

Chamber 平面図

☆ : 空気サンプル採取位置 (0.2 及び 1.2m) →エアゾール噴射 0,1,2,4,8 経過時点で各 20 分間 (1L/min) 採取

★ : 床面サンプル採取位置 → 0~8 時間 20 分後まで配置

▲ : 天井サンプル採取位置

◆ : 再放散用空気サンプル採取位置 (1.2mのみ)

△ : 壁面サンプル採取位置

■ : ベニヤ板 (縦 10cm × 横 100cm)

厚生労働科学研究費（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

化学物質、特に家庭内の化学物質の暴露評価手法の開発に関する研究

化学物質、特に殺虫剤の経皮暴露量に関する研究

主任研究者 徳永 裕司 国立医薬品食品衛生研究所・環境衛生化学部長

分担研究者 杉林 堅次 城西大学・薬学部 教授

一般家庭で使用される化学物質は多種多様であり、衣食住のすべてに含まれる。これら化学物質の暴露は、室外より室内の方が圧倒的に大きい。しかし、住環境で使用される家庭用の化学物質の暴露評価モデルについては、ほとんど検討されていない。家庭内の化学物質の主な暴露経路は、化学物質の揮散による気道暴露と床や壁に吸着した化学物質と皮膚との接触による経皮暴露が考えられる。そこで、後者について評価するため、*in vitro*皮膚透過実験法を用いて使用頻度の高いバイオサイド（殺虫剤、消毒剤）の経皮吸収性を動物皮膚および培養皮膚を用いて検討した。

本年度は、モデル暴露物質として、昨年につき

-

クレゾール、さらにダイアジノンとレスメトリンを用い、この水溶液もしくはケロシン溶液を試験製剤とし、ヘアレスラット皮膚透過性を評価した結果について報告する。また、これら殺虫剤成分の皮膚透過実験後のラット皮膚中濃度を測定した結果についても報告する。

A. 研究目的

一般家庭で使用される化学物質は多種多様であり、衣食住のすべてに含まれる。これら化学物質の暴露は、室外より室内の方が圧倒的に大きい。化学物質の暴露には、化学物質の揮散による気道暴露と床や壁に吸着した化学物質と皮膚との接触による経皮暴露がある。しかし、住環境で使用される家庭用の化学物質の暴露評価モデルについては、ほとんど検討されていない。そこで、従来から当研究室で確立している *in vitro* 皮膚透過実験法を用いて、使用頻度の高いバイオサイド（殺虫剤、消毒剤）である *p*-クレゾール、ダイアジノンおよびレスメトリンの経皮吸収性について動物皮膚を用いて評価した。

本年度は、*p*-クレゾール皮膚透過実験の追加実験と、皮膚透過実験に使用した皮膚中の *p*-クレゾールの貯留性を評価した結果について報告する。また、ダイアジノンとレスメトリンの皮膚透過実験および皮膚貯留性を評価した結果についても報告する。

B. 研究方法

B-1. 理論

2層膜皮膚モデルを用いた物質の皮膚透過挙動の解析

薬物の皮膚透過性および皮膚中挙動を解析するために、stratum corneum と stripped skin からなる2層膜モデルを構築した。

Fig. 1に2層膜モデルの模式図を示す。

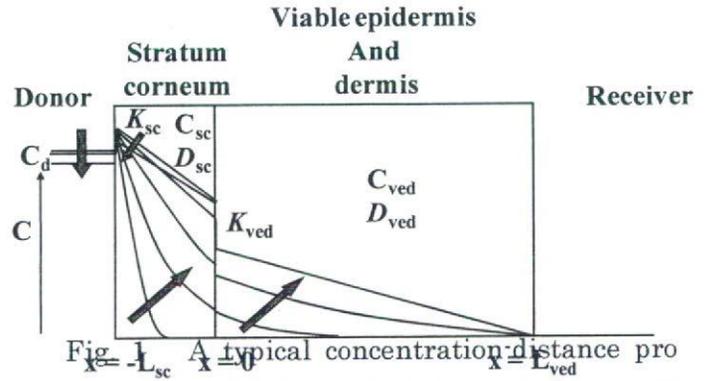


Fig. 1 A typical concentration-distance profile of *p*-cresol in the hairless rat skin permeation experiment (two-layered diffusion model).

角層における位置 x 、時間 t の物質濃度 C_{sc} は Fick の第2法則から、

$$\frac{\partial C_{sc}}{\partial t} = D_{sc} \frac{\partial^2 C_{sc}}{\partial x^2} \quad (1)$$

Viable epidermis および dermis における位置 x 、時間 t の物質濃度 C_{ved} は、式 (2) で表される。

$$\frac{\partial C_{ved}}{\partial t} = D_{ved} \frac{\partial^2 C_{ved}}{\partial x^2} \quad (2)$$

初期条件と境界条件は以下のようになる。

$$t = 0 \quad -L_{sc} < x < 0 \quad C_{sc} = C_0 \quad (3)$$

$$0 < x < L_{ved} \quad C_{ved} = 0$$

$t > 0$

$$x = -L_{sc}$$

$$C_{sc} = K_{d/sc} \cdot C_d \quad (4)$$

$$V \frac{dC_d}{dt} = A D_{sc} \frac{dC_{sc}}{dx}$$

$$x = 0 \quad C_{ved} = K_{ved/sc} \cdot C_{sc}$$

および

$$D_{sc} \frac{dC_{sc}}{dx} = D_{ved} \frac{dC_{ved}}{dx}$$

$$x = L_{ved} \quad C_{ved} = 0$$

ここで、 L_{sc} は角層の厚み、 L_{ved} は生きた表

皮および真皮の厚み、 $K_{d/sc}$ はドナー側から角層への分配係数、 $K_{sc/ved}$ は角層から生きた表皮への分配係数、 C_d はドナー側の薬物濃度、 C_s は角層の薬物濃度、 C_{ved} は生きた表皮および真皮の薬物濃度、 D_{sc} は角層中の薬物拡散係数、 D_{ved} は生きた表皮および真皮中の薬物拡散係数、 A は拡散有効面積を示す。

位置 x 、時間 t における C_{sc} もしくは C_{ved} は、式(1)もしくは(2)、初期条件(式(3))および境界条件(式(4))によって算出される。また、薬物のレシーバー側への透過速度 J はFickの第1法則である式(5)で表すことができる。さらに、 J を積分することにより単位時間あたりの物質の累積皮膚透過量 Q が求められる(式(7))。

$$J = -D \left(\frac{dC_{ved}}{dx} \right)_{x=L_{ved}} \quad (5)$$

$$Q = -D \int_0^t \left(\frac{dC_{ved}}{dx} \right)_{x=L_{skin}} dt \quad (6)$$

また、Fickの第2法則は差分法により、式(7)、(8)に変換できる。

$$\frac{dC_{i,j}}{dt} = \frac{1}{\Delta t} (C_{i,j+1} - C_{i,j}) \quad (7)$$

$$\frac{d^2 C_{i,j}}{dx^2} = \frac{1}{\Delta x^2} (C_{i-1,j} - 2C_{i,j} + C_{i+1,j}) \quad (8)$$

ここで、 $C_{i,j}$ は皮膚における i 番目の位置の j 番目の時間の濃度を表す。 Δx は $x_{i+1} - x_i$ を表し、 Δt は $t_{i+1} - t_i$ を表す。式(7)、(8)を式(1)および(2)に代入すると式(9)、(10)となる。

$$C_{sc,i,j+1} = rD_{sc} C_{sc,i-1,j} + (1 - 2rD_{sc}) C_{sc,i,j} + rD_{sc} C_{sc,i+1,j} \quad (9)$$

$$C_{ved,i,j+1} = rD_{ved} C_{ved,i-1,j} + (1 - 2rD_{ved}) C_{ved,i,j} + rD_{ved} C_{ved,i+1,j} \quad (10)$$

ここで、 r は $\Delta t / \Delta x^2$ を示す。また、式(5)は差分法を用いると式(11)、式(6)は式(12)で表すことができる。

$$J_j = -D_{skin} \frac{C_{n+1,j} - C_{n,j}}{\Delta x} \quad (11)$$

$$Q_j = Q_{j-1} + J_j \cdot \Delta t \quad (12)$$

ここで、 n は皮膚の分割数を示す。 J_j を以上の方法に従って表計算ソフトMicrosoft® Excelを用いて計算した。なお、今回は $n=10$ とした。また、計算では $D_{skin} \cdot \Delta t / \Delta x^2$ が0.5以下となるように Δt を設定した。さらに、式(11)から Q を求めた。拡散係数 D_{sc} と D_{ved} 、分配係数 $K_{d/sc}$ と $K_{sc/ved}$ は累積透過量 Q_j の実測値を非線形最小二乗法を用いてカーブフィッティングすることにより算出した。最小二乗法の計算では表計算ソフトMicrosoft® Excel中のソルバー機能を用いた。ソルバーの条件としては、制限時間が100秒、反復回数が100回、精度が0.000001、交差が5%、収束が0.001であり、解の検索のアルゴリズムは準ニュートン法を用いた。

B-2. 試薬

ケロシン、*p*-クレゾールおよびダイアジンは和光純薬工業株式会社(大阪)より購入した。レスメトリンは住友化学株式会社(東京)より供与された。その他の試薬は、

特級、HPLC用または試薬グレードのものをそのまま使用した。

B-3. 皮膚透過実験

WBN/ILA-Ht系雄性ヘアレスラットの腹部を摘出しフランツ型拡散セル（有効透過面積 0.64 cm^2 ）に挟み、角層側に

クレゾール

の水溶液またはケロシン溶液を適用し、真皮側にはpH 7.4等張緩衝液（PBS）を適用して*in vitro*皮膚透過実験を行った。ただし、レスメトリンはケロシン溶液のみ試験した。90分まで、経時的にレシーバー側からサンプリングを行い、定法により各殺虫剤成分の皮膚透過量を測定した。

B-4. 皮膚中濃度測定実験

皮膚透過実験で使用した皮膚の有効透過面積部位を切除、細断した。PBSを加え、氷冷下で電動ホモジナイザー（Polytron PT-MR 3000, Kinematica, Switzerland）を用いて、10,000 rpm, 3 min, 4°Cでホモジネートを作成した。このホモジネートに同量のジクロロメタンを加え、振とう後、ジクロロメタン層を分取し、定法により各殺虫剤成分の皮膚貯留量を測定した。

B-5. 定量法（HPLC分析）

皮膚透過実験で得られた

クレゾール

およびダイアジノンサンプルは、アセトニトリルまたは酸化防止剤BHT（2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol）入りメタノールと1:1で混和し、遠心分離した上清20 μL をHPLCに注入した。皮膚中濃度測定サンプルはジクロロメタン層をそのまま注入した。HPLC分析に用いた移動相、検出波長は、以下の通りであった。

（HPLC条件）

検出器：SHIMADZU, UV-VIS DETECTOR SPD-10A、カラム：SUPERIOREX ODS S-5 μm 4.6 \times 250 mm (SHISEIDO)、カラム温度：40°C、
p-クレゾール、移動相：アセトニトリル：水=4：6、流速：1.2 mL/min、波長：280 nm、
ダイアジノン、移動相：アセトニトリル：メタノール：水=6：2：2、流速：1.2 mL/min、波長：245 nm、

B-6. 薬物の定量法（GC/MS分析）

皮膚透過実験で得られたレスメトリンサンプルは、酸化防止剤BHT（2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol）入りメタノールと1:1で混和し、この混液0.5 mLに同量のジクロロメタンを加え、1分間振とう後、ジクロロメタン層をGC/MSに注入した。皮膚中濃度測定サンプルはジクロロメタン層をそのまま注入した。GC/MS分析に用いた移動相、検出波長は、以下の通りであった。

（GC/MS条件）

検出器：Agilent 6890N, 5973inert、カラム：HP-5MS (30 m \times 0.25 mm ID、膜厚0.25 μm)、注入方式：パルスドスプリットレス、2 μL 、注入口温度：280°C、イオン源温度：230°C、四重極温度：150°C、カラム温度：50°C（2分）、40°C/分 \rightarrow 170°C、6°C/分 \rightarrow 300°C（2分）、内部標準物質：クリセン-d12、移動相：He（カラム流量1 mL/分）、検出法：選択イオン検出、モニターイオン（*m/z*）：レスメトリン（123、171）、クリセン-d12（240、223）

なお、GC/MSによる測定は神奈川県衛生研究所の辻清美先生にお願いした。

C. 結果及び考察

C-1. 皮膚透過実験

角層を有する全層膜 (intact skin) を介する *p*-クレゾールの透過性はケロシン基剤を用いた方が、pH7.4 リン酸緩衝液 (PBS) を基剤として用いた場合と比較して高い値を示した。一方、角層を除去した皮膚 (stripped skin) を介した *p*-クレゾールの透過性は基剤の種類によらず同程度であった (Fig. 2)。これらを速度論解析した結果、基剤としてケロシンを用いた場合の K_{sc} および D_{sc} はそれぞれ、73、 1.7×10^{-9} cm²/s、であり K_{ved} および D_{ved} はそれぞれ、3.1、 5.5×10^{-7} cm²/s であった。一方、PBS を基剤として用いた場合の K_{sc} および D_{sc} はそれぞれ、7.4、 1.7×10^{-9} cm²/s、であり K_{ved} および D_{ved} はそれぞれ、2.8、 6.3×10^{-7} cm²/s であった。これらの結果より、ケロシン基剤は、*p*-クレゾールの角層への分配性を著しく増加させることが分かった。

ダイアジノンのラット皮膚透過性は、角層を有する全層膜 (intact skin) および角層を除去した皮膚 (stripped skin) どちらを介しても、ケロシン基剤および pH7.4 リン酸緩衝液 (PBS) を基剤の両方でダイアジノンの皮膚透過性は観察されなかった。また、レスメトリンのラット皮膚透過性も、角層を有する全層膜 (intact skin) および角層を除去した皮膚 (stripped skin) どちらを介しても、ケロシン基剤および pH7.4 リン酸緩衝液 (PBS) を基剤の両方でレスメトリンの皮膚透過性は観察されなかった。さらに、ドナー濃度を10倍にし、レシーバーに4%アルブミンを添加し、実験時間を90分から24時間に延長した系でもレスメトリンの皮膚透過性は観察されなかった。この

ことから、ダイアジノンおよびレスメトリンは真皮下部には移行しないか、皮膚上層に分配分布することが考えられた。

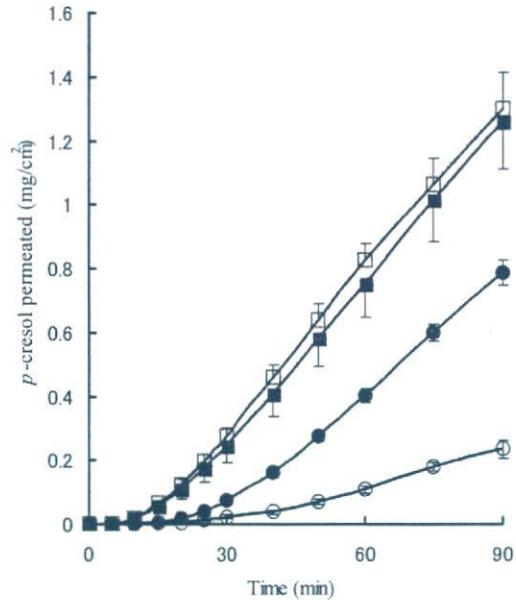


Fig.2 Permeation profile of *p*-cresol that permeated through hairless rat skin. Symbols: (●), Kerosene-intact skin; (○), PBS-intact skin; (■), Kerosene-stripped skin; (□), PBS-stripped skin, Each value represents the mean \pm S.E. (n=3-4)

C-2. 皮膚中濃度

皮膚透過実験後の *p*-クレゾールの皮膚中濃度は、intact skinにおいて、ケロシン基剤を用いたときは15.0 mg/cm³、PBS基剤を用いたときの皮膚中濃度は7.49 mg/cm³であり、ケロシンを基剤に用いた方が2.0倍高かった ($P < 0.01$)。また、stripped skinにおいて、ケロシン基剤を用いたときの *p*-クレゾール皮膚中濃度は7.39 μ g/cm³、PBS基剤を用いたときの皮膚中濃度は7.20 μ g/cm³であり、油基剤と水基剤間で違いが見られなかった。*p*-クレゾールの皮膚中濃

度は、intact skinにケロシン基剤を適用した系で最も高かった (Fig. 3)。

皮膚透過実験後のダイアジノンの皮膚中濃度は、intact skinにおいて、ケロシン基剤もしくはPBS基剤のいずれを用いた場合でも0.23 mg/cm³であった。特に、ケロシン基剤適用した場合は適用したダイアジノン量の34.8%が、皮膚中に貯留した。また、stripped skinにおいて、ケロシン基剤を用いたときのダイアジノン皮膚中濃度は0.12 mg/cm³、PBS溶液を用いたときの皮膚中濃度は0.21 mg/cm³であった。これらの結果より、ダイアジノンは基剤によらず高い皮膚貯留性を示すことが分かった (Fig.4)。

ケロシン基剤を用いて調製した0.2 mg/mLレスメトリン溶液を皮膚に適用した後の皮膚中濃度を調べた (Fig. 5)。0.2 mg/mLレスメトリン溶液をintactもしくはstripped skinに適用した時の皮膚中濃度はそれぞれ0.024 mg/cm³、0.018 mg/cm³であり、ダイアジノンと同様に皮膚貯留性が認められた。しかしながら、皮膚に貯留しているレスメトリン量は適用したレスメトリン量の1%にも相当しなかったことから、レスメトリンはほとんど皮膚には分配しないことが推定された。

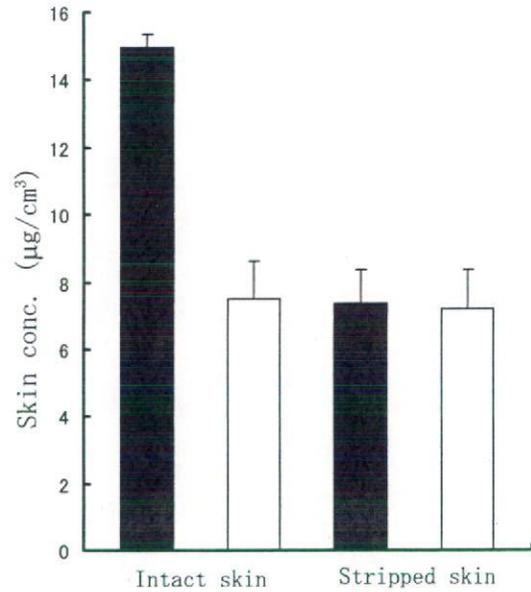


Fig.3 *p*-cresol concentration in skin after *in vitro* permeation test; (■), Kerosene; (□), PBS, Each value represents the mean ± S.E. (n=3)

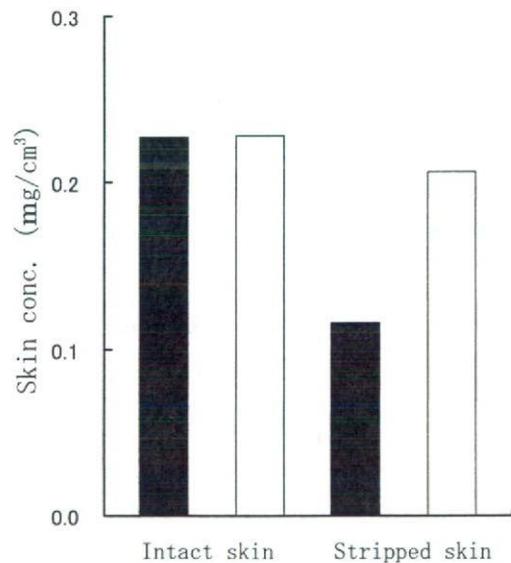


Fig.4 Diazinon concentration in skin after *in vitro* permeation test; (■), Kerosene; (□), PBS, (n=1)

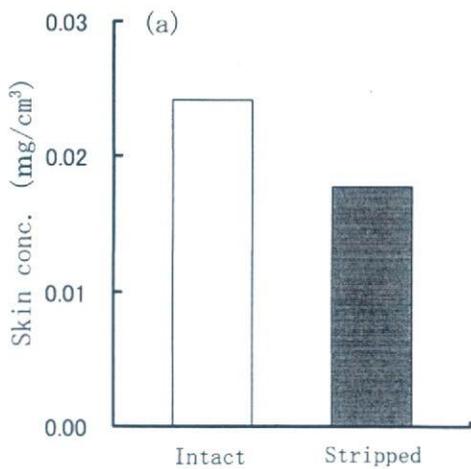


Fig.5 Resmethrin concentration in skin after *in vitro* permeation test; Each value represents the mean (n=2)

皮膚に適用された化学物質による刺激性は、基本的にはその物質が持つポテンシャルとその作用部位への送達性によって決定される。本報告で用いたケロシン基剤は、*p*-クレゾールの皮膚への高い分配性を示し、低濃度の物質をも皮膚へ浸透しやすくなる可能性を示した。また、ケロシン基剤を用いた場合には、PBS基剤と比較して生きた表皮中の*p*-クレゾール濃度が高いことから、皮膚中物質濃度と皮膚刺激性についても十分に検討する必要があると思われた。

ダイアジノンは、皮膚透過性がみられないものの、皮膚貯留性がかなり高く、その毒性が懸念される結果となった。

レスメトリンは、皮膚透過性および皮膚貯留性がほとんどみられないことから、その使用に問題はないと考えられた。

D. 結論

1. *p*-クレゾールの皮膚透過性は基剤により異なり、ケロシンを基剤として用いた場合にはPBSを基剤として用いた場合と比較して皮膚透過性が増加することがわかった。
2. *p*-クレゾールの角層剥離皮膚の透過性は、基剤による違いが認められなかった。
3. *p*-クレゾールの累積透過データの実測値をFickの拡散則に基づく差分式を用いた非線形最小二乗法で解析した結果、ケロシン基剤はPBS基剤と比較して*p*-クレゾールの皮膚分配性を大きくすることが分かった。
4. *p*-クレゾールは皮膚透過性が観察されたため、*p*-クレゾールが全身循環系に入ることによる毒性の発現を考えなくてはいけないことが分かった。
5. ダイアジノンは皮膚透過性がみられないものの、皮膚貯留性が高く、皮膚中に高濃度で存在するため、皮膚局所刺激性について十分に検討する必要があることが分かった。
6. レスメトリンは皮膚透過性がみられないため、皮膚貯留性が期待されたが、皮膚中にもほとんど存在していなかった。そのため、皮膚局所刺激性についてもほとんどないのではないかと考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 中田圭一、藤堂浩明、辻清美、徳永裕司、
杉林堅次、家庭内化学物質の経皮暴露評
価：p-クレゾールおよび市販殺虫剤成分
、日本薬学会第128年会、平成20年3月

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

厚生労働科学研究費（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

化学物質、特に家庭内の化学物質の暴露評価手法の開発に関する研究

空気質中のピレスロイド系殺虫剤の分析法の検討と放散試験試料及び再放出試料の分析

分担研究者 辻 清美 神奈川県衛生研究所・理化学部 専門研究員

空気質中のプラレトリンの捕集法を含めた分析法を検討し、以下に示す方法を確立した。予め捕集剤に酸化防止剤（1 ppm BHT アセトン溶液）を添加し、吸引量が 20 L の放散試験では、石英フィルターとエムポアディスク C18 を積層して使用した。また、吸引量（1440L）が多い再放出試験ではアエロカートリッジ SDB400HF を使用することとした。抽出はエムポアディスク C18 がアセトンによる超音波抽出、アエロカートリッジ SDB400HF はジクロロメタンによる超音波抽出とした。測定は内部標準物質としてクリセン-d12 を使用し、GC/MS SIM 法により行った。プラレトリンの定量下限はサンプル濃度（捕集量 20L）で $1.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となった。

放散試験の対象としてプラレトリンを含む液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」を選択し、モデルルーム（ 24.3 m^3 ）内で放散試験を行ったところ、プラレトリンの気中濃度は通電後 4-8 時間に最大値（ $1.5 \mu\text{g}/\text{m}^3 \sim 8.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）を示した。サンプリング位置の高さは床上 1.2 m が 0.2 m よりも高い値を示した。付着量は天井 $251 \sim 527 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 、壁面 $16 \sim 194 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 、床面 $14 \sim 17 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、天井、壁、床の順で高い値を示し、ほとんどが（約 75-90%）が天井に付着していた。

再放出試験はモデルルーム内で液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」の放散試験終了から 12 時間後に開始した。気中からプラレトリン $0.06 \sim 0.43 \mu\text{g}/\text{m}^3$ が検出された。天井等に付着したプラレトリンはわずかであるが、再放出することを確認した。

A. 研究目的

家庭用に用いられる化学物質の暴露は、事故による誤飲が原因である経口暴露を除き、化学物質の揮散による気道暴露あるいは製品との接触による経皮暴露が主要な経路である。

気道暴露あるいは経皮暴露は室外での暴露よりもむしろ室内での暴露量が多いと考えられる。化学物質の室内暴露評価のスキームを構築するため、使用頻度の高いバイオサイドを選択し、化学物質の揮散性により大別し、モデルルームを用いた放散試験を行い、空気質中への揮散量と床、壁への吸着量の測定を行う。化学物質の空気質への揮散量と揮発性から気道暴露モデルを設定する。

実際の住環境を用いた実験を実施し、空気質、浮遊粉塵中の化学物質の存在量の測定と居住者の

気道あるいは経皮を通じて吸収された化学物質及びその代謝物のバイオモニターを実施し、両モデルの検証と生体暴露の評価に適応する

本年度は、まず、モデルルームの換気回数の測定で使用する炭酸ガスの放散試験への影響をフタルスリンとレスメトリンを含むエアゾール剤「キンチョール」を用いて Peet-Grady chamber 内で検討した。つぎに、プラレトリンを含む液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」を選択し、空気質中の分析法の確立とモデルルーム内で放散試験、再放出試験を行った。

B. 研究方法

B-1. 試薬及び捕集剤

試薬：標準物質は住友化学より供与された

d-T80 フタルスリン、d-T80 レスメトリン及び d・d-T80-プラレトリンを使用した。内部標準物質はクリセン-d12 (C/D/N Isotope 社製) を用いた。アセトン、メタノール、ジクロロメタンは和光純薬工業製、残留農薬・PCB 試験用を用いた。ブチルヒドロキシシトルエン (BHT) は和光純薬工業製、特級を用いた。

捕集剤：石英フィルター (直径 47 mm, 2500QAT-UP-東京ダイレック製及び QM-A-ワットマン製、電気炉で 400°C、2 時間加熱処理)、エムポアディスク C18 (直径 47 mm、住友 3M 製)、アエロカートリッジ SDB400HF (ジーエルサイエンス製)

石英フィルター及びエムポアディスクは 1 ppm BHT メタノール溶液に浸漬後、すぐに取り出し、風乾後使用した。

アエロカートリッジは 1 ppm BHT メタノール溶液 0.1 mL 添加し、風乾後使用した。

B-2. Peet-Grady chamber 内での放散試験

日本環境衛生センターに設置されている Peet-Grady chamber (1.82 X 1.82 X 1.82 m) を用いて行った (図 1)。Chamber 内にエアゾール剤「キンチョール」を床から 1.6 m の高さで、4 隅から 0.3 秒ずつ計 1.2 秒噴射した。温度は 25°C 前後、炭酸ガス濃度は 2600-2800 ppm で行った。

室内空気のサンプリングは chamber 中央の床上 1.2 m で、噴射直後、及び 2、4、6、8 時間後に採取した。

捕集剤は前段に石英フィルターと後段にエムポアディスクをろ紙ホルダーに積層し、流速 1 L/分で 20 分間空気を吸引した。

以上の試験を 2 回繰り返し実施した。

B-3. モデルルーム内での放散試験

日本環境衛生センターに設置されているモデルルーム (簡易型チャンパー室) (24.3 m³) を用いて行った (図 2)。モデルルーム内の中央床面に液体蚊取「アースノーマット 60 日用」を設置し、通電により放散を開始した。

室内空気のサンプリングはモデルルーム中央及

び四隅で床上 0.2 及び 1.2 m で、通電 2、4、8、12 時間後に採取した。

捕集剤は前段に BHT 処理した石英フィルターと後段に BHT 処理したエムポアディスク C18 をろ紙ホルダーに積層し、流速 1 L/分で 20 分間空気を吸引した。

付着量の測定には、モデルルームの床面と天井は 4 隅と中央に石英フィルター各 2 枚ずつ、壁面は四方の中央部分に石英フィルターを 2 枚ずつ設置し、通電 12 時間 20 分後に回収した。

再放出試験は天井等付着試験用の石英フィルターを回収後の約 12 時間後から (実験開始 24 時間後) あらかじめ BHT 処理したアエロカートリッジ (SDB400HF) を用い、モデルルーム中央の床上 1.2 m で 2 L/分で 12 時間空気を吸引捕集し、天井等に吸着したプラレトリンの再放出量の測定を行った。

以上の試験を 2 回繰り返し実施し、国立医薬品食品衛生研究所、愛知県衛生研究所、滋賀県衛生科学センターと神奈川県衛生研究所の 4 機関で分析を行った。

B-4. 測定用試料の調製

(1) エムポアディスク C18、石英フィルター

サンプリング後、日本環境衛生センターより送られてきた捕集剤を共栓試験管に入れ、アセトン 5 mL とクリセン-d12 (10 µg/mL アセトン溶液) 50 µL を加え、10 分間超音波抽出を行った。遠心分離後、上清を GC/MS 測定用試料とした。

(2) アエロカートリッジ

サンプリング後、日本環境衛生センターより送られてきたカートリッジは中から捕集剤及びガラス繊維ろ紙を取り出し、共栓試験管に入れ、ジクロロメタン 5 mL を加え、10 分間超音波抽出を 2 回行った。この抽出液にクリセン-d12 (10 µg/mL アセトン溶液) を 50 µL 添加後、窒素気流下で 1 ~ 2 mL まで濃縮した。遠心分離後、上清を GC/MS 測定用試料とした。

B-5. 分析方法

測定用試料 2 µL をスプリットレス方式で GC/MS

装置に注入し、SIM法を用いて定量を行った。内部標準法によりあらかじめ作成した検量線から試料中の各成分の濃度を算出した。

B-6. 装置及び測定条件

装置：Agilent 6890N、5973N

カラム：HP-5MS (30 m x 0.25 mm ID、膜厚 0.25 μ m)

注入方式：パルスドスプリットレス、2 μ l

注入口温度：280°C、イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

カラム温度：50°C (2分)、40°C/分 → 170°C、6°C/分 → 300°C (2分)

内部標準物質 (IS)：クリセン-d12

キャリアガス：He (カラム流量 1 mL/分)

検出法：選択イオン検出 (SIM)

モニターイオン(m/z)：フタルスリン (164, 123)、レスメトリン (123, 171)、プラレトリン (105, 123) クリセン-d12 (240, 223)

C. 結果及び考察

C-1. 放散試験における炭酸ガスに影響

モデルルームの換気回数の測定には炭酸ガスを使用するため、炭酸ガスの放散試験への影響を Peet-Grady chamber (1.82 m³) を用いて検討した。図3に炭酸ガス濃度 2600-2800 ppm と 500 ppm 以下でエアゾール剤「キンチョール」を噴射したときのフタルスリン及びレスメトリンの気中濃度の経時変化を示した。フタルスリン及びレスメトリンの気中濃度は時間と共に減少し、炭酸ガス濃度による差は認められなかった。

つぎに、炭酸ガスの添加回収率への影響を検討した。表1に示したように、放散試験と同様に炭酸ガス濃度の違いによる回収率の差は見られなかった。

以上の結果より、炭酸ガス濃度 2600-2800 ppm では分析法や放散試験には影響を与えないことが確認された。

C-2. プラレトリンの GC/MS 測定条件の検討

GC/MS (スキャンモード) でプラレトリン (10

mg/L) のマススペクトルの測定を行い、得られたマススペクトルから測定イオン (m/z 123, 105) を選択した。つぎに、プラレトリンの GC/MS 測定条件について検討した。その結果、図4に示すように、内部標準物質と対象物質は良好に分離した。

検量線は 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1 mg/L アセトン溶液を用いて作成したところ、0.005-1 mg/L では二次曲線となるため、0.005-0.2 mg/L と 0.2-1 mg/L の範囲に分けて作成した。図5に内部標準法による検量線を示した。

プラレトリンの定量下限は検量線の最小濃度 0.005 mg/L とした。サンプル濃度 (捕集量 20L) では 1.5 μ g/m³ となった。

C-3. 捕集方法の検討

1 段目の石英フィルターにプラレトリン標準試料 (10 μ g/mL) を 100 μ L 添加し、2 段目にエムポアディスク C18 をセットして、空気を毎分 1L の流速で一定時間吸引し、回収率を求めた (図6)。吸引量 60 L から回収率は減少し 120 L では回収率 45% となった。そこで、ピレスロイド系のフタルスリンとレスメトリンと同様に空気や光により酸化分解されやすいといわれていることから、酸化防止剤 BHT を添加したところ、吸引量 120 L まで回収率 106% と良好な値であった。この結果から、酸化防止剤として BHT を捕集剤に添加することとした。

つぎに、BHT 濃度が回収率に及ぼす影響を調べた。石英フィルターとエムポアディスク C18 に BHT 濃度 0、1、5、10 ppm のメタノール溶液で前処理後、石英フィルターにプラレトリン 1 μ g を添加し、空気を 20 L (1 L/分で 20 分間) 吸引した。その結果、吸引量 20 L ではどの BHT 濃度でも、ほとんど回収率は変わらなかったため、BHT 濃度を最小の 1 ppm とした (図7)。

吸引量を 600 L 以上に増加させた場合、回収率が減少した。そこで、捕集剤としてアエロカートリッジ (BHT 処理) を用い、検討したところ、吸引量 1400 L まで回収率 67% 以上となった。以上の結果より、放散試験は吸引量が 20 L であるため、石英フィルターとエムポアディスク C18 を使用し、

吸引量 (1440L) が多い再放出試験ではアエロカートリッジを使用することとした。

C-4. 保存試験

放散試験は、日本環境衛生センター (川崎市) 内に設置されているモデルルームで行い、サンプリング後の捕集剤は分析を担当する4機関へ送付されるため、すぐには分析ができないことから、捕集剤に吸着されたプラレトリンの冷蔵保存における安定性を調べた。

BHT 1 ppm のメタノール溶液で前処理後、石英フィルターにプラレトリン 1 μg を添加し、アルミホイルに包んで冷蔵保存した。その結果、プラレトリンの回収率は2週間後も変わらず安定であることを確認した (図8)。以上の結果より、酸化防止剤 BHT 溶液で捕集剤を前処理し、サンプリング後2週間以内に分析を行うこととした。

C-5. 液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」放散試験試料の分析

モデルルーム内で放散試験を 2007 年 10 月 12 日と 10 月 19 日の2回実施し、4機関 (国立医薬品食品衛生研究所、愛知県衛生研究所、滋賀県衛生科学センターと神奈川県衛生研究所) で分析を行った。放散試験概要を表2に示す。

(1) 空気

モデルルーム内の中央床面にプラレトリンを含有する液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」を設置し、通電により放散を開始した。

室内空気のサンプリングはモデルルーム中央及び四隅で床上 0.2 及び 1.2 m で、通電後 2、4、8、12 時間後に毎分 1 L の流速で 20 分間捕集し、放散量を測定した。その結果、図9に示すように、プラレトリンの気中濃度は通電後 4-8 時間後で最大値 (1.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3 \sim 8.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$) を示した。サンプリング位置の高さは床上 1.2m が 0.2m よりも高い値を示した。特に、2 回目の床上 1.2 m が高い値を示した。また、各サンプリング地点におけるプラレトリン気中濃度の違いについては、特徴的な傾向は認められなかった (図10)。

(2) 付着量

付着量はモデルルームの床面と天井は4隅と中央に石英フィルター各2枚ずつ、壁面は四方の中央部に石英フィルターを2枚ずつ設置し、通電12時間20分後にすべて回収し、分析を行った。その結果、天井のプラレトリン付着量は 251~527 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 、であり、測定地点中央が一番高い値であった (図11)。壁面は 16~194 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 、床面<14~17 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、天井、壁、床の順で高い値を示した。プラレトリンは通電 (加熱) により、揮散、上昇し、付着量の約 75~90% が天井に付着したと考えられた。

1 回目と 2 回目を比較すると、天井は1回目の値が高く、壁面と床面は2回目が高い値を示した (図12)。気中濃度も、2 回目が高かったことから、1 回目 (室温約 27.5°C) は、プラレトリン付着量の約 90% は、天井に付着したが、2 回目は1回目より温度が低かった (約 26°C) ため、天井への付着量は約 75% と1回目より減少し、その分が壁面への付着を 6% から 22% へ増加させ、気中濃度 (床面 1.2 m) も1回目より高い値を示したと考えられた。

C-6. 再放出試験試料の分析

放散試験終了 (液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」の通電を止めた後) の約 12 時間後から再放出試験を開始した。天井面、床面や壁面からの再放出は平均温度 24-27°C 前後で 12 時間吸引したところ、プラレトリン 0.06~0.43 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ が検出された。天井等に付着したプラレトリンはわずかであるが、再放出することを確認した。

D. 結論

1. モデルルームの換気回数の測定に使用する炭酸ガスの放散試験への影響を調べたところ、炭酸ガス濃度 2600-2800 ppm ではピレスロイド系殺虫剤の捕集や放散試験には影響を与えないことを確認した。

2. モデルルーム (簡易チャンバー室) 内の放散試験と再放出試験のための空気質中のプラレトリンの捕集方法を含めた分析法を構築した。

放散試験では捕集剤として予め BHT-メタノ

ール溶液で処理を行った石英フィルターとエムポアディスク C18 を積層して用い、空気は流速 1L/分で 20 分間吸引とした。捕集剤からの抽出はアセトンを用いた。再放出試験では捕集剤としてアエロカートリッジを用い、空気の吸引は 2L/分で、12 時間とした。捕集剤からの抽出はジクロロメタンを用いた。分析装置は EI-GC/MS、測定は SIM 法で内部標準法を用いて定量することとした。

なし

2. 実用新案登録

なし

3. モデルルーム内で液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」の放散試験を行ったところ、プラレトリンの気中濃度は通電後 4-8 時間後に最大値 ($1.5 \mu\text{g}/\text{m}^3 \sim 8.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$) を示した。サンプリング位置の高さは床上 1.2 m が 0.2 m よりも高い値を示した。

4. 天井等への付着量は天井 $251 \sim 527 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 、壁面 $16 \sim 194 \mu\text{g}/\text{m}^2$ 、床面 $14 \sim 17 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、天井、壁、床の順で高い値を示した。通電 (加熱) により、揮散、上昇し、付着量の約 75~90% が天井に付着したと考えられた。

5. モデルルーム内での液体蚊取り「アースノーマット 60 日用」の放散試験終了から 12 時間後に再放出試験を開始した。気中からプラレトリン $0.06 \sim 0.43 \mu\text{g}/\text{m}^3$ が検出された。天井等に付着したプラレトリンはわずかであるが、再放出することを確認した。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 辻 清美、上村 仁、伏脇裕一、長谷川一夫、徳永裕司、室内空気中のシロアリ駆除剤等農薬成分濃度に関する研究、平成 19 年度室内環境学会、平成 19 年 12 月

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

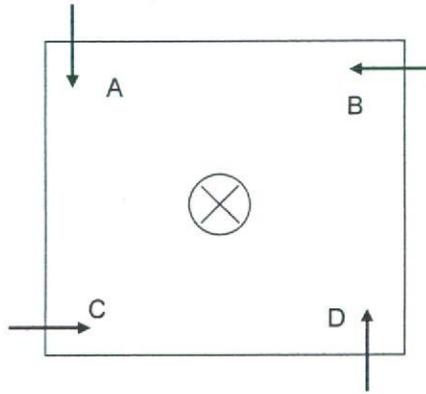
表1 気中のピレスロイド系殺虫剤分析への炭酸ガスの影響
 フタルスリン及びレスメトリンの回収率

%

炭酸ガス濃度		フタルスリン	レスメトリン
①高濃度 2900ppm	1	104	91
	2	113	99
	3	113	100
	平均	110	97
②標準 <500ppm	1	106	94
	2	100	90
	3	106	93
	平均	104	92

表2 放散試験概要

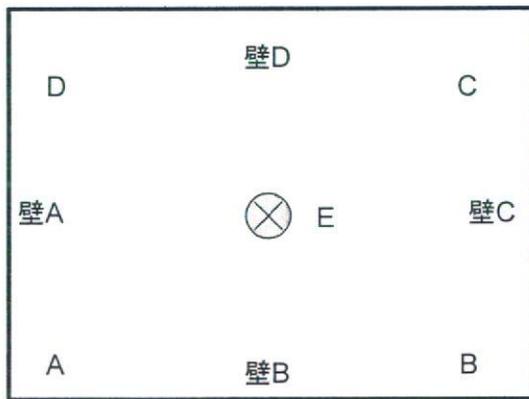
測定日		第1回目	第2回目
		10月12日	10月19日
換気回数(回/hr)	0hr	0.56	0.6
	12hr20min	0.45	0.62
温度	°C	27.2-27.8	26-26.5
湿度	%	39-41	39-49
液体蚊取り使用量(g)		1.046	0.864
再放散実験 開始24時間後～		2L/min、12時間 26.2-27.5°C、34-38%	2L/min、12時間 24.6-25.1°C、40-49%



⊗ : 空気採取場所 (床上0.2 m&1.2 m)

A、B、C、D: 床面採取場所
(石英フィルター各2枚、噴射8時間20分後に回収)

図1 Peet-Grady Chamber平面図



(3.6 x 3 x 2.25 m)

⊗ : 液体蚊取り設置場所 床面中央

空気採取場所 (床上0.2m、1.2m): A、B、C、D、E

付着量採取場所: 床面、天井、壁面 (石英フィルター各2枚を設置)
A、B、C、D、E

図2 モデルルーム(24.3 m³)平面図

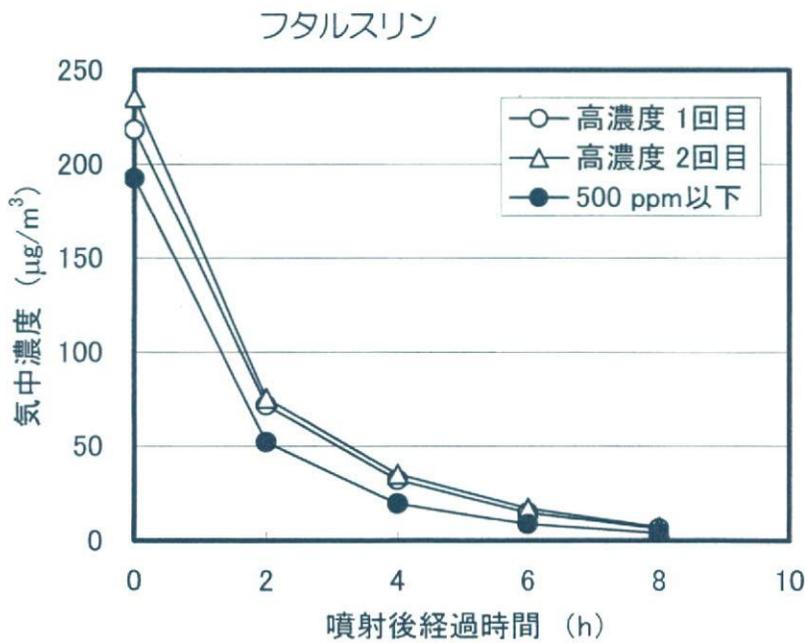
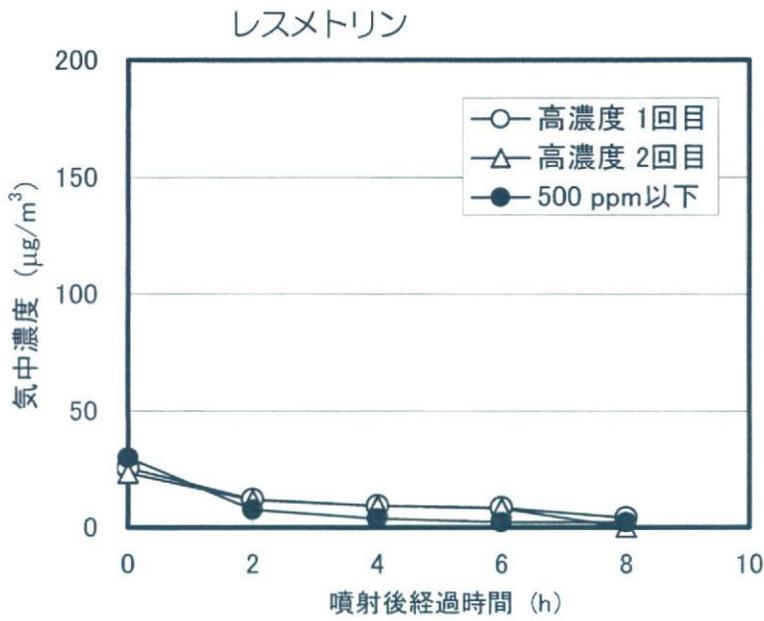


図3 Peet-Grady chamber 内でのエアゾール剤放散試験への炭酸ガスの影響
炭酸ガス濃度(高濃度) 2600-2800 ppm

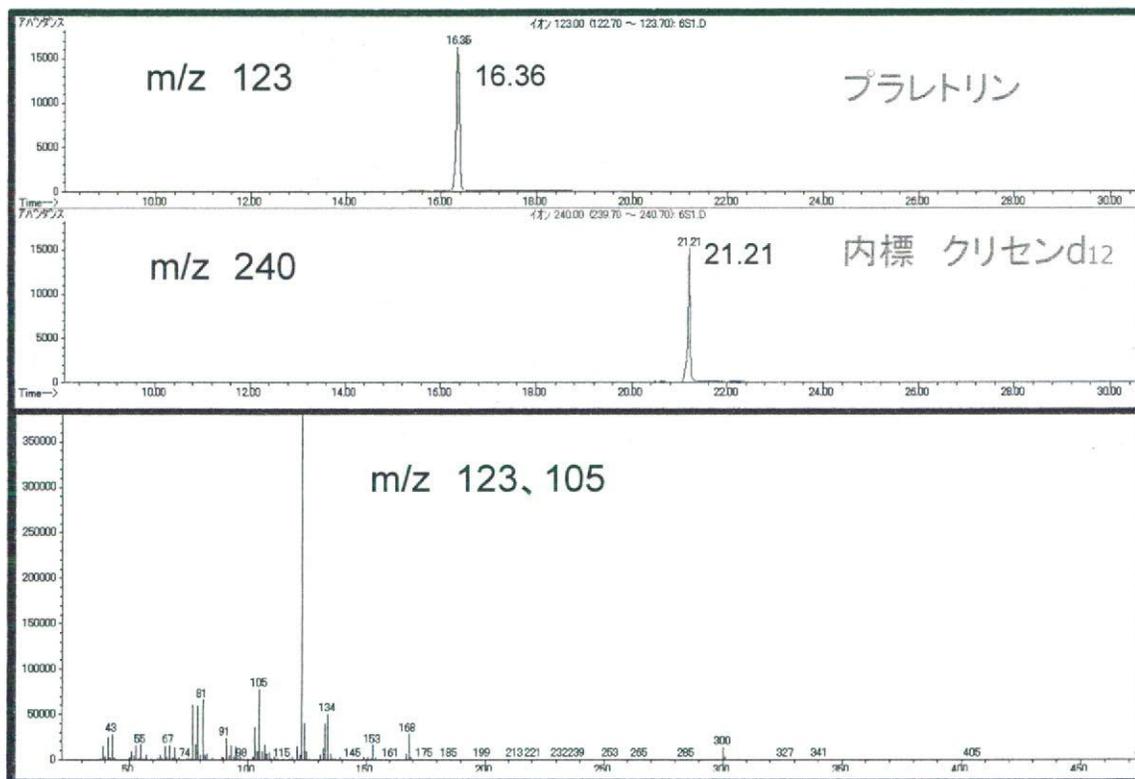
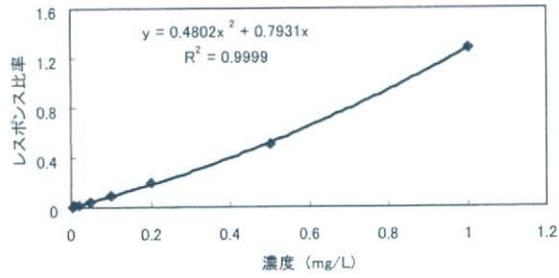
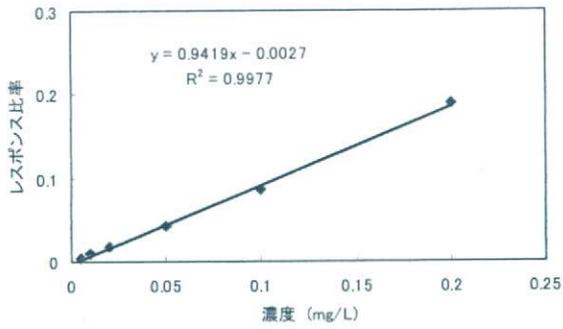


図4 プラレトリンのGC/MSクロマトグラムとマススペクトル

全範囲 0.005-1mg/L



低濃度 (0.005-0.2 mg/L)



高濃度 (0.2-1 mg/L)

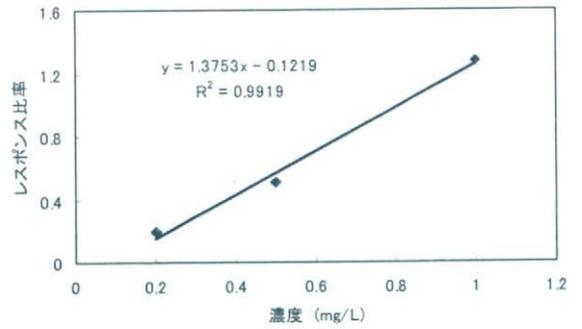


図5 プラレトリンの検量線