

＜その6＞ポリ塩化ビニル製のおもちゃから検出された 未知可塑剤に関する調査

研究分担者	藤原 恒司	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	山口 未来	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	西崎 雄三	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	阿部 裕	国立医薬品食品衛生研究所
研究代表者	六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

ポリ塩化ビニル (PVC) は塩化ビニルの重合反応により得られる高分子有機化合物であり、いわゆるプラスチック (合成樹脂) の一種である。PVC は本来硬い樹脂 (硬質 PVC) であるが、可塑剤と混和することによりゴムのような柔らかさを有する軟質 PVC となる。硬質 PVC 製品としては配管などのパイプ製品、軟質 PVC 製品としては食品のラップフィルム、ホース、おもちゃなどが存在する。

PVC 製品に添加される可塑剤としてはフタル酸エステル類 (PAEs) が 1990 年代頃まで頻用されてきた。しかしながら、一部の PAEs が内分泌かく乱作用や生殖毒性を有することが疑われたため、特に乳幼児を対象としたおもちゃに対して世界中で PAEs の使用が制限されるようになり、我が国でも 6 種類の PAEs について、いわゆる指定おもちゃ (乳幼児が接触することによりその健康を損なうおそれがあるものとして厚生労働大臣の指定するおもちゃ) への使用が規制されることとなった²⁾。

我々は、指定おもちゃに含まれる可塑剤の種類およびその含有量が使用者 (=乳幼児) の安全に大きく関わることや、PVC 製品への可塑剤使用量が多いことに着目し、PVC 製おもちゃに使用される可塑剤の実態調査を継続して行ってきた^{3,4)}。その結果、近年では指定おもちゃには規制対象の PAEs は使用されていないが、指定外おもちゃには現在においても PAEs が使用されて

いること、テレフタル酸ビス (2-エチルヘキシル) (DEHTP) や 1,2-シクロヘキサンジカルボン酸ジイソノニルといった非 PAEs の可塑剤に切り替わりつつあること、1 検体当たりの可塑剤使用量が減少していること等を明らかにした⁴⁾。

その一方で、2019 年度に購入した PVC 製おもちゃを用いた実態調査においては、これまでに検出例のない、構造未知の可塑剤成分 (未知可塑剤, UI-1~UI-3) が 3 種類検出された⁵⁾。本研究では当該可塑剤成分の構造解析および同定と、おもちゃ中における含有量について調査したので報告する。

B. 研究方法

1. 検体

前報⁵⁾ で実態調査を行った際に未知可塑剤 (UI-1~UI-3) が検出された PVC 製の浮き輪 (検体 1 および検体 2)、ボール (検体 3 および検体 4) および風呂用おもちゃ (検体 5) の計 5 検体を本研究に用いた。このうち検体 3~検体 5 は指定おもちゃに該当するおもちゃであった。

2. 試薬

以下の 9 種類の試薬を用いた。

ヘキサン (残留農薬・PCB 試験用)、アセトン-*d*₆、フタル酸ビス (2-プロピルヘプチル)、フタル酸ジイソデシル、ジメチルスルホン (DMSO2) 標準物質 (認証標準物質): 富士フィルム和光純薬 (株) 製

アセトン、酢酸エチル：残留農薬・PCB 試験用、シグマアルドリッチ社製

メタノール、アセトニトリル：LC/MS 用、関東化学（株）製

クロロホルム-*d*：大陽日酸（株）製

3. 装置

本研究を行うにあたっては以下の装置を用いた。各装置の条件等は表 1-3 に示した。

HPLC：LC-20AD ポンプ、DGU-20A オンラインデガッサ、SIL-20AC オートインジェクター、CTO-20AC カラムオープン、CBM システムコントローラ、SPD-M20A フォトダイオードアレイ検出器、FRC-10A フラクションコレクタ（以上、（株）島津製作所製）

大気圧イオン化 GC-四重極飛行時間-MS（APGC-QTOF-MS）：7890B GC system、7693 Autosampler（以上、Agilent Technologies 社製）、Xevo G2-XS QTOF（Waters 社製）

NMR 装置：JNM-ECZ600R（日本電子（株）製）

GC-MS：7890A GC system、7693 Autosampler、5975C inert XL EI/CI MSD with Triple-Axis Detector（Agilent Technologies 社製）

UPLC：ACQUITY UPLC H-Class、ACQUITY PDA eλ Detector（Waters 社製）

電子天秤：XP2U ウルトラマイクロ天秤（メトラー・トレド（株）製）

表 1 GC-MS および APGC-QTOF-MS の測定条件

GC-MS (for identification and quantitation)		APGC-QTOF-MS (for MS measurement)	
<u>GC conditions</u>		<u>GC conditions</u>	
Front inlet	250°C	Front inlet	250°C
Transfer line	280°C	Transfer line	280°C
Carrier gas	He	Carrier gas	N ₂
Injection volume	1 μL (splitless)	Injection volume	1 μL (splitless)
<u>Column</u>		<u>Column</u>	
DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, Agilent Technologies)		DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, Agilent Technologies)	
<u>Column temp.</u>		<u>Column temp.</u>	
Initial	100°C	Initial	100°C
0-11 min	20°C/min	0-11 min	20°C/min
11-21 min	320°C	11-21 min	320°C
<u>MS conditions</u>		<u>MS conditions</u>	
Ionizing voltage	70 eV	Corona voltage	2 kV
Acquisition type	SCAN (<i>m/z</i> 50-800) for identification SIM for quantitation	Sampling cone	30 V
Quantitative ion	<i>m/z</i> 149	Source offset	80 V
Qualifier ions	<i>m/z</i> 167, 307	Source temp.	80°C
		Cone gas	150 L/h
		Acquisition type	SCAN (<i>m/z</i> 100-600)
		Lock mass	siloxane (<i>m/z</i> 281.0517, C ₇ H ₂₁ O ₄ Si ₄)

表 2 HPLC および UPLC の測定条件

UPLC (for analysis)		HPLC (for isolation)	
<u>LC conditions</u>		Pattern A	
Column temp.	35°C	<u>LC conditions</u>	
Flow rate	0.2 mL/min	Column temp.	35°C
Injection volume	2 µL	Flow rate	4.5 ^a or 0.8 ^b mL/min
Detector	PDA and MS	Injection volume	50 ^a or 10 ^b µL
		Detector	PDA
<u>Column</u>		<u>Column</u>	
ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 × 100 mm, 1.7 mm, Waters, USA)		COSMOSIL 5C ₁₈ -MS-II ^a (10 × 250 mm, 5 µm, Nacalai Tesque)	
<u>Mobile phase</u>		COSMOSIL π-NAP ^b (4.6 × 250 mm, 5 µm, Nacalai Tesque)	
80% MeCN (0 min)			
80-100% MeCN (0-10 min, Linear)			
100% MeCN (10-15 min)			
80% MeCN (15-20 min)		<u>Mobile phase</u>	
		95% MeOH (0-15 min) ^a	
		90% MeOH (0-25 min) ^b	
<u>PDA conditon</u>		<u>PDA conditon</u>	
Wavelength	210-400 nm	Wavelength	190-600 nm
<u>MS conditions</u>			
Capillary voltage	3.5 kV		
Cone voltage	20 V		
Souce temp.	150°C		
Desolvation temp.	500°C		
Desolvation flow	1000 L/h		
Cone flow	50 L/h		
Ionization mode	ESI (+)		
Acquisition type	SCAN (<i>m/z</i> 100-1000)		

^aCOSMOSIL 5C18-MS-II での設定条件

^bCOSMOSIL π-NAP での設定条件

表3 qNMRの測定条件

NMR spectrometer	
Temperature	25°C
Flip angle	90°
Offset	5 ppm
Sweep width	15 ppm
Acquisition time	4.5 sec
Relaxation delay	60 sec
Scans	8 times
Dummy scans	2 times
Spinning	off
¹³ C decoupling	MPF8 (during acquisition)

4. UI-1～UI-3の同定

1) UI-1～UI-3の単離

前報⁵⁾において未知可塑剤 (UI-1～UI-3) が主可塑剤 (検体中において含有量が最も多い可塑剤) として検出された検体 (浮き輪) 5 g を細切し、ヘキサン 100 mL を加え密栓したのちに 40°C 条件下で一晩抽出した。冷後、この抽出溶液をろ紙 (No. 5C, 125 もしくは 185 mm) を用いてろ過し、ろ液およびヘキサンによる洗液を合わせ、40°C 以下で濃縮乾固し残渣を得た。得られた残渣はシリカゲル (Silica Gel 60N, 63–210 μm, 関東化学 (株) 製) カラムクロマトグラフィー (Si. C. C., 溶離液: ヘキサンおよび酢酸エチル) およびオクタデシルシリル化シリカゲル (YMC GEL ODS-A, 150 μm, ワイエムシィ (株) 製) カラムクロマトグラフィー (ODS C. C., 溶離液: メタノールおよび水) によって粗精製したのち、HPLC (カラム: COSMOSIL 5C18-MS-II (10 × 250 mm, 5 μm) および COSMOSIL Packed Column π-NAP (4.6 × 250 mm, 5 μm) 以上、ナカライテスク (株) 製) によりさらに精製を繰り返して、UI-1～UI-3 を単離した。なお各精製工程において得られた画分は GC-MS または UPLC を用いて目的成分を確認した。

2) UI-1～UI-3の構造解析

各可塑剤の構造解析を行うにあたり、精密質量の測定は APGC-QTOF-MS で行った。また、NMR 測定は日本電子 (株) 製の JNM-ECZ600R (600 MHz for ¹H, 150 MHz for ¹³C) にて行った。各可塑剤について、¹H-および ¹³C-NMR、double quantum-filtered correlation spectroscopy (DQF-COSY)、hetero-nuclear multiple quantum coherence (HMQC)、hetero-nuclear single quantum coherence (HSQC)、hetero-nuclear multiple bond connectivity (HMBC)、および incredible natural abundance double quantum transfer experiment (INADE-QUATE) といった各種 1D-および 2D-NMR の測定を適宜行った。

5. 試料中の UI-3 含有量の測定

1) UI-3 標準溶液の絶対濃度の測定

溶媒留去した UI-3 精製品 (ナスフラスコに溶媒留去した状態で約 60 mg) にアセトン-*d*₆ を加えて溶解し、5 mL に定容した液を UI-3 標準溶液とした。この液 0.6 mL を NMR 試料管に移して、トーチバーナーで封管した。また、0.5 mg の DMSO₂ を精密に量りとり、1.0 mL のアセトン-*d*₆ に溶解したものを外部標準溶液とし、先と同様に NMR 試料管に移して封管した。

調製した UI-3 標準溶液と外部標準溶液を既報⁷⁾に準じて qNMR 法で測定した。90°パルス幅 (pw90) を校正したのち、外部標準溶液に含まれる DMSO₂ のメチル基プロトンに由来する δ_H 2.96 ppm 付近のシグナル面積値、および UI-3 標準溶液に含まれる UI-3 の 7'位と 10'位のプロトンに由来する δ_H 0.87 ppm 付近のシグナル面積値をそれぞれ算出し、以下の式 (1) を用いて、UI-3 標準溶液中の UI-3 の絶対濃度 (Conc._{UI3}) を算出した。この一連の操作を 3 回行い、得られた値の平均値を UI-3 標準溶液の濃度とした。

$$\text{Conc.}_{U3} = \text{Conc.}_D \times \frac{A_{U3}}{A_D} \times \frac{H_D}{H_{U3}} \times \frac{pw90_{U3}}{pw90_D} \quad (1)$$

A : プロトンのシグナル面積値、pw90 : 90°パルス幅 (μsec)、Conc. : 溶液中の濃度 (mol/L)、H : A に由来するプロトンの数

2) UI-3 の定量

UI-3 標準溶液をアセトンで希釈し、28.9 ng/mL ~ 115.5 μg/mL の UI-3 溶液を調製した。これらを検量線溶液とし、GC-MS により、*m/z* 149 を定量イオン、*m/z* 167 および 307 を確認イオンとして測定し、定量イオンのピーク面積から絶対検量線を作成した。

試験溶液はおもちゃにおけるフタル酸エステルの試験法⁶⁾に準じて調製した。すなわち検体 1 g を精密に量りとり、細切したのちにアセトン-ヘキサン混液 (3 : 7) 50 mL を加えて混和し、密栓したのちに 40°C 条件下で一晩静置した。冷後、ろ紙 (No. 5C, 125 もしくは 185 mm) を用いてろ過し、ろ液およびアセトンによる洗液を合わせ、さらにアセトンで 100 mL に定容した。この溶液を試験溶液とし、適宜アセトンで希釈して GC-MS で測定した。得られた定量イオンのピーク面積から UI-3 濃度 (μg/mL) を求め、検体中の UI-3 含有量 (wt%) を算出した。

6. 試料中の UI-1 および UI-2 含有量の概算

試験溶液を UPLC で測定し、UI-1~UI-3 の 275 nm におけるピーク面積を求め、UI-3 に対する UI-1 および UI-2 のピーク面積比を算出した。前項により得られた試料中の UI-3 含有量とそれぞれのピーク面積比を用いて、検体 1 および検体 2 に含まれる UI-1 および UI-2 の含有量を概算した。また、検体 3 および検体 4 については検体 1 および検体 2 のピーク面積比を用いて UI-1 および UI-2 の含有量を推定した。

C. 研究結果と考察

1. UI-1~UI-3 の単離

検体 1 から得られた抽出溶液を用いて GC-MS 分析を行い、得られたトータルイオンクロマトグラムを図 1 に示した。保持時間 11.0、11.2、および 11.3 分に検出された 3 本のピークに由来する化合物をそれぞれ UI-1、UI-2、および UI-3 とした。GC-MS および UPLC を用いて各画分の成分を確認しながら、Si. C. C. および ODS C. C. による粗精製を行い、続けて HPLC を用いてさらなる精製を繰り返し、最終的に UI-1 (1.6 mg)、UI-2 (46 mg)、および UI-3 (110 mg) を得た。

2. UI-1~UI-3 の構造解析

UI-3 は無色油状の物性を示し、GC-MS および UPLC において 1 つのピークとして検出された。APGC-QTOF-MS による精密質量分析の結果、*m/z* 447.3488 [M+H]⁺ (calcd for 447.3474, C₂₈H₄₇O₄) が観測されたことから、その分子式は C₂₈H₄₆O₄ であることが明らかとなった。¹³C-NMR においては 14 本のシグナルが観測されたことから分子が対称面を有することが示唆された。また、前報⁵⁾において UI-1~UI-3 はフタル酸エステル類の一種であると予想されていた通り、フタル酸エステルに由来する ¹H-NMR シグナル (δ_H 7.53 および 7.70 ppm) および ¹³C-NMR シグナル (δ_C 128.8, 130.9, 132.4, および 167.8 ppm) (表 4) が観測された。したがって UI-3 はフタル酸エステルに炭素数が 10 である同一の脂肪鎖が 2 分子結合していると推定された。さらに、¹H-NMR において末端メチル基に由来する δ_H 0.88 および 0.90 ppm の 2 つのシグナルが観測されたことから、脂肪鎖は分岐点を 1 つ有すると推定された。HSQC、HMBC、DQF-COSY といった各種 2D-NMR による詳細な構造解析を行った結果、UI-3 は図 2 に示すようにフタル酸の 2 つのカルボキシ基に 2 つの 2-プロピルヘプタノールが縮合した

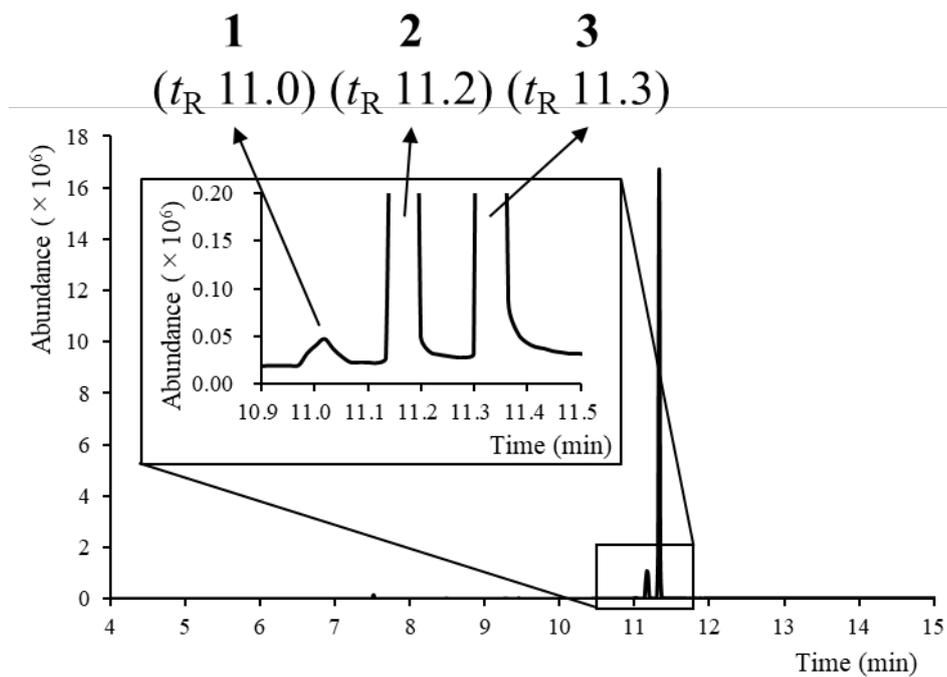


図1 検体1のヘキサン抽出物のGCクロマトグラム (SCANモード)

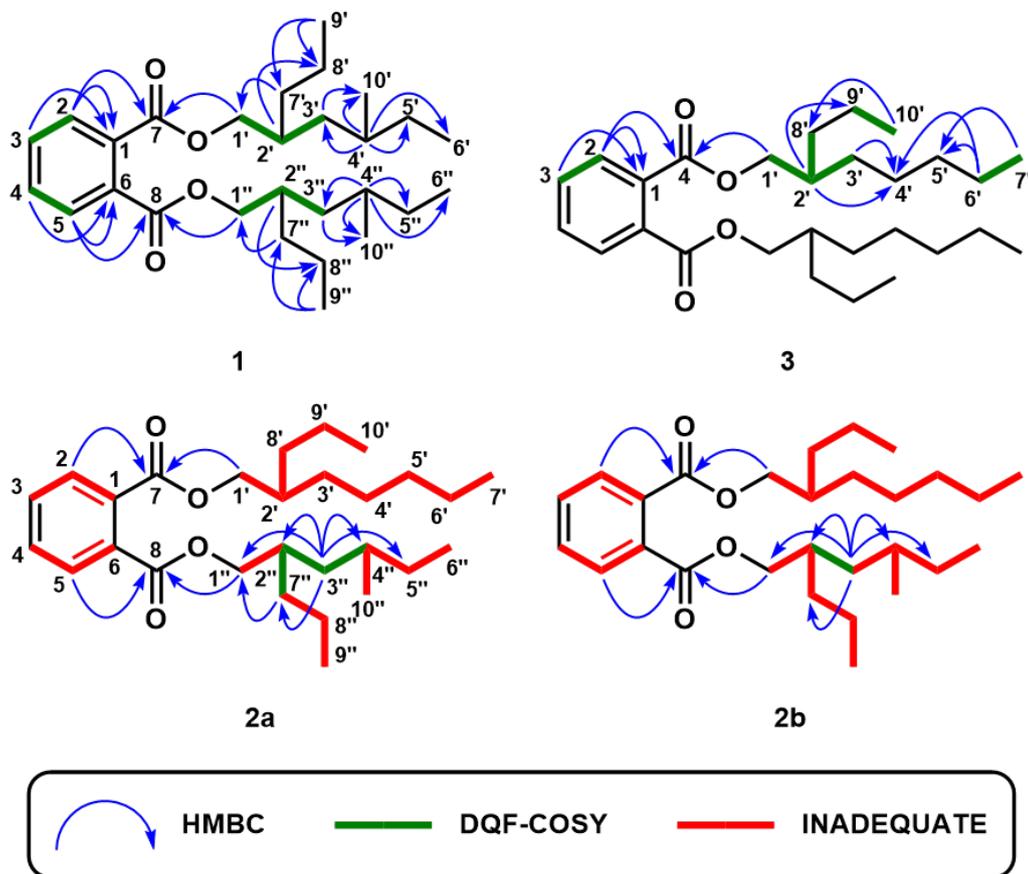


図2 UI-1~3の構造

表4 UI-1~3 および DPHP の ¹H-および ¹³C-NMR 測定データ (600MHz, in CDCl₃)

1			2						3			DPHP	
o-Phthalate			2a		2b				o-Phthalate			o-Phthalate	
1	132.4	C	1	132.36 ^a	C	1	132.37 ^d	C	1	132.4	C	1	132.4
2	128.8	CH 7.70 (o)	2	128.75 ^b	CH	2	128.75 ^b	CH	2	128.8	CH 7.70 (dd, 5.7, 3.3)	2	128.8
3	130.9	CH 7.53 (dd, 5.8, 3.3)	3	130.8 ^c	CH	3	130.8 ^c	CH	3	130.9	CH 7.53 (dd, 5.7, 3.3)	3	130.9
4	167.8	C	4	130.9 ^f	CH	4	130.9 ^f	CH	4	167.8	C	4	167.8
4-Methyl-2-propylhexanoyl ^f			5	128.74 ^b	CH	5	128.71 ^b	CH	2-Propylheptanoyl			2-Propylheptanoyl	
1'	68.5	CH ₂ 4.19 (o)	6	132.41 ^a	C	6	132.42 ^a	C	1'	68.5	CH ₂ 4.21 (d, 5.9)	1'	68.5
2'	34.6	CH 1.83 (hept, 6.0)	7	167.72 ^d	C	7	167.72 ^d	C	2'	37.1	CH 1.75 (hept, 5.9)	2'	37.1
3'	38.6	CH ₂ 1.09 (o)	8	167.73 ^d	C	8	167.73 ^d	C	3'	31.2	CH ₂ 1.34 (o)	3'	31.1
		1.35 (o)	2-Propylheptanoyl						4'	26.4	CH ₂ 1.33 (o)	4'	26.4
4'	31.6 ^e	CH 1.44 (oct, 6.7)	1'	68.5	CH ₂	1'	68.5	CH ₂	5'	32.2	CH ₂ 1.26 (o)	5'	32.2
5'	29.7 ^h	CH ₂ 1.12 (o)	2'	37.0	CH	2'	37.0	CH	6'	22.6	CH ₂ 1.30 (o)	6'	22.6
		1.34 (o)	3'	31.1	CH ₂	3'	31.1	CH ₂	7'	14.1	CH ₃ 0.88 (t, 7.1)	7'	14.1
6'	11.26 ^e	CH ₃ 0.87 (t, 6.7)	4'	26.3	CH ₂	4'	26.3	CH ₂	8'	33.5	CH ₂ 1.35 (o)	8'	33.5
7'	34.4	CH ₂ 1.08 (o)	5'	32.1	CH ₂	5'	32.1	CH ₂	9'	19.8	CH ₂ 1.35 (o)	9'	19.8
		1.41 (o)	6'	22.6	CH ₂	6'	22.6	CH ₂	10'	14.4	CH ₃ 0.90 (t, 6.9)	10'	14.4
8'	19.6 ^d	CH ₂ 1.35 (o)	7'	14.0	CH ₃	7'	14.0	CH ₃					
9'	14.44 ^e	CH ₃ 0.90 (t, 7.1)	8'	33.4	CH ₂	8'	33.4	CH ₂					
10'	19.4	CH ₃ 0.86 (o)	9'	19.8	CH ₂	9'	19.8	CH ₂					
4-Methyl-2-propylhexanoyl ^f			10'	14.4	CH ₃	10'	14.4	CH ₃					
1''	69.0	CH ₂ 4.19 (o)	4-Methyl-2-propylhexanoyl ^f						1''	69.0	CH ₂		
2''	34.6	CH 1.83 (hept, 6.0)	1''	68.5	CH ₂	1''	69.0	CH ₂	2''	34.6	CH		
3''	38.7	CH ₂ 1.14 (o)	2''	34.6	CH	2''	34.6	CH	3''	38.7	CH ₂		
		1.28 (o)	3''	38.6	CH ₂	3''	38.7	CH ₂	4''	31.6	CH		
4''	31.7 ^g	CH 1.44 (oct, 6.7)	4''	31.7	CH	4''	31.6	CH	5''	29.6	CH ₂		
5''	29.9 ^h	CH ₂ 1.12 (o)	5''	29.8	CH ₂	5''	29.6	CH ₂	6''	11.2 ^e	CH ₃		
		1.34 (o)	6''	11.2 ^e	CH ₃	6''	11.3 ^e	CH ₃	7''	33.5	CH ₂		
6''	11.30 ^f	CH ₃ 0.85 (t, 7.2)	7''	34.4	CH ₂	7''	33.5	CH ₂	8''	19.6 ^f	CH ₂		
7''	33.5	CH ₂ 1.33 (o)	8''	19.6 ^f	CH ₂	8''	19.6 ^f	CH ₂	9''	14.4 ^g	CH ₃		
8''	19.8 ^d	CH ₂ 1.35 (o)	9''	14.3 ^g	CH ₃	9''	14.4 ^g	CH ₃	10''	19.34 ^h	CH ₃		
9''	14.37 ^e	CH ₃ 0.90 (t, 7.1)	10''	19.32 ^h	CH ₃	10''	19.34 ^h	CH ₃					
10''	19.4	CH ₃ 0.86 (o)											

*Chemical shifts of each isomer are shown.

^{a-h}Assignments maybe interchanged.

フタル酸ビス (2-プロピルヘプチル) (DPHP) であることが明らかとなった。市販の DPHP 標準品を入手して NMR スペクトル、GC-MS クロマトグラムおよびマススペクトル (図 3, 表 4) を比較したところ、いずれもよく一致したことから UI-3 は DPHP であると同定した。この際、DPHP 標準品には UI-1 および UI-2 と同じ保持時間およびマススペクトルのピークが検出されたことから、これらは UI-3 の製造工程における混入物または副生成物であることが示唆された。

UI-2 は無色油状の物性を示し、GC-MS (SCAN モード) および UPLC において 1 つのピークとして検出されたが、GC-MS (SIM モード) における *m/z* 149 の抽出イオンクロマトグラムで

はわずかに分離している様子が観察された (図 4)。これらの精密質量分析の結果はいずれも *m/z* 447.3475 [M+H]⁺ (calcd for 447.3474, C₂₈H₄₇O₄) であり、分子式はともに C₂₈H₄₆O₄ で UI-3 と同じであった。¹H-NMR については概ね UI-3 と同様のパターンを示したが、 δ_{H} 1.07~1.17 ppm のシグナルや、 δ_{H} 1.83 ppm のシグナル等が新たに観測されたことから (表 4)、UI-3 の脂肪鎖が一つ異なるフタル酸エステルであると推測された。一方、¹³C-NMR においては UI-3 と同様のピークが観測された他、 δ_{C} 11.2 ppm と δ_{C} 11.3 ppm、 δ_{C} 14.3 ppm と δ_{C} 14.4 ppm 等のようにほぼ同じ化学シフトに 2 本 1 対、同程度の強度のシグナルが新たに観測された。上述したように GC-MS (SIM

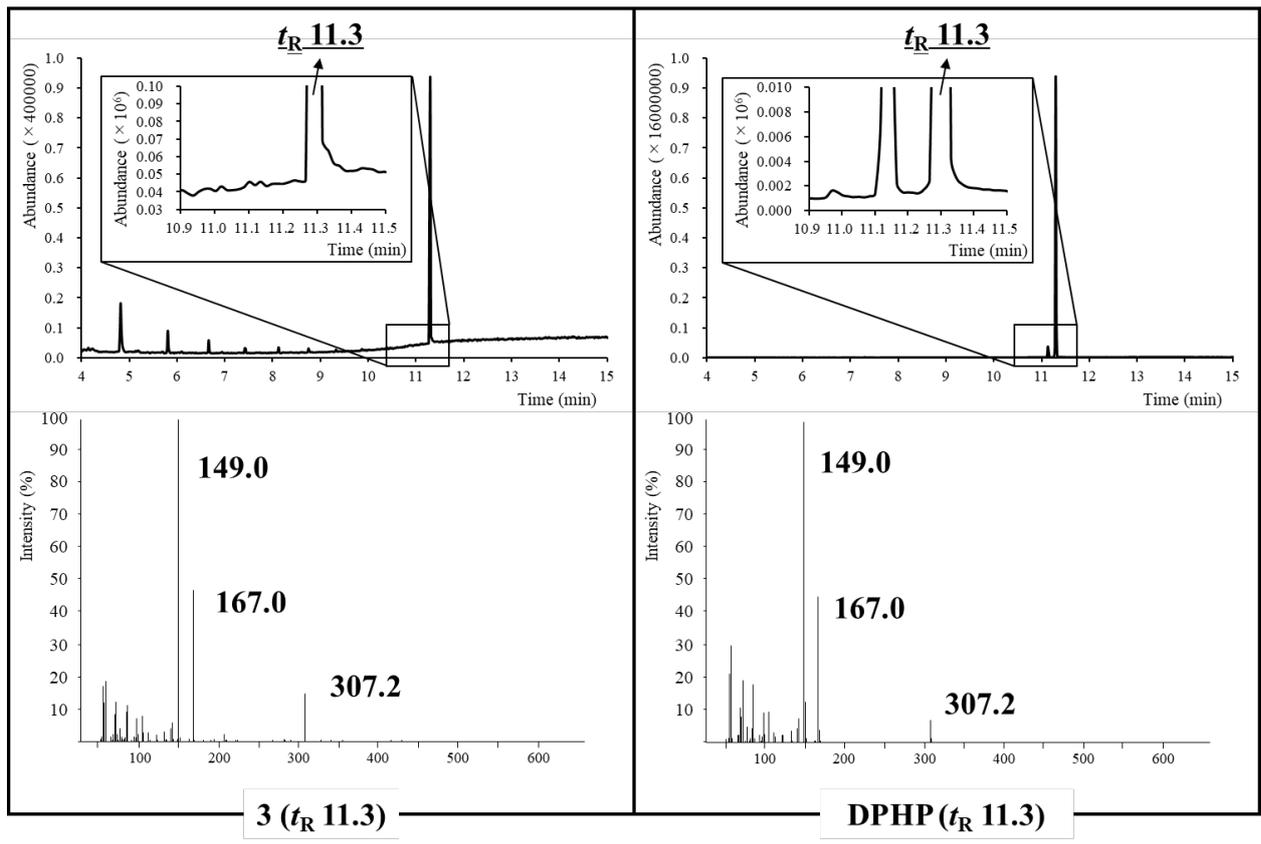


図3 UI-3 と DPHP 市販製品の GC/MS 分析結果の比較

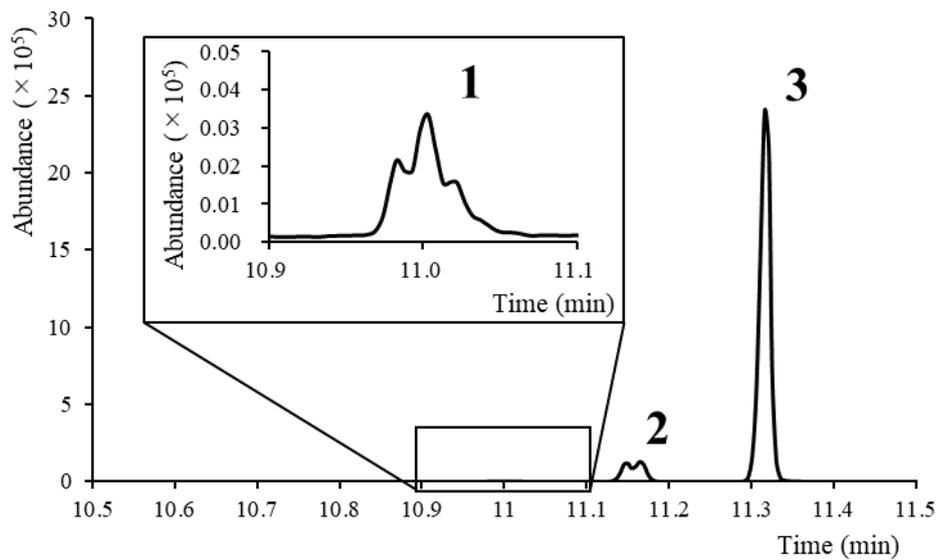


図4 検体1のヘキサン抽出物の GC/MS クロマトグラム (SIMモード, m/z 149)

モード) でわずかにピークの分離が確認されたことから、UI-3 と異なる脂肪鎖には立体異性体があると推定し、1 対のように見える 2 本のシグナルを 1 種類のシグナルとして構造解析を進めた。各種 2D-NMR 測定に加えて INADEQUATE による構造解析を行った結果、UI-2 はフタル酸の側鎖に 2-プロピルヘプタノールと 4-メチル-2-プロピルヘキサノールが結合したフタル酸 (4-メチル-2-プロピルヘキシル) (2-プロピルヘプチル) であると推測された (図 2)。

UI-1 は無色油状の物性を示し、GC-MS (SCAN モード) および UPLC において 1 つのピークとして検出されたが、GC-MS (SIM モード) における m/z 149 の抽出イオンクロマトグラムでは 3 本のピークが確認された (図 4)。精密質量分析の結果はいずれも m/z 447.3488 [M+H]⁺ (calcd for 447.3474, C₂₈H₄₇O₄) であり、分子式は C₂₈H₄₆O₄ であった。¹H-および ¹³C-NMR の結果、UI-2 において観測された 4-メチル-2-プロピルヘキサノール構造に由来するシグナルが観測されたことから、フタル酸に 4-メチル-2-プロピルヘキサノールが 2 分子結合したフタル酸エステルであることが推測され、各種 2D-NMR 測定の結果もその構造を支持した。したがって、GC-MS の SIM モードで検出された 3 本のピークは 4-メチル-2-プロピルヘキサノールの立体異性体の組み合わせが異なる合計 3 種類のフタル酸ビス (4-メチル-2-プロピルヘキシル) に由来すると推測された (図 2)。

3. 検体中の含有量の測定

1) qNMR による UI-3 標準溶液の絶対濃度の測定と検量線の作成

約 12 mg/mL の濃度に調製した UI-3 のアセトン溶液を UI-3 標準溶液とし、その絶対濃度を外部標準法 ¹H-定量 NMR (qNMR) により測定した。濃度の測定には、UI-3 の 7'位と 10'位のプロトン

に由来する δ_H 0.87 ppm 付近のシグナルを用いた。その結果、UI-3 標準溶液中の UI-3 の絶対濃度は 11.6 mg/mL であった。この UI-3 標準溶液をアセトンで希釈し、28.9 ng/mL ~ 115.5 μ g/mL の検量線溶液を調製した。

2) 検体中の UI-1 ~ UI-3 の含有量

検量線溶液を用いて検体中の UI-3 含有量を GC-MS で測定した。定量イオンは、マススペクトル上で最も強度の強い m/z 149 を選択した。検量線溶液を測定した結果、57.8 ng/mL 以上の濃度で S/N 10 以上、かつ良好な再現性が得られた。この検量線溶液の濃度は試料中の含有量として約 0.023wt% に相当するため、共存成分によるマトリックス効果の影響を考慮し、試料中の UI-3 含有量の定量下限を 0.05wt% に設定した。各検体の UI-3 含有量を測定した結果、検体 5 では定量下限未満となったが、その他 4 検体では 14.5 ~ 21.9wt% であった。

さらに、UI-1 および UI-2 は、UI-3 のアルキル鎖の構造異性体であったことから、検体 1 および検体 2 の UI-1 および UI-2 の含有量を UPLC における 275 nm のピーク面積比により概算した。その結果、UI-1 は 0.15 ~ 0.22wt%、UI-2 は 3.0 ~ 4.6wt% であった。一方、検体 3 および検体 4 においては共存する DEHTP のピークと保持時間が重なっており、ピーク面積比が算出できなかったため、検体 1 および検体 2 の含有量比の平均値を用いて UI-1 および UI-2 の含有量を推定した (表 5)。

上記の結果から、1 検体あたりの UI-1 ~ UI-3 の合計含有量は 17.7 ~ 26.7wt% と推定された。検体 1 および検体 2 では UI-1 ~ UI-3 以外の可塑剤は検出されなかったことから、UI-1 ~ UI-3 が主可塑剤として使用されていたと考えられた。一方、検体 3 および検体 4 では DEHTP が約 5wt% 含有されており⁵⁾、UI-1 ~ UI-3 を加えると合計量は約 23wt% と推定され、含有される可塑剤の合計量

は検体1および検体2と同程度であった。一方、検体5のDPHPの含有量は定量下限未満であったことから、DPHPは意図的に使用されたものではなく、製造工程において混入したものと考えられた。

D. 結論

可塑剤使用実態調査⁵⁾で検出された3種の未知可塑剤を分離精製し、精密質量分析およびNMRを用いて構造解析を行った。その結果、3種のうち最も含量が多かった未知可塑剤はDPHPであると同定し、他の2種の未知可塑剤はフタル酸(4-メチル-2-プロピルヘキシル)(2-プロピルヘプチル)およびフタル酸ビス(4-メチル-2-プロピルヘキシル)であると推定した。

同定に用いたDPHP標準品もこれら3種の混合物であったため、含量の少なかった2種の可塑剤はDPHPの製造工程で混入したか、DPHPの製造工程で副生成物⁸⁾として生成したと推定された(図5)。単離したDPHPを用いて標準溶液を調製し、外部標準法 qNMR によってその絶対濃度を求め、検体中のDPHP含有量を定量したところ、DPHPは14.5~21.9wt%であり、他2種のフタル酸エステルとの合計量は17.7~26.7wt%と推定された。DPHPが検出された5検体のうち、4検体は主可塑剤としてDPHPが使用されていることが判明した。DPHPはPVCの可塑剤として1960年代に開発されたものであるが⁹⁾、国内に流通するおもちゃにおいてDPHPが検出されたのは本報が初めての報告となる。

表5 検体1~5中のUI-1~3の含有量

Toy	Content (%)			
	UI-1	UI-2	UI-3	Total
1 ^a	0.22 ± 0.01	4.6 ± 0.1	21.9 ± 0.5	26.7
2 ^a	0.21 ± 0.01	4.2 ± 0.3	20.3 ± 1.3	24.7
3 ^b	0.16 ± 0.00	3.1 ± 0.1	15.1 ± 0.3	18.4
4 ^b	0.15 ± 0.00	3.0 ± 0.1	14.5 ± 0.3	17.7
5	ND	ND	ND	ND

Data are expressed as mean ± SD (n=3).

^aContent of plasticizers UI-1 and 2 estimated based on UPLC peak areas (UV absorbance at 275 nm) compared with the peak area of plasticizer UI-3.

^bContent of plasticizers UI-1 and 2 estimated based on the results for Toys 1 and 2.

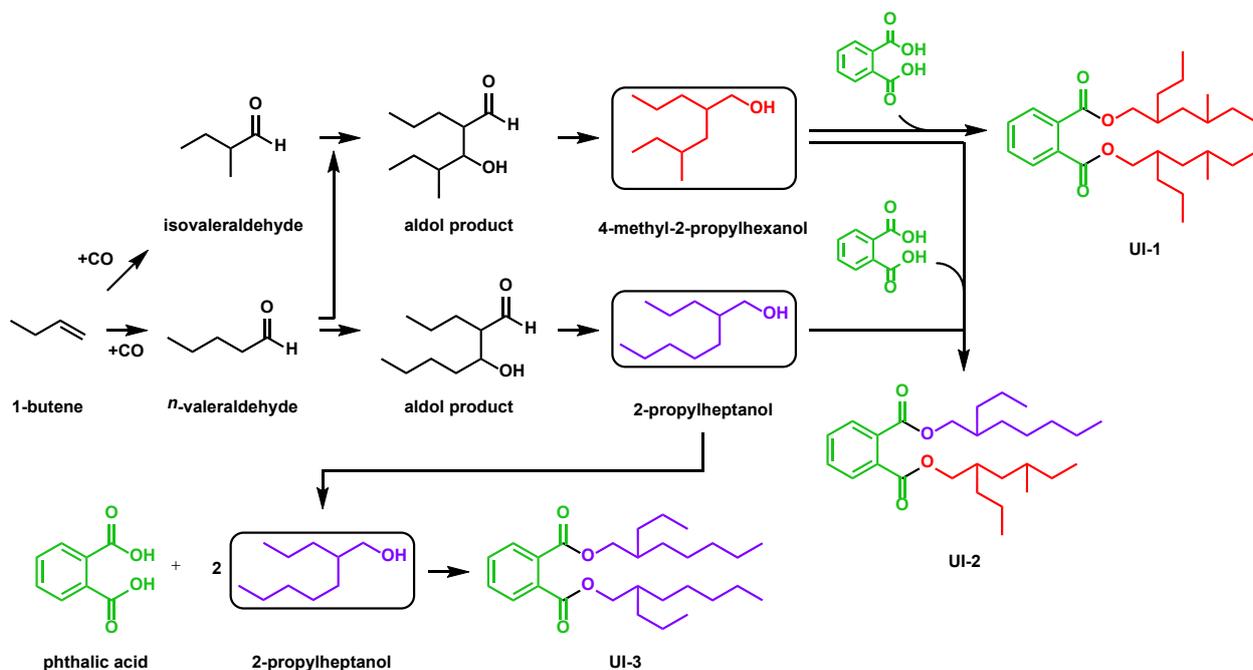


図5 UI-3の製造工程とUI-1およびUI-2の推定生成機序

E. 参考文献

- 1) Kawamura, Y.: Endocrine disruptors in food contact articles and baby toys with their transition. Kokuritsu Iyakuin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku (Bulletin of National Institute of Health Sciences), 128, 17–26 (2010).
- 2) Public Notice No. 370 (Dec. 28, 1959), Ministry of Health and Welfare, Japan.
- 3) Sugita, T., Hirayama, K., Nino, R., Ishibashi, T., Yamada, T.: Contents of phthalate in polyvinyl chloride toys. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Jpn.), 42, 48–55 (2001).
- 4) Abe, Y., Kijima, A., Yamaguchi, M., Ito, Y., Mutsuga, M., Akiyama, H., Sato, K.: Changes in status of plasticizers used in polyvinyl chloride toys. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Jpn.), 60, 38–44 (2019).
- 5) Abe, Y., Yamaguchi, M., Kataoka, Y., Mutsuga, M., Sato, K., Sugimoto, N.: Plasticizers used in polyvinyl chloride toys (2019–2020). Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Jpn.), accepted.
- 6) Notification No. 4 (Sep. 6, 2010), Director-General of Pharmaceutical and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.
- 7) Nishizaki, Y., Lankin, D. C., Chen, SN., Pauli, G. F.: Accurate and precise external calibration enhances the versatility of quantitative NMR (qNMR), Anal. Chem., 93, 2733–2741 (2021).
- 8) Kozlowski, R. R., Storzum, U.: Di(2-propyl-heptyl) phthalate: a new plasticizer choice for PVC compounds. J. Vinyl Addit. Technol., 11, 155–159 (2005).
- 9) Hagemeyer, Jr. H. J., Perry, M. A., United States Patent, US2921089 (1960).