

PFOA定量分析手法の確立

Establishment of PFOA Quantitative Analysis Method

管理本部 環境品質保証部
Administrative Div.

Environment & Quality Assurance Dept.

技術開発部門 研究部研究第一グループ
分析物性チーム
Technical Development Div.
Research Dept.
Research Group 1,
Analysis & Physical Properties Team



北村 瑠里
Ruri KITAMURA



伊郷 宗一郎
Soichiro IGO



加藤 伸佳
Nobuyoshi KATO



戸松 春花
Haruka TOMATSU

要 旨

ストックホルム条約(POPs条約)の廃絶物質に指定されたペルフルオロオクタン酸(PFOA)の定量分析手法について検討を行った。その結果、PFOAの抽出溶媒はメタノールおよび試料と相溶性の良い溶媒を選択し、抽出温度と時間は25°Cで15分とした。濃縮・精製方法については固相抽出法を選択した。測定にはLC/QTOF-MSを使用し、さらにリテンションギャップ法と同位体標準試料による内部標準法を用いることによりppbレベルの精度の良い分析が可能となり、PFOAの定量分析手法を確立することができた。

Abstract

It was examined that a quantitative analysis method of Perfluorooctanoic acid (PFOA) designated as a certain substances that are subject to extinction under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). As an extraction solvent for PFOA, a solvent having best compatibility with methanol and sample was selected, the best conditions were that the extraction temperature and time were 25°C for 15minutes. For the concentration and purification method, a solid phase extraction method was selected, and LC/QTOF-MS was used for the apparatus. In addition, by using the retention gap method and the internal standard method using the same-type standard sample, it could be performed accurate analysis at ppb level, and a quantitative analysis method of PFOA was established.

1. はじめに

ペルフルオロオクタン酸(PFOA)は、生物への高い蓄積性と毒性が疑われる有機化合物である。そのため、2019年にストックホルム条約(POPs条約)の廃絶物質に指定された。これにより、EUではPOPs規則にて2020年7月よりPFOAを25ppb以上含む製品およびPFOA関連物質が合計1000ppbを超えて含有する混合物や成型品の製造時使用と上市が禁止となり、日本でも化審法にて2021年10月より規制される予定である。

PFOAはふっ素系原料の不純物として含まれており、当社の製品の一部は意図せず前述の規制対象となるため、原料ごとの分析が必須となる。PFOAの定量分析はすでに既知の分析方法¹⁾²⁾がいくつか存在するが国際規格はない。そこで当社はPFOA定量分析手法を確立することにより原料および製品の分析を随時行うことのできる環境を整え、より環境に配慮した安全性の高い製品の開発を目指した。

本報では、PFOAの類似物質であるペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の分析に関する規格であるCEN/TS 15968(2010)³⁾を基に行ったPFOAの抽出、濃縮、精製方法および分析装置、分析条件などの検討について報告する。

2. スtockホルム条約(POPs条約)について

2.1 残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約(POPs条約)について

ストックホルム条約(POPs条約)とは、2001年5月にストックホルムで採択され、残留性有機汚染物質(POPs: Persistent Organic Pollutants)から人の健康と環境を保護することを目的とし、(1)PCB等18物質(附属書A掲載物質)の製造・使用・輸出入の禁止、(2)DDT等2物質(附属書B掲載物質)の製造・使用・輸出入の制限、(3)非意図的に生成されるダイオキシン等4物質(附属書C掲載物質)の削減等による廃棄物等の適正管理を定めてい

る。これらPOPs条約にて規定された物質は、環境中での残留性、生物蓄積性、人や生物への毒性が高く、長距離移動性が懸念される物質の製造および使用の廃絶・制限、排出の削減、これらの物質を含む廃棄物等の適正処理等を規定し、対象物質については、残留性有機汚染物質検討委員会(POPRC)において議論されたのち、締約国会議(COP)において決定される。第9回 COP 2019年4~5月でPFOAとその塩およびPFOA関連物質について、廃絶対象物質(附属書A)への追加が決定された。

2.2 スtockホルム条約(POPs条約)追加物質と日本国内での化審法について

日本では、POPs条約の対象物質について、化審法第一種特定化学物質に指定し、製造、使用等を制限する等の措置を講じて、条約の義務を履行してきている。近年、廃絶対象物質となったPFOA等について、化審法第一種特定化学物質へ追加、および当該第一種特定化学物質を使用した製品を輸入禁止製品に追加指定する改正施行令が2021年4月21日に公布され、2021年10月22日に施行される予定である。

第一種特定化学物質に追加されると、試験研究用途や必要不可欠用途(エッセンシャルユース)以外での製造・輸入は原則禁止となる。ただし、他の化学物質を製造する際に副生される第一種特定化学物質については、「利用可能な最良の技術(BAT: Best Available Technology/Techniques)」の原則が適用される。すなわち、第一種特定化学物質を「工業技術的・経済的に可能なレベル」まで低減すべきとの考え方のもと、副生第一種特定化学物質の低減方策と自主的に管理する上限値を設定し、厚生労働省、経済産業省、環境省に対して事前確認を受けた上で報告した場合、副生第一種特定化学物質が上限値以下の場合に限り、化審法の第一種特定化学物質として取り扱わないこととなっている。

3. 実験

3.1 試料

検討用試料として、代表的な塗料の原材料の中から組成とPFOA含有量のそれぞれ異なる試料を3種類選定した。試料の組成とPFOA濃度を表1に示す。また、実際の試料として、塗料原料であるポリテトラフルオロエチレン (PTFE) の現行品2種類、および原料メーカーにてPFOA含有量の低減を目的に製造方法を改善したPFOA対策品2種類の測定を行った。

表1 検討用試料

	組成 *1	PFOA濃度 *2
試料A	ふっ素変性ポリエチレンワックス	<10ppb
試料B	ポリエチレンワックスとPTFEワックスの混合物	80ppb
試料C	PTFEの水分散体	790ppb

*1 原料メーカーのSDSより *2 (株)住化分析センターの分析値より

3.2 試薬

検量線作成用試料としてウェリントンラボラトリー製のPFOA標準試料(50 μ g/mL)およびPFOA同位体標準試料(50 μ g/mL)を用いた。

溶媒抽出には関東化学製のメタノール(LC/MS用)を用いた。

固相抽出には関東化学製のメタノール(LC/MS用)、林純薬工業製の25%アンモニア水(特級)を関東化学製のメタノール(LC/MS用)で調整した0.1%アンモニア/メタノール溶液および和光純薬製の酢酸(LC/MS用)とシグマアルドリッチ製の酢酸アンモニウム(LC/MS用)を超純水で調整した酢酸緩衝液を用いた。

LC/MSの移動相にはシグマアルドリッチ製の酢酸アンモニウム(LC/MS用)を超純水で調整した5mM酢酸アンモニウム水溶液および和光純薬製のアセトニトリル(PFOS・PFOA分析用)を用いた。

3.3 装置および条件

超音波抽出にはシャープ製の超音波洗浄器UT-105 HSを用いた。

遠心分離装置は久保田商事製のModel7000を用いた。遠沈管はサーモサイエンティフィック製のPPCOを使用した。

固相抽出システムはウォーターズ製のSep-PakコンセントレーターUniを用いた。充填剤はウォーターズ製のOasis WAX Plus Extractionを用いた。

LC/MSはウォーターズ製のACQUITY UPLC H-Class Plus, Xevo G2-XS QToFを用いた。カラムはACQUITY UPLC BEH C18 50 \times 2.1mm, 1.7 μ mを用いた。その他の条件は表2に示す。

表2 LC/MS条件

LC条件	カラム	ACQUITY UPLC BEH C18 50 \times 2.1mm, 1.7 μ m
	移動相A	5mM酢酸アンモニウム水溶液
	移動相B	アセトニトリル
	流速	0.35mL/min
	グラジエント条件	A : B = 99 : 1 ~ A : B = 10 : 90
MS条件	イオン化法	ESI法 Negative
	測定モード	MS/MS
	選択質量	PFOA (m/z 413 > 368.9760) ¹³ C ₄ -PFOA (m/z 417 > 371.9861)
	コリジョンエネルギー	10V

4. 結果と考察

4.1 CEN/TS 15968(2010)

本報はPFOAの類似物質であるPFOSの分析に関する規格であるCEN/TS 15968(2010)を基に検討を行った。この規格はPFOS濃度範囲0.5~50ppbの定量分析に適用される。試料の前処理としてPFOSの抽出、濃縮、精製方法および分析装置、分析条件などが規定されている。

4.2. 条件検討

4.2.1 溶媒抽出条件の検討

CEN/TS 15968(2010)によると抽出溶媒はメタノール、抽出条件は60°Cで2時間超音波抽出とされている。

適切な抽出溶媒の確認のため表1に示す3種類の試料をメタノールと混合したところ、試料AおよびBは分散し、試料Cは沈殿が生じる結果となった。メタノールを抽出溶媒とすると相溶性が悪く試料中のPFOAをすべて抽出できない可能性が考えられる。そこで、それぞれの試料に対して相溶性の良い溶媒を選択した。なお、相

溶性の良い溶媒は溶媒抽出後メタノールへと置換しており、溶媒が測定結果に影響しないことを確認した。また、抽出溶媒変更に伴い、抽出条件は文献⁴⁾を参考に25°Cで15分間超音波抽出した。

4.2.2 精製・濃縮条件の検討

CEN/TS 15968(2010)によると精製・濃縮条件は10倍濃縮し必要に応じて活性炭処理法または固相抽出法で精製するとされている。そこで精製と濃縮が同時にできる固相抽出法を選択した。固相抽出法とはLC分析の前処理に用いられる代表的な精製手法であり、固相抽出カートリッジを使用して目的成分を選択的に回収することができる。固相抽出法の概要図を図1に示す。固相抽出カートリッジの充填剤は目的成分であるPFOAが酸性かつ疎水性の高い化学構造であるため、弱陰イオン交換/逆相ミックスタイプを選択した。

固相抽出法の前処理として不溶分を除去し溶媒をメタノール水溶液に置換する必要がある。そのため溶媒抽出後にメタノールを添加し、減圧濃縮により溶媒置換を行った。さらに遠心分離で不溶分を沈降させて除去し、超純水で希釈することにより溶媒を10%未満のメタノール水溶液に調整した。

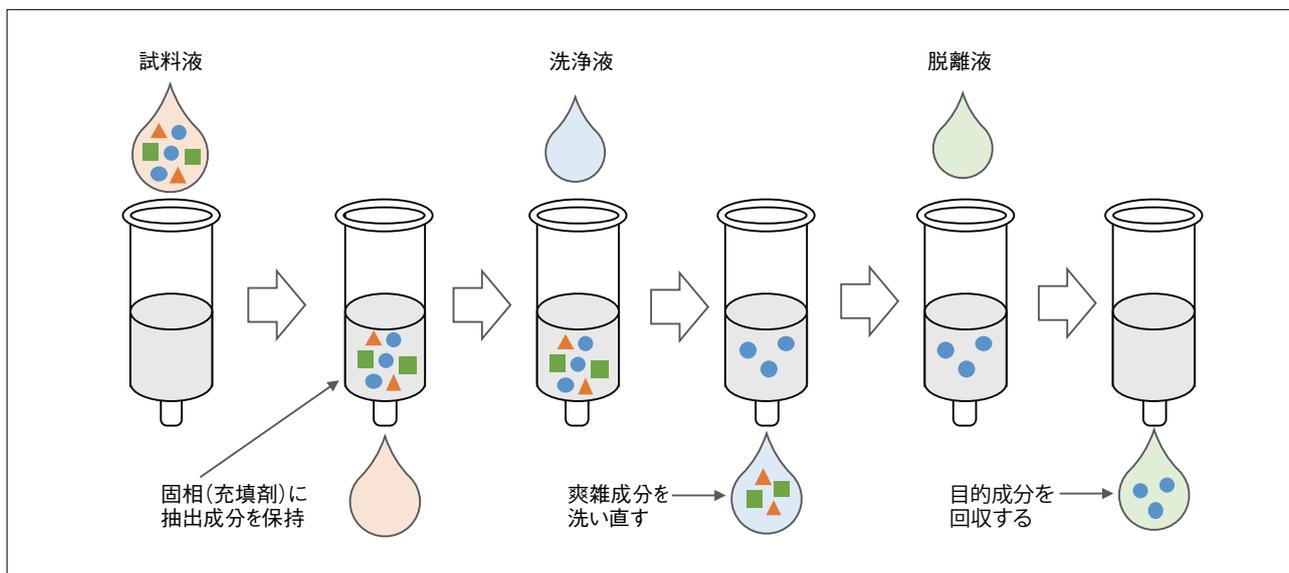


図1 固相抽出法の概要図

4.2.3 LC/MS条件の検討

CEN/TS 15968(2010)によるとLC-タンデム型質量分析計またはLC-四重極型質量分析計で試料を測定することとされており、前者の一種であるLC/QTOF-MSで測定した。LC/QTOF-MSの装置概要図を図2に

示す。カラムはPFOAと相性の良いC18系の逆相カラムを選択し、移動相条件はPFOAがシャープなピークとして検出される5mM酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルのグラジエント条件を設定した。

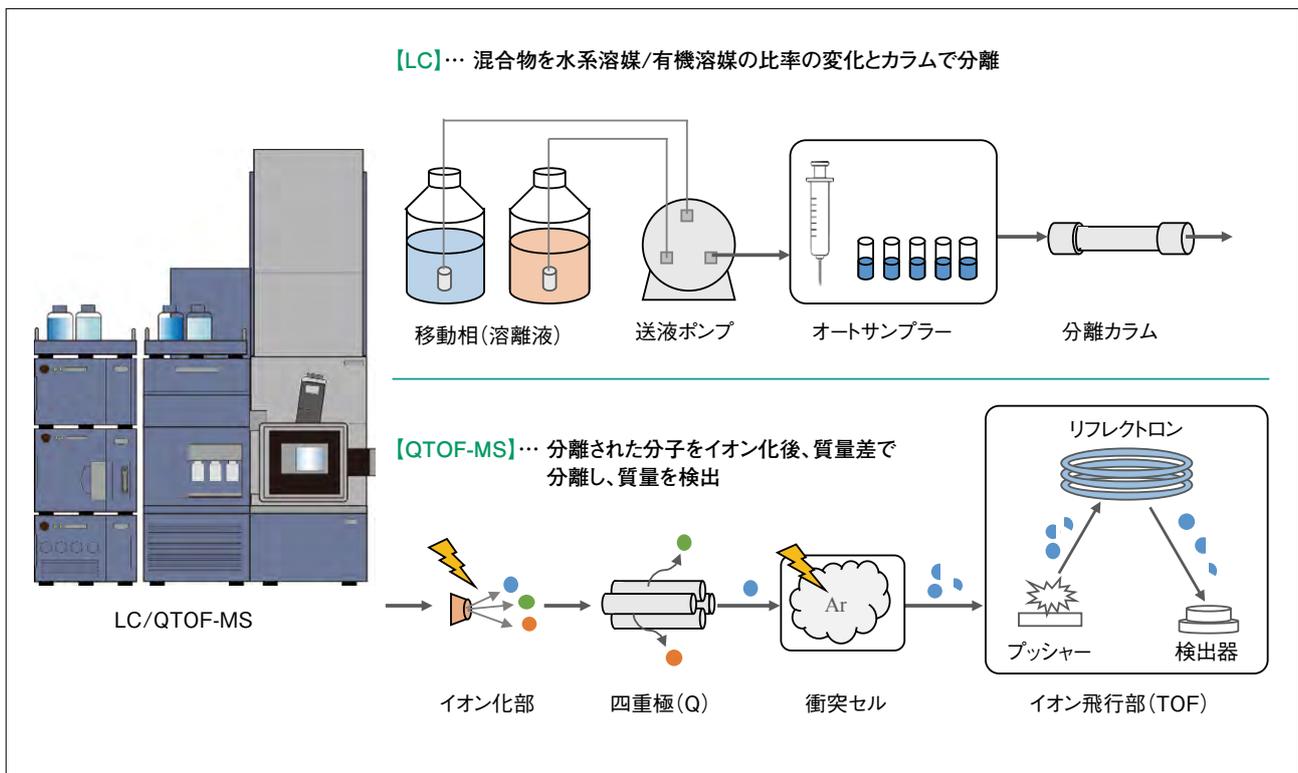


図2 LC/QTOF-MSの概要図

4.3 分析法の検証・改善

4.3.1 コンタミの排除

PFOAの標準試料を0.1ppb、1ppb、5ppbの濃度に希釈しブランク試料(0ppb)とともに測定を行ったところ、0.1ppb、1ppb、5ppbと濃度変化が確認できたが、図3のようにブランク試料でもPFOAが0.1ppbと同程度検出された。これは移動相に不純物として含まれるPFOAや装置のテフロン部品より溶出するPFOAが検出されたと考えられる。そこで定量下限値を下げるため送液ポンプとオートサンプラーの間にプレカラムを取り付け、移動相や装置由来のPFOAの溶出時間をずらし

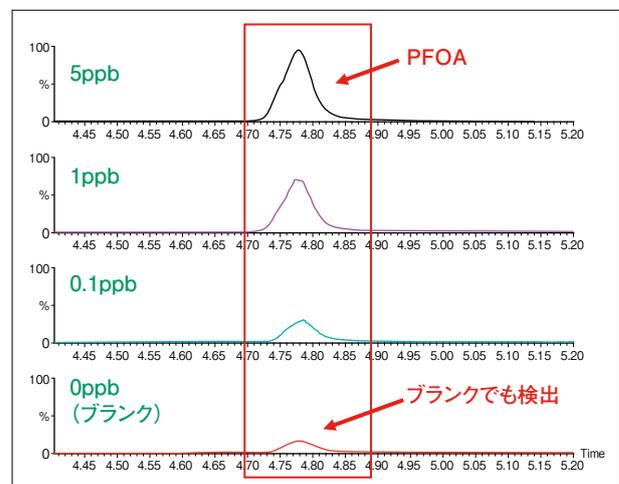


図3 PFOA標準試料測定結果

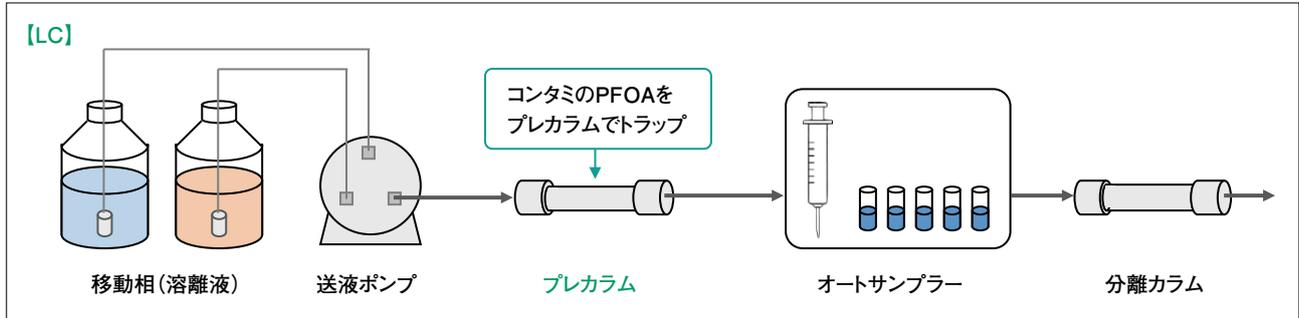


図4 リテンションギャップ法の概要図

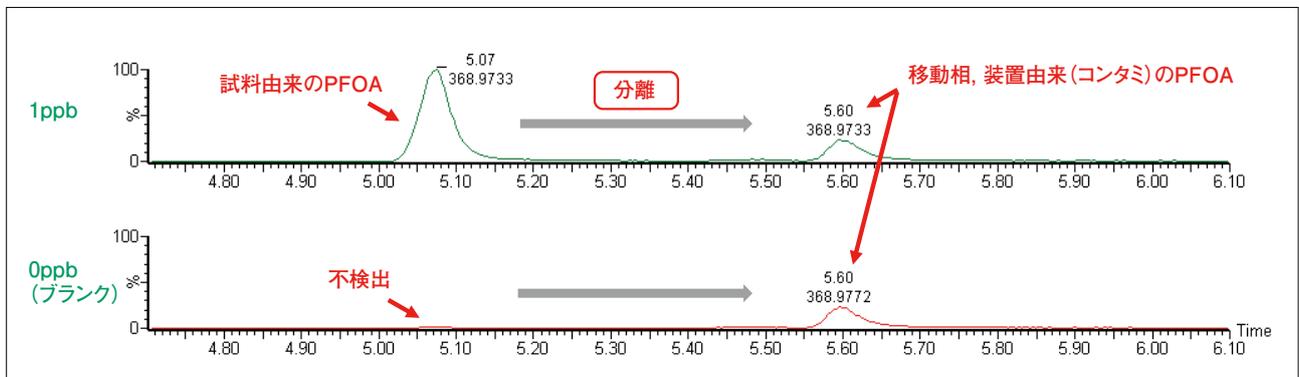


図5 リテンションギャップ法適用後のPFOA標準試料測定結果

て試料由来のPFOAと分離することができるリテンションギャップ法⁵⁾を用いて測定を行うこととした。リテンションギャップ法の概要図を図4に示す。リテンションギャップ法を用いて再度測定を行ったところ、図5のようにブランク試料中に試料由来のPFOAのピークは検出されなかった。このことよりリテンションギャップ法の適用がPFOAの定量分析手法に適していることが示された。

4.3.2 回収率の補正

PFOAの標準試料を100ppbに希釈し、固相抽出の後に測定すると回収率が83.4%と低下した。これは前処理によってPFOAの回収率が低下したためと考えられる。そこでPFOAと同じ化学構造のため前処理時の減少率が一致し、かつ質量が異なるためLC/MSで判別可能であるPFOAの同位体(¹³C₄-PFOA)を使用し内部標準法を用いて測定を行った。PFOAとPFOA同位体の測定結果を図6に示す。内部標準を添加した0~100ppbまでの一連の濃度のPFOA標準試料を測定したところ、検量線の決定係数R²は0.99954であり良好

な直線性が得られた。内部標準法を用いて100ppbのPFOA標準試料を再度測定したところ、補正後の定量値は104ppbであり100ppbに近い値を示した。このことより内部標準法の適用がPFOAの定量分析手法に適していることが示された。

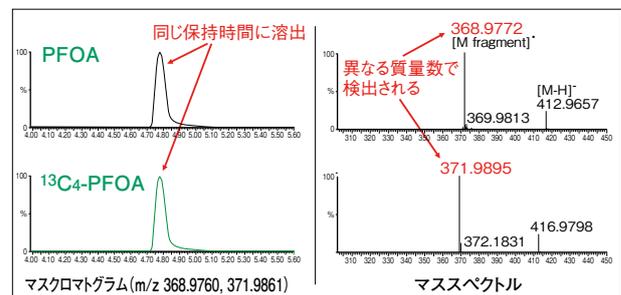


図6 PFOA、PFOA同位体標準試料測定結果

4.5 実試料分析への適用

本研究で確立した手法を用いてPFOA濃度が既知である3種類の検討用試料を測定した。結果を表3に示す。既知の値と同様な値が得られており本手法は適切であることが確認された。

また、実際の試料としてPTFEの現行品2種類およびPFOA対策品2種類の測定を行った。結果を表4に示す。PFOA対策品は現行品と比較して含有するPFOA濃度が低減していることが判明した。本手法により各原料のPFOA含有濃度が明確となりこの情報をもとにPFOA対応を進めることが可能となった。

表3 検討用試料の測定結果

PFOA濃度		
試料	本研究で確立した手法で測定した値	既知の値
試料A	2ppb	<10ppb
試料B	77ppb	80ppb
試料C	635ppb	790ppb

表4 実試料の測定結果

試料		PFOA濃度
PTFE (A)	現行品	983ppb
	PFOA対策品	55ppb
PTFE (B)	現行品	451ppb
	PFOA対策品	6ppb

5. まとめ

PFOAの溶媒抽出条件、精製・濃縮条件およびLC/MS条件などの検討によりPFOA定量分析手法が確立された。さらに分析手法の検証と改善を重ねることによりppbレベルの精度の良い分析が可能となった。本手法の確立により当社は原料および製品の迅速で精度の良いPFOA定量分析を可能とし、環境に配慮した安全性の高い製品の開発を進めている。

参考文献

- 1) 岩本卓治: 神奈川県産業技術センター研究報告 No.20/2014
LC-TOFMSを用いた有機フッ素化合物の分析方法の検討
- 2) 佐々木和明、八重樫香、斎藤憲光
(岩手県環境保健研究センター): 環境水・底質・生物中のペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS) ペルフルオロオクタン酸(PFOA)の分析
- 3) CEN/TS 15968(2010)
- 4) アジレント・テクノロジー株式会社
アプリケーションノート UHPLC
ハイフネーテッドトリプル四重極タンデム質量分析を用いた動物由来食品マトリックス中のPFOSおよびPFOAの定量
- 5) 佐藤信武、加藤紀子、小西泰二、
江崎達哉(日本ウォーターズ)、
中野武(兵庫県健康環境研究センター)
: 第18回環境化学討論会 ポスター発表
UPLC_MS_MSにおけるリテンションギャップ法を用いたPFCs分析