

海水中 PFCs の前処理、測定条件の検討

栗原正憲 吉澤 正 清水 明 宇野健一

1 はじめに

淡水試料に含まれるパーフルオロカーボン(PFCs)の分析法はこれまでにいくつか報告されている¹⁾。また, Oasis WAX のようなイオン交換型の固相カートリッジを使用すると, パーフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)やパーフルオロオクタン酸(PFOA)より炭素鎖の短い PFCs の前処理において良好な回収率が得られる事が報告されている²⁾。

海水など高塩濃度試料の分析は淡水の分析方法を準用しているが, 高濃度の塩類が含まれる場合はイオン交換作用による固相への吸着が阻害される可能性があり, それを考慮した前処理条件の検討が必要と考えられる。そこで, 模擬海水を試料とした PFCs の分析法を検討したので報告する。

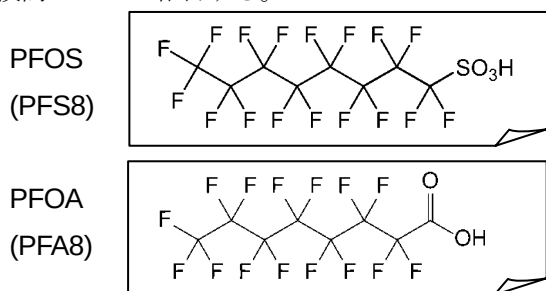


図1 PFOS, PFOA の構造

2 方法

2.1 試薬類

分析対象は表1に示した 16 物質であり, 5 種のパーフルオロスルホン酸類(PFS 類)や 11 種のパーフルオロカルボン酸(PFA 類)である。検量線作成用と添加回収試験用の混合標準溶液は WELLINGTON 製の 16 物質の混合標準液(2.0 μ g/mL メタノール溶液)を 70% メタノール溶液で希釈して調製した。

固相カートリッジは弱陰イオン交換型の Oasis WAX plus と強陰イオン交換型の Oasis MAX plus を検討することとし, 抽出操作で使用する水や LC の移動相に使用する水等はすべて, 超純水を Oasis WAX plus で固相抽出した水(以後 WAX 処理水)を使用した。

模擬海水は WAX 処理水に NaCl が 3% になるように加え調製した。メタノール及びアセトニトリルは関東化学 LC/MS 用を使用した。

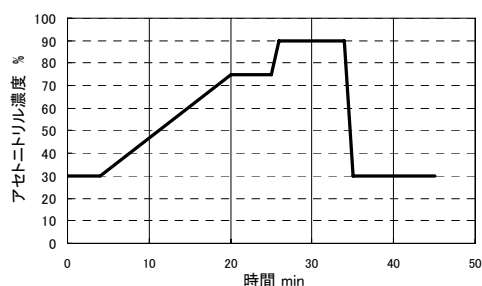
固相カートリッジからの溶出に用いた 1wt/vol% アンモニアのメタノール溶液(以後 1%NH₃/メタノール溶液)は 25%アンモニア水 4.4mL をメタノールで 100mL に希釈して作成した。

表1 分析対象物質

略称	物質名	略称	物質名
PFA4	Perfluoro-n-butanoic acid	PFA12	Perfluoro-n-dodecanoic acid
PFA5	Perfluoro-n-pentanoic acid	PFA13	Perfluoro-n-tridecanoic acid
PFA6	Perfluoro-n-hexanoic acid	PFA14	Perfluoro-n-tetradecanoic acid
PFA7	Perfluoro-n-heptanoic acid	PFS4	Perfluoro-1-butanedisulfonic acid
PFA8	Perfluoro-n-octanoic acid	PFS6	Perfluoro-1-hexanedisulfonic acid
PFA9	Perfluoro-n-nonanoic acid	PFS7	Perfluoro-1-heptanedisulfonic acid
PFA10	Perfluoro-n-decanoic acid	PFS8	Perfluoro-1-octanedisulfonic acid
PFA11	Perfluoro-n-undecanoic acid	PFS10	Perfluoro-1-decanedisulfonic acid

2.2 機器

LC は Waters alliance 2695, MS は Waters Quattro micro を使用した。LC の移動相条件は佐々木らの方法³⁾を参考にし図2のとおりとした。分離カラムは Waters 社製 Atlantis T3:3 μ m (1 $\times$ 150mm)を使用した。



min	
0→4	B:30%
4→20	B:30→75% リニアグラジエント
20→25	B:75%
25→26	B:75→90% リニアグラジエント
26→34	B:90%
34→35	B:90→30% リニアグラジエント
35→45	B:30%

(A:10mM 酢酸アンモニウム, B:アセトニトリル)

図2 グラジエント条件

2・3 測定条件の検討

キャピラリー電圧等の MS のパラメーターの最適化と試料注入量についての検討を行った。

2・4 前処理方法の検討

前処理の基本フローを図3に示す。※印部分を検討項目とした。

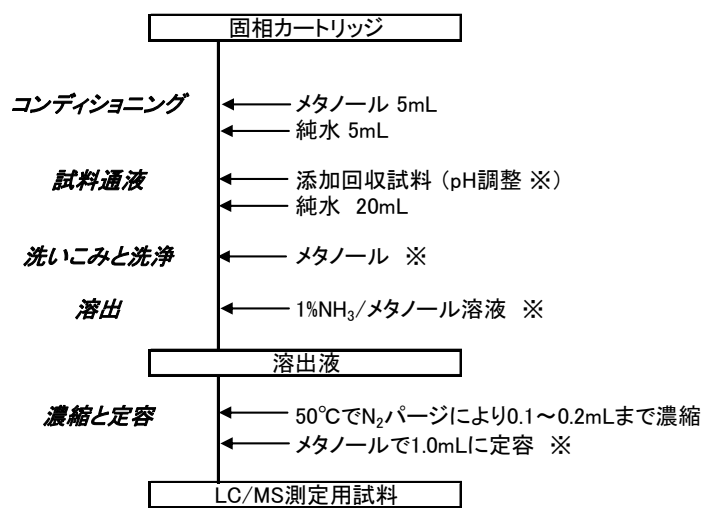


図3 試料前処理の基本フロー

2・4・1 固相カートリッジからの溶出

1wt/vol% NH_3 /メタノール溶液を溶出液とした際の固相カートリッジからの目的物の溶出状況を確認し、PFCs の回収に必要な液量を検討した。

2・4・2 送液方法

前処理のための試料送液は SEP-PAK コンセンレーターを使用し、送液速度 10mL/分で行った。固相をポンプの前に置くと送液ラインの短い陰圧式（図4左側）となり、ポンプの後にすると加圧式（図4右側）となる。実試料では浮遊物により固相が目詰まりし、徐々に通液が困難となることが予想される。そこで両方式で多少赤潮が発生していた際に採取した東京湾内湾の試料(SS 6mg/L)を通水し、通水可能な液量を確認した。

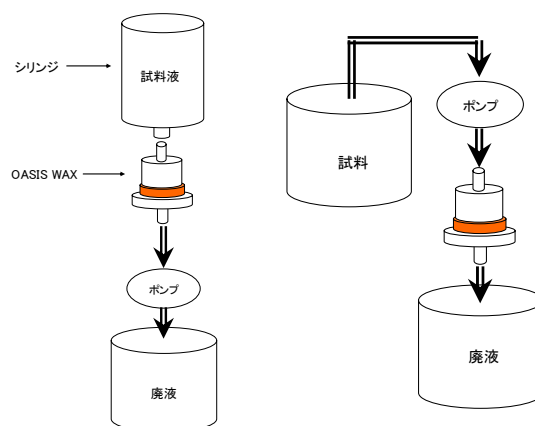


図4 試料通液時の装置構成(左:陰圧式、右:加圧式)

2・5 添加回収試験

添加回収試験のための試料は、混合標準溶液を各 PFCs が 10ng になるように模擬海水 200ml に添加して調製した。なお、試料量の検討の場合にのみ試料量を変更した。添加回収試料にはりん酸を加え pH3 程度に調整してから固相抽出を行った。

2・5・1 メタノールによる容器及びラインの洗い込み

試料送液後の容器及び送液ラインの洗いこみが WAX 処理水のみでは不十分であったため、洗いこみ溶液のメタノール濃度及び量の検討を行った。送液は加圧式で行った。

2・5・2 回収率の pH 依存性

Oasis MAX は強塩基性の 4 級アミンの官能基 ($\text{pK}_a > 18$) を有し、広い pH 範囲で吸着力を発揮する。一方で Oasis WAX は弱塩基性の 2,3 級アミンの官能基 ($\text{pK}_a \approx 6$) を有しており、pH により解離状態が変化し、吸着力が変化すると考えられる。そこで試料の pH を 3, 7, 8, 9, 10, 11.5 にして回収率を確認した。

なお、pH3 はりん酸、pH7 は pH 測定用のりん酸塩緩衝液にアンモニア水を加えて調整した。pH8, 9 は pH 測定用ホウ酸塩緩衝液にアンモニア水を加えて調整した。pH10, 11.5 はアンモニア水を加えて調整した。

2・5・3 標準液および測定試料の保存性

分析対象物質は炭素鎖が短いものから長いものまであり、水やメタノールに対する溶解度が異なることが予想された。そのため、メタノール濃度や保存温度に

より容器への吸着が懸念される。そこでメタノール濃度の異なる水溶液(40～100%)1mL に PFCs 3ng(100μL)を添加し、5℃で冷蔵保存した際、及び冷凍保存した際の経時変化を確認した。

2・5・4 共存物質の影響

Oasis WAX は陰イオンのイオン交換作用と疎水部分の分子間力により、吸着力を発揮していると考えられる。この作用により吸着される様々な物質が PFCs と競合し、回収率に影響すると考えられる。物質によっては大きな阻害因子となる可能性があり、その影響程度を把握しておく必要がある。

塩化物イオンの他、海水に多く含まれる硫酸イオンと環境中からよく検出されるフタル酸を添加し、回収率に及ぼす影響を確認した。

3 結果

3・1 機器の測定条件

3・1・1 MS 測定条件の検討

各パラメーターの最適値は表2のとおりであった。分析対象物質は保持時間により 10 グループに分け測定することとした。

表2 MS 条件一覧

グループ	物質名	R.T. min	開始	終了	親イオンM/Z	定量イオンM/Z	コーン電圧V	Cell eV	確認イオンM/Z	コーン電圧V	Cell eV
1	PFA4	3.14	2.5	7.0	213.0	169.0	15	10	—	—	—
	PFA5	4.68			263.0	219.0	15	10	69.0	15	25
2	PFA6	8.77	7.0	12.0	313.0	269.0	15	10	119.0	15	20
	PFS4	9.62			298.9	80.0	45	30	99.0	45	25
3	PFA7	13.71	12.0	15.2	363.0	319.0	15	10	169.0	15	15
4	PFA8	16.15	15.2	17.8	413.0	369.0	15	10	169.0	15	15
	PFS6	16.93			398.9	80.0	50	40	99.0	50	30
5	PFA9	18.01	17.6	19.5	463.0	419.0	15	10	219.0	15	15
	PFS7	18.81			448.9	80.0	55	40	99.0	55	30
6	PFA10	19.64	19.3	20.3	513.0	469.0	15	10	219.0	15	15
7	PFS8	20.45	20.1	22.1	498.9	80.0	55	40	99.0	55	40
	PFA11	21.16			563.0	519.0	15	10	269.0	15	15
8	PFA12	22.60	22.1	23.2	613.0	569.0	15	10	169.0	15	25
9	PFS10	23.39	23.0	25.0	598.9	80.0	55	50	99.0	55	45
	PFA13	23.99			662.9	619.0	20	10	169.0	20	25
10	PFA14	25.29	24.8	33.1	712.9	669.0	20	10	169.0	20	30

Capillary	0.5kV
Cone Gas Flow	N ₂ 50L/h
Desolvation temperature	400℃
Desolvation Gas Flow	800L/h
Souce Temperature	120℃

3・1・2 注入量の影響

5μg/L の混合標準液の LC/MS への注入量を 5～50μL で変化させてピーク形状やピーク面積値との関係を確認した。

図5に注入量とピーク形状(ピーク面積/ピーク高さ)

の関係を示した。注入量が増えるにつれて炭素数の小さいもののピーク形状が変化し始めた。PFS4 は注入量 5μL と 10μL では差が認められ、PFA5,6 は 20μL 以上、PFA4,7,PFS6 は 40μL 以上で変化が見られた。PFA8～14、PFS7,8,10 では注入量 50μL までピーク形状の大きな変化は見られなかった。

また、図6に示したように PFA4～6,PFS4 では注入量が多くなるとピーク面積値に変化が見られる。最も少ない注入量から変化が表れたPFS4は注入量 5μL では再現性の良い測定が可能であったため、本検討は注入量 5μL で検討を進めることとした。

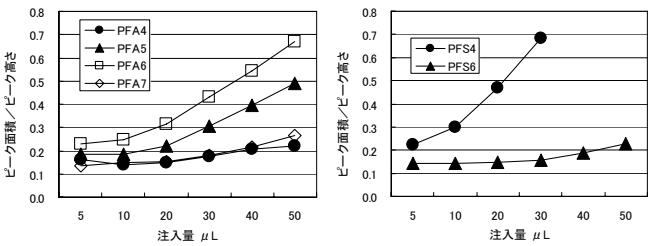


図5 注入量とピーク形状(ピーク面積／高さ)の関係

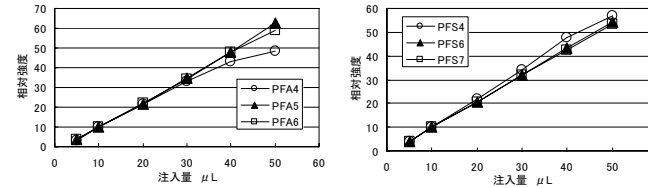


図6 注入量とピーク面積の関係

(10μLの面積値を10とした際のピーク面積の相対値)

3・1・3 TIC クロマトグラム

図7に5μg/Lの16種混合標準液を一斉分析した際のTIC クロマトグラムを示した。

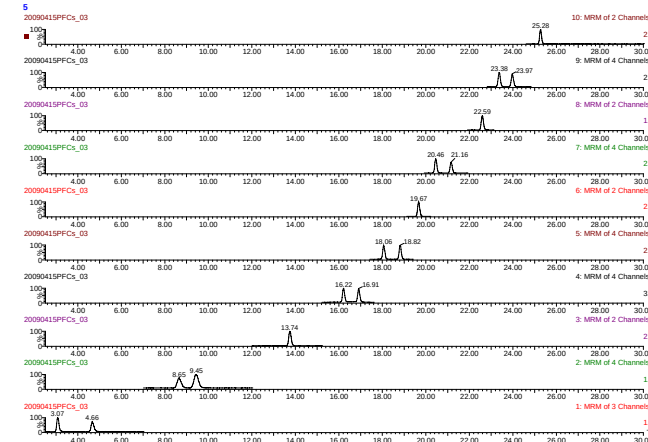


図7 混合標準液(5μg/L)のクロマトグラム

3・1・4 検量線

各分析対象物質は0.1～50 μ g/Lの範囲で直線性のよい検量線が得られた。図8にPFOS及びPFOAの検量線の一例を示した。

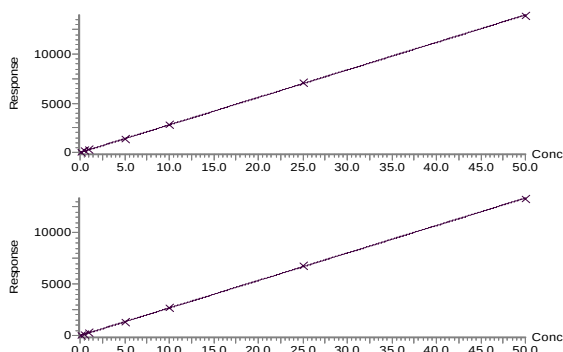


図8 検量線(上:PFOA, 下:PFOS)

3・1・5 IDL

0.1 μ g/Lの標準液を10回繰り返し測定した際の標準偏差 σ から次式⁴⁾に基づいてIDL値を算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma \times 2$$

$t(n-1, 0.05)$: 危険率5%, 自由度 $n-1$ の t 値(片側)

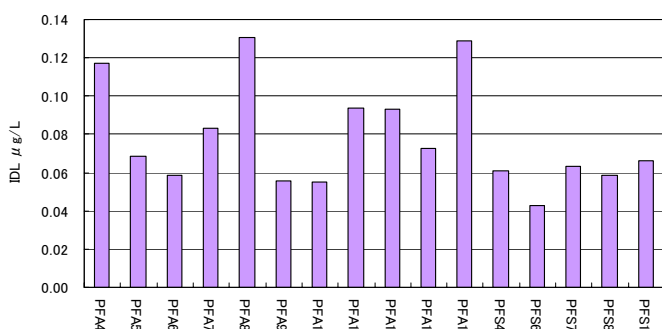


図9 IDL 濃度

3・2 前処理条件の検討

3・2・1 固相カートリッジ

1% NH_3 /メタノール溶液による Oasis WAX plus からの溶出状況を図10に、Oasis MAX plus からの溶出状況を図11に示した。

Oasis WAX からは2mLでほぼ溶出が完了していた。溶出条件はゆとりを見て本検討では5mLで溶出することとした。

それに対し、Oasis MAX では回収率が全体的に低く、PFS類は20mLの通液でもほとんど溶出しなかった。これは、アルカリ性条件下でもMAXの官能基は解離状態であり、強い吸着力を保つために溶出しにくいものと推測された。そのためPFCsの前処理には適

さないと考えられる。

3・2・2 通液方法

陰圧式の送液方法では通液抵抗の上昇により数十mLしか通液できなかった。一方で、加圧式では200mL前後の通液が可能であった。東京湾内湾の海水は今回の試料程度のプランクトンが発生していることは珍しいことではなく、県内の海水試料をろ過しないで分析する場合は加圧式が現実的な送液方法であることがわかった。

以下の添加回収試験は加圧式での送液とした。

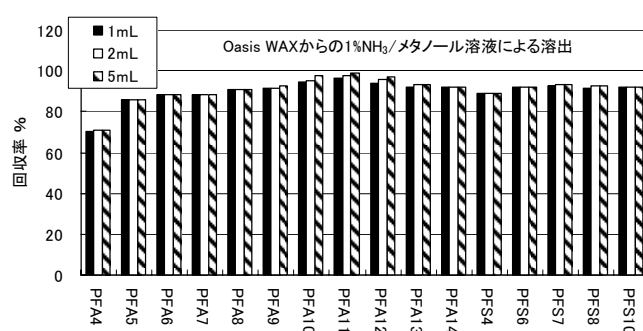


図10 Oasis WAX plus からの溶出状況

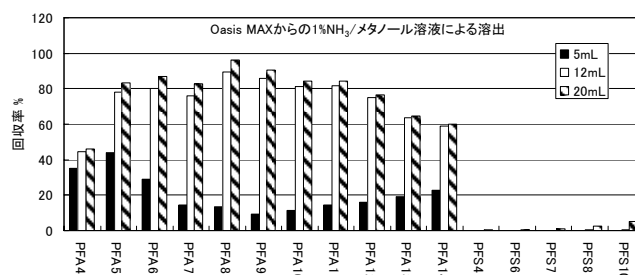


図11 Oasis MAX plus からの溶出状況

3・3 添加回収試験

3.3.1 メタノールによる容器及びラインの洗いこみ

図12に洗い込みのメタノール量を変化させた際の回収率の変化を示した。

洗い込みにメタノールを用いず、WAX 処理水のみでは炭素鎖の長いPFCsの回収率が60%前後と低い値であった。これは、陰圧式に比べて加圧式は試料容器から固相カートリッジまでのライン長が長く、ポンプ内や容器壁面へ吸着されたためと考えられた。試料の洗い込みはWAX 処理水のみでは不十分であり、メタノール等で試料容器及びラインの洗い込みを行う必要があることがわかった。

しかし、メタノールで洗いこみを行うと炭素鎖の長い PFCs の回収率は改善するが、50mL のメタノールを使用すると炭素鎖の短い PFA が流出し回収率が低下した。このように、PFCs の一斉分析を行う場合には試料容器及びラインの洗い込みを行う必要があるが、最適なメタノール濃度と量を設定する必要がある。

また、淡水試料の処理例として WAX 処理水に PFCs を添加し、メタノール 20mL で洗い込んだ結果を図13に示した。塩類が無い場合は、すべての PFCs で良好な回収率である。模擬海水では PFA4, 5 のような炭素鎖の短いもので回収率が低下していたことから、塩化物イオンは炭素鎖の短い PFA が固相へ吸着する際の阻害因子となると考えられる。

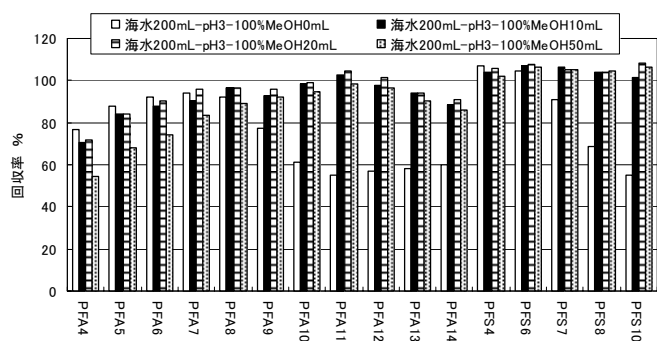


図12 メタノール量と添加回収率

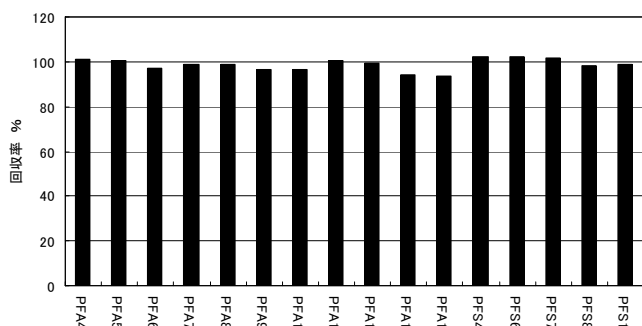


図13 淡水試料の添加回収率(メタノール 20mL)

3.3.2 洗い込みのメタノール濃度の検討

洗い込みのメタノール濃度を 50, 70%, 洗い込み量を 20, 30, 50mL でそれぞれ添加回収試験を行い、その結果を図14, 15に示した。

50%メタノールによる洗浄では PFA13, 14 で回収率が低下する傾向があり、洗いこみが不十分であった。70%メタノールではその点が改善され、20~50mL の洗浄量で安定して良好な回収率を得られた。

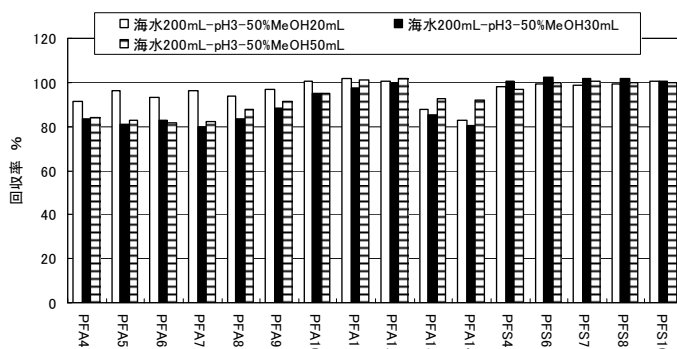


図14 50%メタノールを用いた際の添加回収率

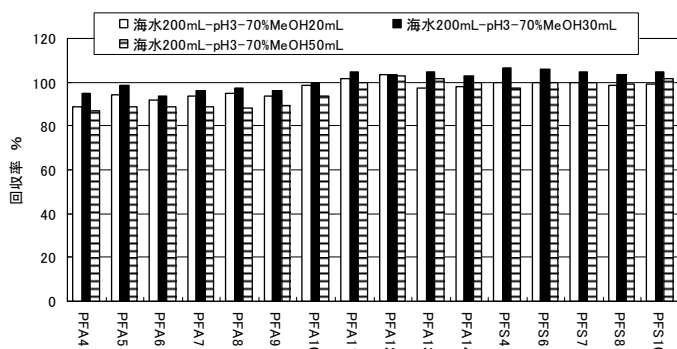


図15 70%メタノールを用いた際の添加回収率

3.3.3 回収率を維持できる試料量の上限

模擬海水量を 20~1000mL まで変化させた際の添加回収率を図16に示した。試料量を 1000mL まで増やしてもすべての PFCs で80%以上の回収率が維持できている。

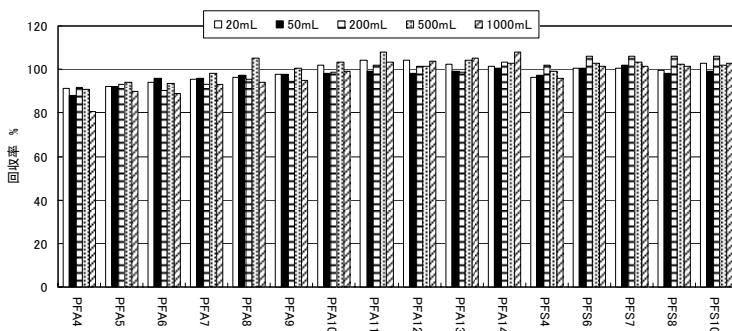


図16 試料 1000mL までの添加回収率

3.3.4 試料 pH の影響について

PFCs 回収率の pH 依存性を確認し、結果を図17に示した。

pH3 ではすべてで良好な回収率が得られたが、pH が上がるにつれて、炭素鎖の短いものから回収率が順次低下した。このため、PFCs の一斉分析の場合には試料の pH を酸性側に調整することが必要であった。

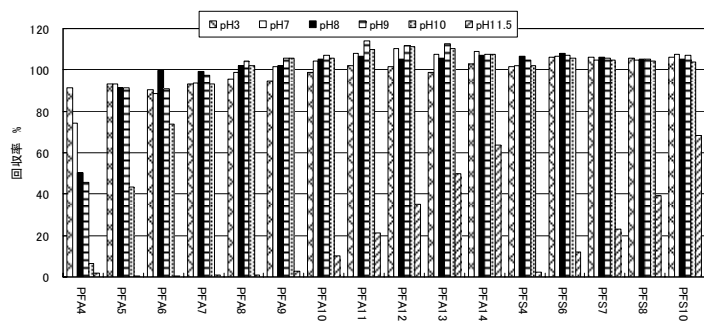


図17 pHと添加回収率の関係

3・3・5 標準液および測定試料の保存性

図18に 5℃で冷蔵保存した際の濃度の変化率を示した。

メタノール濃度が50%以下では、時間経過により炭素数の多い PFA13,14 の濃度低下が見られた。また、冷凍保存(-30℃)したものは濃度低下がより顕著であった。このことから濃度の高い実試料、標準液では、メタノール濃度が低い場合、PFCs の溶解力が不足し容器への付着が生じる懸念があると思われた。今回の結果から標準液や測定試料はメタノール濃度 70%以上を維持する必要があると考えられる。

濃縮の後に残った液体は大部分が水と考えられ、そこにメタノールを加えて試料調製するために定容に用いるメタノールの濃度は十分に高いものである必要がある。しかし、濃縮後には若干の析出物が発生することもあり、水を含まない 100%のメタノールでは溶解しないことがあった。そこで 80~90%のメタノールで定容し、測定試料のメタノール濃度が 70%以上を保つように配慮することとした。また、原因は不明であるが定量時のピーク面積が高くなることもあり、その傾向はメタノール濃度 100%のもので顕著であった。そこで、メタノール濃度 70~90%を目安に試料調製することとした。

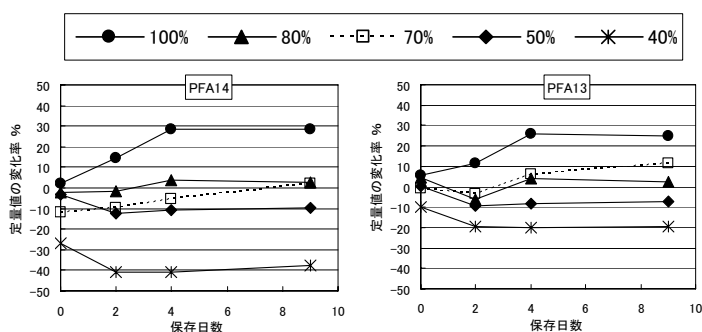


図18 冷蔵保存時の強度変化率

以上の検討の結果、前処理条件として図19に示した手順を採用することで、模擬海水中の PFA4~14、PFS4,6,7,8,10 を回収率よく前処理できた。

<コンディショニング>

- (1) 固相カートリッジ WAX plus にメタノール 5mL 通液
- (2) 純水 5mL 通液

<試料の pH 調製>

- (3) 試料にりん酸を添加して pH3 付近に調整する。

<試料通液>

- (4) 試料を通液する。
- (5) 試料を完全に通液し切ったのち、WAX 処理水 20mL(10mL×2 回)で洗い込む。WAX 処理水も完全に通液し切る。

<洗いこみと洗浄>

- (6) 70%メタノール 30mL(10mL×3 回)で試料容器を洗い込む。70%メタノールも完全に通液し切る。

<溶出>

- (7) 1%NH₃/メタノール溶液 5mL で溶出

<濃縮、定容>

- (8) 50℃で N₂ 吹きつけによりほぼ乾固するまで濃縮する。
- (9) 80~90%メタノールで 1.0mL に定容し、メタノール濃度 70%以上の LC/MS 測定液とする。

図19 最適化した前処理フロー

3・3・6 共存物が与える影響について

図20に硫酸ナトリウムの添加による回収率への影響を示した。0.3%(海水程度の濃度)ではほとんど回収率に影響がないが、3%では回収率が大幅に低下した。同程度の濃度の塩化物イオンの影響と比べても大きく、電荷数の大きいイオン類は PFCs の吸着を強く阻害する可能性があると考えられた。

図21にフタル酸の添加による回収率への影響を示した。フタル酸水素カリウムを 0.05%添加した場合、PFA4 の回収率は 20%台にまで低下し、PFA5 も若干低下する傾向があった。PFCs はイオン交換作用と疎水性部分の分子間力により Oasis WAX に吸着していると考えられるが、フタル酸も同様の機構で吸着し、PFCs と競合しやすいため濃度が低くても回収率の悪化をもたらす可能性がある。フタル酸よりさらに結合力の強い陰イオンが共存した場合にはさらに PFCs の回収率が悪化する可能性があり、本分析において注意すべき点と考えられた。

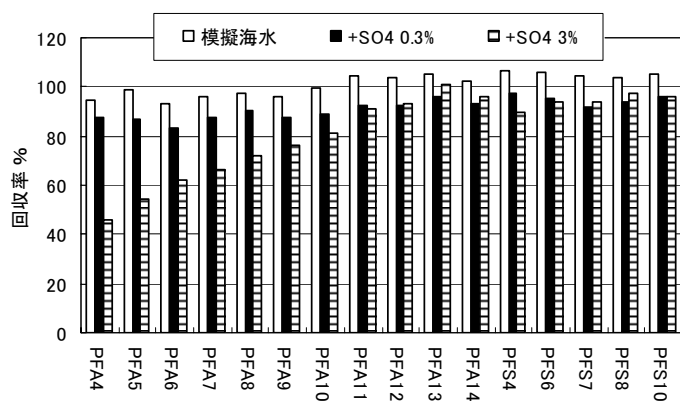


図20 硫酸イオン共存下での添加回収率

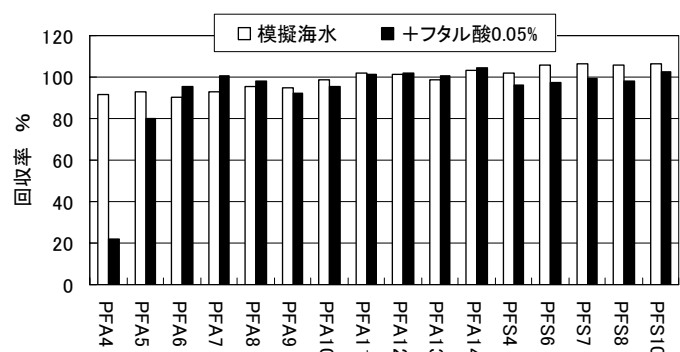


図21 フタル酸水素カリウム 0.05%共存下での添加回収率

4 まとめ

- ・ 純水試料に比べ、模擬海水試料は炭素鎖の短い PFCs の回収率が悪化する傾向にあり、試料量が多いほど固相カートリッジから流出する傾向にあった。
- ・ 炭素鎖の長い PFCs は試料容器や濃縮装置への吸着があり洗浄が必要であるが、100%メタノールの洗浄では炭素鎖の短い PFCs が固相カートリッジから溶出した。また、50%メタノールの洗い込みでは炭素鎖の長い PFCs の洗浄が不十分であった。70%メタノールを使用することで良好な回収率を得られた。
- ・ 試料の pH が塩基性の条件で炭素鎖の短い PFCs の回収率が低下する傾向にあり、試料は酸性に調整する必要がある。
- ・ 炭素鎖の長い PFCs は、容器壁面へ付着し濃度変化を起こす懸念があり、測定試料の調製、保存には 70%以上のメタノール濃度を保つ必要があった。
- ・ 陰イオンの共存により回収率の低下が見られ、その影響程度は陰イオンの種類や濃度により異なった。

参考文献

- 1) 西野貴裕, 舟久保千景, 佐々木裕子, 高澤嘉一, 柴田康行 : 都内水環境における PFOS の汚染源解明調査, 第 35 回環境保全・公害防止研究発表会講演要旨集, 68-69(2008-11)
- 2) 内藤宏孝, 鈴木茂, 上堀美和子, 吉田光方子 : LC/MS による化学物質分析法の基礎的研究, 第 18 回環境化学討論会講演論文集, 824-825(2009)
- 3) 佐々木和明, 八重樫香, 斎藤憲光 : 環境水・底質・生物中のペンタフルオロオクタスルホン酸(PFOS)、ペンタフルオロオクタン酸(PFOA)の分析, 化学物質環境実態調査における LC/MS を用いた化学物質の分析法とその解説, 134-147(2006)
- 4) 化学物質環境実態調査実施の手引き (平成 17 年度版)、環境省総合環境政策局 環境保健部環境安全課

Research of analysis condition of Perfluoro compounds in seawater

Masanori KURIHARA, Tadashi YOSHIKAWA, Akira SIMIZU, Kenichi UNO

LC/MS/MSによる海水中のパーフルオロカーボン（PFCs：PFA4～14，PFS4,6,7,8,10）の同時分析条件，およびNaClを3%含む模擬海水の固相カートリッジを用いた前処理法を検討した。

0.5～50 μ g/Lの範囲で直線性の良好な検量線を得られ，IDLは0.04～0.13 μ g/Lであった。

試料をpH3程度に調整し，送液系や容器を70%メタノールで洗い込むことにより，固相カートリッジOasis WAX plusによりPFCsの固相抽出が効率よく行うことが出来，模擬海水1000mLの濃縮を今回分析対象としたPFCsすべてで80%以上の回収率で行うことが出来た。

また，試料に共存する陰イオン類により影響を受け回収率が悪化する傾向があり，その影響程度は陰イオンの種類により異なっていた。

キーワード：有機フッ素，PFOS，PFOA，前処理，LC/MS