

ポリ乳酸プラスチック中の有機スズ化合物の分析

大嶋智子、尾崎麻子、中島晴信*、伊佐間和郎**、土屋利江**

Determination of Organotin Compounds in Polylactide Plastics by Gas Chromatography – Mass Spectrometry

Tomoko OOSHIMA, Asako OZAKI, Harunobu NAKASHIMA*, Kazuo ISAMA** and Toshie TSUCHIYA**

Abstract

Tin octylate (tin 2-ethylhexanoate) is widely used as a catalyst in the polymerization of polylactide plastics. Moreover, organotin compounds such as dibutyltin (DBT) and dioctyltin (DOT) are used as stabilizers of polyvinyl chloride. Therefore, residual organotin (butyltin, phenyltin and octyltin) compounds in polylactide plastics were simultaneously determined by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) after ethyl derivatization with sodium tetraethylborate (NaBEt₄). Tin octylate was detected as tetraethyltin by this method. Tin octylate level was 192 µg/g in 1 out of 4 samples of polylactide plastics. The other organotin compounds were not detected as contaminants of tin octylate in the 4 tested samples.

Key words: tin 2-ethylhexanoate, polylactide plastics, GC-MS, ethyl derivatization

I 緒言

循環型社会の構築や環境への負荷を低減するため、植物を原料とするバイオプラスチックの需要は大きくなっている。このようなプラスチックはトウモロコシなどに多く含まれているデンプンを発酵して得た乳酸を原料として開発が進められ、その重合触媒にはジブチルスズ化合物(DBT)やオクチルスズ等の有機スズ化合物が用いられている。ポリ乳酸プラスチックの用途としては、医用材料や食品用の容器包装プラスチック等、様々なものに応用されている。安全性を確保するために、食品衛生法では食品用容器包装のポリ乳酸プラスチックの個別規制がはじまり、D-乳酸含有量による使用制限等が行われている状況にある[1]。触媒についても、同じような観点でプラスチックへの残留量の確認が求められる。DBTの毒性については、ラット胎児に下顎裂、下唇裂、肋骨癒合など骨格奇形等の催奇形性が発生す

ることが報告されている[2]。一方、よく使用されるオクチルスズは、胃酸中37℃で2-エチルヘキサン酸に加水分解されることから、健康影響は2-エチルヘキサン酸およびスズ(+2)で検討されたが、その安全性はプラスチックへの使用がごくわずかなことから人への影響もごくわずかと考えられ、ADIの設定には至っていない[3]。また、オクチルスズについては、脳由来細胞を用いた安全性評価法も検討されている[4]。しかし、プラスチック中にオクチルスズの残留量が多い場合には安全性に問題があると考えられ、さらに不純物として含まれる有機スズ化合物についても把握する必要がある。特に、DBTの不純物として含有するおそれのあるトリブチルスズ化合物(TBT)[5]は、トリフェニルスズ化合物(TPT)と共に世界的な海洋汚染物質として広く知られており、巻貝類へのインポセックスなどの内分泌かく乱作用が問題となっている[6,7]。本報では、ポリ乳酸プラスチック中の有機スズ化合物について、簡易で精

大阪市立環境科学研究所、〒543-0026 大阪市天王寺区東上町 8-34

Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences

8-4 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan

*大阪府立公衆衛生研究所、〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69

Osaka Prefectural Institute of Public Health,

1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

**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

National Institute of Health Sciences,

1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

度の高い分析法として報告される[8-11]テトラエチルホウ酸ナトリウム(NaBET₄)によるエチル誘導体化を行い、ガスクロマトグラフィー質量分析計(GC-MS)を用いて測定し、その残留実態を調査した。

II 実験方法

1) 試料

ポリ乳酸を原料とするプラスチック製品4試料を試験試料とした(Table 1)。

Table 1 Characteristics of polylactic plastics

Sample No.	Composition	Molecular weight
1	PLGA	200,000
2	PLLA	200,000
3	PLLA	200,000
4	PLLA	5,000

PLLA : poly (L-lactic acid)

PLGA : poly (lactic-co-glycolic acid)

2) 試薬

モノ、ジおよびトリブチルスズ化合物(MBT, DBT, TBT)、モノ、ジおよびトリフェニルスズ化合物(MPT, DPT, TPT)、モノ、ジおよびトリオクチルスズ化合物(MOT, DOT, TOT)の各塩化物は和光純薬製あるいは林純薬製を用いた。テトラブチルスズ(TeBT)は和光純薬製、テトラオクチルスズ(TeOT)は日東化成製、テトラフェニルスズ(TePT)は東京化成工業製を用いた。サロゲートとして用いたモノ、ジ、トリ体のブチル、フェニル、オクチルスズ化合物およびテトラブチルスズの同位体およびNaBET₄は林純薬製の環境分析用を用いた。酢酸はナカライテスク製、酢酸ナトリウムは和光純薬製のいずれも特級試薬を用いた。アセトンは関東化学製、n-ヘキサン、トルエンおよびジクロロメタンは、和光純薬製のいずれも残留農薬用を用いた。

これら有機スズ化合物は、TPTおよびTePTはトルエンを溶媒として用い、その他はn-ヘキサンを用いて、約1000 µg/mLの標準原液を作成し10 µg/mLに混合調製して添加回収用混合標準溶液とした。分析用混合標準溶液は、エチル化の必要がない各種テトラ体を混合標準溶液に加え、エチル化後にテトラ体を添加して調製した。

サロゲート混合液は、MBT-d₉、DBT-d₁₈、TBT-d₂₇、MPT-d₅、DPT-d₁₀、TPT-d₁₅、MOT-d₁₇、DOT-d₃₄、TOT-d₅₁の各塩化物同位体をアセトンで10 µg/mLに混合調製した。

内部標準溶液は、テトラブチルスズの同位体(TeBT-d₃₆)をn-ヘキサンで10 µg/mLに調製した。

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.0)は、2 mol/L酢酸と2 mol/L酢酸ナトリウム水溶液を5.9:14.1の割合で混合後、pH5.0に調整した[8-10]。

4% NaBET₄水溶液は、用時調製した。

また、オクチル酸スズ(2-エチルヘキサン酸スズ)は和光純薬製を用いた。トルエンで標準原液を作製し、アセトンで希釈調製した。

なお、本試験で使用する器具等は、すべてアセトン、n-ヘキサンで洗浄したものを用いた。

3) GC-MS装置及び条件

装置 ; GC-MS : HP6890GCにHP5973質量分析計を装備したもの

条件 ; カラム : HP-5ms(30m×0.25mm×0.25 µm)、oven : 60°C(2min) $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$ 130°C $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{min}}$ 210°C $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 260°C $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{min}}$ 300°C(2min)、キャリアーガス : 1mL/min(定流量モード)、注入口温度 : 270°C、インターフェース温度 : 280°C、注入法 : スプリットレス、注入量 : 1 µL、イオン源温度 : 230°C、イオン化エネルギー : 70eV

SIMイオン ; MBT(235, 233)、MBT-d₉(244, 242)、DBT(261, 263)、DBT-d₁₈(281, 279)、TBT(263, 261)、TBT-d₂₇(318, 316)、MPT(255, 253)、MPT-d₅(260, 258)、DPT(303, 301)、DPT-d₁₀(313, 311)、TPT(351, 349)、TPT-d₁₅(366, 364)、MOT(291, 289)、MOT-d₁₇(308, 306)、DOT(375, 373)、DOT-d₃₄(409, 407)、TOT(375, 373)、TOT-d₅₁(409, 407)、TeBT(291, 289)、TeBT-d₃₆(318, 316)、TePT(351, 349)、TeOT(459, 457)、TeET(207, 205)(定量イオン、確認イオン)で示す。

4) 試験溶液の調製

50 mLの遠沈管に細切した試料0.3 gを秤量し、ジクロロメタン3 mLを加え超音波条件下で約30分間溶解した後、サロゲート混液 1mLを加え混和した。そこにアセトン15 mLおよび濃塩酸1滴を加え、超音波条件下で5分抽出した後、さらにn-ヘキサン30 mLを徐々に滴下し、ポリマーを析出させた。3000 rpmで5分間遠心分離して、上澄みを分取した。残さにアセトン:n-ヘキサン(3:7)溶液30 mLで再度5分間超音波により抽出した後、先と同様に遠心分離を行い、上澄みを合わせた。それを数mLまで減圧濃縮(40°C以下)した後、窒素パーズによる溶媒除去を行った。エタノール2 mLを加え溶解し、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液5 mLを加え50 mL遠沈管に移した。4%NaBET₄水溶液 1mLおよびn-ヘキサン2 mLを加え混和し、10分放置後、n-ヘキサン8 mLを加え10分間振とう抽出し、上澄みを分取した。さらに下層にn-ヘキサン10 mLを加え、10分振とう抽出し、静置後に分取した上澄みを合わせ濃縮した。n-ヘキサンで正確に10 mLとし、そのうちの1 mLに内部標準溶液 20 µLを添加し、GC-MSによるSIM分析を行った。

III 結果および考察

1) 標準溶液のGC-MS分析

ヘキサン溶液中のエチル化した有機スズ化合物の混合標準溶液(1 $\mu\text{g/mL}$)のGC-MS分析によるトータルイオンクロマトグラム(TIC)をFig. 1に示した。TeBT- d_{36} を内部標準として用いた検量線は、DBT、TBT、TeBT、MPT、DPT、TPT、MOTは0.005-2.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で r^2 値が0.990-1.000の良好な直線性を示し、MBT、TeOTは0.01-2.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で r^2 値がそれぞ

れ0.999、0.995の良好な直線性を示した。DOTは0.05-2.0 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で r^2 値が0.988の直線性およびTOTは同範囲で r^2 値が0.962のおおむね良好な二次曲線を示した。よって各有機スズ化合物の定量は、この範囲で行った。また、オクチル酸スズをエチル化した時のTICおよびそのマスペクトルをFig. 2に示した。オクチル酸スズは分解されやすいといわれており、本法により分解して塩化スズとなり、 NaBET_4 によりエチル化されテトラエチルスズ(TeET)として検出された。TeBT- d_{36} を内部標準として用いたTeETの検量線は1-100 $\mu\text{g/mL}$

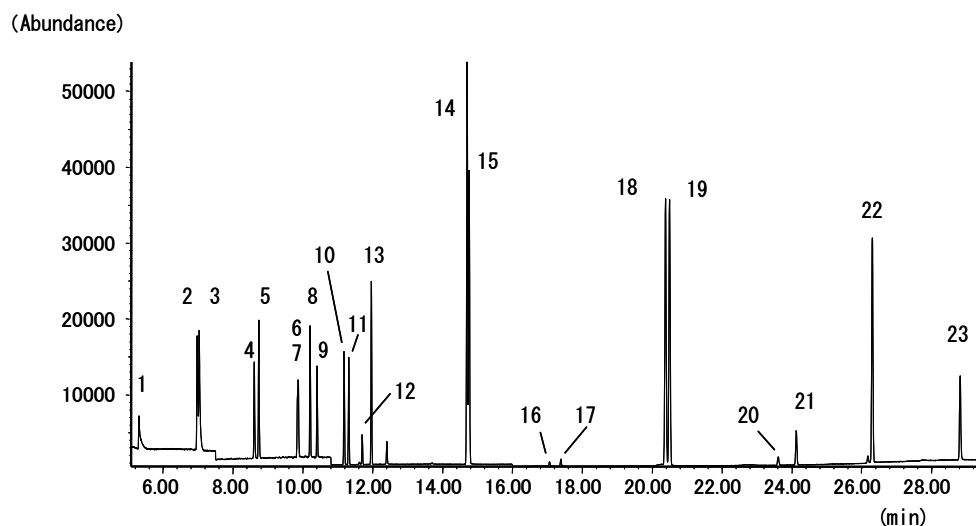


Fig. 1 Total ion chromatogram of organotin compounds and their surrogate standards by GC-MS after ethyl derivatization

1: TeET, 2: MBT- d_9 , 3: MBT, 4: DBT- d_{18} , 5: DBT, 6: MPT- d_5 , 7: MPT, 8: TBT- d_{27} , 9: TBT, 10: MOT- d_{17} , 11: MOT, 12: TeBT- d_{36} , 13: TeBT, 14: DPT- d_{10} , 15: DPT, 16: DOT- d_{34} , 17: DOT, 18: TPT- d_{51} , 19: TPT, 20: TOT- d_{51} , 21: TOT, 22: TePT, 23: TeOT

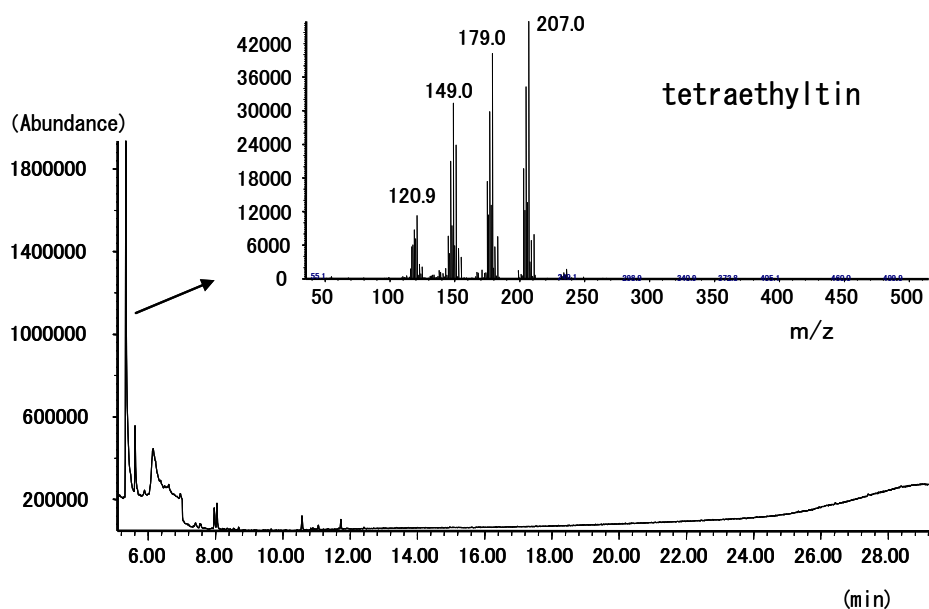


Fig. 2 Total ion chromatogram and mass spectrum of tin 2-ethylhexanoate by GC-MS after ethyl derivatization

の範囲で r^2 値が0.983の良好な直線を示したので、その範囲で定量した。

また、各標準溶液のサロゲートを内部標準として用いた検量線は、DBT、TBT、MPT、DPT、TPT、MOTは0.005-2.0 μ g/mLの範囲で、MBT、DOTは0.01-2.0 μ g/mLの範囲で、TOTは0.05-2.0 μ g/mLの範囲で r^2 値がそれぞれ0.990~1.000の良好な直線を示したので、その範囲で定量した。

2) 有機スズ化合物の抽出

プラスチック試料No.1は粉末状、No.2およびNo.4は細片であったが、No.3の粒形は1×3mmの円柱状で硬質であった。硬質のプラスチック中の添加物や残留モノマーを測定する場合、食品衛生法ではテトラヒドロフランやジクロロメタンで溶解してからエタノールやアセトンなどでポリマーを析出させた上澄を試験溶液とする[12]。六鹿らはポリ乳酸の分子量や遊離ラクチドの測定に際して、ジクロロメタンで溶解させて行った[13]。今回、ポリ乳酸を原料とするプラスチックを試料とすることから、どの試料もジクロロメタンに溶解させた後、さらに残渣から有機スズ化合物を抽出するために河村らが抽出に用いたアセトン:n-ヘキサン(3:7)による抽出[12,14]を行い、実験方法4. 試験溶液の調製に従って前処理を行った。

3) NaBET₄によるエチル化

NaBET₄によるエチル化をポリ塩化ビニル製品に適

用した大野ら[10]の方法に従い、2% NaBET₄溶液1 mLを用いたところ、本試料ではデータがばらつき、反応試薬の劣化や消費が多いと考えられた。重合触媒にオクチル酸スズが使用され製品中の残留量が134.4 μ g/gであったと報告[15]されたNo.1では、テトラエチルスズが多く検出されたが定量値はばらつく結果となった。その原因として、オクチル酸スズ含有量が多いことから、2% NaBET₄の消費が多く、データがばらついたと考えられる。底質試料に対して2% NaBET₄溶液2 mLを適用していたこと[11]、試薬の劣化を避けることを考慮し、本法では先の2倍濃度の4% NaBET₄溶液を1 mL用いることにした。

4) 添加回収試験

試料No.3に対して添加回収試験を実施した。秤量した試料をジクロロメタンで溶解したところに各標準を10 μ g添加し、混和した後、実験方法4)に従い試験溶液を調製して回収率を求めた。Table 2に、内部標準補正により得られた結果とサロゲート補正により得られた結果を比較して示した。TeBT-d₃₆による内部標準補正では、MBT、DBT、TBTのブチルスズ化合物で回収率は86.2-91.9%と良好であったが、ややばらつきが大きい結果となった。またTPT、TeOTでそれぞれ74.3、80.9%の回収率が得られた。これら5種類の有機スズ化合物では分析可能であったが、MPT、DPT、MOT、DOT、TOTの回収率は163-200%を超え、TeBTでは、35.8%と低く、TePTは検出されなかった。

Table 2 Recovery of organotin compounds from polylactic plastics

	Amounts spiked* (μ g)	Recovery (%)	
		Corrected by the internal standard	Corrected by corresponding surrogate standards
MBT	10	88.1±18.5	109±1.5
DBT	10	91.9±29.7	104±1.0
TBT	10	86.2±40.9	119±1.8
TeBT	10	35.8±20.8	-
MPT	10	186±37.5	102±7.7
DPT	10	190±13.5	143±1.6
TPT	10	74.3±6.0	218±2.2
TePT	10	ND	-
MOT	10	>163	110±1.4
DOT	10	>200	116±0.8
TOT	10	>200	127±2.0
TeOT	10	80.9±6.7	-

Sample No.3 was used for the recovery examination.

Values show mean \pm standard deviation. (n=3)

*: spiked in sample 0.3 g

-: not determined with surrogate standards

MBT: monobutyltin, DBT: dibutyltin, TBT: tributyltin, TeBT: tetrabutyltin, MPT: monophenyltin, DPT: diphenyltin, TPT: triphenyltin, TePT:tetraphenyltin, MOT: monoocetyltn, DOT: dioctyltin, TOT: trioctyltin, TeOT: tetraocetyltn (ethyl derivatization)

Table 3 Contents of organotin compounds in polylactic plastics corrected by the internal standard

Sample No.	Content ($\mu\text{g/g}$)												
	TeET*	MBT	DBT	TBT	TeBT	MPT	DPT	TPT	TePT	MOT	DOT	TOT	TeOT
1	192±120	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Detection limit in samples ($\mu\text{g/g}$)	3.3	0.17	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.83	0.83	0.17

*: tin 2-ethylhexanoate content calculated by subtracting blank value from TeET value

Value shows mean \pm standard deviation. (n=3)

TeET: tetraethyltin

Table 4 Contents of organotin compounds in polylactic plastics corrected by corresponding surrogate standards

Sample No.	Content ($\mu\text{g/g}$)									
	MBT	DBT	TBT	MPT	DPT	TPT	MOT	DOT	TOT	
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Detection limit in samples ($\mu\text{g/g}$)	0.17	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.17	0.83	

次に、各有機スズ化合物のサロゲート補正による回収率は、TPT以外のMBT、DBT、TBT、MPT、MOT、DOTおよびTOTで102-127%と良好で、ばらつきも小さく満足な結果が得られた (Table 2)。DPTの回収率は143%とやや大きく、TPTは218%となり添加量の約2倍の回収率を示したが、内部標準補正と比較して、サロゲート補正による結果は、TPT以外の有機スズ化合物において良好な結果が得られた。サロゲート補正によるTPTの結果は、TePTが脱フェニルしTPTとなったことにより定量値が2倍になったと計算できる。TePTが光分解してTPT、DPT等に脱フェニルすることが報告されており[16]、TPTがさらに脱フェニルした結果、DPTの回収率はやや大きくなったと推察される。

5) 試料中の有機スズ化合物

試料中の有機スズ化合物について、内部標準補正した結果を Table 3 に、サロゲート補正した結果を Table 4 に示した。Table 3, 4 に示すように、いずれもNo.1~4の試料中に、モノ~テトラ体の4種のブチル、フェニル、オクチルスズ化合物(全12種類)は検出されなかった。オクチル酸スズについては、添加回収率を求めているが、本法によりテトラエチルスズとして定量できるため、TeBT-d₃₆を内部標準として定量した結果を Table 3 に合わせて示した。その際、サロゲート化合物を含む有機スズ化合物の分解や溶剤等の試薬からわずかに由来するスズ化合物がエチル化されてもテトラエチルスズ

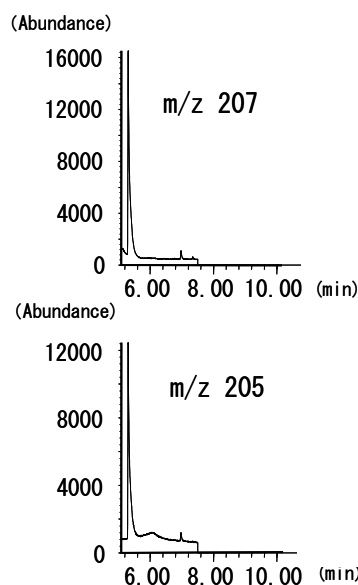


Fig 3 Mass chromatogram of sample No.1 (m/z 207, 205)

として検出されることから、ブランク値を差し引いた。その結果、No.1よりオクチル酸スズは192 $\mu\text{g/g}$ 検出された (Fig. 3, Table 3)。この結果は、同試料を用いてオクチル酸スズをトリメチルシリル (TMS) 化して残留量を測定した値と同程度であり[15]、本法による定量が可能であることが示唆された。その他の試料 (No.2, 4) からは種々の有機スズ化合物はブランクと同程度検出され、数値化できなかった。

IV まとめ

ポリ乳酸プラスチック中に重合触媒やその不純物として含まれるおそれのある有機スズ化合物について、ポリ乳酸プラスチック4試料中の含有量を調べた。

添加回収試験において、内部標準補正と比較してサロゲート補正による結果は良好で、DPTおよびTPT以外の有機スズ化合物において102-127%であった。TePTは検出されず、DPTではやや大きく(143%)、TPTは添加量の約2倍218%検出されたことから、TePTの脱フェニルが示唆された。本法では、TePTまで検討する場合には脱フェニルを考慮する必要がある。

また、いずれの試料からもモノ～テトラ体の4種のブチル、フェニル、オクチルスズ化合物(全12種類)は検出されなかった。オクチル酸スズは、本法ではTeETとして検出され、No.1から192 μ g/g検出される結果となった。

参考文献

- 1) 平成19年10月30日食安発第1030001号、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について、2007
- 2) Noda T, Yamano T, Shimizu M, Saitoh M, Nakamura T and Yamada A *et al.* Comparative teratogenicity of di-n-butyltin diacetate with n-butyltin trichloride in rats. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1992; 23: 216-222.
- 3) ポリ乳酸を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装に係る食品健康影響評価について、<http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai96/dai96kai-siryou2.pdf>, (2009/7/29)
- 4) 角田正史, 拝野貴之, 伊藤京子, 井上葉子, 三木猛生, 工藤雄一郎, 他. マウス小脳由来アストロサイト系細胞を用いたジブチルスズ, オクチル酸スズ, ポリ乳酸ラクチドの毒性評価. 第13回日本免疫毒性学会学術大会講演要旨集2006
- 5) 家庭用品安全対策研究会. 保健衛生安全基準家庭用品規制関係実務便覧. 東京:第一法規出版;1975. 2045の24-25頁
- 6) Evans S M, Leksono T and Mckinnell P D. Tributyltin pollution: a diminishing problem following legislation limiting the use of TBT-based anti-fouling paints. Mar. Pollut. Bull. 1995; 30(1):14-21.
- 7) Horiguchi T, Shiraishi H, Shimizu M, Yamazaki S and Morita M. Imposex in Japanese gastropods (Neogastropoda and Mesogastropoda): effects of tributyltin and triphenyltin from antifouling paints. Mar. Pollut. Bull. 1995; 31: 402-405.
- 8) 環境庁環境保健部環境安全課. 平成10年度化学物質分析法開発調査報告書(その1)1999. 1-31頁
- 9) 岩村幸美, 門上希和夫, 陣矢大助, 棚田京子: エチル誘導体化/質量分析法による生物試料中の有機スズ化合物の一斉分析. BUNSEKI KAGAKU 2000; 49(7): 523-528
- 10) 大野浩之, 鈴木昌子, 中島重人, 青山大器, 三谷一憲. テトラエチルホウ酸ナトリウムを用いるエチル誘導体化によるプラスチック製品中の有機スズ化合物の一斉分析. 食衛誌2002; 43(4): 208-214
- 11) Harino H, Iwasaki N, Arai T, Ohji M and Miyazaki N. Accumulation of organotin compounds in the deep-sea environment of Nankai Trough, Japan. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2005; 49: 497-503.
- 12) 厚生労働省医薬品局食品安全部基準審査課監修. 器具・容器包装の規格基準とその試験法. 東京:中央法規出版;2006. 48, 78頁.
- 13) 六鹿元雄, 河村葉子, 棚元憲一. ポリ乳酸の基本的性状の検討. 日食化誌2007;14(2):87-92.
- 14) 河村葉子, 前原玉枝, 鈴木 隆, 山田 隆. ガスクロマトグラフィー/原子発光検出法(GC/AED)による食品用器具・容器包装及び玩具中の有機スズ化合物の分析. 食衛誌2000;41(4):246-253.
- 15) 中島晴信, 沢辺善之, 伊佐間和郎, 土屋利江. 高分子材料中のオクチル酸スズ(2-エチルヘキサン酸スズ)の分析. 大阪府立公衛研所報2008; 46: 91-96.
- 16) 山本貴士, 小原 敦, 野馬幸生, 西澤克志, 安原昭夫, 酒井伸一. テトラフェニルスズの光分解挙動. 第12回環境化学討論会講演要旨集2003