

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究年度終了報告書

家庭用品中の有害化学物質の試験法及び基準に関する研究

防炎加工剤の試験法に関する研究

研究分担者 大嶋智子 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部 主幹研究員
研究協力者 味村真弓 大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部 主任研究員

今年度は、有機リン系防炎加工剤のトリス（2,3-ジブロムプロピル）ホスフェイト（TDBPP）およびビス（2, 3-ジブロムプロピル）ホスフェイト（BDBPP）化合物のGC/MSによる同時分析法を適用するにあたり、低濃度でのトリメチルシリル（TMS）誘導体化およびメチル誘導体化をSCANモードで比較した。これまで、操作が簡便でピーク強度も強いTMS誘導体化が有効と考えられたが、10 µg/mL以下ではTMS誘導体化が安定しないこと、その一方でメチル誘導体化は10 µg/mL以下でも安定して反応が行われることが明らかになった。GC/MSのSIM分析では、BDBPP-methyl、で0.5-12 µg/mL、TDBPPは2-12 µg/mLの良好な検量線が得られた。定量下限値は家庭用品規制法の検出限界を充分下回った。

実際のカーテン試料に各標準物質10 µgを添加して、メチル化による回収試験を3試行で行ったところ、サロゲート（BDBPP-d₁₀-methyl）補正によるBDBPP-methylの回収率は102%（RSD15%）と良好であったが、同様にサロゲート（TDBPP-d₁₅）補正したTDBPPの回収率は53%（RSD14%）であった。誘導体化しない場合も、同様に添加回収試験を3試行で実施した。その結果、サロゲート補正によるTDBPPの回収率は82%（RSD8.1%）となり良好な結果を示した。BDBPP化合物は、誘導体化しない場合に注入口で分解して4本のピークとして検出されることから（昨年度報告）、それらピーク面積の合算値でのサロゲート補正によるBDBPP化合物の回収率は、125%（RSD8.9%）となり、おおむね良好であった。これらの結果から、TDBPPおよびBDBPP化合物を同時分析するには、誘導体化せずにGC/MS（SIM）分析の方が、良好な回収率が得られることがわかった。今後は、スクリーニング分析法としてGC-ECDの適用や国際的な規制との整合性を視野に入れた検討を行う予定である。

B. 研究目的

有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律¹⁾（家庭用品規制法と略す）に

おいて、有機リン系防炎加工剤のTDBPP及びそのビス体のBDBPP化合物の分析法は、充填カラムGC分析法を用い、有害

な溶剤を前処理に使用することから、現在の分析水準と乖離している状況にある。そこで、本分担研究では、家庭用品規制法で規制される防炎加工剤の試験法を現在の分析技術に沿うようにキャピラリー GC/MS 分析へ対応させ、有害な溶剤を使用せず、より迅速で正確な分析法への転換を検討する。

昨年度は、BDBPP 化合物について、TMS 誘導体化およびメチル誘導体化の検討を行った²⁾。その結果、BDBPP 化合物は、誘導体化の有無にかかわらず、GC 注入口で一部が分解し、2, 3-ジブromo-1-プロパノール (2,3-DBrPrOH) が検出され、このピークは TDBPP に由来しないことを確認した。誘導体化しない場合は、BDBPP 化合物は Br が 2 つ解離して 4 本のピークに分離することから、BDBPP 化合物の分析では誘導体化が望ましいことがわかった。TMS 化とメチル化を比較したところ、TMS 化の方が、操作が簡便で夾雑物も少なく、ピーク面積の強度比で、若干強く検出された。一方のメチル化も、十分なピーク強度が得られ、それによる定量が可能なことを把握した。GC/MS 分析で得られたピークについて、それぞれのフラグメントの構造を推定でき、GC/MS 分析の基礎データを得た²⁾。

今年度は、GC/MS 分析法を適用するため、低濃度での誘導体化を比較し、TDBPP および BDBPP 化合物の GC/MS 同時分析を検討した。

B. 研究方法

B1. 試薬類

TDBPP、BDBPP 化合物は和光純薬製の

家庭用品試験用を、TDBPP-d₁₅、BDBPP-d₁₀ はトロントリサーケミカル製を用いた。TMS 化で用いる BSTFA kit (20 本×1mL) はスペルコ製を、メチル化で用いるトリメチルシリルジメチルアゾメタン (ヘキサン溶液中 10%含有) はナカライテスク製を使用した。2,3-DBrPrOH は和光純薬製の 1 級品を、メタノール、*n*-ヘキサン、アセトン、酢酸エチルは和光純薬製の残留農薬試験用を用いた。内部標準物質には、和光純薬製の環境分析用標準品フェナントレン-d₁₀ を用いた。塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウムは和光純薬製の残留農薬・PCB 試験用を用いた。

B2. 装置及び分析条件

GC/MS 装置は、Agilent 製 HP6890GC/HP5973 を用いた。カラムは、HP-5ms (30 m×0.25 mm×0.25 μm) を用いた。カラム昇温条件は、40°C で 2 分間保持し、毎分 20°C で 180°C まで昇温し、さらに毎分 10°C で 300°C まで昇温後、10 分間保持した。キャリアーガスにヘリウムガスを用い、1.0 mL/min で定流量モードにより分析した。注入口温度は、180°C、インターフェース温度 280°C、スプリットレス注入法で、1 μL を注入した。イオン源温度は 280°C、イオン化エネルギーは 70 eV であった。

SIM 分析では、BDBPP (337、119)、BDBPP-Methyl (231、151)、BDBPP-TMS (155、355)、BDBPP-d₁₀ (347、266)、BDBPP-d₁₀-Methyl (237、156)、TDBPP (119、419)、TDBPP-d₁₅ (125、430) 2,3-DBrPrOH (108、137)、フェナントレン (188) を定量/確認イオン (m/z) とした。

B3. 標準溶液の調製

TDBPP、BDBPP 化合物はいずれも約 1,000 $\mu\text{g/mL}$ のアセトン溶液を調製し、それを適宜混合し、アセトンで混合標準溶液を調製した。それをアセトンで検量線用に段階的に希釈した。それぞれ 1 mL を分取し、BSTFA 試薬を 100 μL 加え、混和、1 時間室温で放置して TMS 誘導体化を行った。その後、窒素気流下で 0.3 mL まで濃縮し、アセトンで 1.0 mL としたものに内部標準溶液フェナントレン- d_{10} の 10 $\mu\text{g/mL}$ (アセトン溶液中) 30 μL を加えて GC/MS 用混合標準溶液とした。

また、メチル化については、段階的に希釈した GC/MS 用混合標準溶液各 1 mL に酢酸エチル 1 mL、メタノール 0.5 mL、トリメチルシリルジメチルアミン溶液 0.1 mL を加え、混和し、1 時間放置後、先の TMS 誘導体化と同様に処理した。

サロゲート化合物の BDBPP- d_{10} 及び TDBPP- d_{15} はそれぞれ 100 及び 400 $\mu\text{g/mL}$ のアセトン溶液を調製した。サロゲート化合物は、標準溶液及び最終試験溶液中に 10 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加した。

B4. 試験溶液の調製

図 1 に示すように、細切した試料に各サロゲート化合物を最終試験溶液中 10 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加し、塩酸・メタノールにより還流抽出した後、濃縮し、酢酸エチルで 3 回抽出を行い、脱酸、脱水、濃縮したものをアセトンで定容した。それを 1 mL 採取し、標準溶液の調製と同様、内部標準溶液を加え、GC/MS 分析用試験溶液とした。

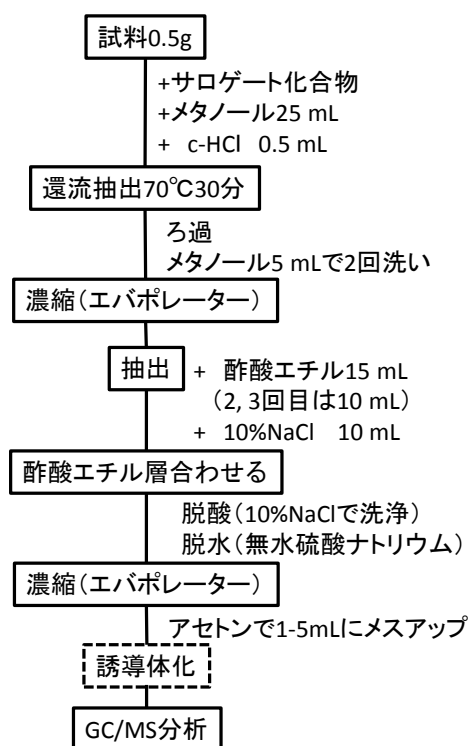


図1 フローチャート

C. 結果及び考察

C1. 誘導体化した標準溶液の GC/MS 分析

GC/MS (SCAN モード) による低濃度分析について検討した。TMS 化で得た BDBPP-TMS は 20 $\mu\text{g/mL}$ 以上では安定する (昨年度の結果) が、図 2 に示すように 10 $\mu\text{g/mL}$ 以下では反応が安定せず、5 $\mu\text{g/mL}$ では、もう一つの有機リン系防炎加工剤で家庭用品規制対象物質のトリス (1-アジリジニル) ホスフィンオキシド (APO、今回の対象とせず) も影響を受けて、ピークが消失するなど課題が増える結果となった。一方で、メチル化した場合は BDBPP-Methyl は 10 $\mu\text{g/mL}$ 以下でも反応が安定、かつ、APO は影響を受けなかった (図 2)。

家庭用品規制法の BDBPP 化合物及び TDBPP の基準値は「検出せず」、検出限

界はそれぞれ 10 $\mu\text{g/g}$ 、8 $\mu\text{g/g}$ とされている³⁾。GC/MS の SIM 分析では、BDBPP 化合物のメチル化による GC/MS の定量下限は 1 $\mu\text{g/g}$ 、TDBPP は 4 $\mu\text{g/g}$ となり、現行法の検出限界を充分下回った。BDBPP-methyl の検量線範囲は 0.5-10 $\mu\text{g/mL}$ 、TDBPP は BDBPP 化合物のメチル誘導体化の影響を受け 2-10 $\mu\text{g/mL}$ となった。APO はメチル化されず、BDBPP 化合物のメチル化を損なわなかった。以上のことから、BDBPP 化合物の誘導体化には、メチル化が望ましいことが明らかになった。

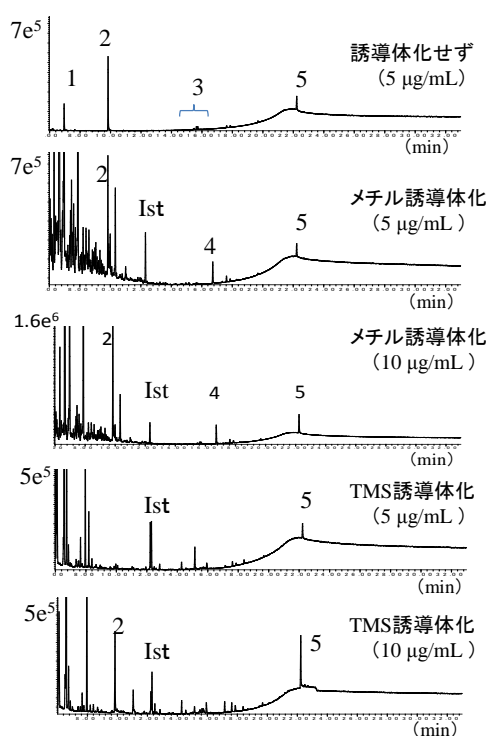


図2 GC/MSクロマトグラム(SCAN)

1: 2,3DBrPrOH, 2: APO, 3: BDBPP, 4: BDBPP-methyl
5: TDBPP, Ist: フェナントレン-d₁₀

C2. メチル化による GC/MS 分析の検討

最初に、メチル化誘導体化しない場合の BDBPP 化合物及びそのサロゲート化合物 (BDBPP-d₁₀)、TDBPP 及びそのサロゲート化合物 (TDBPP-d₁₅) の混合標準溶

液 (アセトン溶液中に各標準物質 12、各サロゲート化合物 10 $\mu\text{g/mL}$) のマスクロマトグラムを図 3 に示した。BDBPP 化合物を誘導体化しない場合に検出される 4 本のピークは、カラムの分離状況により保持時間 (RT) の近い 2 本ずつがそれぞれ重なり、RT15.87 分、15.94 分に 2 本のブロードなピークとして検出された。

次に BDBPP 化合物をメチル誘導体化した時のマスクロマトグラムを図 4 に示した。BDBPP-methyl は RT16.92 分、BDBPP-d₁₀-methyl は RT16.83 分にいずれも良好なピーク形状で検出された。

C3. メチル化した試験溶液の分析法検討

試験溶液の調製は、家庭用品規制法¹⁾とは異なる方法を用いた (図 1)。還流抽出後の抽出には、クリンアナリシスの観点から、ベンゼンではなく、酢酸エチルを用いた。その抽出法は、京都市衛生公害研究所報告に示される抽出工程と同様であった⁴⁾。実際のカーテン試料に各標準物質及びサロゲート化合物をそれぞれ 10 μg 添加して、B4. 試験溶液の調製 (図 1) に従い、3 試行で回収試験を行った。誘導体化にメチル化を行ったところ、サロゲート補正による BDBPP-methyl の回収率は 102% (RSD15%) と良好であったが、TDBPP の回収率は 53% (RSD14%) であった。一方、誘導体化しない場合についても同様の標準添加回収試験を行った。BDBPP 化合物は、注入口で分解したピークの面積合算値を、サロゲート面積合算値で補正して回収率を求めたところ、

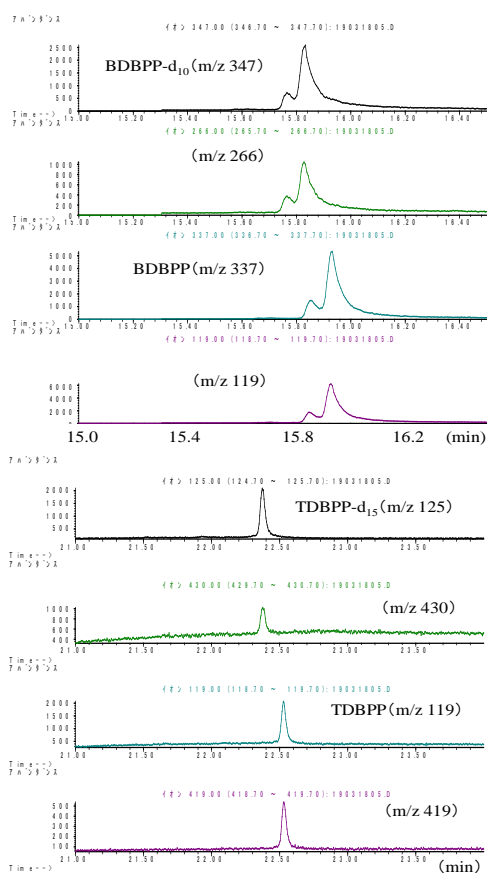


図3 BDBPP化合物及びTDBPPのマスクロマトグラム
上) 定量イオン、下) 定性イオン

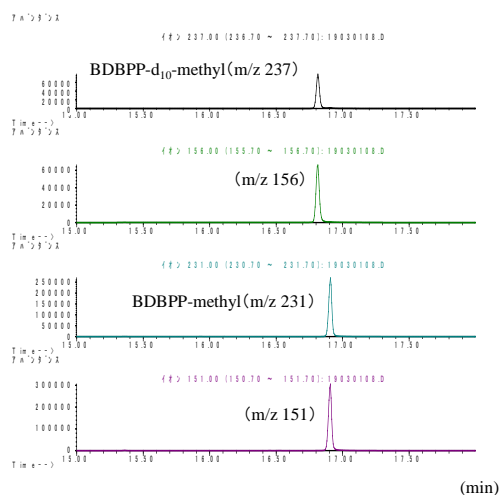


図4 メチル化したBDBPP化合物のマスクロマトグラム
上) 定量イオン、下) 定性イオン

125% (RSD8.9%) とおおむね良好な結果が得られた。この時の TDBPP のサロゲート補正による回収率も 82% (RSD8.1%) となり良好な結果となった。

これらの結果から、TDBPP は誘導体化せずに、BDBPP 化合物はメチル誘導体化後、GC/MS (SIM) 分析を行うのが、良好な回収率が得られる方法といえる。しかし、両化合物の同時分析が必要な場合は、誘導体化せずに GC/MS 分析を実施し、BDBPP 化合物の含有が疑われる場合や夾雑物による妨害がある場合には、メチル誘導体化による確認を行うのが望ましい。

D. まとめ

今年度は、TDBPP および BDBPP 化合物の GC/MS による同時分析法を適用するにあたり、低濃度でのトリメチルシリル (TMS) 誘導体化およびメチル誘導体化を SCAN モードで比較した。これまで、操作が簡便でピーク強度も強い TMS 誘導体化が有効と考えられたが、10 $\mu\text{g/mL}$ 以下で TMS 誘導体化が安定しないこと、その一方でメチル誘導体化は安定して行われることが明らかになった。GC/MS の SIM 分析では、BDBPP-methyl は 0.5-12 $\mu\text{g/mL}$ 、TDBPP は 0.5-12 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で良好な検量線が得られ、現行法の検出限界をいずれも下回った。

試料に各標準物質 10 ng を添加してメチル化による回収試験 (3 試行) を行ったところ、サロゲート補正による BDBPP-methyl の回収率は 102% (RSD15%) と良好であったが、同様にサロゲート補正した TDBPP の回収率は 53% (RSD14%) となった。誘導体化しない場合についても

同様に添加回収試験(3 試行)を実施した。その結果、サロゲート補正による TDBPP の回収率は 82% (RSD8.1%) と良好であった。BDBPP 化合物はピーク面積の合算値を用いて、サロゲート合算値による補正により回収率を求めたところ、125% (RSD8.9%) のおおむね良好な結果が得られた。これらの結果から、両化合物を同時分析するには、誘導体化せずに GC/MS 分析を実施し、BDBPP 化合物の含有が疑われる場合や夾雑物による妨害がある場合には、メチル誘導体化による確認を行うのが望ましい。

今後は、スクリーニング分析法の適用や国際的な規制⁵⁾との整合性を視野に入れた検討を行う予定である。現在、EU において乳幼児玩具基準 (5 mg/kg 以下) が設けられているリン酸トリス (2-クロロエチル) (TECP)、リン酸トリス (2-クロロ-1-メチルエチル) (TCPP)、リン酸トリス [2-クロロ-1- (クロロメチル) エチル](TDCP)についても検討を加える。特に、TCEP は生殖毒性の観点から REACH (0.1%) 規制となっており、これら化合物の分析条件の確認を実施する。

謝辞

本研究の遂行に際し、貴重なご意見をいただきました大阪健康安全基盤研究所衛生化学部 山口之彦課長、角谷直哉総括研究員に感謝いたします。

E. 研究発表

E1. 論文発表

今年度なし

E.2 学会発表

- 1) 大嶋智子, 味村真弓, 山口之彦, 河上強志: 家庭用品規制法における防炎加工剤の試験法の検討について, 第 55 回全国衛生化学技術協議会年会, 横浜 (2018)

F. 知的所有権の取得状況

4. 特許取得
なし
5. 実用新案登録
なし
6. その他
なし

G. 引用文献

- 1) 厚生省令第 34 号: 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則, 昭和 49 年 9 月 26 日
- 2) 厚生労働行政推進調査事業費補助金 (化学物質リスク研究事業) 家庭用品中有毒物質の試験法及び基準に関する研究、平成 29 年度総括・分担研究報告書、平成 30 年(2018)5 月
- 3) 保健衛生安全基準家庭用品規制関係実務便覧 (加除式製本), 技術編, 2045 の 2-23, 40-42, 第一法規出版, 昭和 50 年
- 4) 京都市衛生公害研究所年報, 生活衛生部門: 繊維製品中の防炎加工剤 BDBPP 及び TDBPP の分析について, 平成 19 年度, 74, 129-132 (2008)
- 5) ECHA Screening Report, An assessment of whether the use of TCEP, TCPP and TCP in articles should be restricted,

https://echa.europa.eu/documents/10162/13641/screening_report_tcep_tcpp_td-cp_en.pdf/e0960aa7-f703-499c-24ff-fba627060698 (ウェブサイトの内容は2019年3月18日に確認した)

