8.7 有機ふっ素化合物

8.7.a 高速液体クロマトグラフタンデム質量分析法

（1） 概要

汚泥肥料等に適用する。この試験法の分類は、有機ふっ素化合物（以下、「PFAS」という）のうち、表 1-1 に示した 4 物質は Type B、表 1-2 に示した 11 物質は Type D であり、その記号は 8.7.a-2026 又は PFC.a-3 とする。また、本法で扱う PFAS は 15 物質であり、各物質名とその略称を同表に示す。

汚泥肥料等中の有機ふっ素化合物を酸性下でメタノール抽出し、クリーンアップカートリッジを用いて精製後、高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いて測定し、分析試料中の有機ふっ素化合物を求める。なお、この試験法の性能は**備考 20**～**備考 22** に示す。

備考 1. PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の構造式は図 1-1～図 1-4 のとおりである。

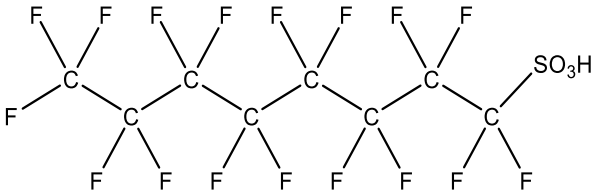


図 1-1 PFOS の構造式

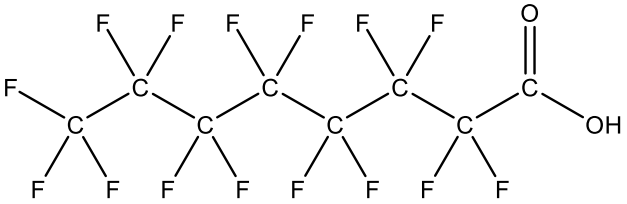


図 1-2 PFOA の構造式

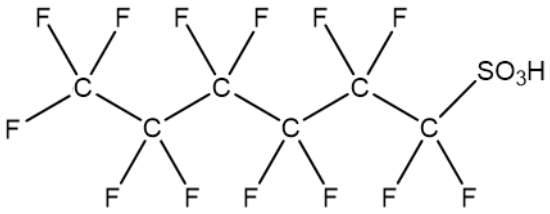


図 1-3 PFHxS の構造式

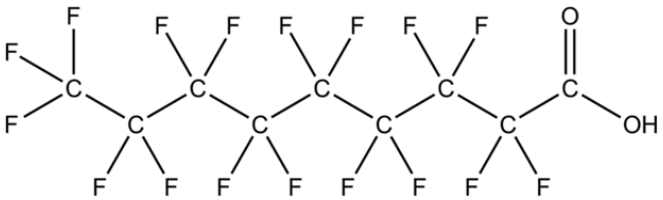


図 1-4 PFNA の構造式

表1-1 本分析法で測定可能な有機ふっ素化合物（Type B）

物質	略称	炭素数	化学式
Perfluorohexanesulfonic acid	PFHxS	C6	$CF_3(CF_2)_5SO_3H$
Perfluorooctanesulfonic acid	PFOS	C8	$CF_3(CF_2)_7SO_3H$
Perfluorooctanoic acid	PFOA	C8	$CF_3(CF_2)_6COOH$
Perfluorononanoic acid	PFNA	C9	$CF_3(CF_2)_7COOH$

表1-2　本分析法で測定可能な有機ふっ素化合物（Type D）

物質	略称	炭素数	化学式
Perfluorobutanesulfonic acid	PFBS	C4	$CF_3(CF_2)_3SO_3H$
Perfluoropentanesulfonic acid	PFPeS	C5	$CF_3(CF_2)_4SO_3H$
Perfluoroheptanesulfonic acid	PFHpS	C7	$CF_3(CF_2)_6SO_3H$
Perfluorononanesulfonic acid	PFNS	C9	$CF_3(CF_2)_8SO_3H$
Perfluorodecanesulfonic acid	PFDS	C10	$CF_3(CF_2)_9SO_3H$
Perfluorobutanoic acid	PFBA	C4	$CF_3(CF_2)_2COOH$
Perfluoropetanoic acid	PFPeA	C5	$CF_3(CF_2)_3COOH$
Perfluorohexanoic acid	PFHxA	C6	$CF_3(CF_2)_4COOH$
Perfluoroheptanoic acid	PFHpA	C7	$CF_3(CF_2)_5COOH$
Perfluorodecanoic acid	PFDA	C10	$CF_3(CF_2)_8COOH$
Perfluoroundecanoic acid	PFUdA	C11	$CF_3(CF_2)_9COOH$

（**2**） **試薬等**　試薬及び水は、次による。

a） **水**：JIS K 0557 に規定する A4 の水。

b） **アセトニトリル**：LC-MS 用又は同等の品質の試薬。

c） **メタノール**：残留農薬・PCB 試験用（濃縮 300 以上）又は同等の品質の試薬。

d） **アンモニア水**：JIS K 8085 に規定する 28 %（質量分率）の特級試薬又は同等の品質のもの。

e） **ぎ酸**：JIS K 8264 に規定する 98 %（質量分率）以上の特級又は同等の品質の試薬。

f） **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又は同等の品質の試薬。

g） **酢酸アンモニウム溶液（10 mmol/L）**(1)：酢酸アンモニウム溶液（1 mol/L）10 mL に水を加えて 1000 mL とする。

h） **溶離液**：分離条件に則した組成の溶離液を調製する。参考として附属書 D2 を示した。

i） **PFOS 標準原液**：PFOS［$C_8HF_{17}SO_3$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2)。

j） **PFOA 標準原液**：PFOA［$C_8HF_{15}O_2$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2)。

k） **PFHxS 標準原液**：PFHxS［$C_6HF_{13}SO_3$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2)。

l） **PFNA 標準原液**：PFNA［$C_9HF_{17}O_2$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2)。

m） **PFOS 標準液（1 μg/mL）**(1)：PFOS 標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFOS 標準液（1 μg/mL）を調製する。

n） **PFOA 標準液（1 μg/mL）**(1)：PFOA 標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFOA 標準液（1 μg/mL）を調製する。

o） **PFHxS 標準液（1 μg/mL）**(1)：PFHxS 標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFHxS 標準液（1 μg/mL）を調製する。

p） **PFNA 標準液（1 μg/mL）**(1)：PFNA 標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFNA 標準液（1 μg/mL）を調製する。

q） **混合標準液（100 ng/mL）**(1)：PFOS 標準液（1 μg/mL）、PFOA 標準液（1 μg/mL）、PFHxS 標準液（1 μg/mL）及び PFNA 標準液（1 μg/mL）の一定量を混合し、メタノール－水（1+1）で希釈し、混合標準液（100 ng/mL）を調製する。

r） **混合標準液（10 ng/mL）**(1)：混合標準液（100 ng/mL）の一定量をメタノール－水（1+1）で希釈し、混合標

準液（10 ng/mL）を調製する。

s） **混合標準液（1 ng/mL）**(1)： 混合標準液（10 ng/mL）の一定量をメタノール－水（1+1）で希釈し、混合標準液（1 ng/mL）を調製する。

t） **^{13}C 標識化 PFOS 内標準原液**：$^{13}C_8$-PFOS［$C_8HF_{17}SO_3$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2) (3)。

u） **^{13}C 標識化 PFOA 内標準原液**：$^{13}C_8$-PFOA［$C_8HF_{15}O_2$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2) (3)。

v） **^{13}C 標識化 PFHxS 内標準原液**：$^{13}C_3$-PFHxS［$C_6HF_{13}SO_3$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2)。

w） **^{13}C 標識化 PFNA 内標準原液**：$^{13}C_9$-PFNA［$C_9HF_{17}O_2$］の濃度及び不確かさが明らかな標準液(2)。

x） **^{13}C 標識化 PFOS 内標準液（1 μg/mL）**(1)： ^{13}C 標識化 PFOS 内標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFOS 内標準液（1 μg/mL）を調製する。

y） **^{13}C 標識化 PFOA 内標準液（1 μg/mL）**(1)： ^{13}C 標識化 PFOA 内標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFOA 内標準液（1 μg/mL）を調製する。

z） **^{13}C 標識化 PFHxS 内標準液（1 μg/mL）**(1)： ^{13}C 標識化 PFHxS 内標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFHxS 内標準液（1 μg/mL）を調製する。

aa） **^{13}C 標識化 PFNA 内標準液（1 μg/mL）**(1)： ^{13}C 標識化 PFNA 内標準原液の一定量をメタノールで希釈し、PFNA 内標準液（1 μg/mL）を調製する。

ab） **^{13}C 標識化混合内標準液（200 ng/mL）**(1)： ^{13}C 標識化 PFOS 内標準液（1 μg/mL）、^{13}C 標識化 PFOA 内標準液（1 μg/mL）、^{13}C 標識化 PFHxS 内標準液（1 μg/mL）及び ^{13}C 標識化 PFNA 内標準液（1 μg/mL）の一定量を混合し、メタノールで希釈し、^{13}C 標識化混合内標準液（200 ng/mL）を調製する。

ac） **^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）**(1)： ^{13}C 標識化混合内標準液（200 ng/mL）の一定量をメタノール－水（1+1）で希釈し、^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）を調製する。

ad） **検量線用混合標準液（0.1 ng/mL～50 ng/mL）**(1)： 混合標準液（100 ng/mL）の 1 mL～5 mL を 10 mL 全量フラスコに段階的にとり、^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）1 mL を加え、標線までメタノール－水（1+1）を加える。

混合標準液（10 ng/mL）の 1 mL～5 mL を 10 mL 全量フラスコに段階的にとり、^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）1 mL を加え、標線までメタノール－水（1+1）を加える。

混合標準液（1 ng/mL）の 1 mL～5 mL を 10 mL 全量フラスコに段階的にとり、^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）1 mL を加え、標線までメタノール－水（1+1）を加える。

ae） **分析試料添加用 ^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）**(1)： ^{13}C 標識化混合内標準液（200 ng/mL）の一定量をメタノールで希釈し、分析試料添加用 ^{13}C 標識化混合内標準液（20 ng/mL）を調製する。

注（**1**） 調製例であり、必要に応じた量を調製する。

（**2**） 標準試薬が市販されている。

（**3**） PFOS 及び PFOA の分析には $^{13}C_4$-PFOS［$C_8HF_{17}SO_3$］及び $^{13}C_4$-PFOA［$C_8HF_{15}O_2$］を使用してもよい。

備考 2. PFAS 標準原液及び ^{13}C 標識化 PFAS 内標準原液は直鎖体が主なものを用いる。

備考 3. PFAS 標準原液及び ^{13}C 標識化 PFAS 内標準原液は Wellington Laboratories 等より販売されている。ただし、Wellington Laboratories 製以外の製品を用いる場合は、室内精度を含むすべての性能パラメーターを確認する必要がある。

備考 4. PFOS 標準原液、PFHxS 標準原液、^{13}C 標識化 PFOS 内標準原液及び ^{13}C 標識化 PFHxS 内標準

原液は Na 塩又は K 塩で販売されている。PFOS 及び PFHxS の酸としての含有量は、保証書に記載されている酸としての量又は換算係数（[PFOS]Na 塩：0.958、K 塩：0.929、[PFHxS]Na 塩：0.948、K 塩：0.913）を用いて算出する。

備考 5. 酢酸アンモニウム溶液（1 mol/L）の高速液体クロマトグラフ用は富士フイルム和光純薬及び関東化学より販売されている。

備考 6. 表 1-2 に示す PFAS の分析において、PFOS、PFHxS 以外のスルホン酸系化合物は $^{13}C_8$ -PFOS を、PFOA、PFNA 以外のカルボン酸系化合物は $^{13}C_8$-PFOA を内標準物質として使用する。内標準物質としてこれら以外を用いる場合は試験室において妥当性を確認すること。

（**3**） **器具及び装置** 器具及び装置は、次のとおりとする。

a） **高速液体クロマトグラフ質量分析計**： JIS K 0136 に規定する高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計で次の要件を満たすもの。

1） **高速液体クロマトグラフ**：

① カラム槽： カラム槽温度を 30 °C～50 °C で調節できるもの。

② カラム： 内径 2 mm～3 mm、長さ 50 mm～150 mm、粒径 1.6 μm～3.0 μm のステンレス鋼のカラム管にオクタデシル基を化学結合したシリカゲルを充てんしたもの。質量分析計仕様のもの。

2） **質量分析計**：

① イオン化法： エレクトロスプレーイオン化（ESI）法

② イオン検出方式： 選択反応検出法

b） **超音波発生器**：超音波洗浄機を用いることができる。

c） **マニホールド**

d） **遠心分離機**：700×*g*～2000×*g* で遠心分離可能なもの。

e） **高速遠心分離機**：7500×*g*～10 000×*g* で遠心分離可能なもの。

f） **試験管ミキサー**：ボルテックスミキサー

g） **弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラム**： 弱陰イオン交換基を結合したポリマー500 mg を注射筒 6 mL に充てんしたもの。

h） **グラファイトカーボンカートリッジカラム**： グラファイトカーボン 400 mg が充てんされたもの。

i） **ねじ口遠心沈殿管 50 mL**： ポリプロピレン製の 50 mL のねじ口試験管で遠心分離機での操作を行えるもの。

j） **ねじ口試験管 50 mL**： ポリプロピレン製の 50 mL のねじ口試験管で 50 mL に目盛のあるもの。

k） **ねじ口試験管 15 mL**： ポリプロピレン製の 15 mL のねじ口試験管。

l） **目盛付き試験管**： 7 mL～10 mL の試験管で 0.5 mL 及び 1 mL に目盛のあるもの。

m） **標準液及び試料溶液用バイアル**： ポリプロピレン製の 0.3 mL～1 mL のねじ口バイアル。

備考 7. カラムは InertSustain C18、InertSustain C18 HP、InertSustainSwift C18 HP、InertSustain AQ-C18、ACQUITY UPLC C18、ACQUITY UPLC BEH C18、Shim-pack Velox SP-C18、ZORBAX Eclipse Plus C18、Atlantis T3 等の名称で市販されている。

備考 8. 弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムは InertSep MA-2 500 mg/6 mL、Oasis WAX 6 cc（500 mg）、Oasis WAX for PFAS Analysis 6 cc（500 mg）等の名称で市販されている。

備考 9. グラファイトカーボンカートリッジカラムは InertSep Slim GC 400 mg 等の名称で市販されている。

備考 10. 50 mL のねじ口試験管は、DigiTUBEs 等の名称で市販されている。

備考 11. **i**)～**l**)の容器、全量ピペット、パスツールピペット及びピストン式ピペットのチップは、JIS K 8891 に規定するメタノールで洗浄し、メタノールを揮散させる。

備考 12. **i**)～**k**)及び **m**)の容器にはポリエチレン製又はポリプロピレン製ねじ蓋を用い、汚染を防ぐため四ふっ化エチレン樹脂等のパッキンは使用しない。

(4) 試験操作

(4.1) 抽出 抽出は、次のとおり行う。

a) 分析試料 2 g を 1 mg の桁まではかりとり、50 mL ねじ口遠心沈殿管に入れる。

b) 分析試料添加用 ^{13}C 標識化混合内標準液(20 ng/mL)1 mL を加える。

c) 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 分間超音波処理する。

d) 遠心力約 1700×*g* で約 5 分間遠心分離し(4)、上澄み液を 50 mL ねじ口試験管に移す(5)。

e) **c**)～**d**)の操作を 2 回実施して上澄み液を合わせる。

f) 50 mL の目盛までメタノールを加え、抽出液とする。

g) 空試験として別のねじ口遠心沈殿管を用いて **b**)～**f**)の操作を実施し、空試験用抽出液を調製する。

注(**4**) 回転半径 16.5 cm 及び回転数 3000 rpm で遠心力 1700×*g* 程度となる。

(**5**) デカンテーションで移す。

備考 13. 目開き 500 μm のふるいを通過するまで粉砕して分析用試料を調製する。

(4.2) クリーンアップ(6) クリーンアップは、次のとおり行う。

a) 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(7)－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 で順次洗浄する。

b) 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 で洗浄する(8)。

c) (**4.1**)**f**)の抽出液 5 mL を 15 mL ねじ口試験管にとり、水 5 mL を加えて振り混ぜる。

d) **c**)の操作で固形分が浮遊又は沈降している場合は、遠心力約 1700×*g* で約 5 分間遠心分離する(4)。

e) **c**)の操作後の溶液又は **d**)の操作で得た上澄み液を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る。

f) 15 mL ねじ口試験管をメタノール－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る。

g) 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、順次液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。

h) **b**)で洗浄し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(9)する。

i) アンモニア水(7)－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る。

j) 目盛付き試験管をカートリッジカラムの下に置き、アンモニア水(7)－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、PFHxS、PFNA 及びそれらの内標準物質を溶出させる。

k) 窒素ガスを溶出液に穏やかに吹き付け、0.5 mL の目盛まで濃縮する。

l) 少量の水(10)を加え、試験管ミキサーで振り混ぜる(11)。

m） 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る。

n） 1.5 mL 共栓遠心沈殿管に移し入れ、遠心力 7500×*g*～10 000×*g* で約 5 分間遠心分離し[12) 13)]、上澄み液を試料溶液とする。

o） **c**）の操作の（**4.1**）**f**）の抽出液を（**4.1**）**g**）の空試験用抽出液に変えて **a**）～**n**）の操作を実施し、空試験溶液を調製する。

注（**6**） **e**）及び **f**）の操作は必要に応じて減圧装置を用いるか、又は加圧する。

（**7**） アンモニア濃度 28 %（質量分率）のアンモニア水を用いること。

（**8**） リザーバーを用いてメタノールをグラファイトカーボンカートリッジカラムに入れる。

（**9**） グラファイトカーボンカートリッジカラムのリザーバーを取り外し、弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムに直接連結する。

（**10**） 0.4 mL 程度。

（**11**） 析出物を溶かす。

（**12**） **n**）の操作は必要に応じて実施する。ただし、LC-MS/MS の保護のため、可能な範囲の遠心力で遠心分離を実施することが望ましい。

（**13**） 回転半径 7.2 cm～8.9 cm 及び回転数 10 000 rpm で遠心力 8100×*g*～10 000×*g* 程度となる。

備考 14. （**4.1**）**f**）の抽出液、（**4.1**）**g**）の空試験用抽出液、（**4.2**）**n**）の試料溶液及び（**4.2**）**o**）の空試験溶液は安定であるので密封して常温で保存し、後日その後の操作を実施してもよい。

備考 15. **c**）の操作で水を加えると溶液は濁るが、固形分が浮遊又は沈降していない場合は、**e**）以降の操作を実施しても差し支えない。

固形分が浮遊又は沈降している場合は、**d**）の操作の遠心分離を実施し、**e**）及び **f**）の操作においては可能な範囲で固形分を弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムに加えない。また、メタノールは、固形分を溶解するので、**g**）の操作では容器を洗浄せずに直接弱陰イオン交換ポリマーカートリッジカラムに加える。

（**4.3**） **測定** 測定は、JIS K 0136 及び次のとおり行う。具体的な測定操作は、測定に使用する高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計の操作方法による。

a） **高速液体クロマトグラフ質量分析計の測定条件**

測定条件の一例を附属書 D2 の表 1 及び表 2 に示す。実際の測定条件は使用する機器やカラム等に合わせて附属書 D2 を参考に以下の項目を設定する。

1） **高速液体クロマトグラフ**:

① カラム： オクタデシル基を化学結合したシリカゲルカラム（内径 2 mm～3 mm、長さ 50 mm～150 mm、粒径 1.6 μm～3.0 μm）

② 流量： 0.2 mL/min～0.5 mL/min

③ 溶離液： A: 酢酸アンモニウム溶液（10 mmol/L）等　B: アセトニトリル又はメタノール

④ グラジエント： 附属書 D2　表 1 及び表 2 参照

⑤ カラム恒温槽： 30 °C～50 °C

⑥ 注入量： 5 μL

2）質量分析計:

① イオン化法: エレクトロスプレーイオン化(ESI)法

② モード: ネガティブ

③ モニターイオン: 表 2 のとおり

表2　測定対象物質及び内標準物質のモニターイオン

	質量電荷比(*m*/*z*)		
物質	プレカーサーイオン	プロダクトイオン(定量用)	プロダクトイオン(確認用)
$^{13}C_4$-PFOS	503	80	99
$^{13}C_8$-PFOS	507	80	99
$^{13}C_4$-PFOA	417	169	372
$^{13}C_8$-PFOA	421	172	376
$^{13}C_3$-PFHxS	402	80	99
$^{13}C_9$-PFNA	472	427	223
PFBS	299	80	99
PFPeS	349	80	99
PFHxS	399	80	99
PFHpS	449	80	99
PFOS	499	80	99
PFNS	549	80	99
PFDS	599	80	99
PFBA	213	169	—
PFPeA	263	219	—
PFHxA	313	269	119
PFHpA	363	319	169
PFOA	413	169	369
PFNA	463	419	219
PFDA	513	469	269
PFUdA	563	519	269

備考 16. 高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計の測定条件は一例である。PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA に加えて、PFDS、PFHxA、PFHpA、PFDA 及び PFUdA には炭素鎖が直鎖状に結合したもの(以下、「直鎖体」とする。)の他に炭素鎖が分岐した構造異性体(以下、「分岐異性体」とする。)が存在する(参考図 3-1～参考図 3-9 を参照)。使用するカラムで各物質の直鎖体と分岐異性体のピークを分離して測定できるように、**1**)の①～⑤の高速液体クロマトグラフの条件を設定する。また、使用する高速液体クロマトグラフ質量分析計に合わせて **2**)の①～③以外の質量分析計のパラメーターを設定する。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。なお、直鎖体と分岐鎖異性体のピーク感度は同等と仮定し、直鎖体と分岐異性体を合量として定量することができる。その際、分析

値とあわせ、合量であることを明記すること。

備考 17. 各物質の保持時間に相当する位置に移動相及び高速液体クロマトグラフ質量分析計由来の不純物のピークが発生する場合は、溶離液の送液ポンプと測定に供する溶液の注入口の間にディレイカラム（内径 2 mm～4.6 mm、長さ 10 mm～50 mm のステンレス鋼のカラム管にオクタデシル基を化学結合したシリカゲル又は高純度活性炭を充てんしたもの）を装着して不純物のピークを試験液中の PFAS のピークから分離する等により、測定に影響しないよう対処することが望ましい。ディレイカラムの例を附属書 D2 の表 1 及び表 2 に示す。

b） 検量線の作成

1） 各検量線用混合標準液 5 µL を高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計に注入し、PFOS、PFOA、PFHxS、PFNA、^{13}C 標識化 PFOS、^{13}C 標識化 PFOA、^{13}C 標識化 PFHxS 及び ^{13}C 標識化 PFNA の定量用イオン（*m*/*z*）及び確認用イオン（*m*/*z*）のクロマトグラムを記録し、それぞれのピーク面積を求める。

2） PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の定量用イオン（*m*/*z*）のピーク面積と ^{13}C 標識化 PFOS、^{13}C 標識化 PFOA、^{13}C 標識化 PFHxS 及び ^{13}C 標識化 PFNA の定量用イオン（*m*/*z*）のピーク面積の比を算出する。

3） PFOS、PFOA、PFHxS、PFNA、^{13}C 標識化 PFOS、^{13}C 標識化 PFOA、^{13}C 標識化 PFHxS 及び ^{13}C 標識化 PFNA の定量用イオン（*m*/*z*）と確認用イオン（*m*/*z*）のピーク面積の比を算出する。

4） 各検量線用混合標準液の PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 濃度と **2**）で求めたピーク面積比の検量線を作成する。

c） 試料の測定

1） （**4.2**）**l**）の試料溶液を 5 µL を **b**）**1**）～**3**）と同様に操作する[12]。

2） 検量線から試料溶液中の PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 濃度を求め、分析試料中の PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 濃度を算出する。

d） 空試験溶液の測定

1） （**4.2**）**o**）の空試験溶液 5 µL を **b**）**1**）～**3**）と同様に操作する。

2） 検量線から空試験溶液中の PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 濃度を求め、検量線濃度範囲の下限（0.1 ng/mL）を下回ることを確認する。

注（14） 試料溶液の定量用イオン（*m*/*z*）と確認用イオン（*m*/*z*）のピーク面積比が、標準液のピーク面積比に対して±30 %程度の範囲内であることを確認する。なお、ピーク面積比は濃度によって異なることがある。

備考 18. 分岐異性体の定量を行う場合は、PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA の分岐異性体の定量用イオン（*m*/*z*）のピーク面積と ^{13}C 標識化 PFOS、^{13}C 標識化 PFOA、^{13}C 標識化 PFHxS 及び ^{13}C 標識化 PFNA の定量用イオン（*m*/*z*）のピーク面積の比を算出して定量する。

備考 19. **d**）**2**）で求めた空試験溶液中の PFOS、PFOA、PFHxS 及び PFNA 濃度が、検量線濃度範囲の下限（0.1 ng/mL）以上の場合は、原因を調べ測定に支障がないレベルまでブランク値を低減した後、空試験溶液の調製を再度行って、再試験を行う。

備考 20. 真度評価のため、汚泥肥料を用いて添加回収試験を実施した結果、1 µg/kg、5 µg/kg 及び 50 µg/kg の添加レベルでの PFAS 15 物質の回収率は表 3-1 及び表 3-2 に示すとおりであった。

精度評価のため、汚泥肥料 2 種類を用いた日を変えての分析結果について、一元配置分散分析を用

いて解析し、併行精度及び中間精度を算出した結果を表 4 に示す。

なお、この試験法の各物質の定量下限は表 5 に示すとおり推定された。

表3-1　添加回収試験による真度 [1](%) の評価（スルホン酸系）

添加濃度（μg/kg）[2]	PFBS	PFPeS	PFHxS	PFHpS	PFOS	PFNS	PFDS
1	87.5	95.6	93.1	93.6	88.8	87.7	71.8
5	83.9	90.8	91.9	90.1	86.7	90.2	79.2
50	82.9	80.3	86.5	83.1	82.4	78.2	70.1

1) n =3の平均値

2) 添加された試料中のPFAS濃度

表3-2　添加回収試験による真度 [1](%) の評価（カルボン酸系）

添加濃度（μg/kg）[2]	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUdA
1	97.3	90.1	97.7	100.5	88.5	99.3	91.5	76.5
5	89.0	86.3	88.4	89.0	89.7	89.8	81.4	73.8
50	84.6	84.1	85.7	85.4	86.6	85.0	80.8	73.6

1) n =3の平均値

2) 添加された試料中のPFAS濃度

表4 PFAS 15物質の中間精度の統計解析結果

物質	試料名	日数[1]	平均値[2]	併行精度		中間精度	
				s_r[3]	RSD_r[4]	$s_{I(T)}$[5]	$RSD_{I(T)}$[6]
		T	(μg/kg)	(μg/kg)	(%)	(μg/kg)	(%)
PFBS	汚泥肥料1	5	4.76	0.26	5.5	0.32	6.7
	汚泥肥料2	5	43.3	1.1	2.6	1.9	4.3
PFPeS	汚泥肥料1	5	5.01	0.30	6.0	0.50	10.0
	汚泥肥料2	5	45.1	0.43	0.9	1.7	3.8
PFHxS	汚泥肥料1	5	4.99	0.25	5.0	0.31	6.2
	汚泥肥料2	5	47.8	1.6	3.3	1.7	3.6
PFHpS	汚泥肥料1	5	5.03	0.26	5.1	0.26	5.2
	汚泥肥料2	5	46.9	1.5	3.2	1.9	4.0
PFOS	汚泥肥料1	5	5.04	0.16	3.1	0.29	5.8
	汚泥肥料2	5	46.3	1.1	2.4	1.1	2.4
PFNS	汚泥肥料1	5	4.68	0.21	4.5	0.24	5.1
	汚泥肥料2	5	43.8	1.3	3.0	1.3	3.0
PFDS	汚泥肥料1	5	4.32	0.36	8.3	0.36	8.3
	汚泥肥料2	5	39.9	2.1	5.2	2.6	6.5
PFBA	汚泥肥料1	5	5.14	0.17	3.3	0.32	6.2
	汚泥肥料2	5	46.5	1.5	3.1	2.0	4.3
PFPeA	汚泥肥料1	5	5.15	0.13	2.6	0.21	4.1
	汚泥肥料2	5	46.3	1.2	2.6	1.9	4.1
PFHxA	汚泥肥料1	5	5.44	0.18	3.3	0.22	4.1
	汚泥肥料2	5	47.9	1.4	3.0	1.9	4.0
PFHpA	汚泥肥料1	5	5.22	0.13	2.5	0.28	5.4
	汚泥肥料2	5	48.4	1.2	2.5	1.7	3.6
PFOA	汚泥肥料1	5	5.26	0.07	1.4	0.18	3.5
	汚泥肥料2	5	48.9	1.2	2.4	1.2	2.5
PFNA	汚泥肥料1	5	5.20	0.18	3.4	0.18	3.4
	汚泥肥料2	5	50.0	0.41	0.8	0.85	1.7
PFDA	汚泥肥料1	5	4.76	0.19	4.1	0.27	5.7
	汚泥肥料2	5	45.1	1.8	4.1	1.8	4.1
PFUdA	汚泥肥料1	5	4.27	0.37	8.7	0.44	10.4
	汚泥肥料2	5	40.7	2.3	5.5	2.8	6.8

1） 2点併行分析を実施した日数

2） 平均値（n＝日数（T）×併行数（2））

3） 併行標準偏差

4） 併行相対標準偏差

5） 中間標準偏差

6） 中間相対標準偏差

表5 PFAS 15種の定量下限の推定値（μg/kg）

化合物	定量下限	化合物	定量下限
PFBS	0.5	PFBA	0.6
PFPeS	0.9	PFPeA	0.2
PFHxS	0.6	PFHxA	0.2
PFHpS	0.5	PFHpA	0.3
PFOS	0.5	PFOA	0.4
PFNS	0.5	PFNA	0.3
PFDS	0.7	PFDA	0.2
		PFUdA	0.3

備考 21. PFOS 及び PFOA について、室間再現精度を推定するために国際的に標準とされる共同試験を実施して得られた分析値を用いて統計解析した結果を表 6 に示す。

表6 PFOS及びPFOA分析試験法の妥当性確認のための室間共同試験結果の解析結果

物質[1]	定量	試料名	試験室数[2]	平均値[3] (μg/kg)	s_r[4] (μg/kg)	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (μg/kg)	RSD_R[7] (%)
PFOS $^{13}C_8$-PFOS	直鎖体	汚泥肥料 A	13(0)	12.8	0.63	5.0	1.0	7.8
		汚泥肥料 B	13(0)	49.4	1.1	2.2	3.8	7.7
		汚泥肥料 C	13(0)	5.26	0.40	7.7	0.71	13.5
		汚泥肥料 D	13(0)	17.3	0.78	4.5	1.9	11.2
		汚泥肥料 E	12(1)	3.82	0.23	6.1	0.53	13.9
		乾燥菌体肥料 F	13(0)	1.61	0.18	11	0.27	16.7
	合量[8]	汚泥肥料 A	13(0)	15.8	0.70	4.4	1.4	8.6
		汚泥肥料 B	13(0)	60.2	1.7	2.9	4.5	7.5
		汚泥肥料 C	13(0)	7.30	0.46	6.3	0.95	13.0
		汚泥肥料 D	12(1)	23.8	1.1	4.7	2.1	8.8
		汚泥肥料 E	13(0)	4.93	0.19	3.8	0.77	15.6
		乾燥菌体肥料 F	13(0)	2.28	0.26	11	0.47	20.6
PFOA $^{13}C_8$-PFOA	直鎖体	汚泥肥料 A	13(0)	236	10	4.3	19	7.8
		汚泥肥料 B	13(0)	137	5.2	3.8	10	7.1
		汚泥肥料 C	13(0)	53.2	2.9	5.4	4.8	9.0
		汚泥肥料 D	13(0)	19.0	0.86	4.5	2.1	11.1
		汚泥肥料 E	13(0)	5.87	0.28	4.8	0.77	13.1
		乾燥菌体肥料 F	11(2)	1.13	0.091	8.0	0.21	18.7
	合量[8]	汚泥肥料 A	13(0)	247	11	4.3	19	7.8
		汚泥肥料 B	13(0)	149	5.5	3.7	10	6.4
		汚泥肥料 C	13(0)	53.5	2.8	5.3	4.8	8.9
		汚泥肥料 D	13(0)	19.6	0.91	4.6	2.2	11.3
		汚泥肥料 E	13(0)	6.03	0.31	5.1	0.78	13.0
		乾燥菌体肥料 F	11(2)	1.29	0.15	11.4	0.34	26.6

1) 上段：測定物質，下段：内標準物質
2) 有効試験室数（外れ値を報告した試験室数）
3) 平均値(n=有効試験室数×試料数(2))
4) 併行標準偏差
5) 併行相対標準偏差
6) 室間再現標準偏差
7) 室間再現相対標準偏差
8) 直鎖体と分岐異性体の合量

備考 22. PFHxS 及び PFNA について、室間再現精度を推定するために国際的に標準とされる共同試験を実施して得られた分析値を用いて統計解析した結果を表 7 に示す。なお、分岐異性体について、PFHxS は汚泥肥料 6、PFNA は汚泥肥料 5 及び 6 に含まれていた。

表7 PFHxS及びPFNA分析試験法の妥当性確認のための室間共同試験結果の解析結果

物質[1]	定量	試料名	試験室数[2]	平均値[3] (μg/kg)	s_r[4] (μg/kg)	RSD_r[5] (%)	s_R[6] (μg/kg)	RSD_R[7] (%)
PFHxS $^{13}C_3$-PFHxS	直鎖体	汚泥肥料 1	13(0)	10.2	0.29	2.8	0.52	5.1
		汚泥肥料 2	12(1)	5.17	0.16	3.1	0.47	9.0
		汚泥肥料 3	13(0)	25.3	0.80	3.1	1.3	5.2
		汚泥肥料 4	13(0)	50.4	1.2	2.3	1.8	3.5
		汚泥肥料 5	12(1)	2.21	0.082	3.7	0.24	10.9
	合量[8]	汚泥肥料 6	12(1)	4.49	0.095	2.1	0.22	5.0
PFNA $^{13}C_9$-PFNA	直鎖体	汚泥肥料 1	13(0)	10.3	0.46	4.5	0.46	4.5
		汚泥肥料 2	13(0)	5.07	0.16	3.1	0.26	5.1
		汚泥肥料 3	13(0)	25.1	0.76	3.0	1.4	5.5
		汚泥肥料 4	13(0)	50.6	1.4	2.8	2.3	4.5
	合量[8]	汚泥肥料 5	11(2)	2.46	0.11	4.4	0.12	4.9
		汚泥肥料 6	12(1)	13.0	0.36	2.8	0.81	6.2

1) 上段：測定物質, 下段：内標準物質
2) 有効試験室数（外れ値を報告した試験室数）
3) 平均値(n=有効試験室数×試料数(2))
4) 併行標準偏差
5) 併行相対標準偏差
6) 室間再現標準偏差
7) 室間再現相対標準偏差
8) 直鎖体と分岐異性体の合量

参考文献

1） 白井裕治, 沼嵜佳奈子: 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)

2） 沼嵜佳奈子, 白井裕治: 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－, 肥料研究報告, **15**, 66~86 (2022)

3） 白井裕治, 沼嵜佳奈子, 秋元里乃: 有機ふっ素化合物の分析, 肥料研究報告, **15**, 87~107 (2022)

4） 眞鍋典子, 橋本良美: 汚泥肥料中の PFHxS 及び PFNA を含む PFAS 13 物質の分析法開発 －単一試験室による妥当性確認－, 肥料研究報告, **19**, 19~40 (2026)

5） 眞鍋典子, 橋本良美: 汚泥肥料中の PFHxS 及び PFNA の分析法の開発 －室間共同試験による妥当性確認－, 肥料研究報告, **19**, 56~64 (2026)

(5) 有機ふっ素化合物試験法フローシート 汚泥肥料等中有機ふっ素化合物の試験法のフローシートを次に示す。

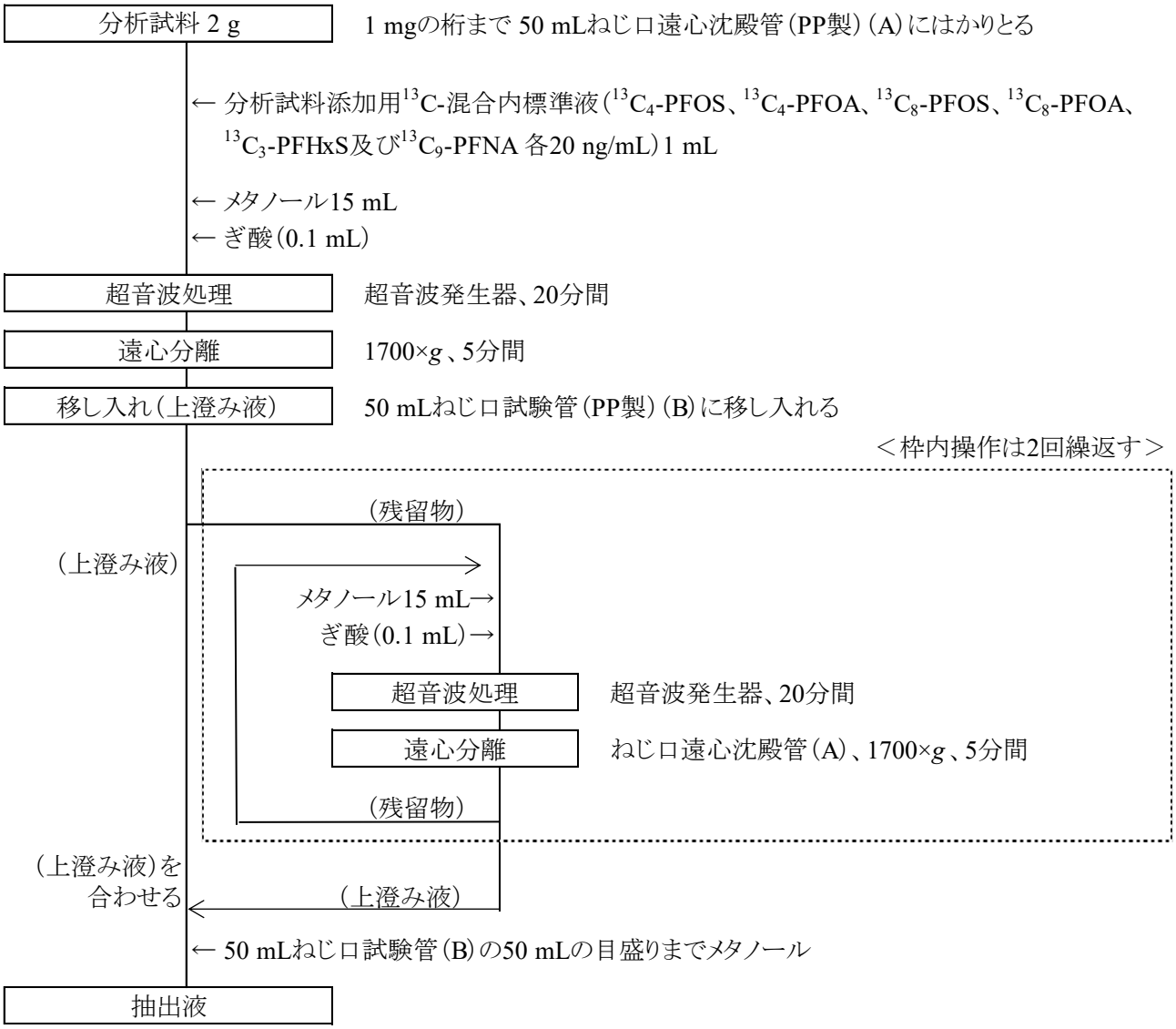


図2-1 汚泥肥料中のPFASの分析法フローシート(抽出操作)

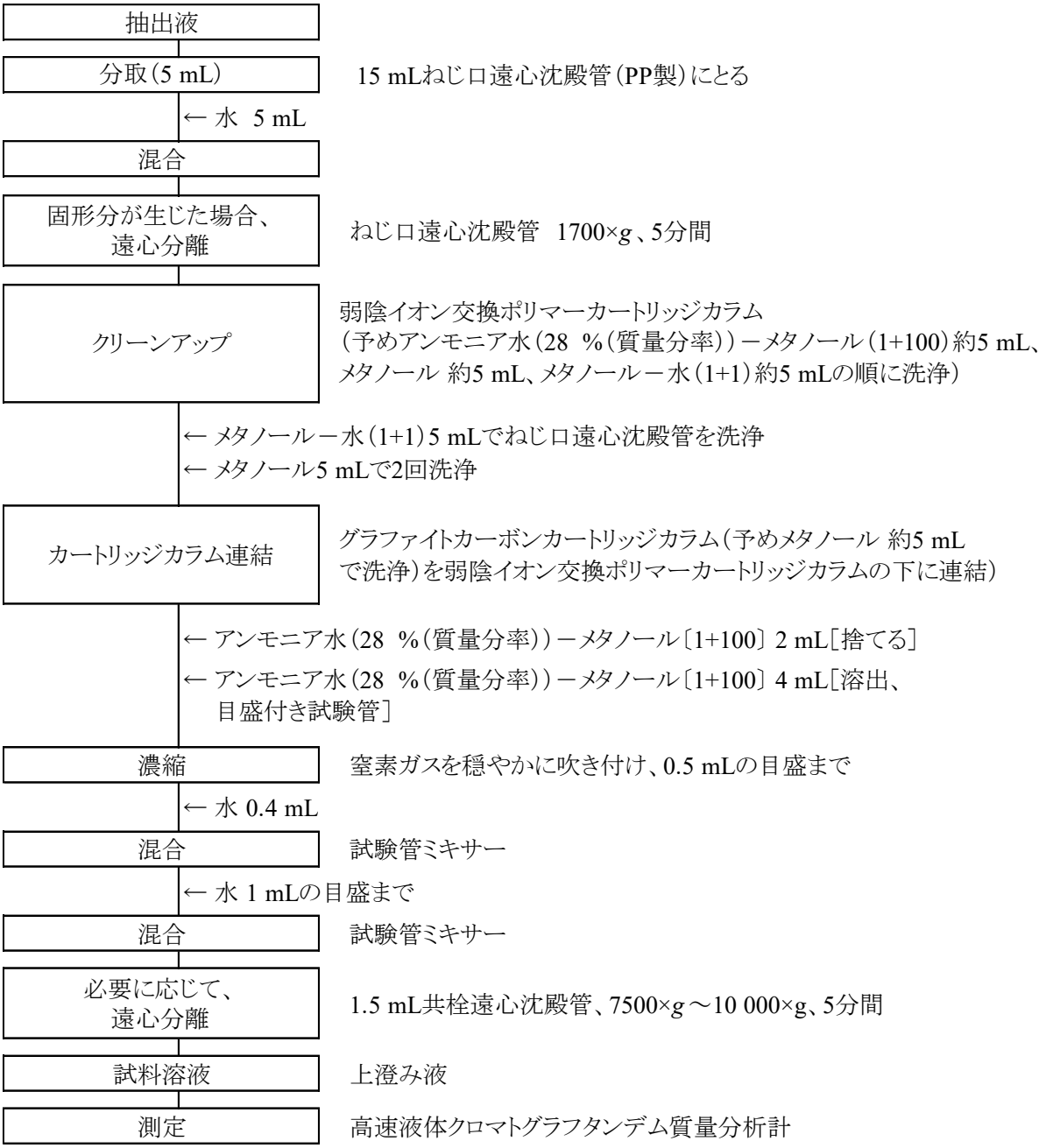


図2-2 汚泥肥料中のPFASの分析法フローシート（クリーンアップ操作及び測定）

参考 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多重反応モニタリング（MRM：Multiple Reaction Monitoring）クロマトグラム例を次に示す。

LC-MS/MS の測定条件

分離用カラム： InertSustain C18（内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3 μm）

ガードカラム： InertSustain C18（内径 3.0 mm, 長さ 10 mm, 粒径 3 μm）

ディレイカラム： Delay column for PFAS（内径 3 mm、長さ 30 mm）

流量： 0.3 mL/min

溶離液： A：酢酸アンモニウム溶液(10 mmol/L)　B: アセトニトリル

グラジエント： 0 min（20 %B）→2.0 min（20 %B）→15 min（100 %B）→15.1 min（20 %B）→20 min（20 %B）

カラム恒温槽： 40 °C

注入量： 5 μL

プローブ電圧： -1 kV

DL 温度： 200 °C

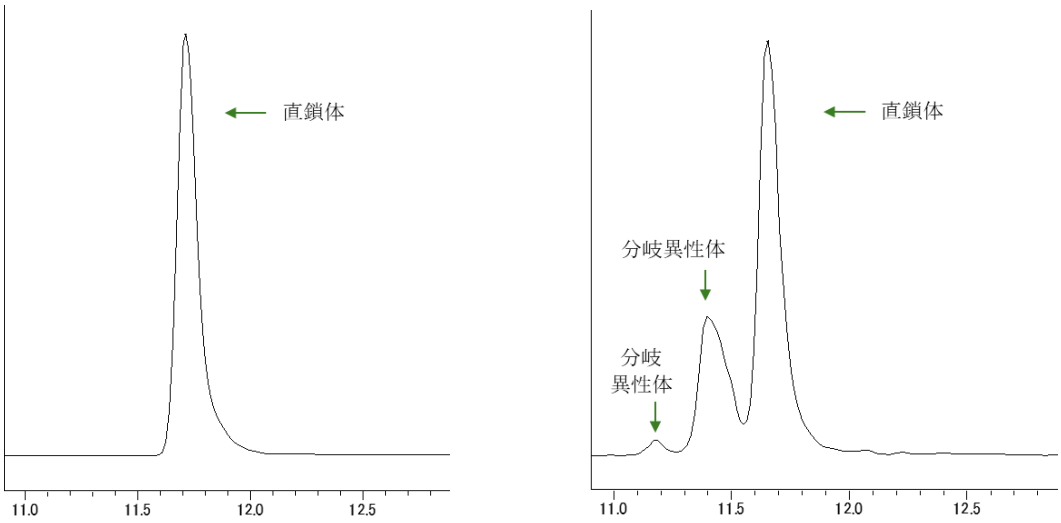
ヒートブロック温度： 300 °C

インターフェース温度： 300 °C

ネブライザーガス流量： 3 L/min

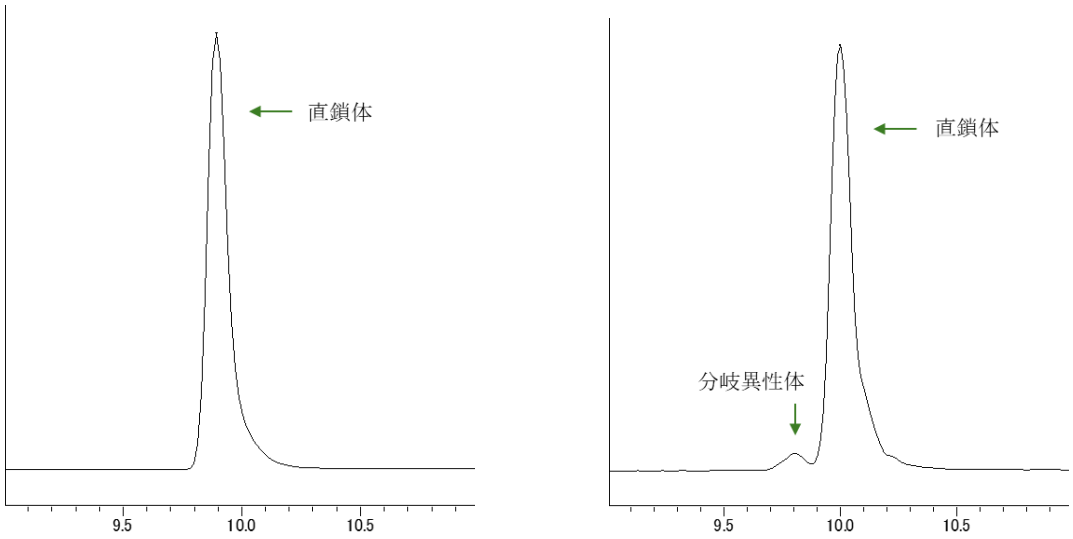
ドライイングガス流量： 5 L/min

ヒーティングガス流量： 15 L/min



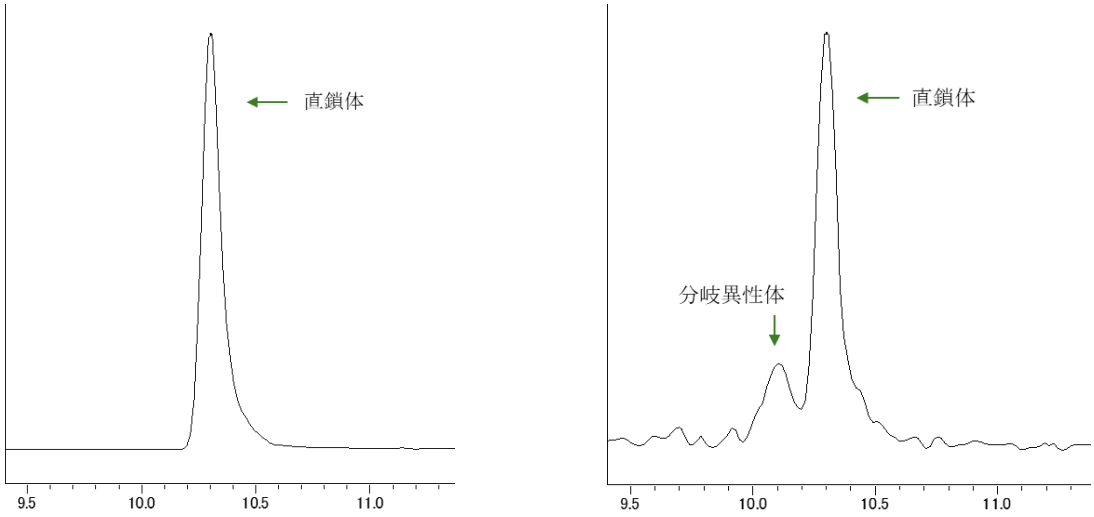
標準液（PFOS として 20 ng/mL）　　試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-1　PFOS の MRM クロマトグラム



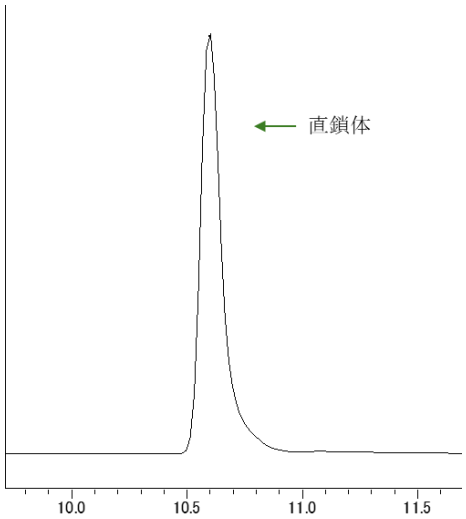
標準液（PFOA として 20 ng/mL）　　試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-2　PFOA の MRM クロマトグラム

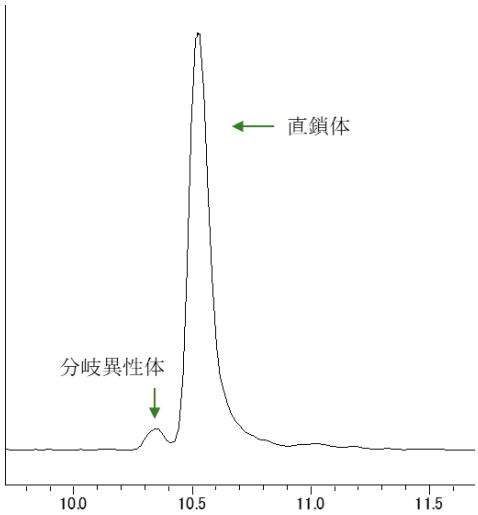


標準液（PFHxS として 20 ng/mL）　　試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-3　PFHxS の MRM クロマトグラム

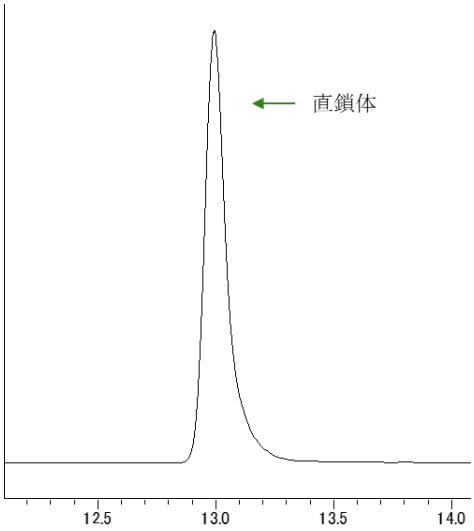


標準液（PFNA として 20 ng/mL）

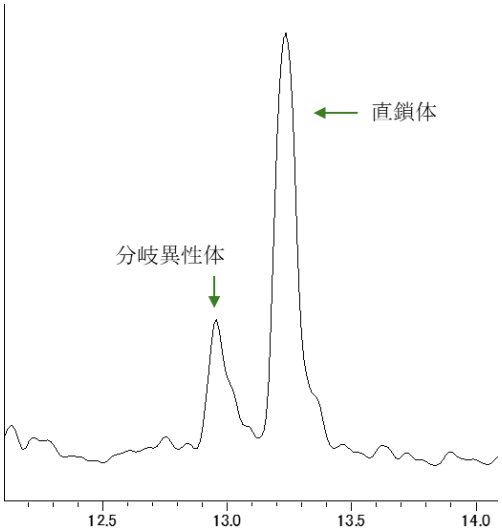


試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-4　PFNA の MRM クロマトグラム

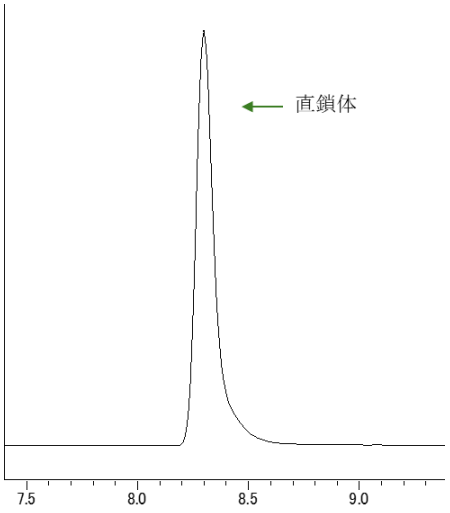


標準液（PFDS として 20 ng/mL）

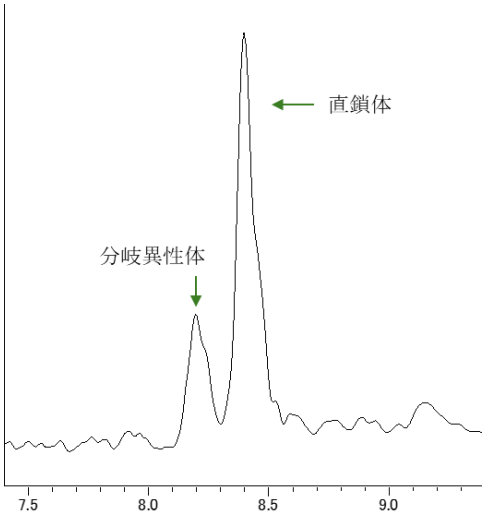


試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-5　PFDS の MRM クロマトグラム

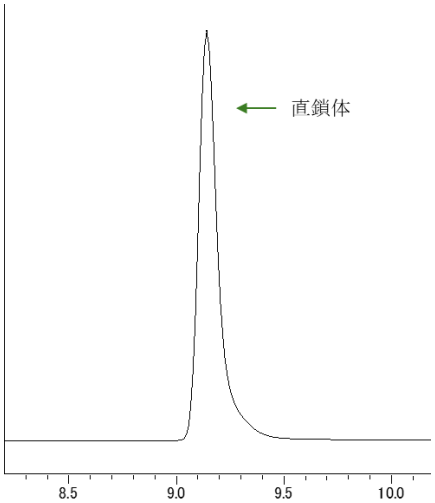


標準液（PFHxA として 20 ng/mL）

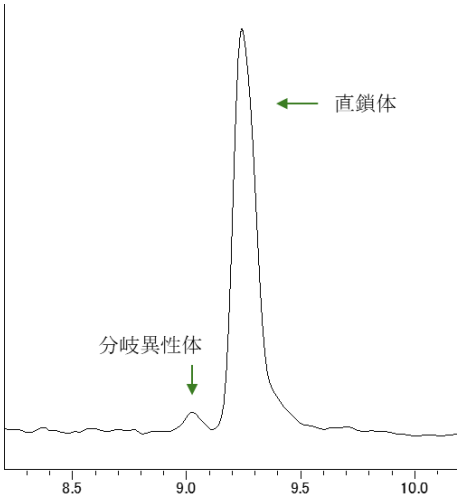


試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-6　PFHxA の MRM クロマトグラム

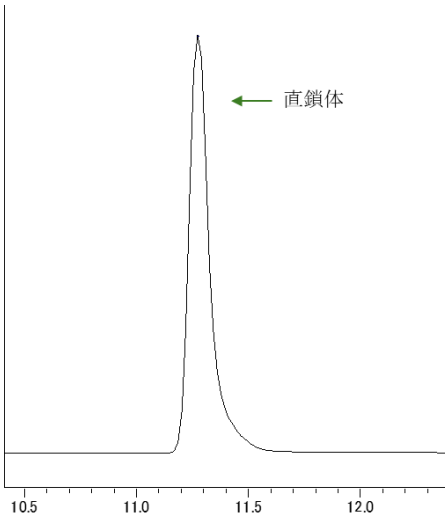


標準液（PFHpA として 20 ng/mL）

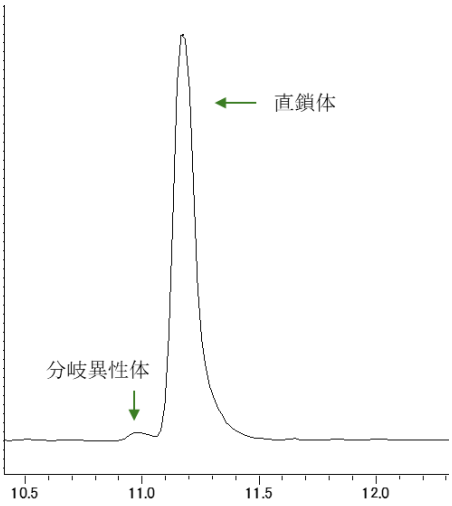


試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-7　PFHpA の MRM クロマトグラム

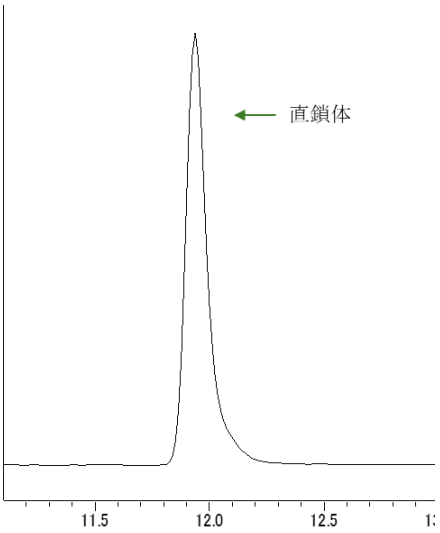


標準液（PFDA として 20 ng/mL）

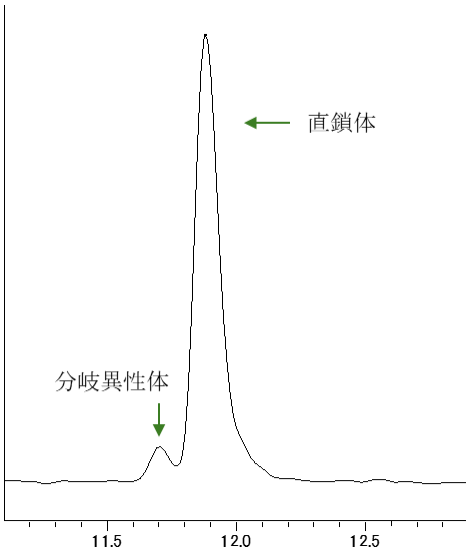


試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-8　PFDA の MRM クロマトグラム



標準液（PFUdA として 20 ng/mL）



試料溶液（汚泥肥料）

参考図 3-9　PFUdA の MRM クロマトグラム

参考表 最適化後の質量分析計のパラメータ

成分	定量用			確認用		
	プレカーサーイオン *(m/z)*	プロダクトイオン *(m/z)*	コリジョンエネルギー (eV)	プレカーサーイオン *(m/z)*	プロダクトイオン *(m/z)*	コリジョンエネルギー (eV)
$^{13}C_4$-PFOS	502.8	80.0	52.0	502.8	98.9	45.0
$^{13}C_8$-PFOS	506.8	80.0	51.0	506.8	99.0	45.0
$^{13}C_4$-PFOA	416.8	162.0	18.0	416.8	372.0	9.0
$^{13}C_8$-PFOA	420.9	172.0	17.0	421.1	376.0	11.0
$^{13}C_3$-PFHxS	402.0	80.0	40.0	402.0	99.0	34.0
$^{13}C_9$-PFNA	472.0	427.0	11.0	472.0	223.0	17.0
PFBS	299.0	80.0	39.0	299.0	99.0	30.0
PFPeS	349.0	80.0	38.0	349.0	99.0	31.0
PFHxS	399.0	80.0	48.0	399.0	99.0	35.0
PFHpS	448.9	80.0	52.0	448.9	98.9	40.0
PFOS	498.8	80.0	51.0	498.8	98.9	46.0
PFNS	549.0	80.0	62.0	549.0	99.0	45.0
PFDS	599.0	80.0	74.0	599.0	99.0	54.0
PFBA	213.0	169.0	10.0	—	—	—
PFPeA	263.0	219.0	8.0	—	—	—
PFHxA	313.0	269.0	8.0	313.0	119.0	19.0
PFHpA	363.0	319.0	10.0	363.0	169.0	17.0
PFOA	413.0	169.0	18.0	412.8	369.0	10.0
PFNA	463.0	419.0	11.0	463.0	219.0	16.0
PFDA	513.0	469.0	11.0	513.0	269.0	19.0
PFUdA	563.0	519.0	8.0	563.0	269.0	18.0