

大気中高分子量フタル酸エステルの分析*

長谷川 敦 子**

キーワード

- ① LC/MS ②フタル酸ジイソノニル ③フタル酸ジイソデシル
④フタル酸ジイソトリデシル ⑤大気汚染

要 旨

プラスチック添加剤であるフタル酸ジイソノニル (DINP), フタル酸ジイソデシル (DIDP), フタル酸ジイソトリデシル (DITP) について, 液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) による環境中化学物質測定の実例を紹介する。フタル酸エステル類をはじめ環境中化学物質の定量には GC/MS を用いることが多い。しかし DINP などは, 比較的分子量が大きく難揮発性であるうえ多数の異性体混合物で, ガスクロマトグラフで精度よい分析を行うことは困難であった。LC/MS を用いることによって空気中の DINP などを簡易に精度よく定量することができる。

1. はじめに

フタル酸ジイソノニル (DINP) はフタル酸エステル類の中でも需要が多く, 各種シートやフィルム用に使用されるほか, 乳幼児の玩具や瓶詰め食品のシール用樹脂から検出例が多数報告されている^{1,2)}。これらの報告では, (DINP) はガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) によって分析されていた。フタル酸エステルのなかでも比較的分子量が小さく異性体を持たないフタル酸ジブチル (DBP), フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) などは GC/MS 分析で1本のピークを生じ, 精度よい測定が可能である。しかし DINP は DBP, DEHP などとは違って多数の異性体混合物であり, GC/MS で分析しようとするときカラム温度を非常に高温にする必要があるうえクロマト上に多

数のピークを生じ, 精度よい定量は困難であった。1996年に環境庁 (現環境省) が, 全国で GC/MS による DINP 環境大気中濃度調査を実施したが, 全検体不検出 (<72ng/m³) であった³⁾。

液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) は難揮発性, 高極性物質や熱に不安定な物質など, GC/MS では分析困難であった化学物質を測定対象にすることができる分析方法で, 近年装置の急速な性能向上により複雑で未知の共存物質を有する環境試料への応用が検討され始めた⁴⁾。すでに農薬類や内分泌攪乱化学物質⁵⁻¹⁰⁾, 臭素化難燃剤の測定手法¹¹⁾などが報告されており, 従来法では精度, 感度が不十分であった化学物質を環境中から検出できるようになった。筆者も大気中 DINP などの分析法を報告してきた¹²⁻¹³⁾。ここでは

* Determination of Phthalate esters in the Atmosphere

** Atsuko HASEGAWA (神奈川県環境科学センター) Kanagawa Environmental Research Center

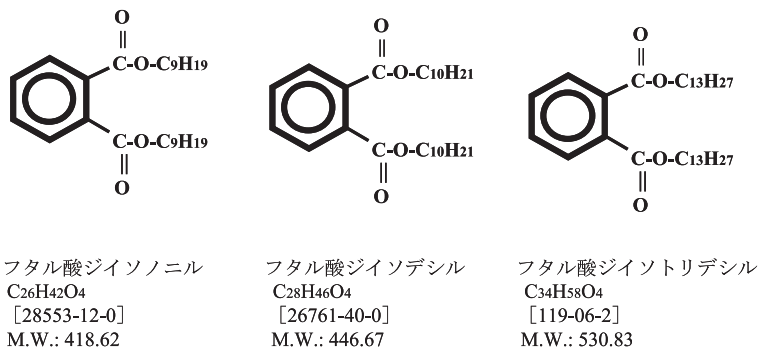


図1 対象物質

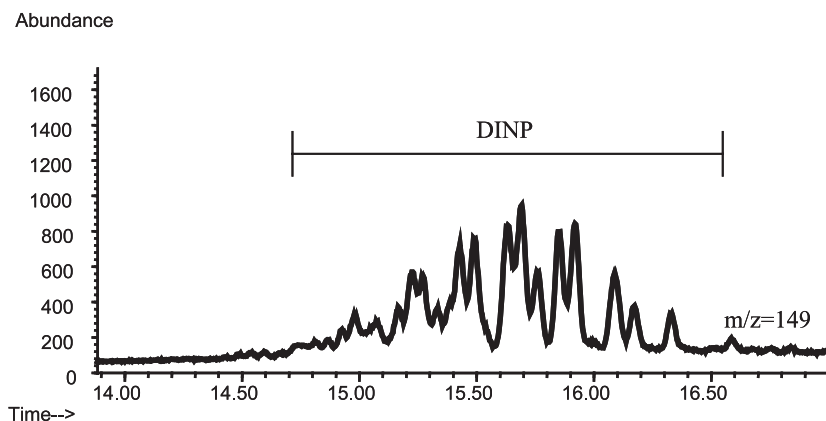


図2 GC/MSによるDINPの測定例(カラム HP-1 30 m×0.32 mmφ×0.25 μm 60°C (2 min) -20°C/min-240°C-5°C/min-280°C He 2 mL/min constant flow)

DINP, フタル酸ジイソデシル(DIDP), フタル酸ジイソトリデシル(DITP)について, LC/MSを用いた環境中化学物質測定の実例を紹介する。

2. 対象物質

DINP, DIDP, DITP は, 図1に示すような構造で水に不溶の液体である。平均分子量はそれぞれ418.62, 446.67, 530.83であるが, もっとも存在比率が高い分子の分子量は418, 446, 530である。

3. GC/MSによる測定

対象物質のうち, DINPをGC/MSで測定したときのSIMクロマトグラムを図2に示す。このように多数の異性体ピークが生じるため, 定量のためには主要なピークを選択して計算するなどの工夫が必要となる。このため精度よい定量は困難であった。DINPより分子量が大きいDIDP, DITPのGC/MS分析は実施していないが, 分析はさら

に困難であると考えられる。

4. LC/MS測定条件の検討

4.1 試薬および器具

各標準物質はアセトニトリルに溶解して標準溶液を調製した。操作ブランクが認められたため, 試料処理に用いるガラス器具はすべて使用前にアセトンで洗浄して用いた。

4.2 装置

液体クロマトグラフはAgilent製HP1100シリーズ, カラムは昭和電工製Shodex Asahipack GF310HQ 4 D (3.5μm 4.6mm×150mm), 移動相はアセトニトリルを使用した。質量分析計はApplied Biosystems MDS SCIEX製API3000を用い, イオン化は大気圧化学イオン化法(APCI)で行い, MRM(multiple reaction monitoring)モードで定量を行った。装置に供給する窒素ガス, 純空気はカ

表 1 LC/MS の測定条件

HPLC	(Agilent1100)			
Column	Shodex Asahipack GF310HQ 4 D			
	(3.5 μ m 4.6mm \times 150mm)			
Mobile phase	Acetonitrile	200 μ L/min		
Oven temperature	40 $^{\circ}$ C			
Injection volume	10 μ L			
MS/MS	(API3000)			
Ion source	Heated nebulizer			
Ionization mode	Positive-APCI			
Curtain gas	nitrogen	8 psi		
Collision gas	nitrogen			
Nebulizer current	3 μ A			
Ion source temperature	300 $^{\circ}$ C			
MRM monitoring ion	DINP	m/z=419 \rightarrow 57	59V	collision energy
	DIDP	m/z=447 \rightarrow 57	59V	
	DITP	m/z=531 \rightarrow 57	59V	
	DEHP- <i>d</i> 4	m/z=395 \rightarrow 153	27V	

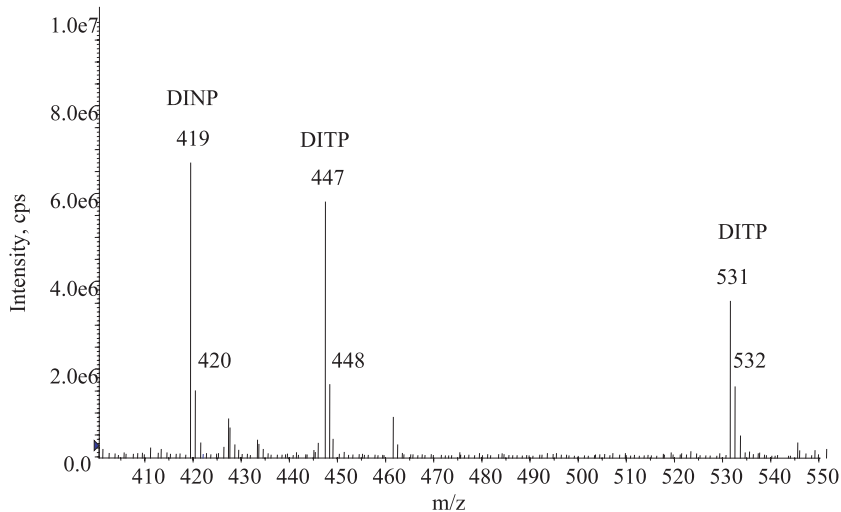


図 3 各物質のスペクトル

ケンジェネックス製 窒素/ZERO AIR 発生装置で調製した。その他の条件を表 1 に示した。

4.3 モニターイオンの選択

シリンジポンプを用いて各物質をスキャンモードで測定し、得られた質量スペクトルを図 3 に示した。いずれの物質もプロトンがひとつ付加した [M+H]⁺イオンを生成した。もっとも強度が高いイオンはそれぞれの化合物のもっとも存在比

率が高い分子から生成したイオンで、DINP は m/z 419、DIDP は m/z 447、DITP は m/z 531 であった。これらのイオンを前駆イオンとし、コリジョンセルでコリジョンガスと衝突させて生成したプロダクトイオンのスペクトルを図 4 に示した。

プロダクトイオンのうち、いずれも m/z=57 を選択して LC/MS/MS-MRM 測定を行った。前駆イオンを直接モニターする場合に比較して、プロダクトイオンは強度が低下するが、一段階選別が加

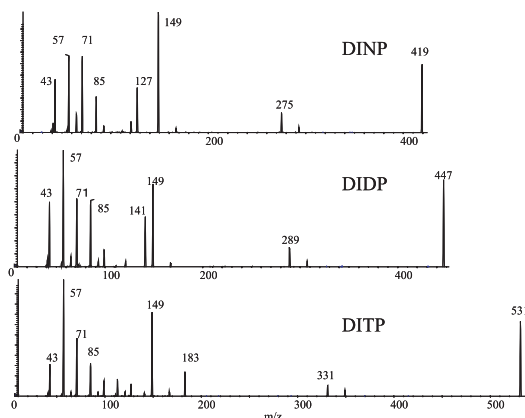


図4 各物質の $[M+H]^+$ イオンから生成したプロダクトイオンのスペクトル

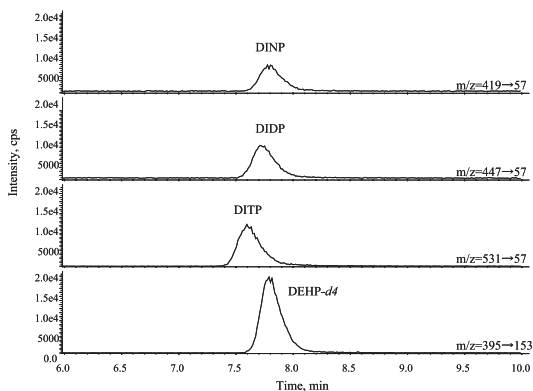


図5 標準物質のLC/MS/MS-MRM クロマトグラム
DINP, DIDP, DITP 各 20 $\mu\text{g/ml}$, DEHP-*d*4 10 $\mu\text{g/ml}$

えられることによって選択性が向上する。標準物質のMRMクロマトグラム例を図5に示した。なお、DEHP-*d*4を内部標準とした相対検量線は、3物質とも10から200ng/mlの範囲で相関係数0.999以上の良好な直線性を示した。検量線例を図6に示す。

5. 大気試料

5.1 試料採取法

直径47mmの石英繊維ろ紙をアセトンで洗浄し、自然乾燥させたものを大気試料採取に用いた。洗浄にはソックスレー抽出器を用いるとよいが、桐山ルート、ディスク型固相抽出カートリッジ用抽出器などにろ紙をセットし、アセトンを流下してもよい。いずれもブランク値を確認し、高い場合は再度洗浄する必要がある。金属およびテフロ

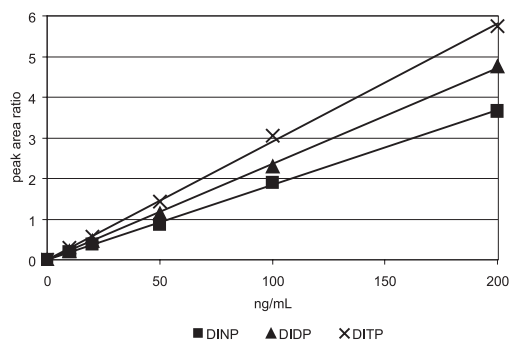


図6 対象物質の検量線

ン製のろ紙ホルダーをアセトンで洗浄し、乾燥させてから石英繊維ろ紙を装着した。ろ紙ホルダーをダイアフラムポンプとガスメータに接続し、大気を12~14 l/minで24時間通気させて試料採取した。

5.2 試料前処理法

試料採取した石英繊維ろ紙をディスク型固相抽出カートリッジ用抽出器などにセットし、アセトン10mlをゆっくり流下して対象物質を抽出した。抽出液に内標準としてDEHP-*d*4体を添加し、高純度窒素を吹きつけてほとんど乾固したものにアセトニトリル1.0mlを加えたものを試験溶液とした。濁りが生じた場合は遠心分離して上澄みを分析に供した。また未使用の洗浄済み石英繊維ろ紙を同様に処理したものを空試験溶液とし、操作ブランクを測定した。

既報^{12,13)}では大気試料を採取したろ紙をアセト

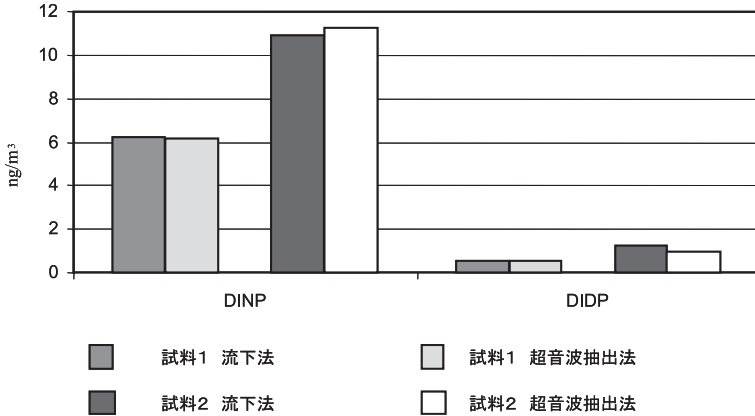


図7 大気試料抽出法と定量値の関係

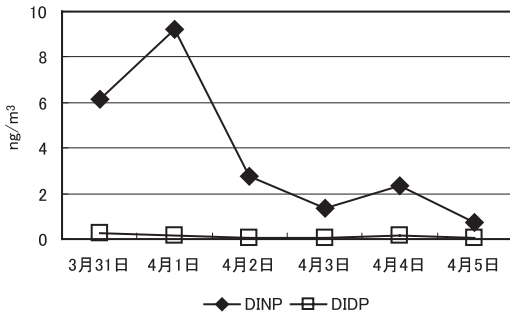


図8 大気中DINP, DIDPの測定結果(神奈川県平塚市)

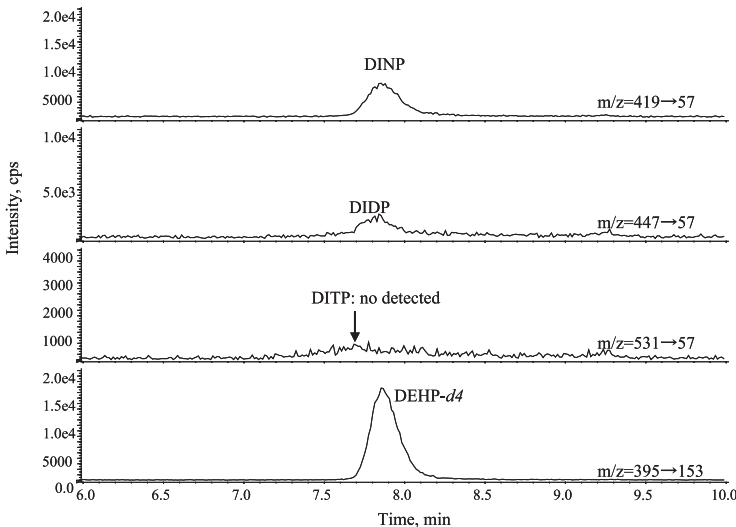


図9 環境大気試料のLC/MS/MS-MRM クロマトグラム DEHP-d4 10 μg/mL

ニトリルで直接超音波抽出したが、抽出液に粉じんやろ紙クズが混入するためそのままではLC/MSで測定できなかった。ろ過すると操作ブランクが上昇するおそれがあるため遠心分離して上澄みを分析に供していた。ディスク型固相抽出カートリッジ用抽出器などにろ紙をセットしてアセトンをゆっくり滴下すると粉じんなどを混入させずに目的物質を抽出することができた。

図7に同日同地点で採取した大気試料を既報の超音波抽出法と今回の流下法で処理し、分析した値の比較を示す。ただしDITPは実試料から検出されなかった。このように両抽出法による値は良好な一致を示した。流下法の方が作業が簡易で効率的なので流下法を採用した。

6. 実試料の測定

神奈川県平塚市内の大気中DINPなどの濃度を測定した結果を図8に示す。このようにDINPが0.7~9.2ng/m³、DIDPが0.1~0.3ng/m³検出された。DITPは検出されなかった。このほか神奈川環境科学センター屋内空気からも同レベルのDINP, DIDPが検出されている¹³⁾。図9に環境大気試料のクロマトグラム例を示す。

7. LC/MS-SIM(selected ion monitoring)測定

LC/MS/MSでの測定には高価なタンデムMSが必要である。定量精度が若干落ち、分析時間が3倍以上かかるが、より安価なLC/シングルMSでSIM測

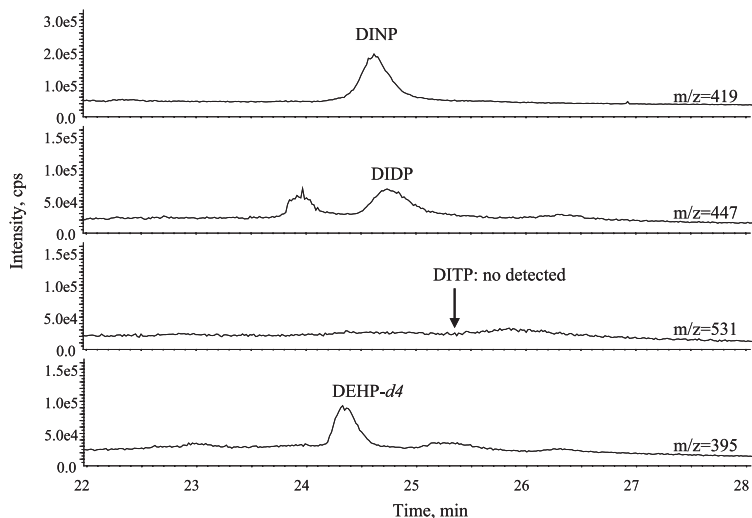


図10 環境大気試料のLC/MS-SIMクロマトグラム DEHP-d4 10 µg/ml

定を行っても対象物質を測定することができる。

LC/MS/MS測定で前駆イオンとした $[M+H]^+$ イオンをモニタリングイオンとしてLC/MS-SIM測定を試みたところ、アセトニトリル—水系のグラディエント分析を行うことによって環境大気試料中の目的成分を分離定量することができた¹²⁾。LC/MS/MS-MRM測定と比較するとクロマトグラムのベースラインが高くなったうえ、共存物質との分離がやや不十分であったが、目的物質を定量することができた。

図10に図9と同じ試料をLC/MS-SIM測定したクロマトグラムを示す。使用カラムは同じだが、移動相条件は水／アセトニトリルのグラディエントで、5%アセトニトリル／水で3分保持し、20分で100%アセトニトリルにした。流速は0.2ml/minである。LC/MS/MS-MRMでは移動相の溶媒組成を変化させなかったため1測定あたりの所要時間は12分程度であったが、LC/MS-SIMでは40分程度となった。またクロマトグラムのベースラインが上昇し、ピーク形状がやや乱れるなど共存物質の影響を受けていると見られるが、対象物質を定量することができた。

8. ま と め

LC/MSを用いるとGC/MSには不向きな化学物質についても環境試料の微量分析ができることを大気中DINPなどを例にして報告した。LC/タン

DEM MSを用いると選択性が高く、高精度の測定を効率的に行うことができた。より安価なLC/シングルMSの場合は若干精度や効率が低下するが、環境測定は十分可能である。ただしDINPの操作ブランクが比較的高かったため、一連の分析操作において、必ず操作ブランクを測定してそのレベルを確認することと、精度の向上のためには、試料の分析値から操作ブランク値を差し引くことが必要になると考えられる。測定した実試料のすべてからDINP、DIDPが検出されたことから、これらの物質が広く人の生活環境中の空気中存在していることがわかった。このようにLC/MSを用いることによって、GC/MSによる測定だけではうかがい知れなかった環境中化学物質の実態を知ることができる。

9. 謝 辞

本研究は環境省の化学物質環境汚染実態調査の一環でLC/MSによる環境中化学物質測定を進める事業として実施されました。ご協力いただいた環境省環境安全課に感謝します。

一 文 献

- 1) 杉田たきこ, 平山クニ, 新野竜太, 石橋亨, 山田隆: ポリ塩化ビニル製玩具中のフタル酸エステル含有量. 食衛誌, **42**, 48-55, 2001
- 2) Hirayama K., tanaka H., Kawana K., Tani T., Nakazawa H.: Analysis of plasticizers in cap-sealing resins for bottled

- foods. *Food Addit. Contam.*, **18**, 357–362, 2001
- 3) 平成9年度版 化学物質と環境：環境庁, pp.154, 1997
 - 4) 環境庁：LC/MSを用いた化学物質分析法開発マニュアル, 2000
 - 5) Asperger, A., Efer, J., Koal, T., Engewald, W.: On the signal response of various pesticides in electrospray and atmospheric pressure chemical ionization depending on the flow-rate of eluent applied in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **937**, 65–72, 2001
 - 6) Asperger, A., Efer, J., Koal, T., Engewald, W.: Trace determination of priority pesticides in water by means of high-speed on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry using turbulent-flow chromatography columns for enrichment and a short monolithic column for fast liquid chromatographic separation. *J. Chromatogr. A*, **960**, 109–119, 2002
 - 7) 滝埜昌彦, 代島茂樹, 山口憲治, 中原武利：液体クロマトグラフィー／エレクトロスプレーイオン化質量分析法による河川水中農薬類の一斉分析. *分析化学*, **50**, 309–317, 2001
 - 8) 石井善昭, 沖田智, 尹順子：液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法による環境水中エストロゲンの定量. *分析化学*, **49**, 753–758, 2000
 - 9) 沖田智, 石井善昭, 尹順子：固相抽出／液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法による環境水中のカルベンダジムとチアベンゾダールの分析方法. *分析化学*, **50**, 127–132, 2001
 - 10) 上堀美知子：LC/MS/MSによる環境水中アミトロールの分析, *環境化学*, **13**, 445–452, 2003
 - 11) 平成14年度化学物質分析法開発調査報告書：環境省環境保健部環境安全課, pp.243–249, 2003
 - 12) 環境省：平成12年度化学物質分析法開発調査報告書（その1）, p.98, 2001
 - 13) 長谷川敦子：液体クロマトグラフ／タンデム質量分析法による大気中のフタル酸エステル類の定量, *分析化学*, **52**, 15–20, 2003