

空气中フタル酸エステル類及び有機リン酸エステル類の分析法

齋藤育江*, 大貫文*, 瀬戸博*, 上原真一*, 藤井孝**

Analysis of Phthalates and Organophosphate Esters in Air Samples

Ikue SAITO*, Aya ONUKI*, Hiroshi SETO*, Shin-ichi UEHARA* and Takashi FUJII**

A method for the determination of airborne phthalates and organophosphate esters in a single-step sampling and extraction procedure followed by quantitation by GC-MS and GC-FPD is described.

Air sampling was carried out using a quartz fiber filter for the first stage and a solid phase extraction disc (Empore™ C18) for the second stage at a flow rate of 10 liters/min for 24 hours. The collected chemicals were obtained by ultrasonic extraction with acetone. The extract was concentrated under a stream of N₂, and then the phthalates were analyzed by GC-MS and organophosphate esters by GC-FPD. The break through of 11 phthalates and 19 organophosphate esters from the second stage filter did not occur when 14 m³ of air was passed through at a flow rate of 10 liters/min. The sum of the recovery of these compounds found in the first and the second stage filters after air passed through were 80-101%. The detection limits were 0.5-5.0 ng/m³ for GC-MS except for di-n-butyl phthalate (15 ng/m³) and di-2-ethylhexyl phthalate (10 ng/m³), 1.0-4.0 ng/m³ for GC-FPD.

Concentrations of these compounds were measured in a newly-built house. Seven phthalates and 9 organophosphate esters were detected in the indoor air. Among them, higher levels were shown by di-2-ethylhexyl phthalate and di-n-butyl phthalate, 1046 ng/m³ and 871 ng/m³, respectively.

Keywords: フタル酸エステル phthalate, 有機リン酸エステル organophosphate ester, 可塑剤 plasticizer, 有機リン系農薬 organophosphorous pesticide, 有機リン系難燃剤 organophosphate flame-retardant, 内分泌攪乱化学物質 endocrine disrupter, 室内空気 indoor air, 新築住宅 new-built house

緒言

フタル酸エステル類は、主にプラスチックの可塑剤として年間約42万トン（平成11年）生産され¹⁾、内分泌攪乱作用を有することから、食品の容器包装あるいは医療器具からの溶出が問題となっている。

有機リン酸エステル類は、主に農薬及び難燃剤・可塑剤として使用され、農薬のマラチオンには、環境ホルモン様作用が知られている^{2,3)}。また、有機リン系農薬がコリンエステラーゼ阻害による神経毒性を有することはよく知られているが、有機リン系難燃剤・可塑剤の中にも同様の毒性^{4,5)}及び遅発性の神経毒性^{6,7)}を示す物質がある。

これらのうち、フタル酸ジ-*n*-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、クロルピリホス（有機リン系防蟻剤）、ダイアジノン（有機リン系農薬）は、シックハウス症候群の原因物質として、厚生労働省から室内濃度の指針値が示された⁸⁾。農薬は害虫駆除を目的として使用され、可塑剤及び難燃剤は建材、プラスチック及び繊維製品に混入されて室内に持ち込まれる。これらはいずれも半揮発性有機化合

物に属するため、空气中に存在する量はきわめて少なく、測定のためには多量の空気を採取する必要がある、サンプリングに時間を要する。そこで、同一の試料で両方の物質群を測定できる方法は有用であると考え、フタル酸エステル類11物質及び有機リン酸エステル類19物質の分析法を検討し、新築住宅の室内濃度を測定した結果について報告する。

実験材料及び方法

1. 試薬

フタル酸エステル類（略号）

フタル酸ジメチル（DMP）、フタル酸ジエチル（DEP）、フタル酸ジイソブチル（DiBP）、フタル酸ジ-*n*-ブチル（DnBP）、フタル酸ジペンチル（DPeP）、フタル酸ブチルベンジル（BBP）、フタル酸ジヘキシル（DHP）、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル（DEHP）、以上 フタル酸エステル試験用 和光純薬製、フタル酸ジイソプロピル（DiPP）、フタル酸ジ-*n*-プロピル（DnPP）、フタル酸ジシクロヘキ

* 東京都立衛生研究所環境保健部環境衛生研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

** 東京都立衛生研究所環境保健部

シル (DCHP), 以上 フタル酸エステル標準試料 GLサイエンス製

有機リン系農薬

DDVP (ジクロロボス): 98%, ダイアジノン: 99%, ジクロフェンチオン: 98%, メチルパラチオン: 98%, フェニトロチオン, ピリダフェンチオン: 99%, 以上 GLサイエンス製, クロルピリホスメチル, クロルピリホス, マラチオン, 以上 残留農薬分析用 和光純薬製

有機リン系難燃剤・可塑剤 (略号)

リン酸トリメチル (TMP): 特級, リン酸トリエチル (TEP): 一級, リン酸トリ-*n*-ブチル (TBP): 特級, リン酸トリス (2-クロロイソプロピル) (TCIPP): 化学用, リン酸トリス (2-クロロエチル) (TCEP): 97%以上, リン酸トリス (2-エチルヘキシル) (TEHP): 化学用, リン酸トリス (ブトキシエチル) (TBEP): 化学用, リン酸トリス (1,3-ジクロロ-2-プロピル) (TDCPP): 化学用, リン酸トリフェニル (TPhP): 一級, リン酸トリクレシル (TCP): 特級 以上 和光純薬製, リン酸トリプロピル (TPP): 99% Aldorich製

内部標準物質

フタル酸ジ-*n*-ブチル-3,4,5,6- d_4 : 99% C/D/N Isotopes社製, リン酸トリス (1*H*,1*H*,5*H*-オクタフルオロペンチル): 99% PCR INCORPORATED製

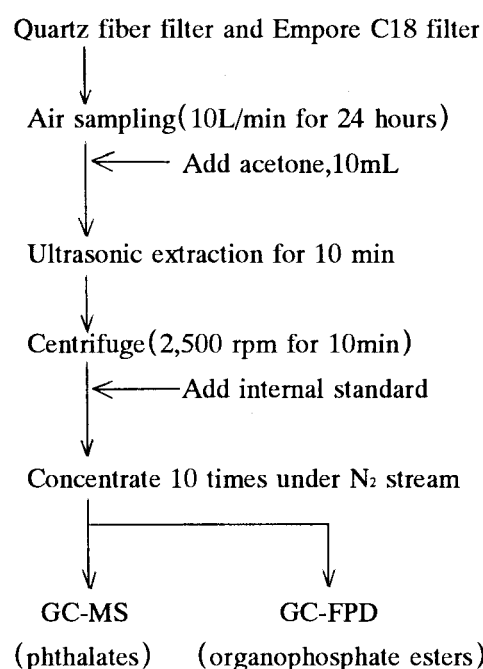
Table 1. Instrumentation and Conditions for GC-MS

Gas Chromatograph	HP 5890 Series GC
Mass spectral detector	HP 5971A MSD
Column	Ultra 1 12m \times 0.2mm i.d. \times 0.33 μ m
Oven temperature	120 (2min)-20 /min-200 -10 /min-270 (5min)
Carrier gas	Helium, 40kPa(constant pressure mode)
Inlet temperature	280
Injection volume	2 μ L, splitless mode (purge on time 0.3 min)
Detector temperature	280
Acquisition mode	SIM

Compounds	Quantification Ion	Confirmation Ion
DMP	163	194
DEP	149	177
DiPP	149	209
DnPP	149	209
DiBP	149	223
DnBP	149	223
DPeP	149	237
BBP	149	206
DHP	149	251
DCHP	149	167
DEHP	149	167
DnBP- d_4	153	

Table 2. Instrumentation and Conditions for GC-FPD

Gas Chromatograph	HP 6890 Series GC
Detector	Flame photometric detector(P-filter)
Column	DB-17 30m \times 0.53mm i.d. \times 1 μ m
Oven temperature	90 (2min)-15 /min-170 -5 /min-220 20 /min-260 (10min)
Carrier gas	Helium, 20mL/min(constant flow mode)
Make up gas	Helium, 25mL/min
Hydrogen flow	75mL/min
Air flow	100mL/min
Inlet temperature	250
Injection volume	2 μ L, splitless mode (purge on time 1 min)
Detector tesse	250



Scheme 1. Measurement Procedure of Airborne Phthalates and Organophosphate Esters

抽出溶媒

アセトン: 残留農薬・PCB試験用 和光純薬製

2. 捕集剤

石英フィルター: 2500QAT-UP 直径47mm 東京ダイレック製, ODSフィルター: Empore Disk C18 Fast Flow 直径47mm 3M製

3. 装置

ガスクロマトグラフ-質量分析計 (以下GC-MS): 5890 SERIES -5971A HP社製, ガスクロマトグラフ-炎光度分析計 (以下GC-FPD): 6890 SERIES-炎光度分析計 Agilent社製, ろ紙ホルダー: EMO-47 GLサイエンス製, ポンプ: AIR PUMP SIP-32L 柴田科学製, 積算流量計: DRY TEST GAS METER DC-2A シナガワ製

GC-MSの分析条件をTable 1に, GC-FPDの分析条件をTable 2に示す.

4. 測定方法

測定法の概要をScheme 1 に示す。空気の採取には、四フッ化エチレン樹脂製のろ紙ホルダーを用い、前段に粒子状物質捕集用として石英フィルター（400 μm, 3時間加熱処理）、後段にガス状物質捕集用としてODSフィルター（アセトンにより浸漬洗浄済）を用い、流速10L/分で24時間（14.4 m³）のサンプリングを行った。採取後のフィルターはピンセットで筒状に丸めて2枚を同一の遠沈管に入れ、アセトン10 mLを加えて10分間超音波抽出した。抽出液は遠心分離（2,500 rpm, 10分）後、上清5 mLを濃縮管にとり、内部標準液を加えて窒素気流下で10倍濃縮し、GC-MS（フタル酸エステル類）及びGC-FPD（有機リン酸エステル類）の分析用試料とした。空試験については未使用のフィルターを用いて同様の操作を行った。なお、試験操作に用いる器具はすべて使用直前にアセトン中で10分間超音波洗浄を行い、更に清浄なアセトンですすいで風乾した後に使用した。

分析により得られたGC-MS及びGC-FPDのクロマトグラムより、測定対象物質の同定及び定量を行なった。フタル酸エステル類については、定量用イオン及び確認用イオンのピークが標準物質の保持時間±5秒以内に出現し、かつ両者の相対強度が標準物質の±20%以内であることにより同定した。また、有機リン酸エステル類については、ピークが標準物質の保持時間±5秒以内に出現していることに

より同定を行なった。定量は、フタル酸エステル類については測定対象物質と内部標準物質のピーク面積比を求め、有機リン酸エステル類については同様にピーク高比を求めて、別に作成した検量線より、下記の式を用いて定量計算を行なった。

$$C = \frac{(As - At) \times E / Cs \times 1000}{v \times V \times 298 / (273 + t) \times P / 1013}$$

C: 25 における空气中濃度 (ng/m³), As: 分析機器 (GC-MS, GC-FPD) に注入した試料中の物質重量 (ng), At: 分析機器に注入した試料中のトラベルブランク値 (ng), E: 抽出溶液量 (mL), Cs: 濃縮倍率, v: 分析機器への注入液量 (μL), V: ガスメーターで測定した空気捕集量 (m³), t: 空気採取時の平均気温 (°C), P: 空気採取時の平均大気圧 (hPa)

TCPの定量については、4つの異性体ピークがみられたが、4番目のピークは他に比べて1/5以下の高さであるため、3番目までに溶出したピークのピーク高合計値から濃度を算出した。

なお、本測定法を評価するため、破過試験、回収率、検出下限値、検量線、注入繰返し精度及びトラベルブランクについて検討を行った。

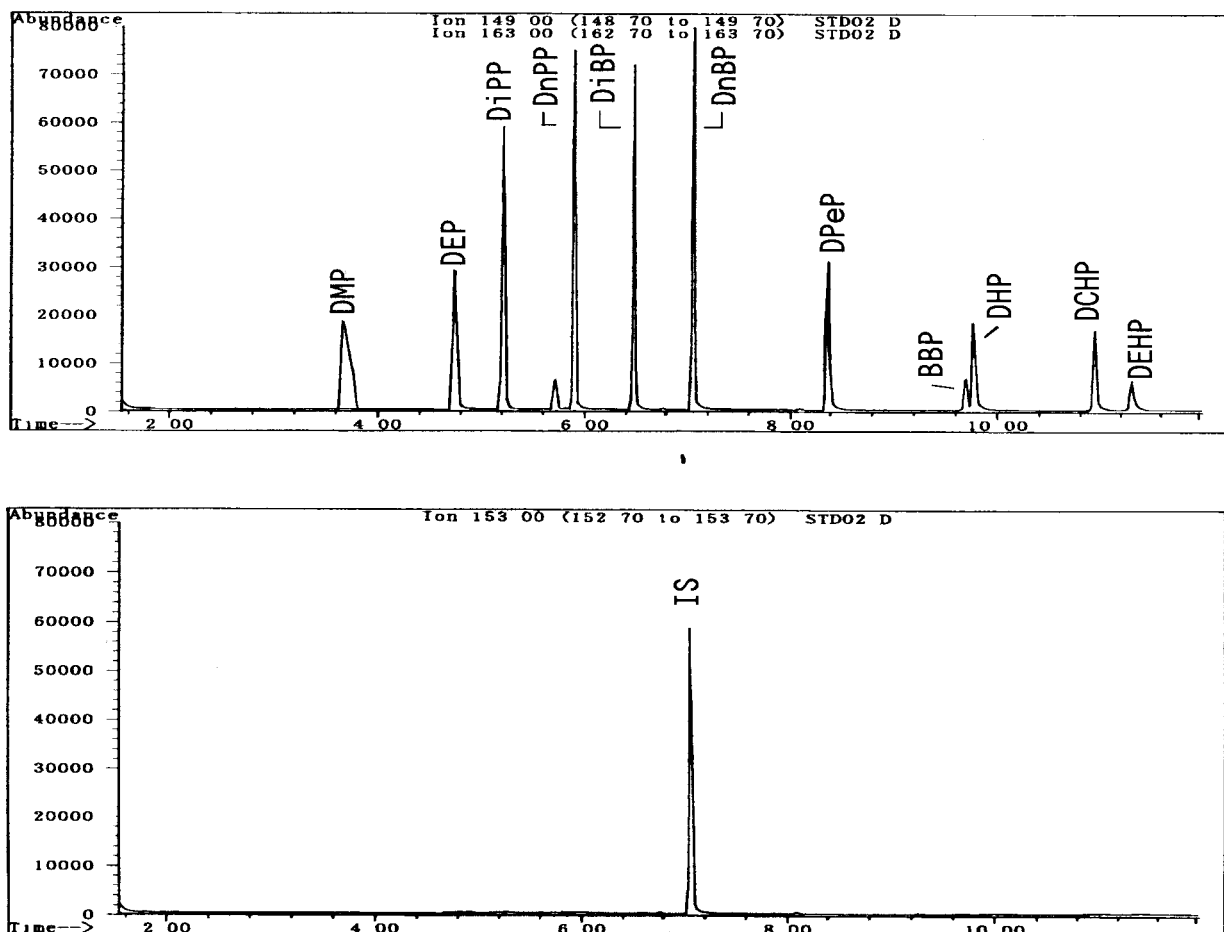


Fig. 1. A Typical Gas Chromatogram of Phthalates

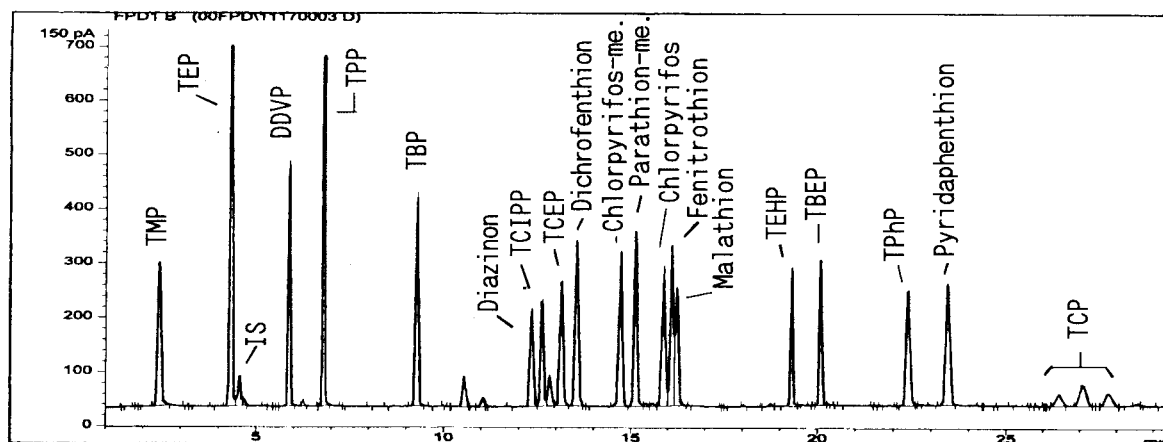


Fig.2. A Typical Gas Chromatogram of Organophosphate Esters

結果

フタル酸エステル類11種混合標準液のクロマトグラムをFig.1に、有機リン酸エステル類19種混合標準液のクロマトグラムをFig.2に示す。

1. 破過試験及び回収率

破過試験は、1段目の石英フィルターにフタル酸エステル類11物質あるいは、有機リン酸エステル類19物質の混合標準液（各10 µg/mL）を20 µL添加し、2段目と3段目にODSフィルターをセットして清浄空気を流速10 L/分で24時間（14.4 m³）通気した。その結果、いずれの物質も3段目に破過しないことが確認された。また、通気後の石英（1段目）及びODS（2段目）の各フィルターをアセトン10 mLで超音波抽出し、窒素気流下で10倍濃縮した後、両者の濃度を合計し、回収率（%）を求めた。フタル酸エステル類の結果をTable 3に、有機リン酸エステル類の結果をTable 4に示す（n=3）。回収率はフタル酸エステル類では84.4～100.8%、有機リン酸エステル類では80.3～99.3%と良好であった。

2. 検出下限値

フタル酸エステル類11物質及び有機リン酸エステル類19物質の検出下限値を求めた。DnBP及びDEHPの2物質に

Table 3. Recovery of Phthalates

Compounds	(n=3)	
	Recovery (%)	C.V. (%)
DMP	99.9	4.7
DEP	96.5	2.7
DiPP	92.5	7.1
DnPP	89.2	4.4
DiBP	92.8	1.6
DnBP	98.6	1.5
DPeP	86.1	9.8
BBP	84.4	5.0
DHP	95.8	4.6
DCHP	89.7	3.0
DEHP	100.8	5.1

Table 4. Recovery of Organophosphate Esters

Compounds	(n=3)	
	Recovery (%)	C.V. (%)
<i>Pesticides</i>		
DDVP	80.3	6.3
Diazinon	92.0	5.0
Dichlofenithion	93.6	4.0
Chlorpyrifos-methyl	95.0	5.5
Parathion-methyl	87.3	2.2
Chlorpyrifos	92.2	3.3
Fenitrothion	89.9	3.5
Malathion	87.5	4.2
Pyridaphenthion	87.6	2.2
<i>Flame Retardants and/or Plasticizer</i>		
TMP	93.2	3.2
TEP	95.0	2.6
TPP	94.9	7.3
TBP	97.2	4.6
TCIPP	93.4	4.1
TCEP	92.2	3.4
TEHP	99.3	2.8
TBEP	91.7	1.5
TPhP	98.3	2.1
TCP	99.0	3.7

ついてはブランクがあるため、空試験のブランク値（ng）を求め（n=6）、これが空気量14.4 m³（10 L/分×24時間）中に存在するとした時の空気中濃度（ng/m³）を算出した。次にそれらの標準偏差を求め、その10倍を検出下限値とした。ブランクの無い他の物質については、標準溶液のクロマトグラムより、ノイズの5倍のシグナル強度（S/N=5）に相当する溶液濃度を求め、この溶液1 mL（濃縮後の抽出液全量に相当）中の物質質量（ng）を空気量14.4 m³で徐して検出下限値を算出した。

フタル酸エステル類の結果をTable 5に、有機リン酸エ

Table 5. Detection Limits of Phthalates

Compounds	Detection Limit (ng/m ³)
DMP	0.50
DEP	0.50
DiPP	0.50
DnPP	0.50
DiBP	0.50
DnBP	15.0
DPeP	0.50
BBP	1.0
DHP	0.50
DCHP	0.50
DEHP	10.0

Table 6. Detection Limit of Organophosphate Esters

Compounds	Detection Limit (ng/m ³)
<i>Pesticides</i>	
DDVP	0.50
Diazinon	1.0
Dichlofenthion	1.0
Chlorpyrifos-methyl	1.0
Parathion-methyl	1.0
Chlorpyrifos	1.0
Fenitrothion	1.0
Malathion	1.0
Pyridaphenthion	1.0
<i>Flame Retardants and/or Plasticizer</i>	
TMP	1.0
TEP	0.50
TPP	0.50
TBP	0.50
TCIPP	1.0
TCEP	1.0
TEHP	1.0
TBEP	1.0
TPhP	1.0
TCP	4.0

エステル類の結果をTable 6に示す。フタル酸エステル類の検出下限値は、DnBP: 15.0 ng/m³, DEHP: 10 ng/m³, その他の物質では0.50~5.0 ng/m³であった。また、有機リン酸エステル類の検出下限値は、TCPを除いて0.50~1.0 ng/m³であった。TCPには異性体があるが、最もピーク高の高いもの(2番目の溶出ピーク)から、同様に算出した結果、検出下限値は4.0 ng/m³であった。

3. 検量線

フタル酸エステル類の検量線は、11物質の混合標準液をアセトンで希釈して0.05~10.0 μg/mLの標準系列を調製し、2 μLをGC-MSに注入して、得られたピーク面積比と

濃度により作成した。その結果、すべての物質について良好な直線性が認められた。

有機リン酸エステル類の検量線は、19物質の混合標準液をアセトンで希釈して0.05~5.0 μg/mLの標準系列を調製し、2 μLをGC-FPDに注入して、得られたピーク高比と濃度により作成した。その結果、TCPを除く10物質については上記濃度範囲でそれぞれ直線性が認められた。TCPについては0.05~2 μg/mlの範囲で直線性が認められた。

4. 注入繰返し精度

分析装置への注入繰返し精度を検討した。フタル酸エステル類11物質の混合標準液(0.2 μg/mL)を繰返し(n=5)GC-MSに注入したところ、ピーク面積比の変動は、いずれの物質においても6.0%以内であった。また、有機リン酸エステル類19物質の混合標準液(0.2 μg/mL)を繰返し(n=6)GC-FPDに注入したところ、ピーク高比の変動は、いずれの物質においても5.0%以内であった。

5. トラベルブランク

サンプリング時の機材運搬によるブランク増加(トラベルブランク)を調査した。石英フィルター及びODSフィルターをろ紙ホルダーにセットし、アルミ箔で包んで運搬用容器(ステンレス製)に入れ、採取地点に搬送した。サンプリングを行わず3日後に返送されてきたものについて分析を行った(n=3)。その結果、検出されたのはDnBPとDEHPのみで、それぞれの抽出液濃度は空試験と同程度であった。

6. 室内空気濃度の測定結果

2000年8月に、東京都内の新築住宅(引渡し直後、未入居、木造一戸建)で室内濃度の測定を行った。測定を行った部屋(6畳洋室)は、天井及び壁はビニルクロス、床はフローリングの構造で、家具等の生活用品は持ち込まれていなかった。なお、測定中(24時間)は、窓及びドアは締め切りで、冷暖房の使用は無かった。

室内空気中で検出されたフタル酸エステル類のクロマトグラムをFig.3に、有機リン酸エステル類のクロマトグラムをFig.4に示す。測定の結果、室内空気中からフタル酸エステル類7物質、有機リン系農薬2物質、有機リン系難燃剤・可塑剤6物質の合計15物質が検出された。各物質の濃度をTable 7に示す。

フタル酸エステル類で、高濃度だったのはDEHP(1,046 ng/m³)及びDnBP(871 ng/m³)であった。また、有機リン酸エステル類で高濃度だったのはTBP(22.6 ng/m³)で、農薬で検出されたのはDDVP(1.9 ng/m³)及びクロルピリホス(12.4 ng/m³)であった。なお、測定中の平均室温は29.7℃、平均湿度は62.7%であった。

考 察

本研究により、フタル酸エステル類及び有機リン酸エステル類は、石英フィルター及びODSフィルターを用いたサンプリング方法により効率良く捕集でき、かつ精度の良い定量分析が可能であることが明らかとなった。

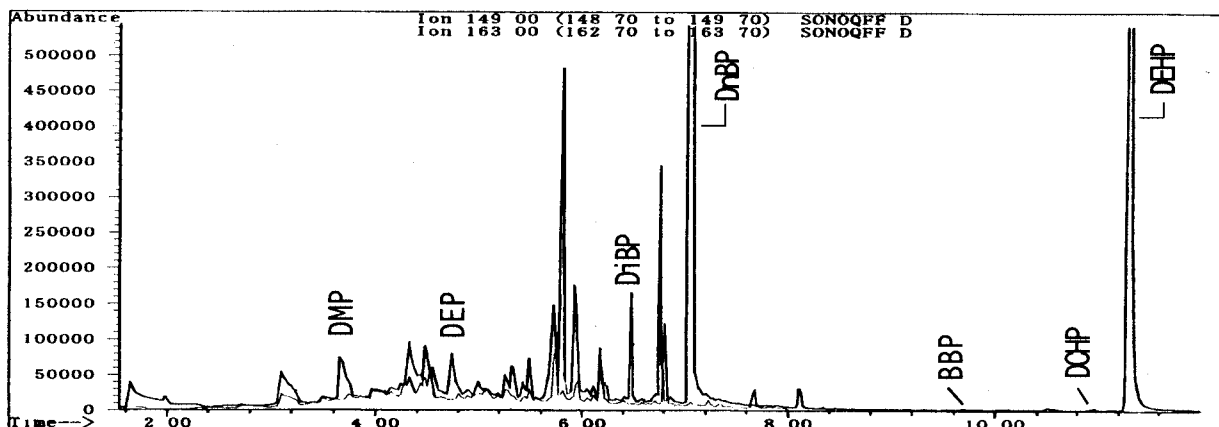


Fig. 3. A Gas Chromatogram of Airborne Phthalates in a New-built House

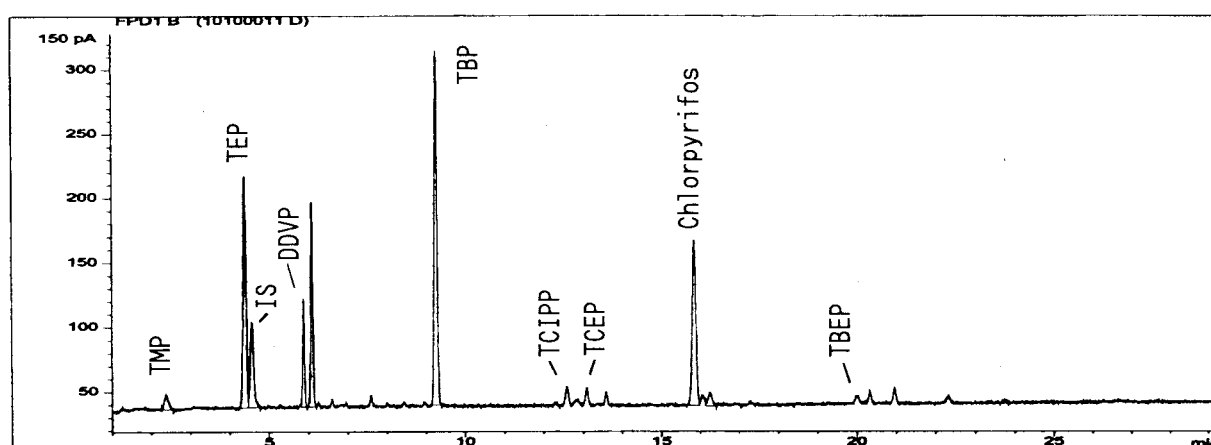


fig. 4. A Gas Chromatogram of Airborne Organophosphate Esters in a New-built House

新築住宅室内で検出された物質のうち、DnBP (871 ng/m^3) 及びDEHP ($1,046 \text{ ng/m}^3$) は他の物質に比べて30倍以上の高濃度であったが、室内に生活用品が持ち込まれていなかった状況を考慮すると、これらの発生源として、壁及び天井に使用されていたビニルクロスが疑われた。また、防蟻処理をしたことが確認されており、クロルピリホスは床下に散布された防蟻剤由来と考えられた。DDVPについては室内で殺虫剤の使用がなかったこと及び周囲に畑が点在していたこと等を考え合わせると、周辺地域で害虫駆除を目的に散布したものが、外気由来で室内を汚染し、検出されたものと推察された。なお、室内指針値の示されているDnBP (指針値: $220 \mu\text{g/m}^3$)、DEHP (指針値: $120 \mu\text{g/m}^3$) 及びクロルピリホス (指針値: $1 \mu\text{g/m}^3$, ただし小児 $0.1 \mu\text{g/m}^3$) の濃度は、指針値を大きく下回っていた。

フタル酸エステル類の測定にあたっては、周囲の至る所に汚染があるため、正確な測定値を得るためにはブランクの低減が最大の課題となる。電話の受話器、プラスチック消しゴム、駒込ペットのスポイト⁹⁾等、実験中に何気なく手にする物に高濃度の汚染があり、これらに触れることによって手が汚染され、コンタミの原因となる。したがって、試験中は石鹸による手洗いを頻繁に行うとともに、手指からの汚染を減らすための操作手順を十分検討することが重要と考えられた。

Table 7. Concentrations of Airborne Phthalates and Organophosphate Esters in a New-built House

Compounds	Concentration (ng/m^3)
<i>Phthalates</i>	
DMP	29.2
DEP	23.1
DiBP	20.1
DnBP	871
BBP	1.3
DCHP	1.4
DEHP	1046
<i>Pesticides</i>	
DDVP	1.9
Chlorpyrifos	12.4
<i>Flame Retardants and/or Plasticizer</i>	
TMP	1.4
TEP	6.1
TBP	22.6
TCIPP	2.1
TCEP	1.7
TBEP	1.0

ま と め

石英フィルター及びODSフィルターを用いた捕集法により、空気中のフタル酸エステル類及び有機リン酸エステル類を同時に採取し、分析する方法を確立した。この方法についての評価を行ったところ、フタル酸エステル類11物質及び有機リン酸エステル類19物質について、各物質の回収率は80.3%～100.8%、検出下限値はDnBP 15 ng/m³、DEHP 10 ng/m³、その他の物質は0.5～5.0 ng/m³であった。

上記の方法を用いて、新築直後の木造一戸建て住宅で室内濃度を測定したところ、フタル酸エステル類7種、有機リン系農薬2種及び有機リン系難燃剤・可塑剤6種の計15物質が検出された。これらのうち、濃度が高かったのは、DEHP (1,046 ng/m³) 及びDnBP (871 ng/m³) であった。

(本研究の概要は日本内分泌攪乱化学物質学会第3回研究発表会2000年12月で発表した。)

文 献

- 1) 化学工業年鑑, 2000年版, 354-358, 2000, 化学工業日報社, 東京.
- 2) Yadav, AK., Singh, TP.: Ecotoxicol. *Environ. Saf.*, **13** (1), 97-103, 1987.
- 3) Reuber, MD.: *Environ. Res.*, **37**(1), 119-153, 1985
- 4) Sprague, GL., Sandvik, LL., Brookins-Hendricks, MJ., et al.: *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **8** (3), 507-518, 1981.
- 5) Carrington, CD., Lapadula, DM., Othman, M., et al.: *Toxicol. Ind. Health*, **6** (3-4), 415-423, 1990.
- 6) Varghese, RG., Bursian, SJ., Tobias, C., et al.: *Neurotoxicology*, **16** (1), 45-54, 1996.
- 7) Weiner, ML. and Jortner, BS.: *Neurotoxicology*, **20** (4), 653-673, 1999.
- 8) 室内空气中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法等について: 厚生労働省医薬局, 平成13年7月25日
- 9) 斎藤育江, 瀬戸 博: 環境と測定技術, **27** (9), 64-72, 2000.