

リン酸エステル系難燃剤分析法の精度と 京都府南部河川水を試料とした本法の適用結果について

宮尻 久美 坂 雅宏

Quality Assurance of an Analytical Method for Phosphate Ester Flame Retardants and Its Application to the Determination of These Compounds in River Waters Collected from the Southern Parts of Kyoto Prefecture

Kumi MIYAJIRI Masahiro SAKA

近年、広く利用されているリン酸エステル系難燃剤のうち、8種類の化合物について、高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計を用いた分析方法により、当所での分析精度を確認した。さらに、本法により京都府南部の河川水について8物質の定量を行った。本法の装置検出限界値はすべて1 ng/mLを下回り、分析法の検出限界値は0.50 - 13 ng/L、超純水を用いた添加回収試験では1物質を除き71 - 110%の回収率が得られた。京都府南部の河川水においては、リン酸トリエチルがほとんどの採水地点で検出された(4 - 61 ng/L)。都市部の採水地点においてはリン酸トリス(2-クロロイソプロピル)やリン酸トリス(2-ブトキシエチル)が比較的高濃度で検出された(最大750 ng/L)。リン酸トリプロピルはいずれの採水地点からも検出されなかった。本研究で河川水から検出されたリン酸エステル系難燃剤の濃度は、京都府以外の都市河川における調査結果とほぼ同程度であり、一部の化合物について設定されている生態系への予測無影響濃度と比較すると2桁低い濃度であった。

キーワード：リン酸エステル系難燃剤、高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計、分析精度、河川水

Keywords：Phosphate ester flame retardants, High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Analytical quality, River water

はじめに

リン酸エステル系難燃剤は電子機器類等に使われる高分子材料の可塑剤や難燃剤として古くから使用されてきた¹⁾。とくに2009年以降、発ガン性等の理由により、一部の臭素系難燃剤の製造・使用が国際的に相次いで規制された結果、代替物質としてリン酸エステル系難燃剤の使用量は大きく増加している¹⁾。使用量の増加したリン酸エステル系難燃剤は、その使用や廃棄により環境中へ多量に放出され、新たな環境問題を招く可能性がある。実際、各地で環境試料からの検出事例¹⁻³⁾が報告されているほか、ハウスダストを媒体とする室内暴露を危惧する報告例⁴⁾もある。さらに、一部のリン酸エステル系難燃剤については発ガン性⁵⁾や神経毒性⁶⁾のあることが疑われている。使用量が増加しているにもかかわらず、人の健康や生態系へのリスクが懸念される化学物質に関しては、信頼性の高いデータに基づく適切なリスク評価が求められるが、近年に注目され始めたリン酸エステル系難燃剤に関する環境実態調査や毒性データは未だ不十分である。

本研究はリン酸エステル系難燃剤の環境実態調査を充実させるべく、当所を含む複数の自治体研究機関及び国立環境研究所の共同研究の一環として行われた。この共同研究では既に、リン酸エステル系難燃剤のうち、8物質について分析法が高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計(LC/MS/

MS)を用いて確立されており²⁾、本研究では、その分析法に従いつつ、当所の測定装置を用いた場合の検出限界値や回収率等の分析精度について確認を行った。さらに、京都府内南部の河川における環境基準点で採水された試料に本法を適用してこれら8物質を定量し、府内河川水におけるリン酸エステル系難燃剤の環境実態を初めて明らかにしたので、併せて報告する。

材料と方法

1. 測定対象物質及び試薬類

測定対象物質については、環境中への排出量や標準物質入手の可否、分析法に関する知見の有無等を総合的に考慮して、表1に示す8物質を選択した。これらの標準物質として、林純薬工業製リン酸エステル8種混合標準原液(各1000 µg/mL、アセトニトリル溶液)を、対応するサロゲート物質として同社製安定同位元素リン酸エステル8種混合標準原液(各100 µg/mL、アセトニトリル溶液)を使用した。その他の試薬としてメタノール(LC/MS用、和光純薬製)、アセトン(残留農薬試験用、関東化学製)、酢酸アンモニウム(LC用1 M酢酸アンモニウム溶液、富士フィルム和光純薬製)を用いた。

2. 標準試料の調製

測定用標準試料については、リン酸エステル8種混合標準原液をメタノールで1.0 µg/mLに希釈し、これをさらに段階

(令和2年1月8日受理)

的にメタノールで希釈することにより調製した (0.1 – 50 ng/mL)。各標準試料には1 mLあたりサロゲート物質を10 ng (安定同位元素リン酸エステル8種混合標準原液をメタノールで1.0 μg/mLに希釈したものを10 μL) ずつ添加した。

3. 測定装置及び条件

測定装置として Waters 製の Acquity UPLC (LC 部) 及び同社製 Quattro Premier XE (MS/MS 部) を使用した。移動相由来や LC/MS/MS システムからの溶出によるブランク値の低減を図るため、試料注入口の直前にもカラムを設置するリテンションギャップ法¹⁻³⁾を採用し、表2及び3に示す条件下で測定を行った。

4. 分析精度の確認

装置検出限界値 (IDL)、分析方法の検出限界値 (MDL)、操作ブランク値及び超純水を用いた添加回収率及び検量線について、化学物質環境実態調査実施の手引き⁹⁾にしたがい確認した。すなわち、IDLについては、8種混合標準液を希釈して1.0 ng/mLの試験液を調製し、これを7回測定することにより算出した。MDLについては、超純水に8種混合標準液を添加して5.0 ng/Lの試料を調製し、後述する前処理操作を7回行った後、得られた試験液を測定することにより算出した。ブランク試験では超純水のみを、添加回収試験では各物質の濃度が50 ng/Lとなるように8種混合標準液を添加した超純水を用い、前処理操作を行って測定した。検量線は

0.1 – 50 ng/mLの範囲で8点作成した。

5. 河川水試料の採水地点及び試料の前処理

図1に示すとおり、京都府南部を流れる木津川、宇治川、桂川水系及び由良川水系上流域から合計16地点を採水地点として選定した。いずれの採水地点も、程度の差はあるものの、生活排水又は事業場排水の負荷を受けている。各地点において2019年5月に採水した試料を直ちに冷暗所で保存し、1週間以内に以下に示す前処理を行い、測定に供した。

河川水試料200 mLに対し、標準試料調製の場合と同様にしてサロゲート物質を10 ng添加したものを前処理に供した。山崎・吉川²⁾により示された方法を、当所の全自動固相抽出装置 (GL Science 製 AQUA Trace ASPE799) の規格に合うよう、若干修正して前処理を行った。すなわち、抽出用カラムとして GL Science 製 Inertsep Glass PLS-3 (200 mg) を固相抽出装置に装着し、アセトン10 mL、次いで水10 mLを流してコンディショニングを行った後、試料200 mLを流速10 mL/分で通し、水20 mLで洗浄後、窒素ガスを30分間吹き付けて乾燥させ、アセトン6 mLで測定対象物質を溶出させた。溶出液を窒素ガスにより乾固直前まで濃縮した後、メタノールで1 mLに定容したものを測定用試料とした。

表1. 測定対象とした8種類のリン酸エステル系難燃剤とその物理化学的特性等

物質名	略語	CAS番号	示性式	分子量	水溶解度mg/L (°C)	Log Kow	生物分解性/生物濃縮性
リン酸トリエチル	TEP	78-40-0	(C ₂ H ₅ O) ₃ P=O	182.2	5.0×10 ⁵ (25)	0.77	難分解性/低濃縮性
リン酸トリプロピル	TPP	513-08-6	(C ₃ H ₇ O) ₃ P=O	224.2	8.2×10 ² (25)	3.37	(データなし)
リン酸トリブチル	TBP	126-73-8	(C ₄ H ₉ O) ₃ P=O	266.3	2.8×10 ² (25)	4.00	難分解性/低濃縮性
リン酸トリス(2-クロロエチル)	TCEP	115-96-8	(ClCH ₂ CH ₂ O) ₃ P=O	285.5	7.0×10 ³ (20)	1.43	難分解性/低濃縮性
リン酸トリス(2-クロロイソプロピル)	TCPP	13674-84-5	[ClCH ₂ (CH ₃)CHO] ₃ P=O	327.6	1.6×10 ³ (25)	2.59	(データなし)
リン酸トリフェニル	TPhP	115-86-6	(C ₆ H ₅ O) ₃ P=O	326.3	1.9 (25)	4.59	易分解性/(データなし)
リン酸トリス(2-ブトキシエチル)	TBEP	78-51-3	[CH ₃ (CH ₂) ₃ OCH ₂ CH ₂ O] ₃ P=O	398.5	1.2×10 ³ (25)	3.75	難分解/低濃縮性
リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)	TDCPP	13674-87-8	[(ClCH ₂) ₂ CHO] ₃ P=O	430.9	1.5 (25)	3.80	(データなし)

分子量～生物分解性・濃縮性のデータは松神ら¹⁾、環境省^{7,8)}及び国立環境研究所の化学物質データベース (<https://www.nies.go.jp/kisplus/>)に基づく

表2. リン酸エステル系難燃剤測定のための高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC/MS/MS) の測定条件

装置パラメータ	設定条件
LC部	
リテンションギャップ用カラム	Waters製Acquity BEH C18(内径2.1 mm、長さ50 mm、粒子径1.7 μm)
測定用カラム	Waters製Acquity BEH C18(内径2.1 mm、長さ100 mm、粒子径1.7 μm)
移動相	溶媒A: 5 mM酢酸アンモニウム水溶液 溶媒B: メタノール
グラディエント	溶媒B (%): 2% (0–0.25分); 2–99% (0.25–12.25分); 99% (12.25–13分); 99–2% (13.01分); 2% (13.01–16分)
流量	0.2 mL/分
カラムオープン温度	40°C
試料注入量	2 μL
MS/MS部	
キャピラリー電圧	3.0 kV
イオンソース温度	120°C
脱溶媒ガス流量(温度)	600 L/時 (350°C)
コーンガス流量	50 L/時

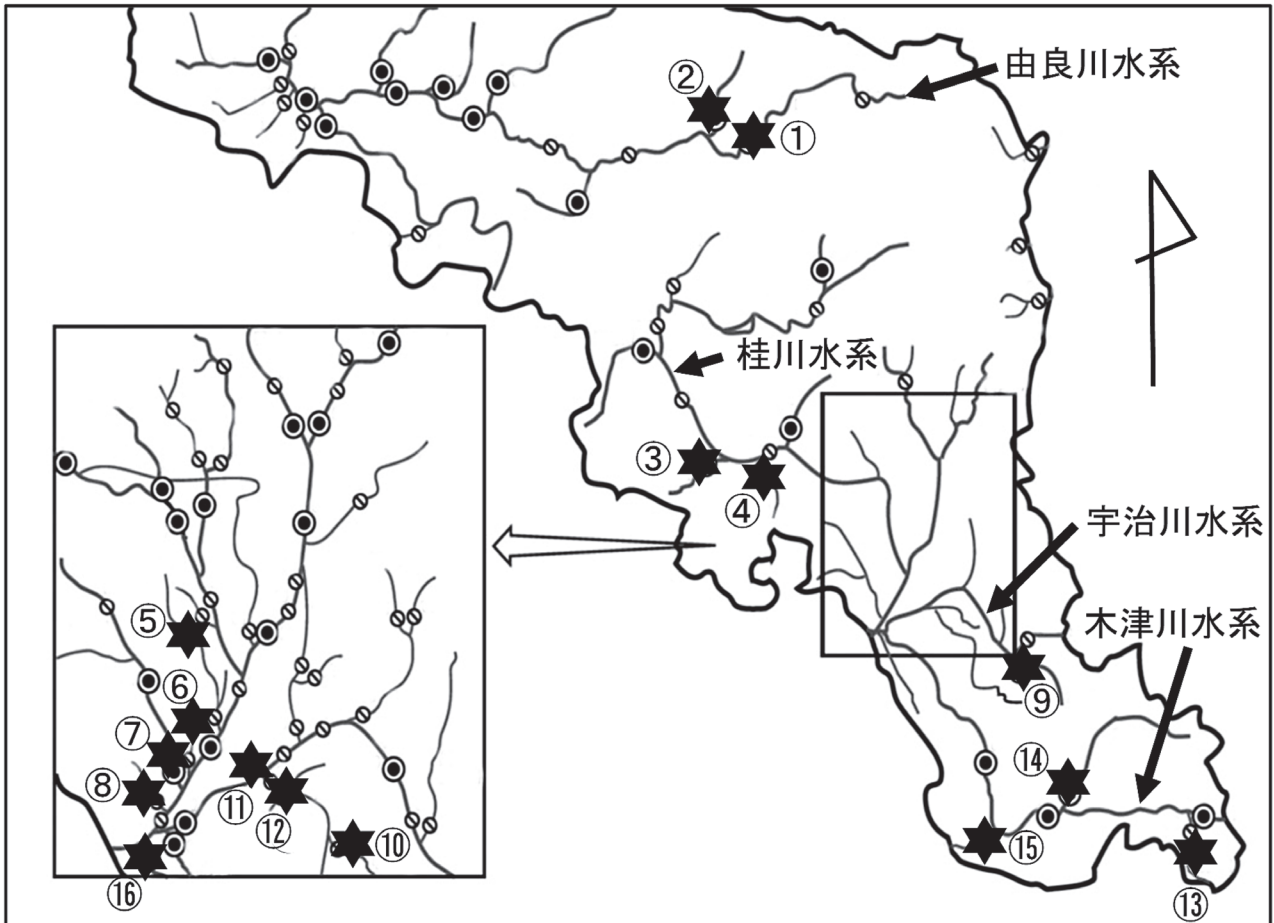


図 1. リン酸エステル系難燃剤測定用の水質試料をサンプリングした京都府南部河川の採水地点図。★は採水地点を示し、地点の名称は①由良川 安野橋、②棚野川 和泉大橋（以上、由良川水系上流域）、③犬飼川 並河橋 ④西川 桂川流入前（以上、桂川水系上流域）、⑤西羽束師川 戌亥橋、⑥七間堀川 桂川流入前、⑦小畑川 小畑橋、⑧小泉川 新山崎橋（以上、桂川水系下流域）、⑨田原川 蛭橋、⑩名木川 新橋、⑪古川 中橋、⑫場外排水路 相島橋（以上、宇治川水系）、⑬高山ダム湖 放水口地点、⑭和束川 菜切橋、⑮山田川 木津川流入前、⑯大谷川 ニノ橋（以上、木津川水系）である。

表 3. LC/MS/MS により測定対象とした 8 種類のリン酸エステル系難燃剤とサロゲート物質 (d 体) のモニターイオンと検出条件

物質名		定量イオン		確認イオン	
		プリカーサーイオン m/z (コーン電圧 kV)	プロダクトイオン m/z (コリジョン電圧 kV)	プリカーサーイオン m/z (コーン電圧 kV)	プロダクトイオン m/z (コリジョン電圧 kV)
TEP	標準物質	183 (24)	99 (18)	183 (24)	81 (35)
	d 体	198 (26)	102 (20)	198 (26)	82 (35)
TPP	標準物質	225 (20)	99 (20)	225 (20)	141 (10)
	d 体	246 (20)	102 (20)	246 (20)	150 (12)
TBP	標準物質	267 (18)	99 (22)	267 (18)	155 (12)
	d 体	294 (24)	102 (18)	294 (24)	166 (12)
TCEP	標準物質	285 (24)	63 (24)	285 (24)	99 (24)
	d 体	294 (18)	102 (22)	294 (18)	230 (10)
TCPP	標準物質	327 (20)	175 (14)	327 (38)	99 (39)
	d 体	346 (20)	102 (22)	346 (20)	183 (14)
TPhP	標準物質	327 (38)	77 (40)	327 (38)	152 (38)
	d 体	342 (50)	82 (40)	342 (50)	160 (34)
TBEP	標準物質	399 (44)	299 (17)	399 (44)	199 (21)
	d 体	411 (46)	308 (19)	411 (46)	205 (23)
TDCPP	標準物質	431 (24)	99 (34)	431 (24)	209 (14)
	d 体	446 (26)	102 (30)	446 (26)	216 (18)

結果

1. 分析方法の精度

表4に示すとおり、測定対象物質のIDLは0.08 - 0.67 ng/mL、MDLは0.50 - 13 ng/Lであり、それぞれの変動係数は2.1 - 13%、2.7 - 27%であった。リン酸トリス(2-クロロイソプロピル)(TCPP)とリン酸トリス(2-ブトキシエチル)(TBEP)については変動係数10%を若干上回ったものの、それ以外の物質における変動係数は良好な値を示した。操作ブランク値に関しては、TCPPとTBEPを除く6物質において非検出(MDL未満)であった。添加回収試験での回収率(*d*体の回収率に基づき補正したものは、リン酸トリス(2-クロロエチル)(TCEP)の160%を除くと、すべて71 - 110%であり、良好な結果が得られた。検量線については、標準試料を0.1 - 50 ng/mLの範囲で8点作成したが、IDLを算出した結果、これよりも低い濃度の測定値は検量線から除外した。したがって、リン酸トリエチル(TEP)以外の物質に関しては6 - 7点の標準試料による検量線を作成し

たが、いずれの物質においても、検量線の R^2 値は0.9995 - 1.0000となり、良好な線形回帰を示した。

2. 河川水試料を用いた測定結果

表5に示すとおり、リン酸トリプロピル(TPP)はどの地点からも検出されなかった。また、由良川の最上流地点である由良川安野橋(地点1)では、測定対象とした物質のいずれも検出されなかった。検出率(検出された地点数/全地点数)が最も高かった物質はTEPとTCPPであり、地点1を除くすべての地点から検出された。TCEPやリン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)(TDCPP)も検出率が高く、ほとんどの地点で検出され、次いでTBEP、リン酸トリブチル(TBP)の順に検出率が高かった。リン酸トリフェニル(TPhP)は4地点(地点5、6、12、16)でのみ検出されたが(9 - 80 ng/L)、いずれも都市部に位置する採水地点であった。最大値として100 ng/L以上のレベルで検出された物質はTCPP、TCEP、TDCPP、TBEP、TBPの5物質であり、主に都市部の採水地点において、比較的高い濃度で検出された。

採水地点ごとに、検出されたリン酸エステル系難燃剤7物

表4. 固相抽出とLC/MS/MSによる8種類のリン酸エステル系難燃剤の測定に係る精度確認試験の結果

物質名	IDL (ng/mL)	IDLにおける変動係数(%)	MDL (ng/L)	MDLにおける変動係数(%)	操作ブランク値 (ng/L)	添加回収率% (括弧内の数字はd体の回収率%)	検量線における R^2 値
TEP	0.08	2.1	3.9	17	ND	95 (62)	0.9999
TPP	0.11	2.7	0.50	2.7	ND	94 (61)	0.9999
TBP	0.21	5.3	3.4	14	ND	100 (59)	0.9995
TCEP	0.18	4.5	3.5	11	ND	160 (58)	0.9999
TCPP	0.58	13	5.4	9.1	10	89 (80)	0.9996
TPhP	0.29	7.2	8.5	27	ND	100 (85)	0.9999
TBEP	0.67	13	13	21	17	110 (64)	1.0000
TDCPP	0.19	7.2	0.78	5.8	ND	71 (87)	0.9999

IDL: 装置検出限界値、MDL: 分析方法の検出限界値、ND: 非検出(MDL未満)、その他の略語は表1, 2での定義と同じである

表5. 京都府南部の河川水における8種類のリン酸エステル系難燃剤の濃度 (ng/L)

番号	採水地点	TEP	TPP	TBP	TCEP	TCPP	TPhP	TBEP	TDCPP
1	由良川 安野橋		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	棚野川 和泉大橋	5.3		ND	4.8	13	ND	54	ND
3	犬飼川 並河橋	5.1		ND	21	6.3	ND	ND	ND
4	西川 桂川流入前	7.3		ND	5.5	29	73	ND	21
5	西羽束師川 戌亥橋	17		ND	13	77	77	15	110
6	七間堀川 桂川流入前	30		ND	170	340	750	21	360
7	小畑川 小畑橋	8.6		ND	75	69	ND	22	7.5
8	小泉川 新山崎橋	6.4		ND	9.3	10	ND	ND	4.7
9	田原川 蛍橋	5.0		ND	6.2	21	ND	ND	1.5
10	名木川 新橋	16		ND	20	85	580	ND	39
11	古川 中橋	27		ND	11	98	140	ND	110
12	場外排水路 相島橋	61		ND	8.6	160	180	80	270
13	高山ダム湖 放水口地点	7.7		ND	17	35	ND	64	4.9
14	和束川 菜切橋	4.0		ND	7.7	6.6	ND	130	2.3
15	山田川 木津川流入前	17		ND	11	110	390	ND	190
16	大谷川 二ノ橋	21		ND	6.1	55	440	8.6	290

番号は図1で示す地点番号に相当し、略語は表1, 4での定義と同じである

質の組成比を図2に示す。50%を超える組成比を示した物質は、地点2、14ではTBEP、地点4、9、10、15、16ではTCPP、地点3ではTBPであった。複数の地点において類似した組成比が見られたが、同一の河川水系であっても、地点によって組成比が大きく異なる場合があった。

考察

LC/MS/MSによるリン酸エステル系難燃剤8物質の測定方法について、その精度を確認した結果、検出限界値や変動係数、検量線の線形回帰に関しては概ね満足できるものであった。しかし、一部の物質については、操作ブランク値や添加回収率において、検討すべき課題を残している。

操作ブランク値については、TCPPとTBEPにおいてMDLを上回る結果となった。リテンションギャップ法の採用により、測定装置や移動相由来の汚染に関してはブランク値低減の効果が期待できる¹⁻³⁾ものと仮定すれば、これら2物質の高いブランク値は、それ以前の操作過程に起因するものと考えねばならない。その原因として2つの要因が考えられる。一つは固相抽出装置(固相カラムを含む)由来の汚染であり、もう一つはブランク試験に用いた超純水の汚染である。前者の場合は、ブランク試験を含め、すべての試料に共通する要因であり、したがって、実試料の測定値からブランク値を差し引くことは合理的である。しかし、後者の場合はブランク試験時のみ発生する要因となるため、これを測定値の補正に用いることは妥当ではない。今回は、すべての試料において、ブランク値と同等あるいはそれ以上の測定値が得られたので、ブランク値は固相抽出装置に由来するものと推測し、これを差し引いて実試料の定量値を算出したが、ブランク試

験における汚染の原因を特定するためには、説得力のある証拠がさらに必要とされる。

添加回収率に関しては、TCEPにおいて許容範囲⁹⁾を上回る(160%)結果が得られた。この値は対応するサロゲート物質の回収率(58%)に基づき補正されたものである。しかし、標準物質の強度(面積値)は、添加濃度(50 ng/L)を200倍濃縮した場合と同じ濃度(10 ng/mL)の標準試料における強度と比較すると大きな差は見られなかった。すなわち、一連の操作過程において、標準物質とサロゲート物質が同様の挙動を示していないことが示唆される。今回の添加回収試験は超純水を用いて行われたものであるが、実試料においても同様に、サロゲート物質の挙動が標準物質の場合と異なるのであれば、サロゲート物質の選択を見直す必要があるだろう。また、今回の河川水試料におけるTCEPの測定結果は1.6倍程度、過大評価されている可能性があることにも注意しなければならない。

京都府南部河川水の汚染実態調査により、由良川安野橋(地点1)地点を除くと、すべての採水地点において、程度の差はあるものの、リン酸エステル系難燃剤により汚染されていることが判明した。いずれの採水地点からも検出されなかったTPPを除くと、リン酸エステル系難燃剤は都市部河川において比較的高濃度で検出され、中でも下水処理場の放流水による影響を大きく受けている地点(地点6)ではとくに高い濃度(最大値はTCPPの750 ng/L)を示した。すなわち、リン酸エステル系難燃剤の発生源として、事業場排水のみならず家庭排水も相当の負荷を与えていることが示唆される。さらに、検出された7種類のリン酸エステル系難燃剤の組成比に着目した場合、いくつかの地点においては共通する傾向が見られるものの、そのパターンは様々であり、多種

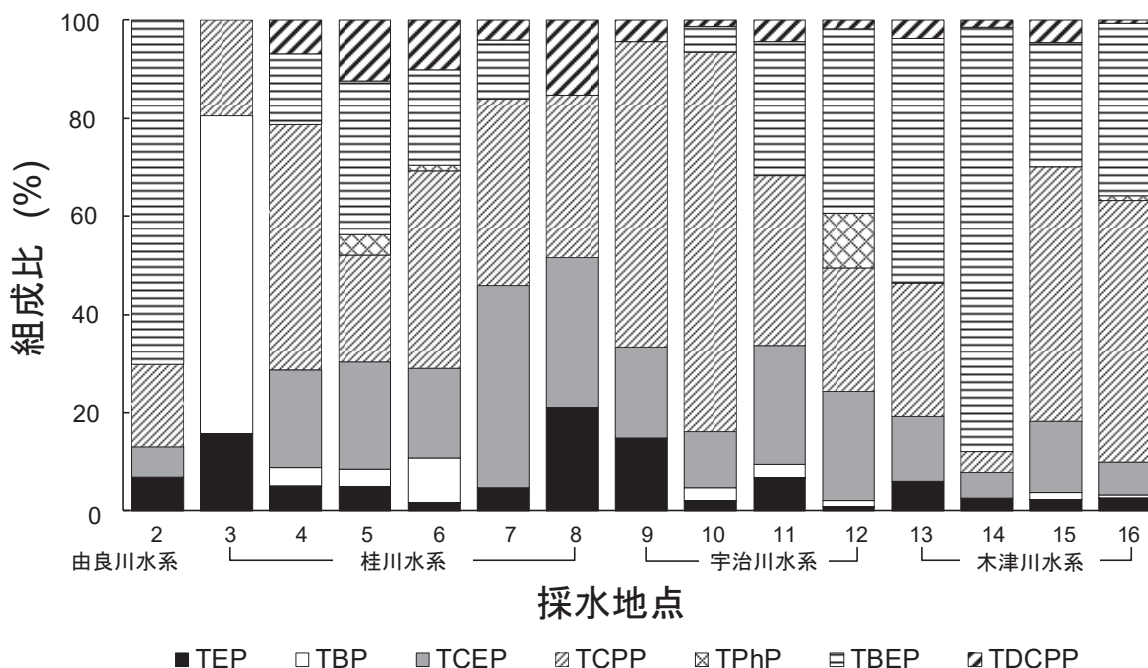


図2. 京都府南部河川において検出されたリン酸エステル系難燃剤の、採水地点ごとの組成比(地点番号に対応する採水地点は図1と同じ。物質名の略語は表1に示すとおり)。

多様な汚染源の存在を示唆している。

以上の実態調査結果は、他の自治体による河川水の実態調査結果^{2,3)}と概ね共通しており、リン酸エステル系難燃剤による汚染は都市部河川で普遍的に発生していることが考えられる。したがって、全国規模での汚染実態調査をさらに展開させることが、今後の課題として求められる。また、今回、測定対象とした8物質のうち、TBP、TCEP、TPhPについては淡水生態系における予測大無影響濃度(PNEC)が定められており、その値はそれぞれ21⁸⁾、100⁷⁾、3⁸⁾ $\mu\text{g/L}$ である。今回の実態調査では、これら3物質の河川水での濃度はPNECの値よりも2ないし3桁低い濃度であり、河川生態系へのリスクは小さいものと推定されるが、PNECが定められていない5物質については評価ができない状況にある。リスク評価のための毒性試験データを十分に揃えておくことも今後の重要な課題である。

謝辞

本研究は、平成28～30年度国立環境研究所と地方環境研究所等の共同研究(Ⅱ型共同研究)「高リスクが懸念される微量化学物質の実態解明に関する研究」(代表:東京都環境科学研究所 西野貴裕氏)により行われました。関係の皆様にご感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 松神秀徳, 戸舘侑孝, Sico H. Brandsma, Pim E. G. Leonards, 滝上英孝. 2014. リン酸エステル系難燃剤の定量分析法の開発と国際相互検定による検証. 環境化学, 24 (2), 41 - 49.
- 2) 山崎隆博, 吉川昌範. 2017. 福井県内の河川におけるリン酸エステル系難燃剤の実態について. 福井県衛生環境研究センター年報, 16, 57 - 59.
- 3) 加藤みか, 西野貴裕, 下間志正. 2018. 東京都内水域における有機リン系難燃剤等の実態調査. 東京都環境科学研究所年報, 2018, 66 - 67.
- 4) 斎藤育江, 大貫文, 矢口久美子, 小縣昭夫. 2008. 可塑剤・難燃剤等による室内空気汚染の実態とその曝露量評価. 東京都健康安全研究センター研究年報, 59, 27 - 38.
- 5) Matthews H. B., Eustis S. L., and Haseman J. 1993. Toxicity and Carcinogenicity of chronic exposure to tris (2-chloroethyl) phosphate. *Fundam. Appli. Toxicol.*, 20, 477 - 485.
- 6) Weiner M. L. and Jortner B. S. 1999. Organophosphate-induced delayed neurotoxicity of triaryl phosphates. *Neurotoxicology*, 20, 653 - 674.
- 7) 環境省. 2002. 化学物質の環境リスク評価. 1, 39.
- 8) 環境省. 2005. 化学物質の環境リスク評価. 4, 19 - 20.
- 9) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課. 2015. 化学物質環境実態調査実施の手引き(平成27年度版), 70 - 84.

