

誘導体化を用いたフッ素テロマーアルコールの高感度分析

○竹峰秀祐
環境調査研修所

Sensitive Analysis of Fluorotelomer Alcohols by using a Derivatization Method. by Shusuke TAKEMINE (The National Environmental Research and Training Institute)

1. はじめに

PFOA を含むペルフルオロカルボン酸類 (PFCAs) は、世界中の生物、水や大気といった環境媒体から検出されており、世界規模での汚染が確認されている。

PFCAs の汚染の拡散には、前駆物質であるフッ素テロマーアルコール類 (FTOHs) が関与していると考えられている。FTOHs は、揮発性を持つため、発生源から離れた場所に拡散しやすく、環境中、および生物中で代謝され、最終的に PFCAs が生成されと考えられている。従って、PFCAs の汚染動態を解明するためには、FTOHs を含めた調査が必要である。

FTOHs は、GC/MS (EI) を用いた分析例が報告されているが、物質と機器の特性 (フラグメンテーションが起きやすい等) から、感度良く分析することが困難である。近年、FTOHs を高感度に分析するために、ダンシルクロリドを用いて誘導体化し、LC/MS/MS (ESI) で分析する方法が検討され、底質試料に適用した例が報告されている¹⁾。その誘導体化手法を様々な媒体に適用し、高感度に分析する方法が確立出来れば、より詳細に FTOHs の動態を調査することが出来る。そこで、本研究では、大気試料中の FTOHs の誘導体化を用いた分析法の検討を行った。

2. 方法

分析対象物質は 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorohexan-1-ol (4:2FTOH), 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorooctan-1-ol (6:2FTOH), 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluoro-1-decanol (8:2FTOH), 1H, 1H, 2H, 2H - Perfluoro-1-dodecanol (10:2FTOH) とした。原体をアセトニトリルに溶解させ標準原液を調製し、更にアセトニトリルで希釈し各物質の濃度が 10 µg/mL の混合標準液を作成した。

誘導体化試薬として、ダンシルクロリド(DNS, 和光社製)を用いた。DNS と 4-dimethylaminopyridine (DMAP, 東京化成工業社製)を量り取りアセトニトリルに溶解させ、各物質の濃度が 30 mg/mL の DNS/DMAP 混合溶液を調製し、誘導体化用の試薬とした。

FTOHs 誘導体化物は、3200 Q TRAP システム (SHIMADZU LC-20AD – SCIEX 3200 Q TRAP) で分析を行った。

2.1 SRM 条件の検討

混合標準液を各物質の濃度が 1 µg/mL となるように

アセトニトリルで希釈し、1 mL 分取した。分取した溶液に DNS/DMAP 混合溶液 200 µL を加え、溶液を撹拌した。65 °C で 90 分間反応させた後、窒素気流化で乾固させ、ジクロロメタン 1 mL を加え溶解させた後、予めコンディショニングを行った Sep-pak Silica カートリッジ (Waters 社, 690 mg/1.6 mL) に溶液をロードした。カートリッジのコンディショニングには、ジクロロメタン 10 mL 及びヘキサン 10 mL を用いた。ヘキサン/ジクロロメタン=1/1 (v/v) 溶液 8 mL でカートリッジから分析対象物質を溶出させ、溶出液を窒素気流化で乾固させ、アセトニトリル 1mL を加えて撹拌し、SRM 条件の検討用溶液とした。

SRM 条件の検討はインフュージョン分析で行った。検討用溶液を送液するとともに、LC 側から A 液: 0.1 %ギ酸水溶液, B 液:メタノールの混合液 (A/B=50/50) を送液し、検討用溶液と LC 側からの溶液を T 字型コネクタで連結させ、MS に導入した。

2.2 LC/MS/MS 分析

A 液に 0.1 %ギ酸水溶液, B 液にメタノールを用い、グラジエント分析を行った。流量は 0.3 mL/min とし、グラジエント条件は、B:65→95 % (0→15 min), B:65 % (15.01→20 min) とした。LC カラムとして、InertSustain Phenylhexyl (GL サイエンス社, 3µm, 2.1×100 mm) を使用し、注入量は 10 µL とした。

SRM 条件は 2.1 で検討した条件を用い、イオンモードはポジティブ、インターフェースの条件は、CUR: 20, IS: 5500, TEM: 600, GS1: 80, GS2: 30 とした。

混合標準液をアセトニトリルで順次希釈し、0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20 ng/mL の標準液を作成した。各濃度の標準液を 1 mL 分取し、2.1 の方法で誘導体化及びクリーンアップを行い、検量線作成用の標準液とした。定量は絶対検量線法で行った。

環境省の要調査項目マニュアルの方法²⁾に従い、装置検出下限 (IDL) 及び装置定量下限 (IQL) は、0.02 ng/mL の標準液 (S/N=10 程度) を 7 回繰り返し測定し、得られた測定値の標本標準偏差から算出した。

2.3 室内大気の捕集と分析

室内大気試料の捕集管として Sep-pak AC2 plus カートリッジ (Waters 社, 400 mg/0.7 mL) を用いた。

カートリッジは、事前調製として、ジクロロメタン

10 mL 及びアセトニトリル 10 mL で洗浄した後、窒素ガスを通気し、溶媒を除去した。調製したカートリッジをアルミホイルで遮光してミニポンプ(SIBATA 社, MP-Σ300) に接続し、研修所内実習室の大気を流量 0.7 L/min で 24 時間捕集した。

試料を捕集したカートリッジをアセトニトリル 5mL で捕集時の通気方向と逆方向に溶出させ、溶出液を窒素気流化で 1 mL まで濃縮した。濃縮液を 2.1 の方法で誘導体化及びクリーンアップを行い、分析を行った。

2.4 操作ブランク試験と添加回収試験

調製したカートリッジを用いて室内大気を捕集せず大気試料と同様の溶出、前処理、分析を行い操作ブランク試験とした。

添加回収試験として、調製したカートリッジに各対象物質 5 ng (50 μ L $\times$ 100 ng/mL 混合標準液) を添加し、2.3 の方法で室内大気の捕集及び分析を行った。無添加のカートリッジを同日同地点で採取及び分析を行い、標準物質を添加した試料と無添加の試料の測定値の差から、回収率を求めた。

3. 結果と考察

3.1 SRM 条件の検討結果

SRM 条件の検討結果を Table 1 に示す。Peng らの報告¹⁾と同様に、ダンシル化された FTOHs のプロトン付加体 $[M+H]^+$ が検出され、 $[M+H]^+$ のプロダクトイオンとして m/z 237 及び 252 等が観測された。最も強度の高かったトランジションを定量用として用い、2 番目に強度の高かったトランジションを確認用として用いた。

Table 1 SRM conditions

Analyte	SRM transition (m/z)	DP	EP	CEP	CE
4:2FTOH	498.2 > 237.2 [*]	61	6	30	49
	498.2 > 252.3		6	30	35
6:2FTOH	598.1 > 237.1 [*]	76	7.5	34	57
	598.1 > 252.3		7.5	34	43
8:2FTOH	698.2 > 237.2 [*]	81	8.5	37	65
	698.2 > 252.2		8.5	37	47
10:2FTOH	798.2 > 237.1 [*]	101	9.5	41	73
	798.2 > 252.1		9.5	41	55

^{*}used for quantitation.

3.2 検量線と検出下限値

検量線は全分析対象物質とも $R^2 > 0.995$ の良好な直線性を示し、今回の濃度範囲で問題なく定量できると考えられる。検量線の作成に用いた標準液 5 ng/mL のクロマトグラム例を Fig.1 に示す。

IDL 及び IQL を Table 2 に示す。室内大気を調査した

報告³⁾では、中央値が 6:2FTOH: 0.29 ng/ m^3 , 8:2FTOH: 5.8 ng/ m^3 , 10:2 FTOH: 1.1 ng/ m^3 である。適切な回収率が得られれば、1 m^3 程度の試料量で FTOHs の測定に十分な感度が得られると考え、試料の捕集にミニポンプを用いた。

Table 2 IDLs and IQLs

Analyte	IDL [ng/mL]	IQL [ng/mL]
4:2FTOH	0.0071	0.014
6:2FTOH	0.0044	0.0090
8:2FTOH	0.0049	0.010
10:2FTOH	0.0064	0.013

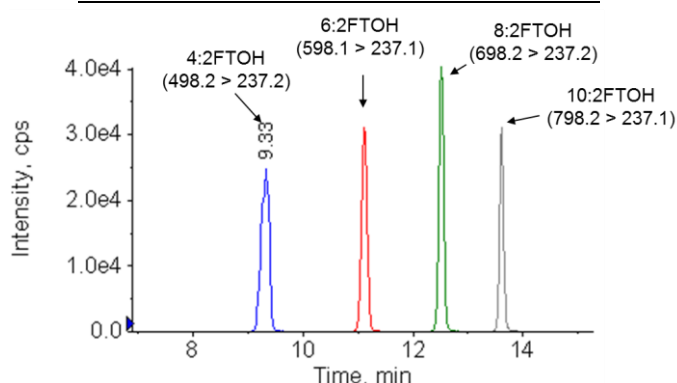


Fig.1 SRM chromatogram of dansylated FTOHs in a standard solution (5 ng/mL).

3.3 操作ブランク試験と添加回収試験の結果

添操作ブランク試験の結果、8:2FTOH のみ IQL 以上の濃度で検出され、最終バイアル濃度で 0.022 ng/mL であった。その他の分析対象物質はすべて IQL 未満であった。添加回収試験の結果 (n=3), 4:2FTOH: 35~86 %, 6:2FTOH: 34~82 %, 8:2FTOH: 30~100 %, 10:2FTOH: 31~70 % であった。回収率が大きくばらついており、実試料の場合、マトリクスの影響により誘導体化反応が安定していない等の可能性が考えられる。回収率が変動する要因について検証を進めるとともに、サロゲートの使用も検討する必要がある。

4. 結論

FTOHs をダンシル化し、LC/MS/MS (ESI) で分析する方法は、機器分析上の定量性には問題ないことを確認できた。しかし、今回の分析方法では、実大気試料を対象とした場合、回収率の変動が大きいという問題点があった。サロゲートの使用も考慮し、更に分析法を検討する必要がある。

【参考文献】

- 1) H. Peng *et al.*, J. Chromatogr. A., 1288 (2013), p48– 53.
- 2) 環境省水・大気環境局水環境課, 要調査項目等調査マニュアル (水質, 底質, 水生生物), <https://www.env.go.jp/water/chosa/h20-03.pdf>
- 3) W. Liu *et al.*, Chemosphere 90 (2013), p1672–1677