

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

家庭用品中の有害物質の規制基準に関する研究

家庭用品中の有機リン系防炎加工剤の試験法及びその実態に関する研究

研究分担者 大嶋智子 大阪健康安全基盤研究所 主幹研究員

要旨

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）によって、有機リン系防炎加工剤のビス（2, 3-ジブロムプロピル）ホスフェイト（BDBPP）化合物、トリス（2,3-ジブロムプロピル）ホスフェイト（TDBPP）及びトリス（1-アジリジニル）ホスフィンオキシド（APO）が有害物質に指定され、規制されている。

しかし、規制からすでに42年を経過し、その分析法は現在の分析技術や機器のレベルに沿わなくなっていることが問題とされている状況にある。そこで、先行研究では同じ構造骨格を持つBDBPP化合物及びTDBPPに着目し、GC/MS同時分析法を検討した²⁾。抽出溶剤を発がん性のあるベンゼンから酢酸エチルへ変更し、メチル化剤を従来の発がん性や爆発性の恐れのあるジアゾメタンエーテル溶液の自家調製から、市販の取り扱いが簡便で安全なTMSジアゾメタンヘキササン溶液に変更することで、より安全な分析法とした。サロゲート補正による定量では、メチル化の有無や酢酸エチル抽出回数にかかわらず、両化合物は良好に分析できることが明らかになった。BDBPP化合物については、その存在疑いや夾雑物による妨害が見られる場合にメチル化により妨害を排除できた。また、内部標準法及び絶対検量線法の適用については、酢酸エチルで2回抽出により、TDBPPはメチル化せずに、BDBPP化合物はメチル化しておおむね良好に定量できることを明らかにした²⁾。

今回、ポリエステル100%素材のカーテンについてサロゲート補正による回収率データを蓄積し、分析法の妥当性を確認した。さらに、素材の違いが分析に影響を及ぼすか検討し、サロゲート補正による分析法が良好であること、内部標準法、絶対検量線法では、TDBPPはそのまま、BDBPP化合物はBDBPP-methylとして若干ばらつきが大きいものの概ね良好に定量できることがわかった。

さらに、もう一つの有機リン系防炎加工剤で綿製品用として開発されたAPOのGC/MS分析法を検討した。その結果、APOは0.05-2 µg/mLの範囲で良好な検量線を示し、公定法の検出限界0.4 µg/g、定量限界0.8 µg/g^{3,4)}を十分下回る0.2 µg/gの定量下限値が得られた。サロゲート補正回収率は素材によらず良好であったが、内部標準法による回収率は、素材によって低い結果になるものが見られた。

A. 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) によって、有機リン系防炎加工剤の BDBPP 化合物、TDBPP に動物実験で発がん性が確認され、APO に動物実験で経口・経皮毒性及び造血機能障害が確認されたことから、いずれも有害物質に指定され、寝衣、寝具、カーテン及び床敷物への使用が禁止された。すでに 42 年を経過したこれら 3 物質の規制では、前処理に有害な溶剤を使用し、分析には充填カラム GC 法が用いられており、分析技術や現在汎用性の高い GC-MS 等の機器のレベルに沿わなくなっていることが問題とされている状況にある。そこで、先行研究²⁾では、BDBPP 化合物及び TDBPP の 2, 3-ジブプロムプロピル骨格に着目し、GC-MS を用いた選択的イオン (SIM) による高感度同時分析法への変更を検討した。抽出溶剤を発がん性のあるベンゼンから酢酸エチルへ変更し、メチル化剤を従来の発がん性や爆発性の恐れのあるジアゾメタンエーテル溶液の自家調製から、市販の取り扱いが簡便で安全な TMS ジアゾメタンヘキサン溶液に変更することで、より安全な分析法とした。サロゲート補正による定量では、メチル化の有無や酢酸エチル抽出回数にかかわらず、両化合物は良好に分析できることが明らかになった。BDBPP 化合物については、その存在疑いや夾雑物による妨害が見られる場合にメチル化により妨害を排除できた。また、内部標準法及び絶対検量線法の適用については、酢酸エチルで 2 回抽出により、TDBPP はメチル化せずに、BDBPP 化合物はメチル化しておお

むね良好に定量できることを明らかにした²⁾。本調査研究では、素材の違いによる分析法への影響について検討した。さらに、もう一つの有機リン系防炎加工剤で綿製品用として開発されたトリス(1-アジリジニル)ホスフィンオキシド (APO) について GC/MS 分析法の検討を行った。

B. 研究方法

B1. 試薬類

TDBPP、BDBPP 化合物、APO、TDBPP-d₁₅、BDBPP-d₁₀ 及び APO-d₁₂ はトロントリサーチケミカル製を用いた。メチル誘導体化試薬にはナカライテスク製の TMS ジアゾメタン (ヘキサン溶液中 10%含有) を使用し、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、富士フィルム和光純薬製の環境分析用標準品アセナフテン-d₁₀、フェナントレン-d₁₀ を用いた。塩酸は関東化学製の有害金属測定用を、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウムは富士フィルム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、250°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 230°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)、フェナントレン-d₁₀ (188) とした。また、APO 分析も同じ GC-MS 分析条件により、APO (131, 90)、APO-d₁₂ (139, 95)、アセナフテン-d₁₀ (164, 162) 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 µg/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、それぞれ 1 mL を分取して、フェナントレン-d₁₀ の 10 µg/mL (アセトン溶液中) 20 µL を加えて GC-MS 用混合標準溶液とした。なお、各サロゲート化合物は、標準溶液及び最終試験溶液中に 2.5 µg/mL となるよう添加した。

メチル化に際しては、段階的に希釈した GC-MS 用混合標準溶液 1 mL をそれぞれ分取し、各サロゲート化合物を 2.5 µg を加え、酢酸エチル 1 mL、メタノール 0.5 mL、TMS ジアゾメタンヘキサン溶液を 100 µL 加え、混和し、1 時間室温で放置して、BDBPP 化合物のメチル化を行った。その後、窒素気流下で 0.1 mL まで濃縮し、*n*-ヘキサンで 1.0 mL としたものに先と同様に内部標準溶液フェナントレン-d₁₀ を加えた。なお、サロゲート化合物の BDBPP-d₁₀ 及び TDBPP-d₁₅ はそれぞれ 100 及び 400 µg/mL のアセトン溶液を調製したものを混合し、各 50 µg/mL 含むサロゲ

ート混合溶液を調製し、標準溶液及び最終試験溶液中に 2.5 µg/mL となるように添加した。

B4. BDBPP 化合物及び TDBPP の試験溶液の調製

図 1 に示すように、細切した試料 0.5 g に各サロゲート化合物を最終試験溶液中 2.5 µg/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 2 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。

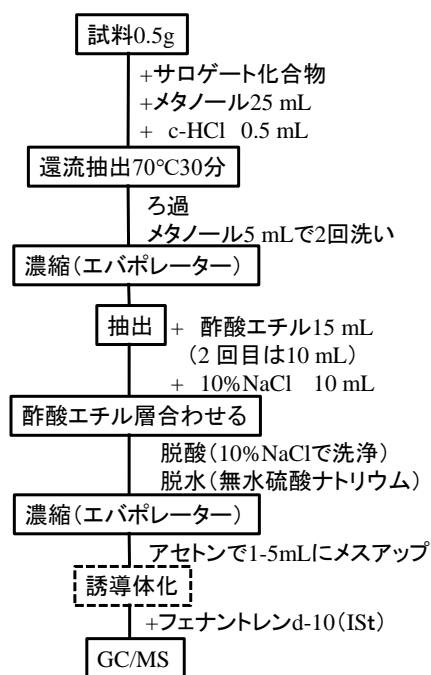


図1 フローチャート

B5. APO の試験溶液の調製

試料 0.5 g を正確に採取したところに APO-d₁₂ を各 1 µg (最終試験溶液中 0.5 µg/mL となるよう) 添加し、メタノール 25 mL を加え、70°C 30 分還流抽出を行った。

温時ガラスフィルターでろ過したものを受器に取った。還流に使用した容器をメタノール 5 mL で 2 回洗浄し、洗液も先の受器に合わせた。それをロータリーエバポレーターにより 40°C 以下で溶媒を留去した。窒素吹付け乾固後、*n*-ヘキサン 2 mL に定容した。この抽出溶液の 1 mL は精製せずに GC-MS の SIM による定量分析を行った。残りの抽出溶液 1 mL は、石橋らの方法⁵⁾に従い、Sep-Pak フロリジルにより精製して分析した。

C. 結果及び考察

C1. BDBPP 化合物及び TDBPP 分析における素材の影響

先行研究により、内部標準法でも絶対検量線法でも良好な結果が得られた酢酸エチル 2 回抽出により検討した。その際、TDBPP は BDBPP 化合物のメチル化の際にメチル化剤の影響を受けることが明らかとなったため、BDBPP 化合物、TDBPP の同時分析及び BDBPP-methyl について 3 試行により検討した。表 1 に示すように、

サロゲート補正回収率は、素材の違いにかかわらず、BDBPP 化合物は 89-106% (RSD 0.1-1.9%)、TDBPP は 73-108% (RSD 1.2-10%) の良好な結果が得られ、同時分析が可能であった。また BDBPP-methyl では綿混紡ポリエステル素材で若干低め (66%、RSD 3.7%) であったが、他の素材は 89、102% (RSD 1.7、5.6%) の概ね良好な結果が得られた。

また、内部標準法での回収率は、BDBPP 化合物で 97-130% (RSD 4.9-14%) と概ね良好であったが、絶対検量線法ではどの素材も BDBPP 化合物は夾雑物の妨害を受け最大で 2 倍の検出となった。このことから、絶対検量線法は適用が難しいことがわかった。TDBPP は、アクリル混紡ポリエステル素材でいずれの方法も 50%、69% と若干低めの回収率になり、ばらつきが大きかった。酢酸エチル抽出時にアクリル素材の溶解が見られ、TDBPP が均質化されずに回収率がばらついたものと考えられたが、サロゲート補正による定量は、TDBPP と TDBPP-d₁₅ の挙動が同じこ

表 1 異なる素材のカーテンにおける BDBPP 化合物、BDBPP-methyl 及び TDBPP の添加回収試験結果^a

素材	BDBPP 化合物 (%)			BDBPP-methyl (%)			TDBPP (%)		
	Method 1	Method 2	Method 3	Method 1	Method 2	Method 3	Method 1	Method 2	Method 3
PET 100%	89 (1.9)	130 (4.9)	199 (4.3)	102 (5.6)	90 (24)	97 (25)	92 (1.2)	77 (4.8)	110 (3.5)
PET 65% C 35%	106 (0.1)	115 (5.9)	202 (8.2)	66 (3.7)	49 (5.6)	55 (7.6)	73 (10)	57 (16)	95 (18)
PET 50% A 50%	99 (1.5)	97 (14)	131 (52)	89 (1.7)	82 (8.3)	94 (5.4)	108 (8.6)	50 (38)	69 (63)

^a BDBPP 化合物及び TDBPP 添加量：いずれも 5 µg 添加，サロゲート化合物の BDBPP-d₁₀ と TDBPP-d₁₅ 添加量：各 2.5 µg 添加，()：相対標準偏差，PET：ポリエステル，C：綿，A：アクリル。還流抽出後、酢酸エチル 2 回抽出を行った。

Method 1: サロゲート補正回収率による定量(n=3),

Method 2: 内部標準法による定量、試験溶液中に内部標準として phenanthrene-d₁₀ を 0.2 µg/mL になるよう添加した(n=3),

Method 3: 絶対検量線法による定量

表2 サロゲートの回収率^a

	回収率 (%)		
	BDBPP-d ₁₀	BDBPP-d ₁₀ -methyl	TDBPP-d ₁₅
酢酸エチル抽出回数 ^b			
1	107 (19)	50 (17)	62 (17)
2	165 (6.1)	89 (18)	74 (4.2)
3	179 (9.2)	83 (16)	82 (6.7)
素材 ^c			
PET 65%, C 35%	110 (6.1)	74 (2.2)	124 (6.5)
PET 50%, A 50%	99 (13)	92 (7.2)	68 (36)

^a サロゲート化合物 BDBPP-d₁₀ と TDBPP-d₁₅ 添加量：各 2.5 μg,

^b ポリエステル 100% カーテン使用, c: 酢酸エチル 2 回抽出

(): 相対標準偏差, 標準溶液と試験溶液の面積比より計算

とから、そのような影響を排除し良好な結果を得たと考えられた。その他の素材では、やや低めであるが 57-95% (RSD3.5-18%) と概ね良好な回収率が得られた。メチル化した場合の BDBPP-methyl は、内部標準法及び絶対検量線法で、綿混紡ポリエステル素材でやや低めの回収率（それぞれ 49%、55%）であったが、そのほかの素材では 82-97% の良好な結果が得られた。

以上のことから、内部標準法及び絶対検量線法では、TDBPP はそのまま、BDBPP はメチル化することでおおむね定量可能と考えられるが、素材による影響が散見されることから、ばらつきに注意を要することが明らかになった。その一方で、サロゲート補正による定量は、抽出回数やメチル化の有無、さらに素材によらず、安定して定量できることが強調される結果となった。

C2. サロゲートの回収率

検量線及び試料について内部標準物質フェナントレン-d₁₀ と各サロゲート物質の面積比を計算し、それを基に各サロゲート物質の回収率を算出した (表 2)。そ

の結果、酢酸エチル抽出回数の違いや素材の異なる試料での添加回収試験によって、一部を除くほとんどのサロゲート回収率で 50-124% の概ね良好な結果^{6,7)} が得られた。しかし、ポリエステル 100% の試料を用いて酢酸エチル抽出 2 回、3 回を行ったときの BDBPP-d₁₀ のサロゲート回収率は 165%、179% となり、夾雑物による数値の増大が見られた。この時の BDBPP のサロゲート補正回収率は、Table 1 に示すように 88%、89% と良好であり、BDBPP 化合物と BDBPP-d₁₀ が同じ挙動を示すことが証明された。メチル化を行い、BDBPP-d₁₀-methyl の回収率を確認したところ、抽出回数 1 回目は 50% であったが、2 回、3 回では 89%、83% と良好となり、夾雑物の影響を排除できたと考えられた。Table 2 より、BDBPP-methyl のサロゲート補正回収率は 100-102% と良好であり、BDBPP 化合物と BDBPP-d₁₀ は同じ挙動を示していた。

これらの結果から、サロゲート補正回収率は良好であっても、試料によっては BDBPP 化合物及び BDBPP-d₁₀ ともに夾雑

物の影響を受ける場合があることがわかった。よって、サロゲート補正回収率により、BDBPP化合物の検出やサロゲート回収率の増大が見られる場合には、メチル化によって定量確認する必要があると推察された。

C3. 室内再現精度による妥当性確認

サロゲート補正回収率は BDBPP 化合物 BDBPP-methyl 及び TDBPP において、いずれも良好な結果が得られた。そこで、データ数の多いポリエステル 100% 防炎加工カーテンについて、サロゲート補正による分析法の妥当性を確認するため、分析者 1 名 1 日 2 試行 5 日間の枝分かれ実験を実施した。真度、併行精度および室内再現精度については、厚生労働省の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」⁸⁾ に従って、一元配置の分散分析により求めた。目標値は、真度は 70~120%、併行精度は 10% 未満、室内再現精度は 15% 未満を参考にした⁸⁾。その結果、サロゲート回収率による真度はいずれも 90.8-98.8%、併行精度は 3.4-8.3%、室内再現精度は 7.6-10.7% となり、妥当性評価ガイドラインで参考とした目標値を満たし、充分分析適用可能なことを確認した。

C4. APO 分析法の検討

家庭用品規制法で規制される有機リン系防炎加工剤のうち綿製品用として開発された APO についても、GC/MS 分析法への変更を検討した。GC-MS の SIM 分析で、APO の検量線は 0.05-2 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で良好であった。公定法の APO の検出限界 0.4 $\mu\text{g/g}$ 、定量限界 0.8 $\mu\text{g/g}$ ^{3,4)} を十分下回る 0.2 $\mu\text{g/g}$ の定量下限値が得られた。そこで、

最終試験溶液中の APO 含有量を 0.5 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加し、回収率確認を行った。その際、ポリエステル綿混紡品では、ピーク割れを生じたため、2 倍量を添加した。

図 2 に示すように、精製せずに定量した場合、サロゲート補正回収率は素材によらず 93.8-113.3% (RSD 1.8-13.7%) の良好な結果を示した。内部標準補正では、無加工の綿 100% 製品、ポリエステルとアクリル混紡製品で APO 回収率は 60% を超過し概ね良好であったが、ポリエステル 100% 製品とポリエステル綿混紡製品で 24.6、17.6% と回収率は低かった。

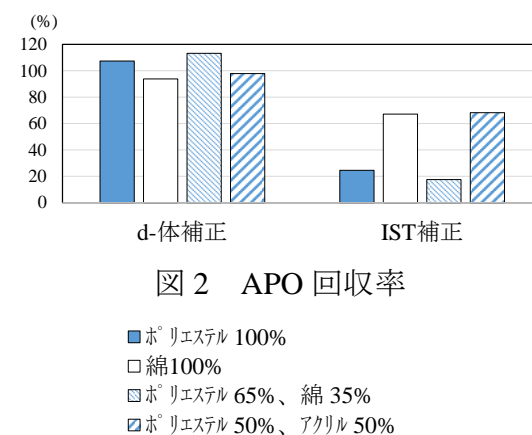


図 2 APO 回収率

精製を行った場合 (図示せず) には、APO の保持時間 (RT) 近辺のピークは少なくなるが、遅い RT のピークが多く検出された。サロゲート補正回収率はポリエステルとポリエステル綿混紡製品で 400% を超えて大幅に増加し、添加量の少なさが夾雑物の影響を受けたと考えられた。一方、綿製品及びポリエステルとアクリル混紡製品では 89.2、130.2% と概ね良好な結果が得られた。今後、GC-MS による APO の微量分析データの蓄積及び内部

標準補正による回収率低下について検討を行い、APO 分析法を確立する。

D. まとめ

家庭用品規制法の TDBPP 及び BDBPP 化合物の分析法について、汎用性の高い GC-MS による同時分析法へ変更し、さらに、より安全な試薬を用いる方法の確立を、先行研究より進め、データの蓄積を図った。その結果、ポリエステル 100% 素材カーテンを試料とし、TDBPP 及び BDBPP 化合物の GC-MS 同時分析法の妥当性を確認できた。なお、感度不足や BDBPP 化合物の検出時及び夾雑物の影響でサロゲート回収率が增大する場合には、夾雑物の影響を排除して分析するために、メチル化を行い BDBPP-methyl として定量確認するのが良いことがわかり、その分析法の妥当性も確認できた。

異なる素材についても分析検討を加え、サロゲート補正分析では、メチル化の有無や酢酸エチル抽出回数及び素材の違いによらず、BDBPP 化合物及び TDBPP は良好な回収率が得られ、両化合物の GC-MS 同時分析が可能であることを確認した。

内部標準法及び絶対検量線法について検討を加えた結果、酢酸エチル 2 回抽出により、TDBPP はメチル化せずに、BDBPP 化合物はメチル化することで概ね良好な回収率が得られたが、素材による影響が散見されること、ばらつきに注意を要することが明らかになった。

本調査研究により、BDBPP 化合物及び TDBPP のサロゲート補正による GC-MS 同時分析法を確立するとともに、抽出溶媒及びメチル化試薬の変更による分析者

への安全性の配慮することができた。

次年度以降、ヘリウムガスに頼らない分析法 (LC-MS/MS) についての分析検討を実施する。さらに、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] (TDCEP)、特に、TCEP は生殖毒性の観点から REACH (0.1%) 規制となっており⁹⁾、これら分析法についての検討を行う。

また、もう一つの有機リン系防炎加工剤 APO について GC-MS の SIM 分析法を検討した。その結果、APO の検量線は 0.05-2 µg/mL の範囲で良好であった。公定法の APO の検出限界 0.4 µg/g、定量限界 0.8 µg/g を十分下回る 0.2 µg/g の定量下限値が得られた。サロゲート補正回収率は素材によらず良好であったが、内部標準法では素材により回収率が低い結果となるものもみられた。今後、データの蓄積を図り、回収率低下について検討を行い、APO 分析法を確立する。さらに、LC-MS/MS 分析検討も加える予定である。

E. 研究発表

E1. 論文発表

- 1) 大嶋智子, 宮本京子, 角谷直哉, 山口之彦: 革製品等のアゾ染料由来の特定芳香族アミン等の分析検討、大阪健康安全基盤研究所研究年報, 4, 110-122 (2020)
- 2) Kishi E, Ozaki A, Ooshima T, Abe Y, Mutsuga M, Yamaguchi Y, Yamano T. Determination of various constituent

elements of polyethylene terephthalate bottles used for beverages in Japan. *Packag Technol Sci.*, 33, 183-193, 2020.

E.2 学会発表

- 1) 大嶋智子, 山口之彦, 角谷直哉, 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 (Ⅲ), 第 57 回全国衛生化学技術協議会年会, 紙上開催, 宮崎 (2020)

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. 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) 家庭用品中有害物質の試験法及び基準に関する研究、平成 29 年度～令和元年度 総合研究報告書、令和 2 (2020) 年 5 月
- 3) 森謙一郎, 西田茂一, 原田裕文: 家庭用品の衛生化学的研究 (第 2 報) 防炎加工布に含まれる Tris (1-aziridinyl) phosphine oxide (APO) の分析法, 東京都衛生研究所年報, 28-1, 74-78, 1977
- 4) 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 2-14, 第一法規出版, 昭和 50 年

- 5) 石橋正博, 真鍋静子, 篠原純子, 江口征夫, 城戸浩三: 繊維製品中の有機リン酸エステル系防炎加工剤の一斉分析ー有害な有機溶媒を用いない方法ー, 北九州市衛生研究所報告 25, 56-57, 1997
- 6) 環境省, 化学物質環境実態調査の手引き (平成 27 年度版), 2016, <https://www.env.go.jp/chemi/kurohon/tebi/ki/mat01.pdf> (ウェブサイトの内容を 2021 年 3 月 18 日に確認した)
- 7) 農林水産省, 分析法の妥当性確認に関するガイドライン, 2019, https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/pdf/guide_validation.pdf (ウェブサイトの内容を 2021 年 3 月 18 日に確認した)
- 8) 厚生労働省、食安発 1224 第 1 号、食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について (H22.12.24)
- 9) 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_tcp_en.pdf/e0960aa7-f703-499c-24ff-fba627060698 (ウェブサイトの内容を 2021 年 3 月 17 日に確認した)