

ガスクロマトグラフィ—質量分析法による水性塗料及び
水性接着剤中の有機スズ化合物の分析河上強志,^{*a} 伊佐間和郎,^a 中島晴信,^b 大嶋智子,^c 土屋利江,^a 松岡厚子^aDetermination of Organotin Compounds in Water Soluble Paints
and Adhesives by GC-MSTsuyoshi KAWAKAMI,^{*a} Kazuo ISAMA,^a Harunobu NAKASHIMA,^b
Tomoko OOSHIMA,^c Toshie TSUCHIYA,^a and Atsuko MATSUOKA^a^aDivision of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan, ^bOsaka Prefectural Institute of Public Health, 3-69 Nakamichi 1-chome Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan, and ^cOsaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences, 8-34 Tojocho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan

(Received October 2, 2009; Accepted November 4, 2009; Published online November 5, 2009)

The use of tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPT) in some household products are prohibited by “Act on the Control of Household Products Containing Harmful Substances” in Japan. In this study, methods for determination of TBT and TPT in water soluble paints and adhesives were developed by GC-MS. These compounds in paints and adhesives, which were mainly composed of vinyl acetate, urethane and acryl resins, and chloroprene rubber, were firstly extracted with HCl-acetone, and then extracted with hexane. On the other hand, the adhesive composed of natural rubber was firstly dispersed in water before acidification. The organotins were extracted with hexane from this solution and then these compounds were extracted with acetonitrile from hexane extract. These extracts were purified by a florisil cartridge column after ethyl-derivation with sodium tetraethylborate, and analyzed by GC-MS. The quantifications using deuterated compound of both organotins as surrogate standard were conducted, and good results were obtained. The recoveries were 81 to 118% and the coefficients of variation were 0.83 to 4.3% (TBT and TPT added; 5 µg/g). The method quantification limits were 0.0090 to 0.025 µg/g, which were lower than those of an official method. These methods were applied to monobutyltin (MBT), dibutyltin (DBT), monophenyltin (MPT), and diphenyltin (DPT). DBT and DPT in paints and adhesives were quantified, except for DPT in natural rubber. These methods were applied to commercial products. DBT was detected at low concentrations (t.r. 0.19 µg/g) in some paint samples, while TBT and TPT were not detected in all samples.

Key words—tributyltin; triphenyltin; GC-MS; water soluble paint; water soluble adhesive; ethyl-derivation

緒 言

トリブチルスズ化合物 (TBT) 及びトリフェニルスズ化合物 (TPT) は防カビ剤・防菌剤として、繊維製品、接着剤及び塗料などに用いられてきた。これらの有機スズ化合物は、皮膚刺激性を有しており、経皮吸収され易く生殖機能障害を引き起こすため、TBT 及び TPT はそれぞれ昭和 54 年 1 月 1 日及び昭和 55 年 4 月 1 日に「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律 (家庭用品規制法)」に

よって、対象家庭用品への使用が禁止された。¹⁾

家庭用品規制法に規定されている TBT 及び TPT 分析法は、溶媒抽出後に活性アルミナカラムによる精製、硝酸分解を行い、フレームレス原子吸光法 (AAS) にてスズとして存在が確認された場合、改めて 2 次元薄層クロマトグラフ法 (TLC) にて TBT 及び TPT の存在を確認する方法が採用されている。¹⁻³⁾ しかしながら、この方法は 2 次元 TLC での定性時にジチゾン噴霧による黄色の発色がすぐ消失してしまうこと、夾雑物質によりスポット位置が移動したり拡散したりしてしまうこと、AAS にてスズとしてしか定量できないことなど分析上の問題点が指摘されている。⁴⁻⁶⁾

^a国立医薬品食品衛生研究所療品部, ^b大阪府立公衆衛生研究所, ^c大阪市立環境科学研究所

*e-mail: tkawa@nihs.go.jp

一方、ポリ塩化ビニル (PVC)、シリコン及びウレタン樹脂の安定剤として有機スズ化合物が使用されており、PVC製の食品用器具及び容器包装についてはジブチルスズ (DBT) 含有量が食品衛生法にて規制されている。そのため、現在では代替品としてジオクチルスズ (DOT) が主に使用されており、様々な食品容器・容器包装中の DBT や DOT の分析法が検討されてきた。⁷⁻¹¹⁾ また、TBT 及び TPT が船舶や漁網の塗料や防汚剤として利用され環境中に放出された結果、低濃度の有機スズ化合物が巻貝類などに悪影響を及ぼすことが明らかとなり、水、底質及び生物試料中の有機スズ分析法が検討されてきた。¹²⁻¹⁴⁾

これまでに報告されている家庭用品、食品用器具・容器包装及び環境水・底質・生物中の有機スズ化合物の研究では主にガスクロマトグラフ (GC) を分離に用い、電子捕獲型検出器 (ECD)、^{4,6,15,16)} 炎光光度検出器 (FPD)、^{5,7,17)} 原子発光検出器 (AED)⁸⁾ 及び質量分析計 (MS)^{9-11,13,14,18-20)} が最終的な定性・定量方法として用いられてきた。また、TBT 及び TPT を GC で分析するには誘導体化が必要となるが、それについても Grignard 試薬を用いるプロピル化や、^{5,8,12,17,18)} テトラエチルホウ酸ナトリウム (NaBEt₄) によるエチル化などが検討されてきた。^{9-11,13,14,19,20)} さらに、試料の精製については、活性アルミナ、^{1,2,4,5,21)} シリカゲル、^{16,17)} フロリジル^{6,13,14)} 及び陽イオン交換樹脂¹²⁾ などが検討されてきた。これら既存研究について対象とした試料、有機スズ化合物の誘導体化法や定性・定量方法などを Table 1 にまとめた。

以上のように、各種有機スズ化合物の分析法は家庭用品規制法で定められている TBT 及び TPT 分析法と比べると、様々な点で改良がなされている。しかしながら、家庭用品規制法ではこれまでに様々な問題点などが指摘されていながら、現在でもフレームレス AAS 法及び TLC 法が公定法となっているため、分析法の改定が望まれる。これまでに、繊維製品中の TBT 及び TPT とその他の有機スズ化合物について分析法が検討されている。²⁰⁾ 今回、家庭用品規制法で規制されている水性塗料及び水性接着剤中の TBT 及び TPT について、GC-MS による分析法を検討し良好な結果を得たので報告する。また、DBT の不純物として非意図的に混入した

TBT が低濃度で検出された事例が報告¹⁸⁾ されている。実際に試料中から TBT が検出された際に、意図的に添加されていたのか非意図的に混入したのか判断できると、前者であれば製造や販売の中止、後者であれば製品の製造工程の見直しなど、それぞれの状況に合わせた対策を立てることができると考えられる。そのためには、TBT 及び TPT のみならず DBT なども同時に測定できることが望ましい。そこで、TBT 及び TPT のみならず、それらのモノ体及びジ体についても同時分析が可能であるか検討したので、その結果についても併せて報告する。

実験方法

1. 試料 分析法の条件確認及び実際の市販製品中での有機スズ化合物の実態調査のために、小売店から水性塗料 6 製品及び水性接着剤 7 製品を購入した。それらの性状などについては Table 2 に示した。

2. 試薬 モノ、ジ及びトリブチルスズ化合物 (MBT, DBT, TBT) 並びに、モノ、ジ及びトリフェニルスズ化合物 (MPT, DPT, TPT) の各塩化物、サロゲート物質として用いた各有機スズ化合物の重水素化物、及び内部標準物質として用いた重水素化テトラブチルスズ (TeBT-d₃₆) の購入先を Table 3 に示した。誘導体化に用いた NaBEt₄ は和光純薬製を用いた。ヘキサン、アセトン及びジエチルエーテルは、関東化学、シグマアルドリッチ及び和光純薬製の残留農薬分析用を用いた。アセトニトリルは関東化学製の HPLC 用を用いた。塩酸は和光純薬製の有害金属測定用を用いた。フロリジルカラムは Sep-Pak® Plus Florisil® (Waters 社製：充填量 910 mg) を使用した。和光純薬製の酢酸及び酢酸ナトリウム特級試薬を用いて、2 mol/l の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) を作成した。また、和光純薬及びシグマアルドリッチ製のリン酸及びクエン酸特級試薬を用いて家庭用品規制法に従い、リン酸-クエン酸緩衝液 (pH 2.0) を作製した。¹⁾

各有機スズ化合物を 1000 µg/ml 含むヘキサン溶液をそれぞれ作製し、これらを必要に応じて混合、希釈して標準溶液とした。また、各有機スズ化合物のサロゲート物質はそれぞれを 100 µg/ml 含む溶液を作成し、必要に応じて混合、希釈して標準溶液として用いた。また、5% NaBEt₄ 溶液は必要に応じて

Table 1. Summary of Previous Studies about Organotin Compounds in Various Samples

Sample type	Organotins compounds ^{a)}	Extraction	Derivatization ^{b)}	Clean up	Qualitative and quantitative method ^{c)}	Recoveries (%)	Reference	Publication year	
Household products	water soluble paint	TBT, TPT	HCl-methanol		Activated alumina	TLC AAS	TBT (87.1–90.1%) TPT (74.7–82.1%)	Kojima <i>et al.</i> ²⁾	1979
	water soluble paint and adhesive, textile paint, adhesive, textile	TBT, TPT	HCl-methanol		Activated alumina	TLC AAS	61.3–73.5%	Nakashima <i>et al.</i> ²¹⁾	1981
	textile, shoes cream	TBT	HCl-methanol	Chlorination	Activated alumina	GC-ECD		Nakashima <i>et al.</i> ¹⁵⁾	1983
	textile, water soluble paint	TBT	HCl-methanol	Chlorination	Activated alumina	GC-ECD (MS)		Nakashima <i>et al.</i> ⁴⁾	1984
	textile	DBT, DOT	HCl-methanol	Hydrogenation, Chlorination	Silica gel	GC-ECD	81–95%	Yagi <i>et al.</i> ¹⁶⁾	1990
	textile, water soluble paint and adhesive	TBT, TPT	HCl-methanol	Fluorescence derivatization		HPLC-FD	98–100% (dryness: 50–70%)	Nakashima <i>et al.</i> ²²⁾	1990
	diaper	DBT, TBT, DOT, TPT	HCl-methanol	Hydrogenation, Propylation	Activated alumina	GC-FPD	77.1–97.6%	Nozaki <i>et al.</i> ⁵⁾	1993
	textile	MMT, DMT, TMT, MBT, DBT, TBT, MOT, DOT, TOT, TCT	HCl-methanol	Propylation, Ethylation		GC-MS	88.6–108.9% (MPT, DPT = 64.6, 27.9%)	Hasegawa <i>et al.</i> ¹⁸⁾	1994
	adhesive, shoes cream	TBT, TPT	HCl-methanol		Florisil	GC-ECD	80.4–104.2%	Yamanobe <i>et al.</i> ⁶⁾	1995
	water soluble and oily paint and adhesive	MBT, DBT, TBT, DPT, TPT	HCl-acetone			GC-MS	TBT: 49.7–99.0% Total: n.d.–121%	Naedoko <i>et al.</i> ¹⁹⁾	2003
textile	MBT, DBT, TBT, MPT, DPT, TPT, DOT	HCl-acetone			GC-MS	97.2–135.6%	Ooshima <i>et al.</i> ²⁰⁾	2007	
Kitchen utensils, Food packages	PVC food package	DBT, DOT	Carbon tetrachloride-methanol	Fluorescence derivatization		HPLC-FD	98–100% (dryness: 50–70%)	Nakashima <i>et al.</i> ²²⁾	1990
	PVC food package	DBT		Hydrogenation		PC-TLC-GC-FPD		Ohno <i>et al.</i> ⁷⁾	1996
	food package, toy	MMT, DMT, TMT, MBT, DBT, TBT, MOT, DOT, TOT	HCl-(acetone/hexane = 3/7) 37°C over night	Propylation		GC-AED	46.0–109.6%	Kawamura <i>et al.</i> ⁸⁾	2000
	PVC product, silicone product	MMT, DMT, TMT, MBT, DBT, TBT, MOT, DOT, TOT	HCl-(acetone/hexane = 3/7) 37°C over night		NaBEt ₄	GC-MS	49.1–118.1%	Ohno <i>et al.</i> ⁹⁾	2002
	food package	MMT, DMT, TMT, MBT, DBT, TBT	HCl-(acetone/hexane = 3/7) 37°C over night		NaBEt ₄	Dilution	GC-MS	31.9–98.0%	Ohno <i>et al.</i> ¹⁰⁾
PVC toy	MMT, DMT, TMT, MBT, DBT, TBT, MOT, DOT, TOT	HCl-(acetone/hexane = 3/7) 37°C over night		NaBEt ₄		GC-MS	74.7–116.5%	Ohno <i>et al.</i> ¹¹⁾	2003
Environmental samples	sea water, sediment, fish	TBT, TPT		Propylation	Cation exchange	GC-MS/MS		Nakamura <i>et al.</i> ¹²⁾	1999
	water, sediment	MBT, DBT, TBT, MPT, DPT, TPT		NaBEt ₄	Florisil	GC-MS	Water: 104% Sediment: 98.1%	Iwamura <i>et al.</i> ¹³⁾	1999
	fish	MBT, DBT, TBT, MPT, DPT, TPT		NaBEt ₄	Florisil	GC-MS	103–142%	Iwamura <i>et al.</i> ¹⁴⁾	2000

^{a)} Mono-, Di-, Tri-, methyltin (MMT, DMT, TMT), butyltin (MBT, DBT, TBT), phenyltin (MPT, DPT, TPT), Tricyclohexyltin (TCT), ^{b)} NaBEt₄ (Sodium tetraethylborate), propylation and ethylation (Grignard reagent), ^{c)} TLC: Thin-layer chromatography, AAS: Atomic absorption spectroscopy, PC: Paper chromatography, GC: Gas chromatography, ECD: Electron capture detector, FPD: Flame photometric detector, AED: Atomic emission detector, MS: Mass spectrometry, HPLC: High performance liquid chromatography, FD: Fluorescence detector.

Table 2. Summary of Water Soluble Paint and Water Soluble Adhesive Samples Studied

Usage	Sample number	Country	Composition ^{a)}	Color	Application
Paint	P1	China	unknown	Black	pen (ink)
	P2	Unknown	acryl resin, pigment, antimold agent, mica, water	Brown	wood
	P3	Unknown	acryl resin, pigment, antimold agent, water	White	outdoor usage
	P4	Unknown	acryl resin, pigment, insecticide, preservative, antimold agent, water	Yellow	wood, iron and concrete
	P5	Unknown	acryl resin, pigment, water, organic solvent	White	spray type
	P6	Unknown	acryl resin, pigment, antimold agent, water	White	handicraft
Adhesive	B1	China	vinyl acetate resin (60%), dibutyl phthalate (5%), water (35%)	—	woodwork
	B2	Japan	ethylene-vinyl acetate resin (55%), water (45%)	—	wood, leather, paper, cloth (quick-drying type)
	B3	Japan	vinyl acetate resin (41%), water (59%)	—	woodwork
	B4	Japan	vinyl acetate resin (55%), water (45%)	—	wall paper repairing
	B5	Japan	urethane resin (50%), water	—	cloth
	B6	Japan	natural rubber (52%), ammonia, water	—	cloth
	B7	Japan	chloroprene rubber (68%), water (32%)	—	leather, cloth, wood and styrofoam

a) displayed in the label of product.

Table 3. GC Retention Times, Quantifying and Qualifying Ions, and Suppliers of the Organotin Compound

Organotin compound	Abbreviation	Retention time (min)	Quantifying ion (<i>m/z</i>)	Qualifying ion (<i>m/z</i>)	Supplier
Monobutyltin	MBT	7.30	235	233	Sigma-Aldrich Inc.
Dibutyltin	DBT	8.95	261	263	Sigma-Aldrich Inc.
Tributyltin	TBT	10.57	263	261	Wako pure chemical industries Ltd.
Monophenyltin	MPT	10.05	255	253	Hayashi pure chemical industries Ltd.
Diphenyltin	DPT	14.75	303	301	Hayashi pure chemical industries Ltd.
Triphenyltin	TPT	20.33	351	349	Wako pure chemical industries Ltd.
Tetrabutyltin-d ₃₆	TeBT-d ₃₆	11.80	318	316	Wako pure chemical industries Ltd.
Monobutyltin-d ₉	MBT-d ₉	7.24	244	242	Hayashi pure chemical industries Ltd.
Dibutyltin-d ₁₈	DBT-d ₁₈	8.83	281	279	Hayashi pure chemical industries Ltd.
Tributyltin-d ₂₇	TBT-d ₂₇	10.37	318	316	Wako pure chemical industries Ltd.
Monophenyltin-d ₅	MPT-d ₅	10.03	260	258	Hayashi pure chemical industries Ltd.
Diphenyltin-d ₁₀	DPT-d ₁₀	14.69	313	311	Hayashi pure chemical industries Ltd.
Triphenyltin-d ₁₅	TPT-d ₁₅	20.21	366	364	Wako pure chemical industries Ltd.

て調製し、調製後は直ちに使用した。

検量線の作成は、まず各有機スズ化合物を 50 µg/ml 含む混合溶液を調製し、それをヘキサンで適当な濃度に希釈した。また、各サロゲート物質を 0.5 µg/ml 含むヘキサン溶液を調製した。そして、各有機スズ化合物の希釈混合溶液 1 ml を遠心管に入れ、さらにサロゲート物質の混合液 1 ml を遠心管に入れた。そして、2 mol/l 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を 5 ml 加えた後、5% NaBEt₄ 溶液 1 ml を加え、10 分振とうした。その後、ヘキサン 20 ml で 30 分

間、振とう抽出を行った後、ヘキサン相を分取する操作を 2 回行った。そして、そのヘキサン相を濃縮し 5 ml に定容した。その後、そこから溶液 1 ml を分取して TeBT-d₃₆ を 2 µg/ml 含むヘキサン溶液を 50 µl 加え、分析用標準液とした。

3. 前処理 公定法や既存研究では水性塗料及び接着剤からの TBT 及び TPT の抽出を塩酸-メタノールにて行っている。^{1,5,6,16,21)} 公定法では、その抽出液をクエン酸-リン酸 (pH 2.0) 緩衝液に加えヘキサンによる液々抽出を行い、脱水、濃縮し精製

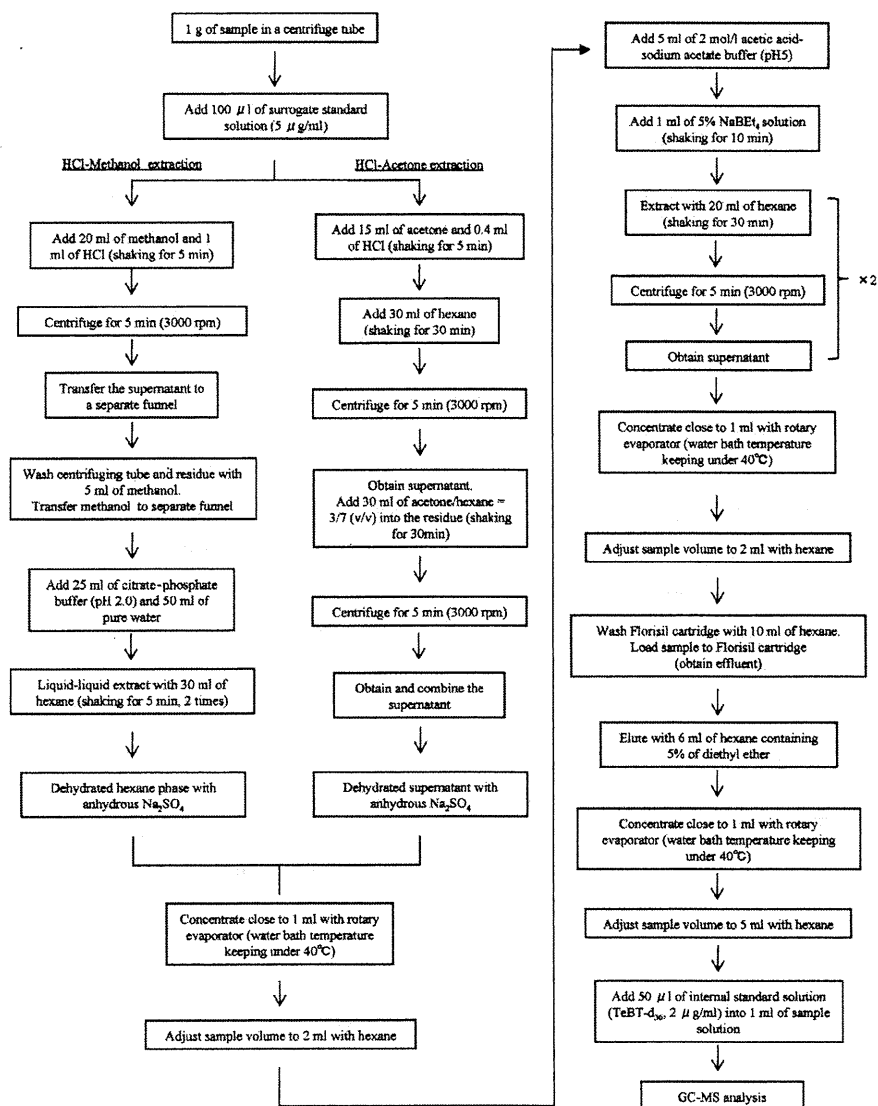


Fig. 1. Scheme of Analytical Methods for Water Soluble Paints and Adhesives, excepting Water Soluble Adhesive Composed of Natural Rubber

を行い分析している。今回、はじめに公定法に準拠する形で実験を行いその抽出効率などを検討した。実験方法の詳細は Fig. 1 に示した。なお、フロリジルカラムの溶出条件は既存研究^{13,14)}に従った。

一方、家庭用品から塩酸-アセトンで抽出後、ヘキサンを加えてさらに抽出し測定する、公定法よりも簡易な方法を繊維製品や接着剤の分析に用いた研究例も報告されている。^{19,20)} 今回、前述の公定法に準拠した方法との比較検討のためにこちらについても検討を行った。実験方法の詳細は Fig. 1 に示した。

また、天然ゴム系の接着剤に関しては前述の2種

類の分析法が適応できなかったため、別の方法を用いて分析を試みた。その詳細については、結果の項に記載する。

4. 測定 試料溶液の測定はガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) にて行った。GC-MS は Focus GC/DSQ II (Thermo Fisher Scientific 社製) を用い、キャピラリーカラムは微極性カラム DB-5MS (長さ 30 m × 内径 0.25 mm × 膜厚 0.25 µm, Agilent 社製) を用いた。キャリアーガスには He を用い、流量は 1.0 ml/min に設定した。注入口、トランスファーライン及びイオンソース温度はそれぞれ 230, 280 及び 230°C に設定し、スプリットレ

スモードで試料溶液を 1 μl 注入した。カラムオープンプログラムは初期温度 60°C で 2 分間保持させた後、130°C まで 20°C/分で昇温させた。その後、210°C まで 10°C/分、260°C まで 5°C/分で昇温した後、300°C まで 10°C/分で昇温して最終温度で 5 分間保持した。イオン化法は EI (Electron Ionization) 法、イオン化電圧は 70 eV とした。測定は SIM (Selected Ion Monitoring) モードにて行った。各測定対象物質の定量・定性イオン等については Table 3 に記載した。

内部標準物質 TeBT-d₃₆ を用いた各有機スズ化合物の検量線は、MBT 及び MPT では 0.02–1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で、それ以外は 0.01–1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で相関係数 $r > 0.995$ の直線性を示した。一方、各有機スズ化合物の重水素化体であるサロゲート物質を内部標準物質として用いた検量線も同様の傾向を示した。なお、今回の測定では有機スズ化合物の塩化物を標準品に用い、エチル化して測定しているが、測定データはすべて塩化物として表記している。

結果及び考察

1. 塩酸-メタノール抽出法 試料中の各有機スズ化合物が 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ となるように、各有機スズ化

合物濃度が 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の混合アセトン標準液 100 μl を試料に添加し、各抽出による回収率について比較検討した (Table 4)。なお、回収率を内部標準物質 TeBT-d₃₆ 及びサロゲート物質を用いた 2 種類の検量線のそれぞれで求めて比較した。また、検量線及び試料について TeBT-d₃₆ と各サロゲート物質の面積比を計算し、それを基に各サロゲート物質の回収率を算出した (Table 5)。

公定法に準拠した方法について、アクリル樹脂が主成分の塗料 (P3) 及び酢酸ビニル樹脂が主成分の接着剤 (B3) について回収率を求め Table 4 に示した。TeBT-d₃₆ を内部標準物質として用いた場合、TBT 及び TPT はそれぞれ回収率 78–81% 及び 69–87%、変動係数 0.69–3.2% 及び 0.3–4.9% と比較的良好な結果を得ることができた。一方、その他の有機スズ化合物の回収率をみると、MBT、MPT 及び DPT についてはほとんど回収されず、変動係数も大きいという傾向が認められた。また、DBT についても回収率は低く、分析法として十分ではないと考えられた。

また、サロゲート物質を内部標準物質として検量線を作成した場合には、TBT 及び TPT の回収率はそれぞれ 105–120% 及び 69–98%、変動係数はそれ

Table 4. Recoveries and Coefficients of Variation (CV) of Organotin Compounds with Various Extraction^{a)}

Extraction	Quantifying method	Sample name	MBT		DBT		TBT		MPT		DPT		TPT	
			Recovery (%) ^{c)}	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV
HCl-methanol	TeBT-d ₃₆ ^{d)}	P3	0.45±0.058	13	47±2.3	4.9	81±2.6	3.2	0.25±0.17	68	4.7±0.57	12	69±3.4	4.9
		B3	n.d. ^{f)}	— ^{g)}	11±1.1	9.9	78±0.54	0.69	n.d.	—	0.98±0.058	6.0	87±0.26	0.30
	Deuterated compounds ^{e)}	P3	150±6.0	4.0	129±2.7	2.1	105±2.2	2.1	71±2.4	3.4	85±2.9	3.4	69±1.6	2.3
		B3	n.d.	—	187±6.3	3.4	120±2.7	2.3	n.d.	—	n.d.	—	98±2.7	2.7
HCl-acetone	TeBT-d ₃₆ ^{d)}	P3	38±5.4	14	79±3.8	4.8	83±2.1	2.5	14±1.5	11	65±1.6	2.5	73±1.7	2.3
		B3	4.6±3.6	77	74±8.8	12	83±6.9	8.3	2±0.32	13	31±5.1	17	87±5.3	6.1
		B5	9.2±8.2	89	92±4.0	4.4	108±1.8	1.7	n.d.	—	60±8.4	14	85±2.8	3.3
		B7	61±3.0	4.8	63±2.1	3.3	66±3.0	4.5	26±2.0	7.8	44±2.6	5.8	45±0.81	1.8
	Deuterated compounds ^{e)}	P3	103±0.10	0.10	107±2.9	2.7	99±1.4	1.4	90±0.56	0.63	96±1.1	1.2	90±0.75	0.83
		B3	103±4.9	4.7	116±2.3	2.0	116±1.5	1.3	102±2.2	2.2	144±15	10	106±1.5	1.4
		B5	119±5.8	4.9	117±1.8	1.5	114±2.8	2.4	100±10	10	137±1.6	1.2	105±1.6	1.6
		B7	75±1.7	2.3	79±0.73	0.92	94±0.80	0.86	56±1.2	2.1	86±0.92	1.1	81±1.0	1.3
Natural rubber ^{b)}	TeBT-d ₃₆ ^{d)}	B6	43±2.8	6.6	62±2.6	4.2	82±1.6	2.0	57±16	28	16±0.44	2.7	84±11	14
	Deuterated compounds ^{e)}	B6	57±1.6	2.8	113±5.2	4.6	118±5.1	4.3	47±2.4	5.1	153±9.0	5.9	106±3.4	3.2

^{a)} Added amount of organotins and deuterated compounds: 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ and 0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$, respectively, ^{b)} Extracted with hexane from sample which dispersed in acidic water, ^{c)} Average \pm standard deviation, ^{d)} Quantified using TeBT-d₃₆ as internal standard ($n=3$), ^{e)} Quantified using deuterated compounds as surrogate standard ($n=3$), ^{f)} n.d.: not detected, ^{g)} —: not calculated.

Table 5. Recoveries and Coefficients of Variation (CV) of Deurated Organotin Compounds Used as Surrogate Standard with Various Extraction^{a)}

Extraction	Sample name	MBT		DBT		TBT		MPT		DPT		TPT	
		Recovery (%) ^{c)}	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV
HCl-methanol	P3	0.27±0.085	31	30±2.2	7.2	76±2.1	2.8	0.18±0.050	28	1.6±0.81	51	111±4.8	4.3
	B3	n.d. ^{d)}	— ^{e)}	4.5±2.3	51	61±5.0	8.2	0.060±0.018	29	0.034±0.046	135	102±11	11
HCl-acetone	P3	33±6.2	19	67±4.5	6.7	80±6.2	7.7	13±1.5	11	64±5.4	8.4	75±8.8	12
	B3	5.5±3.0	54	65±9.4	14	74±8.3	11	0.64±0.53	82	24±6.7	28	83±7.4	9.0
	B5	5.7±3.6	63	66±2.1	3.2	79±2.3	2.9	0.15±0.08	55	39±6.1	16	76±3.3	4.4
	B7	66±3.8	5.7	82±4.8	5.9	75±4.7	6.2	83±7.8	9.4	55±2.8	5.1	57±0.26	0.47
Natural rubber ^{b)}	B6	49±5.8	12	52±2.1	4.1	100±8.2	8.2	205±70	34	30±3.9	13	75±9.0	12

a) Added amount of organotins and deuterated compounds: 0.5 µg/g., Calculated by area ratio of standard and sample, b) Extracted with hexane from sample which dispersed in acidic water, c) Average±standard deviation, d) n.d.: not detected, e) —: not calculated.

ぞれ 2.1–2.3% 及び 2.3–2.7% と、TeBT-d₃₆ を用いた時よりも若干の改善が認められた (Table 4)。MBT, MPT 及び DPT は酢酸ビニル樹脂接着剤 (B3) では検出限界値以下となり回収できなかったが、アクリル樹脂塗料 (P3) では、回収率は 71–150%、変動係数は 3.4–4.0% となった。また、DBT は回収率 129–187%、変動係数 2.1–3.4% となった。ここで、サロゲート物質の回収率をみると、TBT 及び TPT については、それぞれ 61–76% 及び 102–111% と TBT でやや低いものの良好な値を得ている (Table 5)。一方で、それ以外の有機スズ化合物では、アクリル樹脂塗料 (P3) で DBT が 30% 回収されている以外、その回収率は非常に低い、または回収されないという結果となった。

この要因を検討するため、試料を用いずにメタノールと緩衝液を混合した溶液に各有機スズ化合物を 5 µg 加え、ヘキサンによる液々抽出の回収率を検討したところ、TBT 及び TPT では回収率は 87% 及び 108% となり、それ以外の有機スズ化合物は非常に低い回収率、若しくは回収されなかった。そのため、この方法による TBT 及び TPT 以外の有機スズ化合物の低回収率は、液々分配処理に大きな要因があるとわかった。家庭用品規制法では TBT 及び TPT のみを規制物質としており、¹⁾ そして、DBT や DPT などその他の有機スズ化合物を同時に抽出することは、その後の AAS による単体としてのスズの定量及び TLC による定性操作上好ましくなく、^{2,3)} この液々抽出操作によって TBT 及び TPT のみを抽出する狙いがあったものと考えられる。

2. 塩酸-アセトン抽出法 塩酸-アセトン抽出する方法について、アクリル樹脂が主成分の塗料 (P3) 及び酢酸ビニル樹脂 (B3)、ウレタン樹脂 (B5)、クロロプレングム (B7) が主成分の接着剤の計 4 種類について、公定法に準拠した方法の時と同様にして回収率を求め Table 4 に示した。まず TeBT-d₃₆ を内部標準物質として用いた場合、TBT 及び TPT では回収率がそれぞれ 66–108% 及び 45–87%、変動係数が 1.7–8.3% 及び 1.8–6.1% という結果を得ることができた。クロロプレングムを主成分とする接着剤 (B7) で回収率がやや低い傾向が認められたが、概ね良好な結果であると言える。また、DBT についても回収率が 63–92%、変動係数が 2.1–12% となり、やはりクロロプレングムを主成分とする接着剤 (B7) では全体的に若干回収率が低いものの、良好な結果を得ることができた。DPT については回収率が 31–65% とやや低く、変動係数が 2.5–17% とやや大きい傾向を示した。また、MBT 及び MPT は回収率が低く、再現性もよくなかった。クロロプレングムを主成分とする接着剤 (B7) で全体的に回収率が低くなる傾向を示したが、アセトン抽出後、さらにヘキサンを加えて抽出した溶液を濃縮する過程において、濃縮に伴いヘキサンに溶解難い白色物質が析出してくることがその要因の一つと考えられた。しかしながら、回収率は他の試料に比べると若干低いものの、変動係数は大きくなく再現性には問題ないと考えられる。

サロゲート物質を内部標準物質とした場合には、TBT 及び TPT では回収率はそれぞれ 94–116% 及

び 81-106% となり、変動係数は 0.86-2.4% 及び 0.83-1.6% と非常によい結果を得ることができた (Table 4)。また、DBT についても回収率 79-117%、変動係数 0.92-2.7% と TeBT-d₃₆ を用いた時よりもよい値となった。それ以外の有機スズ化合物については、DPT でやや高い回収率が認められ、MBT 及び MPT では 100% 前後の回収率となった。サロゲート物質の回収率をみると、TBT 及び TPT では 74-80% 及び 57-83% と若干低い値となっており、この数字は TeBT-d₃₆ を用いた際の回収率と概ね同傾向であった (Table 5)。そのため、より詳細な分析を行う際には、TBT 及び TPT の重水素化合物をサロゲート物質として用いて測定することが望ましいと言える。また、その傾向は DBT についても同様であると考えられる。クロロプレンゴムを主成分とする接着剤 (B7) では TeBT-d₃₆ を用いた際に回収率が低くなる傾向が認められたがサロゲート物質を用いることで回収率は改善されており、このことからサロゲート物質を用いることが望ましいと考えられる。また、DPT に関しては酢酸ビニル樹脂 (B3) 及びウレタン樹脂接着剤 (B5) でサロゲート回収率はあまりよくないが、定量にサロゲート物質を用いることで変動係数は小さくなるため、分析は可能と考えられた。一方、MBT 及び MPT については、サロゲート物質自身の回収率は低く変動が大きい傾向を示しており、サロゲート物質を用いた場合に回収率が見かけ上は向上しているが、今回の分析法では不十分であると考えられる。

塩酸-メタノール及び塩酸-アセトンの両分析法を比較すると、家庭用品規制法の規制物質である TBT 及び TPT について、塩酸-アセトンで抽出する方法の方が回収率の点から望ましいと判断できた。その際、サロゲート物質を用いることで、より精度よく分析することができると考えられた。また、それら以外の有機スズ化合物について、DBT は PVC 製品を始めとした樹脂製品などの安定剤等として使用されており、例えば長谷川ら (1994) による繊維製品中の有機スズ化合物の分析では、防水加工処理由来と思われる高濃度の DBT (480-610 µg/g) が検出された際に、DBT の不純物として TBT が検出されている。¹⁸⁾ そのため、DBT の分析は TBT が防カビ剤のように意図的に添加されたものなのか、DBT の不純物として混入したものなの

かを検討する上で必要であり、DBT の回収率及び再現性のよい塩酸-アセトン抽出法の方が好ましいと考えられた。DPT については塩酸-アセトン抽出でも若干回収率が低い点があるが、サロゲート物質を用いることで定量分析は可能であると考えられ、この点でも塩酸-アセトン抽出法が好ましいと思われる。MBT 及び MPT については、どちらの方法もサロゲート回収率が低くその変動も大きかった。家庭用品規制法の規制対象は TBT 及び TPT のみであり、MBT 及び MPT はその対象ではないこと、その毒性もトリ体に比べて低いことから、塩酸-アセトン抽出による、アクリル樹脂、酢酸ビニル樹脂、ウレタン樹脂及びクロロプレンゴムが主成分である水性塗料及び水性接着剤の分析法についてはこれ以上の検討は行わず、MBT 及び MPT は分析対象化合物とはしないこととした。

3. 天然ゴム系接着剤について 水性の天然ゴム系接着剤の塩酸-メタノールの分析法では、メタノール添加時にゴム成分が凝縮し塊になってしまい、抽出法としては不相当と考えられた。また、同様の現象は塩酸-アセトン法でのアセトン添加時にも認められたが、この場合にはさらにヘキサンを加える操作によってその状態は解消された。しかしながら、試料抽出後のヘキサン相を濃縮するとゲル状の物質が認められ、その後の実験操作を行うことができなかった。このゲル状物質を FT-IR にて分析したところ、ゴム主成分であるイソプレンポリマーであると確認できた。そのため、水性の天然ゴム系接着剤には、前述の塩酸-メタノール及び塩酸-アセトン抽出法は適さず、別の前処理方法を検討した。

まず、対象の接着剤を純水中に分散させ、塩酸で酸性にした後でヘキサンにて抽出した。この際、ヘキサン相中のポリマーと目的成分との分離に市販のシリカゲルミニカラムを検討したが、カラムが目詰まりをってしまうためにそれ以上の検討はできなかった。そこで、脱脂方法として用いられている、ヘキサン/アセトニトリル分配を試みた。まず、ヘキサン中の有機スズ化合物がどの程度アセトニトリル側に抽出されるか検討した。ここで、ヘキサンとアセトニトリルはわずかであるが互いに溶解するため、あらかじめヘキサンで飽和させたアセトニトリルを実験に用いた。有機スズ化合物を含むヘキサン

20 ml に対してヘキサン飽和アセトニトリル 20 ml を加え、30 分振とう後、3000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、下層のアセトニトリル相を分取した。この操作を 4 回行い、それぞれについてアセトニトリルを濃縮・乾固後に誘導体化してその濃度を測定した。その結果を Fig. 2 に示した。TPT 及び DPT では 2 回目までに 90% 以上の回収率が得られたが、DBT 及び TBT ではあまり回収率はよくなかった。しかしながら、4 回抽出を行うことで DBT は 71%、TBT は 53% の回収率を得ることができた。そのため、ヘキサン/アセトニトリル分配は 4 回行うこととした。この操作を含む最終的な分析方法を Fig. 3 に示した。

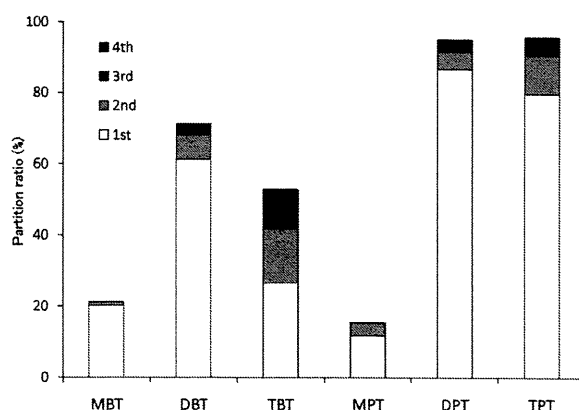


Fig. 2. Partition Ratio of Organotin Compounds from Hexane to Acetonitrile ($n=3$)

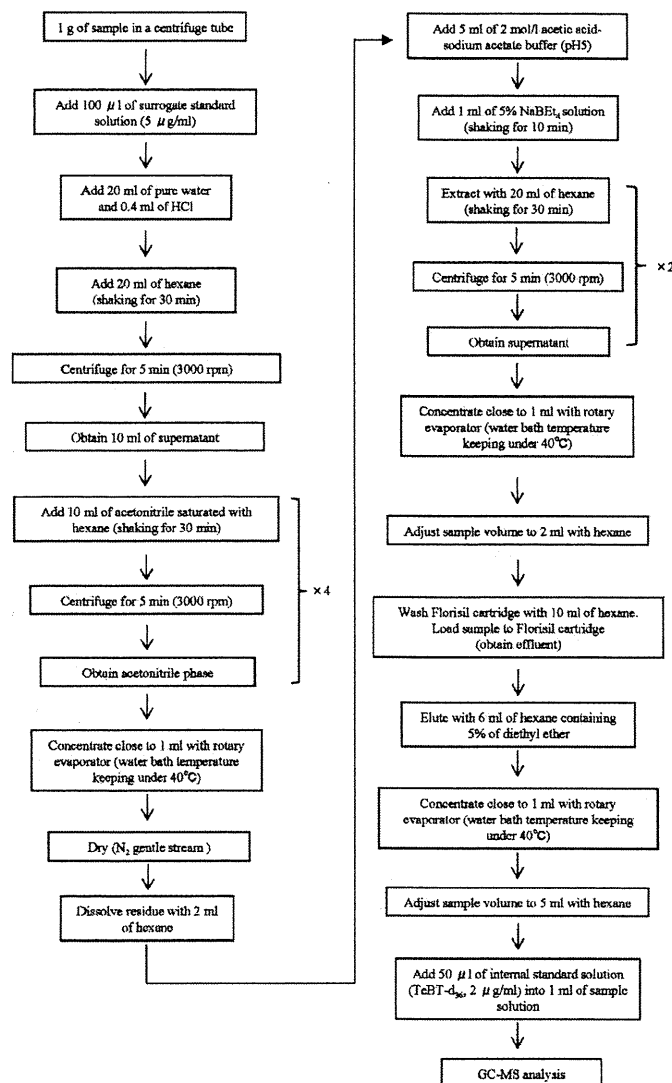


Fig. 3. Scheme of Analytical Method for Water Soluble Adhesive Composed of Natural Rubber

次に、この方法について前述の2つの方法と同様にして回収率を求め Table 4 に示した。TeBT-d₃₆ を内部標準物質に用いた場合、TBT 及び TPT では回収率がそれぞれ 82% 及び 84%、変動係数が 2.0% 及び 14% という結果を得ることができた。変動係数が TPT で若干大きいものの良好な結果であると言える。標準品のみを用いたヘキサン-アセトニトリル分配試験の結果では TBT は 53% の回収率であったのに対して、実際の試料に添加した際には回収率が向上するという結果が得られたが、これは恐らく分配時になんらかの共存物質の影響を受けていると推察された。DBT では回収率は 62% と若干低いものの、変動係数は 4.2% であり良好な結果であった。しかしながら、DPT については回収率が 16% と低い結果となった。また、MPT が DPT とは逆にヘキサン-アセトニトリル分配試験の結果より回収率が向上している。ここで、DPT 及び DPT-d₁₀ のみを添加して抽出操作を行ったところそのマスクロマトグラム上に MPT 及び MPT-d₅ のピークが確認されたことから、分析操作中に DPT からフェニル基が外れ MPT へと変化した可能性があると考えられた。

サロゲート物質を内部標準物質とした場合には、TBT 及び TPT では回収率はそれぞれ 118% 及び 106% となり、変動係数は 4.3% 及び 3.2% と、TBT の回収率が若干高めではあるがよい結果を得ることができた。また、DBT についても回収率 113%、変動係数 4.6% とよい値となった。それら以外の有機スズ化合物については、DPT では 153% と高い回収率、MBT 及び MPT では 50% 前後の回収率となった。サロゲート物質の回収率をみると、MBT では 49%、DPT では 30% と低く、MPT では 205% と非常に高い結果となっている (Table 5)。これは TeBT-d₃₆ を用いた場合にも述べたが、DPT が MPT へと実験操作中に分解している可能性を示唆していると考えられた。

今回検討した天然ゴム系接着剤の分析方法は、家庭用品規制法の規制対象である TBT 及び TPT について回収率及び再現性の面で十分であると考えられ、また TBT の由来を考える上で重要と思われる DBT についても問題なく測定できることが確認できた。MBT、MPT 及び DPT については回収率が不十分であった。家庭用品規制法の規制対象は

TBT 及び TPT のみであり、MBT、MPT 及び DPT はその対象ではないこと、その毒性もトリ体に比べて低いことから、天然ゴムが主成分である水性塗料及び水性接着剤の分析法について、これ以上の検討は行わず MBT、MPT 及び DPT は分析対象化合物とはしないこととした。

4. 検出限界値 (MDL: Method Detection Limit) 及び定量限界値 (MQL: Method Quantification Limit) について 検出及び定量限界値を低濃度添加回収試験 (繰り返し回数: $n=3$) による標準偏差から算出した。具体的には、酢酸ビニル樹脂接着剤 (B3) 及び天然ゴム系接着剤 (B6) を用いて、それぞれに各有機スズ化合物が $0.25 \mu\text{g/g}$ となるように混合標準液を加えた。そして所定の操作後、GC-MS の定量値について標準偏差を求めた。MDL については、JIS K0123 ガスクロマトグラフ質量分析通則²³⁾によると低濃度試料の分析値の標準偏差 α 及び検量線の傾き a 、及び内部標準物質との相対感度 r より、「 $\text{MDL}=3.3 \times \alpha / ar$ 」と定義されている。また、一般に MQL は標準偏差 α の 10 倍とされている²⁴⁾ ことから、今回はそれらに従って MDL 及び MQL を算出した。低濃度添加回収試験による回収率を Table 6 に、MDL 及び MQL を Table 7 に示した。なお、前述したように回収率及び再現性などの点から、MBT 及び MPT はすべての試料、DPT は天然ゴム系接着剤で検討対象から除外した。

まず回収率についてみると、TeBT-d₃₆ を内部標準物質として用いた際の TBT 及び TPT の回収率は 84-79% 及び 90-101% と良好であり変動係数も 0.034-1.3% 及び 0.90-1.4% と小さかった。また、サロゲート物質を用いた場合には回収率は非常によい値となり、変動係数も小さくなる傾向を示した。また、その傾向は DBT についても同様であった。その他の有機スズ化合物についても、 $5 \mu\text{g/g}$ 添加時と同様の傾向を示した。実際に今回の分析法を実試料に用いるにあたって、異なる主成分で構成されている試料間の回収率の差異などを補正でき、再現性がよいという点等から、サロゲート物質を用いることが望ましいと言える。

サロゲート物質を用いて算出した MQL をみると、TBT 及び TPT では対象試料による差異はあるものの、それぞれ $0.019-0.025 \mu\text{g/g}$ 及び $0.0090-0.014 \mu\text{g/g}$ と低濃度での測定が可能であった (Table 7)。

Table 6. Recoveries and Coefficients of Variation (CV) of Organotin Compounds When Small Amounts of Organotins Added^{a)}

Quantifying method	sample name	DBT		TBT		DPT		TPT	
		Recovery (%) ^{b)}	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV	Recovery (%)	CV
TeBT-d ₃₆ ^{c)}	B3	82 ± 1.6	1.9	84 ± 1.1	1.3	66 ± 2.9	4.4	90 ± 1.3	1.4
	B6	79 ± 2.0	2.6	79 ± 0.026	0.034	n.d. ^{e)}	— ^{f)}	101 ± 0.91	0.90
Deuterated compounds ^{d)}	B3	100 ± 1.1	1.1	96 ± 0.77	0.81	99 ± 1.7	1.7	95 ± 0.57	0.60
	B6	104 ± 0.26	0.25	95 ± 1.0	1.1	—	—	97 ± 0.36	0.37

^{a)} Added amount of organotins and deuterated compounds: 0.25 µg/g and 0.5 µg/g, respectively, ^{b)} Average ± standard deviation, ^{c)} Quantified using TeBT-d₃₆ as internal standard (n=3), ^{d)} Quantified using deuterated compounds as surrogate standard (n=3), ^{e)} n.d.: not detected, ^{f)} —: not calculated.

Table 7. Method Detection Limits (MDL) and Method Quantification Limits (MQL) of Organotin Compounds^{a)}

Quantifying method	Extraction	DBT		TBT		DPT		TPT	
		MDL	MQL	MDL	MQL	MDL	MQL	MDL	MQL
TeBT-d ₃₆ ^{b)}	HCl-acetone	0.0048	0.034	0.0043	0.026	0.0021	0.073	0.00040	0.032
	Natural rubber	0.0070	0.018	0.00030	0.0038	— ^{d)}	—	0.00056	0.023
Deuterated compounds ^{c)}	HCl-acetone	0.0057	0.027	0.0042	0.019	0.0017	0.010	0.0047	0.014
	Natural rubber	0.0049	0.024	0.0055	0.025	—	—	0.0029	0.0090

^{a)} Unit: µg/g (as chloride), MDL: (3.3 × standard deviation)/(slope of calibration curve × relative sensitivity), MQL: 10 × standard deviation, ^{b)} Quantified using TeBT-d₃₆ as internal standard, ^{c)} Quantified using deuterated compounds as surrogate standard, ^{d)} —: not determined.

ところで、家庭用品規制関係実務便覧では、TBT及びTPTのフレームレスAAS及び2次元TLCでの検出限界値は、スズとしてそれぞれ0.2 µg/g及び1.0 µg/gとされ、試験法全体としては2次元TLCの検出限界値が採用されている。²⁵⁾このフレームレスAASの検出限界値をTBT及びTPTの塩化物に換算すると、それぞれ0.55 µg/g及び0.65 µg/gとなる。今回のGC-MSを用いた分析法はこの検出限界値を十分に下回っており、現行の公定法よりも低濃度まで測定可能であった。

ここで、既存の有機スズ化合物による健康被害事例をみると、塗装職人の職業的曝露による有機スズ化合物による皮膚炎の報告²⁶⁾では、0.6%のビス(トリブチルスズ)=オキシド(TBTO)が防カビ剤として使用塗料中に含まれていた。また、それ以外にも含有量が0.06%という塗料も当時存在していたことも報告されている。さらに、その患者に対してTBTOのパッチテストを行ったところ0.01%でも炎症が起き、0.001%でも同様の傾向であったと報告されている。また、家庭用塗料にTBTOを含有している防カビ剤を混ぜて寝室の塗装に使用したケースでは、塗装後に寝室を使用した結果、家族5人が喉の痛み、悪心、吐き気、喘鳴、頭痛などの症状を訴えている。²⁷⁾この場合には、防カビ剤と

して用いた薬剤の25%がTBTOであったとされている。これらの報告事例中の有機スズ濃度は非常に高濃度である。そのため、実際の健康被害を想定した際に、今回の分析法のMDL及びMQLは十分にその有機スズ化合物濃度を測定できると考えられる。また、水性接着剤や塗料ではなく繊維製品中の有機スズ化合物の分析事例ではあるが、安定剤として用いられたDBTの不純物としてTBTが1.0-2.1 µg/g検出されている。¹⁸⁾このような場合においても、今回作成した分析法はそれを下回る濃度まで分析可能であり、DBTの不純物としてTBTが検出される場合にも十分測定可能であると考えられる。

5. 実試料結果 作成した分析法を試買した試料について実際に適用し、その有機スズ化合物濃度をサロゲート物質を用いて測定した。その結果をTable 8に示した。なお、前述したように回収率及び再現性などの点から、MBT及びMPTはすべての試料、DPTは天然ゴム系接着剤で分析対象としなかった。

家庭用品規制法で規制されているTBT及びTPTについては全試料中から検出されなかった。前述の塗装職人の職業的曝露による被害事例の場合²⁶⁾では、アクリル樹脂系の塗料中にTBTOが含有していたと報告されているが、今回購入したアクリル樹

Table 8. Concentrations of Organotin Compounds in Water Soluble Paint and Adhesive Samples (as Chloride: $\mu\text{g/g}$)^{a)}

Usage	Sample name	DBT	TBT	DPT	TPT
Paint	P1	n.d. ^{b)}	n.d.	n.d.	n.d.
	P2	0.10	n.d.	n.d.	n.d.
	P3	0.16	n.d.	n.d.	n.d.
	P4	0.041	n.d.	n.d.	n.d.
	P5	t.r. ^{c)}	n.d.	n.d.	n.d.
	P6	0.19	n.d.	t.r.	n.d.
Adhesive	B1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	B6	n.d.	n.d.	— ^{d)}	n.d.
	B7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

a) Quantified using deuterated compounds as surrogate standard, b) n.d.: not detected, c) t.r.: below quantification limit, d) —: not determined.

脂系の塗料製品からは検出されなかった。P2-6までの5種類の塗料からはDBTが検出されたが、その濃度は最大で0.19 $\mu\text{g/g}$ であり低濃度であった。また、DPTがP6にて検出されたがMQL以下であった。接着剤に関してはすべての有機スズ化合物が検出されなかった。

結 論

水性塗料並びに水性接着剤中のTBT及びTPTを主とした有機スズ化合物の分析法を検討した。試料から抽出後、 NaBEt_4 を用いてエチル誘導体化し、フロリジルカラムによる精製を行った後、GC-MSにて測定した。公定法に準拠した塩酸-メタノール抽出後、緩衝液から抽出する方法ではTBT及びTPT以外の有機スズ化合物はほとんど回収されなかった。一方、塩酸-アセトンで抽出し、ヘキサンでさらに抽出する方法では、TBT及びTPTのみならず、DBTやDPTについても分析が可能であり、塩酸-アセトンで抽出する方法が分析法として望ましいと考えられた。しかし、MBT及びMPTについては回収率が十分に確保できず、また定量値の変動も大きかった。一方、天然ゴム系接着剤では塩酸-メタノール及び塩酸-アセトンの両抽出法ともに不適であった。そのため、純水中に試料を分散させ塩酸を加えた後に、ヘキサンで抽出し、さらにヘキサン/アセトニトリル分配を行った。その結果、

TBT及びTPTは回収率及び再現性よく分析することができた。しかし、MBT、MPT及びDPTでは回収率が不十分であった。GC-MSによる定量時に内部標準物質として、 TeBT-d_{36} またはサロゲート物質（各化合物の重水素化体）を用いてそれぞれ比較したところ、サロゲート物質を使うことでより再現性よく測定することができた。サロゲート物質を用いた際の5 $\mu\text{g/g}$ 添加時のTBT及びTPT回収率は、81-118%であり変動係数は0.83-4.3%であった。また、0.25 $\mu\text{g/g}$ 添加時にはTBT及びTPTの回収率は、95-97%、変動係数0.37-1.1%であった。そして、それらのMQLは0.0090-0.025 $\mu\text{g/g}$ であった。以上から、今回確立した分析法は、家庭用品規制法の規制化合物であるTBT及びTPTを低濃度まで測定できることが確認できた。今回確立した分析法を実際の試料（水性塗料6種、水性接着剤7種）に適用したところ、一部の塗料試料でDBTが低濃度（t.r.-0.19 $\mu\text{g/g}$ ）で検出されたが、TBT及びTPTについてはすべての試料で検出されなかった。

謝辞 ご助言等を頂きました国立医薬品食品衛生研究所療品部の鹿庭正昭博士並びに靄島由二博士に感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Ministry of Health, Labour and Welfare, Act on Control of Household Products Containing Harmful Substances, Act No. 112, 1973.
- 2) Kojima S., Nakamura A., Kaniwa M., *Eisei Kagaku*, **25**, 141-146 (1979).
- 3) Kojima S., *Analyst*, **104**, 660-667 (1979).
- 4) Nakashima H., Matsunaga I., *Proceedings of Osaka Prefectural Institute of Public Health. Ed of Industrial Health*, **22**, 47-53 (1984).
- 5) Nozaki Y., Hirata Y., Maeda T., *Annual Report of the Miyazaki Prefectural Institute of Public Health and Environment*, **5**, 58-61 (1993).
- 6) Yamanobe H., Kishimoto K., Iwasaki Y., Kan T., Nakamura H., *Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P. H.*, **46**, 81-85 (1995).
- 7) Ohno H., Suzuki M., Iwama M., Nakashima S., Aoyama T., Yamamoto K., *Ann. Rep. Nagoya City Public Health Res. Inst.*, **42**, 17-

- 20 (1996).
- 8) Kawamura Y., Maehara T., Suzuki T., Yamada T., *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **41**, 246–253 (2000).
 - 9) Ohno H., Suzuki M., Nakayama S., Aoyama T., Mitani K., *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **43**, 208–214 (2002).
 - 10) Ohno H., Suzuki M., Aoyama T., Mitani K., *Ann. Rep. Nagoya City Public Health Res. Inst.*, **49**, 19–22 (2003).
 - 11) Ohno H., Suzuki M., Aoyama T., Mitani K., *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **44**, 208–212 (2003).
 - 12) Nakamura K., Kinoshita M., Matsubara H., *Annual Report of the Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*, **24**, 135–138 (1999).
 - 13) Iwamura T., Kadokami K., Jin-ya D., Hanada Y., Suzuki M., *Bunseki Kagaku*, **48**, 555–561 (1999).
 - 14) Iwamura T., Kadokami K., Jin-ya D., Tanada K., *Bunseki Kagaku*, **49**, 523–528 (2000).
 - 15) Nakashima H., Matsunaga I., Miyano N., *Proceedings of Osaka Prefectural Institute of Public Health. Ed of Industrial Health*, **21**, 41–46 (1983).
 - 16) Yagi M., Ichihashi A., *Annual Report of Amagasaki City Institute of Public Health*, **17**, 35–40 (1990).
 - 17) Yamada S., Ozono K., Ueno S., Ishizaki M., *Annual Report of Ibaraki Prefectural Institute of Public Health*, **31**, 38–41 (1993).
 - 18) Hasegawa K., Utsunomiya A., Setsuta S., *Bull. Kanagawa P. H. Lab.*, **24**, 38–42 (1994).
 - 19) Naedoko E., Yamaguchi R., Higuchi M., Yamato Y., Takahashi M., Abstracts of papers, the 41st Annual Meeting of Zenkoku Eisei Kagaku Gijyutsu Kyogikai, Yamanashi, 2003, pp. 206–207.
 - 20) Ooshima T., Miyamoto T., Mori Y., Abstracts of Papers, the 44th Annual Meeting of Zenkoku Eisei Kagaku Gijyutsu Kyogikai, Mie, 2007, pp. 291–292.
 - 21) Nakashima H., Matunaga I., Tani N., *Proceedings of Osaka Prefectural Institute of Public Health. Ed of Industrial Health*, **19**, 45–49 (1981).
 - 22) Nakashima H., Hori S., Nakazawa H., *Eisei Kagaku*, **36**, 15–20 (1990).
 - 23) Japanese Industrial Standards Committee, JIS K0123: General rules for gas chromatography/mass spectrometry (2006).
 - 24) Water Environmental Division, Ministry of the Environment, Government of Japan: (<http://www.env.go.jp/water/chosa/h14-03/413.pdf>), 3 September 2009.
 - 25) “Hoken Eisei Anzen Kijyun: Katei youhin kisei kankei jitsumu binran,” ed. by Ministry of Health, Labour and Welfare, Dai-ichi Hoki Co., Ltd., Tokyo, 1991, pp. 2045: 24–2045: 50.
 - 26) Goh C. L., *Contact Dermatitis*, **12**, 161–163 (1985).
 - 27) Wax M. P., Dockstader L., *Clin. Toxicol.*, **33**, 239–241 (1995).

ノート

キャピラリー電気泳動法による家庭用品塗膜の鉛溶出量調査

伊佐間和郎, 河上強志, 土屋利江, 松岡厚子

国立医薬品食品衛生研究所

Capillary Electrophoresis Research into Lead Elution from
Paint Films on Household Products

Kazuo ISAMA, Tsuyoshi KAWAKAMI, Toshie TSUCHIYA, Atsuko MATSUOKA

National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

Abstract

The Food Sanitation Law of Japan provides that the amount of lead eluted from the paint film on baby toys must be less than 90 µg/g. However, the amount of lead eluted from paint films on products to which the Food Sanitation Law is inapplicable is not controlled even if the product is used by babies. We therefore investigated the amount of lead eluted from the paint films on household products which babies may use with reference to the Food Sanitation Law. In addition, we confirmed the validity of capillary electrophoresis for measurement of the lead concentration of test solutions. Of 105 products (107 paint films) such as stationery and hairpins, only one hairpin had a paint film that eluted a small amount of lead. The hairpin package carried a warning of the lead content. Nevertheless, household product which babies may use should ideally not contain lead.

Keywords: capillary electrophoresis, lead, paint film, household product

I. 緒言

鉛は中枢神経障害、腎機能障害、生殖機能障害及び造血管障害を生じる有害金属元素のひとつであり、特に、乳幼児に対しては、一定レベル以上の血中濃度で、知能や神経の発達に有害な影響を与える可能性がある [1, 2]。国際標準化機構 (International Organization for Standardization, ISO) は、ISO 8124-3: 1997 Safety of toys - Part 3: Migration of certain elements を規定し、6歳以下の幼児用玩具を対象として、鉛の溶出限度値を 90 mg/kg 玩具材料と定めている。また、我が国の食品衛生法は、飲食に起因する衛生上の危害の発生の防止を目的とするものであるが、乳幼児玩具には、乳幼児

が口に接触することをその本質とするおもちゃが存在すること、及び一定年齢の乳幼児には、身の周りにあるものを口に入れるという性質があること等の理由から、同法に基づき、乳幼児が接触することによりその健康を損なうおそれがあるものとして厚生労働大臣が指定する玩具 (指定おもちゃ) が規定され、また、同法に基づき、必要な規格及び製造基準が設定されている。平成 20 年 3 月 31 日に、食品衛生法に基づく「食品、添加物等の規格基準」の「おもちゃ又はその原材料の規格」が改正され、乳幼児用玩具の鉛等の規格について、国際的な整合性を考慮して、ISO 8124-3: 1997 を採用する等規制が強化された [3-8]。しかしながら、食品衛生法に基づく指定おもちゃに該当しない、主として一般消費者の生活の用に供される製品 (家庭用品) に含有する鉛は、今のところ規制されておらず、乳幼

児がかじったり飲み込んだりした場合の健康影響が懸念される。

食品衛生法の規格基準では、6歳未満の乳幼児を対象とする金属製アクセサリ玩具のうち、飲み込むおそれがあるものは、鉛の溶出量が90 µg/g以下でなければならないと規制されている [7, 8]。近年、家庭内の生活空間に置かれる金属製アクセサリその他金属製品には、鉛等の有害金属を高濃度に含有し、乳幼児が誤飲した場合に健康被害をもたらすおそれがあるものが確認された [9-13]。一方、食品衛生法の規格基準では、指定おもちゃの塗膜は、鉛の溶出量が90 µg/g以下でなければならないと規制されている [7, 8]。家庭用品では、過去に、鉛筆及び色鉛筆の一部において、塗膜に高濃度の鉛を含有することが報告されている [14]。また、平成20年5月には、米国社製の子供用髪留めの塗膜から食品衛生法の基準を超える鉛の溶出が確認され、食品衛生法の基準対象外の製品であるが、国内販売業者は5品目、計約15,000個を自主的に回収した [15]。そこで、家庭内の生活空間に乳幼児が触れやすい状態で置かれる家庭用品として文具及び髪留め等を対象に、食品衛生法に基づく塗膜の溶出試験を実施し、塗膜の鉛溶出量を調査した。

II. 方法

1. 試料

東京都内の複数の小売店で、家庭内の生活空間に乳幼児が触れやすい状態で置かれ、塗膜が施された家庭用品として、文具及び髪留めを中心に、合計105製品を購入した (Table 1)。製品は600円以下で購入可能な安価なものを選んだ。製品の塗膜は色別にそれぞれ

を検体とし、ステンレス製の Cutter を用いて削り取り、概ね0.5 mm メッシュ以下に粉碎したものを試料とした。ただし、粉碎できない弾性を有する樹脂等の塗膜は、出来る限り細かく切断したものを試料とした。

2. 試薬

溶出試験用の0.07 mol/l 塩酸は、塩酸(有害金属測定用、和光純薬工業株式会社)を、純水製造装置 Elix UV 5 (日本ミリポア株式会社)及び超純水製造装置 Milli-Q Synthesis A10 (日本ミリポア株式会社)を用いて製造した超純水で希釈して調製した。また、検量線用の鉛標準溶液は、鉛標準液 (1000 mg/l、和光純薬工業株式会社)を、溶出試験用0.07 mol/l 塩酸を用いて段階希釈して調製した。

3. 試験溶液の調製

試料100 mg以上を精密に量り、ポリプロピレン製容器に入れ、37°Cに加熱した、試料の50倍量の0.07 mol/l 塩酸を加えた。遮光下で37°Cに保ちながら1時間振とう (180 cycle/min) し、さらに37°Cに保ちながら1時間放置した。その後、ポアサイズ0.45 µmのフィルターでろ過した。

4. キャピラリー電気泳動

フォトダイオードアレイ検出器を備えたキャピラリー電気泳動装置 CAPI-3300 (大塚電子株式会社)を使用し、試験溶液を調製してから16時間以内に測定した。泳動条件は、カラム: フューズドシリカ (内径75 µm×有効長64 cm、大塚電子株式会社)、泳動液: 2 mM 1,2-シクロヘキサンジアミン四酢酸及び20 mM 四ホウ酸

Table 1 Samples and country of manufacture

Product classification	Product name	Number of products (Number of specimens)	Country of manufacture			
			Japan	China	Germany	Unknown ^a
Stationery	colored pencil	39 (40)	0	24	12	3
	pencil	19 (19)	8	2	0	9
	paintbrush	17 (17)	0	16	0	1
Hairpins	hair clip	19 (19)	0	16	0	3
	barrette	6 (6)	0	6	0	0
	bobby pin	3 (3)	0	3	0	0
Others	castanets	1 (2)	1	0	0	0
	interior gadget	1 (1)	0	1	0	0
Total		105 (107)	9	68	12	16

^a Country of manufacture not indicated on product.

ナトリウム、電圧：15.0 kV、温度：25.0°C、検出波長：245 nm（ダイレクト）、注入方法：落差法（25 mm、30 sec）とした [16]。

5. 測定精度推定

キャピラリー電気泳動の測定精度解析には、Function of Mutual Information (FUMI) 理論 [17] に基づくソフトウェア TOCO version 2.0 (FUMI 理論研究会) を用いた。標準溶液の電気泳動グラムにおけるノイズ及び鉛のシグナルから、本測定条件における測定精

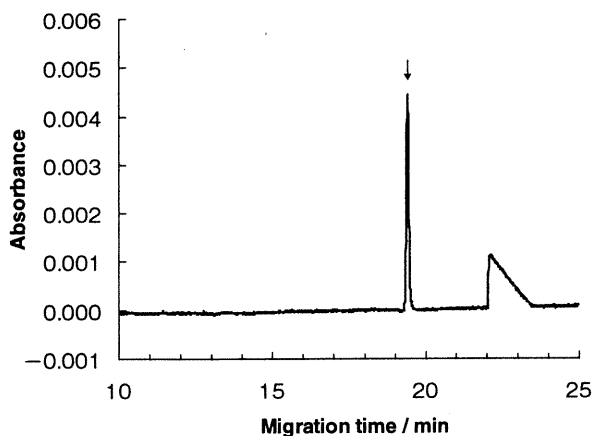


Fig. 1 Electropherogram of 10 mg/l lead standard solution
Arrow shows peak of lead.

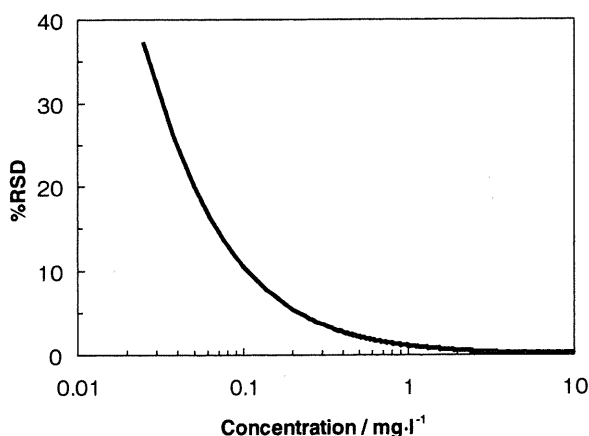


Fig. 2 Measurement precision profile of lead
The measurement precision profiles were made with TOCO version 2.0 from the signals and noise on the electropherogram of lead standard solution.

度プロファイルを作成し、検出限界及び定量限界を算出した。

6. 定 量

試験溶液の電気泳動グラムから鉛のピーク面積を求め、鉛標準溶液を用いて作成した検量線から試験溶液の鉛濃度を算出した。

III. 結 果

1. 測定精度推定及び検量線

本測定条件における鉛標準溶液（10 mg/l）の電気泳動グラムを Fig. 1 に示した。FUMI 理論を用いて作成した、鉛濃度と相対標準偏差 (RSD) との関係を表す測定精度プロファイルを図 2 に示した。検出限界を 33% の RSD が得られるときの濃度及び定量限界を 10% の RSD が得られるときの濃度と定義するとき、試験溶液中の鉛濃度として、本測定条件における検出限界は 0.0337 mg/l 及び定量限界は 0.111 mg/l と算出された。

鉛標準溶液を用いて作成した検量線を Fig. 3 に示した。0.03 mg/l から 100 mg/l までの濃度範囲において、鉛濃度とピーク面積の間には相関係数が 0.99999 を超える良い直線関係が認められた。

2. 市販製品の鉛溶出試験

髪留めのパッチンピンから調製した試験溶液及び鉛標準溶液（3 mg/l）の電気泳動グラムを Fig. 4

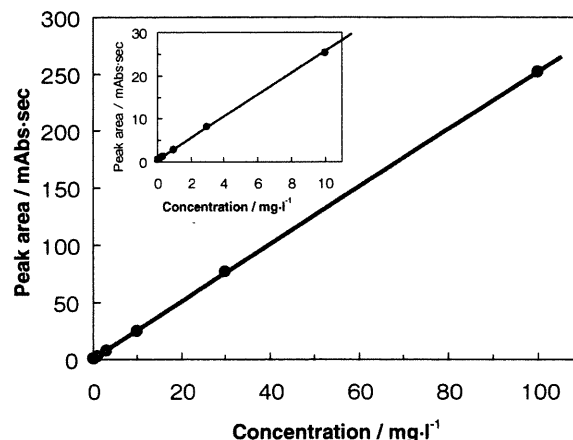


Fig. 3 Calibration curve of lead by capillary electrophoresis
The inserted graph expands the range of concentrations of less than 10 mg/l.

に示した。試験溶液のエレクトロフェログラムには、鉛標準溶液で得られた鉛の泳動時間と一致するピークが認められ、このピークのUV吸収スペクトルは、鉛標準溶液で得られたピークのUV吸収スペクトルと一致した (Fig. 5)。当該製品の塗膜からの鉛の溶出が確認され、この塗膜の鉛溶出量は $114.8 \mu\text{g/g}$ と算出された。なお、食品衛生法の規格基準では、試験法の正確化のため、分析値を鉛の補正值 30 により補正することが規定されているが、今回の調査は食品衛生法の規格基準への適・不適を判定することが目的ではないので、分析値の補正を行わなかった。

試験した 105 製品 (107 検体) 中、鉛を検出したのは前記の 1 製品 (1 検体) のみで、その他の 104 製品 (106 検体) からは鉛を検出しなかった。

IV. 考 察

本調査では、キャピラリー電気泳動法を用いて試験溶液の鉛濃度を測定した。キャピラリー電気泳動法は、複雑な前処理を必要とせず、試料及び試薬を少量しか必要としない。さらに、高圧ガスが不要で、排気も無いため、ローエミッションな分析法のひとつである。食品衛生法に基づく食品、添加物等の規格基準では、試験溶液の鉛濃度の測定には原子吸光光度法又は誘導結合プラズマ発光強度測定法を用いることが規定

されているが、規定の方法以上の精度のある場合は規定の方法に代わる方法を用いることができるとされている。また、ISO 規格では、鉛等の濃度の測定方法を特に推奨せず、溶出限度値の 1/10 以下を検出限界とする方法を使用しなければならないとしている [3]。試料が 100 mg 以上の場合、試料の 50 倍量の 0.07 mol/l 塩酸で溶出操作を行うので、鉛の溶出限度値 90 mg/kg に相当する試験溶液の鉛濃度は 1.8 mg/l となる。キャピラリー電気泳動法の本測定条件における試験溶液中の鉛の検出限界は 0.0337 mg/l で、ISO 規格の溶出限度値に相当する鉛濃度の約 1/50 である。本調査において、キャピラリー電気泳動法を用いて試験溶液の鉛濃度を測定することは妥当である。

調査した 105 製品 (107 検体) 中、鉛を検出したのはパッチンピン 1 製品 (1 検体) のみで、その他の 104 製品 (106 検体) からは鉛を検出しなかった。鉛を検出した製品の塗膜からの鉛溶出量は $114.8 \mu\text{g/g}$ であった。当該製品は食品衛生法の対象外であるが、鉛の補正值 30 を考慮すれば鉛の溶出量は $80.4 \mu\text{g/g}$ と算出され、食品衛生法の規格基準に適合する。当該製品は、本体がスチール製で、装飾面にこげ茶色のエポキシ樹脂塗膜が施されていた。また、製品を梱包していた台紙には、注意・警告マークと共に、「この商品には鉛が含まれております。口には絶対に入れないでください。」という注意表

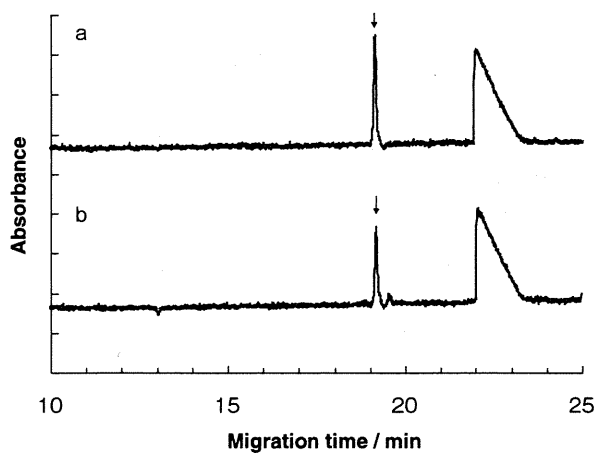


Fig. 4 Electropherograms of 3 mg/l lead standard solution (a) and test solution of hair clip (b)
Arrows show peaks of lead.

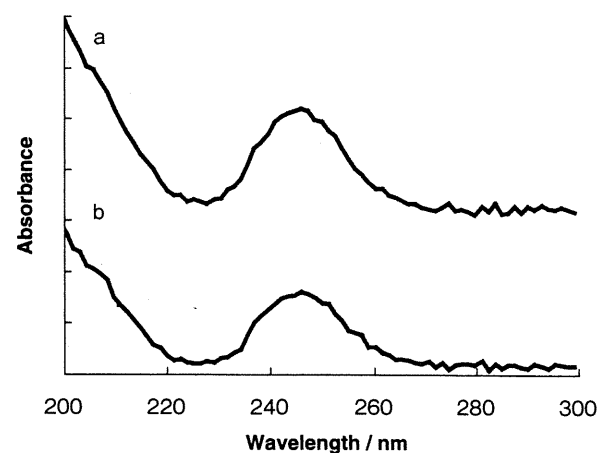


Fig. 5 Ultraviolet absorption spectra of peaks of 3 mg/l lead standard solution (a) and test solution of hair clip (b)
The ultraviolet absorption spectra of the peaks were measured with the photodiode array detector of the capillary electrophoresis apparatus.

示があった。さらに、「お子様が使用される際は、必ず保護者の安全管理のもとご使用ください。」及び「乳幼児の手の届かない場所に保管してください。」という表示もあった。しかし、当該製品のような小さな製品の場合、製品そのものに注意書き等を表示できないため、使用時には鉛含有の有無を消費者が認識できなくなるおそれがある。

国内の塗料の出荷量は、家庭用としては数%程度で、ほとんどが業務用である[18]。従来は、建物等の構造部材に使用される下塗りの錆止め塗料及び上塗り塗料に鉛が含まれることが多く[14, 18]、鉛筆及び色鉛筆の塗膜、水彩絵具等にも鉛が含有されていた[14]。しかし、日本塗料工業会では、塗膜中の鉛の含有量を0.06%以下にする自主基準を定め、鉛フリー塗料の使用拡大を図っ

ている[18]。最近、米国では、子供用製品に使用される塗料及び塗膜の鉛含有量を600 ppm (0.06%) から90 ppm (0.009%) に低減するように規制が強化された[19]。

V. 総括

キャピラリー電気泳動法は、ISO規格の鉛溶出限度値の約1/50の検出限界を有し、家庭用品塗膜の鉛溶出量測定に有用であった。今回調査した文具及び髪留め等の計105製品中、塗膜から鉛の溶出が認められたのは髪留め(バッチンピン)の1製品のみで、食品衛生法の規格基準を超える量ではなかった。しかしながら、国際的な鉛フリーの情勢を鑑みれば、家庭内の生活空間に乳幼児が触れやすい状態で置かれる家庭用品の鉛含有量をより低減する努力がさらに必要であろう。

参 考 文 献

- 1) 飯塚富士子, 波多野弥生, 荒木浩之, 島田祐子, 渡辺晶子, 大久清香, 他. 金属製アクセサリ類等に含有される鉛による健康被害の懸念について. 中毒研究 2007; 20: 387-392.
- 2) 鉛含有金属製アクセサリ類等の安全対策に関する検討会. 鉛含有金属製アクセサリ類等の安全対策に関する検討会報告書. <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2007/02/dl/s0216-5.pdf> (2009/10/15).
- 3) 河村葉子, 高野忠夫. 国際標準化機構 (ISO) における玩具の規格基準に関する調査研究. 平成14年度厚生労働科学研究費補助金 (食品・化学物質安全総合研究事業) 「食品用器具・容器包装等の安全性確保に関する研究」分担研究報告書: 2003.
- 4) 河村葉子, 高野忠夫, 篠原恒久, 六鹿元雄. 国際標準化機構 (ISO) における玩具の規格基準に関する調査研究. 平成15年度厚生労働科学研究費補助金 (食品・化学物質安全総合研究事業) 「食品用器具・容器包装等の安全性確保に関する研究」分担研究報告書: 2004.
- 5) 河村葉子, 川崎智恵, 峰 幸加, 六鹿元雄, 棚元憲一. 乳幼児用玩具中の有害8元素およびその溶出試験. 食品衛生学雑誌 2006; 47: 51-57.
- 6) 河村葉子, 六鹿元雄, 山内朋子, 植田新二, 棚元憲一. 玩具塗膜からのカドミウムおよび鉛の溶出試験. 食品衛生学雑誌 2009; 50: 93-96.
- 7) 光岡俊成. 乳幼児用おもちゃの鉛等の規制強化について. 食品衛生研究 2008; 58(7): 7-11.
- 8) 河村葉子. おもちゃの塗膜および金属製アクセサリ玩具の試験法. 食品衛生研究 2008; 58(7): 13-17.
- 9) 東京都生活文化局消費生活部生活安全課. 金属製アクセサリ等. たしかな目 2006; 241: 40-42.
- 10) 鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 土屋利江. 金属製アクセサリ類等に含有する鉛量に関する試買調査. 平成17年度家庭用品健康被害防止調査報告書: 2006.
- 11) 伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 土屋利江. 金属製アクセサリ類等に含有するカドミウムの分析調査. 中毒研究 2006; 19: 409-411.
- 12) 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室. 金属製アクセサリ類等における鉛の含有について. 中毒研究 2007; 20: 146-147.
- 13) 伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 土屋利江. アクセサリ類を除く金属製品に含有する鉛及びカドミウムの分析調査. 中毒研究 2008; 21: 393-395.
- 14) 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村見忠. 塗料、建物から収集した塗膜、および数種の子供用文具類中の鉛の分析. 衛生化学 1981; 27: 391-398.
- 15) 日本トイザラス株式会社. アルマー・セールス社製ドリームダジラーブランドの一部のヘアアクセサ

- リー商品の自主回収について. <http://www2.toysrus.co.jp/truj/pdf/20080522.pdf> (2009/10/15).
- 16) 丸山敏彦. 低分子試料分析から見たキャピラリー電気泳動. CE アドバンス 1997; 1: 12-20.
- 17) Hayashi Y, Matsuda R. Deductive prediction of measurement precision from signal and noise in liquid chromatography. Analytical Chemistry 1994; 66: 2874-2881.
- 18) 東京都環境局環境改善部有害化学物質対策課. 化学物質の子どもガイドライン—鉛ガイドライン(塗料編)—. 東京都環境局: 2002.
- 19) U.S. Consumer Product Safety Commission. CPSC to Enforce New CPSIA Requirements for Children's Products Effective August 14. <http://www.cpsc.gov/cpscpub/prerel/prhtml09/09306.html> (2009/10/15).

(2009年10月19日受付・2009年12月11日受理)

Research Paper

Mathematical Model to Predict Skin Concentration of Drugs: Toward Utilization of Silicone Membrane to Predict Skin Concentration of Drugs as an Animal Testing Alternative

Kenji Sugibayashi,^{1,2} Hiroaki Todo,¹ Takeshi Oshizaka,¹ and Yoko Owada¹

Received June 5, 2009; accepted September 22, 2009; published online November 11, 2009

Purpose. To calculate the skin concentration of active ingredients in cosmetics and topical pharmaceuticals using silicone membrane permeation.

Methods. A series of parabens were used as model ingredients. Skin concentration of parabens was calculated using silicone membrane permeability. Their partition coefficient from formulations to the silicone membrane was determined by the membrane permeation profiles, and used to calculate their silicone membrane concentration, under an assumption that the membrane is one homogenous diffusion layer. The same procedure was applied for hairless rat skin.

Results. The calculated concentration of parabens in silicone membrane was very close to their observed values. However, the skin concentration calculated by skin permeability was not similar to the observed concentration. Re-calculation was performed under the assumption that the skin consists of two diffusion layers. This modification using permeation data through full-thickness and stripped skin enabled precise prediction of the skin concentration of parabens. In addition, the partition coefficient to the silicone membrane was useful to estimate their skin concentration.

Conclusions. Ingredient concentration in skin can be precisely predicted using diffusion equations and partition coefficients through permeation experiments using a silicone membrane. The calculated in-skin concentration is useful for formulation studies of cosmetics and topical pharmaceuticals.

KEY WORDS: hairless rat skin; membrane permeation; paraben; silicone membrane; skin concentration.

INTRODUCTION

Skin has been the focus as an application site of cosmetics and therapeutic drugs. Many transdermal drug delivery systems and topical drug formulations, as well as cosmetics, are on the market, and determining the percutaneous absorption of drugs and cosmetic ingredients is important for developing good topical formulations; however, percutaneous absorption or skin permeation itself is not always important for topical formulations (1). In other words, maintaining drug and active ingredient concentrations at their sites of action is more important for most topical drug and cosmetic formulations (2,3). For example, a lack of skin distribution and permeation are necessary for sunscreens, which mostly act on the skin surface, from a safety point of view. On the other hand, skin whitening agents must be studied for their skin distribution and concentration in the viable epidermis, which is their primary site of action. High skin permeation of whitening agents, however, is not expected, because the possibility of systemic side effects is

increased. Of course, efficient percutaneous absorption or skin permeation of drugs is necessary for transdermal drug delivery systems to achieve systemic pharmacological actions. Thus, we have to distinguish the skin distribution or skin concentration from percutaneous absorption or skin permeation of drugs and cosmetic ingredients. This is very important to evaluating therapeutic drug formulations and cosmetics.

Unfortunately, little investigation has been performed of the skin distribution or skin concentration of chemical compounds compared with percutaneous absorption and skin permeation, especially for cosmetics. Epidermal layers frequently serve as a site of action for ingredients in cosmetics and topical drug formulations. Active ingredients and drugs in the formulations must distribute from the formulations to the epidermal tissues and maintain efficient concentrations in the tissues to achieve their effectiveness as cosmetics or topical drug formulations. In addition, the determination of skin concentration is very important for evaluating cosmetics or topical drug formulations, as well as for developing new cosmetic and drug products.

Recently, criticism against animal experiments has greatly increased from the viewpoint of animal welfare. In the EU, animal experiments to the production and import of cosmetic formulations are banned from 2009 to 2013 (4–7). Scientists have to be aware of the spirit of the 3Rs for animal

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan.

² To whom correspondence should be addressed. (e-mail: sugib@josai.ac.jp)