

が明らかとなった。国産のリキュール類を調査した結果、BPA は殆どの製品から検出されなかった。一方、過半数の製品で BADGE, H₂O 及び BADGE, H₂O, HCl, BADGE, 2HCl の何れかまたは各々が微量検出され、その合計値は最大で約 25 ppb であった。これらの製品では殆どが缶胴部分はエポキシ樹脂系塗料であったが、缶蓋内面にはビニル樹脂系の塗料を使用していることが明らかとなった。果実酒のガラス瓶及びペットボトル入り製品では、一部の試料で微量の BPA, BADGE, 2H₂O などが検出される製品があった。

③ラミネートフィルム包装食品中の BPA 及び BADGE 関連化合物の分析

ラミネートフィルムからの BADGE 関連化合物は、30 検体中 17 検体から検出された。その濃度は、2OH 体 0.03～0.48mg/kg, OHCl 体 0.02 ～ 0.57mg/kg, BADGE 0.01 ～ 0.34mg/kg, HCl 体 0.04～0.45mg/kg, 2HCl 体 0.01～1.11mg/kg であった。缶詰食品と傾向が異なり、缶詰ではほとんど検出されなかった BADGE (12 検体) や HCl 体 (9 検体) が確認された。塩分の比較的多いカレー・シチュー類、スパゲッティソース類では、OHCl 体、HCl 体および 2HCl 体といった塩素付加体が多い傾向がみられ、デザート、ご飯類では 2OH 体等の加水分解体の濃度が高い傾向がみられた。その他ラミネートフィルムの構成は多様であったが、ハンバーグ等の食肉調理品 (ON/PP および ON/PE (ポリエチレン) フィルム包装) から 0.03～0.04mg/kg の 2OH 体と OHCl 体が検出された。さらにポリ塩化ビニリデン (PVDC) をバリアー剤として使用していた惣菜 (レトルトコーン) から 0.03～0.07mg/kg の BADGE 関連物質 (2OH 体, OHCl 体, 2HCl 体) が検

出された。ラミネートフィルムは、Al および PP フィルムとの間に接着剤としてエポキシ樹脂が使用されている可能性が示唆され、これらエポキシ樹脂成分が食品と接する PP フィルムを通過することで食品へ移行したと推察された。

3. 生活関連高分子素材及び製品由来の内分泌かく乱化学物質の動態解析

①文具、化粧品、家庭用品等に含まれる内分泌かく乱化学物質の分析

市販の消しゴム等文具 49 検体、マニキュア等化粧品 9 検体、クッションフロア等家庭用品 6 検体について分析した。64 検体中 30 検体から PAE 及びアジピン酸エステルが検出された。その内訳は、消しゴムは 21 検体中 20 検体から、サインペンの透明ケース等 5 検体中 4 検体から、また、クッションフロア (5 検体) 及びピータイル (1 検体) からは全検体から検出された。全 64 検体中 15 検体 (消しゴム : 12 検体, 透明ケース : 3 検体, ピータイル : 1 検体) からは同時に 2 種類の、3 検体 (消しゴムのみ) からは 3 種類の可塑剤が検出された。検出された可塑剤の種類としては DEHP が最も高頻度に、64 検体中 28 検体 (消しゴム : 18 検体, 透明ケース : 4 検体, クッションフロア : 5 検体, ピータイル : 1 検体), かつ高濃度 (3.6～33.6%) に検出された。次いで高頻度に検出されたのは DBP (14 検体 ; 消しゴムのみ) で、その濃度は 5.1～19.1%, DHP が 7 検体 (消しゴム : 6 検体, ピータイル : 1 検体) から 2.0～35.2% の濃度で検出された。また、DEHA と DINP が共に 1 検体から (DEHA : 透明ケース, DINP : 消しゴム), それぞれ 4.4%, 6.9% の濃度で検出された。

②実験動物用飼料及び飲水中の BPA の分析

今回検討を行った 3 種類の飼料からは BPA 含量は、いずれも検出限界以下 (<50 ng/g) であった。しかし、微量であるが飲水からは、BPA が 14.3 ng/ml 検出された。今回は、検体数も少なく今後更なる検討が必要であると思われる。又、その他のエストロゲン活性様化学物質として、アルキルフェノール類、PAE、植物性ホルモン様化学物質等の分析も必要と思われる。又、実験動物の飼育環境の因子として、餌、飲水以外にゲージ、床敷等も考慮すべきと考えられる。

③PVC製品中のBPAの分析および溶出挙動

PVC製品中のBPAの残存量と水への溶出挙動を検討した。1998年に入手した38検体中30検体にBPAが検出され、検出されたレベルは1.4-500 μ g/gであった。BPAが検出されたホース類の一部および手袋を用い、BPAの水への溶出挙動を検討した結果、BPAの水への溶出は材質中の濃度に依存した。また、ホースの溶出試験から、BPAは常に樹脂の表面へと移行することが推察された。手袋からの溶出については一時間ごと、数回溶出させることで材質中のBPAはほとんど溶出するものがあつた。いずれの試料においてもBPAは非常に水へ溶出しやすいことが明らかになった。2001年に入手したPVC製品では、BPAが検出される比率は低く、添加剤が替わりつつあることが推察された。

④歯科用高分子素材由来の内分泌かく乱化学物質の分析

今回、4製品用いて材質試験、溶出試験を行い、BPA、t-BuP量を測定したが、製品の違いにより溶出及び残留BPA、t-BuP量が異なっていた。このブラケットに残留している

物質は主にBPAとp-CPであつた。本年度で使用したブラケットでは重合調節剤としてp-BuPの代わりにp-CPを使用しているブラケットが3種類あつた。唾液と変性唾液に浸漬したブラケットを比較すると、変性唾液に浸漬したブラケットの溶出BPA量の方が多かつた。唾液より変性唾液に浸漬させた場合では、PCの残留BPA量と溶出BPA量がともに増加した。この変性唾液の結果から、唾液中のエステラーゼやリパーゼなどの酵素によるPCの炭酸エステル分解により、BPA量が増えるという可能性は少ないことが示唆された。唾液に浸漬したPC製矯正用ブラケットはいずれも唾液浸漬により残留BPAが増加すること並びに残留BPAの溶出のみならず唾液浸漬によりPCが加水分解され、唾液に移行することが明らかとなった。現時点においては唾液へのBPA移行量は微量であり、健康障害を惹起しないと推測される。

4. 生活環境中の内分泌かく乱化学物質の実態調査と分析精度の向上に関する研究

①尿中の生活関連製品由来内分泌かく乱化学物質の分析法の開発と実態調査

アルキルフェノール類はBPAと同様に酵素分解後、ヘッドスペース瓶に採り、リン酸酸性下でSPME法にて抽出してGC/MS-SIMで定量した。その結果、BPAが0.27～5.47ng/ml検出され、一日の排泄量は平均1.68 μ gであつた。NPが0.2～2.5ng/ml検出され、一日の排泄量は平均2.0 μ gであつた。NPはPAEと同様、バックグラウンドが高いため、SPME法による直接抽出法を採用したが0.1～0.2ng/ml程度のバックグラウンドは避けられなかつた。フェノールは一時尿で0.6～29.4 μ g/ml、一日尿で1.3～

30.5 $\mu\text{g/ml}$ で一日排泄量は 3.0～78.8mg/day であった。p-クレゾールは一時尿 0.06～165 $\mu\text{g/ml}$ 、一日尿で 0.61～87.3 $\mu\text{g/ml}$ で一日排泄量は 1.2～78mg/day であった。パラジクロロベンゼンの代謝物である 2,5-DCP は一時尿 5.4～4650 ng/ml、一日尿で 5.8～265ng/ml で一日排泄量は 10.5～705 $\mu\text{g/day}$ であった。2,5-DCP は家庭でパラゾールを使用していない人からも検出された。アルキル基の短いブチルとペンチルフェノールは排泄が早く、摂取後 30 分で排泄が始まり、1 時間後に最高濃度に達し、5 時間ではほぼ排泄された。

②環境大気中のプラスチック可塑剤の実態調査

屋外大気中のプラスチック可塑剤の年間調査を行った結果、主に DnBP と DEHP が検出し、それぞれの年平均値は、95 (4.8～250)、46 (12～81) ng/m³ であった。DnBP の濃度は、夏季に高く、冬季には低くなり気温と相関性があった。室内空気の調査では、DnBP は、冬季に外気より 10 倍近い約 200 ng/m³ を検出した。自動車内空気中の可塑剤について季節毎の違いを調査した結果、車種により検出成分比は異なるが、車内温度が 50℃を超える夏季には、DnBP、DEHP はともに 1000 ng/m³ を超え、DEP、DMP、DEHA も数 100 ng/m³ を超える外気に比べ高い濃度を検出した。しかし、これらの最高値でも厚生労働省が示した室内空気濃度指針値の 1/10 以下であった。

③大気圧光イオン化を用いた LC/MS 法の基礎的研究

N-メチルカルバメート系農薬としてメソミル、アルジカルブ及びカルバリルを対象とした。メソミル及びカルバリルでは分子

関連イオンとしてプロトンやアンモニウムイオンが付加したイオンが基準ピークとして観察された。これら化合物のイオン化電圧は低いことから直接光によるイオン化は生じているが、不安定なラジカルカチオンである分子イオンが更に反応にて (M+H)⁺ や (M+NH₄)⁺ などの安定な付加イオンが観察されたと考えられる。ベンゾ(a)ピレンは ESI や APCI ではほとんど感度がない化合物である。そこで APPI で最適条件を検討し微量分析法を検討した。N-メチルカルバメート系農薬同様に移動相流量やキャピラリー電圧の最適条件を検討したが、流量は 0.6ml/min、キャピラリー電圧は 1500V で最大強度を示した。SIM モードではベンゾ(a)ピレンの質量スペクトルから (M+H)⁺ が基準ピークであったところから、このイオンをモニターイオンとした。その結果、0.1ppm が検出限界であった。

5. 生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の作用評価

①酵母 Two-Hybrid 法を用いた高分子素材中の内分泌かく乱作用の評価

酵母 Two-Hybrid 法を用いてスチレンダイマー、トリマー、臭素化ビフェニル及び臭素化ジフェニルエーテル等及びその代謝物の甲状腺ホルモン様作用を評価した。これら化学物質及びそれらの代謝物には甲状腺ホルモン様作用は認められなかった。また、PAE 及びアルキルフェノールをはじめとする生活関連製品に由来する化学物質のアンドロジェン様作用を評価した。評価した化学物質にアンドロジェン様作用は、認められなかった。化学物質の抗アンドロジェン作用を併せて評価した。アルキルフェノ

ール類、パラベン類及びベンゾフェノン誘導体等に作用が認められた。抗アンドロジェン作用を示すうえでフェノール残基を有することが重要であった。抗アンドロジェン作用が認められた化学物質の中には、エストロゲン様作用を有するものがあった。これら化学物質は、エストロゲン様作用及び抗アンドロジェン作用の独立した双方の作用によって性バランスを雌性に偏重させる可能性が示唆された。

②精巣ライディッヒ細胞初代培養系の構築とテストステロン産生に及ぼす内分泌かく乱化学物質のリスク評価

H295R 細胞のコルチゾール産生に影響を与えたアルキルフェノールと PAE について、ライディッヒ細胞のテストステロン産生に及ぼす影響を検証した。その結果、副腎 H295R 細胞のコルチゾール産生を阻害した 4-ノニルフェノール (NP) 及び 4-*t*-ペンチルフェノール (ptP)、4-*n*-ヘプチルフェノール (pnHp)、4-*n*-オクチルフェノール (pnO)、4-*n*-ノニルフェノール (pnN) 及び 4-ドデシルフェノール (pD) の曝露によってもライディッヒ細胞のテストステロン産生が抑制されることを明らかにした。更に、その抑制効果は H295R 細胞の場合と比較して低濃度であった。一方、H295R 細胞のコルチゾール産生を阻害した DCHP はライディッヒ細胞のテストステロン産生が抑制することはなかった。従って pnHp, pnO, pnN, NP, 4-*t*-オクチルフェノール (ptO) 及び pD 曝露によるライディッヒ細胞のテストステロン産生抑制の作用機序は H295R 細胞のコルチゾール産生抑制機序と異なる可能性が十分考えられる。E₂ と DEHP を被検物質として用いた

CD34/I-dU assay の検討により、CD34 陽性細胞の増殖が認められたことから、CD34 陽性細胞はエストロゲンに対する反応性を持つことが示唆された。また、E₂, DEHP, BPA を被検物質として用いた Colony Assay の検討により、CD34 陽性細胞の増殖能の促進と CFU-GM のみ増殖促進が認められたため、まだ機序は不明であるが、エストロゲン様作用による CD34 陽性細胞の分化能・増殖能への影響が示唆された。

③内分泌かく乱化学物質の造血幹細胞に対する影響

CD34/I-dU assay において、E₂ の添加により、CD34 陽性細胞に 10⁻⁹mol/l で最大となる増殖能が認められ、エストロゲンに対する反応性があることが確認された。DEHP の添加においても、10⁻⁷mol/l で最大となる増殖能が認められた。Colony Assay においては、E₂, DEHP, BPA はそれぞれ 10⁻⁹mol/l, 10⁻⁷mol/l, 10⁻⁵mol/l で最大となる増殖促進能が認められ、コロニー数の増加を促進することと、CFU-GM の分化能の促進との相関が認められた。その他の被検物質は、両 Assay において CD34 陽性細胞の増殖に変化を及ぼさなかった。

6. PAE 代替可塑剤の内分泌かく乱化学物質作用の評価

①DEHP の代替可塑剤候補となる化学物質の内分泌かく乱作用

ヒト乳癌細胞 T47D 細胞を用いた細胞増殖試験では、S-9 混合系では DEHP (試薬、工業用) と DEHA (試薬) に活性が見られたが、その他の被検物質には活性が見られなかった。ヒト乳癌細胞 MCF-7 細胞を用いた細胞増殖試験では、DEHP, EH-TOTM, DEHA,

ATBC (試薬) に活性が見られたが、その他の被験物質には活性が見られなかった。酵母 Two-Hybrid 法は、ポジティブコントロールのガラクトシダーゼ活性 10%以下を定量下限と考え、エストロゲン(α)、同 S-9 混合系、アンドロゲン、抗アンドロゲン、甲状腺ホルモン(α)、同 S-9mix 系のいずれでも、いずれの被験物質も活性は認められなかった。副腎皮質細胞のコルチゾール産生への影響は、BTHC (試薬) の 30 μ M、ATBC (試薬、工業用) の 3.0~30 μ M の濃度でコルチゾール産生を抑制する傾向が見られたが、その他の被験物質には活性が見られなかった。

DnDP (工業用)、n-TOTM (工業用)、EH-TOTM (工業用)、ATHC (試薬) は全ての試験で活性が認められず、DEHP (試薬、工業用) より活性が低かった。試薬と工業用を DEHP、EH-TOTM、ATBC で比較すると、試薬の方が高い活性を示す傾向が見られた。

②受容体結合試験による DEHP 及びその他の可塑剤の活性評価

エストロゲン及びアンドロゲン活性評価法として、エストロゲン受容体 (α , β) 及びアンドロゲン受容体バインディングアッセイ法を利用した。エストロゲン (α , β) 及びアンドロゲン受容体における活性を評価したところ、 IC_{50} が求まる物質があった。これらの物質において、17 β -エストラジオール及びテストステロンの IC_{50} を 100 として、各物質の受容体結合親和性 (RBA) を求めた。RBA が 100 より大きいと、受容体への親和性は強く、100 より小さいと親和性は弱いことが分かった。今回の測定物質では、ER(α)において、DEHP(試薬 1)が、ER(β)においては、EH-TOTM(試薬

2)、AR においては、DEHP(試薬 1)と ATBC(工業 5)において RBA が求まり、それぞれ、0.007, 0.001, 0.014, 0.0007 であった。

③ヒト副腎皮質由来 H295R 細胞のコルチゾール産生に及ぼす DEHP 代替可塑剤の影響評価

DEHP の代替候補 11 物質について、ヒト副腎由来 H295R 細胞中のコルチゾール産生に及ぼす影響を種々の濃度で検討した。その結果、BTHC (試薬) は 30 μ M の濃度においてコルチゾール産生を有意に抑制した。また ATBC は、試薬と工業用との間で多少差が見られたが 3.0 μ M-30 μ M の濃度においてコルチゾール産生を濃度依存的に抑制する傾向があった。他の可塑剤の曝露では、いずれもコルチゾール産生の抑制傾向は認められなかった。いずれの検体においても曝露実験に使用した濃度では細胞毒性は認められなかった。

④DEHP 及び代替可塑剤のエストロゲン様作用

EH-TOTM は、試薬用、工業用ともに S-9mix 処理前にはエストロゲン様作用がほとんどみられなかったが、S-9mix 処理によりエストロゲン様作用がみとめられるようになった。ATBC は、試薬用、工業用ともに S-9mix 処理前にはエストロゲン様作用が弱いながらも見受けられたが、S-9mix 処理によりエストロゲン様作用がなくなることが明らかになった。ATHC は、S-9mix 処理前はエストロゲン様作用がみられなかったが、S-9mix 処理によりエストロゲン様作用がみとめられるようになった。BTHC は、S-9mix 処理前はエストロゲン様作用がみられなかったが、S-9mix 処理によりエストロゲン様作用がみとめられるようになった。

た。DnDP は、S-9mix 処理前後ともエストロゲン様作用がみられなかった。n-TOTM は、S-9mix 処理前後ともエストロゲン様作用がみられなかった。

⑤E-SCREEN Assay による DEHP 及び代替可塑剤の活性評価

E2 は単独で、MCF-7 ヒト乳癌細胞の増殖を亢進した。この細胞増殖の亢進はエストロゲンレセプターアンタゴニストである ICI182,780 により阻害され、E2 が主にエストロゲンレセプターを介した作用をしていることが示唆された。DEHP の代替品候補物質である、DEHP、EH-TOTM、DEHA、ATBC(試薬)では MCF-7 ヒト乳癌細胞の増殖を亢進する作用が見られたが、ATHC、BTHC(試薬)と DEHP、DnDP、n-TOTM、EH-TOTM、ATBC(工業)では MCF-7 ヒト乳癌細胞の増殖を亢進する作用は見られなかった。このため、DEHP、EH-TOTM、DEHA、ATBC(試薬)ではエストロゲン様作用を示すことが、また、ATHC、BTHC(試薬)、DEHP、DnDP、n-TOTM、EH-TOTM、ATBC(工業)ではエストロゲン様作用を持たないことが示唆された。

D. 結論

1. PVC 製品中の PAE 及びその動態解析

①アルコール消毒時による PVC 製手袋中 PAE の存在状態の解析

PVC 製手袋表面には高濃度の DEHP が存在し、最表面ではごく薄い皮膜を形成していることが明らかとなった。この表面付近の DEHP はアルコール消毒により一旦溶解し手袋内部に浸み込むが、最表面では比較的短時間で元の状態に回復することが推定された。水溶出試験により溶出する DEHP 量は、アルコール噴霧時に手袋に残存するアルコ

ールの影響を受けることが示唆された。

②PVC製玩具中の可塑剤の実態調査及びPAE及びアジピン酸エステル等の溶出について

PVC製と判明した49製品56検体の可塑剤の種類と含有量の実態調査では、PAE類3種類、アジピン酸エステル類3種類、その他の可塑剤4種類が検出され、PAE類の検出率は68%に減少した。DINP、DEHP、DINA、ATBCを含有する玩具試験片から含有量と溶出量の関係を調べたところ、DINPとDEHPの溶出傾向はほぼ同様と推察された。

③ヒト唾液中における玩具中フタル酸ジエステルからモノエステル体への生成

ヒト唾液中でのフタル酸ジエステルからのモノエステル生成反応には唾液酵素の関与が認められた。唾液酵素は直鎖のアルキル基、特に炭素数4のブチル基に強い基質特異性を示し、側鎖を持つ2-エチルヘキシル基およびベンジル基にはほとんど加水分解活性を示さなかった。これらは、モノエステルの脱エステルによるフタル酸生成反応に対するエステラーゼとしての酵素活性を示さないことが明らかとなった。

2. 食品容器包装材料中の内分泌かく乱化学物質の分析に関する研究

①瓶詰食品におけるキャップシーリング材中のNPの分析

1999年に入手した製品の20%からNPが検出されたが、化学物質の内分泌かく乱作用が注目されるようになってから、添加剤の代替えが行われていることが分かった。

②アルコール飲料中のBPA及びBADGE関連化合物の分析

各種のアルコール飲料について BPA 及び BADGE 関連化合物の含有量を調査した。その結果、国産ビールでは缶及びビン製品とも BPA 及び BADGE 関連化合物はほとんど検出されなかったが、輸入缶ビールでは一部微量検出した。国産の缶入りリキュール類や果実酒、焼酎及びウイスキーなどでも一部の製品から BADGE 関連化合物が微量検出されることが分かった。これらは主に、缶胴または缶蓋内面塗装として使用された塗料の種類及び品質などの要因によるものと考えられた。

③ラミネートフィルム包装食品中の BPA 及び BADGE 関連化合物の分析

ラミネートフィルム包装食品中の BPA および BADGE 関連化合物の一斉分析法を検討した結果、51 検体中、23 検体から BADGE 関連化合物が検出されたが、BPA はすべての検体から検出されなかった。BADGE 関連化合物は、特に PET/Al/PP 型のラミネートフィルム包装食品から検出された。また溶出試験の結果から、BADGE 関連化合物の食品への移行は、主に Al-PP 間に使用されたエポキシ樹脂系接着剤によるものと推察された。

3. 生活関連高分子素材及び製品由来の内分泌かく乱化学物質の動態解析

①文具、化粧品、家庭用品等に含まれる内分泌かく乱化学物質の分析

市販の文具、化粧品、家庭用品の計 64 検体について 14 種類の可塑剤を分析した結果、30 検体から PAE 及びアジピン酸エステルが検出された。うち、15 検体からは同時に 2 種類の、3 検体からは同時に 3 種類の可塑剤が検出された。また、消しゴム中に

は高頻度かつ高濃度に可塑剤が含有されていることが判明した。

②実験動物用飼料及び飲水中の BPA の分析

今回検討を行った 3 種類の飼料からは、BPA は検出限界以下であった。しかし、微量であるがポリカーボネイト製給水瓶中の飲水からは、BPA が 14.3 ng/ml 検出された。今回は、検体数も少なく今後更なる検討が必要である。

③PVC製品中のBPAの分析および溶出挙動

1998年に入手したPVC製品の80%に1.4~500 $\mu\text{g/g}$ の範囲でBPAが検出された。材質中のBPAは樹脂の表面に集まる傾向が見られ、容易に水へ溶出することを確認した。2001年に入手した製品ではBPAの検出率が減少していることが推察された。

④歯科用高分子素材由来の内分泌かく乱化学物質の分析

唾液よりも変性唾液にブラケットを浸漬させた場合で、ブラケット中に残留している BPA 量及び溶出 BPA 量が増加していた結果から、唾液中エステラーゼやリパーゼなどの酵素による PC の炭酸エステル分解により、BPA 量が増えるという可能性は少ないことが示唆された。

4. 生活環境中の内分泌かく乱化学物質の実態調査と分析精度の向上に関する研究

①尿中の生活関連製品由来内分泌かく乱化学物質の分析法の開発と実態調査

当該研究所の職員等から採尿し、アルキルフェノール類を GC/MS-SIM で定量した。その結果、BPA が 0.27~5.47ng/ml (平均 0.85ng/ml) 検出され、一日の排泄量は平均 1.68 μg であった。NP が 0.2~2.5ng/ml (平均 0.55ng/ml) 検出され、一日の排泄量は

平均 $2.0 \mu\text{g}$ であった。

②環境大気中のプラスチック可塑剤の実態調査

屋外大気中のプラスチック可塑剤の年間調査を行った結果、主に DnBP と DEHP を検出した。DnBP の濃度は、夏季に高く、冬季には低くなり気温と相関性があった。室内空気の調査では、DnBP は、冬季に外気より 10 倍近く検出した。自動車内空気中の可塑剤について季節毎の違いを調査した結果、車内温度が 50°C を超える夏季には、DnBP、DEHP は共に 1000 ng/m^3 を超えた。

③大気圧光イオン化を用いた LC/MS 法の基礎的研究

APPI を用いた LC/MS 法を N-メチルカルバメート系農薬やベンゾ(a)ピレンの分析に応用した結果、選択性の高い高感度分析ができ、環境試料中の微量分析に有用であることが実証された。

5. 生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の作用評価

①酵母 Two-Hybrid 法を用いた高分子素材中の内分泌かく乱作用の評価

酵母 Two-Hybrid 法を用いてスチレンダイマー、トリマー、臭素化ビフェニル及び臭素化ジフェニルエーテル等の甲状腺ホルモン様作用を評価した結果、甲状腺ホルモン様作用は認められなかった。化学物質の抗アンドロゲン作用を併せて評価した結果、アルキルフェノール類、パラベン類及びベンゾフェノン誘導体等に作用が認められた。

②精巣ライディッヒ細胞初代培養系の構築とテストステロン産生に及ぼす内分泌かく乱化学物質のリスク評価

副腎 H295R 細胞のコルチゾール産生を阻害した 4-nニルフェノール及び 4-t-オクチルルフェノールのみならず 4-n-ヘプチルルフェノール、4-n-オクチルルフェノール及び 4-n-ノニルルフェノールの曝露によってもライディッヒ細胞のテストステロン産生が抑制されることを明らかにした。H295R 細胞のコルチゾール産生を抑制したフタル酸ジシクロヘキシルは本アッセイ系におけるテストステロン産生に影響を及ぼさなかった。

③内分泌かく乱化学物質の造血幹細胞に対する影響

Colony Assay により、 E_2 、DEHP、BPA の添加で、CD34 陽性細胞の増殖能の促進と CFU-GM のみ増殖促進が認められたため、エストロゲン様作用により CD34 陽性細胞の分化能・増殖能に影響が及ぶことが示唆された。今回使用した被検物質には全て CD34 の増殖能を阻害もしくは抑制する作用は認められなかった。

6. PAE 代替可塑剤の内分泌かく乱化学物質作用の評価

①DEHP の代替可塑剤候補となる化学物質の内分泌かく乱作用

受容体結合能試験、ヒト乳癌細胞増殖試験、酵母 Two-Hybrid 法、副腎皮質細胞のコルチゾール産生への影響試験の結果、DnBP（工業用）、n-TOTM（工業用）、EH-TOTM（工業用）、ATHC（試薬）は全ての試験で活性が認められず、DEHP（試薬、工業用）より内分泌かく乱作用が小さいことがわかった。

②受容体結合試験による DEHP 及びその他の可塑剤の活性評価

エストロゲン α 受容体結合試験 ($\text{ER}(\alpha)$)

において DEHP (試薬), エストロゲン β 受容体結合試験 (ER(β)) においては EH-TOTM (試薬), アンドロゲン受容体試験 (AR) においては DEHP (試薬) と ATBC (工業) において RBA が求められた。

③ヒト副腎皮質由来 H295R 細胞のコルチゾール産生に及ぼす DEHP 代替可塑剤の影響評価

DEHP の代替物質のヒト副腎由来 H295R 細胞中のコルチゾール産生に及ぼす影響を検討した結果, BTHC (試薬) は 30 μ M の濃度においてコルチゾール産生を抑制した。また ATBC は, 試薬と工業用との間で多少差が見られたが 3.0 μ M~30 μ M の濃度においてコルチゾール産生を濃度依存的に抑制する傾向があった。

④DEHP 及び代替可塑剤のエストロゲン様作用

アルキルフェノール類, BPA のように代謝によってエストロゲン様作用がなくなるもの, ATBC, DnDP, n-TOTM のように代謝によってもエストロゲン様作用に変化がないもの, DEHP, DEHA, EH-TOTM, ATHC, BTHC のように代謝によってエストロゲン様作用がみられるようになるものがあった。

⑤E-SCREEN Assay による DEHP 及び代替可塑剤の活性評価

MCF-7 ヒト乳癌細胞を用いた細胞増殖試験により, DEHP 代替可塑剤の候補物質のエストロゲン様作用について検討したところ, 実験用試薬 DEHP、EH-TOTM、DEHA、ATBC は MCF-7 細胞の増殖を亢進し, エストロゲン様作用があることが示唆されたが, その他はいずれも, MCF-7 細胞の増殖を亢進する作用はみられなかった。

E. 健康危険情報

特記事項無し。

F. 研究業績

1. 論文発表

- 1) Niino, T., Ishibashi, T., Itho, T., Sakai, S., Ishiwata, H., Yamada, T., and Onodera, S., *J. Health. Sci.*, 47, 318-322 (2001)
- 2) 新野, 石橋, 伊藤, 坂井, 杉田, 石綿, 山田, 小野寺, 日本食品化学会誌, 8, 194-199 (2001)ふ
- 3) Niino, T., Ishibashi, T., Itho, T., Sakai, S., Ishiwata, H., Yamada, T and Onodera, *J. Health. Sci.*, (in press)
- 4) K. Inoue, A. Yamaguchi, M. Wada, Y. Yoshimura, T. Makino and H. Nakazawa "Quantitative detection of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether metabolites in human plasma using liquid chromatography - electrospray mass spectrometry" *J. Chromatogr. B* 765, 121-126 (2001)
- 5) Koichi Inoue, Yoshihiro Yoshimura, Hiroyuki Nakazawa. "Evaluation of the turmeric based on the flow-injection analysis with ultraviolet and flurometric detections" *Analytical letters*, 34(10), 1171-1718. (2001)
- 6) Takaho Watanabe, Hiroshi Yamamoto, Koichi Inoue, Akiko Yamaguchi, Yoshihiro Yoshimura, Kayoko Kato, Hiroyuki Nakazawa, Naotaka Kuroda, Kenichiro Nakashima, "Development of sensitive high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl) benzoyl chloride as a labeling reagent

for determination of bisphenol A in plasma sample” *J. Chromatogr. B*, 762, 1-7 (2001).

7) K. Inoue, M. Wada, T. Higuchi, S. Oshio, T. Umeda, Y. Yoshimura and H. Nakazawa “Application of liquid chromatography – mass spectrometry to the quantification of bisphenol A in human semen” *J. Chromatogr. B in press*

8) K. Inoue, Y. Yoshie, S. Kondo, Y. Yoshimura and H. Nakazawa “Determination of phenolic xenoestrogens in water by liquid chromatography with coulometric-array detection” *J. Chromatogr. A* 946, 291-294 (2002)

9) Tadashi TSUKIOKA, Jun-ichi TERASAWA, Tetsuya YOSHIDA, Moritoshi SATO, Hiromichi FUJISHIMA, Hiroyuki NAKAZAWA and Tsunehisa MAKINO., Analysis of Chlorobenzenes in blood by Head Space SPME-GC/MS, *Journal of Environmental Chemistry*, 11(3), 517-523 (2001)

10) 山川晋, 浦野まちえ, 熊谷昭彦, 月岡忠, 佐藤守俊, 学校給食用ビン牛乳で発生した異臭事故の原因究明に関する一考察, *食品衛生研究*, 51(1), 13-20 (2001)

2. 学会発表

1) 杉田たき子, 松田りえ子, 河村葉子, 米谷民雄, 谷村雅子, 新野竜大, 石橋亨, 平林尚之, 松本容彦: 軟質PVC製玩具からのPAE溶出と乳幼児のmouthing行動, 日本食品衛

生学会第82回学術講演会 (2001. 10)

2) 阿部有希子, 杉田たき子, 和久井千世子, 石綿肇, 米谷民雄: 軟質PVC製玩具中の可塑剤の調査, 日本食品衛生学会第82回学術講演会 (2001. 10)

3) 新野, 石橋, 伊藤, 坂井, 杉田, 石綿, 山田, 小野寺, フォーラム 2001: 衛生薬学・環境トキシコロジー (金沢)

4) 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による缶入アルコール飲料中の BPA の分析: 奈良部 雄, 表 雅之望月 直樹, 山下 博, 中澤 裕之, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 4 回研究発表会, 2001 年 12 月, 筑波

5) PVC製品中のBPAの分析および溶出挙動, 平山クニ, 土屋久世, 藤巻照久, 中澤裕之, 日本薬学会第122年会 (2002. 3)

6) 並木達也, 中澤裕之, 吉村吉博, 本郷敏雄: ポリカーボネート製プラスチックブラケットからの BPA のヒト唾液への移行日本内分泌攪乱化学物質学会第 4 回研究発表会集, p149 (2001)

7) SPMEによる生体試料中の有機塩素系化合物の微量分析, 月岡忠, 寺澤潤一, 吉田徹也, 佐藤守俊, 藤島弘道, 中澤裕之, 第8回環境化学討論会, 平成11年7月 (北九州市)

8) SPMEによるプラスチック製品からの揮発性物質の分析, 月岡忠, 寺澤潤一, 吉田徹也, 佐藤守俊, 藤島弘道, 第9回環境化学討論会, 平成12年6月 (札幌市)

9) NCI-GC/MS-SIMによる生体試料中のオクチルフェノール, NP及びBPAの定量, 月岡忠, Jhon BROCK, Sam GRAISER, Johnny NGUYEN, 中澤裕之, 牧野恒久, 第10回環境化学討論会, 平成13年5月 (松山市)

10) 学校給食用ビン牛乳で発生した異臭事

故の原因究明に関する一考察，山川晋，浦野まちえ，熊谷昭彦，月岡忠，佐藤守俊，全国食品衛生監視員研修会発表等抄録，平成11年11月

11) SPMEによる生体試料中の有機塩素系化合物の微量分析，月岡忠，寺澤潤一，吉田徹也，佐藤守俊，藤島弘道，中澤裕之，第8回環境化学討論会，平成11年7月（北九州市）

12) SPMEによるプラスチック製品からの揮発性物質の分析，月岡忠，寺澤潤一，吉田徹也，佐藤守俊，藤島弘道，第9回環境化学討論会，平成12年6月（札幌市）

13) NCI-GC/MS-SIMによる生体試料中のオクチルフェノール，NP及びBPAの定量，月岡忠，Jhon BROCK，Sam GRAISER，Johnny NGUYEN，中澤裕之，牧野恒久，第10回環境化学討論会，平成13年5月（松山市）

14) 学校給食用ビン牛乳で発生した異臭事故の原因究明に関する一考察，山川晋，浦野まちえ，熊谷昭彦，月岡忠，佐藤守俊，全国食品衛生監視員研修会発表等抄録，平成11年11月

15) 酵母 Two-Hybrid 法を用いた化学物質及び代謝物の甲状腺ホルモン様作用の評価，北川陽子，高取 聡，織田 肇，西川淳一，西原 力，中澤裕之，堀 伸二郎，環境ホルモン学会第 4 回研究発表会，2001 年 12 月，つくば

16) 酵母 Two-Hybrid 法を用いた化学物質のアンドロジェン様作用及び抗アンドロジェン作用の評価，高取 聡，北川陽子，小西良昌，織田 肇，西川淳一，西原 力，中澤裕之，堀 伸二郎，環境ホルモン学会第 4 回研究発表会，2001 年 12 月，つくば

17) ヒト副腎由来 H295R 細胞のコルチゾー

ル分泌に及ぼす各種フラボノイドの阻害効果：篠田 聡，大野修司，豊島 聡，中澤裕之，牧野恒久，中陳静男，第 74 回日本生化学大会，2001 年 10 月，京都

18) ヒト副腎由来 H295R 細胞のコルチゾール産生に及ぼす各種有機スズ化合物の阻害効果：篠田 聡，大野修司，藤巻照久，中澤裕之，牧野恒久，中陳静男，第 4 回環境ホルモン学会研究発表会，2001 年 12 月，つくば

19) ブタ精巣ライディッヒ細胞初代培養系構築とテストステロン産生に及ぼす内分泌かく乱化学物質のリスク評価への応用：中島羊奈子，佐藤 剛，大野修司，中澤裕之，牧野恒久，中陳静男，第4回環境ホルモン学会研究発表会，2001年12月，つくば

20) ブタ精巣ライディッヒ細胞初代培養系構築とテストステロン産生に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響：佐藤 剛，中島羊奈子，大野修司，中澤裕之，牧野恒久，中陳静男，日本薬学会第122年会，2002年3月，千葉

21) マクロファージ系培養細胞における内分泌攪乱化学物質の影響，加藤未歩，山崎聖美，第 4 回日本内分泌攪乱化学物質学会，つくば，2001. 12. 14-15，研究発表会要旨集，326，2001.

22) アジピン酸ジエチルヘキシル (DEHA) の生体影響，川口研，山崎聖美，中澤裕之，第 4 回日本内分泌攪乱化学物質学会，つくば，2001. 12. 14-15，研究発表会要旨集，355，2001.

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

平成 13 年度 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書
高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び
動態解析

ポリ塩化ビニル製手袋中のジエチルヘキシルフタレートが存在状態の研究
ーアルコール消毒時の挙動と水中への溶出量の関係ー

主任研究者 中澤裕之 星薬科大学教授
研究協力者 荻野純一 東レリサーチセンター

研究要旨

食品用ポリ塩化ビニル(塩ビ)製手袋には、内分泌系をかく乱することが示唆される化学物質であるジエチルヘキシルフタレート(DEHP)が可塑剤として使用されている。この手袋を使用する際の DEHP の溶出・食品や食器への移行と、その安全性を評価する必要性がある。H13 年度は H12 年度に引き続き、食品用塩ビ手袋中の DEHP の存在状態・分布とエチルアルコール消毒時の変化、および DEHP の水への溶出量の評価を、透過型電子顕微鏡観察、角度変化 ATR による深さ方向分布シミュレーション、切削法サンプリングー熱脱着 GC/MS 法、水溶出試験により実施した。

その結果、ポリ塩化ビニル製手袋表面には高濃度の DEHP が存在し、最表面ではごく薄い皮膜を形成していることが明らかとなった。この表面付近の DEHP はアルコール消毒により一旦溶解し手袋内部に浸み込むが、最表面では比較的短時間でもとの状態に回復することが推定された。

水溶出試験(60℃30 分)により溶出する DEHP 量は、手袋中の DEHP 存在状態よりも、アルコール処理時に手袋に残存するアルコールの影響を受けることが示唆された。

また、新しい分析技術として、切削法によるサンプリングと熱脱着 GC/MS による DEHP の定量分析法を確立した。この方法は DEHP に限らず、材料中の有機物の深さ方向分布を求める有効な方法と考えられる。

A.研究目的

ジエチルヘキシルフタレート(DEHP)は、優れた可塑剤として、軟質塩ビ製品全般に使用されている。スーパーマーケットや飲食店、一般家庭等で広く利用されている手袋も、代表的な軟質塩ビ製品のひとつである。

一方 DEHP は内分泌系をかく乱する化学物質であることが示唆されており、手袋用途のような特に柔らかい材料の場合、使用量が数 10%から 50%以上になることから、手袋表面から食器や食品への移行が懸念される。

この問題に関して、これまで塩ビ製品

からの DEHP の溶出挙動などについて調査が進められてきているのに対し、本研究では、高分子素材の解析という観点から塩ビの分析を実施し、DEHP の溶出や移行との関係性を評価することを目的とする。

H13 年度は H12 年度に続いて、食品用塩ビ手袋中の DEHP の存在状態・分布およびエチルアルコール消毒時の変化、および DEHP の水への溶出量との関係を明らかにする分析を実施した。

B. 研究方法

B・1 試料

食品用塩ビ手袋として、平成 12 年度本厚生科学研究の中の「ポリ塩化ビニル製手袋中のフタル酸ジ-2-エチルヘキシルの食品中への移行に関する研究」において PVC 手袋②として評価されたものと同じ手袋を用いた。

手袋そのものに加えて、アルコール消毒を想定した試料として、エチルアルコールで処理した 2 種の試料を調製した。従って評価に用いたのは次に示す 3 種の試料である。

- ・未処理試料（以後「未処理」）
- ・エチルアルコール 10 秒洗浄、すぐに水洗、表面の水を軽くふき取った試料（以後「EtOH-H₂O」）
- ・エチルアルコール噴霧、そのまま乾燥した試料（以後「EtOH」）

エタノール洗浄処理には、シグマアルドリッチジャパン(株)製特級エタノール(99.5%)を用いた。

B・2 分析評価

B-1 項で示した試料について次の 4 項

目の分析・評価を実施した。

(1) 電子顕微鏡観察

塩ビと DEHP の存在状態を可視化して直接観察する目的で、透過型顕微鏡観察を実施した。装置には日立製 H-7100FA 透過型電子顕微鏡を用い、加速電圧 50kV (PMMA 包埋)、100kV (エポキシ包埋)の条件とした。観察のための試料調整法は、PMMA 包埋超薄切片法¹⁾、およびエポキシ包埋 RuO₄ 染色超薄切片法を用いた。ここで PMMA 包埋超薄切片法とは MMA モノマーを塩ビに含浸させ膨潤させた後、硬化して切片を作製する方法である。

(2) 切削法サンプリングおよび熱脱着 GC/MS 分析

手袋試料表面を厚みを変えて切削サンプリングし、切削片中の DEHP を定量する事で、DEHP の深さ方向分布を求めた。

切削サンプリングには、「SAICAS」(Surface and interfacial cutting analysis system)²⁾ (DAIPLA WINTES CO., LTD. & MEKONG CO., LTD. 製)を用いた。この装置は本来、剥離強度や膜厚の測定、せん断強度の測定などを目的として開発された装置である。

切削片中の DEHP の定量は、熱脱着 GC/MS 分析により実施した。熱脱着 GC/MS 分析装置は、日本電子製 JMS-AM SUN300 型 GC/MS 分析装置およびフロンティア・ラボ社製 PY-2020D 型ダブルショットパイロライザーである。定量に用いた切削試料片 0.06~0.2mg、熱脱着温度は 300℃

とした。

(3)角度変化 ATR およびスペクトルシミュレーション³⁾

手袋最表面部分の DEHP の濃度分布を調べる目的で角度変化 ATR 測定とスペクトルシミュレーションを実施した。

IR 分光計には一回反射 ATR 用アタッチメント付属の Bio Rad Digilab 社製 FTS-55A を用い、IR エレメントとして ZnSe、入射角を $40^{\circ} \cdot 45^{\circ} \cdot 50^{\circ} \cdot 60^{\circ}$ とした。

(4)水溶出試験

試料中の DEHP 総量が、アルコール処理により、どの程度変化を分析するため、試料全量をテトラヒドロフランに溶解後 n-ヘキサンで PVC を不溶化して得た上澄みを GC で定量した。

「EtOH」試料については系外に DEHP が溶出することはないため、この測定は「未処理」試料および「EtOH-H₂O」試料についてのみ実施した。

アルコール処理後に、DEHP の溶出し易さがどのように変化するかを調べるため、水溶出試験を実施した。水溶出試験は手袋試料に対して 100 倍量の水を用い、60℃30 分の条件で実施した。溶出した DEHP は GC/MS-SIM 法で定量した。

C.研究結果

C・1 電子顕微鏡観察

電子顕微鏡観察は観察前の試料調製（樹脂包埋、超薄切片作成）に時間がかかりアルコール処理による変化を評価することが不可能と考えられたので、「未処理」試料についてのみ実施した。

図 1 に、PMMA 包埋超薄切片法による断面 TEM 写真を、図 2 にエポキシ包埋 RuO₄ 染色超薄切片法による断面 TEM 写真を示す。

前者は、塩ビ粒子の状態を観察することを目的に実施したものである。H12 年度に実施した試料では大きさ 0.1～3.3 μ m の PVC の 1 次粒子が観測されたが、今回の試料ではそのような大きな粒子は見られず、15nm 以下の粒子として存在している。また顔料として無機微粒子が添加されている。

後者は DEHP を染色により可視化して観察することを目的とした測定である。DEHP は手袋全体に約 10nm の粒子として分散しているほか、包埋樹脂と接した最表面に薄い皮膜状に高濃度で存在していることが確認された。DEHP の一部は包埋樹脂側に移行しているため、皮膜の厚みは正確に評価できないが、数 nm から数 10nm 程度と考えられる。

C・2 切削法サンプリングおよび熱脱着 GC/MS 分析

図 3 に切削サンプリングの概念図を、図 4 に実際の切削片を示した。切削は浅い切削(表面～約 50 μ m)と深い切削(表面～約 100 μ m)を実施した。実際の切削深さは、切削片の面積と重量を実測し、別に測定した手袋の密度をもとに算出した。浅い切削片と深い切削片中の DEHP 定量結果から、手袋の表面付近と内部の DEHP 濃度を求め、図 5 にまとめた。なおここに示した濃度は絶対値ではなく、「未処理」手袋の深い切削片(表面から 129 μ m)中の DEHP

濃度を 20%(手袋全体の DEHP 濃度)とした時の相対値である。

この結果、「未処理」試料では、内部に対し表面付近で DEHP 濃度が高くなることが実証された。興味深いことに「EtOH」試料では逆に内部の DEHP 濃度の方が、表面の DEHP 濃度よりも高いことが判明した。このことは噴霧されたエチルアルコールが表面付近の DEHP を溶解しながら手袋内部にしみ込んだことを示している。

「EtOH-H₂O」試料では、表面付近と内部の DEHP 濃度の差が小さくなっている。これはエチルアルコールに浸漬することにより表面付近の DEHP の系外への溶出と内部への浸透が同時に起こっていることを意味していると考えられる。

C・3 角度変化 ATR およびスペクトルシミュレーション

ATR 法は材料表面の IR スペクトル情報を得る手法であるが、測定時に使用する赤外光の入射角を変化させることにより、異なる深さ(測定深度)までの情報を得ることができる方法である。

入射角を変化させて測定した ATR スペクトルについて、測定深度の波数依存性などを考慮してスペクトルシミュレーションを実施すると、表面付近の DEHP の深さ方向分布を算出することが出来る。

図 6 に「未処理」試料に関する角度変化 ATR の測定結果(低波数領域)、図 7 に各々の試料における測定深度と DEHP(743cm⁻¹)、PVC(610cm⁻¹)のピーク強度比、図 8 にスペクトルシミ

ュレーションによる DEHP の深さ方向分布を示した。この深さ方向分布で y 軸は塩ビと DEHP の存在量の絶対値ではなく、相対的な値である。

図 7 より、最表面付近の DEHP 濃度は「未処理」試料で一番高く、「EtOH-H₂O」試料で一番低くなっていること、図 8 よりいずれの試料においても最表面付近で急激に DEHP 濃度が高くなっていることが明らかとなった。

C・4 水溶出試験

アルコール処理による試料中 DEHP 総量の変化、および水溶出試験結果は表 1 にまとめた。

試料中の DEHP 総量は「未処理」試料の 20.4%に対し「EtOH-H₂O」試料で 20.0%であり、DEHP は若干系外に溶出しているものの、大部分が残存していることが明らかとなった。

水溶出試験では、「未処理」試料、「EtOH-H₂O」試料に比べて「EtOH」試料で溶出量が多いことが判明した。

D. 考察

電子顕微鏡観察から、今回の試料では PVC は 15nm 以下の粒子として存在していることが判明した。これは H12 年度に実施した試料とは異なっており、類似の塩ビ手袋試料でも製品により、PVC の状態が異なることが明らかとなった。

DEHP は手袋全体に約 10nm の粒子として分散しているほか、最表面に数 nm から数 10nm 程度の薄い皮膜状に存在していることが確認された。

切削サンプリングによる分析の結果、未処理の塩ビ手袋試料は、内部に対し表面付近で DEHP 濃度が高いことが確認された。これに対し、アルコール噴霧後そのまま乾燥すると、表面付近の DEHP が手袋内部にしみ込むため、表面よりも手袋内部の DEHP 濃度が高くなる。また、アルコールに短時間浸漬し、その後水で洗浄する処理を実施すると、表面付近の DEHP の系外への溶出とする内部への浸透が同時に起こると考えられる。

角度変化 ATR 測定により評価した塩ビ最表面付近の DEHP の深さ方向濃度分布は、切削法で得た結果とは一致せず、試料の深い部分までの濃度分布の変化と最表面では挙動が異なることが示唆された。最表面付近ではアルコール処理の内容に関わらず、急激に DEHP 濃度が高くなっている。このことはアルコール処理により溶解して手袋内部にしみ込んだ DEHP が、比較的短時間で、表面に再び滲み出していることを示している。

試料中の DEHP はアルコール浸漬－水処理により若干系外に溶出しているものの、大部分が残存していることが明らかとなった。

水溶出試験(60℃30 分)では、アルコール噴霧試料で溶出量が多い。このことから溶出する DEHP は、その深さ方向分布よりも残存するアルコールの影響を多く受けると推定される。

E. 結論

H12 年度に引き続き、食品用塩ビ手

袋中の DEHP の存在状態・分布およびエチルアルコール消毒時の変化、および DEHP の水への溶出量との関係を明らかにする分析を実施した。

この結果ポリ塩化ビニル製手袋表面には高濃度の DEHP が存在し、最表面ではごく薄い皮膜を形成していることが明らかとなった。この表面付近の DEHP はアルコール消毒により一旦溶解し手袋内部にしみ込むが、最表面では比較的短時間でもとの状態に回復することが推定された。

水溶出試験により溶出する DEHP 量は、手袋中の DEHP 存在状態よりも、アルコール処理時に手袋に残存するアルコールの影響を受けることが示唆された。

また、新しい分析技術として、切削法によるサンプリングと熱脱着 GC/MS による DEHP の定量分析法を確立した。この方法は DEHP に限らず、材料中の有機物の深さ方向分布を求める有効な方法と考えられる。

参考文献

- 1) (社)近畿化学協会ビニル部会；「ポリ塩化ビニル-その基礎と応用」214 (1988)
- 2) DAIPLA WINTES CO., LTD. & MEKONG CO., LTD. SAICAS 技術資料
- 3) W.Theiss, S.henkel, M.Arntzen, Thin Solid Films 255(1995)117



図 1. PMMA 包埋超薄切片法による塩ビ手袋の断面 TEM 写真



図 2. エポキシ包埋 RuO₄ 染色超薄切片法による塩ビ手袋の断面 TEM 写真

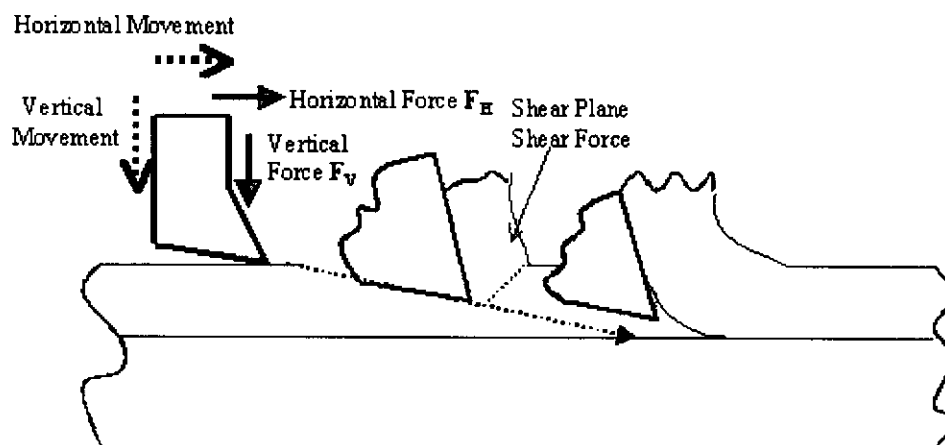


図 3. 切削法によるサンプリング

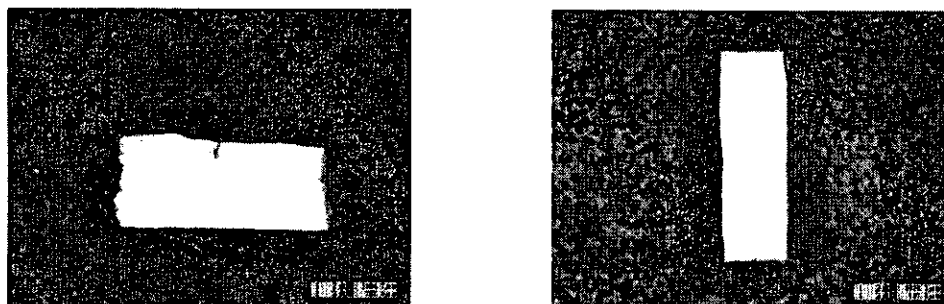


図 4. 切削法サンプリングにより未処理品手袋から得られた切削片
 (左：浅いサンプリング切削片($1800\mu\text{m} \times 780\mu\text{m} \times 46\mu\text{m}$)、
 右：深いサンプリング切削片($1880\mu\text{m} \times 550\mu\text{m} \times 124\mu\text{m}$)

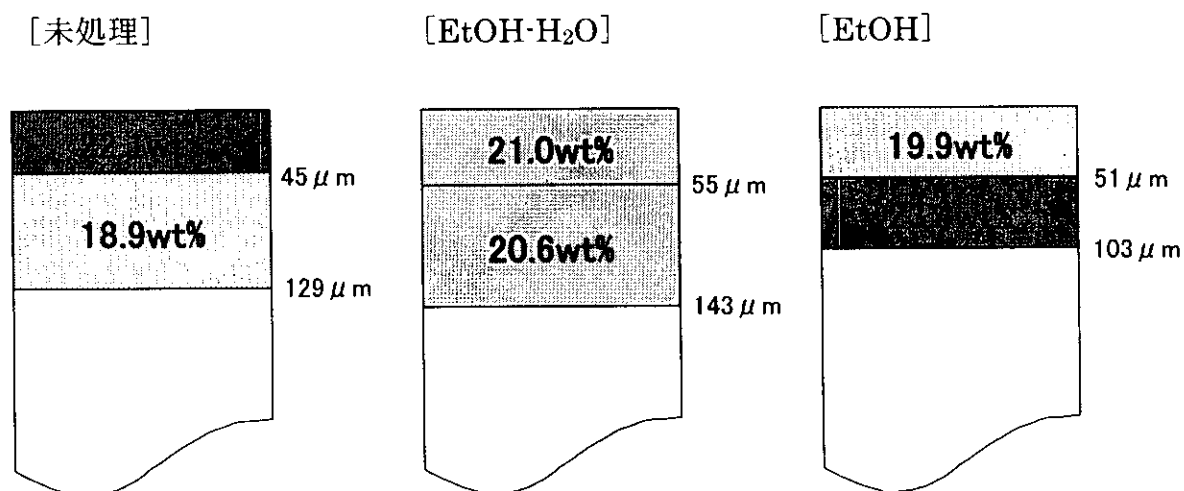


図5. アルコール処理による手袋中の DEHP 濃度の変化
(切削法サンプリングと熱脱着 GC/MS 分析による DEHP の局所濃度の定量)

左：未処理品
 中：エチルアルコール 10 秒浸漬後水洗
 右：エチルアルコール噴霧、乾燥