調査・資料

ポリ塩化ビニル製品中の6種のフタル酸エステル試験法

(平成23年1月20日受理)

阿部 裕* 六鹿元雄 平原嘉親 河村葉子

Test Method for 6 Phthalates in Polyvinyl Chloride

Yutaka ABE*, Motoh MUTSUGA, Yoshichika HIRAHARA and Yoko KAWAMURA

National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga,
Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; *Corresponding author

A test method for 6 phthalates, bis(2-ethylhexyl)phthalate, dibutyl phthalate, benzyl butyl phthalate, diisononyl phthalate, diisodecyl phthalate and di-*n*-octyl phthalate, in polyvinyl chloride (PVC) was developed. GC/MS was used in the SIM mode for the separation and detection of phthalates. For preparation of the test solution, the extraction method with acetone-hexane mixture (3:7) and the dissolution method with tetrahydrofuran and ethanol were compared and it was confirmed that each method gave good recoveries. Dilution of the test solution was effective to reduce the influence of PVC. In a collaborative study with nine laboratories, the intra-laboratory variations showed good repeatability, but the measurements at some laboratories deviated widely. It appears that this method is unsuitable for the judgment of acceptability, but it may be suitable for the determination of phthalate content in PVC products.

(Received January 20, 2011)

Key words: ポリ塩化ビニル polyvinyl chloride (PVC); フタル酸ビス(2-エチルヘキシル) bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP); フタル酸ジブチル dibutyl phthalate (DBP); フタル酸ベンジルブチル benzyl butyl phthalate (BBP); フタル酸ジイソノニル diisononyl phthalate (DINP); フタル酸ジイソデシル diisodecyl phthalate (DIDP); フタル酸ジ-*n*-オクチル di-*n*-octyl phthalate (DNOP); 共同試験 collaborative study

緒言

フタル酸エステルは、フタル酸の2個のカルボン酸にさまざまなアルコールがエステル結合した化合物の総称である。プラスチック、特にポリ塩化ビニル(PVC)の可塑剤として汎用され、可塑剤生産量全体の80%以上を占める。なかでもフタル酸ビス(2-エチルヘキシル)(DEHP)はPVCとの相溶性が特に優れ独特な柔軟性を与えることから、現在でも可塑剤生産量の約60%を占める。

1990年代にフタル酸エステルの内分泌攪乱作用が問題となり、1997年に環境保護団体グリーンピースが世界中のPVC製玩具にフタル酸エステルが高濃度、高頻度に含有されることを発表した^{*1}。わが国でもPVC製玩具からDEHPやフタル酸ジイソノニル(DINP)が高濃度に検出され^{1), 2)}、乳幼児の暴露量推定のため調査が行われた³⁾。

DEHPには精巣・生殖・発生毒性、DINPには肝臓・腎

臓毒性とともに生殖毒性があり、乳幼児への暴露量がTDIを超える可能性がないとはいえないことから、2002年に厚生労働省はPVC製玩具へのDEHPの使用を禁止し、さらに口に入れることを本質とする玩具についてはDINPの使用も禁止した^{*2}。

一方欧州連合では、1999年に3歳以下の口に入れるPVC製玩具・育児用品へのDEHP、フタル酸ジブチル(DBP)、フタル酸ベンジルブチル(BBP)、DINP、フタル酸ジイソデシル(DIDP)およびフタル酸ジ-*n*-オクチル(DNOP)の使用が暫定禁止とされた。その後、2005年には子供用玩具・育児用品の可塑化された部分のDEHP、DBP、BBPの合計含有量を0.1%以下、そのうち口に入るものはDINP、DIDP、DNOPの合計含有量も0.1%以下と正式に決定した。また米国では、2008年に消費者製品安全性改善法(CPSIA)により、子供用玩具・育児用品のDEHP、DBP、BBP含有量各0.1%以下、口に入るものはDINP、DIDP、DNOP含有量も暫定的に各0.1%以下とされた。

* 連絡先 y-abe@nihs.go.jp

国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上野賀 1-18-1

*1 Greenpeace report: Greenpeace Research Laboratories Technical Note 06/97 (1997)

*2 厚生労働省医薬局食品保健部長通知「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 食発第0802005号

Table 1. Blending ratio of phthalate in PVC sheets

Sheet	Blending ratio (%)						
	DBP	DEHP	DINP	BBP	DIDP	DNOP	DMP
A	0.2	0.2	0.2	—	—	—	—
B	0.2	0.2	0.2	—	—	—	20
C	1.0	1.0	1.0	—	—	—	17
D	—	—	—	0.2	0.2	0.2	—
E	—	—	—	0.2	0.2	0.2	20
F	—	—	—	1.0	1.0	1.0	17
G	—	—	—	—	—	—	—
H	—	—	—	—	—	—	20

—: Not blended

欧米におけるフタル酸エステルの規制強化に伴い、わが国でも規格改正が検討された。その結果、指定玩具の可塑化された材料における DEHP, DBP, BBP 含有量各 0.1% 以下、乳幼児の口に接することを本質とする部分の可塑化された材料については DINP, DIDP, DNOP も含有量各 0.1% 以下という改正案がまとめられた^{*3}。そこで本研究では、前報⁴⁾ および通知法^{*4}をもとに改正案に対応する 6 種のフタル酸エステル試験法を検討した。

実験方法

1. 試料

PVC ペレットおよび粉末：可塑剤無添加

フタル酸エステル含有シート：Table 1 に示すように、PVC ペレットに DBP, DEHP, DINP, BBP, DNOP および DIDP を 0%, 0.2% または 1.0% 配合し、加熱押出しにより厚さ約 0.3 mm の 8 種類のシートを成型した。そのうち 5 種類には、軟質 PVC とするためフタル酸ジメチル (DMP, 大八化学(株)製) も約 20% 配合した。

2. 試薬

(1) フタル酸エステル標準品および標準溶液

DBP および DEHP: 純度 99.5% 以上, BBP: 99.0% 以上, DINP (CAS No. 28553-12-0) および DNOP: 98.0% 以上, 以上フタル酸エステル試験用, 和光純薬工業(株)製
DIDP (CAS No. 26761-40-0): 東京化成工業(株)製

フタル酸エステル標準溶液：各フタル酸エステル標準品をアセトンで溶解して 1,000 µg/mL とし、これらを混合しアセトンで適宜希釈して標準溶液とした。

(2) その他試薬

アセトン：残留農薬・PCB 分析用, シグマアルドリッチジャパン(株)製

ヘキサン, エタノール：残留農薬・PCB 試験用, テトラヒドロフラン：HPLC 用, 以上和光純薬工業(株)製

3. 装置

ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS): 6890 Series PLUS, 5973 mass selective detector, 以上 Agilent Technologies 社製

4. GC/MS 測定条件

カラム：DB-5MS (30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 µm, Agilent Technologies 社製), カラム温度：100℃→20℃/min→320℃ (10 min), 注入口温度：250℃, トランスファーライン温度：280℃, 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：SIM, 定量イオンおよび確認イオン (m/z): DBP (149, 223), BBP (149, 206), DEHP (149, 279), DNOP (279, 149), DINP (293, 149), DIDP (307, 149)

5. 試験溶液の調製

(1) 抽出法 細切した試料約 1.0 g を精秤して 100 mL 容共栓付三角フラスコに採り、アセトン-ヘキサン混液 (3:7) 50 mL を加えて振り混ぜた後、密栓をして約 40℃ で一晩放置した。冷後ろ紙 (No. 5C) を用いてろ過し、ろ液およびアセトン洗液を 100 mL 容メスフラスコに入れ、アセトンで定容し抽出液とした。抽出液をアセトンで 10 倍に希釈し試験溶液とした。

(2) 溶解法 細切した試料約 1.0 g を精秤して 200 mL 容共栓付三角フラスコに採り、テトラヒドロフラン 15 mL を加え試料を溶解した。溶解が不十分な場合には加温した。溶解後、攪拌しながらエタノール 70 mL を滴下し、析出したポリマーをろ紙 (No. 5C) を用いてろ過した。ろ液およびエタノール洗液を 100 mL 容メスフラスコに入れ、エタノールを加えて定容し溶解液とした。溶解液をアセトンで 10 倍に希釈し試験溶液とした。

両法とも、フタル酸エステルの濃度が高すぎる場合にはさらに希釈して試験溶液とした。

6. 共同試験

フタル酸エステル含有シートを用い、9 機関において上記の抽出法と溶解法各 3 試行で試験溶液を調製し 6 種のフタル酸エステルを定量した。

結果および考察

1. GC/MS 測定に関する検討

前報⁴⁾ ではスキャンモードにより測定を行ったが、DIDP の検出感度が低いことから SIM モードで測定することとした。6 種のフタル酸エステルのスキャンモード (m/z 40~360) におけるマススペクトルは、Fig. 1 に示すようにいずれも m/z 149 にフタル酸に由来するベースイオンを示し、 m/z 200 以上に強度は低いそれぞれの化合物に特徴的なフラグメントイオンが見られた。

6 種を混合したフタル酸エステル標準溶液の SIM クロマトグラムを Fig. 2 に示した。ベースピークである m/z 149 の SIM クロマトグラムには、DBP, BBP, DEHP および DNOP は保持時間 7.3, 9.1, 9.8 および 10.5 分にそれぞれ

*3 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」平成 22 年 9 月 6 日 食安発 0906 第 1 号

*4 厚生労働省医薬食品局食品保健部基準課長通知「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

Fig. 1. Mass spectra of the 6 phthalates

Fig. 2. SIM chromatograms of the 6 phthalates (1 µg/mL)

Table 2. Determination limit of DNOP, DINP and DIDP at m/z 149 and quantitation ion

	DNOP	DINP	DIDP
m/z 149	0.05	0.2	1.0
Quantitation ion	0.05 (m/z 279)	0.2 (m/z 293)	0.5 (m/z 307)
unit: µg/mL			

れ単一ピークとして出現した。しかし、DINPおよびDIDPは10.5～11.8分にそれぞれのピーク群が重複し、またDNOPもDINPの一部と重複した。そこで、DBP、BBPおよびDEHPについては m/z 149、DNOP、DINPおよびDIDPについてはそれぞれに特徴的な m/z 279、293および307を定量用イオンとすることにより、すべての分別定量が可能であった。

DNOP、DINPおよびDIDPでは、定量用イオンのピーク強度は m/z 149に比べ低いものの、ベースラインのバックグラウンドレベルも低いことから、 m/z 149の場合とほぼ同等の定量限界が得られた (Table 2)。また本条

Fig. 3. Comparison of contents of sheet C and F between extraction method and dissolution method

Fig. 4. Influence of contamination level of PVC in the test solution on GC/MS analysis

+ : 2 times dilution, ◇ : 5 times dilution, □ : 10 times dilution, △ : 20 times dilution, and × : 50 times dilution of PVC extraction and ○ : acetone

件における各化合物標準溶液の定量限界は、DBP 0.01 µg/mL、BBP および DEHP 0.02 µg/mL、DNOP 0.05 µg/mL、DINP 0.2 µg/mL、DIDP 0.5 µg/mL であり、定量限界～10 µg/mL の範囲では直線もしくは曲線の検量線となった。

なお、DINPは製造方法の違いによりCAS No. 28553-12-0と68515-48-0の2種類があり^{2), 4)}、また、DIDPも26761-40-0と68515-49-1 (標準品 AccuStandard 社製)の2種類があるが、ピークの出現範囲や形状に大きな差異は見られなかった。そこで本研究では、主に流通しているCAS No. 28553-12-0および26761-40-0を用いることとした。

2. 試験溶液の調製法

試験溶液の調製法としては、前報⁴⁾に準じた抽出法と溶解法についてフタル酸エステル含有シートを用いて検討した。軟質シートCおよびFの結果をFig. 3に示した。フタル酸エステルの定量値はいずれも同程度で両者に差は見

Table 3. Recoveries of 6 phthalates from spiked PVC by extraction method and dissolution method

Phthalate	Extraction method		Dissolution method	
	Spiked 0.1%	Spiked 0.5%	Spiked 0.1%	Spiked 0.5%
DBP	98.2±4.8	97.3±6.1	93.3±1.1	104.8±3.2
BBP	95.2±2.7	96.8±5.6	97.7±2.4	107.2±0.5
DEHP	96.0±2.9	96.3±6.3	93.9±3.5	103.0±2.4
DNOP	99.7±3.0	97.8±1.7	93.2±0.5	101.2±2.6
DINP	97.8±3.1	98.3±4.7	103.3±4.2	104.0±1.4
DIDP	102.2±4.3	103.0±1.8	97.4±3.7	101.0±4.7

Mean±SD of 4 or 5 trials

Table 4. Result of collaborative study using extraction method and dissolution method

Type of sheet	Phthalate	Extraction method			Dissolution method		
		Mean (%)	RSD _r (%)	RSD _R (%)	Mean (%)	RSD _r (%)	RSD _R (%)
Hard 0.2% blending	DBP	0.15	5.0	7.7	0.14	4.8	16.0
	DEHP	0.14	6.5	11.5	0.13	7.8	39.7
	DINP	0.19	10.0	22.0	0.15	12.8	23.7
	BBP	0.16	4.6	18.1	0.15	6.1	21.3
	DNOP	0.20	5.8	36.9	0.18	7.5	32.4
	DIDP	0.17	5.2	32.3	0.15	8.0	25.9
Soft 0.2% blending	DBP	0.20	4.7	21.4	0.18	5.0	35.8
	DEHP	0.20	3.7	12.8	0.19	6.2	29.2
	DINP	0.27	5.4	20.3	0.26	6.4	24.8
	BBP	0.23	4.7	21.4	0.22	5.2	17.8
	DNOP	0.24	4.9	14.8	0.23	4.5	26.4
	DIDP	0.25	6.0	31.4	0.21	5.4	24.6
Soft 1.0% blending	DBP	0.88	2.9	7.7	0.86	5.6	18.9
	DEHP	0.66	7.8	32.3	0.67	9.6	36.3
	DINP	0.82	7.1	15.0	0.74	16.0	32.2
	BBP	0.90	5.1	12.2	0.92	6.9	21.9
	DNOP	0.62	10.7	17.3	0.64	13.0	31.3
	DIDP	0.76	12.7	12.9	0.73	18.0	33.2

Mean: Mean of observed value

RSD_r; Repeatability relative standard deviation intra-laboratory, RSD_R; Reproducibility relative standard deviation inter-laboratory

Hard 0.2% blending: Sheet A and D, Soft 0.2% blending: Sheet B and E, Soft 1.0% blending: Sheet C and F

られなかった。また他のシートにおいても測定値および標準偏差はほぼ同程度であった。

一方、抽出法、溶解法ともに測定値のばらつきが見られたことから、試験溶液中に混在するPVCの影響が疑われた。そこで、フタル酸エステルを含まないPVCの抽出液をアセトンで2, 5, 10, 20および50倍に希釈した溶液を用いて1, 2および5 µg/mLのフタル酸エステル溶液を調製し、アセトンのみで調製した標準溶液とピーク面積を比較した (Fig. 4)。その結果、PVCの抽出液の配合割合が高いほど各標準溶液の定量イオンのピーク面積は大きくなり、これは、試料から試験溶液に混入するPVCのマトリックス効果が原因であることが示唆された。そこで、PVCの混入量を低減させるため、抽出や試験溶液の溶媒の種類や比率を検討し、抽出液の固相抽出カートリッジなどによる精製も試みたが有効な方法は見いだせなかった。そのためPVCの影響を低減させる手段として試験溶液はできるだけ希釈することが有効と考えられた。

なお、DBPやDEHPは環境中に広く分布していることから、開封後時間を経た溶媒や測定装置の汚染などにより操作ブランクが高くなることがある。そこで、空試験を行いこれらのピーク面積が定量限界の1/2以下であることを確認してから測定を行った。

3. 添加回収試験

可塑剤無添加のPVC粉末に各フタル酸エステルを0.1または0.5%になるように添加し、よく混合して30分間放置後回収試験を行った。Table 3に示すように、抽出法では95.2~103.0%、溶解法では93.2~107.2%といずれも良好な回収率が得られ、再現性も良好であった。

本法におけるフタル酸エステルの試料あたりの定量限界は、DBP 10 µg/g、BBPおよびDEHP 20 µg/g、DNOP 50 µg/g、DINP 200 µg/g、DIDP 500 µg/gであった。検出感度が低いDINPおよびDIDPではそれらの規格値である0.1% (1,000 µg/g)の1/5および1/2であるが、その他のフタル酸エステルは1/20以下まで定量可能であった。

また、高濃度の DINP あるいは DIDP を測定する際、他方の微小なピークが見られた。これは、DINP および DIDP は不純物として互いを 1% 程度含有するためと考えられた。

4. 共同試験

9 ヶ所の試験機関において、フタル酸エステル含有シートを用い抽出法および溶出法によりフタル酸エステル含有量を測定した。シートの種類毎に各フタル酸エステルの平均測定値、機関内および機関間の相対標準偏差 (RSD_r および RSD_R) を Table 4 に示した。

機関内相対標準偏差は 2.9~18.0% とほぼ良好であり、定量法として有用であると考えられた。一方、一部機関で測定値がばらつくことがあり、そのため機関間相対標準偏差は、PVC シートの種類、フタル酸エステルの種類や含有量、試験溶液の調製法の違いによらず機関内相対標準偏差に比べ 7.7~39.7% と大きかった。このように測定値にばらつきが見られた原因は試験溶液中に共存する PVC による測定装置の汚染や GC/MS への試料注入時のマトリックス効果によるものと推定された。

結 論

指定玩具の可塑化された材料におけるフタル酸エステルの規格改正に伴い、その改正案に対応する試験法の確立を目的に、PVC 中の 6 種のフタル酸エステル試験法を検討した。試験溶液の調製に前報の抽出法および溶解法を準用し、GC/MS の測定条件等を検討するとともに、PVC 粉末への添加回収試験を行い良好な結果を得た。つづいて、フタル酸エステル添加濃度既知の PVC シートを用いて 9 機関の共同試験により本法を評価したところ、回収率や機関内再現性は良好であったが、一部機関の測定値がばらつくことがあり、その結果より、本法をフタル酸エステルの合否判定に用いることは難しいことが示唆された。このばらつきは、フタル酸エステルを GC/MS で分離・検出する際に、試験溶液に混入した PVC のマトリックス効果により生じた測定誤差が原因であり、そのマトリックス効果は装置の状態等により機関ごとに異なることも機関間のばらつきを大きくする要因となっていた。一方で、そのマト

リックス効果を抑えるためには、試験溶液を希釈することが有効であることも明らかとなった。これらの結果から厚生労働省は、試験溶液調製法や GC/MS 条件は本法を採用し、判定のみを定量値を求める方式から、規格値に相当する標準溶液と試験溶液の GC/MS データを比較するという方式に変更した試験法を通知した^{*5}。以上より、本研究の成果は、上記通知試験法の根幹部分をなすものであり、非常に有用であったと評価できる。また、今回提案した定量法については、合否判定に適用するのは難しいものの、通知法で不適と判定された試料中のフタル酸エステル含有量を明らかにする方法として十分な実用性を有するものと考えられた。

謝 辞

本研究にご協力いただいた名古屋市衛生研究所、(財)化学技術戦略推進機構、(財)化学物質評価研究機構、(財)食品環境検査協会、(財)東京顕微鏡院、(財)日本食品分析センター、(財)日本冷凍食品検査協会、(社)日本海事検定協会に深謝いたします。

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 (2000).
- 3) Sugita, T., Kawamura, Y., Tanimura, M., Matsuda, R., Niino, R., Ishibashi, T., Hirabayashi, N., Matsuki, Y., Yamada, T., Maitani, T. Estimation of daily oral exposure to phthalates derived from soft polyvinyl chloride baby toys. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (J. Food Hyg. Soc. Japan), **44**, 96-102 (2002).
- 4) Kawamura, Y., Mutsuga, M., Wakui, C., Tanamoto, K. Test method for di(2-ethylhexyl)phthalate and diisononyl phthalate in polyvinyl chloride products. *Nippon Shokuhin Kagaku Gakkaishi* (Jpn. J. Food Chem.), **9**, 101-106 (2002).

^{*5} 厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知 ‘おもちゃにおけるフタル酸エステルの試験法について’ 平成 22 年 9 月 6 日 食安発 0906 第 4 号