

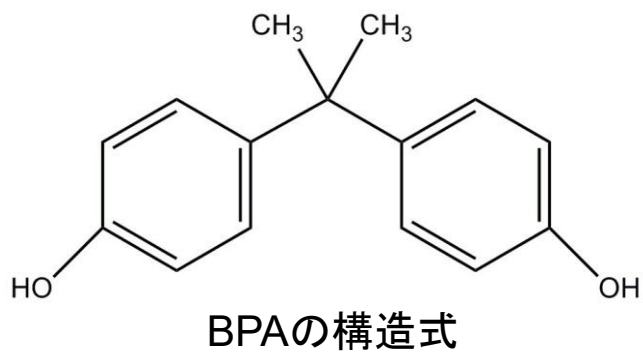
トリプル四重極質量分析計を用いた容器中のビスフェノール類の一斉分析

田中 真穂¹, 岩田 奈津紀¹, 小林 まなみ¹ （1（株）島津製作所）

1. はじめに

ビスフェノールA（BPA）とは

- 主な用途（どこに使われているか）
 - ・ポリカーボネート（PC）：透明で耐衝撃性が高いため、飲料ボトル、再利用可能な食器、食品容器に使用されている。
 - ・エポキシ樹脂：食品缶や飲料缶の内面コーティング材として、金属の腐食防止に使用されている。
- なぜ問題視されているのか（健康リスク）
 - ・内分泌攪乱作用（環境ホルモン）：低線量でも体内でエストロゲン（女性ホルモン）に似た働きをし、生殖機能や発達に悪影響を及ぼす懸念がある。
 - ・食品への移行：容器の加熱や経年劣化により、BPAが飲食物に溶け出し（移行）、ヒトが摂取してしまう。



ビスフェノール類分析法確立の必要性

- 世界各国で規制が強化されている。
- 特にEUの動きは速く、2024年には食品接触材料への使用禁止¹⁾、2025年にはBPA以外のビスフェノール類も含めた規制や、非常に低い検出下限値が設定された²⁾。
- フランスではすでに2015年から全用途で禁止されている。
- 日本や米国においても、90年代から耐容一日摂取量（TDI）や溶出試験の規格が定められてきたが、さらに規制が厳しくなっている。

国内の告示法でHPLC法が定められているが、**より短時間**で、かつ**BPA以外の類似化合物をより低濃度**で同時に分析できる手法が必要。

- ✓ LC-MS/MS（図1）を用いた高感度でビスフェノール類を一斉に分析できるメソッドを構築
- ✓ EUの低濃度の規制に対応可能なメソッドを構築
- ✓ オートサンプラーの自動希釈機能を用いることで省力化・省溶媒化と作業の標準化を実現



図1 LCMSTM-8060RX（島津製作所）

2. 方法

- 対象化合物はBPA、BPB、BPF、BPS、BPAF、4,4'-(1,3-ジメチルブチリデン)ジフェノール、フェノールフタレインおよびTBBPAの計8成分である。
- 標準物質および内部標準物質（ISTD）は、東京化成、富士フイルムワコーケミカル、Cambridge Isotope Laboratoriesから購入した。
- サンプルには市販で購入したポリプロピレン（PP）製の食品保存容器を使用した。
- 一般財団法人日本食品分析センターの合成樹脂器具・容器包装に関する規格³⁾を参考に抽出・溶出操作を実施した（図2）。
- 手動希釈法とオートサンプラーの自動希釈機能を用いる2手法を開発した。
- オートサンプラーの自動希釈の前処理プログラムを表1に示す。
- LC-MS/MS条件を表2に示す。

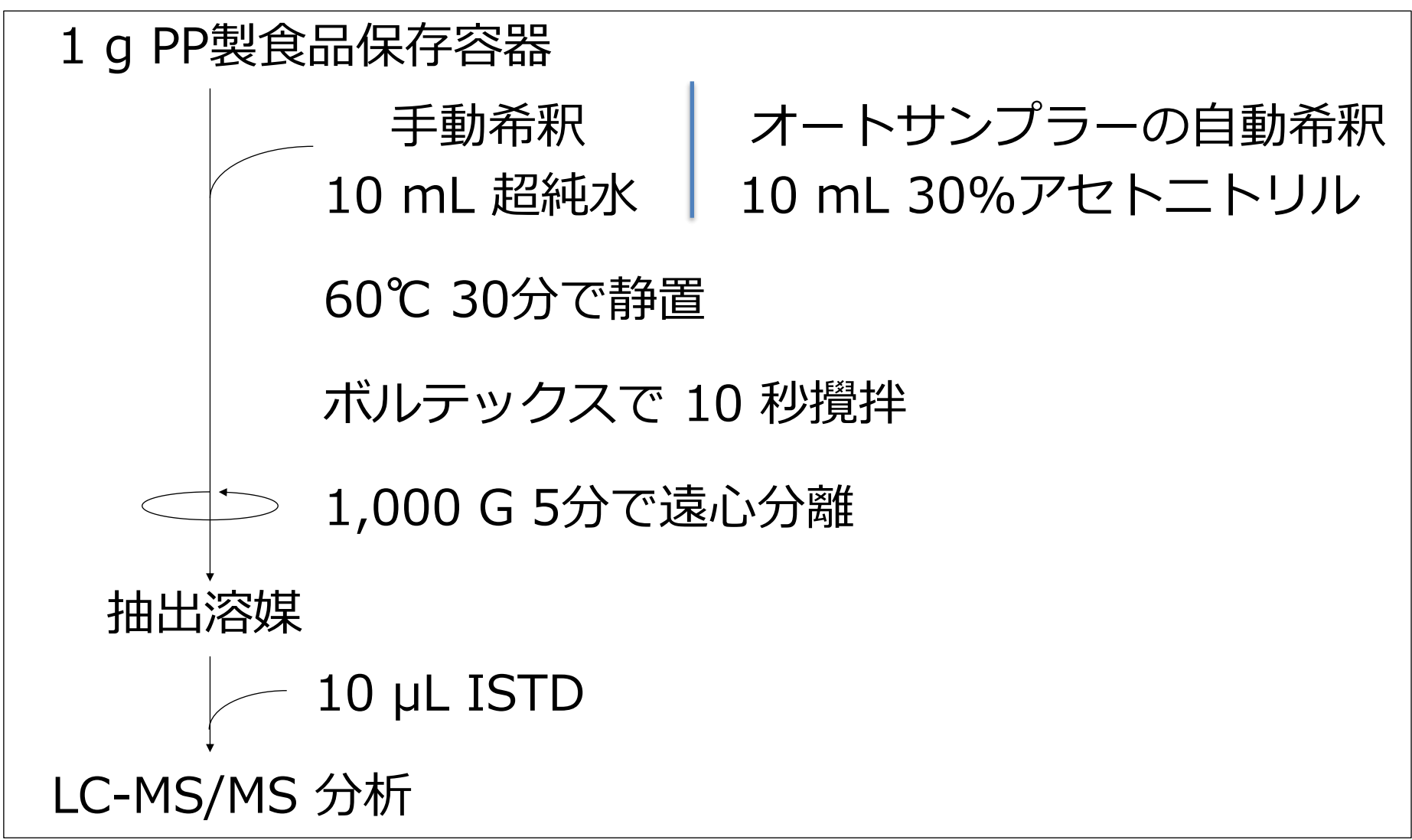


図2 前処理フロー

表1 自動希釈前処理プログラム			
パッチアドインを使用することで、ユーザーは分析パッチ内で a0～a4 を指定できる。これらの値は変数に自動的に割り当てられる。（a0 = サンプルトレイ、a1 = サンプルバイアル、a2 = ISTDトレイ、a3 = ISTDバイアル、a4 = 希釈倍率）			
1	a5=100/a4	14	d.rinse
2	n.drain	15	vial.n rn,sn
3	r.disp 600.0,rs,1	16	n.strk ns
4	d.rinse	17	r.disp 100.1,rs,1
5	vial.n a0,a1	18	mix 1,5,40,ss,35
6	n.strk ns	19	n.drain
7	aspir a5,ss	20	r.disp 600.0,rs,0
8	air.a 0.1,ss	21	d.rinse
9	d.rinse	22	inj.p
10	vial.n a2,a3	23	v.inj
11	n.strk ns	24	wait 2.0
12	aspir 1.0,ss	25	goto f0
13	air.a 0.1,ss	26	end

表2 分析条件

[HPLC conditions]	(Nexera™ X3)	[MS conditions]	(LCMS-8060RX)
分析カラム：	Shim-pack™ XR-ODS Ⅲ (75 mm × 2.0 mm I.D., 1.6 µm)	インターフェイス：	ESI Negative mode
ディレイカラム：	Shim-pack Scepter™ C18-120 (50 mm × 3.0 mm I.D., 1.9 µm)	分析モード：	MRM
移動相A：	超純水	インターフェイス電圧：	-3 kV
移動相B：	アセトニトリル	フォーカス電圧：	0 kV
タイムプログラム：	[手動希釈] B conc. 30% (0 min) → 40% (0-2 min) → 100% (5-7 min) → 30% (7.01-10 min) [自動希釈] B conc. 30% (0 min) → 40% (0-2 min) → 100% (5-6.9 min) → 30% (7 min)	インターフェイス温度：	300℃
注入量：	10 µL	ネプライザーガス流量：	3 L/min
流量：	0.3 mL/min	ドライイングガス流量：	6 L/min
カラム温度：	40 ℃	ヒーティングガス流量：	17 L/min
リンスメソッド：	Cleaning port→Washing pump 2.0 s	ヒーティングブロック温度：	350℃
リンス液：	R0, R3 アセトニトリル / 2-プロパノール = 50:50 (v/v) [自動希釈] R1 30%アセトニトリル	DL温度：	200℃
		プローブ位置：	+2 mm

3. 結果

【手動希釈】

- ビスフェノール類一斉分析におけるマスキロマトグラム（図3）と検量線（図4）を示す。
- すべての化合物が6分以内に溶出しており、効率的な分離と短い分析時間を達成した。
- 検量線標準試料（超純水にISTDおよび標準物質を添加したもの）を用いて、TBBPAについては0.1～20 ng/mL、その他の化合物については0.05～20 ng/mLの範囲で検量線を作成した。絶対検量線法で作成した検量線は、極めて優れた直線性（R²>0.989）を示した（図4）。
- 分析法の性能を、EUのビスフェノールに関する基準値²⁾に従い、添加回収試験および再現性試験（n=3）によって評価した。
- TBBPAを除く化合物の回収率は80.8～94.6%であり、BPAの回収率は内標補正を行うことで80.8%から92.6%に向上した。TBBPAの回収率は60%未満であった。TBBPAを除く化合物の併行精度（RSD）は5.9%以下だった（表3）。

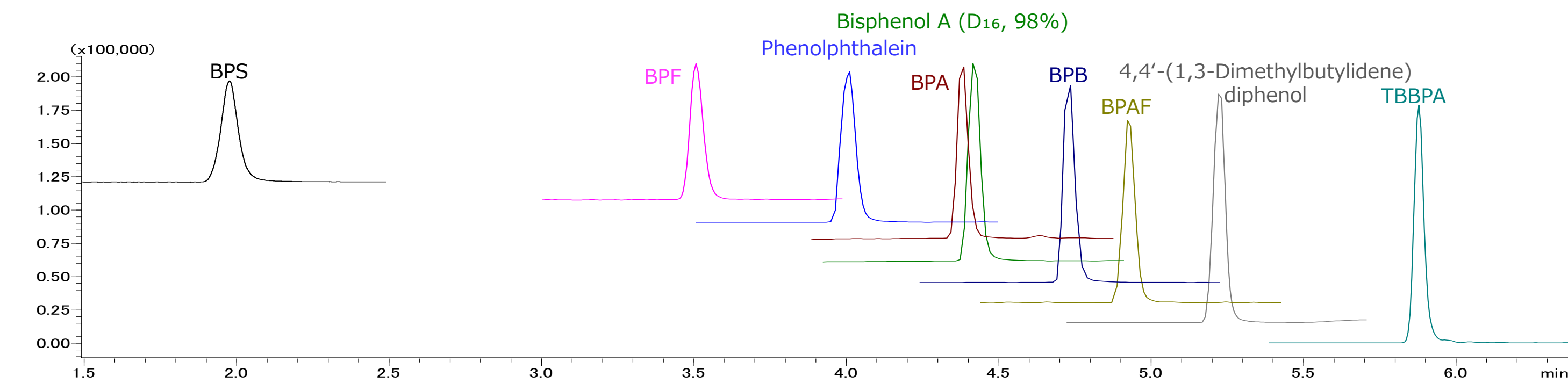


図3 ビスフェノール8成分を一斉分析したMSクロマトグラム

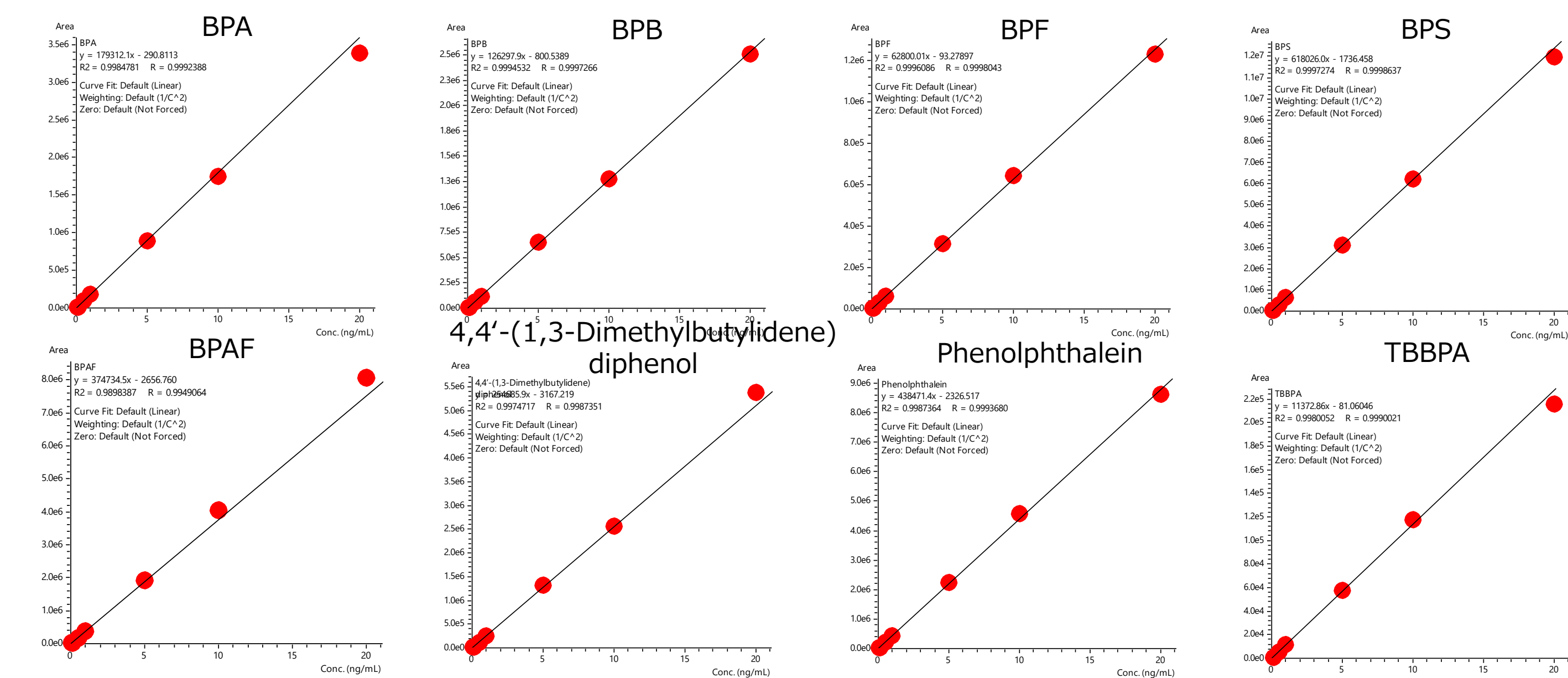


図4 絶対検量線

TBBPA：0.1～20 ng/mL、その他のビスフェノール類：0.05～20 ng/mL

表3 容器におけるビスフェノール類の回収率（手動希釈）

化合物	添加濃度 (µg/kg)	溶液濃度 (ng/mL)	回収率 (%)	再現性 (%RSD, =3)
BPA (内標補正なし)	1.0	0.1	80.8	5.4
BPA (内標補正あり)	1.0	0.1	92.6	4.9
BPB	1.0	0.1	89.5	3.0
BPF	1.0	0.1	94.6	2.0
BPS	1.0	0.1	87.9	3.2
BPAF	1.0	0.1	81.6	4.8
4,4'-(1,3-Dimethylbutylidene)diphenol	1.0	0.1	88.1	4.8
Phenolphthalein	1.0	0.1	82.2	5.9
TBBPA	5.0	0.5	< 60.0	-

【オートサンプラーの自動希釈】

- R0およびR3洗浄液は手動希釈と同じリンス液でニードル外洗浄に使用した。自動希釈においては、希釈液として30%アセトニトリルをR1洗浄液に追加した。
- すべての化合物は6分以内に溶出し、手動希釈と同様の結果が得られた。
- 表1のオートサンプラーの前処理コマンドを使用することで、50 ng/mLの標準溶液と500 ng/mLのISTDを調製するだけで、自動で希釈および等量のISTDの添加を行うことができ、簡単に検量線を作成することができた。検量線は絶対検量線法を用いて作成した。BPAおよびBPSは0.05～20 ng/mLの範囲で、その他の化合物は0.1～20 ng/mLの範囲で良好な直線性（R²>0.99）を示した。
- 分析法の性能を、添加回収試験および再現性試験（n=3）によって評価した。すべての化合物において、回収率は88.0～100.5%だった。また、すべての化合物の併行精度（RSD）は5.7%以下だった（表4）。
- 前処理の溶出溶媒として30% ACNを使用することで、手動希釈における超純水中で良好な添加回収率が得られなかったTBBPAについても、良好な回収率が得られた。

表4 容器におけるビスフェノール類の回収率（自動希釈）

化合物	添加濃度 (µg/kg)	溶液濃度 (ng/mL)	分析濃度 (ng/mL)	回収率 (%)	再現性 (%RSD, =3)
BPA	10	1	0.4	98.8	1.4
BPB	10	1	0.4	100.5	5.7
BPF	10	1	0.4	97.7	1.0
BPS	10	1	0.4	95.6	1.2
BPAF	10	1	0.4	95.5	6.3
4,4'-(1,3-Dimethylbutylidene)diphenol	10	1	0.4	92.5	2.5
Phenolphthalein	10	1	0.4	88.0	1.3
TBBPA	10	1	0.4	98.7	3.7

4. まとめ

- 手動希釈法とオートサンプラー自動希釈法の2種類のLC-MS/MS分析法を開発した。いずれの方法も、6分以内に8種類のビスフェノール類を溶出させることができる。
- 開発したPP製食品保存容器中のビスフェノール類の試料前処理法および分析法を用いることで、7種類のビスフェノール類は1.0 µg/kgから、TBBPAは10 µg/kgの添加濃度から定量が可能である。
- 溶出溶媒を超純水から30% ACNに変更したことで、TBBPAの回収率が向上した。さらに、内標補正を適用することで、BPAの回収率がより向上した。
- オートサンプラーの自動希釈機能はビスフェノール類の定量分析に適用可能であり、省力化、溶媒の削減、およびワークフローの標準化を実現する。

5. 参考文献

- 1)European Commission (2024). Regulation (EU) 2024/3190.
- 2)European Commission (2025). Official Journal C_2025/0721.
- 3)一般財団法人日本食品分析センター （2025）「合成樹脂製の器具又は容器包装の規格」