は環境水中の<sup>10)</sup>PFOS 及び PFOA 含量の暫定基準値をともに 50 ng/L と設定した。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>11, 12)</sup>されている。

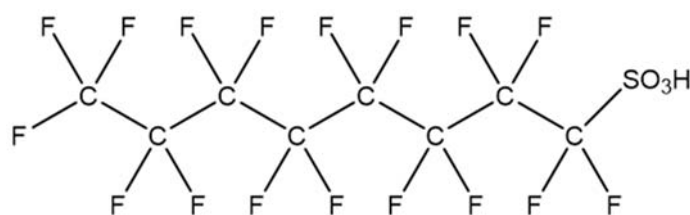


Fig. 1-1 Structural formula of PFOS

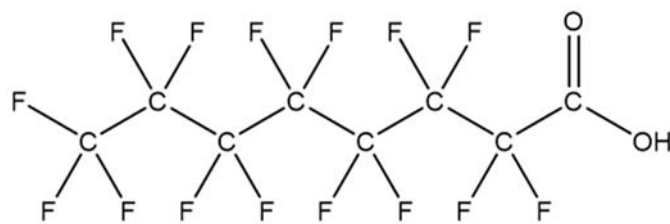


Fig. 1-2 Structural formula of PFOA

令和 2 年度に, 2 消安第 2033 号令和 2 年 7 月 31 日付け農林水産省消費・安全局農産安全管理課長より汚泥肥料中の PFOS 及び PFOA の含有量を把握するための実態調査に用いる分析法の開発を要請されたことを受け, PFOS 及び PFOA 分析法の開発及び単一試験室の妥当性を確認し, 肥料等試験法<sup>13)</sup>に記載された。

記載された液体クロマトグラフタンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いた肥料中の PFOS 及び PFOA 分析法の性能評価のため, 国際的に標準と認められる室間共同試験を実施し, 妥当性確認(Harmonized Collaborative Validation:HCV)を行ったので, その概要を報告する。

<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

## 2. 材料及び方法

### 1) 均質性確認用試料及び共同試験用試料の調製

一定量の PFOS・PFOA を含有する試料として、汚泥及び汚泥に動植物原料(食品残渣、木くず等)を加え、乾燥や発酵の処理を行ったものを 6 種類用意した。肥料等試験法<sup>14)</sup>によりそれぞれ 40 °C で約 70 時間乾燥した後、粉砕機(Retsch ZM 200)で 500 µm の網ふるいを通過するまで粉砕し、均質となるようよく混合して調製した。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。6 種類の試料について、ポリエチレン容器に約 3.8 g 充填して密封したものを各 50 個調製した。試料 300 個(50 個×6 種類)にランダムに番号を付し、試料を識別した。これらの識別した 6 種類の試料の中から、ランダムに 10 個ずつ抜き取り、均質性確認用試料とした。また、6 種類の肥料からランダムにそれぞれ 2 個ずつ抽出したものを共同試験用試料とし、以下の参加試験室に配付した。

(共同試験参加試験室)

- ・一般財団法人材料科学技術振興財団
- ・一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所
- ・一般財団法人三重県環境保全事業団
- ・株式会社環境測定サービス 筑波研究所
- ・株式会社島津製作所 グローバルアプリケーション開発センター
- ・株式会社静環検査センター
- ・公益財団法人ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター
- ・公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所
- ・ジーエルサイエンス株式会社 カスタマーサポートセンター
- ・独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部 肥飼料安全検査部 肥料鑑定課
- ・内藤環境管理株式会社
- ・日本環境科学株式会社
- ・三浦工業株式会社 三浦環境科学研究所

(50 音順)

### 2) 装置及び器具

各試験室の保有する LC-MS/MS, LC 用分離カラム, 化学天びん, 超音波発生器, 遠心分離機, 高速遠心分離機, マニホールド, 濃縮装置, 試験管ミキサーを使用した。

### 3) 分析方法

試料溶液及び検量線用混合標準液中の PFOS 及び PFOA について、直鎖体及びその直鎖体の含有量と分岐異性体の含有量を合計した量(以下、「含量」という)を、PFOS については <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS 及び <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS を、PFOA については <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA 及び <sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA を内標準物質として用いてそれぞれ算出することとした。

PFOS 及び PFOA の抽出、精製及び測定は肥料等試験法<sup>14)</sup>を用いた。なお、試料溶液の調製操作に用いる弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムは InertSep MA-2(充てん剤量 500 mg, リザーバー容量 6 mL), Oasis WAX for PFAS Analysis(充てん剤量 500 mg, リザーバー容量 6 cc)のいずれかによった。

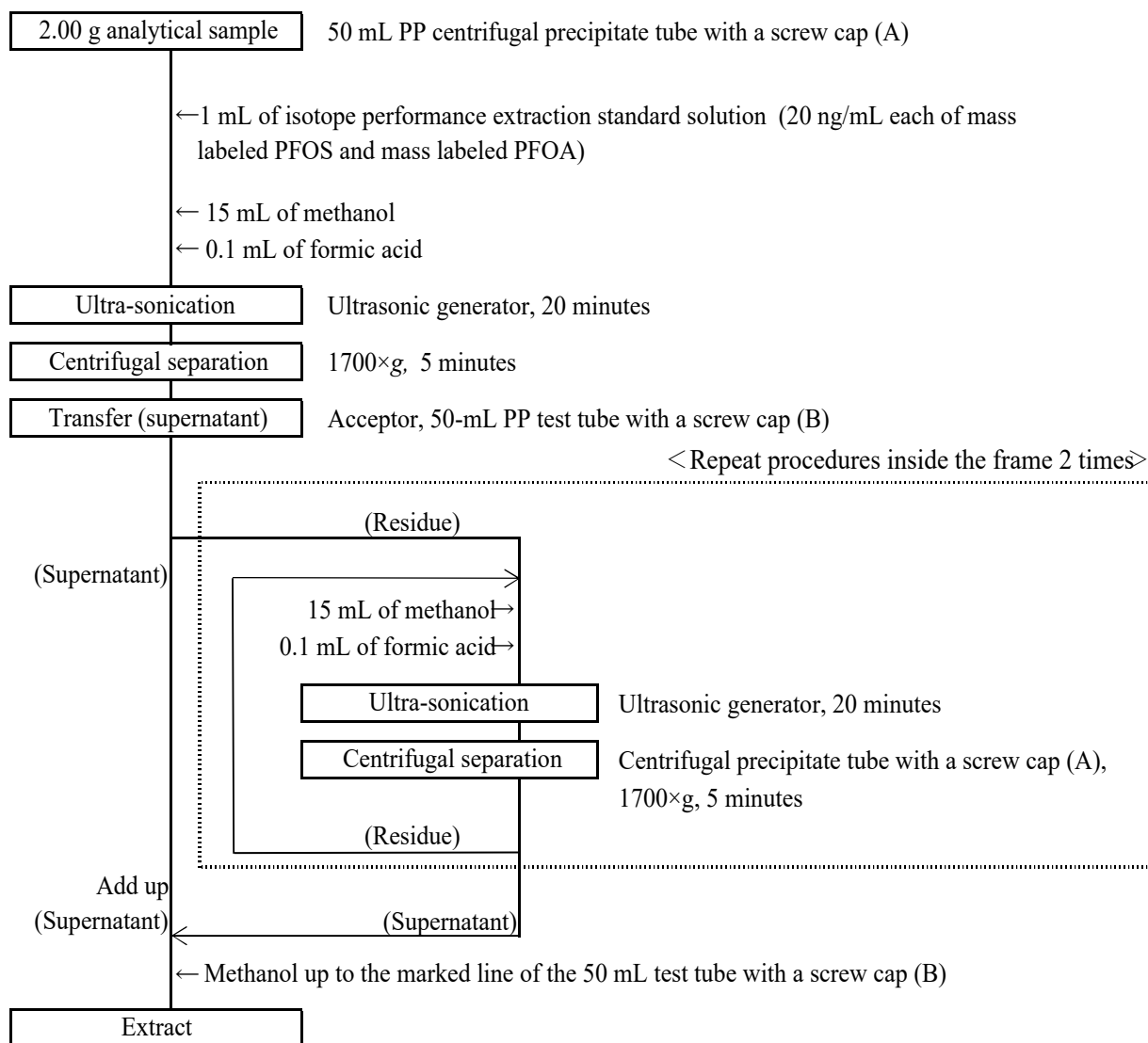
検量線用混合標準液は PFOS 及び PFOA の濃度が 0.1 ng/mL, 0.2 ng/mL, 0.5 ng/mL, 1 ng/mL, 2 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL 及び 50 ng/mL, また, 内標準物質として  $^{13}\text{C}_4$ -PFOS,  $^{13}\text{C}_8$ -PFOS,  $^{13}\text{C}_4$ -PFOA 及び  $^{13}\text{C}_8$ -PFOA がそれぞれの標準液中濃度で 2 ng/mL ずつとなるように調製し, 参加試験室へ配付した.

測定操作における LC-MS/MS の LC システム及びパラメータの一例を Table 1-1 に示したが, 各試験室が保有しているカラムで PFOS 及び PFOA の直鎖体及び分岐異性体を分離して測定できるように, それぞれの試験室において各条件を設定した. また, 各試験室が保有している LC-MS/MS に合わせて Table 1-2 に記す項目以外の質量分析計のパラメータを設定した. なお, Table 1-3 に示したプレカーサーイオン及びプロダクトイオンは質量分析計の最適化を実施して微調整してもよいこととした.

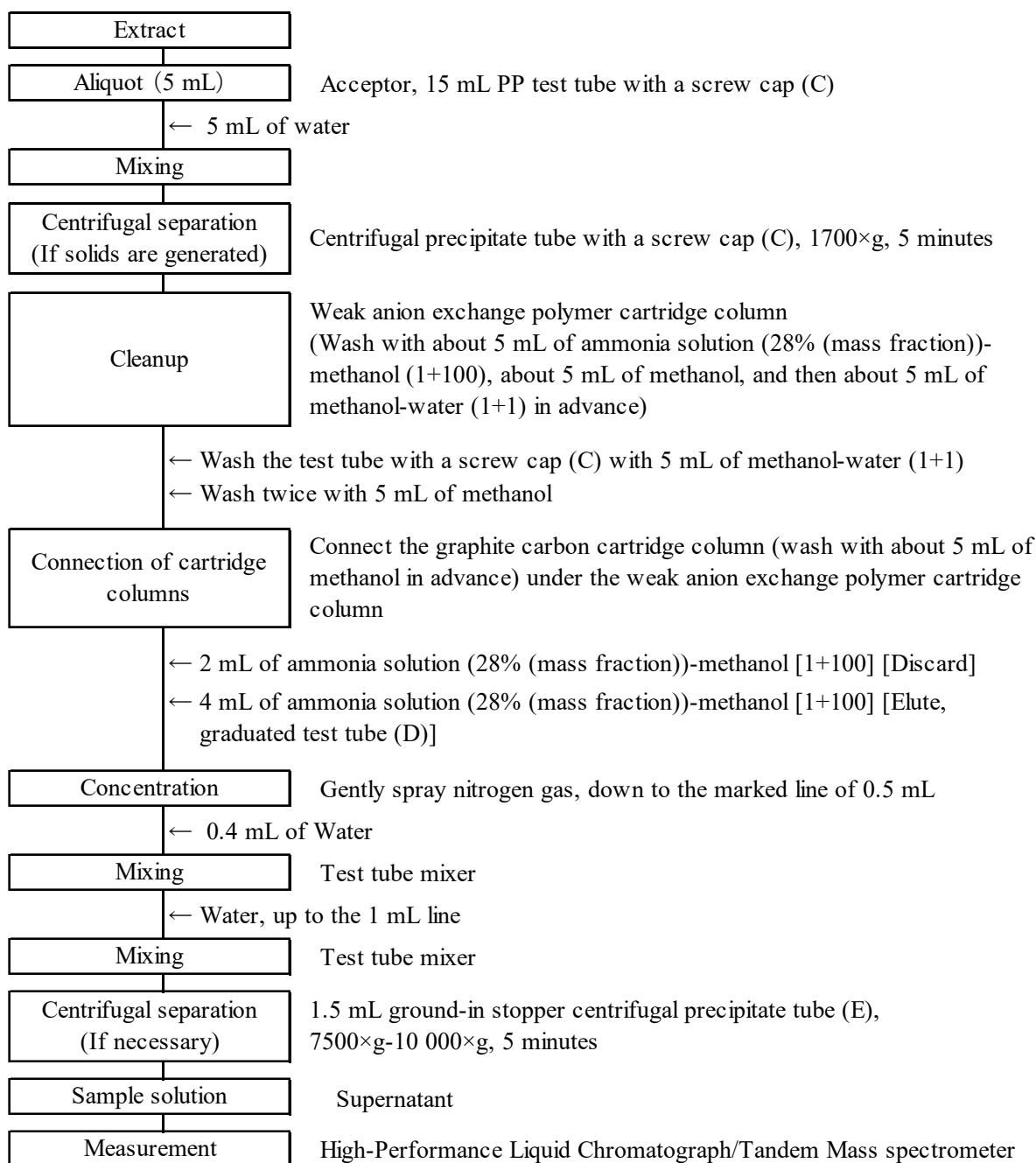
各イオンの選択反応検出 (MRM: Multiple Reaction Monitoring) クロマトグラムを記録し, それぞれのピーク面積を求めた. 各化合物とそれらの内標準物質の定量用イオンのピーク面積比を算出した. 各検量線用混合標準液の各成分とそれらの内標準物質の定量用イオンのピーク面積比の検量線を作成し, 試料溶液中の各成分の濃度を求め, 分析試料中の各成分の濃度を算出した. なお, PFOS 及び PFOA は塩としての濃度を算出した.

試料溶液中の濃度が 2 ng/mL 未満の場合は 0.1 ng/mL~2 ng/mL の濃度範囲の検量線を用い, 2 ng/mL 以上の場合は全濃度範囲の検量線を用いた.

参考のため, 分析法のフローシート (Scheme 1-1 及び Scheme 1-2), 検量線用混合標準液及び試料溶液の定量用プロダクトイオンの選択反応検出クロマトグラム例 (Fig. 2-1 及び Fig. 2-2) を示した.



Scheme 1-1 Flow sheet for PFOS and PFOA in composted sludge (Extraction procedure)



Scheme 1-2 Flow sheet for organofluorine compounds in composted sludge  
(Cleanup and measurement procedure)

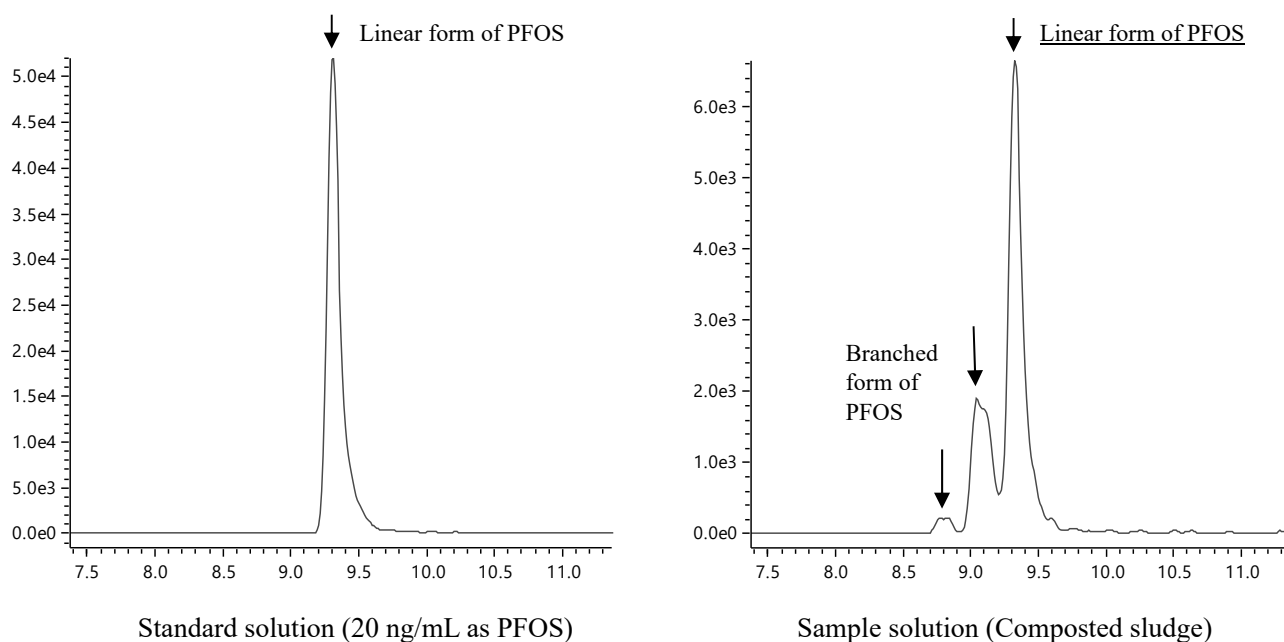


Fig. 2-1 MRM chromatogram of PFOS

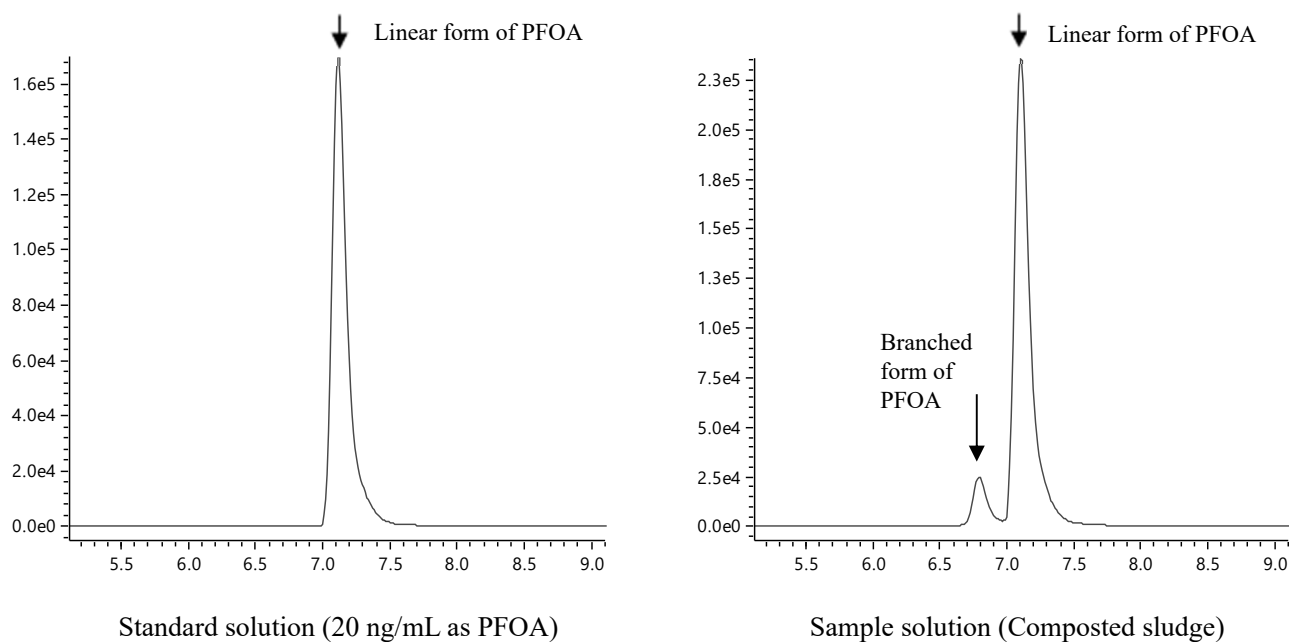


Fig. 2-2 MRM chromatogram of PFOA

Table 1-1 Example of parameter of LC system

Column: Silica gel column (chemically bonded with octadecyl group)			
(2 mm - 3 mm I.D. , 50 mm - 150 mm L, 1.6 $\mu$ m - 3.0 $\mu$ m)			
Flow rate: 0.2 mL/min - 0.5 mL/min			
Mobile phase: A: 10 mmol/L ammonium acetate solution B: Acetonitrile			
Gradient program	0 min - 1.5 min	A:60	B:40
	1.5 min - 10 min	A:60→0	B:40→100
	10 min - 12 min	A:0	B:100
	12 min - 12.2 min	A:0→60	B:100→40 (%)
Column temperature: 40 °C			
Injection volume: 5 $\mu$ L			

Table 1-2 Parameter of MS/MS

Ionization: Electrospray ionization (ESI)
Mode: Positive

Table 1-3 Monitor ion

Compound	MRM transition ( $m/z$ )		
	Precursor ion	Product ion (For determination)	Product ion (for validation)
PFOS	499	80	99
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOS	503	80	99
<sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOS	507	80	99
PFOA	413	169	369
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOA	417	169	372
<sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOA	421	172	376

#### 4) 共同試験用試料の均質性確認

IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル<sup>15)</sup>に従い、それぞれの共同試験用試料から 10 試料を抜き取り、各試料につき 2 点併行で 3) に従って分析した。なお、ねじ口遠心沈殿管にはかり入れる分析試料は 1.8 g とした。ただし、PFOS の算出は内標準物質に <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS を用い、プロダクトイオン  $m/z$  80 の直鎖体の面積により行った。PFOA の算出は内標準物質に <sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA を用い、プロダクトイオン  $m/z$  169 の直鎖体の面積により行った。

#### 5) 共同試験

試験に参加した 13 試験室と使用した機器及びカラムは Table 2, 使用した LC 条件は Table 3 のとおりであり、それぞれの試験室において送付した 12 試料について 3) に従い令和 3 年 10 月 12 日から 11 月末日まで分析することとした。

Table 2. Instruments used in the collaborative study

Labs ID <sup>a)</sup>	LC-MS/MS	LC column (i.d.×length, particle size)	guard column (i.d.×length)	delay column (i.d.×length)	cartridge column <sup>b)</sup> (sorbent weight, barrel size)
A	LC: LC-40D XS, Shimadzu MS/MS: LCMS-8045, Shimadzu	InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	Inertsil ODS-SP HP, GL Science (3.0 mm×10 mm)	Delay column for PFAS, GL Science (3.0 mm×30 mm)	InertSep MA-2 (500 mg, 6 mL)
B	LC: Nexera, Shimadzu MS/MS: QTRAP 4000, AB SCIEX	InertSustain C18 HP, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	-	Delay column for PFAS, GL Science (3.0 mm×30 mm)	InertSep MA-2 (500 mg, 6 mL)
C	LC: Nexera X2, Shimadzu MS/MS: Triple Quad 6500+, AB SCIEX	InertSustain AQ-C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	-	-	InertSep MA-2 (500 mg, 6 mL)
D	LC: LC-40 X3, Shimadzu MS/MS: LCMS-8050, Shimadzu	Shim-pack Velox SP-C18, Shimadzu (2.1 mm×100 mm, 1.8 µm)	-	Shim-pack XR-ODS II, Shimadzu (2.0 mm×75 mm)	InertSep MA-2 (500 mg, 6 mL)
E	LC: 1260 Infinity, Agilent MS/MS: QTRAP 5500, AB SCIEX	InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	-	-	InertSep MA-2 (500 mg, 6 mL)
F	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: TQD, Waters	ACQUITY UPLC BEH C18, Waters (2.1 mm×50 mm, 1.7 µm)	-	ACQUITY UPLC BEH C18, Waters (2.1 mm×100 mm)	InertSep MA-2 (500 mg, 6 mL)
G	LC: 1260 Infinity, Agilent MS/MS: 6460 Triple Quad LC/MS, Agilent	ZORBAX Eclipse Plus C18, Agilent (2.1 mm×100 mm, 1.8 µm)	-	ZORBAX Eclipse Plus C18, Agilent (2.1 mm×5 mm)	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)
H	LC: Exion LC, AB SCIEX MS/MS: Triple Quad 4500, AB SCIEX	InertSustain C18, GL Science (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	InertSustain C18, GL Science (2.1 mm×10 mm)	InertSustain AQ-C18, GL Science (2.1 mm×100 mm)	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)
I	LC: 1260 Infinity, Agilent MS/MS: QTRAP 4500, AB SCIEX	InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	-	ZORBAX Eclipse XDB-C18, Agilent (4.6 mm×50 mm)	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)
J	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: Xevo TQ .MS, Waters	Atlantis T3, Waters (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	-	-	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)
K	LC: Prominence UPLC, Shimadzu MS/MS: QTRAP 4500, AB SCIEX	InertSustainSwift C18 HP, GL Science (2.1 mm×100 mm, 3.0 µm)	InertSustainSwift C18 cartridge column E, GL Science (3 mm×10 mm)	-	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)
L	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: Xevo TQ MS, Waters	ACQUITY UPLC C18, Waters (2.1 mm×50 mm, 1.7 µm)	-	ACQUITY UPLC C18, Waters (2.1 mm×100 mm)	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)
M	LC: Nexera XR, Shimadzu MS/MS: LCMS-8050, Shimadzu	InertSustain C18 HP, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 3.0 µm)	TSKgel ODS-100V, TOSOH (2 mm×10 mm)	ZORBAX Eclipse XDB-C18, Agilent (4.6 mm×50 mm)	Waters Oasis WAX for PFAS Analysis (500 mg, 6 cc)

a) Laboratory identification (In no particular order)

b) Weak anion exchange polymer cartridge column used in cleanup operation



Table 3 Conditions of LC system used in the collaborative study

Labs ID <sup>a)</sup>	Mobile phase		Flow rate (mL/min)	Gradient program		Column temperature (°C)
	A	B		Time (min)	A:(%) B:(%)	
A	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 1.5 min	A: 60 B: 40	40
				1.5 min - 10.0 min	A: 60→0 B: 40→100	
				10.0 min - 12.0 min	A: 0 B: 100	
				12.0 min - 12.2 min	A: 0→60 B: 100→40	
				12.2 min - 20.0 min	A: 60 B: 40	
B	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 1.5 min	A: 60 B: 40	40
				1.5 min - 10.0 min	A: 60→0 B: 40→100	
				10.0 min - 12.0 min	A: 0 B: 100	
				12.0 min - 12.2 min	A: 0→60 B: 100→40	
				12.2 min - 20.0 min	A: 60 B: 40	
C	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 1.5 min	A: 60 B: 40	40
				1.5 min - 10.0 min	A: 60→0 B: 40→100	
				10.0 min - 12.0 min	A: 0 B: 100	
				12.0 min - 12.2 min	A: 0→60 B: 100→40	
				12.2 min - 18.0 min	A: 60 B: 40	
D	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 7.0 min	A: 70→35 B: 30→65	40
				7.0 min - 7.1 min	A: 35→5 B: 65→95	
				7.1 min - 7.5 min	A: 5 B: 95	
				0.35 7.5 min - 10.5 min	A: 5 B: 95	
				0.2 10.5 min - 10.6 min	A: 5→70 B: 95→30	
10.6 min - 15.0 min	A: 70 B: 30					
E	0.5 mmol/L ammonium acetate (0.1 % Formic acid contained)	Acetonitrile	0.2	0.0 - 13.0 min	A: 60→5 B: 40→95	40
				13.0 min - 18.0 min	A: 5 B: 95	
				18.0 min - 21.0 min	A: 5→60 B: 95→40	
				21.0 min - 25.0 min	A: 60 B: 40	
F	5 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.25	0.0 - 4.8 min	A: 70→5 B: 30→95	45
				4.8 min - 5.4 min	A: 5 B: 95	
				5.4 min - 5.5 min	A: 5→70 B: 95→30	
G	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 20.0 min	A: 70→10 B: 30→90	40
				20.0 min - 25.0 min	A: 10 B: 90	
				25.0 min - 25.1 min	A: 10→70 B: 90→30	
H	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.35	0.0 - 1.0 min	A: 75 B: 25	40
				1.0 min - 16.0 min	A: 75→2 B: 25→98	
				16.0 min - 20.0 min	A: 2 B: 98	
				20.0 min - 20.1 min	A: 2→75 B: 98→25	
				20.1 min - 22.5 min	A: 75 B: 25	
I	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 20.0 min	A: 75→0 B: 25→100	40
				20.0 min - 23.0 min	A: 0 B: 100	
				23.0 min - 23.1 min	A: 0→75 B: 100→25	
				23.1 min - 30.0 min	A: 75 B: 25	
J	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 20.0 min	A: 70→5 B: 30→95	40
				20.0 min - 23.0 min	A: 5 B: 95	
				23.0 min - 23.1 min	A: 5→70 B: 95→30	
				23.1 min - 25.0 min	A: 70 B: 30	
K	10 mmol/L ammonium formate (0.1 % Formic acid contained)	Methanol	0.3	0.0 - 3.0 min	A: 70 B: 30	40
				3.0 min - 10.0 min	A: 70→0 B: 30→100	
				10.0 min - 15.0 min	A: 0 B: 100	
				15.0 min	A: 0→70 B: 100→30	
				15.0 min - 20.1 min	A: 70 B: 30	
L	2 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.3	0.0 - 8.0 min	A: 99→5 B: 1→95	40
				8.0 min - 9.0 min	A: 5 B: 95	
				9.0 min - 9.1 min	A: 5→99 B: 95→1	
M	10 mmol/L ammonium acetate	Acetonitrile	0.2	0.0 - 1.5 min	A: 60 B: 40	40
				1.5 min - 10.0 min	A: 60→0 B: 40→100	
				10.0 min - 12.0 min	A: 0 B: 100	
				12.0 min - 12.2 min	A: 0→60 B: 100→40	
				12.2 min - 20.0 min	A: 60 B: 40	

### 3. 結果及び考察

#### 1) 共同試験用試料の均質性確認

6種類の試料を2点併行で分析した結果の総平均値( $\bar{x}$ )及びその成績について一元配置分散分析から得られた統計量を用いて算出した併行標準偏差( $s_r$ ), 試料間標準偏差( $s_{bb}$ ), 併行精度を含む試料間標準偏差( $s_{b+r}$ )を Table 4-1 及び Table 4-2 に示した. さらに, 肥料等試験法<sup>14)</sup> 附属書 A に示されている室間再現精度の目安( $CRSD_R$ )及びそれらから算出(式 1)した推定室間再現標準偏差( $\hat{\sigma}_R$ )を同じく Table 4-1 及び Table 4-2 に示した.

均質性の判定は, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル<sup>15)</sup>の手順を参考に実施した. まず, 分析結果の等分散性を確認するため, Cochran の検定を実施した. その結果, すべての試料において外れ値は認められなかったため, これらの結果について一元配置分散分析を実施し, 併行標準偏差( $s_r$ )及び試料間標準偏差( $s_{bb}$ )を求め, (式 3)により併行標準偏差( $s_r$ )を評価した. 次に, IUPAC/ISO/AOAC の技能試験プロトコル<sup>15)</sup>の十分に均質の判定式(式 2)を用いて均質性の判定を行った. その結果, すべての試料で判定式(式 2)を満たしていたことから, 共同試験用試料として妥当な均質性を有していることが確認された. また, (式 4)によって併行精度を含む試料間標準偏差( $s_{b+r}$ )を算出したところ, いずれの試料も推定室間再現標準偏差( $\hat{\sigma}_R$ )と比較して小さい値であった.

$$\hat{\sigma}_R = CRSD_R \times \bar{x} / 100 \quad \dots (式 1)$$

$$s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 2)$$

$$s_r < 0.5\sigma_p = 0.5\hat{\sigma}_R \quad \dots (式 3)$$

$$s_{b+r} = \sqrt{s_r^2 + s_{bb}^2} \quad \dots (式 4)$$

$\hat{\sigma}_R$ : 推定室間再現標準偏差

$CRSD_R$ : 肥料等試験法に示されている室間再現精度(室間再現相対標準偏差(%))の目安

$\bar{x}$ : 総平均値

$s_r$ : 併行標準偏差

$\sigma_p$ : 妥当性確認を行う目的に適合した標準偏差

$s_{bb}$ : 試料間標準偏差

$s_{b+r}$ : 併行精度を含む試料間標準偏差

Table 4-1 Homogeneity test result of PFOS

Sample	No. of sample <sup>a)</sup>	$\bar{x}$ <sup>b)</sup>	$CRSD_R$ <sup>c)</sup>	$\hat{\sigma}_R$ <sup>d)</sup>	$s_{bb}$ <sup>e)</sup>	$0.3\hat{\sigma}_R$ <sup>f)</sup>	$s_r$ <sup>g)</sup>	$0.5\hat{\sigma}_R$ <sup>h)</sup>	$s_{b+r}$ <sup>i)</sup>
	$p(q)$	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Composted sludge A	10(0)	12.5	22	2.7	0.4	0.8	0.5	1.4	0.6
Composted sludge B	10(0)	47.5	22	10.4	1.1	3.1	2.7	5.2	2.9
Composted sludge C	10(0)	5.88	22	1.29	0.09	0.39	0.46	0.65	0.47
Composted sludge D	10(0)	17.0	22	3.7	0.6	1.1	1.2	1.9	1.3
Composted sludge E	10(0)	3.42	22	0.75	0.21	0.23	0.29	0.38	0.36
Dried microbes F	10(0)	1.72	22	0.38	0.09	0.11	0.11	0.19	0.14

a)  $p$ =Number of samples after excluding outliers, ( $q$ )=Number of samples of outliers

b) Total mean (Number of samples after excluding outliers $\times$ n=2)

c) Criteria of precision for Reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizers 2021

d) The estimated standard deviation of reproducibility calculated based on  $CRSD_R$

e) Standard deviation of sample-to-sample

f) The value for the test :  $s_{bb} < 0.3\sigma_p = 0.3\hat{\sigma}_R$

g) Repeatability standard deviation

h) Parameters for the determination of repeatability standard deviation ( $s_r$ )

i) Standard deviation of sample-to-sample including repeatability :  $s_{b+r} = \sqrt{s_{bb}^2 + s_r^2}$

Table 4-2 Homogeneity test result of PFOA

Sample	No. of sample <sup>a)</sup>	$\bar{x}$ <sup>b)</sup>	$CRSD_R$ <sup>c)</sup>	$\hat{\sigma}_R$ <sup>d)</sup>	$s_{bb}$ <sup>e)</sup>	$0.3\hat{\sigma}_R$ <sup>f)</sup>	$s_r$ <sup>g)</sup>	$0.5\hat{\sigma}_R$ <sup>h)</sup>	$s_{b+r}$ <sup>i)</sup>
	$p(q)$	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Composted sludge A	10(0)	222	22	49	0	15	9	24	9
Composted sludge B	10(0)	116	22	26	0	8	4	13	4
Composted sludge C	10(0)	48.0	22	10.6	0.0	3.2	2.3	5.3	2.3
Composted sludge D	10(0)	16.9	22	3.7	0.0	1.1	0.4	1.9	0.4
Composted sludge E	10(0)	4.89	22	1.08	0.09	0.32	0.32	0.54	0.33
Dried microbes F	10(0)	1.07	22	0.24	0.02	0.07	0.06	0.12	0.06

Refer to the footnote Table 4-1

## 2) 共同試験成績及び外れ値検定

各試験室から報告されたそれぞれの共同試験成績を Table 5-1 及び Table 5-2 に示した。各系列の共同試験用試料の分析値を IUPAC の共同試験プロトコル<sup>16, 17)</sup>に従って統計解析した。外れ値を検出するために Cochran の検定及び Grubbs の検定を実施した。その結果、13 試験室から報告されたそれぞれの共同試験成績のうち、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 直鎖体で 2 試験室、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 含量で 2 試験室、<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 直鎖体で 1 試験室、<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 含量で 1 試験室、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA を内標準物質として分析した PFOA 直鎖体で 2 試験室、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA を内標準物質として分析した PFOA 含量で 2 試験室、<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA を内標準物質として分

析した PFOA 直鎖体で 2 試験室及び  $^{13}\text{C}_8$ -PFOA を内標準物質として分析した PFOA 含量で 2 試験室が外れ値として判定された。

Table 5-1(1) Individual result of PFOS ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

PFOS (Linear chain compound) / $^{13}\text{C}_4$ -PFOS												
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A	Composted sludge B	Composted sludge C	Composted sludge D	Composted sludge E	Dried microbes F						
A	14.7	13.1	47.0	46.8	5.66	5.04	17.1	16.4	3.34	3.44	1.62	1.63
B	11.4	12.1	51.6	48.7	5.58	5.39	14.4	17.7	3.41	3.65	1.56	1.61
C	13.5	13.7	51.0	51.3	5.30	4.99	19.7	18.1	4.10	4.33	1.77	1.80
D	13.1	14.3	56.1 <sup>b)</sup>	50.9 <sup>b)</sup>	5.96	5.50	19.0	18.0	4.15	4.84	1.83	1.70
E	12.6	12.2	48.9	48.3	4.71	4.90	16.0	16.7	3.58	3.66	1.44	1.42
F	12.5	11.9	51.5	51.4	5.29	4.74	16.0	14.8	3.81	3.62	1.52	1.33
G	11.2	11.7	42.9	43.6	4.68	4.78	14.0	14.7	3.07	3.20	1.40	1.45
H	12.7	13.0	47.0	47.4	4.45	4.20	17.5	16.1	4.12	3.75	1.80	2.25
I	14.2	13.1	50.0	49.2	5.30	5.02	18.7	18.5	4.19	4.08	2.15	1.68
J	12.5	10.7	48.8	49.1	5.44	4.75	15.7	16.4	2.88	3.64	1.10	1.35
K	14.9	15.4	55.0	55.3	6.78	7.02	23.0 <sup>e)</sup>	24.9 <sup>e)</sup>	4.79	6.18	1.51	1.27
L	11.3	11.8	48.5	48.0	3.96	3.99	14.4	13.8	2.12	2.86	1.22	1.24
M	13.1	12.9	48.8	50.9	5.50	5.56	16.9	16.9	4.06	4.23	1.31	1.67

a) Laboratory identification (In no particular order)  
 b) Outlier of Cochran test  
 c) Outlier of Single Grubbs test  
 d) Outlier of Paired Grubbs test

PFOS (Linear chain compound + Branched chain isomer) / $^{13}\text{C}_4$ -PFOS												
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A	Composted sludge B	Composted sludge C	Composted sludge D	Composted sludge E	Dried microbes F						
A	17.6	16.4	57.9	57.0	7.49	7.02	23.0	23.0	4.11	4.13	2.19	2.06
B	14.8	15.7	63.5	60.2	7.40	7.63	21.7	26.0	4.37	4.64	2.75	2.64
C	18.1	18.5	66.9	67.7	8.03	7.80	35.6 <sup>e)</sup>	30.8 <sup>e)</sup>	5.23	5.58	2.50	2.56
D	16.5	18.2	68.4 <sup>b)</sup>	62.1 <sup>b)</sup>	8.05	7.49	27.8	25.9	5.31	6.18	2.40	2.33
E	15.4	14.8	61.4	60.8	8.54	8.08	23.4	24.5	4.64	4.76	2.22	2.13
F	15.5	15.0	62.4	61.2	7.24	6.26	22.3	21.0	4.88	4.56	2.15	1.77
G	14.2	14.6	52.0	53.4	6.50	6.67	20.2	21.1	3.86	3.96	1.95	2.04
H	15.6	16.0	56.3	56.3	6.05	5.62	23.7	21.8	5.13	4.63	2.80	3.50
I	17.1	16.0	59.6	57.6	6.95	6.65	24.9	25.1	4.98	4.98	2.85	2.33
J	15.8	13.6	59.7	61.6	7.45	6.56	22.7	23.5	3.76	4.32	1.72	1.87
K	14.9	15.4	55.0	55.3	6.78	7.02	23.0	24.9	6.72	6.85	1.88	1.70
L	14.5	15.3	63.2	62.3	6.68	6.20	21.7	20.9	3.16	3.80	1.32	1.33
M	16.6	16.3	60.4	62.4	7.63	7.87	24.4	24.5	5.26	5.33	2.32	2.44

Table 5-1(2) Individual result of PFOS ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

PFOS (Linear chain compound) / $^{13}\text{C}_8$ -PFOS												
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A		Composted sludge B		Composted sludge C		Composted sludge D		Composted sludge E		Dried microbes F	
A	14.3	12.5	49.2	46.6	5.68	4.65	17.4	18.2	3.37	3.56	1.59	1.69
B	12.1	12.3	49.3	49.5	5.70	5.50	15.1	18.0	3.45	3.60	1.52	1.63
C	13.6	13.4	51.9	50.9	5.61	4.97	18.4	19.0	4.21	4.45	1.76	1.84
D	13.7	14.0	55.4	53.7	6.19	6.06	18.9	18.9	4.34	4.52	2.05	1.76
E	13.5	13.1	48.8	49.5	5.19	5.32	17.3	17.2	3.63	3.61	1.47	1.38
F	12.8	12.9	51.6	52.1	5.28	4.82	17.2	16.1	3.66	3.69	1.57	1.35
G	11.0	11.7	43.3	42.0	4.43	4.62	14.8	14.9	3.13	3.16	1.40	1.45
H	12.1	11.9	48.6	46.7	4.49	4.55	17.8	16.5	4.16	3.83	1.79	2.35
I	12.4	12.0	52.7	51.3	5.75	5.32	17.4	17.4	4.09	4.53	1.95	1.68
J	13.6	12.0	45.8	48.3	4.72	4.55	16.6	15.4	3.50	4.02	1.18	1.36
K	13.2	14.2	55.4	55.0	6.24	7.30	21.0	21.9	4.61 <sup>b)</sup>	5.96 <sup>b)</sup>	1.42	1.77
L	11.4	11.1	42.7	44.6	4.20	5.23	13.7	14.8	2.76	3.33	1.33	1.26
M	14.4	12.8	49.4	50.7	5.09	5.19	18.7	18.4	4.32	4.81	1.51	1.79

PFOS (Linear chain compound + Branched chain isomer) / $^{13}\text{C}_8$ -PFOS												
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A		Composted sludge B		Composted sludge C		Composted sludge D		Composted sludge E		Dried microbes F	
A	17.2	15.8	60.9	57.0	7.53	6.49	23.7	25.9	4.12	4.27	2.11	2.13
B	15.4	15.8	60.5	61.2	7.57	7.80	22.2	25.9	4.42	4.58	2.67	2.80
C	18.1	18.2	67.9	67.2	8.53	7.79	33.1 <sup>c)</sup>	32.1 <sup>c)</sup>	5.38	5.74	2.50	2.62
D	17.2	17.8	67.5	65.7	8.36	8.25	27.6	27.3	5.55	5.77	2.69	2.41
E	16.2	15.7	60.8	62.0	9.30	8.91	24.7	24.8	4.72	4.72	2.25	2.18
F	15.8	16.0	62.4	63.4	7.26	6.28	23.6	23.0	4.68	4.64	2.19	1.80
G	14.0	14.6	52.6	51.1	6.15	6.46	21.3	21.2	3.94	3.92	1.96	2.05
H	15.0	14.9	58.5	55.6	6.09	6.06	24.4	22.7	5.17	4.71	2.77	3.64
I	15.3	15.2	63.0	61.6	7.30	7.19	23.9	24.1	4.88	4.88	2.70	2.23
J	16.9	15.0	55.9	61.9	6.52	6.24	23.6	21.6	4.53	4.73	1.81	1.86
K	13.2	14.2	55.4	55.0	6.24	7.30	21.0	21.9	6.50	6.61	1.78	2.32
L	15.2	14.9	56.1	58.4	7.32	8.49	21.0	22.7	3.91	4.34	1.56	1.50
M	18.3	16.1	61.0	62.3	7.05	7.31	26.9	26.7	5.56	6.03	2.18	2.61

Table 5-2(1) Individual result of PFOA ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

PFOA (Linear chain compound) / $^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$		Individual result of PFOA ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )										
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A	Composted sludge B	Composted sludge C	Composted sludge D	Composted sludge E	Dried microbes F						
A	254	259	149	138	52.9	54.1	18.8	18.1	5.14	4.71	1.05	1.09
B	221	225	128	131	50.9	51.7	18.6	18.3	5.77	6.12	3.64 <sup>b)</sup>	1.50 <sup>b)</sup>
C	221	213	127	140	57.9	61.0	22.5	21.6	6.38	6.46	1.26	1.31
D	279	265	158	148	57.3	61.2	20.6	21.3	6.54	6.41	1.47	1.30
E	241	228	130	135	50.2	53.3	19.7	19.3	5.76	6.70	1.41	1.27
F	224	229	133	129	56.7	52.3	18.6	19.3	6.02	5.99	1.30	1.30
G	214	219	121	126	50.3	49.6	17.0	15.8	4.50	5.04	0.92	0.91
H	262	261	144	141	52.0	48.8	19.3	18.7	6.14	6.11	1.03	1.34
I	257	222	153	142	52.0	53.9	17.7	17.5	6.50	6.07	1.10 <sup>b)</sup>	2.57 <sup>b)</sup>
J	251	251	145	146	53.5	53.2	18.9	18.6	5.14	5.74	1.06	1.12
K	222	213	150	147	52.6	50.5	15.3	16.7	5.66	6.17	0.64	0.85
L	212	202	123	128	45.8	51.8	17.2	18.0	5.42	5.71	0.98	0.97
M	287	259	145	153	55.3	57.0	22.7	22.0	7.29	7.68	1.16	1.39

a) Laboratory identification (In no particular order)

b) Outlier of Cochran test

c) Outlier of Single Grubbs test

d) Outlier of Paired Grubbs test

PFOA (Linear chain compound + Branched chain isomer) / $^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$		Individual result of PFOA ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )										
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A	Composted sludge B	Composted sludge C	Composted sludge D	Composted sludge E	Dried microbes F						
A	268	274	166	153	54.5	54.7	19.7	18.9	5.40	4.87	1.15	1.16
B	232	237	140	146	51.5	52.4	19.4	19.0	5.77	6.31	3.64 <sup>b)</sup>	1.50 <sup>b)</sup>
C	238	229	145	160	58.2	61.6	23.5	22.4	6.53	6.69	1.38	1.31
D	286	272	168	157	57.5	61.4	21.0	21.7	6.61	6.47	1.47	1.30
E	253	241	146	152	50.9	53.8	20.6	20.2	6.02	7.12	2.12	2.20
F	235	242	148	146	56.7	52.3	19.1	19.9	6.13	6.14	1.40	1.30
G	225	230	135	141	50.8	50.0	17.8	16.5	4.66	5.22	1.06	0.99
H	273	271	158	154	52.1	49.2	20.1	19.4	6.33	6.30	1.03	1.46
I	267	231	165	156	52.0	53.9	18.3	18.1	6.50	6.22	1.25 <sup>b)</sup>	2.57 <sup>b)</sup>
J	260	262	152	152	53.5	53.4	19.4	19.2	5.24	5.93	1.37	1.22
K	222	213	150	147	52.6	50.5	15.3	16.7	5.66	6.17	0.64	0.85
L	219	209	131	138	45.8	51.9	17.6	18.3	5.45	5.77	1.01	1.00
M	299	271	160	168	55.6	57.2	23.4	22.8	7.40	7.91	1.23	1.45

Table 5-2(2) Individual result of PFOA ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

PFOA (Linear chain compound) / $^{13}\text{C}_8\text{-PFOA}$												
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A	Composted sludge B	Composted sludge C	Composted sludge D	Composted sludge E	Dried microbes F						
A	239	256	146	129	51.7	54.6	18.2	18.5	5.14	5.09	1.00	1.07
B	224	221	128	126	49.8	49.6	17.5	18.1	5.73	5.91	3.68 <sup>b)</sup>	1.53 <sup>b)</sup>
C	221	210	136	125	63.2	57.0	22.4	22.0	6.04	6.13	1.26	1.37
D	273	260	152	145	56.9	56.9	19.7	21.0	6.53	6.69	1.45	1.32
E	244	233	136	135	53.0	51.7	18.1	17.9	5.67	5.76	1.00	1.10
F	238	239	137	138	53.4	50.3	18.5	18.7	6.26	5.98	1.28	1.23
G	215	224	121	127	48.8	50.8	17.4	17.5	4.68	5.02	0.93	0.94
H	228	238	138	137	47.7	48.1	21.0	18.6	6.53	6.31	1.17	1.31
I	252	241	152	144	53.1	56.0	17.9	18.1	6.06	5.97	1.20 <sup>b)</sup>	2.43 <sup>b)</sup>
J	253	222	129	130	57.5	61.4	21.6	18.7	6.30	5.54	1.25	1.14
K	227	221	146	153	47.4	58.0	15.3	16.5	5.26	5.66	0.65	0.80
L	221	211	126	134	44.3	47.5	17.4	16.7	4.48	4.99	0.96	1.00
M	278	253	147	151	55.6	58.4	23.2	22.5	7.03	7.90	1.18	1.46

PFOA (Linear chain compound + Branched chain isomer) / $^{13}\text{C}_8\text{-PFOA}$												
Labs ID <sup>a)</sup>	Composted sludge A	Composted sludge B	Composted sludge C	Composted sludge D	Composted sludge E	Dried microbes F						
A	253	271	162	143	53.3	55.2	19.0	19.4	5.40	5.27	1.10	1.15
B	236	234	141	141	50.4	50.3	18.2	18.9	5.73	6.10	3.68 <sup>b)</sup>	1.53 <sup>b)</sup>
C	237	226	154	143	63.5	57.5	23.3	22.7	6.19	6.35	1.38	1.37
D	280	266	161	153	57.1	57.1	20.2	21.3	6.60	6.75	1.45	1.32
E	256	245	151	151	53.7	52.3	19.1	18.8	6.13	5.97	1.95	2.14
F	254	257	152	156	53.4	50.3	18.9	19.6	6.37	6.13	1.39	1.23
G	226	236	135	142	49.2	51.2	18.2	18.3	4.83	5.19	1.07	1.02
H	238	248	150	150	47.8	48.5	21.8	19.3	6.74	6.50	1.17	1.44
I	262	250	164	158	53.1	56.0	18.6	18.6	6.21	6.17	1.25 <sup>b)</sup>	2.43 <sup>b)</sup>
J	262	231	137	137	57.6	61.7	22.2	19.1	6.42	5.73	1.66	1.19
K	227	221	146	153	47.4	58.0	15.3	16.5	5.26	5.66	0.65	0.80
L	227	218	134	142	44.4	47.5	17.9	17.1	4.57	5.11	1.05	1.09
M	290	264	162	166	55.9	58.7	24.0	23.2	7.13	8.14	1.26	1.53

### 3) 併行精度及び室間再現精度

各化合物及び各分析方法について、外れ値を除外した試験結果より算出<sup>16, 17)</sup>した平均値、併行標準偏差 ( $s_r$ )、併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) 及び肥料等試験法<sup>14)</sup>附属書 A における併行相対標準偏差の目安 ( $CRSD_r$ ) 並びに室間再現標準偏差 ( $s_R$ )、室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) 及び肥料等試験法附属書 A における室間再現相対標準偏差の目安 ( $CRSD_R$ ) を Table 6-1 及び Table 6-2 に示した。

<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 直鎖体の平均値は 1.56 µg/kg～49.2 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.17 µg/kg～0.9 µg/kg、併行相対標準偏差は 1.6 %～10.7 %、室間再現標準偏差は 0.28 µg/kg～2.9 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 6.0 %～20.6 %であった。<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 含量の平均値は 2.22 µg/kg～59.8 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.20 µg/kg～1.2 µg/kg、併行相対標準偏差は 1.8 %～9.0 %、室間再現標準偏差は 0.49 µg/kg～4.0 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 6.7 %～22.1 %であった。<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 直鎖体の平均値は 1.61 µg/kg～49.4 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.18 µg/kg～1.1 µg/kg、併行相対標準偏差は 2.2 %～10.9 %、室間再現標準偏差は 0.27 µg/kg～3.8 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 7.7 %～16.7 %であった。<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS を内標準物質として分析した PFOS 含量の平均値は 2.28 µg/kg～60.2 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.19 µg/kg～1.7 µg/kg、併行相対標準偏差は 2.9 %～11.3 %、室間再現標準偏差は 0.47 µg/kg～4.5 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 7.5 %～20.6 %であった。

<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA を内標準物質として分析した PFOA 直鎖体の平均値は 1.14 µg/kg～238 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.11 µg/kg～10 µg/kg、併行相対標準偏差は 2.8 %～9.3 %、室間再現標準偏差は 0.22 µg/kg～24 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 6.8 %～18.9 %であった。<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA を内標準物質として分析した PFOA 含量の平均値は 1.28 µg/kg～248 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.13 µg/kg～10 µg/kg、併行相対標準偏差は 2.9 %～10.0 %、室間再現標準偏差は 0.36 µg/kg～25 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 6.7 %～28.5 %であった。<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA を内標準物質として分析した PFOA 直鎖体の平均値は 1.13 µg/kg～236 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.09 µg/kg～10 µg/kg、併行相対標準偏差は 3.8 %～8.0 %、室間再現標準偏差は 0.21 µg/kg～19 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 7.1 %～18.7 %であった。<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA を内標準物質として分析した PFOA 含量の平均値は 1.29 µg/kg～247 µg/kg であり、その併行標準偏差は 0.15 µg/kg～11 µg/kg、併行相対標準偏差は 3.7 %～11.4 %、室間再現標準偏差は 0.34 µg/kg～19 µg/kg、室間再現相対標準偏差は 6.4 %～26.6 %であった。

PFOS 及び PFOA の直鎖体及び含量それぞれについて 2 種類の内標準物質を使用したいずれの方法においても、併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) は肥料等試験法附属書 A の妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける精度の目安の許容内であったことから、本法の精度は同試験法の性能評価規準の要求事項に適合していることを確認した。



Table 6-1 Statistical analysis of Collaborative study results for PFOS

Measuring compounds <sup>a)</sup>	Sample	Labs	Mean <sup>c)</sup>	$s_r$ <sup>d)</sup>	$RSD_r$ <sup>e)</sup>	$2*CRSD_r$ <sup>f)</sup>	$s_R$ <sup>g)</sup>	$RSD_R$ <sup>h)</sup>	$2*CRSD_R$ <sup>i)</sup>
		$p(q)$ <sup>b)</sup>	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)	(%)	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)	(%)
PFOS Linear chain compound / <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOS	Composted sludge A	13(0)	12.8	0.6	4.9	22	1.2	9.5	44
	Composted sludge B	12(1)	49.2	0.8	1.6	22	2.9	6.0	44
	Composted sludge C	13(0)	5.17	0.26	5.0	22	0.73	14.2	44
	Composted sludge D	12(1)	16.6	0.9	5.5	22	1.7	10.2	44
	Composted sludge E	13(0)	3.81	0.39	10.1	22	0.78	20.6	44
	Dried microbes F	13(0)	1.56	0.17	10.7	22	0.28	17.7	44
PFOS Linear chain compound +Branched chain isomer / <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOS	Composted sludge A	13(0)	15.9	0.7	4.5	22	1.3	8.1	44
	Composted sludge B	12(1)	59.8	1.1	1.8	22	4.0	6.7	44
	Composted sludge C	13(0)	7.14	0.35	5.0	22	0.74	10.3	44
	Composted sludge D	12(1)	23.4	1.2	5.1	22	1.9	8.2	44
	Composted sludge E	13(0)	4.81	0.28	5.9	22	0.90	18.6	44
	Dried microbes F	13(0)	2.22	0.20	9.0	22	0.49	22.1	44
PFOS Linear chain compound / <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOS	Composted sludge A	13(0)	12.8	0.6	5.0	22	1.0	7.8	44
	Composted sludge B	13(0)	49.4	1.1	2.2	22	3.8	7.7	44
	Composted sludge C	13(0)	5.26	0.40	7.7	22	0.71	13.5	44
	Composted sludge D	13(0)	17.3	0.8	4.5	22	1.9	11.2	44
	Composted sludge E	12(1)	3.82	0.23	6.1	22	0.53	13.9	44
	Dried microbes F	13(0)	1.61	0.18	10.9	22	0.27	16.7	44
PFOS Linear chain compound +Branched chain isomer / <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOS	Composted sludge A	13(0)	15.8	0.7	4.4	22	1.4	8.6	44
	Composted sludge B	13(0)	60.2	1.7	2.9	22	4.5	7.5	44
	Composted sludge C	13(0)	7.30	0.46	6.3	22	0.95	13.0	44
	Composted sludge D	12(1)	23.8	1.1	4.7	22	2.1	8.8	44
	Composted sludge E	13(0)	4.93	0.19	3.8	22	0.77	15.6	44
	Dried microbes F	13(0)	2.28	0.26	11.3	22	0.47	20.6	44

a) Target substances / internal standard substances

b) Number of laboratories, where  $p$ =number of laboratories retained after outlier removed and ( $q$ )=number of outliers

( $n$ =The number of laboratories( $p$ ) $\times$ The number of repetition(2))

c) Grand mean value of the results of duplicate sample which were reported from laboratories retain after outlier

d) Standard deviation of repeatability

e) Repeatability relative standard deviation

f) Criteria of repeatability relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizer 2021

g) Standard deviation of reproducibility

h) Reproducibility relative standard deviation

i) Criteria of reproducibility relative standard deviation in Testing Methods for Fertilizer 2021

Table 6-2 Statistical analysis of Collaborative study results for PFOA

Measuring compounds <sup>a)</sup>	Sample	Labs	Mean <sup>e)</sup>	$s_r$ <sup>d)</sup>	$RSD_r$ <sup>e)</sup>	$2*CRSD_r$ <sup>f)</sup>	$s_R$ <sup>g)</sup>	$RSD_R$ <sup>h)</sup>	$2*CRSD_R$ <sup>i)</sup>
			$p(q)$ <sup>b)</sup>	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)	(%)	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)
PFOA Linear chain compound / <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOA	Composted sludge A	13(0)	238	10	4.3	22	24	9.9	44
	Composted sludge B	13(0)	139	5	3.7	22	11	7.6	44
	Composted sludge C	13(0)	53.3	2.1	3.9	22	3.6	6.8	44
	Composted sludge D	13(0)	18.9	0.5	2.8	22	2.0	10.4	44
	Composted sludge E	13(0)	5.97	0.31	5.2	22	0.74	12.3	44
	Dried microbes F	11(2)	1.14	0.11	9.3	22	0.22	18.9	44
PFOA Linear chain compound +Branched chain isomer / <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOA	Composted sludge A	13(0)	248	10	4.2	22	25	9.9	44
	Composted sludge B	13(0)	151	6	3.8	22	10	6.7	44
	Composted sludge C	13(0)	53.6	2.1	3.9	22	3.7	6.8	44
	Composted sludge D	13(0)	19.6	0.6	2.9	22	2.1	10.8	44
	Composted sludge E	13(0)	6.11	0.36	5.8	22	0.75	12.3	44
	Dried microbes F	11(2)	1.28	0.13	10.0	22	0.36	28.5	44
PFOA Linear chain compound / <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOA	Composted sludge A	13(0)	236	10	4.3	22	19	7.8	44
	Composted sludge B	13(0)	137	5	3.8	22	10	7.1	44
	Composted sludge C	13(0)	53.2	2.9	5.4	22	4.8	9.0	44
	Composted sludge D	13(0)	19.0	0.9	4.5	22	2.1	11.1	44
	Composted sludge E	13(0)	5.87	0.28	4.8	22	0.77	13.1	44
	Dried microbes F	11(2)	1.13	0.09	8.0	22	0.21	18.7	44
PFOA Linear chain compound +Branched chain isomer / <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOA	Composted sludge A	13(0)	247	11	4.3	22	19	7.8	44
	Composted sludge B	13(0)	149	5	3.7	22	10	6.4	44
	Composted sludge C	13(0)	53.5	2.8	5.3	22	4.8	8.9	44
	Composted sludge D	13(0)	19.6	0.9	4.6	22	2.2	11.3	44
	Composted sludge E	13(0)	6.03	0.31	5.1	22	0.78	13.0	44
	Dried microbes F	11(2)	1.29	0.15	11.4	22	0.34	26.6	44

The foot note is shown in Table 6-1.

#### 4. まとめ

LC-MS/MSを用いた肥料中のPFOS及びPFOAの分析法について、共同試験用試料6種類(汚泥及び汚泥に動植物原料(食品残渣、木くず等)を加え、乾燥や発酵の処理を行ったもの)を用いて13試験室による共同試験を実施し、LC-MS/MSを用いた汚泥肥料等中のPFOS及びPFOAの分析法について室間再現性の評価を行った。なお、共同試験用試料中のPFOS及びPFOA量は、直鎖体及び含量をそれぞれ算出し、PFOSについては<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOS及び<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOSを、PFOAについては<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFOA及び<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOAを内標準物質として用いた。その結果、PFOS直鎖体については、平均値1.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~49.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲において室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は6.0%~20.6%であった。PFOS含量については、平均値2.22  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~60.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲において室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は6.7%~22.1%であった。PFOA直鎖体については、平均値1.13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~238  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲において室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は6.8%~18.9%であった。PFOA含量については、平均値1.28  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~248  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲において、室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )は6.4%~28.5%であった。いずれの室間再現相対標準偏差( $RSD_R$ )も肥料等試験法<sup>14)</sup>附属書Aの妥当性確認の手順に示している各濃度のレベルにおける精度の目安の許容内であることから、PFOS及びPFOAの直鎖体及び含量それぞれについて2種類の内標準物質を使用した本法の精度は、いずれの方法においても肥料等試験法の性能評価標準の要求事項に適合していることが確認された。

今回検討した分析法はすでに単一試験室による試験法の妥当性確認(SLV)がされており、さらに今回の検

討で国際的に標準とされる室間共同試験による妥当性確認(HCV)が評価されたことから、この分析法の性能は肥料等試験法における性能規準の Type B (SLV 及び HCV による評価)に適合していることを確認した。

## 謝 辞

共同試験にご協力いただきました、一般財団法人材料科学技術振興財団、一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般財団法人三重県環境保全事業団、株式会社環境測定サービス 筑波研究所、株式会社島津製作所 グローバルアプリケーション開発センター、株式会社静環検査センター、公益財団法人ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター、公益社団法人日本食品衛生協会 食品衛生研究所、ジーエルサイエンス株式会社 カスタマーサポートセンター、内藤環境管理株式会社、日本環境科学株式会社、三浦工業株式会社 三浦環境科学研究所の各位に謝意を表します。

## 文 献

- 1) 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部：PFOS 含有廃棄物の処理に関する技術的留意事項，平成 23 年 3 月，p.1~2, p.23~39 (2011)  
< <https://www.env.go.jp/recycle/misc/pfos/tptc.pdf> >
- 2) 独立行政法人製品評価技術基盤機構，経済産業省製造産業局化学物質管理課，厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課化学物質安全対策室：製品含有化学物質のリスク評価，ペルフルオロオクタン酸，令和元年 9 月，p.7~9 (2019)  
< [https://www.nite.go.jp/chem/risk/products\\_risk-PFOA\\_jp\\_full.pdf](https://www.nite.go.jp/chem/risk/products_risk-PFOA_jp_full.pdf) >
- 3) 環境省環境保健部環境リスク評価室：化学物質の環境リスク評価 第 6 巻，[18]ペルフルオロオクタン酸及びその塩，平成 20 年 5 月 (2008)  
< <https://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/pdf/chpt1/1-2-2-18.pdf> >
- 4) 環境省環境保健部環境リスク評価室：化学物質の環境リスク評価 第 6 巻，[19]ペルフルオロオクタンスルホン酸及びその塩，平成 20 年 5 月 (2008)  
< <https://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/pdf/chpt1/1-2-2-19.pdf> >
- 5) 一般財団法人化学物質評価研究機構：平成 27 年度化学物質安全対策(残留性有機汚染物質等に関する調査)報告書，【添付資料 1】PFOA とその塩及び PFOA 関連物質の残留性，生物蓄積性等に関する情報，平成 28 年 3 月 (2016)  
< [https://warp.da.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/11646345/www.meti.go.jp/meti\\_lib/report/2016fy/000052.pdf](https://warp.da.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/11646345/www.meti.go.jp/meti_lib/report/2016fy/000052.pdf) >
- 6) 経済産業省政令：化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律施行令の一部を改正する政令，令和 3 年 10 月 22 日，政令第百四十四号 (2021)  
< [https://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/files/about/laws/kohu\\_seirei\\_r030421.pdf](https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/about/laws/kohu_seirei_r030421.pdf) >
- 7) 経済産業省：第一種特定化学物質一覧  
< [https://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/files/specified/class1specified\\_chemicals\\_list\\_20211022.pdf](https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/specified/class1specified_chemicals_list_20211022.pdf) >
- 8) 厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官通知：水質基準に関する省令の一部改正等について(施行通知)，令和 2 年 3 月 30 日，生食発 0330 第 1 号 (2020)

- < [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000160418\\_00005.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000160418_00005.html) >
- 9) 厚生労働省健康局長通知:水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等について,平成15年10月10日,健発第1010004号,最終改正令和3年3月26日,生食発0326第8~11号(2021)  
< [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000160418\\_00013.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000160418_00013.html) >
- 10) 環境省水・大気環境局長通知:水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準等の施行について,令和2年5月28日,環水大水発第2005281号,環水大土発第2005282号(2020)  
< <https://www.env.go.jp/press/files/jp/113982.pdf> >
- 11) 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)
- 12) 広瀬知直,尾崎博明,谷口省吾,菅野悦治,中平亨:の下水処理過程におけるPFOSおよびPFOAの挙動について,土木学会第63回年次学術講演会要旨, p.3-4 (2008)
- 13) 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)
- 14) 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/shikenho\\_2021.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/shikenho_2021.pdf) >
- 15) Thompson, M., L. R. Ellison S., Wood, R.: The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories, *Pure & Appl. Chem.*, **78**(1), 145~196 (2006)
- 16) Horwitz, W., : Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2) , 331~343 (1995)
- 17) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL (2005)

**Performance Evaluation of Determination Method  
for PFOS and PFOA in Fertilizers  
by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)  
: Harmonized Collaborative Validation**

NUMAZAKI Kanako<sup>1</sup> and SHIRAI Yuji<sup>1</sup>

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

We conducted a collaborative study to evaluate performance of testing methods of PFOS and PFOA in fertilizer, using LC-MS/MS. PFOS and PFOA was extracted with methanol under acidic condition. The extract was purified with a weak anion exchange polymer cartridge column. We analyzed PFOS and PFOA by LC-MS/MS. We sent six samples, respectively, to 12 collaborators. They analyzed these samples as blind duplicates. The mean values and the reproducibility relative standard deviation ( $RSD_R$ ) for PFOS was 1.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$  - 60.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 6.0 % - 22.1 %, respectively. The mean values and the reproducibility relative standard deviation ( $RSD_R$ ) for PFOA was 1.13  $\mu\text{g}/\text{kg}$  - 248  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 6.4% - 28.5 %, respectively. These results indicated that this method has an acceptable precision for determination of PFOS and PFOA in these concentration ranges. In conclusion, those results demonstrated the validity of these methods for PFOS and PFOA using LC-MS/MS.

*Key words* PFOS, PFOA, sludge, LC-MS/MS, collaborative study

(Research Report of Fertilizer, **15**, 66-86, 2022)