

- 田直敬、中島憲一郎、牧野恒久：蛍光誘導体化HPLCによる生体試料中ビスフェノールAの分析, 第2回日本内分泌攪乱化学物質学会, p20, 1999年, 神戸
3. 山口晃子、山崎聖美、坂部 貢、中澤裕之：生活関連物質の E-Screen Assay による評価, 第2回日本内分泌攪乱化学物質学会, p69, 1999年, 神戸
4. 中澤裕之：内分泌攪乱化学物質の分析を取り巻く課題, 第25回環境トキシコロジーシンポジウム・第3回衛生薬学フォーラム合同大会, p21, 1999年, 愛知
5. 中澤裕之：内分泌攪乱化学物質と分析化学, 第43回日本薬学会関東支部大会, p28, 1999年, 東京
6. 井之上浩一、宮島裕子、加藤嘉代子、吉村吉博、中澤裕之、鈴木 勉：生体試料中におけるビスフェノールAの高感度分析の開発, 日本分析化学会 第48回大会, p77, 1999年, 神戸
7. 井之上浩一、佐々木春美、加藤嘉代子、渡辺卓穂、吉村吉博、中澤裕之、本郷敏雄、堀江正一：電気化学検出高速液体クロマトグラフィー (ECD/HPLC) によるビスフェノールAの高感度分析, 第119回大会, 日本薬学会, p77, 1999年
8. 孫艶、和田光弘、黒田直敬、中嶋弥穂子、高橋正克、中島憲一郎：HPLC-過シュウ酸エステル化学発光検出によるほ乳びん中ビスフェノールAの定量, 第16回日本薬学会九州支部大会, 2B-11, 1999, 長崎.
9. 中島憲一郎、孫艶、オサマ・アルデハシ、和田光弘、黒田直敬、中澤裕之、牧野恒久：生体試料中のビスフェノールAの高感度分析法の開発に関する基礎研究, 第10回日本臨床化学会九州支部総会, 9, 2000, 福岡.
10. 孫艶、Al-Dirbashi Osama、和田光弘、黒田直敬、中島憲一郎、中澤裕之、牧野恒久：カラムスイッチングを利用するビスフェノールAのセミマイクロ HPLC 蛍光計測、日本薬学会第120回大会, 31[PF]10-03, 2000, 岐阜.
11. 巖 軍麗・小田真由美・田中智・塩田邦郎：東京大学・農学生命科学, 栄養膜細胞幹細胞 (TS 細胞) における AhR 発現の解析, 第92回 日本繁殖生物学会
12. 横田 博・牛頭圭介・湯浅 亮：植物エストロゲンをグルクロン酸抱合する UDP-グルクロン酸転移酵素分子種 第72回日本生化学会
13. 中陳静男、篠田 聡、豊島 聡、中澤裕之、牧野恒久：ヒト副腎皮質由来 H295R 細胞のコルチゾール分泌に及ぼす DDT とその代謝物の影響, 日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会, 12, 1999, 神戸
14. 山崎聖美、岡田由美子、久松由東：内分泌攪乱化学物質のリンパ球の反応性に及ぼす影響について, 第72回日本生化学大会, 横浜. 1999年, p 897.
15. 山崎聖美、岡田由美子、久松由東、香山不二雄：内分泌攪乱化学物質のリンパ球の反応性に及ぼす影響について, 第2回日本内分泌攪乱化学物質学会, 神戸. 1999年, p157.
16. 山口晃子、山崎聖美、坂部 貢、中澤裕之：生活関連物質の E-Screen Assay による評価, 第2回日本内分泌攪乱化学物質学会, p69, 1999年, 神戸

17. Yamazaki. T. 、 Okada. Y. 、 and Hisamatsu. Y. : Effects of endocrine disruptors on lymphocyte functions, Endocrine Disruptors, Keystone Symposia, California, 1999, p48.
18. 野村 麻貴、鳥羽 陽、木津 良一、久保田 明子、輪島 志帆子、正宗 行人、早川 和一：ディーゼル排気粉塵及び尿中のベンゾ[a]ピレンとピレンの水酸化体の検索, 日本薬学会第120回大会, 30[PF]12-08, 2000, 岐阜.
19. 阿久津和彦、尾花裕孝、起橋雅浩、柿本幸子、堀 伸二郎：GC/MSによるポリ臭素化ジフェニルエーテルの分析, 日本食品衛生学会第78回学術講演会, 長野, 1999年10月
20. 堀伸二郎：LC/MSによる食品及び生体試料中の植物エストロゲンの分析, 第2回日本内分泌攪乱化学物質学会, 神戸, 1999, 12, 9-10
21. 堀伸二郎：LC/MSによるヒト血液中のビスフェノールAの分析日本薬学会第120回大会, 岐阜, 2000, 3, 29-31
22. 藤巻照久、益川邦彦、田尾博明、本橋清乃、牧野恒久、吉村吉博、中澤裕之：GC/MS及びGC/ICP-MSによるヒト毛髪及び血液中の有機スズ化合物の分析, 日本薬学会第120回, 2000, 3月
23. 寺澤、月岡、吉田、佐藤：パラヒドロキシン安息香酸の血中濃度と摂取量について, 日本食品衛生学会第78回学術講演会, 53, 1999
24. 月岡、寺澤、吉田、佐藤、藤島、中澤：第8回環境化学討論会, 30-31, 1999, S P M Eによる生体試料中の有機塩素化合物の微量分析 I-クロロベンゼン類とクロロフェノールについて
25. 寺澤、月岡、吉田、佐藤、藤島、中澤：第8回環境化学討論会, 30-31, 1999, S P M Eによる生体試料中の有機塩素化合物の微量分析 II-酸系除草剤を中心に-
26. 月岡忠、寺澤潤一、吉田徹也、佐藤守俊、藤島弘道、中沢裕之：S P M E-G C / M Sによる生体試料中の内分泌攪乱物質の微量分析, 第24回医用M S学会シンポジウム, 1999, 9, 23

F. 知的所有権の取得状況

特許取得
なし
実用新案
なし
その他
なし

平成 11 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）分担研究報告書

内分泌かく乱物質に関する生体試料（さい帯血等）の分析法の開発とその実試料分析結果に基づくヒト健康影響についての研究

生体試料中のフタル酸及びアジピン酸エステル類の高感度一斉分析測定法の開発

主任研究者 牧野恒久
東海大学
分担研究者 牧野恒久
東海大学
研究協力者 岩崎克彦
和泉俊一郎
東海大学

【要旨】

フタル酸エステル類及びアジピン酸エステルは、内分泌かく乱物質の一つと考えられている。現在、プラスチック製品の可塑剤として汎用されており、健康影響に関する調査研究の実施が急務とされている。この目的のために、ヒト体液中での、これらエステル類の高感度かつ迅速な一斉分析法を開発した。

本法は、試料をヘキサン：アセトニトリルと振とうするだけで、抽出・精製が可能で、前処理操作が極めて簡便かつ迅速である。それ故、定量操作過程への、エステル類の混入が、極めて少ないという利点がある。また、比較的高感度で 1 ng/ml（生体試料）のエステル類の測定が可能である。本法により、ヒト体液中のフタル酸エステル及びアジピン酸エステルが、高感度で、アーティファクトの可能性が極めて低い状態で測定可能である。また、迅速かつ簡便であるなど、スクリーニング法として優れた特徴を有するため、内分泌かく乱物質の健康影響に関する調査研究の実施に極めて有用である。

A. 研究目的

フタル酸エステル類及びアジピン酸エステルは、内分泌かく乱物質の一つと考えられている。現在、プラスチック製品の可塑剤として汎用されており、健康影響に関する調査研究の実施が急務とされている。この目的のために、ヒト

体液中での、これらエステル類の高感度かつ迅速な一斉分析法を開発した。本法は、生体試料からヘキサンアセトニトリルでエステル類を抽出し、GC-MS 分析することに基づく。ウサギ標準血清を生体試料のモデルとして用い、分析法の最適化を行った。

B. 研究方法

<1. 試薬及び器具>

フタル酸ジエチル（略号 DEP）及び DEP-d₁₀：関東化学。

フタル酸ジイソブチル（略号 DIBP）及び DIBP-d₁₀：関東化学。

フタル酸ジブチル（略号 DBP）及び DBP-d₁₀：関東化学。

フタル酸ジベンチル（略号 DPP）及び DPP-d₁₀：関東化学。

フタル酸ペンジルブチル（略号 BBP）：関東化学。

フタル酸ジシクロヘキシル（略号 DCHP）及び DCHP-d₁₀：関東化学。

フタル酸ジ-2 エチルヘキシル（略号 DEHP）：関東化学。

アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル（略号 DEHA）：関東化学。

BBP-d₄：キシダ化学。

DEHP-d₄：GL サイエンス。

DEHA-d₈：林純薬。

フェナンスレン-d₁₀（内標準物質）：日本酸素。

フルオランテン d₁₀、クリセン-d₁₂（内標準物質）：GL サイエンス。

n-ヘキサン：フタル酸分析用、関東化学。

アセトニトリル：残留農薬試験用（1000 倍濃縮）、関東化学。

ウサギ標準血清：和光純薬。

操作ブランク用水：フタル酸分析用、和光純薬。

水：イオン交換水を、超純水製造装置（Milli RO 8 Water purification system 及び Milli-Q SP reagent water system）で精製した。

ガラス器具の摺り合わせは全て SPC を用い、Extrane MA 01 alkaline（Merck 社）5%溶液に1夜浸け置きし、超音波洗浄器を用い水、アセトン洗浄し、超純水で置換し乾燥した。さらに、窒素気流下、200°Cで3時間加熱し、放冷した器具を、使用する直前に、ヘキサンでリンスして使用した。

<1.2 標準溶液の調製>

標準試料溶液

各エステル類を、200 µg/ml の濃度にヘキサンで調製し、さらにヘキサンで希釈して、2 µg/ml 溶液とした。

サロゲート溶液

各エステル類対応のサロゲート物質を、100 µg/ml の濃度にヘキサンで調製し、さらにヘキサンで希釈して、4 µg/ml 溶液とした。

内標準溶液

フェナンスレン-d₁₀、フルオランテン d₁₀ 及びクリセン-d₁₂ を 200 µg/ml の濃度にヘキサンで調製し、さらにヘキサンで希釈して 20 µg/ml 溶液とした。

<1.3 試料>

ヒト血清は、7人のボランティアから得た。血清試料は、常法に従って調製し、15分以内に凍結し、測定するまで-30°Cで保存した。

<2. 装置>

GC-MS 島津製，QP-5050A 型

<3. 分析法>

定量操作

10 ml の共栓付き試験管に、試料溶液 2ml を加える。これに、サロゲート化合物溶液を 50 μ l 添加し、混和後 5 分間放置する。アセトニトリル 2ml、ヘキサン 1.8ml を添加し、 N_2 でヘッドスペースを置換して、ボルテックスミキサーを用い、1 分間抽出する。1000g で 5 分間、遠心分離し、ヘキサン層を分取し、内標準溶液 20 μ l を加え、その 2 μ l を GC-MS に付す。

《GC-MS 条件》

GC

カラム : DB-5, 0.25mm \times 30m, df 0.25 μ m

温度 : カラム、100 $^{\circ}$ C (1min) \rightarrow + Δ 8 $^{\circ}$ C /min \rightarrow 280 $^{\circ}$ C (15min)

注入口、300 $^{\circ}$ C

インターフェイス、280 $^{\circ}$ C

キャリアガス : ヘリウム (1.2ml/min)

注入 : スプリットレス

高圧注入、100Kpa (注入口圧)

サンプリング時間、1min

注入量、2 μ l

MS

イオン化法 : EI

イオン化電圧 : 70V

<4. 検量線>

1.2 項の標準試料溶液をヘキサンで希釈して、1, 5, 10, 50, 100, 200ng/ml の溶液に、サロゲート及び内標準物質をそれぞれ 100 ng/ml、200 ng/ml となるように添加した溶液を、上記分析条件で

測定した。エステル類と対応するサロゲート物質の、ピーク面積値の比と、重量比から、検量線を作成した。

<5. 定量計算>

得られたエステル類と、対応するサロゲート物質とのピーク面積値の比から、検量線より検出量を求め、次式により生体試料中の濃度 (C_s) を算出した。

$$C_s \text{ (ng/ml)} = (W_d - W_b) \times (V_s / V_i) \times (1000 / W_s)$$

W_d : 検出量 (ng)

W_b : 操作ブランク (ng)

W_s : 試料採取量 (2ml)

V_s : 測定試料液量 (1.5ml)

V_i : 注入量 (2 μ l)

また、測定ごとに一定量添加したサロゲート物質により、それぞれの測定対象の回収率を算出した。サロゲートの定量は感度計数 (RF) 法で行った。

$$RF = (A_s \times C_{is}) / (A_{is} \times C_s)$$

A_s : サロゲートの測定イオンのピーク面積

A_{is} : 内標準の測定イオンのピーク面積

C_{is} : 検量線標準液中の内標準物質質量 (ng)

C_s : 検量線標準液中のサロゲート物質質量 (ng)

C. D. 研究結果および考察

<1. クロマトグラム>

50 ng/ml (0.1 ng/ 2 μ l 注入量) のエステル類及び100 ng/ml (0.2 ng/2 μ l 注入量) のサロゲートを含む溶液、2 μ l から得たクロマトグラムを Fig. 1-1, 1-2 に示す。本条件下で、DCHP と DEHP 及びそのサロゲートは、ベースライン分離しなかったが、定量には十分な分離だった。その他の化合物は、完全にベースライン分離した。

<2. マススペクトル>

本装置によりエステル類、それらのサロゲート物質及び内標準物質のマススペクトルを測定した結果を Fig. 2-1~2-3 に示す。本測定に使用した試料の濃度はいずれも 400 ng/ml で、1 μ l 注入して行った。以後測定に用いたモニターイオンは、これらのスペクトルに基づいて決定した。(Table 1)

<3. 検量線及び検出限界>

エステル類及びそれらのサロゲートの検量線は、少なくとも 200 ng/ml (0.4 ng/ 2 μ l 注入量) までの良好な直線性を示した。サロゲート物質 100 ng/ml (0.2 ng/2 μ l 注入量) を加えて作成した、エステル類の検量線 (Fig. 3) も良好な直線性を示し、寄与率 $\gamma = 0.9992$ から $\gamma = 0.9999$ と良好であった。検出限界 (S/N=3) は、1 ng/ml (2 pg/2 μ l 注入量) のエステル類を用いて得たクロマトグラム (Fig. 1-3) より算出した。(Table 2)。

<4. 生体試料への応用>

本法をヒト体液 (腹水、血清、さい帯血) に応用するため、ウサギ標準血清をモデルとして用い、諸条件を検討した。

クロマトグラム

操作法に従って血清を処理して得られたクロマトグラムを、Fig. 4-1、4-2 に示す。DBP 及び DEHP が、1.4 及び 1.3ng/ml 検出され、それぞれの参照イオン (Table 1) との強度比は (100 : 2、100 : 29 : 7)、標準物質の強度比 (100 : 3、100 : 31 : 6) とほぼ同じであることを確認している。このときの操作ブランクの DBP 及び DEHP は、0.7 及び 0.4ng/ml であった。一方、その他のエステル類は全く検出されなかった。また、生体試料由来の妨害ピークは観測されなかった。

抽出条件

アセトニトリル : ヘキサン、メタノール : ヘキサン、メタノール : ヘプタン、ヘキサン、酢酸エチルを用い、抽出条件を検討した。この中でアセトニトリル : ヘキサンによる抽出が、血清に対する抽出溶媒の量を少なくしても、エマルジョンが全く起こらなかった。それ故、アセトニトリル : ヘキサン = 2 : 1.5 を用いて抽出した。

操作ブランク、回収率及び定量限界

本法の操作ブランクを 7 回測定した結果を Table 3 に示す。DBP 及び DEHP は、それぞれ 0.8 及び 1.0 ng/ml の操作ブランクが検出された。それ以外の測定対象のピークは全く観測されなかった。

ウサギ血清にエステル類を各

50ng/ml の濃度添加した溶液を 5 回ずつ測定した (Table 4 及び 5)。それぞれの測定値から、回収率を算出したところ、DEP が 14%、と極端に低い他は、60 から 90% と比較的良好であった。

検出限界をそれぞれの回収率を加味し、試料あたりに換算した結果を Table 2 に示す。回収率が低い、DEP、BBP 以外は 1ng/ml 以下と良好な値を示したので、これらを定量限界とした。しかし、DBP と DEHP は、操作ブランクが検出されたことから、次式から定量限界を算出し、それぞれ 1.0 及び 1.5 ng/ml とした。

定量限界 = 平均値 + 1.943 × 標準偏差

ヒト血清の測定

本法を用いてボランティアのヒト血清を測定した結果を、Table 6 に示す。ここに示すように、汚染の可能性が考えられる DBP が、定量限界をわずかに超える程度検出された。これは、プラスチック製品が多数存在する P-2 実験室内のさらなる汚染防止と、サンプリングの操作ブランクを測定し、考察する必要性を示唆する。

E. 結論

GC-MS を用いる、ヒト体液中のフタル酸エステル及びアジピン酸エステルの一斉分析法を開発した。本法は、試料をヘキサン:アセトニトリルと振とうするだけで、抽出・精製が可能で、前処理操作が極めて簡便かつ迅速である。それ故、定量操作過程への、エステル類の混入が、極めて少ないという利点がある。また、

比較的高感度で 1 ng/ml (生体試料) のエステル類の測定が可能である。

本法はヒト体液中のフタル酸エステル及びアジピン酸エステルを、高感度で、アーティファクトの可能性が極めて低い状態で測定可能である。また、迅速かつ簡便であるなど、スクリーニング法として優れた特徴を有する。それ故、内分泌かく乱物質の健康影響に関する調査研究の実施に極めて有用である。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

Table 1 Retention time, monitor ion and reference ion

Phthalate and adipate	Retention time	Monitor ion	Reference ion
DEP	11.83	149.1	177
DEP-d ₄	11.80	153.1	
Phenanthrene-d ₁₀	14.91	188.2	
DIBP	15.79	149.1	223.1
DIBP-d ₄	15.77	153.1	
DBP	17.08	149.1	223.1
DBP-d ₄	17.05	153.1	
Fluoranthene-d ₁₀	18.72	212.2	
DPP	19.48	149.1	237.2
DPP-d ₄	19.45	153.1	
BBP	21.86	149.1	206.2
BBP-d ₄	21.83	153.1	
DEHA	22.25	129.1	147.2, 241.2
DEHA-d ₈	22.17	137.2	
Chrysene-d ₁₂	23.38	240.25	
DCHP	23.73	149.1	167.1, 249.2
DCHP-d ₄	23.71	153.1	
DEHP	23.81	149.1	167.1, 279.2
DEHP-d ₄	23.78	153.1	

Table 2 Detection limits (S/N=3) of phthalates and adipate

Phthalates and adipate	Detection limits	
	ng/2 μ l injection	ng/ml sample
DEP	0.8	4
DIBP	0.5	0.6
DBP	0.4	0.5
DPP	0.4	0.4
BBP	1.2	1.9
DEHA	1.1	0.9
DCHP	0.9	0.8
DEHP	0.6	0.5

Table 3 Blank

	DEP, ppb (DEP-d4, %)	DIBP, ppb (DIBP-d4, %)	DBP, ppb (DBP-d4, %)	DPP, ppb (DPP-d4, %)	BBP, ppb (BBP-d4, %)	DEHA, ppb (DEHA-d8, %)	DCHP, ppb (DCHP-d4, %)	DEHP, ppb (DEHP-d4, %)
1	ND 17%	ND 69%	0.7 68%	ND 81%	ND 48%	ND 87%	ND 82%	1.5 82%
2	ND 15%	ND 67%	0.6 67%	ND 80%	ND 45%	ND 85%	ND 80%	0.6 80%
3	ND 13%	ND 54%	0.8 49%	ND 73%	ND 36%	ND 51%	ND 75%	0.9 51%
4	ND 16%	ND 67%	2.1 66%	ND 78%	ND 45%	ND 81%	ND 76%	0.8 78%
5	ND 16%	ND 67%	0.7 66%	ND 79%	ND 44%	ND 80%	ND 76%	0.8 78%
6	ND 16%	ND 69%	0.9 69%	ND 82%	ND 46%	ND 85%	ND 78%	1.1 82%
7	ND 15%	ND 60%	0.7 53%	ND 70%	ND 38%	ND 46%	ND 70%	1 46%
Means	- 16	- 68	0.8 68	- 80	- 46	- 84	- 78	1 79
SD	- 0.7	- 1.3	0.1 1.4	- 1.5	- 1.3	- 2.5	- 2.1	0.2 3.2
RSD	- 4.3	- 1.8	9.4 2	- 1.9	- 2.7	- 3	- 2.7	23.8 4

Table 4 Phthalates and adipate in rabbit serum

	DEP, ppb (DEP-d4, %)	DIBP, ppb (DIBP-d4, %)	DBP, ppb (DBP-d4, %)	DPP, ppb (DPP-d4, %)	BBP, ppb (BBP-d4, %)	DEHA, ppb (DEHA-d8, %)	DCHP, ppb (DCHP-d4, %)	DEHP, ppb (DEHP-d4, %)
1	ND 14	ND 61	7.7 64	ND 76	ND 44	ND 74	ND 81	1.3 73
2	ND 14	ND 61	8.1 65	ND 76	ND 45	ND 77	ND 82	1 78
3	ND 14	ND 63	9 66	ND 78	ND 48	ND 87	ND 86	0.9 86
4	ND 14	ND 62	8.2 64	ND 76	ND 44	ND 87	ND 81	1 83
5	ND 15	ND 66	8.6 67	ND 80	ND 45	ND 82	ND 85	1.3 83
Means	— 14	— 63	8.3 65	— 77	— 45	— 81	— 83	1.1 81
SD	— 0.4	— 2.1	0.5 1.3	— 1.8	— 1.6	— 5.9	— 2.3	0.2 5.1
RSD	— 3.2	— 3.3	6 2	— 2.3	— 3.6	— 7.2	— 2.8	17 6.4

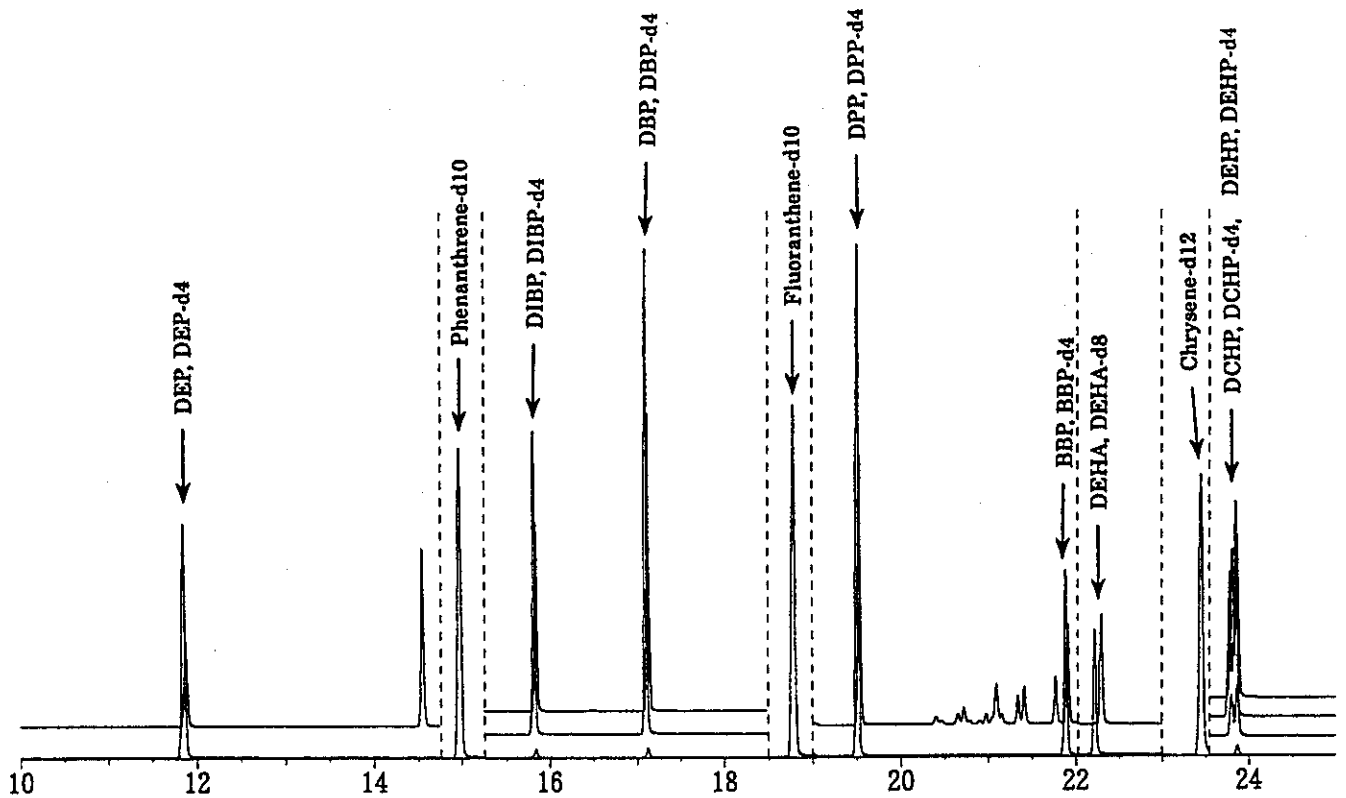
Table 5 Recoveries of phthalates and adipate

	DEP, ppb (DEP-d4, %)	DIBP, ppb (DIBP-d4, %)	DBP, ppb (DBP-d4, %)	DPP, ppb (DPP-d4, %)	BBP, ppb (BBP-d4, %)	DEHA, ppb (DEHA-d8, %)	DCHP, ppb (DCHP-d4, %)	DEHP, ppb (DEHP-d4, %)
1	14	60	61	76	48	86	86	85
	13	59	64	78	46	88	85	88
2	14	57	62	73	47	81	80	79
	13	57	64	76	47	83	83	84
3	15	61	68	78	50	89	89	92
	15	63	70	81	51	93	91	95
4	15	62	69	79	49	91	88	92
	15	63	71	83	50	95	91	96
5	14	60	64	76	46	87	84	88
	14	61	68	80	45	92	88	91
Means	14	60	65	76	48	87	85	87
	14	61	67	80	48	90	88	91
SD	0.5	1.9	3.6	2.3	1.6	3.8	3.6	5.4
	1	2.6	3.3	2.7	2.6	4.8	3.6	5
RSD	3.8	3.1	5.5	3	3.3	4.3	4.2	6.2
	7.1	4.3	4.3	3.4	5.4	5.3	4.1	5.5

Table 6 Phthalates and adipate in human sera

Sample	Sex	Blank	Concentration (ppb) and percentage of total phthalates/adipate									
			DEP	DIBP	DBP	DPP	BBP	DEHA	DCHP	DEHP		
			(DEP-d4, %)	(DIBP-d4, %)	(DBP-d4, %)	(DPP-d4, %)	(BBP-d4, %)	(DEHA-d8, %)	(DCHP-d4, %)	(DEHP-d4, %)		
1	M	A	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			15%	59%	53%	71%	39%	48%	73%	49%		
2	M	A	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			15%	55%	57%	73%	40%	52%	77%	51%		
3	M	B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			15%	61%	50%	72%	42%	53%	81%	55%		
4	F	B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			16%	63%	57%	75%	47%	71%	83%	71%		
5	F	A	ND	ND	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			16%	63%	54%	70%	41%	36%	73%	37%		
6	F	A	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			15%	62%	55%	72%	40%	43%	74%	44%		
7	F	A	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			13%	54%	49%	73%	38%	46%	70%	46%		
Blank A	F	A	ND	ND	1.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			13%	55%	42%	67%	31%	44%	71%	45%		
Blank B	F	B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			17%	66%	49%	72%	43%	49%	82%	52%		
Blank A	F	B	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			17%	64%	47%	69%	41%	47%	81%	51%		
Blank B	F	B	ND	ND	1.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			14%	58%	46%	67%	35%	53%	74%	51%		
Blank A	F	B	ND	ND	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			18%	74%	75%	87%	47%	82%	69%	81%		
Blank B	F	B	ND	ND	2.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
			18%	74%	75%	87%	47%	82%	69%	81%		

M, Male; F, Female



イオン番号 : 1 SIM = 3280000
149.10 153.10

イオン番号 : 2 SIM = 3280000
188.20

イオン番号 : 3 SIM = 3280000
149.10 153.10 223.10

イオン番号 : 4 SIM = 3280000
212.20

イオン番号 : 5 SIM = 3280000
149.10 153.10

イオン番号 : 6 SIM = 3280000
129.20 137.20

イオン番号 : 7 SIM = 3280000
240.25

イオン番号 : 8 SIM = 3280000
149.10 153.10 167.10 279.20

Fig. 1-1 Chromatogram of phthalates and adipate
Phthalate and adipate; 50 ng/ml

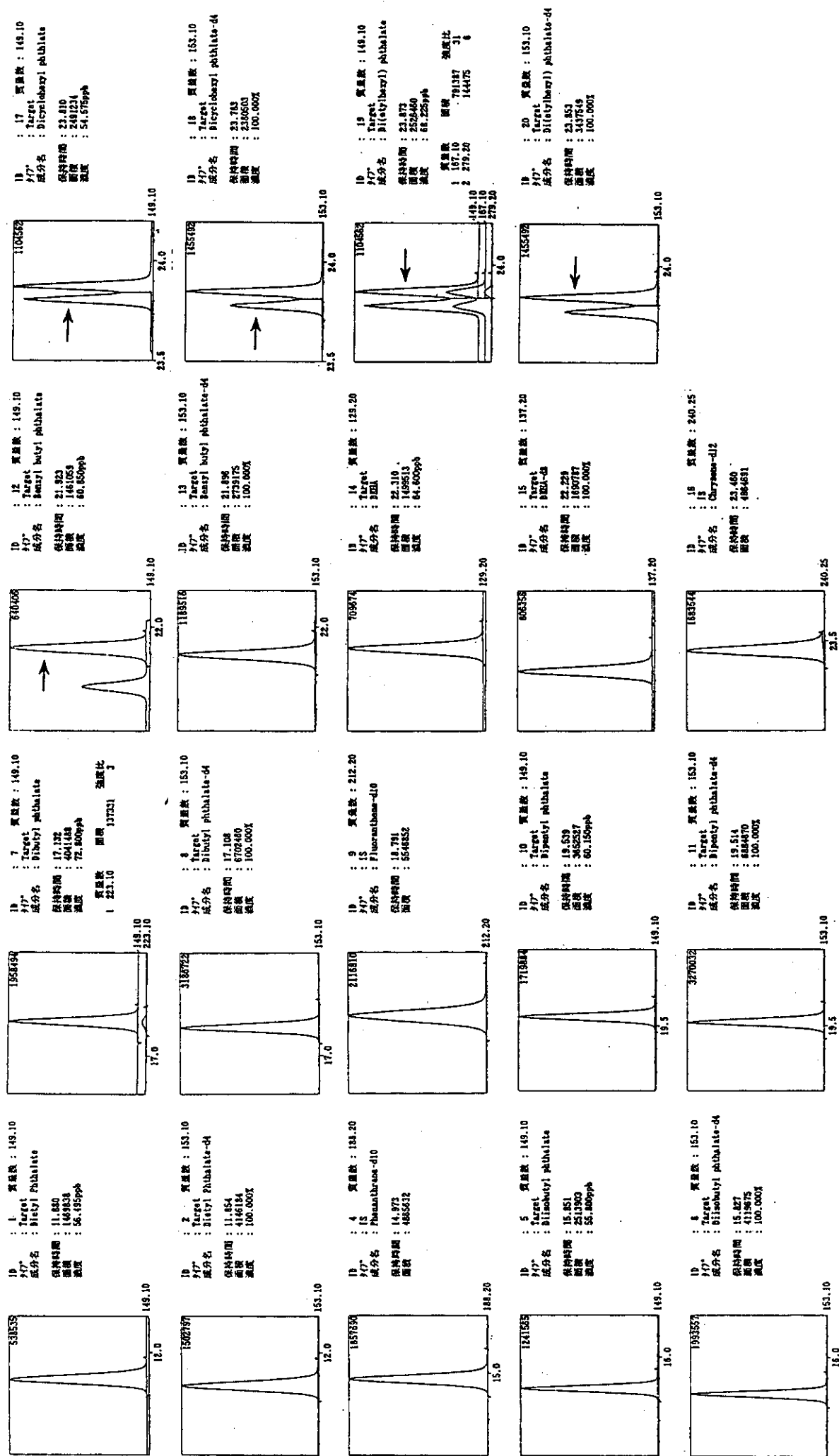


Fig. 1-2 Chromatogram of phthalates and adipate
 Phthalate and adipate; 50 ng/ml

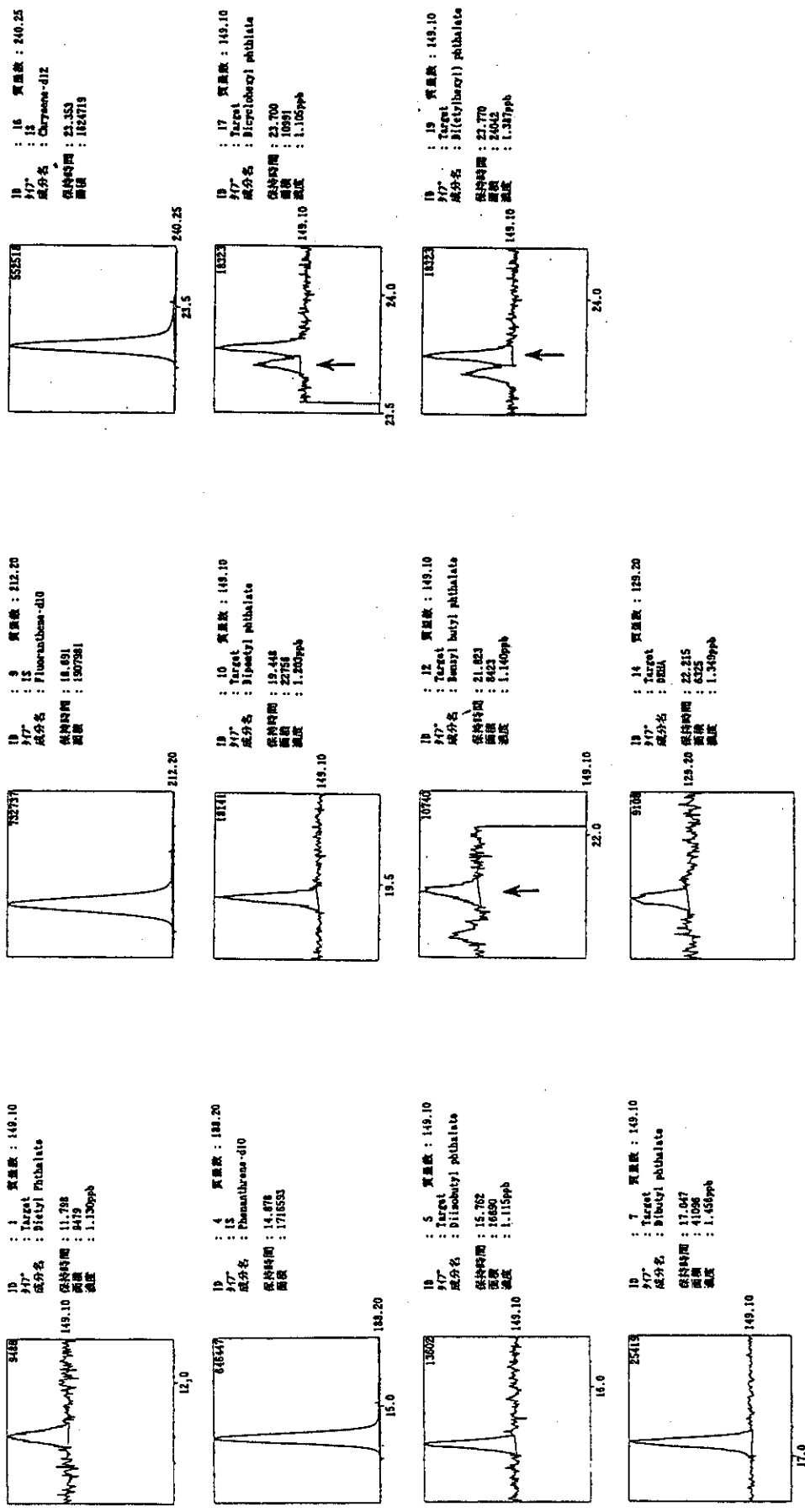
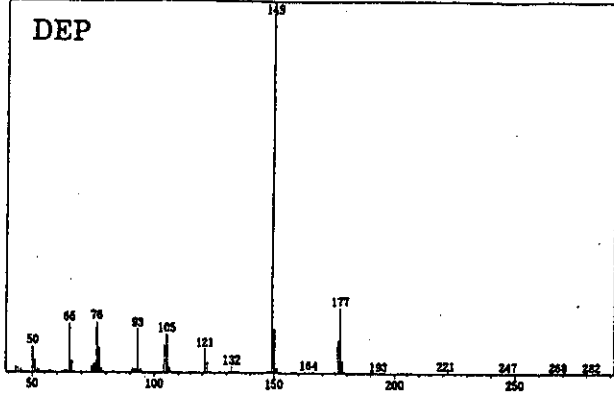
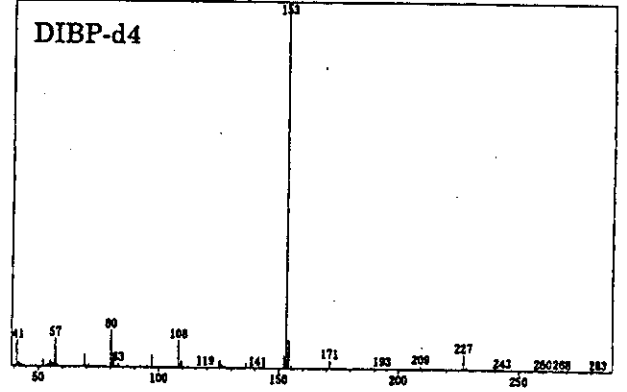


Fig. 1-3 Chromatogram of phthalates and adipate
Phthalate and adipate; 1 ng/ml

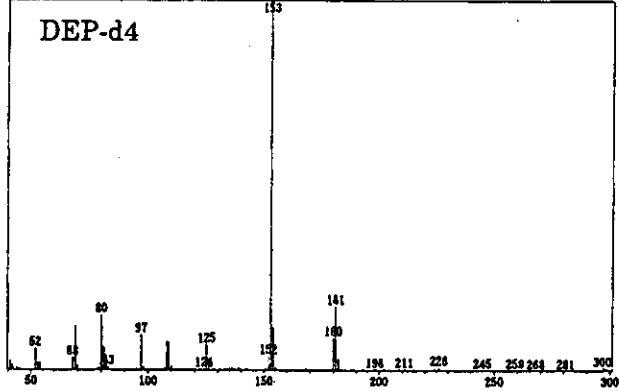
検出番号 : (825 - 830) 分子量範囲 : (806 - 815)
 ピーク数 : 181 保持時間 : (11.867 - 11.908)
 分子量 : 149.10 (1202838)



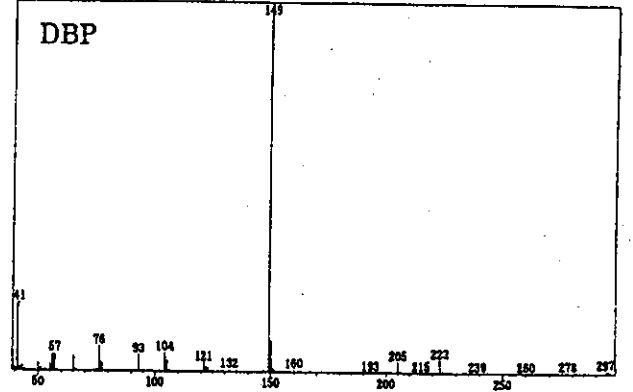
検出番号 : (1282 - 1284) 分子量範囲 : (1296 - 1298)
 ピーク数 : 131 保持時間 : (15.758 - 16.778)
 分子量 : 153.10 (805688)



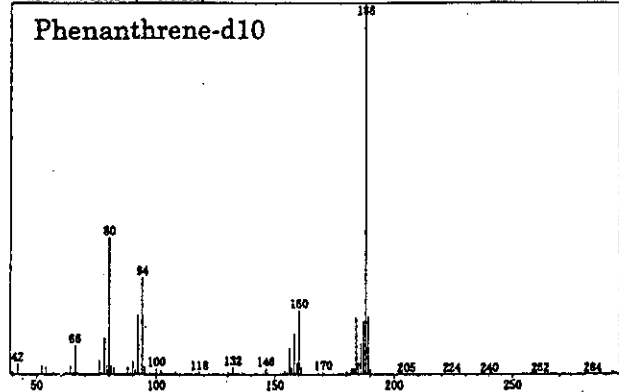
検出番号 : (816 - 818) 分子量範囲 : (821 - 824)
 ピーク数 : 120 保持時間 : (11.783 - 11.804)
 分子量 : 153.10 (473882)



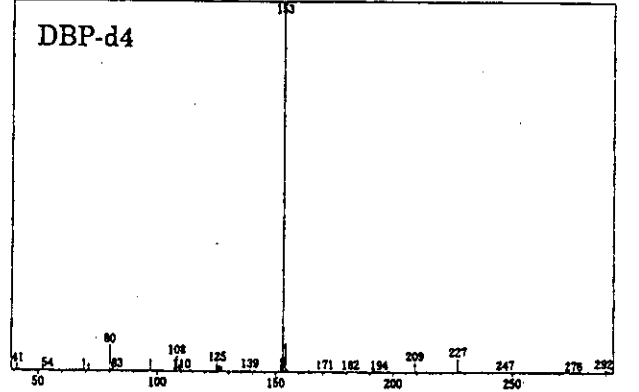
検出番号 : (1465 - 1469) 分子量範囲 : (1444 - 1448)
 ピーク数 : 182 保持時間 : (17.117 - 17.160)
 分子量 : 149.10 (382237)



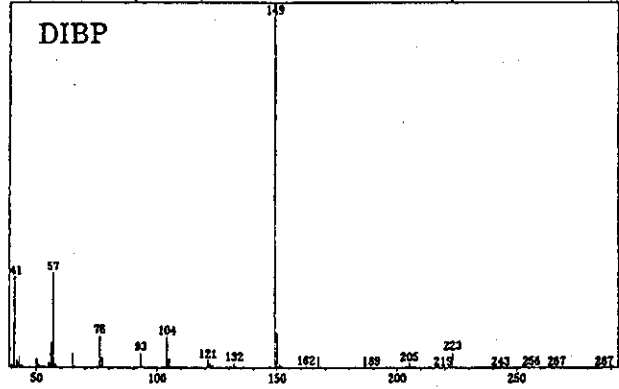
検出番号 : (1185 - 1200) 分子量範囲 : (1164 - 1191)
 ピーク数 : 173 保持時間 : (14.950 - 14.992)
 分子量 : 188.20 (1015211)



検出番号 : (1445 - 1447) 分子量範囲 : (1451 - 1452)
 ピーク数 : 129 保持時間 : (17.033 - 17.050)
 分子量 : 153.10 (869746)



検出番号 : (1301 - 1305) 分子量範囲 : (1291 - 1296)
 ピーク数 : 175 保持時間 : (15.833 - 15.867)
 分子量 : 149.10 (2347328)



検出番号 : (1652 - 1658) 分子量範囲 : (1642 - 1648)
 ピーク数 : 185 保持時間 : (18.758 - 18.808)
 分子量 : 212.20 (866325)

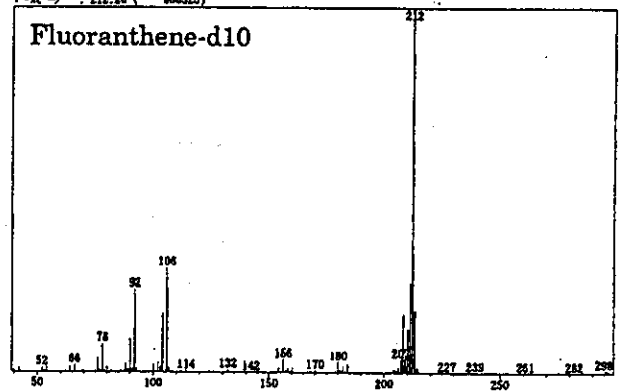


Fig. 2-1 Mass spectra of phthalates, adipate and their surrogate compounds

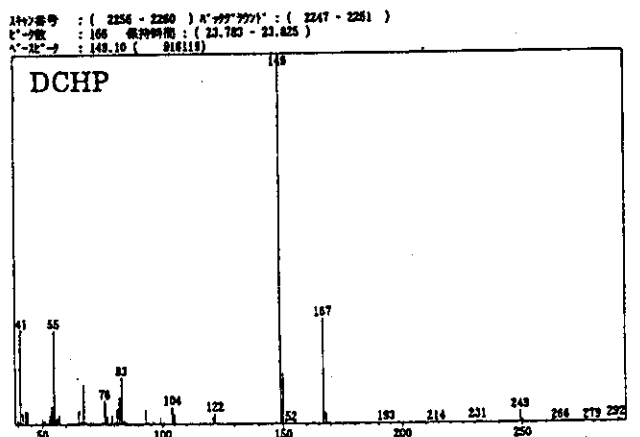
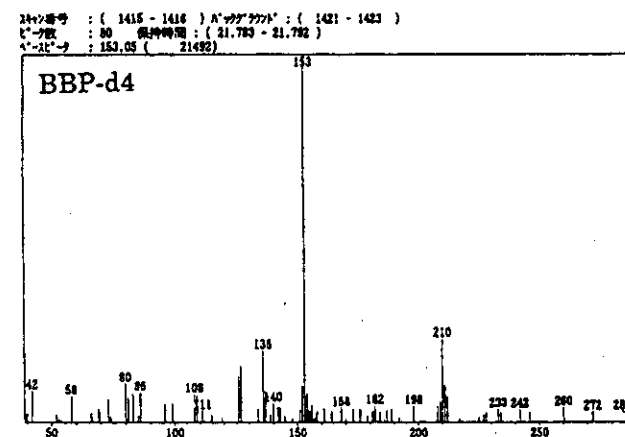
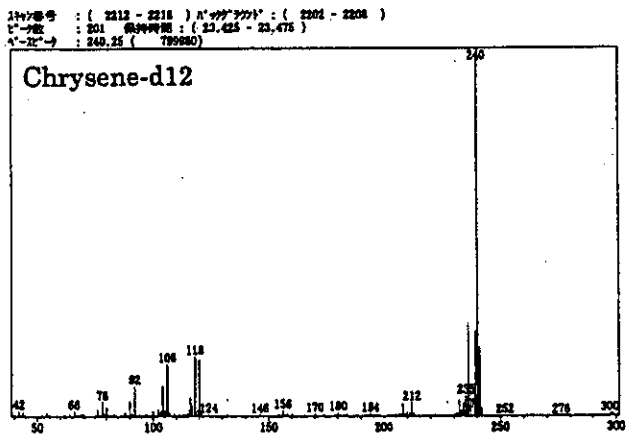
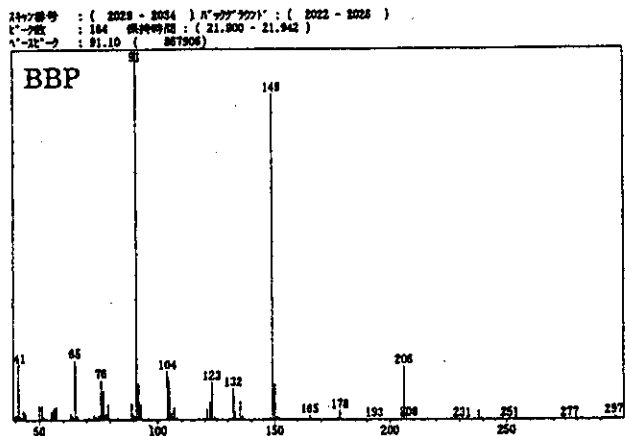
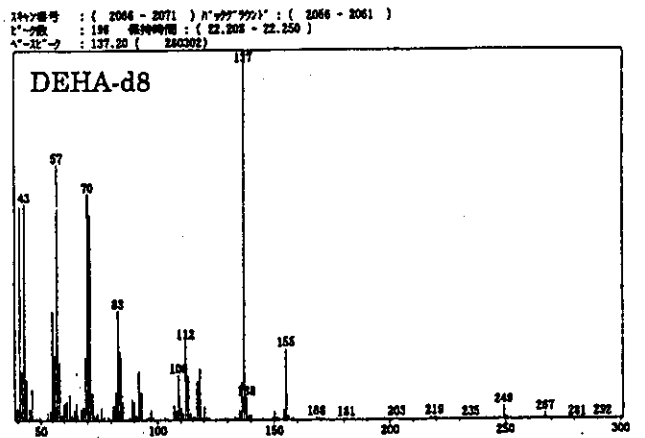
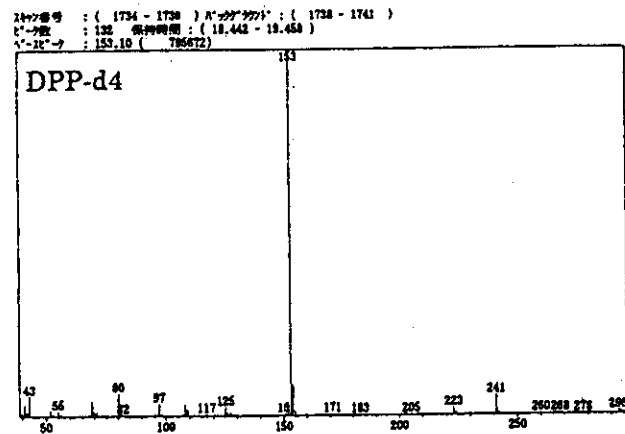
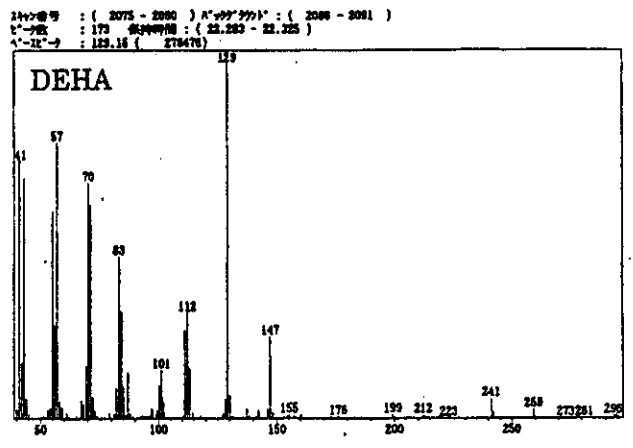
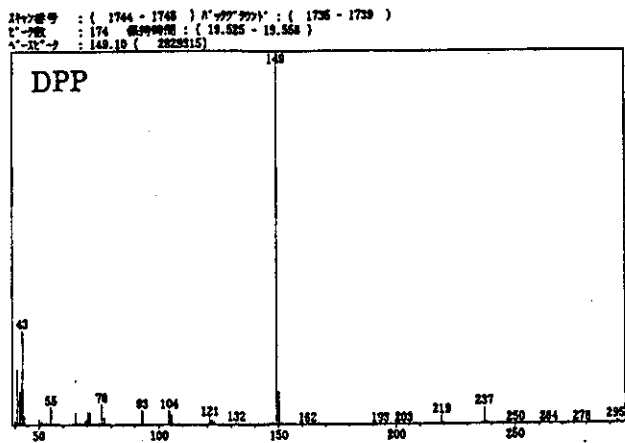


Fig. 2-2 Mass spectra of phthalates, adipate and their surrogate compounds

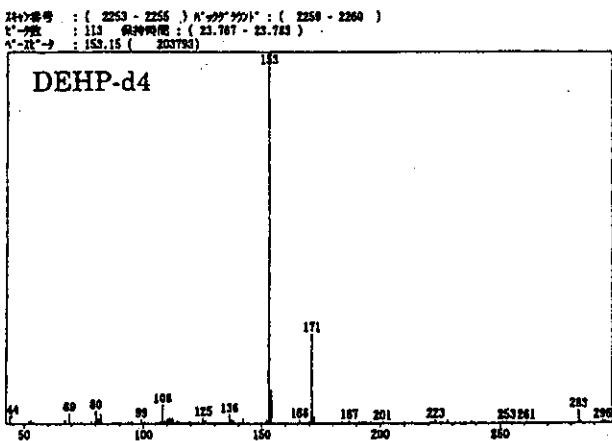
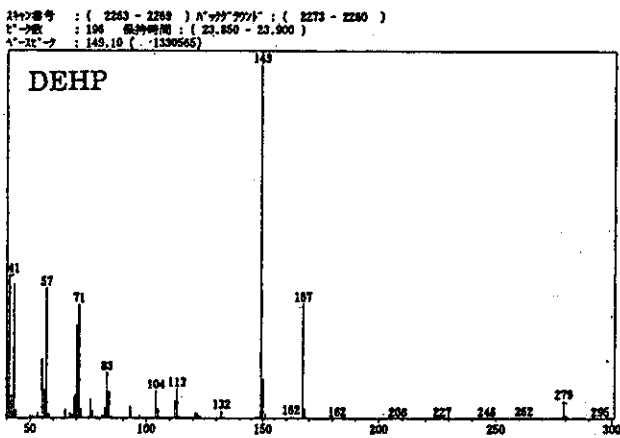
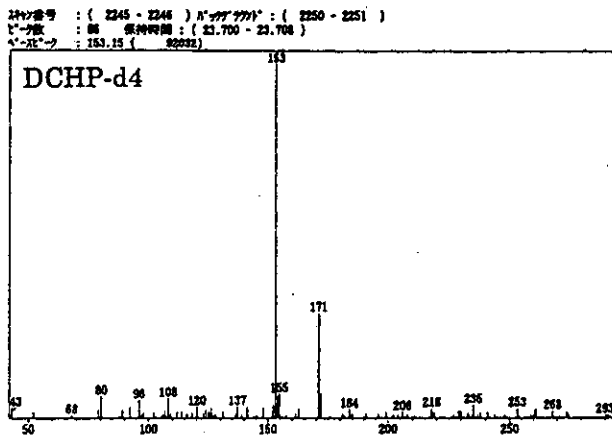
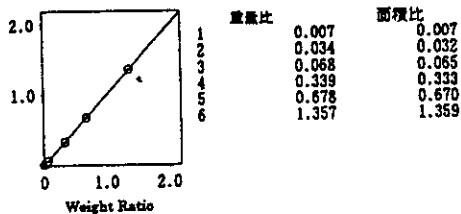
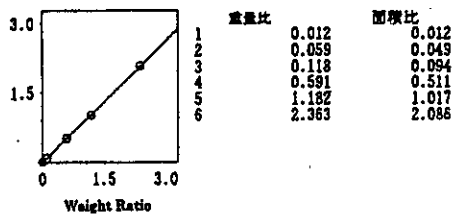


Fig. 2-3 Mass spectra of phthalates, adipate and their surrogate compounds

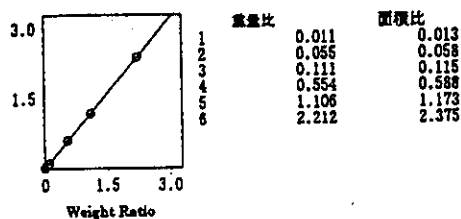
ID # 1 質量数 : 149.10 成分名 : Diethyl Phthalate
 面積比 = 1.00096 * 重量比 + -0.00298203 奇与率 = 0.999947
 Area Ratio



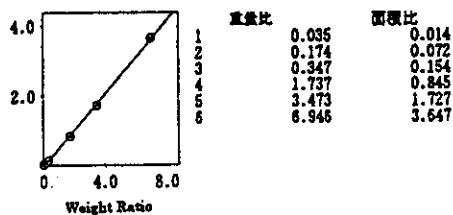
ID # 12 質量数 : 149.10 成分名 : Benzyl butyl phthalate
 面積比 = 0.881662 * 重量比 + -0.00739012 奇与率 = 0.999842
 Area Ratio



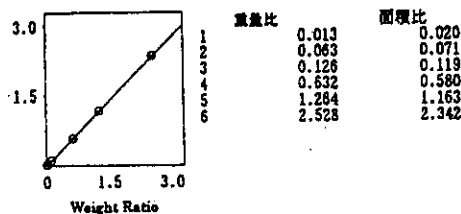
ID # 6 質量数 : 149.10 成分名 : Diisobutyl phthalate
 面積比 = 1.07287 * 重量比 + -0.00376325 奇与率 = 0.999962
 Area Ratio



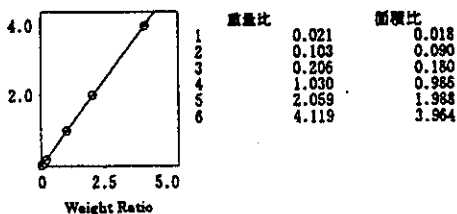
ID # 14 質量数 : 129.20 成分名 : DEHA
 面積比 = 0.524814 * 重量比 + -0.0354397 奇与率 = 0.999284
 Area Ratio



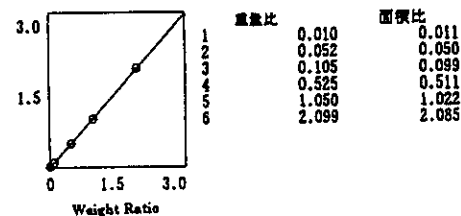
ID # 7 質量数 : 149.10 成分名 : Dibutyl phthalate
 面積比 = 0.922537 * 重量比 + 0.0045954 奇与率 = 0.999944
 Area Ratio



ID # 17 質量数 : 149.10 成分名 : Dicyclohexyl phthalate
 面積比 = 0.96536 * 重量比 + -0.00843758 奇与率 = 0.999980
 Area Ratio



ID # 10 質量数 : 149.10 成分名 : Dipentyl phthalate
 面積比 = 0.992053 * 重量比 + -0.00536415 奇与率 = 0.999906
 Area Ratio



ID # 19 質量数 : 149.10 成分名 : Di(ethylhexyl) phthalate
 面積比 = 1.06891 * 重量比 + 0.0019112 奇与率 = 0.999834
 Area Ratio

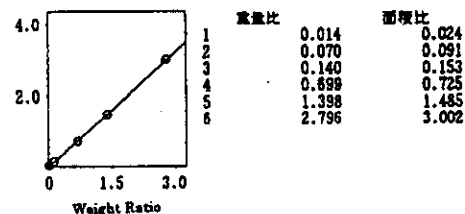
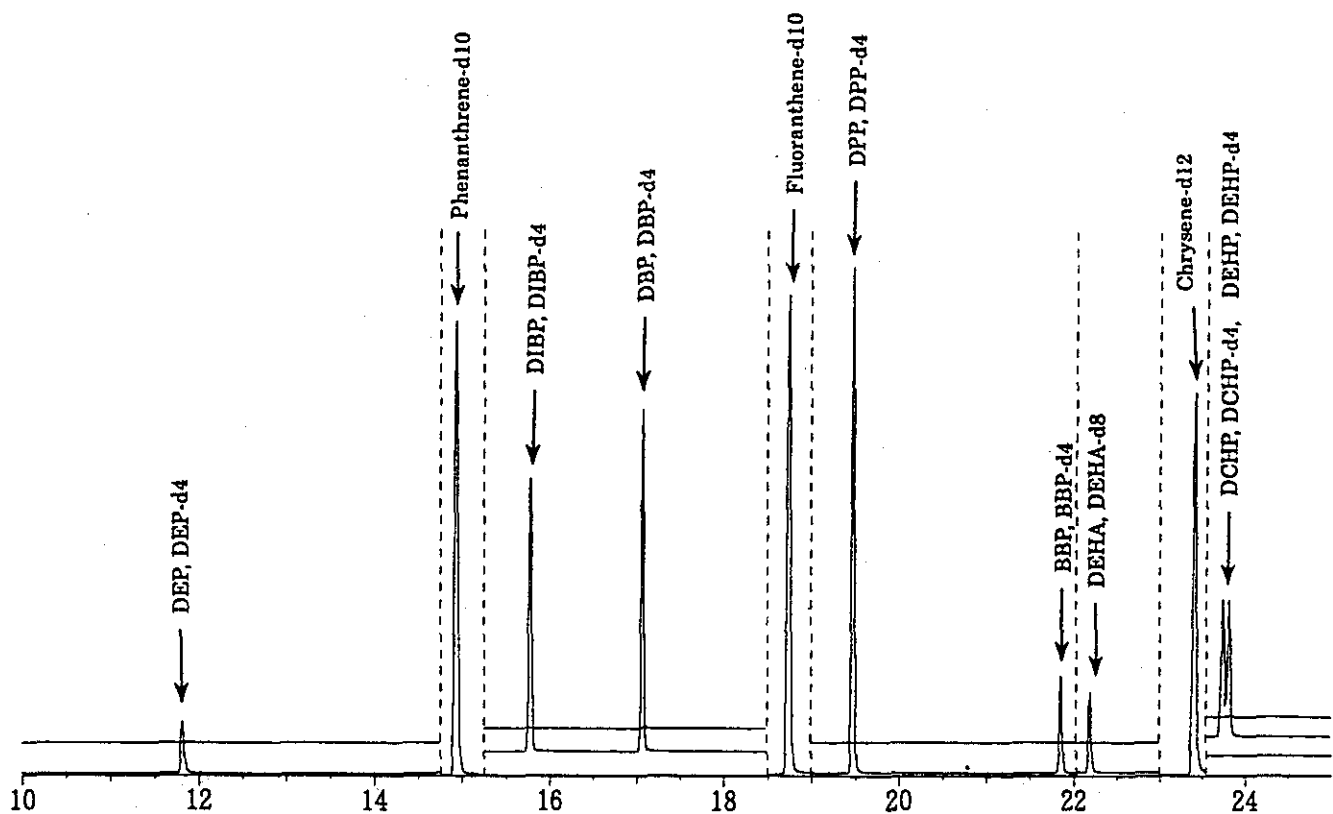


Fig. 3 Calibration curves of phthalates and adipate



イオン番号 : 1 SIM = 1620000
149.10 153.10

イオン番号 : 2 SIM = 1620000
188.20

イオン番号 : 3 SIM = 1620000
149.10 153.10 223.10

イオン番号 : 4 SIM = 1620000
212.20

イオン番号 : 5 SIM = 1620000
149.10 153.10

イオン番号 : 6 SIM = 1620000
129.20 137.20

イオン番号 : 7 SIM = 1620000
240.25

イオン番号 : 8 SIM = 1620000
149.10 153.10 167.10 279.20

Fig. 4-1 Chromatogram obtained with human serum