

## 【参考 2】

ICP-MS における測定イオン、内標準元素の種類、添加濃度の設定例を下記に示す。

### 設定例 1 (検体を 20 倍希釈して測定する場合)

- ・ 定量イオンは最もイオン強度の高いものを選択
- ・ 内標準濃度は測定対象元素の規格値の濃度から設定

対象元素		内標準		
元素	定量イオン	元素	定量イオン	濃度
Sb	121	In	115	0.05 µg/mL
Ge	74	Y	89	0.1 µg/mL
Zn	64	Y	89	0.05 µg/mL (1 µg/mL を 20 倍希釈)

- ・ Ge、Zn に対する内標準は普段使用している Y を選択、Sb の内標準は質量数が近い In を選択
- ・ 定量イオンは強度が最も高いものを選択、内標準濃度は測定対象元素の規格値の濃度と同じ。

### 設定例 2 (検体を 20 倍希釈して測定する場合)

- ・ 内標準元素は、測定対象元素に近い質量数の元素を選択
- ・ 添加濃度は測定対象元素の規格値のイオン強度から設定

対象元素		内標準		
元素	定量用イオン	元素	定量用イオン	濃度
Sb	121	In	115	イオン強度が Sb 0.05 µg/mL とほぼ同じ濃度
Ge	74	Ga	71	イオン強度が Ge 0.1 µg/mL とほぼ同じ濃度
Zn	66	Ga	71	イオン強度が Zn 1 µg/mL とほぼ同じ濃度

(希釈して測定する場合は測定時のイオン強度から内標準の濃度を設定する)

元素、濃度 <i>m/z</i>	Sb, 0.05 µg/mL		Ge, 0.1 µg/mL		Zn, 0.05 µg/mL	
	121	123	72	74	64	66
イオン強度 (x10 <sup>3</sup> )	108	86	131	192	124	78

濃度 (µg/mL)	0.005	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2
In, 115 (x10 <sup>3</sup> )	46	104	192	526	1360*	2433*
Ga, 71 (x10 <sup>3</sup> )	12	26	46	114	242	411
Y, 89 (x10 <sup>3</sup> )	55	125	220	534	1243*	2052*

- ・ Zn は規格値の 1/20 倍の濃度で確認。 \*アナログ
- ・ イオン強度、RSD、選択性を考慮して測定イオンと濃度 (希釈倍率) を設定。
- ・ 測定対象元素 (規格値相当の濃度) と内標準元素のイオン強度を比較し、イオン強度がほぼ同じ濃度を内標準の添加濃度とする。ICP-OES とは異なり Sb と Ge は別の内標準を使用するのでそれぞれの内標準ごとに添加濃度を設定する。

【参考3】

H25 結果報告シート1 (検体・機器・試薬の情報)

1. 試験機関

機関コード	E
-------	---

コードのみ記入  
機関名は記入しない

2. 検体及び測定法

セットNo.	測定法
P-5	GF-AAS
P-9	ICP-AES
P-25	ICP-MS
Z-1	AAS
Z-10	ICP-OES
Z-21	ICP-MS

Ge、Sbの検体はP-O  
Zn(酢酸)の検体はZ-O

測定方法がGeとSbで異なる場合は、このように記載

3. 使用機器

機器	型式	開示の可否	
		可	不可
AAS		可	班員のみ
GF-AAS		可	スペクトル不可
ICP-OES		可	すべて可
ICP-MS		否	

測定に使用した機種すべてを記入。

開示してもよいかどうか条件があれば記載

4. 使用試薬

試薬	メーカー	Grade	純度(%)または濃度
Ge標準液		ICP, ICP-MS用	1000 µg/mL
Sb標準液		原子吸光分析用	1000 µg/mL
Zn標準液			
Y標準液			
Ga標準液			
In標準液			
水		-	-
酢酸		精密分析用	99.7%以上

他に使用した試薬があれば行を追加して記入

5. 試験全体に対する感想・コメントなど

何でも結構です。実験全体や規格基準について気になることがあれば記載してください。

結果報告シート2 (Ge) (AASの場合)

機関コード  E  受領日  7/10  測定日  7/15   
 測定法  AAS  セットNo  P-6

測定法が異なればセット番号も異なる

① 定量結果	検体No	1		2		3	
	定量値 (μg/mL) (絶対)	0.153	0.147	0.0750	0.0952	0.0450	<0.01
	定量値 (μg/mL) (内標)						
	使用した検量線	1	1	1	1	2	2
	合否判定 (濃度)	否	否	適	適	適	適
	合否判定 (ピーク)	否	否	適	否	適	適
	測定倍率 (測定/検体)	10	10	10	10	10	10

検体当たりの濃度を記入  
3桁(4桁目を四捨五入)

③検量線の番号を記入

定量値より合否判定を行った際の判定結果を記入

ピーク強度により合否判定を行った際の判定結果を記入

② 測定条件	定量波長又はイオン	213.9 nm	確認波長又はイオン	なし
	測定溶液の調製法 内標準の添加方法 (元素、波長、濃度)	検体200mLを水浴上で濃縮乾固後、 (検体200mLをホットプレート(100℃)で乾固直前まで濃縮し、 余熱で乾固した後、) 20 mLの4%酢酸に再溶解、(超音波5分間) 3回		
回帰式を算出した際の単位 (μg/mLまたはng/mL)				

10倍濃縮した場合は10と記入

検体を濃縮または希釈して測定した場合はその方法を詳しく記入

測定メソッド内で設定されている測定回数。(通常1~5回が設定されている。)

③ 検量線 1	濃度点	μg/mL	0.5, 1, 2, 5, 10 (5点)		回数	各2
	定量下限	0.5	形状		直線	
	回帰式 (検量線式)	(絶対)	y=2.356x-0.5985		残差	
		(内標)	AASの場合は不要			
相関係数 (R)	(絶対)	0.998		(内標)		
検量線 2	濃度点	μg/mL	0.05, 0.1, 0.25, 0.5		回数	各2
	定量下限	0.05	形状			
回帰式 (検量線式)		(絶対)	y=...		R2ではなくRで記入。3桁以上記入	
相関係数 (R)		(絶対)	0.998		(内標)	

検量線を作成するために各濃度点を何回測定したか

検量線の残差は、ソフトで自動的に検量線を計算している場合、「s^2」「Se」「SRES^2」などという表記で記載されることが多い。不明であれば記入しなくてもよい。

濃度範囲で検量線を分けた場合に使用する。1つの検量線ですべての検体を定量した場合は必要ない

S/Nなどから判断。厳密な数値を求めめる必要はない

④ 検体の保存・管理	冷暗所(25℃以下)にて保存
------------	----------------

通常の溶出液の調製⇒測定間での保存方法と同じでよい

⑤ その他	選択性の確認方法及びその知見
	D2ランプでベースラインの変動を確認
	公定法以外の処置
	試験溶液を10倍濃縮して測定
	気になった点、測定中のトラブルなど

結果報告シート2 (Ge) (GF-AASの場合)

機関コード  E  受領日  7/10  測定日  7/15   
 測定法  GF-AAS  セットNo  P-7

測定法が異なればセット番号も異なる

① 定量結果	検体No	1		2		3	
	定量値 (μg/mL) (絶対)	0.153	0.147	0.0750	0.0952	0.0450	<0.01
	定量値 (μg/mL) (内標)						
	使用した検量線	1	1	1	1	1	1
	合否判定 (濃度)	否	否	適	適	適	適
	合否判定 (ピーク)	否	否	適	否	適	適
	測定倍率 (測定/検体)	1	1	1	1	1	1

検体当たりの濃度を記入  
3桁(4桁目を四捨五入)

③検量線の番号を記入

定量値より合否判定を行った際の判定結果を記入

ピーク強度により合否判定を行った際の判定結果を記入

② 測定条件	定量波長又はイオン	213.9 nm	確認波長又はイオン	なし
	測定溶液の調製法 内標準の添加方法 (元素、波長、濃度)	検体をそのまま測定 注入量: 5 μL		
	測定回数	3回		

検体をそのまま測定した場合は1となる

検体を濃縮または希釈して測定した場合はその方法を記入

測定メソッド内で設定されている測定回数。(通常1~5回が設定されている。)

③ 検量線 1	濃度点	μg/mL	0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.25 (5点)		回数	各2
	定量下限	0.01	形状	直線		
	回帰式 (検量線式)	(絶対)	y=2 AASの場合は不要			
		(内標)		残差		
	相関係数 (R)	(絶対)	0.998	(内標)		
	検量線 2	濃度点		形状		
回帰式			残差			
	相関係数 (R)	(絶対)		(内標)		

濃度範囲で検量線を分けた場合に使用する。  
1つの検量線ですべての検体を定量した場合は必要ない

R2ではなくRで記入。  
3桁以上記入

④ 検体の保存・管理	冷暗所(25℃以下)にて保存
------------	----------------

通常の溶出液の調製⇒測定間での保存方法と同じでよい

⑤ その他	選択性の確認方法及びその知見	
	D2ランプでベースラインの変動を確認	
	公定法以外の処置	
	気になった点、測定中のトラブルなど	

結果報告シート2 (Ge) (ICP-OESの場合)

機関コード  E  受領日  7/10  測定日  7/15   
 測定法  ICP-OES  セットNo  P-8

測定法が異なればセット番号も異なる

① 定量結果	検体No	1		2		3	
	定量値 (μg/mL) (絶対)	0.153	0.147	0.0750	0.0952	0.0450	<0.01
	定量値 (μg/mL) (内標)	0.144	0.150	0.0850	0.0854	0.0420	<0.01
	使用した検量線	1	1	1	1	2	2
	合否判定 (濃度)	否	否	適	適	適	適
	合否判定 (ピーク)	否	否	適	否	適	適
	測定倍率 (測定/検体)	10	10	10	10	10	10

検体当たりの濃度を記入  
3桁(4桁目を四捨五入)

内標法での定量値を記入

定量値(絶対)より合否判定を行った際の判定結果を記入

10倍濃縮した場合は10、  
10倍希釈した場合は1/10と記入

② 測定条件	定量波長又はイオン	213.856 nm	確認波長又はイオン	なし
	測定溶液の調製法 内標準の添加方法 (元素、波長、濃度)	検体200 mLを水浴上で濃縮乾固後、 Y標準液(10 μg/mL)を200 μL添加 4%酢酸で溶解し、20 mLに定容 (Y, 224.306 nm, 0.1 μg/mL)		
	測定回数	3回		

検体を濃縮または希釈して測定した場合はその方法を記入  
内標準の添加方法、測定波長、  
測定溶液中の濃度を記入

測定メソッド内で設定されている測定回数。(通常1~5回が設定されている。)

③ 検量線 1	濃度点	μg/mL	0.05, 0.1, 0.25, 0.5 (4点)		回数	各2	
	定量下限	0.05		形状	直線		
	回帰式 (検量線式)	(絶対)	y=2.356x-0.5985		残差		
		(内標)	y=2.356x-0.5985		残差		
	相関係数 (R)	(絶対)	0.998		(内標)	0.997	
	検量線 2	濃度点	μg/mL	0.05, 0.1		回数	各2
回帰式	(絶対)	y=2.356x-0.5985		残差			
	(内標)	y=2.356x-0.5985		残差			
相関係数 (R)	(絶対)	0.998		(内標)	0.999		

R2ではなくRで記入。  
3桁以上記入

濃度範囲で検量線を分けた場合に使用する。  
1つの検量線ですべての検体を定量した場合は必要ない

内標使用時の検量線情報も記入

④ 検体の保存・管理	冷蔵庫(4℃)にて保存
------------	-------------

通常の溶出液の調製⇒測定間での保存方法と同じでよい

⑤ その他	選択性の確認方法及びその知見
	ピーク形状をモニター
	公定法以外の処置
	試験溶液を10倍濃縮して測定 Ge, Yのピークの両端でベースライン補正
	気になった点、測定中のトラブルなど

結果報告シート2 (Ge) (ICP-MSの場合)

機関コード  E  受領日  7/10  測定日  7/15   
 測定法  ICP-MS (R)  セットNo  P-9

測定法が異なればセット番号も異なる

① 定量結果	検体No	1		2		3	
	定量値 (μg/mL) (絶対)	0.153	0.147	0.0750	0.0952	0.0450	<0.01
	定量値 (μg/mL) (内標)	0.144	0.150	0.0850	0.0854	0.0420	<0.01
	使用した検量線	1	1	1	1	2	2
	合否判定 (濃度)	否	否	適	適	適	適
	合否判定 (ピーク)	否	否	適	否	適	適
測定倍率 (測定/検体)	1/20	1/20	1/10	1/10	1/10	1/10	

リアクションモード:ICP-MS (R)  
ノーマルモード:ICP-MS (N)

定量値 (絶対)より合否判定を行った際の判定結果を記入

10倍濃縮した場合は10  
10倍希釈した場合は1/10と記入  
定量上限により検体ごとに希釈倍率が異なる場合がある

② 測定条件	定量波長又はイオン	m/z 74	確認波長又はイオン	m/z 72	
	測定溶液の調製法 内標準の添加方法 (元素、波長、濃度)	検体2 mLに Ga標準液 (10 μg/mL)を200 μL添加 4%酢酸で20 mLに定容 (Ga, m/z 71, 0.1 μg/mL)			
	測定回数	3回			

検体を濃縮または希釈して測定した場合はその方法を記入  
内標準の添加方法、測定波長、測定溶液中の濃度を記入

測定メソッド内で設定されている測定回数。(通常1~5回が設定されている。)

③ 検量線	検量線 1	濃度点	μg/mL	0.05, 0.1, 0.25, 0.5 (4点)		回数	各2	
		定量下限	0.05		形状	直線		
		回帰式 (検量線式)	(絶対)	y=2.356x-0.5985		残差		
			(内標)	y=2.356x-0.5985		残差		
	相関係数 (R)	(絶対)	0.998		(内標)	0.997		
	検量線 2	濃度点	μg/mL	0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 (4点)		回数	各2	
		定量下限	0.01		形状	直線		
		回帰式 (検量線式)	(絶対)	y=2.356x-0.5985		残差		
(内標)			y=2.356x-0.5985		残差			
相関係数 (R)	(絶対)	0.998		(内標)	0.999			

R2ではなくRで記入。  
3桁以上記入

濃度範囲で検量線を分けた場合に使用する。  
1つの検量線ですべての検体を定量した場合は必要ない

④ 検体の保存・管理	冷暗所にて保存
------------	---------

通常の溶出液の調製⇒測定間での保存方法と同じでよい

⑤ その他	選択性の確認方法及びその知見	定量イオンと確認イオンの強度比により確認
	公定法以外の処置	Heによるコリジョンモードを使用
	気になった点、測定中のトラブルなど	

リアクション(コリジョン)モードを使用した場合はその条件を記入

## 市販製品に残存する化学物質に関する研究

研究代表者 六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所  
研究分担者 阿部 裕 国立医薬品食品衛生研究所

### 研究要旨

器具・容器包装および玩具（以下、器具・容器包装等）は合成樹脂、ゴム、金属など多種多様な材質で製造され、製品には原料や添加剤等の様々な化学物質が残存する可能性がある。これらの化学物質は食品や唾液を介してヒトに暴露する危険性があることから、器具・容器包装等の安全性を確保するためには製品に残存する化学物質の残存量および溶出量を把握する必要がある。しかしながら、規格基準が設定されていない物質については、分析法が確立されていないものや残存量・溶出量等の実態が明らかでないものが多い。また、試験法や分析法の中には問題を有するものがある。そこで本年度は、ポリ塩化ビニル製玩具のフタル酸エステル測定における共存可塑剤の影響と LC/MS/MS を用いた測定法の検討および植物油総溶出量試験法の改良に関する検討を行った。

ポリ塩化ビニル製玩具のフタル酸エステル測定における共存可塑剤の影響と LC/MS/MS を用いた測定法の検討では、食品衛生法で規定されている 6 種のフタル酸エステル試験法について、他の可塑剤が大量に共存するときの GC/MS 測定による 6 種のフタル酸エステルの定量値に及ぼす影響を検証した。その結果、アジピン酸ジイソノニルおよびテレフタル酸ビス（2-エチルヘキシル）が大量に含まれている場合、フタル酸ジ-*n*-オクチルおよびフタル酸ジイソノニルの定量値が実際の含有量よりも大きくなることが明らかとなった。また現在世界的なヘリウムガス不足が問題となっており GC/MS による試験の実施に支障が生じつつあることから、新たなフタル酸エステル測定法として LC/MS/MS を用いた方法を開発した。本法は、GC/MS と同様の抽出液を用いるが、その後の操作で塩化ビニルオリゴマーを除去することにより LC/MS/MS 測定を可能とした。製品に含有されるフタル酸エステル以外の様々な可塑剤による影響を避けるため、ODS (C18) カラム、フェニルカラム、ナフチルエチルカラムを使い分ける必要があるが、6 種のフタル酸エステルを他の可塑剤と分別して定量することが可能であり、その真度および精度も良好であった。そのため、本法は GC/MS により 6 種のフタル酸エステルと分離が困難な可塑剤が検出された場合の確認法としても有用である。

植物油総溶出量試験法改良の一環として、試料の恒量化及び植物油の定量法について検討を行った。その結果、試料の恒量化においては 43.4%硫酸を用いた温度 20℃、相対湿度 50%の硫酸デシケーターによる安定化が最適であった。本条件により、材質中の水分含量や揮発性成分が高く安定化が困難とされていたポリ塩化ビニル、ナイロン、シリコーンゴム、天然ゴムにおいても短時間で安定化することができた。本条件であれば、恒量化す



る際の質量の許容差を EN1186 の 1/4 に相当する 0.5 mg 以下に設定することが可能であった。一方、植物油の定量法では、メチルエステル化にナトリウムメトキシド法を採用し、その反応条件を検討した。ナトリウムメトキシド法は EN1186 の三フッ化ホウ素メタノール法と同程度のメチルエステル体を得られた。さらに、本法は有害試薬を用いず、操作が簡便であり、しかもオリーブ油 0.5～1500 mg という広範囲に適用可能であった。

## 研究協力者

磯山 浩：国立医薬品食品衛生研究所	城野克広：(独) 産業技術総合研究所
阿部 孝：(一財) 日本食品分析センター	鈴木昌子：名古屋市衛生研究所
阿部智之：(公社) 日本食品衛生協会	関戸晴子：神奈川県衛生研究所
石井里枝：埼玉県衛生研究所	藪部博則：(一財) 日本文化用品安全試験所
伊藤禎啓：(公社) 日本食品衛生協会	高木優磨：(一財) 食品分析開発センター
大坂郁恵：埼玉県衛生研究所	高坂典子：(一財) 食品薬品安全センター
大坪晃典：静岡県環境衛生科学研究所	但馬吉保：(一財) 食品環境検査協会
大野春香：愛知県衛生研究所	田中 葵：(一社) 日本海事検定協会
大野浩之：名古屋市衛生研究所	田中秀幸：(独) 産業技術総合研究所
大野雄一郎：(一財) 千葉県薬剤師会検査センター	中西 徹：(一財) 日本食品分析センター
大畑昌輝：(独) 産業技術総合研究所	中西広一：(一財) 食品環境検査協会
大森清美：神奈川県衛生研究所	野村千枝：大阪府立公衆衛生研究所
尾崎麻子：大阪市立環境科学研究所	羽石奈穂子：東京都健康安全研究センター
柿原芳輝：(一財) 日本穀物検定協会	早川雅人：(一財) 化学研究評価機構
金子令子：東京都健康安全研究センター	疋田晃典：長野県環境保全研究所
河崎裕美：国立医薬品食品衛生研究所	平川佳則：(一財) 食品環境検査協会
河村葉子：国立医薬品食品衛生研究所	松田達也：愛知県衛生研究所
神邊友宏：静岡市環境保健研究所	松山重倫：(独) 産業技術総合研究所
岸 映里：大阪市立環境科学研究所	三浦俊彦：(一財) 日本冷凍食品検査協会
小林 尚：(一財) 食品分析開発センター	村上 亮：(公社) 日本食品衛生協会
齋藤敬之：(一財) 食品環境検査協会	山口未来：国立医薬品食品衛生研究所
柴田 博：(一財) 東京顕微鏡院	山本優子：愛知県衛生研究所
	渡辺一成：(一財) 化学研究評価機構



## ＜その1＞ポリ塩化ビニル製玩具のフタル酸エステル測定における共存可塑剤の影響と LC/MS/MS を用いた測定法の検討

研究分担者 阿部 裕 国立医薬品食品衛生研究所

### A. 研究目的

食品衛生法におけるおもちゃの規格では、指定玩具の可塑化された材料についてはフタル酸ジブチル (DBP)、フタル酸ベンジルブチル (BBP) およびフタル酸ビス (2-エチルヘキシル) (DEHP) が各 0.1%以下、さらに乳幼児が口に接触することを本質とする部分の可塑化された材料についてはフタル酸ジ-*n*-オクチル (DNOP)、フタル酸ジイソノニル (DINP) およびフタル酸ジイソデシル (DIDP) も各 0.1%以下に規制している。これら 6 種のフタル酸エステルの適宜判定は、公定法である通知試験法<sup>1)</sup> にしたがって試料から溶媒抽出し試験溶液を調製後、GC-FID または GC/MS で測定し、標準溶液とピーク面積を比較して行う。その際、DINP および DIDP は構造異性体の混合物であるため、クロマトグラム上では複数のピークからなるピーク群として検出され、保持時間が近い DNOP、DINP および DIDP は各ピークの一部が重なることがある<sup>2)</sup>。そのため、GC-FID による測定でこれらフタル酸エステルが検出された場合には GC/MS による確認を行うこととしている。

フタル酸エステルは欧米でも規制されているため、現在では様々な可塑剤が代替可塑剤として使用されている<sup>3, 4)</sup>。PVC 製玩具中の可塑剤の使用実態調査の結果<sup>4)</sup> では、食品衛生法の対象となるおもちゃ (指定玩具) から、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレート (TMPD) (検出率: 80%)、アセチルクエン酸トリブチル (ATBC) (48%)、テレフタル酸ビス (2-エチルヘキシル) (DEHTP) (37%)、クエン酸トリブチル (TBC) (35%)、

DINP の水素付加体であるシクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸ジイソノニル (DINCH) (28%)、アジピン酸ジイソノニル (DINA) (22%) が高い頻度で検出された。さらに、指定玩具以外ではフタル酸ジイソブチル (DIBP) およびアジピン酸ジ (2-エチルヘキシル) (DEHA) も高頻度 (20 および 16%) で検出された。公定法に従って GC/MS で試験を行った際のこれらの保持時間および代表的なフラグメントイオンを表 1 に示した。

TMPD、TBC、ATBC および DEHA は検出頻度が高いが、GC/MS における保持時間およびフラグメントイオンが 6 種のフタル酸エステルと異なり測定に影響を及ぼす可能性はない。また DIBP は DBP の構造異性体であるため類似のマススペクトルを示すが、保持時間が異なり測定に影響はない。

一方、DEHTP は DNOP と保持時間が近く、さらに同じ  $m/z$  149 および 279 のフラグメントイオンを有するため、GC/MS を用いて試験を行った場合でも誤認が生じやすい。そこで、DNOP または DEHTP が検出された場合は、昇温条件を変えて確認する必要がある。しかし、DEHTP の含有量が数十%と高い場合は少量の DNOP を確認できないこともある。

さらに、DINCH と DINP、DINA と DIDP については、いずれも構造異性体のピーク群として検出されるため、ピークの一部が重なる。さらに、既報<sup>3, 4)</sup> では検出されなかったが、DEHP および DEHTP の構造異性体であるイソフタル酸ビス (2-エチルヘキシル) (DEHIP) も今後代替可塑剤として使用される可能性がある。DEHIP は DNOP と同じフラグメントイ

表1 可塑剤標準品および GC/MS における保持時間および代表的なフラグメントイオン

化学名	略号	CAS No.	販売元*	純度 (%)	保持時間 (分)	フラグメントイオン (m/z)**
Trimethylpentandiol diisobutyrate	TMPD	6846-50-0	A	>97	5.7	43, 71, 111
Diisobutyl phthalate	DIBP	84-69-5	A	>98	7.2	149, 223
Dibutyl phthalate	DBP	84-74-2	B	>99	7.7	149, 223, 205
Tributyl citrate	TBC	77-94-1	A	>98	8.9	185, 129, 259
o-Acetyl tributyl citrate	ATBC	77-90-7	B	>90	9.0	185, 129, 259
Benzyl butyl phthalate	BBP	85-68-7	B	>99	9.6	149, 91, 206
Di(2-ethylhexyl) adipate	DEHA	103-23-1	A	>98	9.7	129, 112, 147
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	DHEP	117-81-7	B	>99	10.3	149, 167, 279
Bis(2-ethylhexyl) isophthalate	DEHIP	137-89-3	C	100	10.8	261, 167, 149, 279
Di-n-octyl phthalate	DNOP	117-84-0	B	>99	10.9	279, 149
Bis(2-ethylhexyl) terephthalate	DEHTP	6422-86-2	D	>98	11.0	261, 149, 167, 279
Diisononyl adipate	DINA	33703-08-1	B	-	10.2-11.0	255, 129, 273
Diisononyl cyclohexyl dicarboxylate	DINCH	166412-73-8	E	-	10.5-11.5	155, 281, 252, 299
Diisononyl phthalate	DINP	28553-12-0	B	>98	10.9-11.8	293, 149
Diisodecyl phthalate	DIDP	26761-40-0	A	-	11.0-12.5	307, 149

\*A: 東京化成工業(株); B: 和光純薬工業(株); C: SCIENTIFIC POLYMER PRODUCTS, Inc.; D: ACROSS ORGANICS; E: BASF

\*\*下線は定量イオン

オンを有し、保持時間も近いため、注意が必要である（未発表データ）。

このように、現在市販の製品には6種のフタル酸エステル以外の可塑剤が主に使用されており、GC-FIDを用いた試験では、DINPおよびDIDPが、DINAやDINCHとピークの一部と重なり、正しく適否判定が行えない。

GC/MSによる測定では主にm/z 149、279、293および307をモニターしている。そのためクロマトグラム上には6種のフタル酸エステル以外の可塑剤ではm/z 149、279、293および307を持つDIBP、DEHIP、DEHTP等しか検出されない。一方、DINAやDINCHは6種のフタル酸エステルと同一のフラグメントイオンを持たないが、DNOP、DINPおよびDIDPとほぼ同じ保持時間である。そのためイオン化抑制等の影響により、正確な定量ができない可能性がある。なぜなら、GC/MSのイオン化法として用いられるEIは、一般にイオン化抑制等の影響を受けにくい堅牢なイオン化法であるが、可塑剤が製品中に数十%含まれる場合にはフタル酸エステルの規格値(0.1%)の

100倍以上と高濃度となるためイオン化抑制等の影響が否定できないためである。しかし、これまでに6種のフタル酸エステル以外の可塑剤による影響の有無については検証されていない。

また、GC/MSではキャリアーガスとして一般的にヘリウムガスが用いられるが、我が国では現在、ヘリウムガスの供給不足が生じており、GC/MSを用いない測定法の開発も重要である。

ヘリウムガスを使用しない測定法であるLCは、各可塑剤の分離パターンがGCと異なることが予想されるため、GCでは保持時間が近く分離が困難な可塑剤も容易に分離できる可能性がある。LCを用いたフタル酸エステル分析法として、XuらはHPLC-UVを用いたプラスチック製容器から食用油およびミネラルウォーターへのフタル酸エステル溶出量の測定法<sup>5)</sup>、LiらはLC/MS/MSを用いたプラスチック製容器から4種の食品擬似溶媒への16種類のフタル酸エステル溶出量の測定法<sup>6)</sup>を報告している。しかし、PVCの材質中のフタル

酸エステル測定に適用した報告は見られない。

そこで今回、GC/MS 測定における 6 種のフタル酸エステル以外の可塑剤による影響の有無を検証するため、これらの可塑剤を大量に含む製品の抽出液を用いて GC/MS 測定に関する性能評価を行った。さらに、ヘリウムガスを使用しない LC/MS/MS を用いた PVC 中の 6 種のフタル酸エステル測定法を検討し、性能評価を行ったので報告する。

## B. 研究方法

### 1. 試薬等

#### 1) 試薬

アセトン：残留農薬・PCB 分析用 シグマアルドリッチ社製

ヘキサン：残留農薬・PCB 試験用、ギ酸：LC/MS 用 以上和光純薬工業（株）製

メタノール、アセトニトリル：LC/MS 用 関東化学（株）製

#### 2) 標準品

本研究で用いた可塑剤の化学名、略号、CAS No.、販売元及び純度を表 1 に示した。なお、DINP には CAS No.28553-12-0 と 68515-48-0 の 2 種類があるが<sup>7, 8)</sup>、本研究では主に流通している CAS No.28553-12-0 を用いた。

#### 3) 標準溶液

DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP 標準原液：DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP 標準品をそれぞれ 10 mg とり、アセトンを加えて各 10 mL とした（各 1,000  $\mu\text{g/mL}$ ）。

DIBP、TBC、ATBC、DEHA、DEHIP、DEHTP、DINA および DINCH 標準原液：DIBP、TBC、ATBC、DEHA、DEHIP、DEHTP、DINA および DINCH 標準品をそれぞれ 100 mg とり、アセトンを加えて各 10 mL とした（各 10,000  $\mu\text{g/mL}$ ）。

6 種のフタル酸エステル混合標準溶液：DBP、

BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP 標準原液各 1 mL を混合し、アセトンで 10 mL とした（100  $\mu\text{g/mL}$ ）。これを適宜アセトンで希釈し各濃度の 6 種のフタル酸エステル混合標準溶液とした。

LC/MS/MS 用 6 種のフタル酸エステル混合標準溶液：DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP 標準原液各 1 mL を混合し、0.1% ギ酸メタノールで 10 mL とした（100  $\mu\text{g/mL}$ ）。これを適宜 0.1% ギ酸メタノールで希釈し各濃度の LC/MS/MS 用 6 種のフタル酸エステル混合標準溶液とした。

DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP 標準溶液：DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP 標準原液をそれぞれ 1 mL とり、0.1% ギ酸メタノールもしくは 0.1% ギ酸アセトニトリルを加えて 100 mL とした（各 10  $\mu\text{g/mL}$ ）。

DIBP、TBC、ATBC、DEHA、DEHIP、DEHTP、DINA および DINCH 標準溶液：DIBP、TBC、ATBC、DEHA、DEHIP、DEHTP、DINA および DINCH 標準原液をそれぞれ 1 mL とり、0.1% ギ酸メタノールもしくは 0.1% ギ酸アセトニトリルを加えて 100 mL とした（各 100  $\mu\text{g/mL}$ ）。この液 1 mL をとり、さらに 0.1% ギ酸メタノールもしくは 0.1% ギ酸アセトニトリル加えて 10 mL とした（各 10  $\mu\text{g/mL}$ ）。

可塑剤混合標準溶液：0.1% ギ酸メタノールの DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP、DIDP、DIBP、TBC、ATBC、DEHA、DEHIP、DEHTP、DINA および DINCH 標準溶液（各 10  $\mu\text{g/mL}$ ）各 1 mL を混合し、0.1% ギ酸メタノールで 20 mL とした（0.5  $\mu\text{g/mL}$ ）。

### 2. 試料

既報<sup>4)</sup>において、6 種のフタル酸エステルを含まず、代替可塑剤含有量が高かった PVC 製玩具 3 検体を用いた。表 2 に各試料の可塑

剤含有量を示した。

### 3. 装置および器具

ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) : 6890N GC, 5975 MSD, Agilent Technologies 社製

高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC/MS/MS) : Acquity TQD, Waters 社製

超音波槽: BRANSON 2510、ヤマト科学(株) 製

シリンジフィルター : Millex LG 0.20  $\mu\text{m}$ , Millipore 社製

### 4. GC/MS 法 (公定法)

#### 1) 試験溶液の調製

細切した試料 1 g を 100 mL 容共栓付き三角フラスコにとり、アセトン・ヘキサン混液 (3 : 7) 50 mL を加え、栓をしたのち 40°C で一晩静置した。ろ紙ろ過後、ろ液及びアセトンによる洗液を 100 mL 容メスフラスコに合わせ、アセトンで 100 mL に定容し、これを抽出液とした。

抽出液をアセトンで 10 倍希釈したものを試験溶液とし、さらにアセトンで 2 倍に希釈し GC/MS により測定した。

#### 2) GC/MS 測定条件

カラム : DB-5MS (30 m  $\times$  0.25 mm i.d., 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies 社製) ; カラム温度 : 100°C  $\rightarrow$  20°C/min  $\rightarrow$  320°C (10 min) ; 注入口温度 : 250°C ; トランスファーライン温度 : 280°C ; キャリヤーガス : ヘリウム 1.0 mL/min (定流量) ; 注入量 : 1.0  $\mu\text{L}$  ; イオン化電圧 : 70

eV ; 測定モード : SIM ; 定量イオン ( $m/z$ ) : 表 1

### 5. LC/MS/MS 法

#### 1) 試験溶液の調製

4. 1) で調製した抽出液 1 mL を 10 mL のスクリーキャップ式ガラス試験管にとり、窒素気流下で濃縮乾固した。0.1%ギ酸メタノール 8 mL を加え超音波槽内で 15 分間溶解したのち、0.1%ギ酸メタノールで 10 mL に定容した。この液をシリンジフィルターでろ過し、最初の 1 mL を捨て、残りのろ液を試験溶液とした。試験溶液はフタル酸エステルの濃度が検量線の範囲内に入るように 0.1%ギ酸メタノールで適宜希釈して LC/MS/MS で測定した。

#### 2) LC 測定条件

##### (1) 条件 A

カラム : Acquity HSS T3 (2.1 mm i.d.  $\times$  100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ , Waters 社製) ; カラム温度 : 40°C ; 移動相 : A 液 0.1%ギ酸、B 液 0.1%ギ酸メタノール ; グラジエント条件 : B 液 70%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  100% ; 流速 : 0.25 mL/min ; 注入量 : 10  $\mu\text{L}$

##### (2) 条件 B

グラジエント条件 : B 液 80%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  95% ; その他は条件 A と同じ

##### (3) 条件 C

カラム : InertSustain Phenyl HP (2.1 mm i.d.  $\times$  100 mm, 2.0  $\mu\text{m}$ , GL サイエンス社製) ; グラジエント条件 : B 液 50%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  100% ; その他は条件 A と同じ

表2 玩具試料中の可塑剤

試料	可塑剤および含有量 <sup>4)</sup>
1	DEHA: 25.6%, DINA: 3.1%, ATBC: 0.6%, TMPD: 0.3%
2	ATBC: 15.0%, DINA: 14.0%, TMPD: 0.1%, TBC: 0.1%
3	DINCH: 21.4%, DEHTP: 16.8%, TMPD: 2.5%

#### (4) 条件 D

カラム：Cosmosil 2.5 $\pi$ NAP (2.0 mm i.d.  $\times$  100 mm, 2.5  $\mu$ m, ナカライテスク社製)；グラジエント条件：B 液 60%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25min)  $\rightarrow$  65%；流速：0.3 mL/min；その他は条件 A と同じ

#### (5) 条件 E

カラム：Cosmosil 2.5 $\pi$ NAP (2.0 mm i.d.  $\times$  100 mm, 2.5  $\mu$ m)；グラジエント条件：B 液 80%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  85%；流速：0.3 mL/min；その他は条件 A と同じ

### 3) MS/MS 測定条件

イオン化法：ESI (+)；キャピラリー電圧：3 kV；測定モード：MRM；定量イオン：表 3

## 6. 検量線の作成

6 種のフタル酸エステル混合標準溶液および LC/MS/MS 用 6 種のフタル酸エステル混合標準溶液を GC/MS および LC/MS/MS で測定し、得られた 6 種のフタル酸エステルの定量イオンのピーク面積を用いて絶対検量線法により検量線を作成した。

## 7. 性能評価

6 種のフタル酸エステル混合標準溶液 (100  $\mu$ g/mL) 5 mL に試料 1~3 から得られた抽出液を加え 50 mL に定容した。これらの溶液を用いて試験溶液を調製し、GC/MS および LC/MS/MS により測定した。試験溶液の調製から測定までを 1 日 2 併行で 5 日間行い、得られた定量値から一元配置の分散分析により真度、併行精度 ( $RSD_r$ ) および室内再現精度 ( $RSD_R$ ) を求めた。

## 8. LC/MS/MS 測定における定量下限の算出

10 段階の濃度の LC/MS/MS 用 6 種のフタル

酸エステル混合標準溶液 (0、1、2.5、5、7.5、10、25、50、75 および 100 ng/mL) を一グループとし、各グループを繰り返し 5 回測定した。各グループの間には洗浄のため 0.1%ギ酸メタノールを 1 回測定した。0 ng/mL における 6 種のフタル酸エステルの定量イオンの面積値の平均値に、標準偏差 (SD) の 10 倍を加えた面積値 (「平均値+10 $\times$ SD」) 以上の濃度を定量下限とした。

表3 LC/MS/MS 測定における可塑剤の MRM 条件

可塑剤	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクト イオン ( <i>m/z</i> )	コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
DIBP	279	149 <sup>a</sup>	20	16
		205 <sup>b</sup>	20	8
DBP	279	149 <sup>a</sup>	20	16
		205 <sup>b</sup>	20	10
BBP	313	91 <sup>a</sup>	20	18
		149 <sup>b</sup>	20	16
TBC	361	185 <sup>a</sup>	24	14
		129 <sup>b</sup>	24	20
DEHA	371	129 <sup>a</sup>	26	18
		111 <sup>b</sup>	26	20
DEHP	391	149 <sup>a</sup>	26	20
		167 <sup>b</sup>	20	14
DNOP	391	149 <sup>a</sup>	26	20
		261 <sup>b</sup>	20	8
DEHIP	391	279 <sup>a</sup>	16	10
		71 <sup>b</sup>	16	8
DEHTP	391	167 <sup>a</sup>	22	8
		279 <sup>b</sup>	22	14
DINA	399	129 <sup>a</sup>	28	16
		255 <sup>b</sup>	28	12
ATBC	403	185 <sup>a</sup>	26	20
		129 <sup>b</sup>	26	24
DINP	419	149 <sup>a</sup>	28	20
		127 <sup>b</sup>	28	10
DINCH	425	155 <sup>a</sup>	28	16
		281 <sup>b</sup>	28	10
DIDP	447	149 <sup>a</sup>	28	24
		141 <sup>b</sup>	28	10

<sup>a</sup> 定量イオン

<sup>b</sup> 確認イオン

## C. 研究結果と考察

### 1. GC/MS 測定の評価

GC/MS 測定における 6 種のフタル酸エステル以外の可塑剤による影響の有無を検証するため、既報<sup>4)</sup>により含有される可塑剤の種類および量が明らかな試料 1~3 の抽出液を用いて性能評価を行った。公定法に従って抽出液を調製したのち、規格値相当のフタル酸エステル混合標準溶液を添加した。この液をアセトンで 10 倍に希釈したものを試験溶液とした。装置の汚染を考慮しさらにアセトンで 2 倍に希釈したものを測定した。

6 種のフタル酸エステルの定量値と解析結果を表 4 に示した。また各試料から得られた試験溶液のトータルイオンクロマトグラム (SIM) を図 1 に示した。

DEHA が主可塑剤として使用され、その他 DINA、ATBC および TMPD を含有する試料 1 では、6 種のフタル酸エステルの真度は 93.0~109.1%、併行精度および室内再現精度はそれぞれ 1.1~6.3%、2.5~7.3%と良好な結果が得られ日間変動も小さかった。

ATBC および DINA が主可塑剤として使用され、その他に TMPD および TBC を微量含有する試料 2 では、DNOP の真度が 124.8%と高い値を示した。この試料は DINA 含有量が約 14%と高いため、保持時間が重複する DNOP の面積値に影響を与えたと推測された。その他の真度は 88.1~100.7%と良好であった。また、併行精度は 1.9~3.7%、室内再現精度は 2.2~8.2%であり、いずれも試料 1 とほぼ同程度であった。

DINCH および DEHTP を主可塑剤とし、その他に TMPD を含む試料 3 では、DNOP および DINP の真度が 136.4%および 117.6%と高い値を示した。DEHTP は DNOP の定量イオンと同じフラグメントイオン ( $m/z$  279) をもち、

さらに保持時間が非常に近いため、DNOP の面積値が多く見積もられたと考えられた。また DEHTP は、強度比は非常に低いながら DINP の定量イオンと同じフラグメントイオン ( $m/z$  293) を有する。さらに保持時間が重複しているため、DINP のピークと区別できず面積値が多く見積もられたと考えられた。その他の真度は 88.7~101.3%、併行精度は 1.6~3.1%、室内再現精度は 3.1~10.1%と概ね良好であったが、日間変動は試料 2 および 3 に比べわずかに大きかった。

以上のように GC/MS 測定では、DINA や DEHTP が大量に共存していた場合、DNOP もしくは DINP のピークと重なり、実際のピーク面積よりも大きくなることが分かった。そのため、DNOP や DINP のいずれかが規格値付近で検出された場合には、共存する他の可塑剤を確認し、これらの影響を受けないような条件で試験する必要がある。しかしながら、DINP の保持時間の幅は広く、昇温条件等を変えたとしても他の可塑剤と完全に分離することは困難である。

### 2. LC/MS/MS 法の検討

6 種のフタル酸エステル測定法として、選択性が高く、高感度であり、かつヘリウムガスの供給不足が生じても適用可能な LC/MS/MS を用いた測定法の開発を試みた。

#### 1) 測定対象可塑剤

6 種のフタル酸エステルに加え、指定玩具に主可塑剤として汎用される DINA、TBC、ATBC、DEHTP および DINCH、指定玩具以外で検出頻度が高かった DEHA および DIBP、さらに DEHP および DEHTP の構造異性体でこれらと誤認する可能性がある DEHIP の 8 種類 (以下、8 種の共存可塑剤) を選択した。

表4 GC/MSによる定量値とその評価

測定日	DBP		BBP		DEHP		DNOP		DINP		DIDP	
試料 1												
1	0.091	0.092	0.096	0.099	0.109	0.115	0.111	0.115	0.100	0.098	0.100	0.099
2	0.086	0.102	0.093	0.100	0.103	0.110	0.107	0.094	0.102	0.102	0.098	0.099
3	0.091	0.099	0.099	0.099	0.109	0.113	0.118	0.120	0.107	0.109	0.098	0.105
4	0.091	0.094	0.099	0.098	0.105	0.104	0.107	0.106	0.102	0.100	0.097	0.093
5	0.090	0.094	0.097	0.100	0.097	0.100	0.104	0.108	0.100	0.100	0.098	0.097
平均値 (%)	0.093		0.098		0.106		0.109		0.102		0.099	
真度 (%)	93.0		97.9		106.4		109.1		102.1		98.5	
RSD <sub>r</sub>	6.3		2.5		3.2		4.2		1.1		2.6	
RSD <sub>R</sub>	6.3		2.5		5.6		7.3		3.7		3.0	
試料 2												
1	0.091	0.096	0.102	0.104	0.105	0.107	0.132	0.135	0.102	0.106	0.102	0.099
2	0.089	0.090	0.101	0.101	0.103	0.101	0.129	0.132	0.098	0.098	0.102	0.099
3	0.074	0.078	0.085	0.089	0.087	0.092	0.113	0.119	0.092	0.099	0.099	0.098
4	0.086	0.091	0.098	0.103	0.095	0.100	0.118	0.126	0.101	0.106	0.100	0.103
5	0.090	0.095	0.097	0.107	0.091	0.098	0.118	0.125	0.100	0.105	0.096	0.099
平均値 (%)	0.088		0.099		0.098		0.125		0.101		0.100	
真度 (%)	88.1		98.6		97.9		124.8		100.7		99.5	
RSD <sub>r</sub>	3.7		3.7		3.4		3.2		3.4		1.9	
RSD <sub>R</sub>	8.2		7.4		6.9		5.3		4.5		2.2	
試料 3												
1	0.098	0.096	0.088	0.092	0.090	0.093	0.134	0.139	0.115	0.119	0.101	0.103
2	0.094	0.095	0.093	0.095	0.095	0.095	0.137	0.144	0.116	0.118	0.105	0.101
3	0.073	0.076	0.074	0.078	0.076	0.078	0.125	0.134	0.104	0.106	0.100	0.096
4	0.086	0.091	0.087	0.091	0.088	0.091	0.136	0.138	0.120	0.127	0.097	0.104
5	0.093	0.096	0.092	0.096	0.095	0.097	0.138	0.138	0.126	0.126	0.101	0.104
平均値 (%)	0.090		0.089		0.090		0.136		0.118		0.101	
真度 (%)	89.9		88.7		89.8		136.4		117.6		101.3	
RSD <sub>r</sub>	2.3		2.9		1.6		2.9		2.3		3.1	
RSD <sub>R</sub>	10.1		8.7		8.4		3.8		7.1		3.1	

RSD<sub>r</sub>: 併行精度, RSD<sub>R</sub>: 室内再現精度



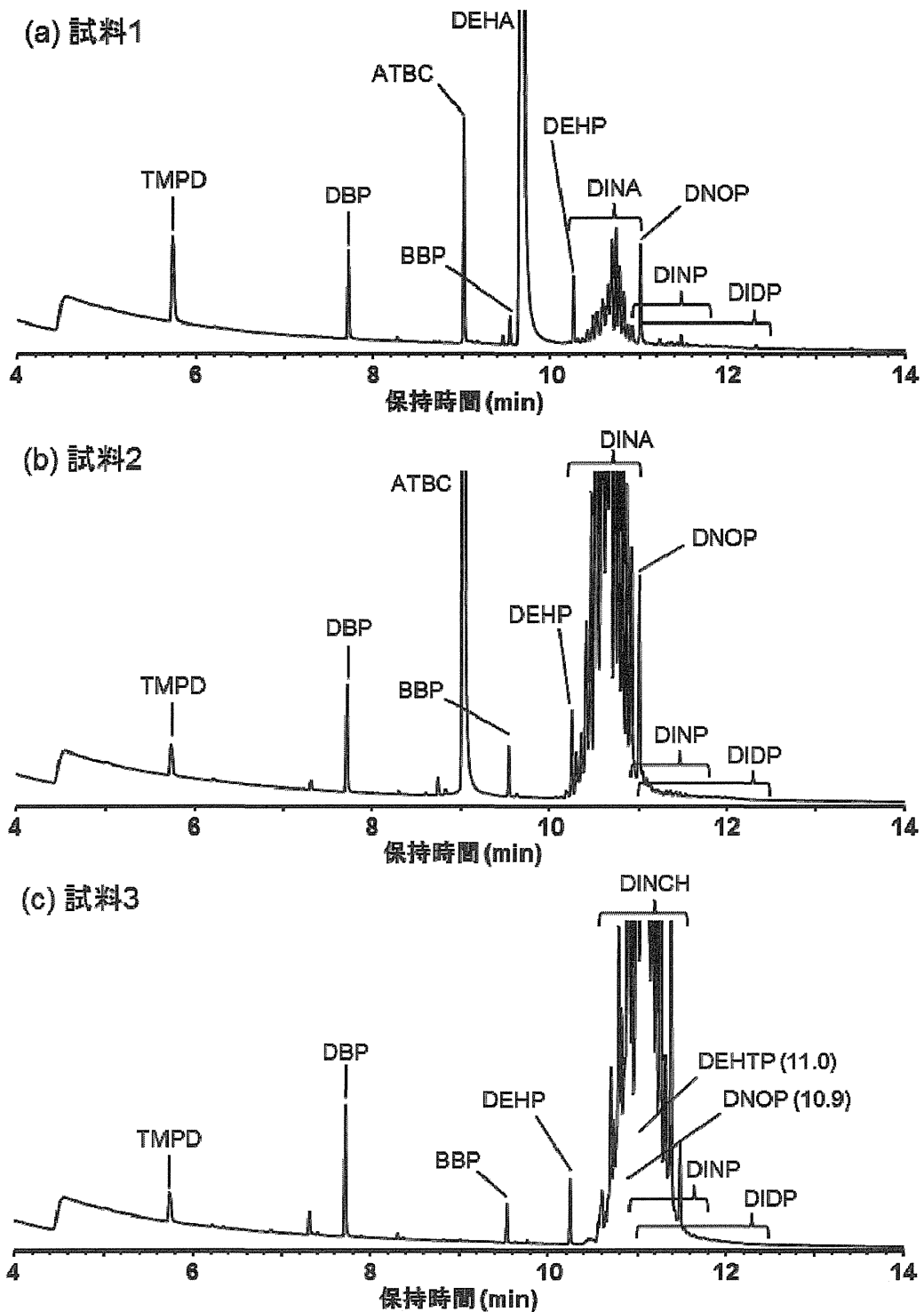


図1 試料 1~3 から得られた試験溶液の GC/MS のトータルイオンクロマトグラム (SIM)  
 いずれも 0.1% 相当の 6 種 of フタル酸エステルを含む。  
 ( ): 保持時間 (min), 測定イオン( $m/z$ ): 43, 129, 149, 155, 185, 255, 261, 279, 293, 307

## 2) LC/MS/MS 測定条件の検討

### (1) MS/MS 条件と導入溶媒

6 種のフタル酸エステルおよび 8 種の共存可塑剤を検出するための MS/MS 条件について検討した。フタル酸エステル標準溶液および共存可塑剤標準溶液 (各 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) をフローインジェクションで測定し、MS/MS 分析における最適な定量イオンおよび確認イオンを選択した。

導入溶媒には LC 分析で汎用されるメタノールおよびアセトニトリルを用いた。また MS/MS 測定においてイオン化しやすくなるようにギ酸を添加し、添加濃度は LC 分析において一般的な 0.1% とした。

いずれの可塑剤もプロトン付加イオン ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) に相当するピークが高強度で検出されたため、これらをプリカーサーイオンとした。さらに、各プリカーサーイオンから得られたプロダクトイオンのうち、最も高強度のイオンを定量イオン、次に高強度のものを確認イオンとした。コーン電圧およびコリジョンエネルギーはプロダクトイオンの強度が最大となるように調整した。その結果、定量イオン強度は 0.1% ギ酸メタノールの方が 0.1% ギ酸アセトニトリルに比べ 1.5~3 倍高かった。0.1% ギ酸メタノールにおける 6 種のフタル酸エステルおよび 8 種の共存可塑剤の最適な MS/MS 条件を表 3 に示した。

### (2) LC 条件

#### ① 移動相

移動相は、2. 1) (1) においてイオン化効率が良かった 0.1% ギ酸メタノールを B 液とし、A 液に 0.1% ギ酸を用いることとした。

#### ② 6 種のフタル酸エステルと 8 種の共存可塑剤との分離

可塑剤混合標準溶液 (0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を用いて 6 種のフタル酸エステルと 8 種の共存可塑剤との分離を検討した。分離の検討は LC/MS

(SIR モード) で行い、その際のモニターイオンはそれぞれのプロトン付加イオン ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) とした。

はじめに、汎用カラムである C18 (ODS) カラム (Acquity BEH C18, 2.1 mm i.d.  $\times$  100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ , Waters 社製) を用いた。グラジエント条件は B 液 65%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  100%、流速 0.2 mL/min とした。6 種のフタル酸エステルのうち DBP と BBP、DINP と DIDP の一部が重なり、完全に分離させることはできなかった (図 2 (a))。また 8 種の共存可塑剤との分離では、DBP と DIBP、BBP と DIBP、DEHP と DEHA、DINP と DINA、DINP と DHEIP、DIDP と DINA、DIDP と DEHTP、DIDP と DINCH が分離しなかった。そこで、BEH C18 よりも高い選択性と疎水性相互作用を有する Acquity HSS T3 を用い、グラジエント条件を B 液 70%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  100%、流速 0.25 mL/min として測定したところ、DINP と DIDP、DINP と DEHIP、DIDP と DINA の分離が改善され、わずかに重複するだけだった (図 2 (b))。そのためこの条件を LC 条件 A とした。また DEHP と DEHA はグラジエント条件を B 液 80%  $\rightarrow$  直線グラジエント (25 min)  $\rightarrow$  95%、流速 0.25 mL/min で測定したところ分離が改善されたため、これを LC 条件 B とした (図 2 (c))。このように条件 A および B により、6 種のフタル酸エステルと 8 種の共存可塑剤をほぼ分離可能であったが、DBP と BBP、DBP と DIBP、BBP と DIBP、DINP と DINA、DIDP と DEHTP、DIDP と DINCH は分離できなかった。

条件 A および B で分離困難だった可塑剤を分離させるため、ベンゼン環を有する化合物の分離に優れたフェニル系のカラムを用いて検討した。カラムには、シリカ基材にフェニルヘプチル基が結合した BEH Phenyl (2.1 mm i.d.  $\times$  100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ , Waters 社製)、フェニルブ

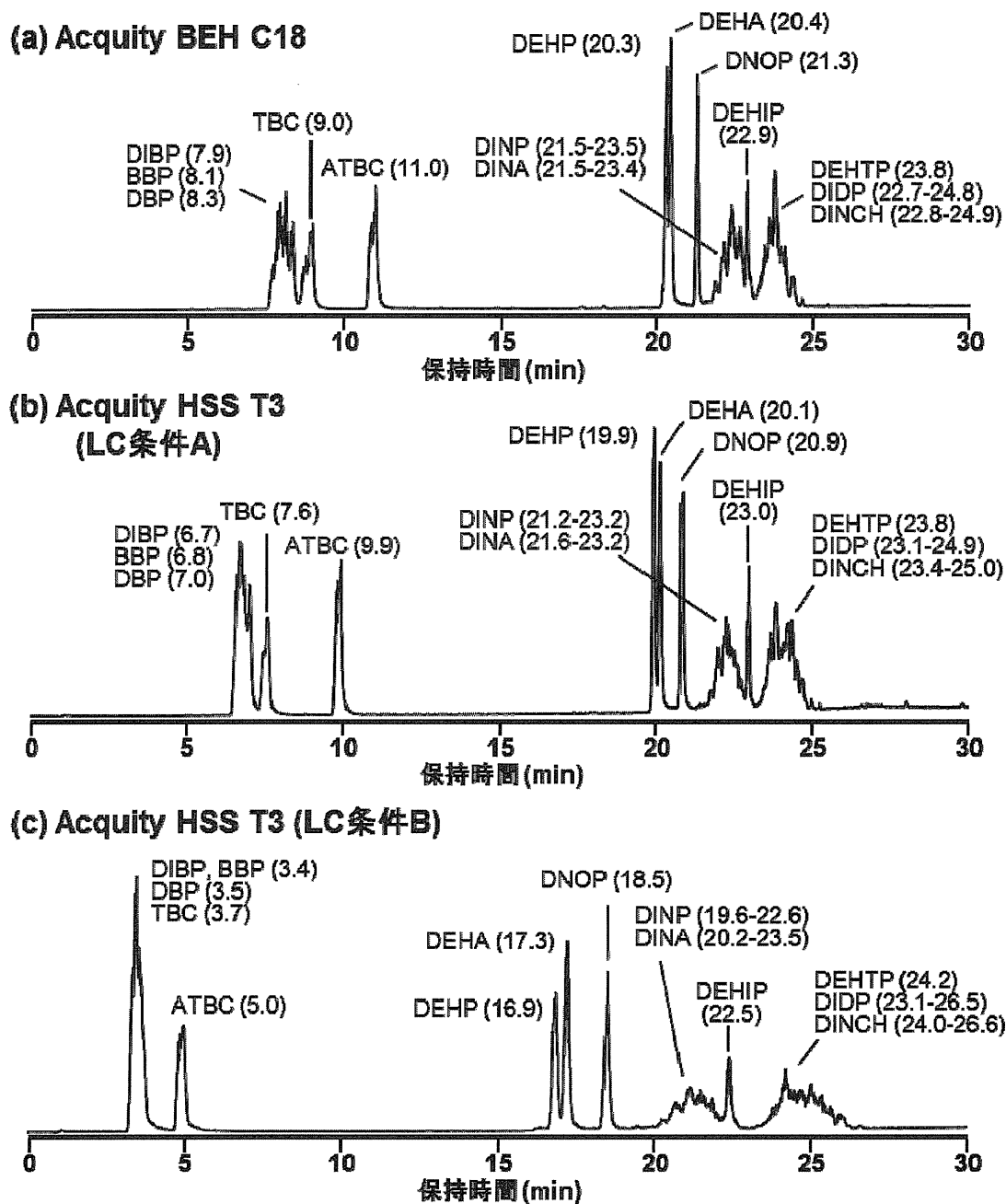


図2 ODS系カラムを用いた可塑剤混合標準溶液(0.5 µg/mL)のトータルイオンクロマトグラム (SIR)

(a) Acquity BEH C18 (B液: 65%→直線グラジエント(20 min)→100%, 流速: 0.2 mL/min)

(b) Acquity HSS T3 (LC条件A)

(c) Acquity HSS T3 (LC条件B)

( ): 保持時間 (min); 測定イオン ( $m/z$ ): 279, 313, 361, 371, 391, 399, 403, 419, 425, 447

チル基が結合した Hypersil Gold Phenyl (2.1 mm i.d. × 100 mm, 1.9 μm, Thermo Fisher Scientific 社製)、フェニル基が直接結合した InertSustain Phenyl HP (GL サイエンス社製)、ペンタフルオロフェニルエチル基が結合した CSH Fluoro-Phenyl (2.1 mm i.d. × 100 mm, 1.7 μm, Waters 社製)を用いた。それぞれのカラムを用いたときのクロマトグラムを図3に示した。

Acquity BEH Phenyl、Hypersil Gold Phenyl および Acquity CSH Fluoro-Phenyl カラムは類似した分離傾向を示し、DBP と BBP、BBP と DIBP は分離した。しかし、様々なグラジエント条件を検討したが、DINP と DINA、DIDP と DEHTP、DIDP と DINCH は分離できなかった (図3 (a), (b), (d))。一方 InertSustain Phenyl HP カラムを用い、B液 50% → 直線グラジエント (25 min) → 100%、流速 0.25 mL/min として測定したところ、DBP と BBP、BBP と DIBP、DINP と DINA、DIDP と DEHTP、DIDP と DINCH がほぼ分離した。そこで本条件を LC 条件 C とした。しかし DBP と DIBP の分離は十分ではなく、さらに BBP と ATBC が分離できなかった (図3 (c))。

LC 条件 A、B および C では保持時間が比較的早い DBP、BBP、DIBP、TBC および ATBC の 5 種類を効果的に分離することが出来なかった。そこでこれらを分離させるため、フェニルカラムよりも強力な π-π 相互作用を有するシリカ基材にナフチルエチル基および二つのメチル基が結合した Cosmosil 2.5πNAP (Nacalai tesque 社製)を用い、B液 60% → 直線グラジエント (25 min) → 65%、流速 0.3 mL/min で測定したところこれらが分離した (図4)。したがって本条件を LC 条件 D とした。しかし DEHP、DNOP、DINP および DIDP は洗浄段階で溶出するため、他の共存可塑剤との分離は十分ではなかった。

このように 3 種のカラムを使い分けることにより 6 種 of フタル酸エステルと共存可塑剤を分離可能であることが分かった。したがって、GC/MS では 6 種 of フタル酸エステルと分離が困難な DINA や DEHTP が検出された場合に 6 種 of フタル酸エステルが含有されているかどうかの確認法としても LC/MS/MS を適用可能であると考えられた。

### (3) CAS No.の異なる DINP の確認

CAS No.28553-12-0 と 68515-48-0 の DINP について、LC/MS/MS 条件 A および C における保持時間、ピーク形状および定量イオン強度を比較した (図5)。両者のピーク形状は異なっていたが、ピーク群の保持時間の範囲はほぼ同じであった。したがって CAS No.68515-48-0 の DINP も条件 A および C で測定可能であると考えられた。しかし、ピーク群の面積値は CAS No. 28553-12-0 の方が約 2.5 倍高い値を示した。これは異性体ごとにイオン化率が異なるためと推測された。したがって、DINP の定量は、実際に検出された DINP と同じ CAS No.の DINP を用いて行う必要がある。

### (4) 共存可塑剤の影響

これまでに検討した LC/MS/MS 条件における共存可塑剤の影響の有無を確認した。共存可塑剤が材質あたり 30%と大量に含有されていると仮定し、6 種 of フタル酸エステル 0.2 μg/mL および 8 種 of 共存可塑剤をそれぞれ 60 μg/mL 含む混合溶液を調製し、この液を LC/MS/MS で測定した。

6 種 of フタル酸エステルについて、8 種 of 共存可塑剤が存在しないときのピーク面積値に対する共存可塑剤が存在するときのピーク面積値の割合を表5に示した。Acquity HSS T3 カラムの条件 A では、DIBP 共存時の DBP および BBP、DEHA 共存時の DEHP、DINA 共存時の DINP、DINCH 共存時の DIDP を除いて

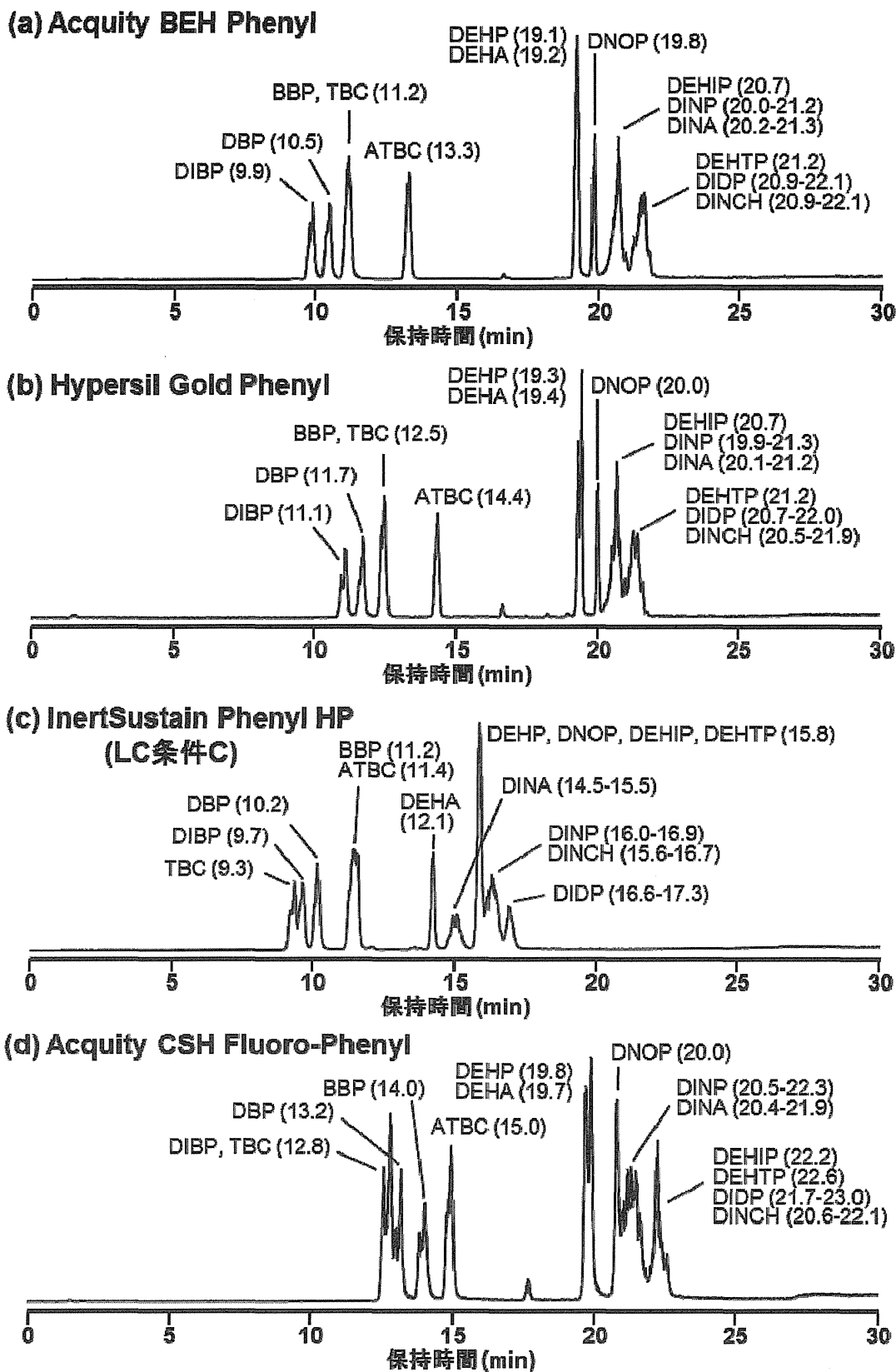


図3 フェニルカラムを用いた可塑剤混合標準溶液 (0.5  $\mu\text{g/mL}$ ) のトータルイオンクロマトグラム (SIR)

- (a) Acquity BEH Phenyl (B液: 60%→直線グラジエント(25 min)→100%, 流速: 0.2 mL/min)  
 (b) Hypersil Gold Phenyl (B液: 50%→直線グラジエント(25 min)→100%, 流速: 0.2 mL/min)  
 (c) InertSustain Phenyl HP (LC条件 C)  
 (d) Acquity CSH PFP (B液: 40%→直線グラジエント(25 min)→90%, 流速: 0.2 mL/min)  
 ( ): 保持時間 (min); 測定イオンは図2と同じとした。