

令和3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)

分担研究報告書

3. ノンターゲット分析手法を用いた乳幼児用玩具に含まれる有害成分の網羅的解析

研究分担者 江口 哲史 千葉大学 予防医学センター 講師
研究代表者 戸次 加奈江 国立保健医療科学院 主任研究官

研究要旨：【目的】 プラスチック製品を多く含む乳幼児用玩具については、健康影響との関連性が指摘される可塑剤や難燃剤を初めとした成分分析が行われてきているものの、こうした成分以外にもフェノール類やビスフェノール類など様々な成分が含まれる可能性が考えられる。そこで、これまでに測定した玩具製品を対象に、さらに網羅的なノンターゲット分析を行うことで、他の化合物による潜在的リスクの可能性について調べることにした。

【方法】 ベビー用品や玩具協会等における統計データに基づき、国内市場で幅広く普及する玩具 84 製品を対象とした。これらを細かく切断し凍結粉砕機で粉砕処理したものをアセトニトリルで抽出し、固相抽出カラムでクリーンアップした後濃縮し、Sciex ExionLC AD, X500R を組み合わせた高速液体クロマトグラフ-タンデム飛行時間型質量分析計で分析した。

【結果・考察】 計測の結果、185 ピークに MSI level 2 のアノテーションが付けられた。これらのピーク強度を用いて主成分分析を実施したところ、中国製かつ製造年が 2010 年以前の製品において、特徴的な組成が認められた。因子負荷量からこれらの製品に特徴的な化学物質を探索したところ、ベンゾフェノン、フタル酸ジエチル、4-ノニルフェノールなどの寄与が認められた。この結果から、製造年、製造地域により特異的な化学物質が製品中に含まれている可能性が示唆された。この背景には各国・各年における規制の差などが関与していることが示唆される。

【結論】 MSI level 2 のアノテーションでは、ビスフェノール A や臭素系難燃剤に関する高懸念物質のピークは認められなかったが、これら成分については、今後、高分解能の MS1 スペクトルの一致である MSI level 3 の規準でアノテートされたピークについても検証を進める必要があるかもしれない。一方、MSI level 3 の規準でアノテートされたピークは数千存在するため、今後は、効率的なデータ探索技術の導入も必須である。

A. 研究目的

プラスチック製品を多く含む乳幼児用玩具については、健康影響との関連性が指摘される可塑剤や難燃剤を初めとした成分分析が行われてきているものの、こうした成分以外にもフェノール類やビスフェノール類など様々な成

分が含まれる可能性が考えられる。そこで、これまでに測定した玩具製品を対象に、さらに網羅的なノンターゲット分析を行うことで、他の化合物による潜在的リスクの可能性について調べることにした。

B. 研究方法

B.1. 玩具試料

対象とする乳幼児用玩具については、フタル酸エステル類やリン系難燃剤と同様の製品を対象としており、厚生労働大臣が指定する「指定おもちゃ」（乳幼児が口に接触することにより健康を損なう恐れがあるおもちゃ）を初め、ベビー用品販売メーカーや一般社団法人日本玩具協会等における統計データに基づき幅広く市場に普及する玩具 84 製品である（R3 年度分担研究報告書 1. 「乳幼児用玩具に含まれる可塑剤・難燃剤に関する分析法の改良」Table 1-1 に記載）。これらの玩具は、凍結粉碎機（冷凍粉碎機 JFC-400、日本分析工業株式会社）にて粉碎処理を行った後、容器に保存して密閉後分析までの間 - 20℃で保存した。

B.2. 試料前処理

粉碎した試料 50 mg をアセトニトリル 5 ml で超音波抽出（40℃、40 min）し、1 ml 分取したものを固相抽出カラム（Bond Elut C18、Agilent）に流し、アセトニトリル 4 ml でカラムを洗浄した。これら全て回収し、窒素ガスで溶媒を除去し 500 µl に濃縮した。この試料から、ノンターゲット分析用に抽出液を 200 µl ずつ分取し、再度フィルター処理した後に分析に供した。本研究で対象とする製品には、公定法が定められる塩化ビニル樹脂（PVC）以外の様々な材質が使用されているため、公定法とは異なる独自の手法により前処理を行っている。

B.3. プラスチック試料のノンターゲット分析

試料の前処理は B.2. と同様である。

対象のノンターゲット分析には Sciex ExionLC AD, X500R を組み合わせた高速液体クロマトグラフ-タンデム飛行時間型質量分析計を

用いた。分析条件は Table 3-1 に示した。ピークアノテーションは高分解能 MS を用いた MS/MS スペクトルの一致である、Metabolomics Standards Initiative (MSI) の level2 のグレードに従い実施した¹⁾。

C. 結果及び考察

ノンターゲット分析

計測の結果、185 ピークに MSI level 2 のアノテーションが付けられた。これらのピーク強度を用いて主成分分析を実施したところ、中国製かつ製造年が 2010 年以前の製品において、特徴的な組成が認められた。

因子負荷量から中国製かつ製造年が 2010 年以前の製品に特徴的な化学物質を探索したところ、ベンゾフェノン、フタル酸ジエチル、4-ニルフェノールなどの寄与が認められた（Figure 3-1）。一方で、これらの製品においてはリン酸トリス、エチレングリコール類は相対的に低レベルであることが示唆された。

この結果から、製造年、製造地域により製品中に含まれている化学物質のパターンが異なることが示唆された。この背景には各国・各年における規制の差などが関与していることが示唆される。そのため、これらの曝露により児に及ぼす影響も異なる可能性がある。

一方、MSI level 2 のアノテーションにおいては、ビスフェノール A や臭素系難燃剤に関するピークは認められなかった。今後、これらの高懸念物質においては、高分解能の MS1 スペクトルの一致である MSI level 3 の規準でアノテートされたピークについても検証を進める必要があるかもしれない。一方、MSI level 3 の規準でアノテートされたピークは数千存在するため、効率的なデータ探索技術の導入が必須である。

D. 結論

本研究結果から、MSI level 2 のアノテーションでは、ビスフェノール A や臭素系難燃剤に関する高懸念物質のピークは認められなかったが、これら成分については、今後、高分解能の MS1 スペクトルの一致である MSI level 3 の規準でアノテートされたピークについても検証を進める必要があるかもしれない。一方、MSI level 3 の規準でアノテートされたピークは数千存在するため、今後は、効率的なデータ探索技術の導入も必須である。

E. 参考文献

1. Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: communicating confidence. Schymanski EL, Jeon J, Gulde R, Fenner K, Ruff M, Singer HP, Hollender J. Environ Sci Technol. 2014, 18; 48: 2097-2098.

F. 研究発表

1) Eguchi A, Mori C, Bekki K. Comparison of chemical composition in toy plastics based on year and country of production. 5th International Chemical Hazard Symposium; 2022. 2. 3; online. 同講演集.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 3-1 Analytical condition of nontarget analysis by LC-QToFMS.

Instrument: LC-QToFMS (X500R, Sciex)

Mobile phase: A) Water 0.1% formic acid, B) Acetonitrile containing 0.1% formic acid

Gradient: hold at 5% B for 1 min, 5% to 99% B in 9 min, hold for 0.5 min

Flow rate: 0.3 ml/min

Column: Ascentis Express C18,, 100 mm x 2.1 mm, 2.7 μ m (Phenomenex)

Column temperature: 40°C

MS setting: 50-800, SWATH mode, positive, negative mode

Used library: NIST20, Massbank of North America, Human metabolome database, RIKEN database

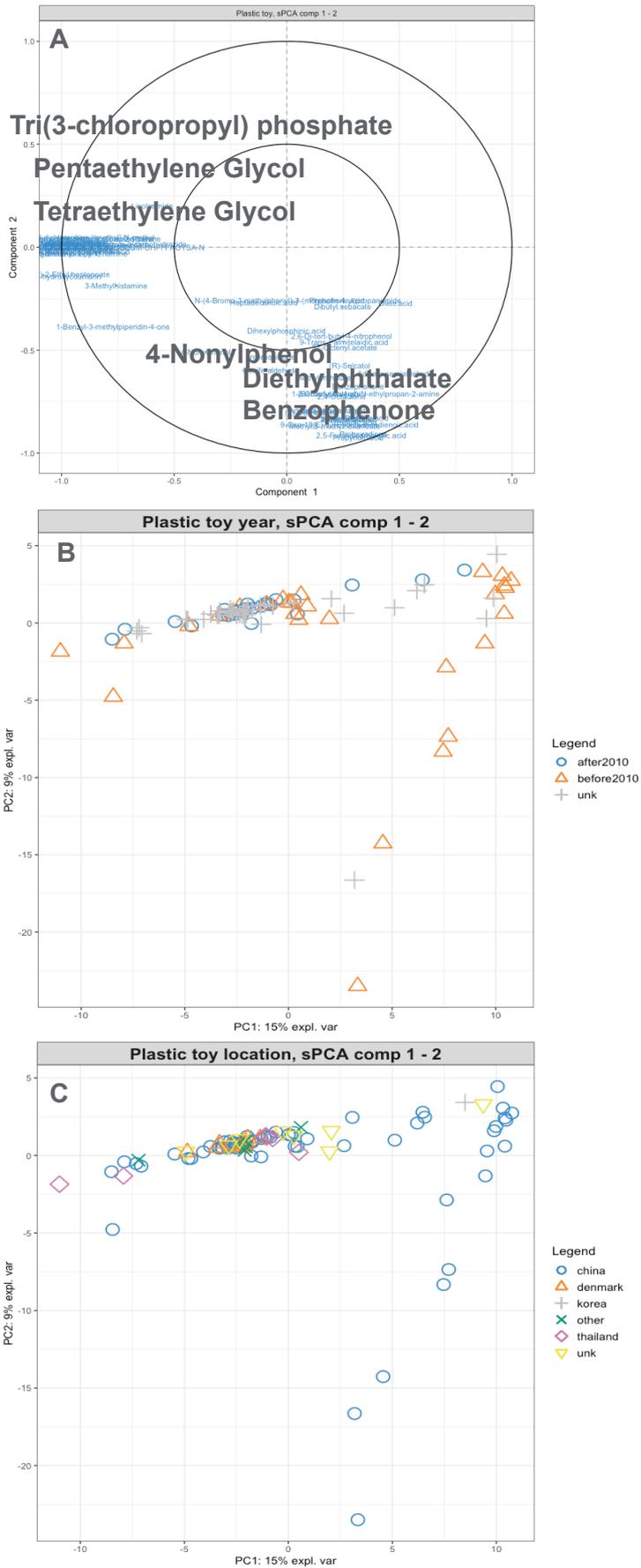


Figure 3-1 スパース主成分分析による個別製品中化合物プロファイル (A) と A に対応する個別製品の製造年 (B) および製造国 (C)

