

201522044A

平成27年度厚生労働科学研究費補助金  
食品の安全確保推進研究事業

# DART-OT/MS および qNMR を用いた 迅速かつ簡易な可塑剤分析法の検討

総括研究報告書

平成28(2016)年5月

研究代表者 阿部 裕 国立医薬品食品衛生研究所

# 目 次

## I. 総括研究報告書

DART-OT/MS および qNMR を用いた迅速かつ簡易な可塑剤分析法の検討	1
阿部 裕	
<その1>DART-OT/MS を用いた 10 種のフタル酸エステル の迅速スクリーニング法の開発	3
<その2>NMR を用いたポリ塩化ビニル製品中のフタル酸 エステル類の正確な定量法の開発	26
<その3>ポリ塩化ビニル製玩具の使用可塑剤実態調査	40
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	64

## DART-OT/MS および qNMR を用いた迅速かつ簡易な可塑剤分析法の検討

研究代表者 阿部 裕 国立医薬品食品衛生研究所

### 研究要旨

合成樹脂やゴム製品には様々な添加剤が使用される。その添加剤の一種である可塑剤は製品に柔軟性を付与するために添加されるが、軟質のポリ塩化ビニル (PVC) 製品などでは他の添加剤と比べて添加量が多いことが知られている。そのため、合成樹脂やゴム製の器具・容器包装および乳幼児用玩具に含まれる可塑剤は、食品や唾液を介してヒトが摂取される可能性が高い。また、代表的な可塑剤であるフタル酸エステル (PAEs) の一部には毒性が疑われるものがあるため、我が国では、フタル酸ジブチル (DBP)、フタル酸ベンジルブチル (BBP)、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP)、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) の6種のPAEsの乳幼児用玩具への使用が禁止されている。また最近では新たに開発された多種多様の可塑剤が製品に使用されつつある。そのため可塑剤の使用実態を把握するとともにその暴露予測を行うことは、リスク管理および食品衛生上重要かつ急務であると考えられる。しかし、一般的なGCによる可塑剤の分析においては、試験溶液の調製および測定に時間がかかるうえ、含有される可塑剤の種類や量によっては精度よく定量することが困難な場合もある。そこで本研究では、DART-OT/MS および NMR を用いた迅速、簡易かつ正確な可塑剤分析法の検討を行うとともに、市販 PVC 製玩具の使用可塑剤実態調査を行うこととした。このうち本年度は、「<その1>DART-OT/MS を用いた 10 種の PAEs の迅速スクリーニング法の開発」、GC による分析では定量が困難な場合の定量法として、「<その2>NMR を用いた PVC 製品中の PAEs の正確な定量法の開発」を試みた。また、これらを組み合わせた乳幼児用玩具の PAEs 規制に適應したスクリーニング～定量までの一連の流れを構築した。さらに、「<その3>PVC 製玩具の使用可塑剤実態調査」を行い、過去の調査結果と比較し、市販製品中の可塑剤の使用傾向の変化を調べた。

「<その1>DART-OT/MSを用いた10種のPAEsの迅速スクリーニング法の開発」では、上記で開発したDART-OT/MS法を改良し、10種類のPAEsの迅速スクリーニング法を新たに開発し、さらにその精度を確認した。10種類のPAEsをより高感度に検出するためにMS/MS測定条件の最適化を行い、10種のPAEsを0.05または0.1%含有するPVC製シートを測定したその結果、標準品と同じMS/MSスペクトルが得られ、PVC製品中のPAEsを正確に検出することができた。さらにPVC製玩具25検体を測定した結果、PAEsを含有する9検体を全て選び出すことができた。また、PAEsを規格値以上含有すると判定する閾値を設定することにより、含有量が0.1%未満のPAEsを検出する頻度を大幅に低減できた。このように、DART-OT/MSによる10種のPAEsのスクリーニング法は迅速、簡便かつ正確であるため、非常に優れた方法であると考えられた。

「＜その2＞NMRを用いたPVC製品中のPAEsの正確な定量法の開発」では、はじめにPAEsおよび代表的な可塑剤のNMRスペクトルデータを取集した。その結果から、定量用シグナルとしてPAEsの芳香族環に由来する $\delta$ 7.66および7.76 ppmの二つのシグナルを選択した。また、測定溶媒はアセトン- $d_6$ もしくはメタノール- $d_4$ 、内標準物質はマレイン酸およびBTMSBを用いることとした。PVC製品材質中のPAEs濃度が1~50%の場合は、試験溶液を内標準物質含有の重溶媒に転溶して測定するのみで、回収率100.0~103.0%、標準偏差0.2~2.0%と真度、精度ともに非常に良好な結果が得られた。一方、PAEs濃度が0.1%の場合は、十分な感度が得られなかったため、アルミナカートリッジカラムを用いた簡易精製を行うこととした。これにより、回収率は91.2~101.3%、標準偏差は0.7~2.2%と良好な結果が得られた。本法はGC/MSよりも真度・精度ともに良好な方法であると考えられた。

上記1~3において開発した方法を組み合わせることにより、PAEs規制に適応したスクリーニング~定量までの一連の流れを構築した。これにより乳幼児用玩具のPAEs試験における試験を実施する検体数を減少させることができ、GC分析法では定量が困難と考えられる場合の的確な適否判定が可能となった。

「＜その3＞PVC製玩具の使用可塑剤実態調査」では、GC/MSを用いてPVC製玩具約500検体の可塑剤使用実態調査を行うとともに、2009年度の調査結果と比較し、市販製品中の可塑剤の使用傾向の変化を調べた。約500検体から15種類の可塑剤が検出されたが、いずれもこれまでに検出報告があるものであった。DEHTPの検出率が最も高く、約65%の試料から検出された。指定おもちゃに限定してみてもDEHTPの検出率が最も高く、2009年度と比べ大幅に上昇していたが、含有量は減少していた。その他の可塑剤の検出率は同程度もしくは低下傾向にあったが、含有量はDEHTPと同様に減少していた。一方、指定おもちゃ以外でもDEHTPが最も多く検出され、検出率も2009年度と比べて増加していたが、含有量は低下していた。また、PAEsの検出率は1/3以下に減少していた。このようにPVC製玩具に使用される可塑剤は、5年前と比べ種類に大きな違いはなかったが、DEHTPの使用頻度が大幅に上昇しており、PAEsの使用頻度は大幅に低下していた。また、可塑剤の使用量は全体的に減少していることが明らかとなった。

#### 研究協力者

六鹿元雄、山口未来、大槻 崇、石附京子、佐藤恭子：国立医薬品食品衛生研究所

穂山浩：DART-OT/MSを用いたPVC製品中可塑剤の迅速分析法の開発、第110回日本食品衛生学会学術講演会（2015.10）

#### 健康被害情報

特になし

2) Abe Y, Yamaguchi M, Mutsuga M, Akiyama H: Development of rapid direct analysis method for plasticizers in polyvinyl chloride (PVC) product using direct analysis in real time-orbitrap mass spectrometry (DART-OT/MS), PacifiChem2015 (2015.12)

#### 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 講演、学会発表等

知的財産権の出願・登録状況

1) 阿部 裕、山口未来、六鹿元雄、佐藤恭子、

特になし

## ＜その1＞DART-OT/MSを用いた10種のフタル酸エステルの迅速スクリーニング法の開発

### A. 研究目的

フタル酸エステル類 (PAEs) はフタル酸の二つのカルボン酸に脂肪族もしくは芳香族炭化水素が結合した化学物質の総称であり、ポリ塩化ビニル (PVC) を主成分とする合成樹脂の可塑剤として汎用される<sup>1-4)</sup>。しかし、一部の PAEs は乳幼児に対して生殖発生毒性を有する可能性が疑われており<sup>5-7)</sup>、さらに、乳幼児がおもちゃなどの製品を口に入れたり舐めたりすることにより、製品から唾液を介して PAEs が体内に移行する可能性が指摘されている<sup>8)</sup>。そのため、2005年に米国<sup>9)</sup>および欧州<sup>10)</sup>、2010年には日本<sup>11)</sup>において、フタル酸ジブチル (DBP)、フタル酸ベンジルブチル (BBP)、フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) (DEHP)、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) の乳幼児用玩具や育児用品への使用が禁止された。その後、米国では2014年12月にこれまで規制対象としていた6種 (DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP) の PAEs のうち DNOP および DIDP を対象外とし、新たにフタル酸ジイソブチル (DIBP)、フタル酸ジ-*n*-ペンチル (DNPenP)、フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP) およびフタル酸ジ-*n*-ヘキシル (DNHexP) の4種を追加した8種の PAEs を規制対象とする改正案を公表し<sup>12)</sup>、現在改正に向けた準備が進められている。

一般的に PAEs の分析は、抽出法または溶解法により試験溶液を調製後、ガスクロマトグラフ-水素炎イオン化検出器 (GC-FID) 等で測定する。試験溶液の調製法である抽出法には、アセトン・ヘキサン混液による浸漬抽出法<sup>13)</sup>やソックスレー抽出法<sup>14)</sup>やマイクロウ

エーブ抽出法<sup>15)</sup>などがあるが、抽出操作には半日から一晩程度かかる。一方の溶解法<sup>16)</sup>は、試料をテトラヒドロフランなどの有機溶媒に溶解させた後、メタノールやエタノールなど高極性の溶媒を徐々に加えることにより溶解した合成樹脂のポリマーのみを析出させ、これをろ過して取り除いたものを試験溶液とする。試験溶液の測定はGC-FIDもしくはGC-質量分析計 (GC/MS) が用いられるが、DINP や DIDP を測定する場合は30分程度を要する。このように、PAEs の分析は操作が煩雑で時間がかかる場合があり、多くの検体の試験を行う機関では、迅速かつ簡便な分析法やスクリーニング法の開発が求められている。

我々は昨年度の本研究において、Direct Analysis in Real Time (DART) イオン源に、オービトラップ型質量分析装置 (OT/MS) を組接続させた DART-OT/MS による6種の PAEs の迅速分析法を開発した<sup>17)</sup>。本法は、抽出操作などの前処理が不要で、試料を直接 DART イオン源と OT/MS の間にかざすだけで試料中の6種の PAEs を検出可能である。分析時間は1試料あたり1分以内と非常に迅速であることから、スクリーニング法として非常に有用であると考えられた。しかし、米国で新たに規制を予定している4種の PAEs のうち、DIBP を除いた DNPenP、DCHP および DNHexP については昨年度の本研究において測定対象としていなかった。

そこで本年度は、昨年度の研究で対象とした6種の PAEs に、米国で新たに規制対象となった4種の PAEs を追加した全10種の PAEs を対象とした迅速スクリーニング法を開発した。

## B. 研究方法

### 1. 試薬類

#### 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、エタノール：残留農薬・PCB 試験用 和光純薬工業社製

テトラヒドロフラン (THF)：安定剤不含、HPLC 用 和光純薬工業社製

#### 2) 標準品

PAEs (DBP、DIBP、DNPenP、BBP、DCHP、DNHexP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP) 標準品：全てフタル酸エステル試験用 和光純薬工業株式会社製。PAEs の CAS No.、分子式、分子量などを表 1 に示した。

#### 3) 標準溶液

PAEs 標準原液：PAEs 標準品 10 mg をとり、アセトンを加えて各 10 mL とした (各 1,000 µg/mL)。

PAEs 混合標準溶液：各 PAEs 標準原液 1 mL を 50 mL 容メスフラスコにとりアセトンを加えて 50 mL とした (20 µg/mL)。

検量線用 PAEs 混合標準溶液：PAEs 混合標準溶液をアセトンで適宜希釈して 0.01~2 µg/mL とした。

## 2. PAEs 含有 PVC 製シートの作製

10 種の PAEs を含有する製品を市場で入手することが困難であったことから、信越化学工業株式会社 塩ビ・高分子材料研究所にて 10 種の PAEs を含有する PVC 製シートを作製した。

### 1) 試薬等

PVC：TK-1000F 信越化学工業株式会社製  
PAEs：1. 2) 標準品と同じ。

共通可塑剤：フタル酸ジメチル (DMP)、>98% 和光純薬工業株式会社製

安定剤：TVS-8831 (ジオクチルスズ安定剤：スズ含有量 15~17%) 日東化成株式会社製

添加剤：P-551A (ポリメタクリル酸メチル (PMMA)) 三菱レイヨン株式会社製

### 2) 配合量

各添加剤配合量を表 2 に示した。PVC 製シートは DBP、DNPenP、DNHexP、DEHP および DINP を含有する A タイプ、DIBP、BBP、DCHP、DNOP および DIDP を含有する B タイプを作製した。軟質 PVC の場合は可塑剤の合計配合量が 20%、硬質 PVC の場合は合計配合量が 1%となるように ATBC を添加した。また、安定剤であるジオクチルスズ安定剤お

表 1 本研究に用いた PAEs の情報

化学名	略号	CAS No.	分子式	分子量	純度
Di- <i>n</i> -butyl phthalate	DBP	84-74-2	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278	>99.5
Diisobutyl phthalate	DIBP	84-69-5	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278	>99.0
Di- <i>n</i> -pentyl phthalate	DNPenP	131-18-0	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	306	>98.0
Benzyl butyl phthalate	BBP	85-68-7	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	312	>99.0
Dicyclohexyl phthalate	DCHP	84-61-7	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	330	>99.0
Di- <i>n</i> -hexyl phthalate	DNHexP	84-75-3	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	334	>98.0
Di(2-ethylhexyl) phthalate	DEHP	117-81-7	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390	>99.5
Di- <i>n</i> -octyl phthalate	DNOP	117-84-0	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390	>98.0
Diisononyl phthalate	DINP	28553-12-0	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	418	>98.0
Diisodecyl phthalate	DIDP	26761-40-0	C <sub>28</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	446	>98.0

表2 PVC シートのPAEsおよびその他添加剤の配合量

試料*	PAEs										その他添加剤**			
	DBP	DNPenP	DNHexP	DEHP	DINP	DIBP	BBP	DCHP	DNOP	DIDP	PVC	可塑剤	安定剤	添加剤
A-S01	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	NA	NA	NA	NA	NA	78	20	2	1
B-S01	NA	NA	NA	NA	NA	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	78	20	2	1
A-S005	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	NA	NA	NA	NA	NA	78	20	2	1
B-S005	NA	NA	NA	NA	NA	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	78	20	2	1
A-H01	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	NA	NA	NA	NA	NA	97	1	2	1
B-H01	NA	NA	NA	NA	NA	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	97	1	2	1

単位: %, NA: 無添加

\*試料の A および B はシートのタイプ, S および H は軟質および硬質, 数値は PAEs の配合量を示す。

\*\*可塑剤: DMP; 安定剤: ジオキシルス系安定剤; 添加剤: PMMA

表3 PVC 製玩具中の PAEs および DEHTP 含有量

可塑剤	人形1	人形7A	人形12	人形17C	人形21	人形38	人形50D	人形50F	人形76	人形78A	空気3A	空気8A	空気17A
DEHP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.1	NQ	16.4	0.5
DNOP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DINP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DIBP	ND	ND	ND	NQ	ND	ND	NQ	NQ	NQ	ND	NQ	ND	ND
DBP	ND	ND	ND	NQ	ND	ND	NQ	NQ	NQ	ND	NQ	NQ	ND
BBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DNPenP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DNHexP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DCHP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DIDP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DEHTP	ND	17.3	ND	12.8	14.3	23.3	20.3	ND	17.3	1.3	17.9	ND	30.8
試料	空気17E	ストラップ25	ストラップ3 <sup>Ⓢ</sup>	その他19	その他24	その他34A	その他42B	その他43	その他44B	その他4A	ボール12	ボール19A	
DEHP	ND	ND	3.6	NQ	ND	ND	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	
DNOP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
DINP	ND	ND	NQ	ND	ND	ND	ND	ND	4.1	ND	ND	ND	
DIBP	ND	ND	10.0	ND	ND	ND	5.8	ND	ND	ND	NQ	1.7	
DBP	ND	ND	2.3	ND	NQ	38.3	5.7	NQ	ND	ND	NQ	ND	
BBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
DNPenP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
DNHexP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
DCHP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
DIDP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
DEHTP	ND	1.5	6.0	ND	4.0	ND	ND	4.3	ND	ND	ND	ND	

ND: < 0.05%, NQ: <0.01%

よび添加剤である PMMA の配合量は一般的な量である 2 および 1%とした。

### 3. 試料

「〈その3〉ポリ塩化ビニル製玩具の使用可塑剤実態調査」において用いた PVC 製玩具 25 検体。これらの PAEs および DEHP 含有量を表 3 にまとめた。

### 4. 装置および器具

マグネティックスターラー：REXIM RS-6DN AS ONE 社製

ロータリーエバポレーター：バキュームコントローラー V-800、ロータベイパー R-200 BÜCHI 社製

ガスクロマトグラフ/タンデム質量分析計 (GC/MS/MS)：7890A GC、7000 TQD Agilent Technologies 社製：

DART-OT/MS：DART イオン源：DART-SVP エーエムアール社製、OT/MS：Q Exactive Thermo Fisher Scientific 社製

ガラスキャピラリー：1.6×100 (片封じ) エーエムアール社製

## 5. PVC 製シート中の PAEs 含有量の確認

### 1) 試験溶液の調製

細切した試料 0.5 g を 300 mL 容ガラス製三角フラスコに採り、THF 25 mL を加えた。かく拌子を入れ、マグネティックスターラーでかく拌 (400 rpm) しながらエタノール 200 mL を少量ずつ加えた。ろ紙でろ過し、ろ液およびエタノールによる洗液を 500 mL 容ガラス製ナス型フラスコに移し、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固した。残渣にアセトン 1 mL を加え溶解し、さらにヘキサンを加え 10 mL としたものを試験溶液とした。

### 2) GC-MS/MS による測定

#### ①GC-MS/MS 測定条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 μm, Agilent Technologies 社製)；カラム温度：100°C-20°C/min-320°C (10 min)；注入口温度：250°C；注入モード：スプリットレス；注入量：1.0 μL；キャリアーガス及び流量：He 1.0 mL/min (定流量)；トランスファーライン温度：280°C；イオン源温度：230°C；四重極温度：150°C；測定モード：マルチプルリアクションモニタリング (MRM)；定量イオンおよび確認イオン ( $m/z$ )：表 4

表4 PAEs の GC-MS/MS および DART-OT/MS における測定条件

略号	分子量	GC-MS/MS (MRM)		DART-OT/MS	
		定量イオン ( $m/z$ )	確認イオン ( $m/z$ )	プリカーサーイオン ( $m/z$ )	NCE (%)
DBP	278	223 > 149 (5)	205 > 149 (0)	279.158	10
DIBP	278	149 > 93 (20)	223 > 149 (10)		
DNPenP	306	149 > 93 (20)	237 > 149 (5)	307.189	10
BBP	312	206 > 149 (5)	91 > 65 (15)	313.143	10
DCHP	330	249 > 149 (15)	149 > 65 (30)	331.189	20
DNHexP	334	251 > 149 (5)	149 > 65 (30)	335.221	10
DEHP	390	279 > 149 (10)	113 > 71 (0)	391.283	10
DNOP	390	279 > 149 (5)	149 > 93 (15)		
DINP	418	293 > 149 (10)	149 > 93 (15)	419.315	20
DIDP	446	307 > 149 (5)	87 > 43 (5)	447.348	20

GC-MS/MS における定量イオンおよび確認イオンは、プリカーサーイオン > プロダクトイオン、括弧内の数値はコリジョンエネルギー (V) を示した



## ②定量

試験溶液はアセトンで50もしくは100倍に希釈したものをGC-MS/MSに注入した。検量線は検量線用PAEs混合標準溶液の定量イオンのピーク面積を用いて作成し、定量は絶対検量線法により行った。

## 6. DART-OT/MSによる測定

### 1) DART 測定条件

イオン源温度：250℃  
ガス：ヘリウム（流速 3.5 L/min）  
測定モード：ポジティブモード

### 2) OT/MS 測定条件

キャピラリー温度：200℃  
キャピラリー電圧 25 V  
チューブレンズ電圧：120 V  
スキマー電圧：26 V  
スプレー電圧：1 kV  
シースガス、AUX ガスおよびスイープガス：不使用

測定方法：Targeted-MS<sup>2</sup> (MS/MS)

Targeted-MS<sup>2</sup>測定条件：表4

### 3) 測定方法

測定方法を図1に示した。可塑剤標準溶液はガラスキャピラリーの先端に溶液を付着させて測定した。PVC製シートおよび玩具は約1~2 mm幅の小片を作製し、これをピンセットでつまみ、DARTイオン源とOT/MSの間に約5秒間かざして測定した。測定は3もしくは5回繰り返した。なお、装置のキャリブレーションは測定日毎に試料測定前に行った。

### 4) データ解析

3もしくは5回の繰り返し測定により得られたトータルイオンカレントグラム (TIC) のピークをそれぞれ平均化し、得られたMS/MSスペクトルから、それぞれのTICピークの前後約5秒間のMS/MSスペクトルをバックグラウンドとして減算した。

定性はPVC製シートおよび玩具から得ら

れたMS/MSスペクトルと標準溶液のMS/MSスペクトルを比較して行った。また、検出レベルの設定に用いたピーク強度は、得られたMS/MSスペクトルで最も高強度のプロダクトイオンのピーク強度を用いた。

## C. 研究結果と考察

### 1. DART-OT/MSを用いた10種のPAEsのスクリーニング法の検討

#### 1) スクリーニングのための最適MS/MS測定条件の検討

10種のPAEsを見逃すことなくかつ正確に検出する必要があることから、それぞれのPAEに特徴的かつ高強度なMS/MSスペクトルが得られる最適なMS/MS条件を設定した。

いずれのPAEにおいても一次MSでは分子イオンピークに相当する[M+H]<sup>+</sup>がベースピーク（スペクトルの中で最高強度のイオンのピーク）として検出されたことから、各PAEのプリカーサーイオンは[M+H]<sup>+</sup>とした。各プリカーサーイオンを用い、コリジョンエネルギー (NCE, %) を10, 20, 30, 40, 60 および90%として測定し、MS/MSスペクトルを確認した（図2）。

全てのPAEsおよびNCE条件でm/z 149.02のプロダクトイオンが検出され、ほとんどの条件でベースピークに相当するピークであった。m/z 149.02は図3に示すようなフラグメンテーションにより生じるPAEsの代表的なフラグメントイオンであるため、PAEsを判別するための対象イオンとして最適であると考えられた。また、NCE 10もしくは20%の場合、m/z 149.02の他にDBPではm/z 205.09、DIBPでは57.07および205.09、DEHPでは167.03、279.16など、DNOPでは261.15、BBPでは91.06および205.09、DCHPでは167.03、249.11および231.10、DNPenPでは219.10、DNHexPでは223.12、DINPでは71.09、85.10、293.18など、DIDPでは85.10、71.09、307.19

など、それぞれの PAEs に特徴的なフラグメントイオンも相対強度比が 5%以上で検出された。一方 NCE が 30%以上の場合、 $m/z$  149.02 よりも分子量が大きいフラグメントイオンはほとんど検出されず、特に NCE 60 および 90% における BBP、DINP および DIDP 以外の MS/MS スペクトルは非常に類似しており、同じプリカーサーイオンを用いる DBP と DIBP、DEHP と DNOP の判別が困難と考えられた。このことから、いずれの PAE も NCE 条件は 10 もしくは 20%が適していると考えられた。

次に、NCE を 10 および 20%のどちらが最適な NCE 条件であるか検討した。各 PAEs 標準原液を 5 回繰り返し測定し、ベースイオンについてはイオン強度の平均値と繰り返し精度 (RSD, %)、プロダクトイオンについてはイオン強度比の平均値と RSD を求めた (表 5)。ただし、プロダクトイオンについては相対強度が 5%以上のものを最大 3 つまで示し、特徴的なイオンが検出された場合はそれも示した。

#### ①DBP および DIBP

DBP と DIBP は異性体であるため、プリカーサーイオンは共通の  $m/z$  279.158 とした。ベースピークはいずれも  $m/z$  149.02 で NCE 10 および 20%のときのイオン強度を比較すると、DBP では NCE 10%、DIBP では NCE 20%の場合にイオン強度が大きかったが、これらは有意な差ではなかったため、いずれの NCE でも同等に検出可能であると考えられた。なお、イオン強度の RSD は 50%以上とばらつきが大きかったが、これは試料導入が自動ではなく手動であるためイオン導入が一定ではなかったためであると推測された。

検出されたプロダクトイオンとそれぞれのベースピークに対する強度比を比較した。NCE 10%とした場合、DIBP では  $m/z$  57.09 と 205.09 のイオン強度比が 5%以上であったが、NCE 20%とした場合、イオン強度比が 5%以

上のプロダクトイオンは  $m/z$  57.07 だけであった。したがって、より多くのプロダクトイオンが検出される NCE 10%の方が適していると考えられた。NCE 10%とした場合、DBP では  $m/z$  205.09 のイオン強度比は 10.8%であり、DIBP では 5.5%であった。また DBP では  $m/z$  57.07 は検出されなかったが、DIBP では検出され、そのイオン強度比は 14.4%であった。これらの RSD は 3.5~4.6%と非常に良好で、試料導入にばらつきがあっても常に一定のイオン強度比で検出されることが示唆された。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  279.158、NCE 10%とし、ベースピークが  $m/z$  149.02、プロダクトイオンとして  $m/z$  205.09 が約 11%の強度比で検出されれば DBP、ベースピークが  $m/z$  149.02、プロダクトイオンとして  $m/z$  57.07 および 205.09 のイオン強度比がそれぞれ約 14%および約 6%で検出されれば DIBP を含有していると判断可能であると考えられた。

#### ②DNPenP

DNPenP のプリカーサーイオンは  $m/z$  307.189 とした。ベースピークはいずれの NCE でも  $m/z$  149.02 となった。このときのイオン強度には有意差はなく、いずれの NCE でも同等に検出可能であると考えられた。一方 NCE 10%ではプロダクトイオンとして  $m/z$  219.10 が 8.9%のイオン強度比で検出されたが、NCE 20%では 5%以下となった。したがってより多くのプロダクトイオンが検出される NCE 10%が適切であると考えられた。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  307.189、NCE 10%とし、ベースピークが  $m/z$  149.02、プロダクトイオンとして  $m/z$  219.10 が約 9%の強度比で検出されれば DNPenP を含有していると判断可能であると考えられた。

表5 DART-MS/MS 測定における各 PAEs から検出されたプロダクトイオンの強度および強度比

PAE	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	NCE	プロダクトイオン 1			プロダクトイオン 2			プロダクトイオン 3			特徴的なプロダクトイオン		
			<i>m/z</i>	イオン強度		<i>m/z</i>	イオン強度比		<i>m/z</i>	イオン強度比		<i>m/z</i>	イオン強度比	
				平均値	RSD		平均値	RSD		平均値	RSD		平均値	RSD
DBP	279.158	10	149.02	4.85E+08	61.9	205.09	10.8	3.6	-	-	-	-	-	-
		20	149.02	4.68E+08	52.2	205.09	10.3	4.8	-	-	-	-	-	-
DIBP	279.158	10	149.02	3.92E+08	38.2	57.07	14.4	3.5	205.09	5.5	4.6	-	-	-
		20	149.02	3.99E+08	32.6	57.07	13.1	21.2	-	-	-	-	-	-
DNPenP	307.189	10	149.02	2.48E+08	54.1	219.10	8.9	3.9	-	-	-	-	-	-
		20	149.02	2.46E+08	88.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BBP	313.143	10	91.06	1.42E+08	47.0	149.02	60.9	3.0	205.09	11.9	9.9	-	-	-
		20	91.06	2.16E+08	82.6	149.02	60.2	1.3	205.09	6.6	1.9	-	-	-
DCHP	331.189	10	167.04	2.49E+08	33.3	149.02	68.0	1.6	249.11	43.7	2.3	231.10	8.4	1.5
		20	167.04	4.13E+08	48.3	149.02	75.7	3.2	249.11	22.3	1.2	-	-	-
DNHexP	335.221	10	149.02	3.42E+08	41.1	233.12	9.0	1.4	-	-	-	-	-	-
		20	149.02	2.14E+08	50.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DEHP	391.283	10	149.02	1.56E+08	62.4	167.04	49.5	1.6	71.09	26.2	1.9	279.16	16.8	9.0
		20	149.02	1.92E+08	53.9	167.04	40.5	6.2	71.09	19.3	3.9	-	-	-
DNOP	391.283	10	149.02	2.80E+08	58.8	261.15	12.3	7.4	-	-	-	-	-	-
		20	149.02	2.88E+08	37.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DINP	419.315	10	71.09	8.25E+07	31.2	85.10	84.3	4.9	149.02	62.1	5.0	127.15	64.3	11.4
		20	71.09	1.15E+08	31.5	149.02	77.6	2.3	85.10	70.8	1.8	293.18	4.7	7.9
DIDP	447.348	10	85.10	3.19E+07	55.6	141.17	76.2	1.1	71.09	63.2	3.1	149.02	18.5	6.2
		20	85.10	3.46E+07	62.1	71.09	74.0	7.4	149.02	40.3	6.0	307.19	4.9	6.1

イオン強度および強度比の平均値およびRSD (%) は 5 回の繰返し測定から算出した。

プロダクトイオンは強度比が 5% 以上のものを最大 3 つまで示した。

### ③BBP

BBP のプリカーサーイオンは  $m/z$  313.143 とした。いずれの NCE 条件でも  $m/z$  91.06 がベースピークとして検出され、このときのイオン強度を比較しても有意差は見られなかったこと。したがって、いずれの NCE でも同等に検出可能であると考えられた。また  $m/z$  149.02 はイオン強度比が約 60%で検出され、この他に  $m/z$  205.09 のプロダクトイオンが強度比 11.9% (NCE 10%) もしくは 6.6% (NCE 20%) で検出された。これらのイオン強度比の RSD はいずれの NCE でも良好であったため、どちらの NCE を選択しても精度に問題はないと考えられたが、 $m/z$  205.09 におけるイオン強度比が大きい方が確実に判断可能であるため、NCE 10%の方が適していると考えられた。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  313.143、NCE 10%とし、ベースピークが  $m/z$  91.06、プロダクトイオンとして  $m/z$  149.02 および 205.09 がそれぞれ約 60 および 12%の強度比で検出されれば BBP を含有していると判断可能であると考えられた。

### ④DCHP

DCHP のプリカーサーイオンは  $m/z$  331.189 とした。いずれの NCE 条件でも  $m/z$  167.03 がベースピークとして検出され、149.02 はイオン強度比が 68 もしくは 76%で検出された。この他に  $m/z$  249.11 や 231.10 のプロダクトイオンも検出された。いずれも特徴的な MS/MS スペクトルであったが、NCE 10%ではプリカーサーイオンの  $m/z$  331.19 も検出されておりフラグメント化（フラグメンテーション）が不十分であると考えられた。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  331.189、NCE 20%とし、ベースピークが  $m/z$  167.04、プロダクトイオンとして  $m/z$  149.02 および 249.11 がそれぞれ約 76 および 22%の強度比で検出されれば DCHP を含有し

ていると判断可能であると考えられた。

### ⑤DNHexP

DNHexP のプリカーサーイオンは  $m/z$  335.221 とした。ベースピークはいずれの NCE でも  $m/z$  149.02 であった。また、このときのイオン強度には有意差はなかったため、いずれの NCE でも同等に検出可能であると考えられた。一方、NCE 10%ではプロダクトイオンとして  $m/z$  223.12 が 9.0%のイオン強度比で検出されたが、NCE 20%では 5%以下となった。したがって NCE は 10%が適していると考えられた。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  335.221、NCE 10%とし、ベースピークが  $m/z$  149.02、プロダクトイオンとして  $m/z$  223.12 が約 9%の強度比で検出されれば DNHexP を含有していると判断可能であると考えられた。

### ⑥DEHP および DNOP

DEHP と DNOP も異性体であるためプリカーサーイオンは共通の  $m/z$  391.283 とした。NCE 10 および 20%のときのベースピークのイオン強度には有意差はなかったため、いずれの NCE でも同等に検出可能であると考えられた。検出されたプロダクトイオンを比較すると、NCE 10%の場合、DEHP では  $m/z$  113.13、167.03 および 279.16、DNOP では  $m/z$  261.15 のプロダクトイオンが 5%以上の強度比でそれぞれ特徴的に検出され、また、RSD も 1.6~9.0%と良好であった。一方 NCE 20%の場合、DEHP の  $m/z$  279.16 のイオン強度比が 5%未満となり、さらに DNOP の  $m/z$  261.15 が検出されなかった。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  391.283、NCE 10%とし、ベースピークが  $m/z$  149.02、プロダクトイオンとして  $m/z$  167.04、71.09 および 279.16 のイオン強度比がそれぞれ約 50、26 および 17%で検出されれば DEHP、ベースピークが  $m/z$  149.02、プ

ロダクトイオンとして  $m/z$  261.15 のイオン強度比が約 12% で検出されれば DNOP を含有していると判断可能であると考えられた。

#### ⑦DINP

DINP のプリカーサーイオンは  $m/z$  419.315 とした。いずれの NCE 条件でも  $m/z$  71.09 がベースピークとして検出され、 $m/z$  149.02 はイオン強度比が 62 もしくは 78% で検出された。この他に  $m/z$  85.10、127.15、293.18 などのプロダクトイオンも検出された。いずれの NCE でも特徴的な MS/MS スペクトルが得られたが、NCE 10% ではプリカーサーイオンの  $m/z$  419.32 が 20% 以上の強度比で検出されておりフラグメンテーションが不十分であると考えられた。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  419.315、NCE 20% とし、ベースピークが  $m/z$  71.09、プロダクトイオンとして  $m/z$  149.02、85.10 および 127.15 がそれぞれ約 78、71 および 26% の強度比で検出されれば DINP であると判別可能であると考えられた。

#### ⑧DIDP

DIDP のプリカーサーイオンは  $m/z$  447.348 とした。いずれの NCE 条件でも  $m/z$  85.10 がベースピークとして検出され、 $m/z$  149.02 はイオン強度比が 19 もしくは 40% で検出された。この他に  $m/z$  71.09、141.17、307.19 などのプロダクトイオンも検出された。いずれの NCE でも特徴的な MS/MS スペクトルが得られたが、NCE 10% ではプリカーサーイオンの  $m/z$  447.35 が 50% 以上の強度比で検出されておりフラグメンテーションが不十分であると考えられた。

以上の結果から、プリカーサーイオンを  $m/z$  447.348、NCE 20% とし、ベースピークが  $m/z$  85.10、プロダクトイオンとして  $m/z$  71.09、149.02 および 141.17 がそれぞれ約 74、40 および 22% の強度比で検出されれば DIDP であると判別可能であると考えられた。

以上の結果をもとに決定した最適な DART-OT/MS 測定条件を表 4 にまとめた。

#### 2) DEHTP と PAEs の判別

DEHP の位置異性体である DEHTP からは DART-MS 分析において  $m/z$  391.28 の他に  $m/z$  279.16 のイオンも高強度で検出された<sup>17)</sup>。また DEHTP の PVC 製玩具への使用頻度については昨年実施した実態調査から近年増加していることが明らかとなっている<sup>17)</sup>。したがって、 $m/z$  391.28 および 279.16 をプリカーサーイオンとする PAEs である DEHP、DNOP、DBP および DIBP と DEHTP との区別ができなければ、DEHTP を含有する試料を DEHP などの PAEs を含有する試料と誤って判定してしまい、スクリーニングの効率が大幅に低下することとなる。そこで、DEHTP 標準原液を前項で決定した DEHP/DNOP および DBP/DIBP の測定条件で測定したときの MS/MS スペクトルを確認した。図 4 に  $m/z$  391.283 もしくは 279.158 をプリカーサーイオン、NCE 10% としたときの DEHTP、DEHP、DNOP、DBP および DIBP の MS/MS スペクトルを示した。いずれの条件においても DEHTP からは  $m/z$  149.02 のプロダクトイオンは検出されなかった。したがって、DEHTP を含有する試料からは、 $m/z$  391.28 および 279.16 をプリカーサーイオンとしたときにピークが TIC 上で検出されるが、それらのピークから得られた MS/MS スペクトルには  $m/z$  149.02 のプロダクトイオンは検出されないため、DEHTP と DEHP、DNOP、DBP および DIBP は判別可能であると考えられた。

一方、DART-MS によるイオン化は共存する化合物が多い場合に阻害されやすい<sup>18)</sup>。特に DEHTP の含有量は最大で 45% 程度使用されることがあり<sup>2)</sup>、PAEs の含有量が規格値相当 (0.1%) のであった場合、PAEs のイオン化およびフラグメンテーションが阻害される

可能性がある。特に DEHP および DNOP はブリカーサーイオンが DEHTP と同じ  $m/z$  391.283 であるため、阻害を受ける可能性がある。そこで、DEHTP と DEHP または DNOP の含有量に差があっても DEHP または DNOP を確実に検出することが可能か否かを確認した。DEHTP の含有量はこれまで報告された最大含有量 (45%) よりも多い 50% とし、PAEs の規格値が 0.1% であることから、含有量の差は 500 倍とした。すなわち、DEHTP と DEHP (もしくは DNOP) をそれぞれ 10,000 および 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  含有する混合標準溶液を調製し、そのときの MS/MS スペクトルを確認した。

その結果を図 5 に示した。DEHP と DEHTP からはいずれも  $m/z$  167.03 のフラグメントイオンが検出されるため、そのイオン強度比は DEHP の標準品とは異なっていたが、PAEs に特徴的な  $m/z$  149.02 のプロダクトイオンは検出した。一方 DNOP でもイオン強度比は標準品とは異なっていたが、 $m/z$  149.02 が検出し、さらに DNOP に特有の  $m/z$  261.16 も検出した。したがって、DEHTP を大量に含有する試料であっても  $m/z$  149.02 のイオンを指標とすれば、DEHP もしくは DNOP の含有の有無を判別可能であった。

次に、DBP および DIBP についても検討した。DEHTP と DBP (もしくは DIBP) をそれぞれ 10,000 および 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  含有する混合標準溶液を調製し、そのときの MS/MS スペクトルを確認した。DBP、DIBP とともに PAE に特徴的な  $m/z$  149.02 のプロダクトイオンが検出された。また、DBP および DIBP のプロダクトイオンである  $m/z$  205.09 も標準品のイオン強度比とは異なっていたが検出された。したがって、DEHTP を大量に含有する試料であっても  $m/z$  149.02 および 205.09 のイオンを指標とすれば、DBP もしくは DIBP の含有の有無を判別可能であった。

### 3) PVC 製品中の PAEs の MS/MS スペクトルの確認

#### ①PVC 製シート中の PAEs 含有量

PAEs 含有量が 0.1% の PVC 製品でも標準溶液と同様の MS/MS スペクトルが得られることを確認した。0.1% 程度の PAEs を含有する PVC 製品を市場から入手することはできなかったため、PAEs を含有する PVC 製シートを作製した。PVC 製シートは含有する PAEs の種類が異なる 2 種類 (A タイプ: DBP、DNPenP、DNHexP、DEHP および DINP を含有; B タイプ: DIBP、BBP、DCHP、DNOP および DIDP を含有) を作製した。

PVC 製シート中の PAEs 含有量は、溶解法および GC-MS/MS を用いた定量法により確認した。その結果を表 6 に示した。軟質 PVC 製シートでは A タイプの DNPenP、DNHexP、DEHP および DINP、B タイプの DCHP、DNOP および DIDP で含有量が配合量よりも高い傾向を示し、硬質 PVC 製シートでは A タイプの DBP および DNPenP、B タイプの DIBP、BBP および DCHP が低い傾向を示した。配合量を 100% としたときの含有量の割合は 75~131% であり、シート中の含有量はほぼ配合量と一致していた。

#### ②PVC 製シート中の MS/MS スペクトル

PVC 製シートを DART-OT/MS で測定し、各 MS/MS 条件における TIC および MS/MS スペクトルを確認した。PAEs 含有量が 0.1% の軟質 PVC 製シート (Sheet A-S01 および Sheet B-S01) を 5 回測定して得られた各 MS/MS 条件の TIC を図 6 に、0.75 分付近のピーク (3 回目の測定) から得られたそれぞれの MS/MS スペクトルを図 7 に示した。さらに、5 回繰り返して測定したときの各プロダクトイオン強度比の平均値と RSD (%) を表 7 にまとめた。

Sheet A-S01 では DBP および DIBP 用の  $m/z$  279.159、DNPenP 用の  $m/z$  307.189、DNHexP

表6 PVC シート中の PAEs 含有量

試料	PAEs				
	Aタイプ	DBP	DNPenP	DNHexP	DEHP
A-S01	0.092 ± 0.001 (0.7)	0.112 ± 0.000 (0.3)	0.116 ± 0.000 (0.4)	0.114 ± 0.002 (1.4)	0.109 ± 0.004 (3.5)
A-S005	0.043 ± 0.001 (2.8)	0.059 ± 0.002 (3.9)	0.068 ± 0.003 (4.5)	0.063 ± 0.000 (0.7)	0.066 ± 0.002 (3.1)
A-H01	0.075 ± 0.002 (2.7)	0.079 ± 0.002 (2.3)	0.097 ± 0.002 (1.7)	0.100 ± 0.002 (1.6)	0.102 ± 0.002 (2.1)
Bタイプ	DIBP	BBP	DCHP	DNOP	DIDP
B-S01	0.098 ± 0.001 (1.4)	0.095 ± 0.003 (3.4)	0.104 ± 0.004 (3.8)	0.116 ± 0.006 (5.1)	0.120 ± 0.006 (5.0)
B-S005	0.046 ± 0.001 (2.8)	0.049 ± 0.001 (1.8)	0.063 ± 0.001 (2.2)	0.062 ± 0.004 (6.3)	0.057 ± 0.004 (6.4)
B-H01	0.090 ± 0.002 (2.0)	0.083 ± 0.001 (0.8)	0.084 ± 0.006 (7.2)	0.106 ± 0.008 (7.7)	0.110 ± 0.013 (12.2)

数値は平均値 (%) ± 標準偏差 (RSD, %) (n=5)

表7 PVC製シート(軟質0.1%)におけるプロダクトイオンの強度比およびRSD

PAE	シート タイプ	プリカーサー イオン (m/z)	NCE	プロダクトイオン 1			プロダクトイオン 2			プロダクトイオン 3			特徴的なプロダクトイオン		
				m/z	イオン強度比		m/z	イオン強度比		m/z	イオン強度比		m/z	イオン強度比	
					平均値	RSD		平均値	RSD		平均値	RSD		平均値	RSD
DBP	A	279.16	10	149.02	100	-	205.09	10.5	2.8						
DIBP	B		10	149.02	100	-	57.07	14.3	6.6	205.09	5.6	5.9			
DNPenP	A	307.19	10	149.02	100	-	219.10	9.2	2.7						
BBP	B	313.14	10	91.06	100	-	149.02	63.0	2.0	205.09	11.9	1.6			
DCHP	B	331.19	20	167.03	100	-	149.02	78.1	3.4	249.11	22.3	4.0			
DNHexP	A	335.22	10	149.02	100	-	233.12	8.5	3.2						
DEHP	A	391.28	10	149.02	100	-	167.03	49.5	3.8	71.09	26.7	5.0	279.16	15.4	4.4
DNOP	B		10	149.02	100	-	261.15	12.5	3.7						
DINP	A	419.32	20	71.02	100	-	85.10	69.7	1.8	149.02	68.4	2.9	293.18	4.8	9.7
DIDP	B	447.35	20	85.10	100	-	71.09	75.8	2.2	149.02	42.2	3.9	307.19	5.6	11.7

イオン強度比の平均値および RSD の単位は %

プロダクトイオンは強度比が 5% 以上のものを最大 3 つまで示した。

用の  $m/z$  335.221、DEHP および DNOP 用の  $m/z$  391.283、DINP 用の  $m/z$  419.315 をプリカーサーイオンとしたときに、TIC 上に 5 本のピークが確認された。しかし、BBP 用の  $m/z$  313.143、DCHP 用の  $m/z$  331.189、DIDP 用の  $m/z$  447.348 をプリカーサーイオンとしたときには TIC 上にピークはほとんど確認されなかった。また、約 0.75 分のピークから得られたそれぞれの MS/MS スペクトルおよびプロダクトイオン強度比は DBP、DNPenP、DNHexP、DEHP および DINP 標準品の MS/MS スペクトル (図 2、表 5) と良く一致した。

Sheet B-S01 では、DBP および DIBP 用の  $m/z$  279.159、BBP 用の  $m/z$  313.143、DCHP 用の  $m/z$  331.189、DEHP および DNOP 用の  $m/z$  391.283、DIDP 用の  $m/z$  447.348 をプリカーサーイオンとしたときに、TIC 上に 5 本のピークが確認された。しかし、DNPenP 用の  $m/z$  307.189、DNHexP 用の  $m/z$  335.221、DINP 用の  $m/z$  419.315 をプリカーサーイオンとしたときには TIC 上にピークはほとんど確認されなかった。約 0.75 分のピークから得られたそれぞれの MS/MS スペクトルおよびプロダクトイオン強度比は DIBP、BBP、DCHP、DNOP および DIDP 標準品の MS/MS スペクトル (図 2、表 5) と良く一致した。

さらに、硬質で PAEs 含有量が 0.1% の PVC 製シートおよび軟質で PAEs 含有量が 0.05% の PVC 製シートからも同様の TIC および MS/MS スペクトルが得られた。

以上の結果から、PVC 製品中に PAEs が含有されていれば、各 MS/MS 条件における TIC 上にピークが検出され、そのピークから得られた MS/MS スペクトルは標準品とほとんど同じであることが明らかとなった。したがって、PVC 製試料中に 0.1% 以上含有される PAEs を確実に検出可能であることが示され

た。また、含有されていなければ TIC 上にピークが検出されない、もしくはされたとしても MS/MS スペクトルが標準品と異なっていた。

#### 4) スクリーニング法の検証

##### ①PVC 製玩具を用いたスクリーニング

PVC 製玩具 25 検体を対象とし、本スクリーニング法による 10 種の PAEs の含有の有無を確認した。測定は一つの試料につき 5 回行い、そのうち最も大きいピークを解析に用いて PAEs の含有の有無を判断した。

DART-OT/MS により 10 種の PAEs のうちいずれかが検出された場合は○、いずれの PAEs も検出されなかった場合は×とし、GC/MS により測定した各 PAEs および DEHTP 含有量とともに表 8-1 に示した。また、その結果を「DART-OT/MS で○かつ GC/MS で 0.1% 以上」、「DART-OT/MS で○かつ GC/MS で 0.1% 未満」、「DART-OT/MS で×かつ GC/MS で 0.1% 以上」および「DART-OT/MS で不検出かつ GC/MS で 0.1% 未満」に分類し、表 8-2 にまとめた。

その結果、DIBP が 17 検体、DBP が 14 検体、DEHP が 7 検体、DINP が 2 検体で「PEAs 検出」と判定され、合計で 40 データの判定結果が「PEAs 検出」となった。このうち GC/MS による PAEs 含有量が規格値の 0.1% 以上であったものが 12 データ、0.1% 未満のものが 28 データあった。一方、「PEAs 不検出」と判定された 210 データについては、GC/MS においてもすべての PAEs 含有量は 0.1% 未満であった。

このように、DART-OT/MS を用いたスクリーニングによって、PVC 製品中に規格値以上含有される PAEs を見逃すことなく確実に検出可能であることが示された。



表8-1 DART-OT/MSによるPVC製玩具のスクリーニング結果

試料	人形1		人形7A		人形17C		人形21		人形38	
	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS
DBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	○	< 0.05	×	< 0.01
DIBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	○	< 0.05	×	< 0.01
DNPenP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
BBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DCHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNHexP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNOP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DINP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DIDP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHTP	×	< 0.01	○	17.3	×	< 0.01	○	12.8	○	14.3
試料	人形50D		人形50F		人形76		人形78A		空気3A	
Plasticizers	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS
DBP	×	< 0.01	○	< 0.05	○	< 0.05	○	< 0.05	×	< 0.01
DIBP	×	< 0.01	○	< 0.05	○	< 0.05	○	< 0.05	○	< 0.01
DNPenP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
BBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DCHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNHexP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	○	12.1
DNOP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DINP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DIDP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHTP	○	23.3	○	20.3	×	< 0.01	○	17.3	○	1.3
試料	空気8A		空気17A		空気17E		ストラップ25		ストラップ36	
Plasticizers	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS
DBP	○	< 0.05	○	< 0.05	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DIBP	○	< 0.05	×	< 0.01	○	< 0.01	○	< 0.01	×	< 0.01
DNPenP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
BBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DCHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNHexP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHP	○	< 0.05	○	16.4	○	0.5	×	< 0.01	×	< 0.01
DNOP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DINP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DIDP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHTP	○	17.9	×	< 0.01	○	30.8	×	< 0.01	×	1.5
試料	その他19		その他24		その他34A		その他42B		その他43	
Plasticizers	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS
DBP	○	2.3	×	< 0.01	○	< 0.05	○	38.3	○	5.7
DIBP	○	10.0	○	< 0.01	○	< 0.01	×	< 0.01	○	5.8
DNPenP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
BBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DCHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNHexP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHP	○	3.6	○	< 0.05	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNOP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DINP	○	< 0.05	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DIDP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHTP	○	6.0	×	< 0.01	○	4.0	×	< 0.01	×	< 0.01
試料	その他44B		その他4A		ボール12		ボール19A		ボール29B	
Plasticizers	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS	DART	GC/MS
DBP	○	< 0.05	○	< 0.01	○	< 0.01	○	< 0.05	×	< 0.01
DIBP	○	< 0.01	○	< 0.01	○	< 0.01	○	< 0.05	○	1.7
DNPenP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
BBP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DCHP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNHexP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHP	○	0.2	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DNOP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DINP	×	< 0.01	○	4.1	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DIDP	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01	×	< 0.01
DEHTP	○	4.3	×	< 0.01	×	< 0.01	○	< 0.01	×	< 0.01

表8-2 スクリーニング結果のまとめ

PAE	DART-OT/MS: ○			DART-OT/MS: ×		
	GC/MS		Total	GC/MS		Total
	> 0.1	< 0.1		> 0.1	< 0.1	
DBP	3	11	14	0	11	11
DIBP	3	14	17	0	8	8
DNPenP	0	0	0	0	25	25
BBP	0	0	0	0	25	25
DCHP	0	0	0	0	25	25
DNHexP	0	0	0	0	25	25
DEHP	5	2	7	0	18	18
DNOP	0	0	0	0	25	25
DINP	1	1	2	0	23	23
DIDP	0	0	0	0	25	25
Total	12	28	40	0	210	210
試料1検体あたり	9	10	19	0	6	6

## ②規格試験のための検出レベルの設定

DART-OT/MS を用いて、PVC 製品中に規格値以上含有される PAEs を確実に検出可能であることが示された。

しかし、DART-OT/MSによる測定はGC/MSに比べ高感度であるうえ、クロマトグラフィーによる含有成分の分離を行わないため、GC/MSでは定量下限未満とされたPAEsであっても多くが「PAEs 検出」と判定された。そのため、スクリーニング評価に用いたPVC製玩具25検体中19検体はいずれかのPAEsを含有すると判定されたが、このうち10検体は全てのPAEs含有量が0.1%未満であり、規格試験のスクリーニング法としての効率は、決して良いものではなかった。

Paseiro-Cerratoらは、DART-MSを用いた溶出溶液中の芳香族第一級アミン類分析において、検出されたアミン類のピークの検出レベル(Threshold level)を調整することでスクリーニング効率を高める方法を報告している<sup>19)</sup>。本研究で開発した10種のPAEsのスクリーニング法においても、PAEごとに適当なピークの検出レベルを設定し、その検出レベルを超過した場合のみを「PAEs 検出」と判定する

ことで、スクリーニングの効率の改善が可能か否かを検討した。また、PAEsは今回検出されたDBP、DIBP、DEHPおよびDINPを対象とし、PAEs含有量が約0.1%の軟質PVC製シート(Sheet A-S01およびSheet B-S01)を用いて検証した。PVC製シートから5個の切片を取り、各3回ずつ計15回行った。一例として、DBPのTICを図8に示した。また、各ピークから得られたMS/MSスペクトルのうち、最も高強度のプロダクトイオンの強度を表9に示した。

スクリーニングにおいて最も重要なことは、規制対象のPAEsが含有している試料を見逃さず、確実に検出することである。そのため検出レベルは、15回の繰返し測定の中で最も低いプロダクトイオン強度とした。しかし図3に示したように、ピーク強度が他に比べ極端に低い場合があった。これは、試料導入がうまくいかずイオン化が不十分だったためと考えられた。そこで、極端に低い値を除いた中で最も低いプロダクトイオン強度を検出レベルとした。

表10に新たに設定した検出レベルを用いて再度判定したときの結果をまとめた。その



表9 PVC 製シートの繰返し測定による閾値の設定

PAEs	Product ion	試験片	回数			検出レベル
			1	2	3	
DBP	Product ion 149.02	1	2.43.E+07	2.86.E+07	3.47.E+07	2.43.E+07
		2	6.44.E+07	1.08.E+08	4.12.E+06	
		3	6.92.E+07	1.20.E+08	3.87.E+07	
		4	1.03.E+08	1.69.E+08	8.22.E+07	
		5	5.72.E+07	8.21.E+07	1.25.E+08	
DIBP	Product ion 149.02	1	2.99.E+07	2.28.E+07	9.57.E+06	7.67.E+06
		2	4.56.E+06	1.02.E+07	3.99.E+07	
		3	7.67.E+06	1.09.E+08	2.22.E+07	
		4	5.72.E+07	1.13.E+08	7.08.E+07	
		5	1.02.E+08	1.90.E+07	5.24.E+07	
DEHP	Product ion 149.02	1	2.61.E+04	3.32.E+05	2.50.E+07	3.80.E+06
		2	1.69.E+07	2.04.E+07	3.80.E+06	
		3	5.31.E+06	2.58.E+07	2.08.E+07	
		4	1.29.E+07	3.94.E+07	7.64.E+06	
		5	3.51.E+04	3.04.E+07	3.48.E+07	
DINP	Product ion 71.09	1	1.15.E+06	3.52.E+05	4.55.E+06	5.39.E+05
		2	2.35.E+06	4.75.E+06	5.54.E+05	
		3	5.60.E+05	2.98.E+06	4.24.E+06	
		4	2.64.E+06	2.28.E+06	3.40.E+06	
		5	5.39.E+05	5.41.E+06	1.15.E+06	

下線は極端に低かったため選択対象から除外

表10 スクリーニング再評価結果のまとめ

PAE	DART-OT/MS: ○			DART-OT/MS: ×		
	GC/MS		Total	GC/MS		Total
	> 0.1	< 0.1		> 0.1	< 0.1	
DBP	3	5	8	0	17	17
DIBP	3	6	9	0	16	16
DNPenP	0	0	0	0	25	25
BBP	0	0	0	0	25	25
DCHP	0	0	0	0	25	25
DNHexP	0	0	0	0	25	25
DEHP	5	1	6	0	19	19
DNOP	0	0	0	0	25	25
DINP	1	1	2	0	23	23
DIDP	0	0	0	0	25	25
Total	12	13	25	0	225	225
試料1検体あたり	9	3	12	0	13	13

結果、DIBP が 9 検体、DBP が 8 検体、DEHP が 6 検体、DINP は 2 検体で「PAEs 検出」と判定され、合計で 25 データが「PAEs 検出」となった。このうち GC/MS による PAEs の含有量が規格値の 0.1%以上のものが 12 データ、0.1%未満のものが 13 データあった。一方、DART-OT/MS で「PAEs 不検出」と判定された 225 データについては GC/MS においてもすべての含有量は 0.1%未満であった。また、試料あたりでみれば、25 検体中 12 検体は「PAEs 検出」と判定され、PAEs を規格値以上含有する 9 検体は全てこの中に含まれていた。

このように、検出レベルを設定することにより、PAEs を規格値以上含有する試料に対しては検出レベル設定前と同様の正確性を維持し、規格値未満の試料を「PAEs 検出」と判定してしまう割合を低下させることができ、PAEs の規格試験におけるスクリーニング効率が大きく改善された。

#### D. 結論

日本における乳幼児用おもちゃへの使用が制限されている DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP および DIDP の 6 種類の PAEs に加え、米国において新たに規制が予定されている DIBP、DCHP、DNPenP および DNHexP を含めた 10 種類の PAEs を対象とした DART-OT/MS を用いたスクリーニング法を開発した。標準溶液を用いて 10 種の PAEs の MS/MS 条件を最適化し、0.1%の PAEs を含有する PVC 製シートを用いて本スクリーニング法の評価を行ったところ、PAEs 含有量が 0.1%以上であれば、正確に検出可能であることが確認された。また、PVC 製玩具 25 検体を用いて同様に本スクリーニング法を評価したところ、実際の試料でも 0.1%以上 PAEs を含有する試料を正確に検出可能であった。さらに、規格試験のスクリーニング法として、

検出レベルを設定することにより、PAEs 含有量が 0.1%未満の試料の選択性を向上させた。DART-OT/MS による測定は前処理が不要でかつ迅速であることから、10 種類の PAEs を含有する試料のスクリーニング法として非常に優れた方法であると考えられる。

#### E. 参考文献

- 1) 河村葉子、杉田たき子、和久井千世子、米谷民雄：非フタル酸エステル系可塑剤使用と表示されたポリ塩化ビニル製手袋中の未知化合物の同定、食品衛生学雑誌、43、215-220 (2002)
- 2) B-B. Sandra, B. Maurus, P. Susanne, B. Martina, A. Werner, R. Karl, H. Urs, D. Christian, G. Koni: Plasticizers in PVC Toys and Childcare Products: What Succeeds the Phthalates? Market Survey 2007, *Chromatographia*, 68, 227-234 (2008)
- 3) T. Kawakami., K. Isama., A. Matsuoka.: Analysis of phthalic acid diesters, monoester, and other plasticizers in polyvinyl chloride household products in Japan, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 46, 855-864 (2011)
- 4) 阿部 裕、山口未来、六鹿元雄、平原嘉親、河村葉子：ポリ塩化ビニル製玩具中の可塑使用実態、食品衛生学雑誌、53、19-27 (2012)
- 5) M. Koizumi, M. Ema, A. Hirose, R. Hasegawa, Recent studies on toxic effects of phthalate esters on reproduction and development: Focus on di(2-ethylhexyl) phthalate and di-n-butyl phthalate. *Nihon Shokuhin Kagaku Gakkaishi (Jpn. J. Food Chem.)*, 7, 65-73 (2000)
- 6) M. Koizumi, Ema. M., A. Hirose, Y. Kurokawa, R. Hasegawa, No observed adverse effect levels of phthalate esters on