

DART-TOF / MSを用いたポリ塩化ビニル中の可塑剤の検索 およびフタル酸エステルのスクリーニング法の検討

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	阿部,裕 山口,未来 六鹿,元雄 平原,嘉親 河村,麻衣子 花尻,瑠理 合田,幸広 河村,葉子
発行元	[日本食品衛生学会]
巻/号	51巻4号
掲載ページ	p. 160-169
発行年月	2010年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



報 文

DART-TOF/MS を用いたポリ塩化ビニル中の可塑剤の検索
およびフタル酸エステルのスクリーニング法の検討

(平成 21 年 11 月 30 日受理)

阿部 裕* 山口未来 六鹿元雄 平原嘉親 河村麻衣子
花尻(木倉)瑠理 合田幸広 河村葉子Discrimination of Plasticizers and Screening of Phthalates in
Polyvinyl Chloride Using DART-TOF/MSYutaka ABE*, Miku YAMAGUCHI, Motoh MUTSUGA, Yoshichika HIRAHARA, Maiko KAWAMURA,
Ruri KIKURA-HANAJIRI, Yukihiko GODA and Yoko KAWAMURANational Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan; * Corresponding author

A technique using a direct analysis in real time (DART) ion source coupled with time of flight/mass spectrometry (TOF/MS) was developed to discriminate plasticizers and to screen phthalates in polyvinyl chloride (PVC). In DART-TOF/MS analysis of 40 plasticizers, the protonated molecular ion, $[M+H]^+$, was detected for most plasticizers, and the molecular weight could be easily predicted. In the analysis of PVC sheets and toys, mass spectra of plasticizers were successfully detected, and accordingly, plasticizers in PVC were easily discriminated. PVC with a phthalates content in excess of 0.1% could be screened accurately according to the DART-TOF/MS ion intensity of phthalates corresponding to the limit of detection or a suitable criterion value. DART-TOF/MS analysis is a simple and rapid technique that is suitable for the discrimination of plasticizers and for screening of phthalates in PVC.

(Received November 30, 2009)

Key words: 実時間直接分析 direct analysis in real time (DART); 飛行時間型質量分析装置 time of flight/mass spectrometry (TOF/MS); ポリ塩化ビニル polyvinyl chloride; 可塑剤 plasticizer; フタル酸エステル phthalate; 玩具 toy

緒 言

軟質ポリ塩化ビニル (PVC) 製品には柔軟性を付与するためフタル酸エステル系, アジピン酸エステル系, クエン酸エステル系などさまざまな可塑剤が高濃度に添加される^{1)~3)}。

食品衛生法では, 油脂または脂肪性食品を含有する食品と接触する PVC 製器具・容器包装および PVC 製指定玩具については di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) の使用を禁止しており, そのうち口に接触することを本質とする PVC 製玩具については diisononyl phthalate (DINP) の使用も禁止している。また, 現在フタル酸エステルの規制拡大について審議されており, dibutyl phthalate (DBP), benzyl butyl phthalate (BBP), di-*n*-octyl phthalate (DNOP), diisodecyl phthalate (DIDP) の 4 種類が玩具の規制対象に追加され, その規格値は 0.1% とされる予定で

ある⁴⁾。したがって, 今後フタル酸エステルが 0.1% を超える玩具は大幅に減少し, 一方で代替可塑剤の使用が増加すると予想される。

フタル酸エステルなどの可塑剤の試験は, 抽出法や溶解法で試験溶液を調製後, GC-FID や GC/MS による測定⁴⁾が一般的であるが, 試験操作が煩雑で人手と時間を必要とし, しかも大量のフタル酸エステルや溶解した PVC による分析機器の汚染も問題となる。

近年開発された実時間直接分析 (direct analysis in real time; DART) イオン化装置は, ヘリウムガスをニードル電極の放電によりプラズマ化して励起状態の中性気体分子とし, これを試料に直接作用させることにより大気圧下で瞬時に目的物質をイオン化できる。この装置を質量分析計に接続した DART-MS は, 試料を DART イオン化装置と質量分析計の間にかざすだけで, 前処理を行うことなく含有化合物のマスペクトルを測定できるため⁵⁾, 液体や固体のさまざまな試料の分析が可能であり, 医薬品⁶⁾, 違法

* 連絡先

国立医薬品食品衛生研究所; 〒158-8501 東京都世田谷区
上用賀 1-18-1*1 <http://www.mhlw.go.jp/za/0804/cl3/cl3.txt>

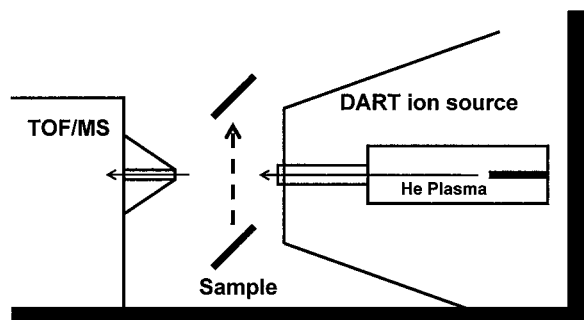


Fig. 1. Schematic of DART-TOF/MS

The sample was moved between the DART ion source and TOF/MS inlet manually at a constant speed.

薬物⁷⁾, 植物⁸⁾, 培養細胞⁹⁾ などへの適用例が報告されている。

PVC 製品中の可塑剤については, Rothenbacker ら¹⁰⁾ と Ackerman ら¹¹⁾ により DART-四重極型質量分析計を用いた分析法が報告されているが, 測定対象は主としてフタル酸エステルであり, その数も 7 もしくは 2 種類と少ないものであった。

そこで今回, DART イオン化装置に飛行時間型質量分析 (time of flight/mass spectrometry; TOF/MS) を連結した DART-TOF/MS (Fig. 1) を用いて, 40 種類の可塑剤のマススペクトルを測定し PVC 製品中の検索を試みた。また, 6 種類のフタル酸エステルが 0.1% を超える試料を選抜するスクリーニング法についても検討したので報告する。

実験方法

1. 可塑剤標準品および標準溶液

可塑剤標準品 40 種類 (フタル酸エステル 17 種類, アジピン酸エステル 10 種類, その他 13 種類)。これらの化合物の化学名, 略号, CAS 番号, 組成式, 分子量, 使用した試薬の純度および販売元を Table 1 に示した。

可塑剤標準溶液: 各可塑剤標準品をアセトンで溶解し 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。

2. 試料

PVC 製シート: A~J の 10 種類, PVC ペレットに安定剤として di(*n*-octyl)tin-S,S'-bis(isooctyl mercaptoacetate) (三共有機合成(株)製) を約 2% 添加し, さらにシート A, C, E および G には DBP, DEHP および DINP, シート B, D, F および H には BBP, DNOP および DIDP を配合して加熱押出しにより厚さ約 0.3 mm のシートを作製した。また, シート E, F, G, H および J には軟質 PVC とするため DMP (大八化学(株)製) を約 20% 配合した。シート I にはフタル酸エステルは配合しなかった。GC/MS で測定した各シート中の含有量を Table 2 に示す。

PVC 製玩具: No. 1~4 人形, No. 5~7 ままごと用食物

玩具, No. 8 および 9 ボール, No. 10 空気注入玩具の 10 種類

3. 装置

DART-TOF/MS: 質量分析計 (AccuTOF JMS-T100) に DART イオン化装置を連結させたもの, 日本電子(株)製

GC/MS: GC (6890 Series PLUS), MS (5973 mass selective detector), Agilent Technologies 社製

4. DART-TOF/MS 測定

1) DART 条件

モード: ポジティブイオン, ガス: ヘリウム 1.8~2.5 L/min (200°C), ニードル電圧: 3,200 kV, 電極 1: 100, 電極 2: 250 V

2) TOF/MS 条件

モード: ポジティブイオン, オリフィス 1 電圧: 15 V (80°C), オリフィス 2 電圧: 5 V, リングレンズ電圧: 5 V, ピーク間電圧: 500 V, 検出器電圧: 2,200 V, マス範囲: m/z 120~1,000

3) 測定法

可塑剤標準溶液はガラス棒の先端に溶液を付着させ, また PVC 製品は 0.5~1.0 mm 幅の小片としてピンセットでつまみ, DART イオン化装置と TOF/MS 間をほぼ一定の速さで 5 回連続通過させて測定し (Fig. 1), 得られた 5 本のトータルイオンクロマトグラムのうち最大のピークを解析に供した。

5. GC/MS 測定

1) 測定条件

カラム: DB-5MS (30 m \times 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm , Agilent Technologies 社製), カラム温度: 100 \rightarrow 20°C/min \rightarrow 320°C (10 min), 注入口温度: 250°C, トランスファーライン温度: 280°C, キャリヤーガス: ヘリウム 1.0 mL/min (定流量), 注入量: 1.0 μL , 注入モード: スプリットレス, イオン化電圧: 70 eV, 測定モード: SCAN (m/z 40~800), 定量用イオン (m/z): DBP/BBP/DEHP 149, DNOP 279, DINP 293, DIDP 307, TMPD 71, DALG 159, ATBC 185, DINA 255

2) 測定法

試料は通知法^{*2} に準じてアセトン-ヘキサン (3:7) で抽出後, GC/MS により可塑剤の同定および定量を行った。

結果および考察

1. DART-TOF/MS 測定法の検討

DBP, DEHP, DINP を 0.14~0.18% 含有する PVC 製シート C を用いて DART-TOF/MS の測定法を検討した。

DART-TOF/MS では, 試料を DART イオン源と TOF/MS 部の間にかざすだけで試料中の化合物がイオン化し, 発生したイオンが TOF/MS 部へ導入され, クロマ

*2 厚生労働省医薬局食品保健部基準審査課長通知 “食品, 添加物等の規格基準の一部改正について” 平成 14 年 8 月 2 日, 食基発第 0802001 号 (2002)。

Table 1. Specific parameters and reagent information for 40 plasticizers

Chemical name	Abbreviation	CAS No.	Formula	MW	Purity (%)	Supplier*5
Dimethyl phthalate	DMP	131-11-3	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194	>99	A
Diethyl phthalate	DEP	84-66-2	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222	>98	A
Di- <i>n</i> -propyl phthalate	DPP	131-16-8	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250	>98	A
Diisopropyl phthalate	DIPP	605-45-8	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250	>98	A
Di- <i>n</i> -butyl phthalate	DBP	84-74-2	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	>99	B
Diisobutyl phthalate	DIBP	84-69-5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	>98	A
Benzyl butyl phthalate	BBP	85-68-7	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	312	>99	B
Dicyclohexyl phthalate	DCHP	84-61-7	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330	>99	A
Diheptyl phthalate*1	DHP	41451-28-9	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	362	>95	A
Di(2-ethylhexyl)phthalate	DEHP	117-81-7	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	>99	B
Di- <i>n</i> -octyl phthalate	DNOP	117-84-0	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	>99	B
Diisooctyl phthalate*1	DIOF	27554-26-3	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	>99	C
<i>n</i> -Octyl <i>n</i> -decyl phthalate*2	ODP	119-07-3	C ₂₆ H ₄₂ O ₄ *3	418*3	—*4	E
Dinonyl phthalate*1	DNP	84-76-4	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	418	>95	A
Diisononyl phthalate*1	DINP	28553-12-0	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	418	>98	B
Diisodecyl phthalate*1	DIDP	26761-40-0	C ₂₈ H ₄₆ O ₄	446	—*4	A
Di- <i>n</i> -decyl phthalate	DNDP	84-77-5	C ₂₈ H ₄₆ O ₄	446	>90	D
Di- <i>n</i> -propyl adipate	DPA	106-19-4	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230	>99	A
Diisopropyl adipate	DIPA	6938-94-9	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230	>97	A
Di- <i>n</i> -butyl adipate	DNBA	105-99-7	C ₁₄ H ₂₆ O ₄	258	>99	A
Diisobutyl adipate	DIBA	141-04-8	C ₁₄ H ₂₆ O ₄	258	>99	A
Dibenzyl adipate	DBA	2451-84-5	C ₂₀ H ₂₂ O ₄	326	>95	A
Di(2-ethylhexyl)adipate	DEHA	103-23-1	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	370	>98	A
Heptylnonyl adipate (C=7, 9)*1,2	HNA	68515-75-3	C ₂₂ H ₄₂ O ₄ *3	370*3	—*4	A
Di- <i>n</i> -alkyl adipate (C=6, 8, 10)*2	DAA		C ₂₂ H ₄₂ O ₄ *3	370*3	—*4	A
Diisononyl adipate*1	DINA	33703-08-1	C ₂₄ H ₄₆ O ₄	398	—*4	B
Diisodecyl adipate*1	DIDA	27178-16-1	C ₂₆ H ₅₀ O ₄	426	—*4	A
Diisononyl 1,2-cyclohexanedicarboxylate	DINCH	166412-73-8	C ₂₆ H ₄₈ O ₄	424	—*4	F
Dibutyl sebacate	DBS	109-43-3	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	314	>97	B
Di(2-ethylhexyl) sebacate	DEHS	122-62-3	C ₂₆ H ₅₀ O ₄	426	>95	B
Cresyl diphenyl phosphate*2	CDP	26444-49-5	C ₁₉ H ₁₇ O ₄ P*3	340	>93	A
Diphenyl 2-ethylhexyl phosphate	DPEHP	1241-94-7	C ₂₀ H ₂₇ O ₄ P	362	>90	A
Di- <i>n</i> -butyl maleate	DBM	105-76-0	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	228	>95	A
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	TMPD	6846-50-0	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	286	>97	A
<i>o</i> -Acetyl tributyl citrate	ATBC	77-90-7	C ₂₀ H ₃₄ O ₈	402	>90	B
Diacetyl lauroyl glycerol*2	DALG		C ₁₆ H ₂₈ O ₆ *3	316*3	—*4	A
Di(2-ethylhexyl)azelaate	DOZ	103-24-2	C ₂₅ H ₄₈ O ₄	412	>70	B
Tri(2-ethylhexyl)trimellitate	TOTM	3319-31-1	C ₃₃ H ₅₄ O ₆	546	>95	A
Diethylene glycol dibenzoate	DEGDB	120-55-8	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	314	>96	C
Dipropylene glycol dibenzoate*1	DPGDB	27138-31-4	C ₂₀ H ₂₂ O ₅	342	>98	C

*1 Mixture of isomers

*2 Mixture of different alkyl carbon number analogues

*3 Main compound

*4 Not indicated

*5 Reagent supplier's name A: Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., B: Wako Pure Chemical Industries, Ltd., C: Aldrich Chemical Co., Inc., D: Kanto Chemical Co., Inc., E: AccuStandard, Inc. and F: Provided by a plastisol producing company.

トグラム上に1本のトータルイオンのピークとして検出される。さらにこのピークを展開することによりマススペクトルが得られる。DART-TOF/MSのイオン強度はイオン化率、TOF/MS部へのイオン導入量、試料の形状さらには測定者や測定日の違いにより変動するため、定量には適さないとされている¹²⁾。

シートCをほぼ一定のスピードで10回通過させて測定したトータルイオンクロマトグラムをFig. 2に示した。各ピークのイオン強度は一定にはならなかったが2倍程度の幅の中にあつた。これらのピークのうちイオン強度が最も高いピークは、イオン化率やTOF/MS部への導入量

が最適条件により近かったと考えられた。一方、6本目以降のピーク強度が低くなったのは、同一試料を連続測定したため熱変形したことによると考えられた。以上のことから、1つの試料につき5回連続で通過させて測定し、最も強度が高いピークのマススペクトルを解析に供することとした。

2. 可塑剤40種類のDART-TOF/MSスペクトル

可塑剤40種類の標準溶液を用いてDART-TOF/MSを測定し、検出された各化合物のイオンを最大10個まで示した(Table 3)。また、主な可塑剤12種類のマススペクトルをFig. 3に示した。

Table 2. Phthalate content by GC/MS and ion peak intensity by DART-TOF/MS in PVC seats

m/z	Phthalate	A		B		C		D		E	
		Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²
279	DBP	0.07	13,000	ND	ND	0.16	14,000	ND	ND	0.23	30,000
313	BBP	ND	ND	0.07	9,600	ND	ND	0.15	13,000	ND	ND
391	DEHP/DNOP	0.09/ND	8,000	ND/0.11	7,000	0.14/ND	8,300	ND/0.15	7,200	0.21/ND	13,000
419	DINP	0.09	5,000	ND	ND	0.18	6,700	ND	ND	0.24	7,200
447	DIDP	ND	ND	0.07	2,400	ND	ND	0.15	3,800	ND	ND

m/z	Phthalate	F		G		H		I		J	
		Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²	Content* ¹	Intensity* ²
279	DBP	ND	310	0.85	50,000	ND	200	ND	230	ND	ND
313	BBP	0.21	16,000	ND	ND	0.96	44,000	ND	ND	ND	ND
391	DEHP/DNOP	ND/0.22	12,000	0.69/ND	34,000	ND/0.67	22,000	ND/ND	ND	ND/ND	200
419	DINP	ND	ND	0.81	9,600	ND	ND	ND	ND	ND	ND
447	DIDP	0.21	7,500	ND	ND	0.64	16,000	ND	ND	ND	ND

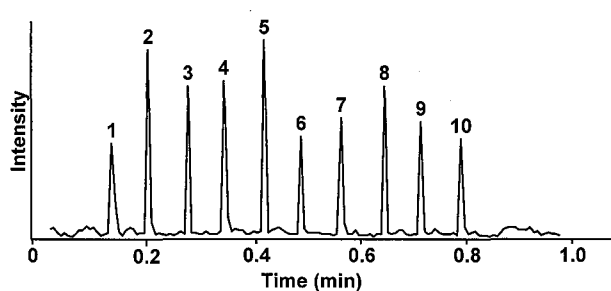
*¹ Content (%): Measured by GC/MS, ND: <0.01%*² Intensity: Measured by DART-TOF/MS, ND: <100

Fig. 2. DART-TOF/MS total ion chromatogram

DART ではイオン化が緩和であることからフラグメントイオンは生じにくい。そのため観察されるイオン数は少なく、ベースイオンとしてプロトン付加体の擬分子イオン $[M+H]^+$ が検出されることが多い⁸⁾。今回の測定においても、可塑剤 40 種類中 37 種類において $[M+H]^+$ がベースイオンであった。すなわち、大部分の化合物ではベースイオンから分子量を推定できた。

そのうち 31 種類は、ベースイオンの同位体イオンが 2 番目の強度のイオンであった。また、全体の 3/4 に相当する 29 種類は Fig. 3 の DBP, BBP, DEHP, DNOP などのように、ベースイオンとその同位体イオンのみが 10%

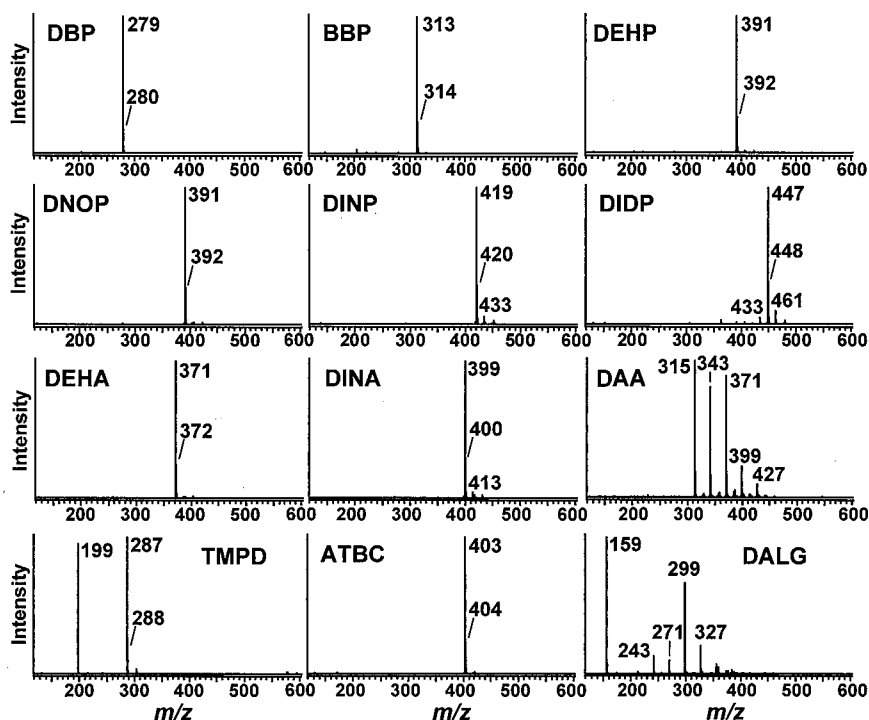


Fig. 3. DART-TOF/MS spectra of 12 kinds of plasticizers

Table 3. Characteristic ions and relative intensity of plasticizers detected by DART-TOF/MS

Plasticizer	MW	Characteristic ions (relative intensity)*4									
DMP	194	195 (100)	196 (10)	163 (4)	—	—	—	—	—	—	—
DEP	222	223 (100)	224 (13)	354 (9)	177 (5)	—	—	—	—	—	—
DPP	250	251 (100)	252 (17)	191 (1)	—	—	—	—	—	—	—
DIPP	250	251 (100)	252 (17)	191 (1)	—	—	—	—	—	—	—
DBP	278	279 (100)	280 (20)	205 (4)	—	—	—	—	—	—	—
DIBP	278	279 (100)	280 (20)	205 (2)	—	—	—	—	—	—	—
BBP	312	313 (100)	314 (24)	205 (2)	—	—	—	—	—	—	—
DCHP	330	331 (100)	332 (23)	333 (3)	—	—	—	—	—	—	—
DHP*1	362	363 (100)	364 (25)	349 (3)	377 (2)	—	—	—	—	—	—
DEHP	390	391 (100)	392 (28)	393 (4)	—	—	—	—	—	—	—
DNOP	390	391 (100)	392 (30)	393 (4)	—	—	—	—	—	—	—
DIOP*1	390	391 (100)	392 (28)	405 (9)	377 (8)	279 (1)	—	—	—	—	—
ODP*2	418*3	419 (100)	391 (55)	420 (28)	447 (20)	392 (13)	448 (5)	433 (4)	421 (4)	435 (3)	393 (2)
DNP*1	418	419 (100)	420 (30)	433 (4)	293 (1)	450 (1)	—	—	—	—	—
DINP*1	418	419 (100)	420 (30)	433 (7)	450 (3)	293 (1)	—	—	—	—	—
DIDP*1	446	447 (100)	448 (31)	461 (13)	433 (5)	363 (2)	—	—	—	—	—
DNDP	446	447 (100)	448 (31)	461 (6)	449 (4)	—	—	—	—	—	—
DPA	230	231 (100)	232 (15)	248 (3)	171 (1)	—	—	—	—	—	—
DIPA	230	231 (100)	232 (16)	248 (2)	171 (1)	—	—	—	—	—	—
DNBA	258	259 (100)	260 (17)	276 (2)	—	—	—	—	—	—	—
DIBA	258	259 (100)	260 (20)	276 (2)	—	—	—	—	—	—	—
DBA	326	327 (100)	328 (24)	344 (5)	181 (4)	237 (3)	—	—	—	—	—
DEHA	370	371 (100)	372 (26)	388 (3)	402 (2)	—	—	—	—	—	—
HNA*1, 2	370*3	371 (100)	343 (71)	399 (36)	372 (23)	344 (15)	400 (4)	373 (3)	387 (3)	385 (2)	—
DAA*2	370*3	315 (100)	371 (92)	343 (76)	399 (31)	372 (23)	316 (21)	344 (17)	427 (15)	400 (10)	385 (6)
DINA*1	398	399 (100)	400 (28)	413 (6)	416 (3)	430 (3)	—	—	—	—	—
DIDA*1	426	427 (100)	428 (30)	441 (15)	413 (9)	458 (3)	—	—	—	—	—
DINCH	424	425 (100)	426 (30)	456 (4)	439 (3)	—	—	—	—	—	—
DBS	314	315 (100)	316 (21)	331 (5)	329 (2)	343 (2)	—	—	—	—	—
DEHS	426	427 (100)	428 (30)	443 (5)	458 (2)	425 (2)	—	—	—	—	—
CDP*2	340*3	341 (100)	327 (78)	681 (62)	695 (54)	355 (53)	667 (42)	709 (32)	682 (24)	696 (22)	342 (18)
PEHP	362	725 (100)	363 (47)	726 (43)	761 (29)	762 (12)	251 (10)	364 (9)	763 (3)	—	—
DBM	228	229 (100)	230 (14)	231 (2)	—	—	—	—	—	—	—
TMPD	286	287 (100)	199 (87)	288 (19)	200 (12)	289 (3)	573 (2)	—	—	—	—
ATBC	402	403 (100)	404 (25)	405 (16)	329 (2)	—	—	—	—	—	—
DALG*2	316*3	159 (100)	299 (67)	327 (20)	300 (13)	243 (12)	271 (9)	160 (6)	328 (3)	—	—
DOZ	412	413 (100)	414 (15)	427 (9)	399 (6)	371 (6)	385 (3)	—	—	—	—
TOTM	546	547 (100)	548 (36)	549 (9)	561 (5)	563 (3)	562 (2)	545 (2)	578 (2)	—	—
DEGDB	314	315 (100)	149 (30)	316 (21)	332 (4)	343 (2)	—	—	—	—	—
DPGDB*1	342	343 (100)	163 (25)	344 (22)	239 (8)	360 (3)	—	—	—	—	—

*1 Mixture of isomers

*2 Mixture of different alkyl carbon number analogues

*3 Main compound

*4 Characteristic ions are shown in order of intensity up to 10.

以上の相対強度を有していた。一方、10%以上の相対強度を持つイオンが3個以上あったのはDIDPおよびDIDAのみであった。両者は一般に分枝の異なる炭素数10の脂肪鎖が2個結合した異性体混合物とされているが、今回の測定で[M+H]⁺とその同位体イオン以外に[M+14+H]⁺および[M-14+H]⁺が観察された。このことから、これら2つの化合物には脂肪鎖の炭素数が9および11の化合物もわずかに混在していることが確認された。

一方、ベースイオンが[M+H]⁺で2番目が同位体イオンでなかったのは以下の6種類であった。ODP, HNAおよびCDPの3種類はいずれも側鎖の炭素数が異なる数化合物の混合物である¹³⁾。そのため、ベースイオンはそれぞれの主化合物の[M+H]⁺であったが、2番目の強度のイ

オンは炭素数が異なる化合物に由来する[M+H]⁺であった。3番目以降のイオンも炭素数が異なる化合物に由来する[M+H]⁺やそれらの同位体イオンであった。

それ以外のTMPD, DEGDB, DPGDBの3種類はベースイオンが[M+H]⁺であり、2番目の強度のイオンはそれらのフラグメントイオンであった(Fig. 4)。このうちDPGDBは3種の異性体混合物であるが¹⁴⁾、いずれの異性体からも同じ質量数(m/z 163)のフラグメントイオンが得られた。

ベースイオンが[M+H]⁺以外のイオンであった化合物は、40種類中DAA, DPEHP, DALGの3種類のみであった。

このうちDAAは炭素数6, 8, 10の直鎖脂肪酸が2個

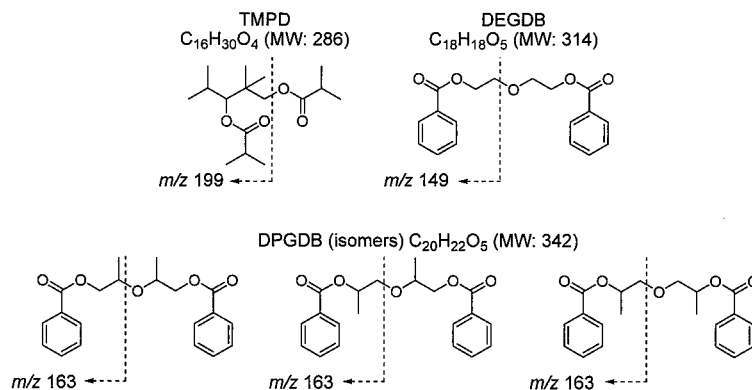


Fig. 4. Structures and mass fragmentation patterns of TMPD, DEGDB and DPGDB

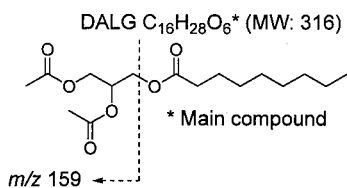


Fig. 5. Structure and mass fragmentation pattern of DALG

ずつアジピン酸とエステル結合した 6 種類の化合物の混合物である。6 種類のなかでは分子量 370 の化合物が最も多く、次いで分子量 314 の化合物である¹³⁾。しかし、今回の測定では、DAA のベースイオンは、分子量 314 の化合物由来の m/z 315 となり、最も含有量が多い分子量 370 の化合物由来ではなかった。これは、DART-TOF/MS では一般に分子量が小さいほうがイオン化されやすいためイオン強度が逆転したものと推測された。また、このほかに検出されたイオンはいずれも混合物の $[M+H]^+$ とその同位体イオンであった。

DPEHP はベースイオンが m/z 725 で $[2M+H]^+$ に相当することから、イオン化する際に 2 量体を形成したものと推定された。また、 $[M+H]^+$ の m/z 363 はベースイオンの次に高いイオンとして検出された。

DALG のベースイオンは m/z 159 であり、Fig. 5 に示すようにフラグメントイオン由来と判断された。今回測定した 40 種類のうちフラグメントイオンがベースイオンであったのは DALG のみであった。

可塑剤 40 種類の DART-TOF/MS を測定した結果、大部分の化合物でベースイオンから分子量が推定でき、さらに得られたマススペクトルから化合物の同定も容易であった。しかし、分子量が同じでほぼ同じマススペクトルをもつ DBP と DIBP、DEHP と DNOP では両者を識別することはできなかった。これらの同定には GC/MS などによる分析が必要である。

3. フタル酸エステル含有 PVC 製シートの測定

1) 可塑剤の検索

6 種類のフタル酸エステルなどを含有する 10 種類の PVC 製シートを用いて DART-TOF/MS による化合物の

検索を試み、得られたマススペクトルを Fig. 6 に示した。

シート A, C, E, G では m/z 279 および 419 のイオンから DBP および DINP、シート B, D, F, H では m/z 313 および 447 から BBP および DIDP の含有が確認された。また、上記のシート A~H では、 m/z 391 から DEHP または DNOP のいずれかを含有することが確認された。

その他のイオンのうち、シート E, F, G, H, J の m/z 195 および 163 は、PVC の軟質化のために配合された DMP 由来であった。また、 m/z 195 はシート A, B, C, D, I からも微小なピークが検出されたが、これはシート作製時に DMP が混入したものと考えられた。

このように、DART-TOF/MS のマススペクトルから、PVC 製シートに添加されたすべての可塑剤を検索することができた。ただし、 m/z 391 については DEHP と DNOP の区別はできなかった。

2) 未知イオンの同定

上記以外にすべてのシートから m/z 205, 407, 549 が確認されたが、今回測定した可塑剤標準品には対応する化合物はなかった。

一方、すべてのシートには可塑剤以外に安定剤として di(*n*-octyl)tin-S,S'-bis(isooctyl mercaptoacetate) が配合されていることから、この化合物を DART-TOF/MS で測定した。その結果、 m/z 205, 407, 549 のイオンが検出され、これらのイオンはこの化合物由来であることが示された。また、 m/z 549 は Fig. 7 に示すようにこの化合物のフラグメントイオンに由来すると推定された。しかし、 m/z 205 および 407 の由来は不明であった。

そこで、TOF/MS による精密質量分析によりこれらの化合物の同定を試みた。DEHP を内標準物質として精密質量分析を行ったところ、 m/z 205 の精密質量は 205.1231 となり、その組成式は $C_{10}H_{21}O_2S$ ($[M+H]^+$, calcd: 205.1262)、 m/z 407 は 407.2291 となり、 $C_{20}H_{39}O_4S_2$ ($[M+H]^+$, calcd: 407.2290) であることが明らかとなった。それらの組成式から、 m/z 205 は di(*n*-octyl)tin-S,S'-bis(isooctyl mercaptoacetate) の分解物である isooctyl mercaptoacetate、 m/z 407 は isooctyl mercaptoacetate 2 分子が S-S 結合を形成した化合物の $[M+H]^+$

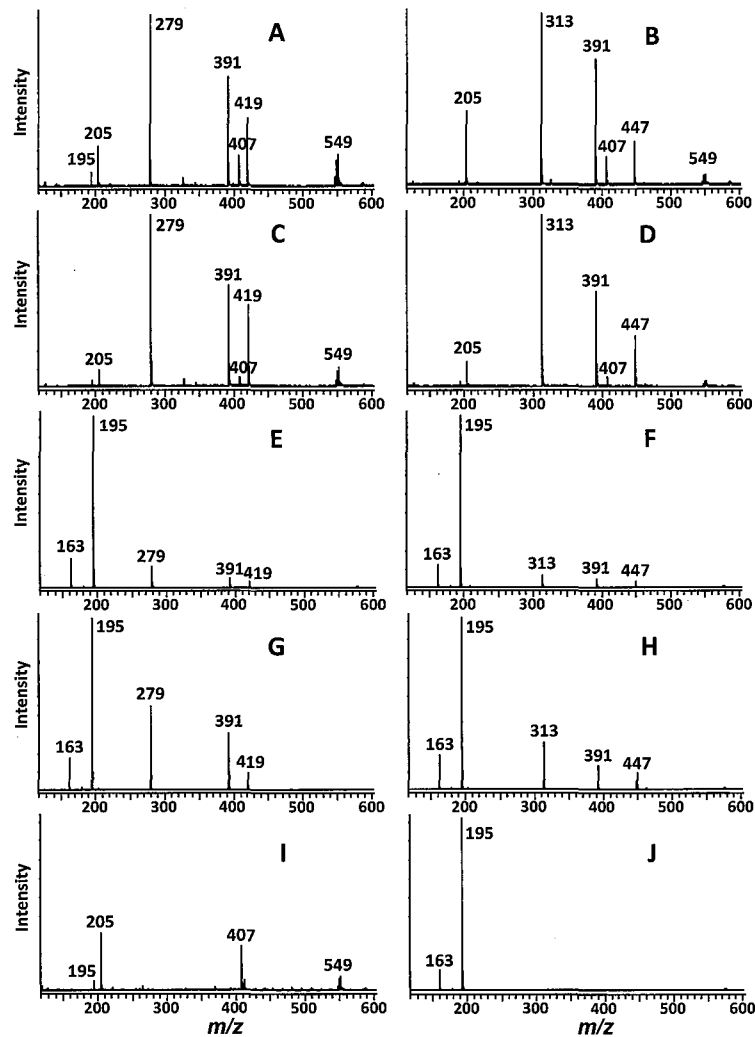


Fig. 6. DART-TOF/MS spectra of PVC seats A-J containing phthalates

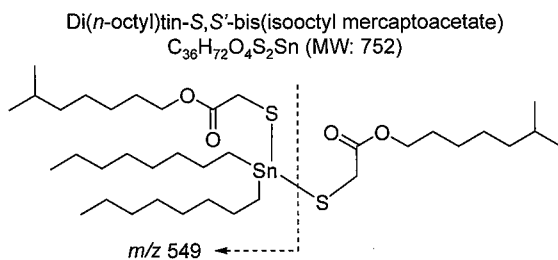


Fig. 7. Structure and mass fragmentation pattern of di(*n*-octyl)tin-S,S'-bis(isooctyl mercaptoacetate)

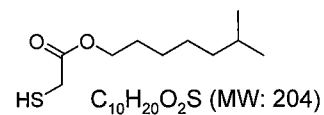
と推測された (Fig. 8).

このように、未知イオンが検出された場合にも、DART-TOF/MSの精密質量分析によって化合物の推測が可能であった。

3) 6種類のリタル酸エステルスクリーニング

DART-TOF/MSのイオン強度は前述のようにばらつきが大きく定量を行うことは適当ではないが、含有の有無や大まかな含有量の推定は可能ではないかと考えられた。そこで、6種類のリタル酸エステルが0.1%を超える試料をスクリーニングすることが可能か検討した。

a) Isooctyl mercaptoacetate



b)

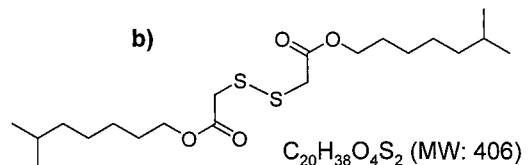


Fig. 8. Structures of a) isooctyl mercaptoacetate and b) compound corresponding to m/z 407

PVC製シート中の6種類のリタル酸エステルのGC/MSによる含有量とDART-TOF/MSによるイオン強度をTable 2に示した。GC/MS測定においてリタル酸エステルを定量限界以上含有する試料では、DART-TOF/MSでもすべての化合物に対応するイオンが検出された。含有量が0.07~0.09%と0.1%よりやや低い試料であっても、それらのイオン強度は2,400以上であった。

一方, BBP, DNOP, DINP および DIDP 無添加の試料では, GC/MS でも DART-TOF/MS でもこれらのピークは全く検出されなかった. しかし, DBP および DEHP 無添加の試料では, GC/MS でも DART-TOF/MS でも微小なピークが観察された. これらの化合物は環境を広く汚染しており, また玩具製造工場では汚染がより高い場合もある. PVC はこれらを吸着しやすいことから, 製造工程において微量の DBP や DEHP が PVC 製玩具に残存することになる. しかも, GC/MS 測定では使用する溶媒などからもこれらの汚染を受ける. そのため, GC/MS 測定では一般にそれらのピークの 5 倍程度を定量限界に設定しており, 本研究では 0.01% とした. そこで, DART-TOF/MS においてもそれらのピークの 3 倍程度に相当するイオン強度 100 を検出限界とした.

したがって, DART-TOF/MS 測定において, 各フタル酸エステルのイオン強度が検出限界以上の試料を選抜すれば 0.1% を超える試料を見逃さずスクリーニングすることができる. ただし, DBP や DEHP が 0.01% 以下の試料

も 4 検体選抜することになる. そこで, たとえばイオン強度 500 を目安にすれば, 0.1% を超える試料を漏らさず, しかも 0.01% 以下の試料は選抜されず, スクリーニング精度がより向上する.

このように, DART-TOF/MS で得られるイオン強度を検出限界または適当な目安値で選抜することによりフタル酸エステルが 0.1% を超える試料を見逃すことなくスクリーニング可能と考えられた.

4. PVC 製玩具への適用

実際の PVC 製玩具で可塑剤の検索とスクリーニングが可能であるかを検討するため, 10 種類の PVC 製玩具 (No. 1~10) を DART-TOF/MS により測定した. 得られたマススペクトルを Fig. 9 に, GC/MS による玩具中の可塑剤含有量と DART-TOF/MS のイオン強度を Table 4 に示した.

1) 可塑剤の検索

試料 No. 1, 2, 4, 5, 6, 9 では m/z 403 がベースイオンとして検出され, m/z 404, 405, 329 も検出されることか

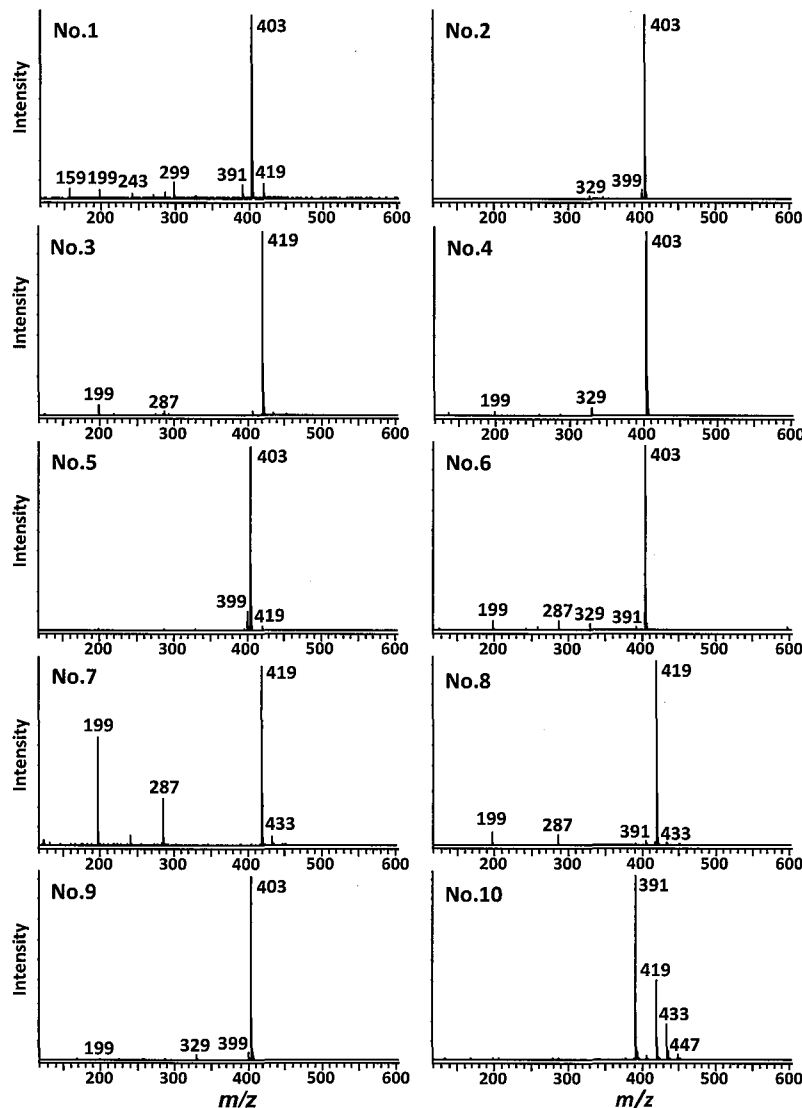


Fig. 9. DART-TOF/MS spectra of PVC toys No. 1-10

Table 4. Plasticizer content by GC/MS and ion peak intensity by DART-TOF/MS in PVC toys

m/z	Plasticizer	No. 1		No. 2		No. 3		No. 4		No. 5	
		Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2
279	DBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
313	BBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
391	DEHP/DNOP	0.12/ND	1,700	ND/ND	ND	ND/ND	ND	ND/ND	ND	ND/ND	ND
419	DINP	0.37	1,900	ND	ND	8.5	35,000	ND	ND	0.23	1,600
447	DIDP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
399	DINA	ND	ND	8.0	4,600	ND	ND	ND	ND	9.3	8,200
159	DALG	5.0	1,400	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
199	TMPD	6.7	1,200	0.01	290	0.01	750	1.5	390	0.02	260
403	ATBC	1.8	22,000	6.9	94,000	ND	ND	24	50,000	7.3	78,000

m/z	Plasticizer	No. 6		No. 7		No. 8		No. 9		No. 10	
		Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2	Content*1	Intensity*2
279	DBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	130
313	BBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
391	DEHP/DNOP	0.06/ND	430	ND/ND	ND	0.05/ND	200	ND/ND	ND	6.1/ND	22,000
419	DINP	ND	ND	6.9	19,000	17	58,000	ND	ND	6.1	9,400
447	DIDP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	trace*3	600
399	DINA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	14	1,600	ND	ND
159	DALG	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
199	TMPD	11	2,000	2.2	5,000	0.49	3,800	0.09	350	ND	ND
403	ATBC	13	42,000	ND	ND	ND	ND	12	41,000	ND	ND

*1 Content (%): Measured by GC/MS, ND: <0.01%

*2 Intensity: Measured by DART-TOF/MS, ND: <100

*3 DIDP could not be determined due to interference by DINP.

ら、ATBCを高濃度に含有すると推定された。同様に試料 No. 3, 7, 8 では m/z 419 がベースイオンとして検出され、 m/z 420 や 433 も検出されることから DNP または DINP のいずれかを高濃度に含有すると推定された。これらのうち玩具における使用頻度から、DINP の可能性が高いと判断された。また、No. 1, 5, 10 でも m/z 419, 420 が検出され、同様に DINP と考えられた。試料 No. 10 では m/z 391 がベースイオンとして検出され、 m/z 392 や 393 も検出されるが m/z 377 は検出されないことから、DEHP または DNOP のいずれかと推定された。 m/z 391 や 392 は No. 1, No. 6, No. 8 でも検出され、これらも DEHP または DNOP 由来と考えられた。

その他、No. 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9 で検出された m/z 199 および 287 は TMPD, No. 1 の m/z 159, 243 および 299 は DALG, No. 2, 5, 9 の m/z 399 は DINA, No. 10 の m/z 447 は DIDP または DNDP に由来すると考えられた。

以上のように DART-TOF/MS のマススペクトルから、GC/MS で確認されたすべての可塑剤について、可塑剤そのもの、または同一分子量のいずれかの可塑剤が含有されることを確認できた。ただし、同一分子量の可塑剤については GC/MS により区別する必要がある。

2) 6種類のフタル酸エステルのスクリーニング

実際の PVC 製玩具における 6種類のフタル酸エステル含有量が 0.1% を超える試料のスクリーニングについて検討した。

フタル酸エステルのイオン強度が検出限界以上を目安と

すると、フタル酸エステルが 0.1% を超えるものはすべて含まれスクリーニングは正しく行われたが、0.1% 未満のものもいくつか含まれた。また、イオン強度 500 を目安とすれば、フタル酸エステル含有量が 0.1% を超える試料を見逃すことなく、しかも 0.1% 以下のものは含まれなかった。

このように、フタル酸エステル含有量が 0.1% を超える試料をスクリーニング可能であったが、スクリーニングの最適な目安値は装置によっても測定者によっても異なる可能性がある。最初は DBP や DEHP を添加していない試料で検出される微小なピークのイオン強度の 3 倍程度を検出限界として判別の目安とするのが適当であろう。選抜した試料を GC/MS で定量することにより、しだいに GC/MS による含有量と DART-TOF/MS のイオン強度の関係が明らかとなれば、より適当な目安値を設定することができる。このように本法は、極めて短時間で簡単にフタル酸エステルが 0.1% を超える可能性がある試料をスクリーニングし、分析の効率化を図ることができる。

結 論

DART-TOF/MS による測定は、前処理なしに試料を短時間装置にかざすだけで、試料中の可塑剤をイオン化し瞬時にマススペクトルを得ることができる。しかも、化合物の分子量が容易に推定されるため、PVC 中の可塑剤の検索が可能であり、またフタル酸エステル含有量が 0.1% を超える試料を見逃すことなくスクリーニング可能であるこ

とが示された。

今後わが国のフタル酸エステル規制が拡大されれば、フタル酸エステルを含有する玩具は大幅に減少すると予想される。そのため、DART-TOF/MS を用いて試料のスクリーニング後 GC/MS 定量を行えば、試験時間、試薬、労力などを大幅に削減できる。さらに、含有可塑剤の推定も一瞬のうちに行うことができ、フタル酸エステルの代替可塑剤の検索にも有効である。

このように、DART-TOF/MS は玩具中の可塑剤分析に極めて有用であり、新しい分析手段として今後の活用が期待される。

文 献

- 1) Kawamura, Y., Tagai, C., Maehara, T., Yamada, T. Additives in polyvinyl chloride and polyvinylidene chloride products. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **40**, 274-284 (1999).
- 2) Sugita, T., Hirayama, K., Nino, R., Ishibashi, T., Yamada, T. Contents of phthalate in polyvinyl chloride toys. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **42**, 48-55 (2001).
- 3) Abe, Y., Sugita, T., Wakui, C., Niino, T., Yomota, C., Ishiwata, H., Tanamoto, K., Maitani, T. Material labeling of soft plastic toys and plasticizers in polyvinyl chloride products. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **44**, 168-174 (2003).
- 4) 日本薬学会編 “衛生試験法・注解 2005” 東京, 金原出版, 2005, p. 608-610.
- 5) Cody, B. R., Laramée, A. J., Durst, D. H. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Anal. Chem.*, **77**, 2297-2302 (2005).
- 6) Petucci, C., Diffendal, J., Kaufman, D., Mekonnen, B., Terefenko, G., Musselman, B. Direct analysis in real time for reaction monitoring in drug discovery. *Anal. Chem.*, **79**, 5064-5070 (2007).
- 7) Bennett, J. M., Steiner, R. R. Detection of gamma-hydroxybutyric acid in various drink matrices via AccuTOF-DART. *J. Forensic Sci.*, **54**, 370-375 (2009).
- 8) Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y. Simple and rapid screening for psychotropic natural products using direct analysis in real time (DART)-TOFMS. *Yakugaku Zasshi (J. Pharm. Soc. Japan)*, **129**, 719-725 (2009).
- 9) Banerjee, S., Madhusudanan, P. K., Khanuja, P. S. S., Chattopadhyay, K. S. Analysis of cell cultures of *Taxus wallichiana* using direct analysis in real-time mass spectrometric technique. *Biomed. Chromatogr.*, **22**, 250-253 (2008).
- 10) Rothenbacher, T., Schwack, W. Rapid and nondestructive analysis of phthalic acid esters in toys made of poly(vinyl chloride) by direct analysis in real time single-quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **23**, 2829-2835 (2009).
- 11) Ackerman, K. L., Nooman, O. G., Begley, H. T. Assessing direct analysis in real-time-mass spectrometry (DART-MS) for the rapid identification of additives in food packaging. *Food Addit. and Contam.*, **26**, 1611-1618 (2009).
- 12) Morlock, G., Ueda, Y. New coupling of planar chromatography with direct analysis in real time mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1143**, 243-251 (2007).
- 13) Kawamura, Y., Tagai, C., Maehara, T., Yamada, T. Simultaneous determination method of additives in polyvinyl chloride. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **40**, 189-197 (1999).
- 14) Kawamura, Y., Mutsuga, M., Wakui, C., Maitani, T. Identification of unknown substances in polyvinyl chloride gloves containing non-phthalate plasticizers. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **43**, 215-220 (2002).

ニジマスコラーゲン $\alpha 2$ 鎖の主要 IgE エピトープ (報文・英文)

塩見一雄* 吉田沙織 澤口貴仁 石崎松一郎
食衛誌 51(4), 153~159 (2010)

魚類アレルゲンの1つとして同定されているコラーゲンのIgE エピトープを、ニジマスコラーゲン $\alpha 2$ 鎖をモデルとして検討した。ニジマスコラーゲン $\alpha 2$ 鎖の全長をカバーするオーバーラップタンパク質5種類(R1-5)を大腸菌で発現し、コラーゲンを認識する魚類アレルギー患者の血清を用いたイムノブロッティングによりIgE反応性を調べた。最も強いIgE反応性を示したR5タンパク質の全長をカバーするオーバーラップペプチド26種類(1-26)を合成し、患者血清を用いた蛍光ELISAを行ったところ、主要なIgEエピトープはペプチド16(領域941-960)に含まれると判断した。アミノ酸配列の比較および合成ペプチドのIgE反応性評価により、ペプチド16の領域は魚類コラーゲン $\alpha 2$ 鎖の共通のIgEエピトープであると考えられた。

* 東京海洋大学食品生産科学科

DART-TOF/MSを用いたポリ塩化ビニル中の可塑剤の検索およびフタル酸エステルのスクリーニング法の検討(報文)

阿部 裕* 山口未来 六鹿元雄 平原嘉親
河村麻衣子 花尻(木倉)瑠理 合田幸広 河村葉子
食衛誌 51(4), 160~169 (2010)

Direct analysis in real time (DART) イオン化装置にtime of flight/mass spectrometry (TOF/MS)を組み合わせたDART-TOF/MSを用いて、ポリ塩化ビニル(PVC)中の可塑剤の検索とフタル酸エステルのスクリーニング法を検討した。可塑剤40種をDART-TOF/MSで測定したところ、ほとんどの可塑剤でプロトン付加体の擬分子イオン[M+H]⁺が得られ、分子量が容易に推定された。また、PVC製シートおよび玩具中の可塑剤を測定したところ、それぞれの可塑剤に相当するマスペクトルが得られ、容易に可塑剤の検索ができた。さらに、DART-TOF/MSにおけるフタル酸エステルのイオン強度を検出限界または最適な目安値で選抜することにより、フタル酸エステル含有量が0.1%を超える試料を見逃すことなくスクリーニングできることを示した。DART-TOF/MS測定は操作が簡便で、瞬時に結果が得られるためPVC中の可塑剤の検索やフタル酸エステルのスクリーニングに有用である。

* 国立医薬品食品衛生研究所

瀬戸内海播磨灘で発生した有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamiyavanichii* と毒化ムラサキイガイの毒性と毒成分(報文)

相良剛史 谷山茂人 吉松定昭 高谷智裕
橋本多美子 西堀尚良 西尾幸郎 荒川 修*
食衛誌 51(4), 170~177 (2010)

2004年10~11月に、瀬戸内海播磨灘で最高4,960 cells/Lの密度で *Alexandrium tamiyavanichii* が観察された。同海域から分離した本種の天然藻体、ならびにそこから得た培養藻体の毒力は、それぞれ $6.25 \sim 15.4 \times 10^{-4}$ および $2.7 \sim 3.5 \times 10^{-4}$ MU/cell と、共に既報のものよりはるかに強かった。天然藻体の毒は、GTX5を主成分、GTX4を主要な副成分としており、既報や培養藻体(主成分GTX3)とは異なる珍しい組成を示した。同時期同海域で採取したムラサキイガイの毒力が13~28 MU/gと比較的高かったことから、*A. tamiyavanichii* は5,000 cells/L程度の低出現密度であっても二枚貝を高毒化させる危険性のあることが示唆された。

* 長崎大学水産学部

多種類の米中の総ヒ素定量法および無機ヒ素を分別定量するための硝酸部分分解法の検討(ノート・英文)

西村 勉 長岡(浜野)恵 榎原直樹
阿部 孝 前川吉明 米谷民雄*
食衛誌 51(4), 178~181 (2010)

前報で報告したうるち米中の総ヒ素定量法および無機ヒ素分別定量法について、多種類の米に応用できるように実験条件の検討を行い、作成した条件を用いて定量を行った。総ヒ素の定量では誘導結合プラズマ質量分析法において感度を向上させるために酢酸を添加し、ゲルマニウムを用いた内標準法により定量した。もち米ならびに有色米について、無機ヒ素分別定量のための硝酸部分分解法の抽出温度を検討した結果、100°Cにおいて90%を超える抽出率が得られた。うるち米、もち米、有色米の玄米ならびに精白米について、総ヒ素ならびに無機ヒ素の含有量を調査したところ、総ヒ素は0.04~0.54 mg/kg、無機ヒ素は0.02~0.41 mg/kgの範囲であった。米の色と総ヒ素ならびに無機ヒ素量には関係は見られなかった。分析結果から、市販米中の無機ヒ素濃度に対して注目する必要があると考えられた。

* 静岡県立大学食品栄養科学部

イオントラップ型GC/MSを用いた畜水産物を主原料とする加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討(ノート)

眞壁祐樹* 宮本文夫 橋本博之
中西希代子 長谷川康行
食衛誌 51(4), 182~195 (2010)

畜水産物を主原料とする加工食品中の残留農薬について一斉分析法を検討した。均一化した試料に酢酸エチルシクロヘキサン(1:1)および硫酸ナトリウムを加えて抽出、濃縮後、アセトニトリル/ヘキサン分配およびC18ミニカラムで脱脂し、グラファイトカーボン/PSAミニカラムで精製した。分析にはイオントラップ型GC/MSを使用し、スキャン法で測定した。スキャン法での測定が困難な農薬についてはMS/MS法でスキャン法と同時に測定した。試料4種(冷凍餃子、ウナギ蒲焼、コンビーフ、レトルトカレー)について292成分の添加回収試験(0.1 μ g/g添加)を行った結果、210(レトルトカレー)~262(冷凍餃子)成分が回収率70~120%の範囲であった。本法は畜水産物を主原料とする加工食品中の残留農薬検査に有用な分析法であると考えられる。

* 千葉県衛生研究所