

図7 室内空気 TVOC 構成成分のクラスター解析結果 (Case-2, ID 06)

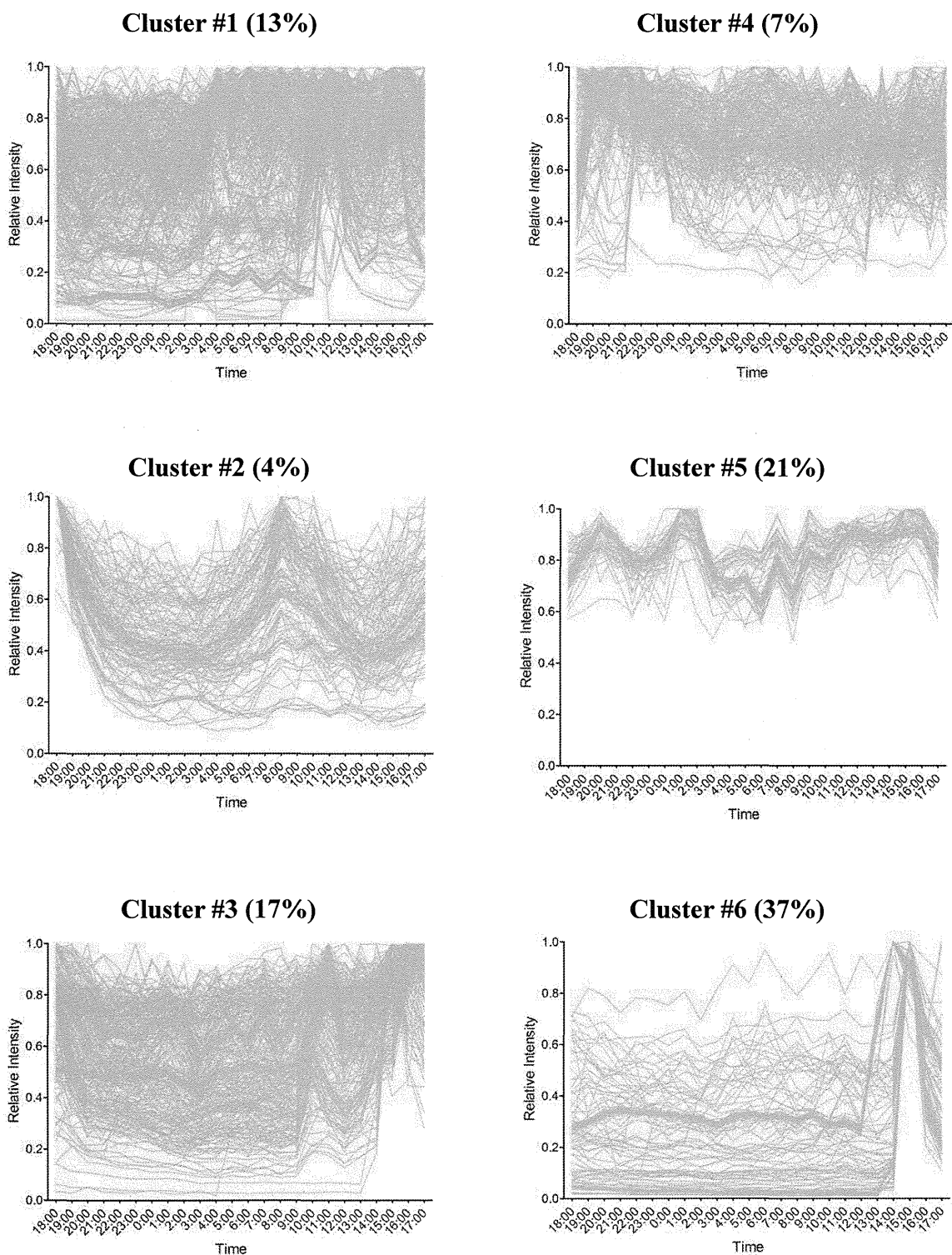


図 8 室内空気 TVOC 構成成分のクラスター解析結果 (Case-3, ID 07)

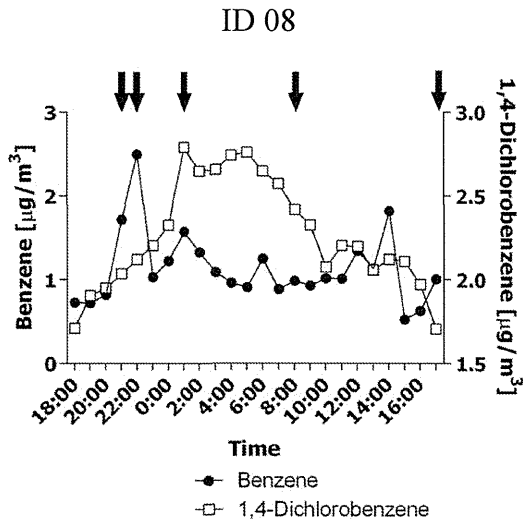
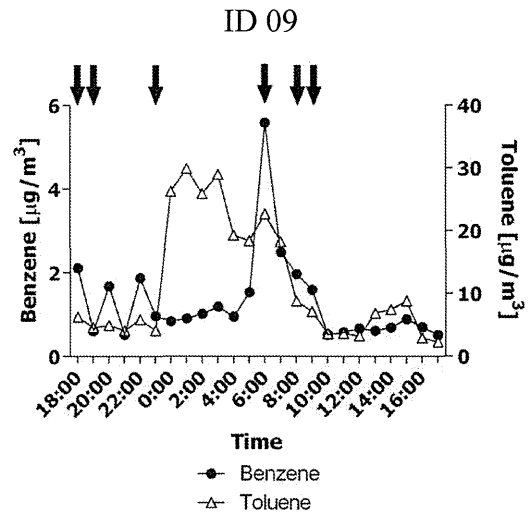
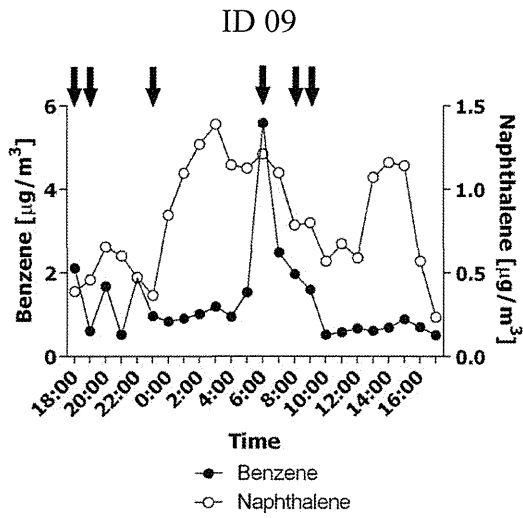


図9 室内空气中ベンゼン濃度の日内変動 —喫煙行為による影響—
 →：喫煙のタイミング

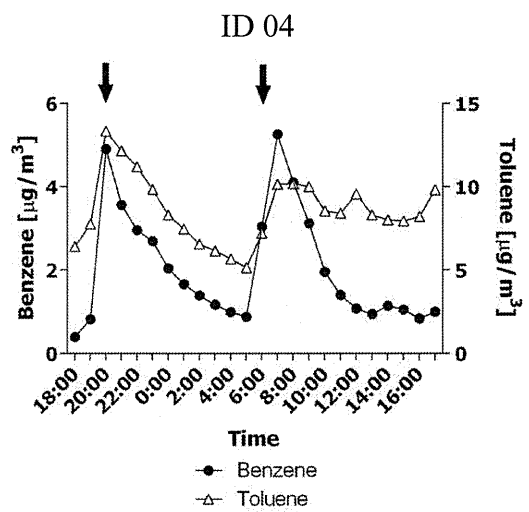
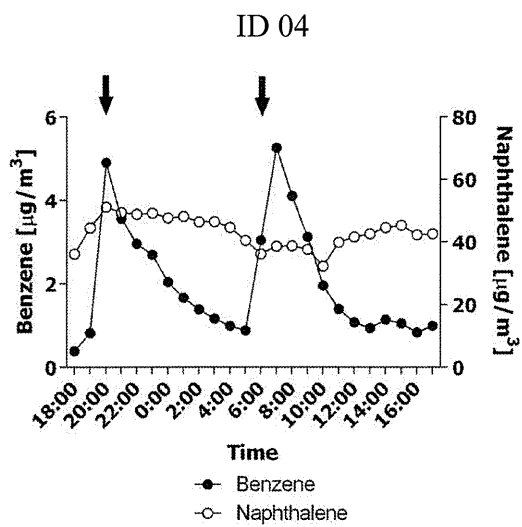
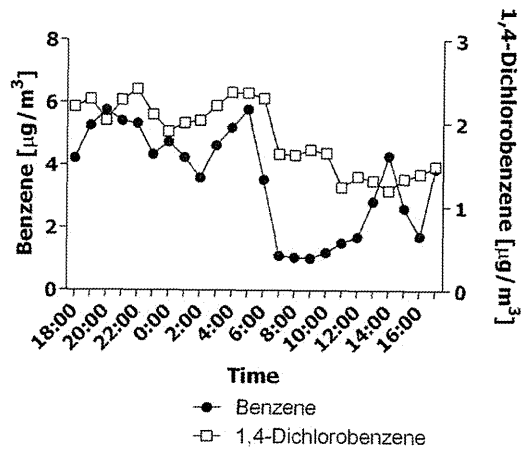
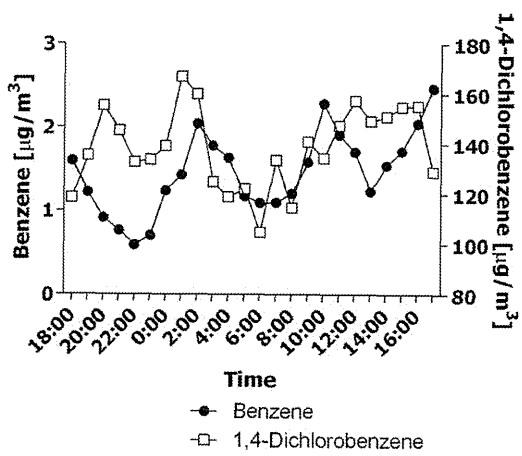


図 10 室内空气中ベンゼン濃度の日内変動 —線香焼香による影響—
 →：線香焼香のタイミング

ID 05



ID 07



ID 07

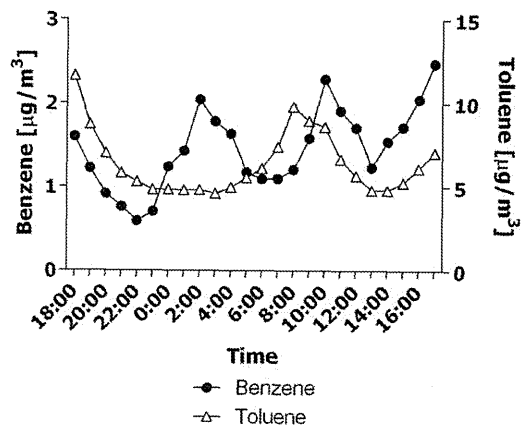


図 11 室内空气中ベンゼン濃度の日内変動

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

家庭用品から放散される揮発性有機化合物/準揮発性有機化合物の
健康リスク評価モデルの確立に関する研究

室内空気汚染物質瞬時型放散源の定量的スクリーニング

研究分担者 河上 強志 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 主任研究官
研究協力者 伊佐間和郎 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長
研究協力者 三友 優花 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部

瞬時放散型家庭用品として家庭用スプレー製品を対象とし、それらの刺激性およびその要因物質の検討を行った。さらに、室内空気の汚染物質の一つとして、家庭用スプレー製品中の環状ポリジメチルシロキサン分析法の検討と実態調査を行った。細胞毒性試験により、家庭用スプレー製品の刺激性を評価したところ、 IC_{50} が 8.4×10^{-3} (%) の試料から 1%濃度では細胞毒性を示さない試料まで、その刺激性強度には幅が認められた。細胞毒性の強かった 2 製品を対象に、その要因物質を検討したところ、陽イオン界面活性剤であるジデシルジメチルアンモニウムおよび非イオン界面活性剤であるポリオキシエチレンラウリルエーテル（エチレンオキシド鎖が 4~13 程度）が考えられた。また、非イオン界面活性剤と防腐剤ベンゾイソチアゾリノンの細胞毒性は共存することで増強していた。そのため、実試料では複数の刺激性物質による相加・相乗効果が生じている可能性が考えられた。環状ポリジメチルシロキサン類は、アイロン用剤および室内清浄用の 3 製品から D_4 ~ D_6 が検出され、その濃度は $tr.$ ~ $4.0 \mu\text{g/g}$ であった。また、室内清浄用の製品を一度使用する（製品推奨：6 回スプレー）と、 D_5 および D_6 が 4.7 および $12.8 \mu\text{g}$ 室内に放出されると見積もられた。家庭用スプレー製品中の環状ポリジメチルシロキサンは、既報の化粧品やパーソナルケア製品に比べると低い傾向を示したが、試料中には調査対象とした以外の環状ポリジメチルシロキサン類または鎖状シロキサン類と推察されるピークが認められ、今後はそれらを含めた調査が必要である。

A. 研究目的

人間は一日の大半を室内環境で過ごすことから、室内空気は人間の健康上、重要な環境媒体であると言える。そのため

室内空気の安全性について、我が国では室内濃度指針値が 13 種類の化学物質について策定¹⁾され、建築基準法では 2 種類の化学物質が規制対象²⁾とされている。

化学物質による室内空気汚染の要因は様々ではあるが、大きく建築資材に由来するものと家庭用品に由来するものに分けられる。このうち、建築資材や家具などの家庭用品に由来する化学物質については、前述した室内濃度指針値の設定や建築基準法での規制に伴い、製品の品質管理等により、それらの室内空気中の濃度は減少傾向にある³⁾。また、建築資材や家具などは設置型製品であり、導入時から化学物質が放散し、徐々にその放散量は減衰していくものと考えられる。

一方、それらとは異なり、室内への持ち込みや持ち出しが常に伴う芳香剤、殺虫剤および洗剤の様な家庭用品は、意図的に室内に化学物質を放散する形式の家庭用品である。これらの製品のうち、特にスプレー形式の製品については、その使用に伴い瞬時に室内の化学物質濃度が上昇し、換気により減少する傾向を示すと考えられる。このような、瞬時放散型家庭用品に由来する化学物質の室内空気質への寄与は、建築資材および家具類に比べると不明であり、その実態を明らかにする必要がある。

瞬時放散型家庭用品による健康被害については、製品事故に伴う中毒症状と慢性症状とに大きく分けられる。製品事故による重度の健康被害としては、防水スプレー⁴⁾やスプレー式洗剤⁵⁾の吸入による肺障害や、芳香剤の噴射剤として使用されているブタンガス等の吸引による心肺への障害（心室細動等）⁶⁾などが報告されている。また、製品事故による健康被害について、厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室では、毎年「家

庭用品等に係る健康被害病院モニター報告」(モニター報告)⁷⁾を公表している。このモニター報告をまとめた波多野らの報告⁸⁾によると、平成8～23年までの16年間で、吸入事故等に関する報告件数は皮膚障害等に比べて増加傾向にある。それらを、製品形態で比較すると、液体タイプ（塗料、シンナー、塩素漂白剤等）の製品が最も報告件数が多く、次いでエアゾールスプレー、ポンプ式スプレーの順となっており、この3つは、健康被害報告件数の増加が顕著に認められている。このうち、瞬時放散型家庭用品であるスプレー製品（エアゾールおよびポンプ式）の健康被害報告件数の年次推移を図1に示した。また、平成23年度について、スプレー製品による健康被害を、原因製品の用途別に比べると、殺虫剤159件、洗剤122件に次いで芳香・消臭・脱臭剤が82件であった（図2）。芳香剤類については、年次推移を見ても徐々に増加傾向にある⁸⁾。これらの製品では、平成23年度の報告で有症率が60%と高く、いずれの事例でも目や喉の痛みといった粘膜への刺激症状を訴えている。このように、刺激性のある製品が市場に流通しているが、その刺激性の強度や刺激性物質に関する情報は少ないことから、その実態を明らかにする必要があると考えられる。

一方、瞬時放散型家庭用品の使用に伴う慢性症状の可能性が、疫学調査によって指摘されている。スペインで実施された、2292名を対象とした出生コホート調査⁹⁾では、妊娠時および出産後の洗浄用製品〔漂白剤（bleach）、溶剤（solvents）、ガラスクリーナー、室内芳香・消臭剤（air

freshener) など]の使用状況と、出生 12~18 ヶ月後の乳児の下気道感染症 (lower respiratory tract infections: LRTI) および喘鳴 (wheezing) との関連を検討している。その結果、妊娠中に洗浄用スプレーまたは室内芳香・消臭剤を使用することで、LRTI の期間有病数は高くなった。喘鳴のオッズ比も、妊娠期の洗浄用スプレーおよび溶剤の使用により大きくなる事が示された。成人についても、欧州 10 カ国でスプレー製品と喘息 (小児喘息を除く) との関連性が報告されている¹⁰⁾。その報告によれば、医師が喘息と診断した患者と、1 週間に 4 日以上スプレー製品を使用することとの間に関連性が認められている。さらに、スプレー製品の使用頻度および異なる種類の製品の使用と喘息との間に容量依存的な関連性が認められ、特にガラスクリーナー、家具用スプレーおよび室内芳香・脱臭剤 (air-refreshing spray) の使用が、それらの患者に共通し認められた。

また、家庭用スプレー製品について、呼吸器系ではなく心臓のような循環器系に対する影響も調査されている。Mehta らは 581 名のスイス人の成人を対象に、心拍変動 (Heart rate variability : HRV) と家庭用スプレー製品および芳香剤 (scented product) の使用頻度との関連性を検討し報告した¹¹⁾。その結果、全ての製品の使用に伴い、24 時間 SDNN (NN 間隔標準偏差値) および TP (Total power) は減少し、特に室内消臭剤 (air freshening spray) で顕著であった。そして、24 時間 SDNN および TP と閉塞性肺疾患の患者のクリーニングスプレー、室内消臭剤および芳

香剤使用量との間には逆相関性が認められている。

このように、様々な種類の瞬時放散型家庭用品について、その慢性的な健康影響が懸念されている。そのため、洗浄剤および室内芳香・消臭 (air freshener) 剤から室内空気中へのグリコールエーテル類等の放出実態^{12,13)}や、それらの製品の室内空気中の総揮発性有機化合物への寄与¹⁴⁾、放出後の化合物が室内空気中で毒性を有する二次生成物へと変化すること¹⁵⁾など、様々な調査・研究が実施されている。そして、近年、有機シリコン化合物、特に環状ポリジメチルシロキサン類が注目を集めている。環状ポリジメチルシロキサンは図 3 に示した、octamethylcyclotetrasiloxane (D₄)、decamethylcyclopentasiloxane (D₅) および dodecamethylcyclohexasiloxane (D₆) に代表される化合物である。これらは、原材料等として使用され、シリコンゴム製品中に数千 μg/g 残存している事が報告されている¹⁶⁾。環状ポリジメチルシロキサンの毒性は、CD-1 マウスに静脈投与した場合に、hexamethylcyclotrisiloxane (D₃) ~D₆ 混合物では半数致死量 (LD₅₀) が 28 g/kg であり、D₄ のみでは 6~7 g/kg であると報告されている¹⁷⁾。一方、Fischer 344 ラットを用いた D₄ の全身揮発吸入曝露 (whole body vapor inhalation) 試験では、濃度 0-540 ppm で 1 日 6 時間、週 5 日曝露で 28 日間実施し、体重や餌の消費量に曝露影響は無く、肝臓重量の増加が 28 日後に認められた以外には、病理学的にも毒性は観察されなかったことが報告されている¹⁸⁾。また、D₄ および D₅ の SD ラッ

トを用いた全身揮発吸入曝露による二世
代生殖試験では、D₄の高濃度曝露時
(500~700ppm)の出生児について、体重
および出生数の低下、着床部位の減少に
伴う黄体の減少が報告¹⁹⁾される一方で、
D₅については二世代生殖試験では毒性は
認められていない²⁰⁾。しかしながら、D₄
は *in vitro* 系においてエストロゲン受容体
に親和性を有していることや、*in vivo* 系
において弱いエストロゲン作用を示すた
め²¹⁾、その毒性および健康影響が懸念さ
れている。

環状ポリジメチルシロキサンは前述し
た、シリコンゴム製品以外の家庭用品
等にも含有しており、化粧品では日本や
米国²²⁾、カナダ²³⁾および欧州²⁴⁾などで
その濃度が報告されている。一方で、シリ
コンゴム製品および化粧品以外の家庭
用品における環状ポリジメチルシロキサ
ンの実態については、Horii and Kannan に
よる洗浄剤、家具用スプレーおよびシー
ラントに関する報告²²⁾があるくらいであ
り、室内空気汚染の観点からも、我が国
における家庭用スプレー製品中の環状ポ
リジメチルシロキサン類の実態を明らか
にする必要があると考えられる。

本研究では、室内空気汚染物質瞬時型
放散源として、家庭用スプレー製品を対
象に、それらの刺激性を細胞毒性試験に
よって評価し、その原因物質を検討する
と共に、それらの製品に含有される環状
ポリジメチルシロキサン類の分析法の検
討と実態調査を目的とした。

B. 研究方法

B1. 試料

2013年にインターネットサイト、東京
都および埼玉県内の小売店で家庭用スプ
レー製品計22製品を購入した。これらの
製品の分類および製品に表示されていた
成分名を表1に示した。対象とした家庭
用スプレー製品は室内空間や衣類の芳
香・脱臭剤、衣類お手入れ剤、リネンウ
ォーターおよびアイロン仕上げ剤など
であった。

B2. 試薬類

刺激性評価のための細胞毒性試験に用
いたリン酸塩緩衝生理食塩水(PBS)はタ
カラバイオ製を、MEM培地(粉末)、ペ
ニシリン・ストレプトマイシンおよび
0.05%トリプシンEDTA溶液はGIBCO製
を用いた。炭酸水素ナトリウムおよびメ
タノールはSigma-Aldrich製の試薬特級お
よびHPLC用を、ギムザ染色液はMERCK
製を、牛胎児血清(Fetal Bovine Serum: FBS)
はニチレイバイオサイエンス社製をそれ
ぞれ用いた。細胞毒性試験に用いた細胞
株は、チャイニーズハムスター肺由来繊
維芽細胞V79(JCRB0603)を使用した。

刺激性の原因物質の検討では、ベンゾ
イソチアゾリノン、ジヘキサデシルジメ
チルアンモニウムブロミドおよびテトラ
デシルジメチルベンジルアンモニウムク
ロリドは東京化成工業製を、ポリオキシ
エチレン(23)ラウリルエーテルは和光
純薬工業製を用いた。また、非イオン界
面活性剤の定量には常盤化学工業製の研
究用試薬エコロジーナ高感度AE ELISA
キットを用いた。塩化ナトリウムおよび
無水硫酸ナトリウムはSigma-Aldrich製、
酢酸、酢酸ナトリウムおよびジメチルス

ルホキシド（DMSO）は和光純薬製の特級試薬をそれぞれ用いた。Acid Orange 7 は東京化成工業製を用いた。アセトニトリルは Sigma-Aldrich 製の HPLC 用、クロロホルムおよびギ酸は和光純薬工業製の残留農薬分析用および LC/MS 用を用いた。試験に使用した水はミリポア製超純水製造装置 Milli-Q AdvantageA10 で製造した水を用いた。

ポリ環状ジメチルシロキサン分析に用いた D₄、D₅ および D₆ は東京化成工業製を、サロゲート物質として使用した tetrakis(trimethylsiloxy)-silane（M4Q）は Acros Organic 製をそれぞれ用いた。内部標準物質として用いたブチルヒドロキソトルエン（BHT）-d₂₄ は C/D/N Isotopes 製を用いた。酢酸エチル、ジエチルエーテルおよびヘキサンは関東化学製の残留農薬分析用を用いた。

B3. 刺激性評価とその原因物質の分析

家庭用スプレー製品の刺激性評価には No1~20 までの試料を用いた。細胞毒性試験は第十六改正日本薬局方 7.02 プラスチック製医薬品容器試験法²⁵⁾に準じた。すなわち、24 マルチウェルプレートの各ウェルに培地 1 mL に懸濁させた 50 個の V79 細胞を播種し、プレートを 37℃の CO₂ インキュベーター内で 24 時間静置し、細胞をウェル底面に接着させた。その後、培地を捨て、あらかじめ所定の濃度に試料を希釈した培地 1 mL をウェルに加えた (n=4)。このプレートを CO₂ インキュベーター内で 5 日間培養した後に、PBS で細胞を洗浄しメタノールを用いて細胞を固定してから、ギムザ染色液を用いて

コロニーを染色した。ウェル内に形成したコロニー数を数え、培地のみで培養した対照群のコロニー数に対する割合を求め、コロニー形成率 (%) を算出した。

始めに、予備試験として全試料を 1% となるように培地で希釈した試料を用いて、試料の刺激性についてスクリーニング試験を行った。次に、スクリーニング試験でコロニー形成率が 50% を下回った試料について、各試料濃度を 5 段階に調製して容量反応性の確認とコロニー形成率が 50% となる濃度 (IC₅₀) を求めた。また、No.1 および No.19 は香りの異なる種類の製品が販売されていることから、No.1 は 5 種類、No.19 は 4 種類の香りの異なる製品間での細胞毒性も検討した。

製品表示および刺激性物質の分析により、ベンゾイソチアゾリノン、非イオン界面活性剤および陽イオン界面活性剤が刺激性物質として考えられた事から、それらについて、単独あるいは共存下での細胞毒性試験を実施した。その際、非イオン界面活性剤ではポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテルを、陽イオン界面活性剤ではジヘキサデシルジメチルアンモニウムをそれぞれの代表化合物として試験に供試した。各化合物は DMSO に溶解させた後、水で適当な濃度に希釈し、細胞毒性試験を行った。

家庭用スプレー製品中に含まれる刺激性物質については、細胞毒性が他の試料に比べて強かった、No.1 および No.19 を主対象として検討を行った。製品表示や製造元のホームページ等に掲載されている情報から、防腐剤、非イオン界面活性剤および陽イオン界面活性剤を対象を絞

った。

始めに、No.19 には防腐剤であるベンゾイソチアゾリノンが使用成分として表示されていたことから、HPLC/PDA を用いて定量した。試料をメタノールで 10 倍に希釈した後、孔径 0.20 μm の PTFE フィルター (ADVANTEC) でろ過し、試料溶液とした。試料溶液中のベンゾイソチアゾリノンは、LC-6AD ポンプ (2 台)、SIL-20A オートサンプラー、SPD-M20A フォトダイオードアレイ検出器、CTO-10A カラムオープンで構成された Shimadzu 製の HPLC システムで測定した。カラムには Inertsil[®]ODS-4 (粒子径 5 μm 、長さ 250 mm、内径 4.6 mm: GL Science) を、移動相には A 液 (水)、B 液 (アセトニトリル) を用い、グラジエントは B 液 25% (4 分保持) \rightarrow B 液 70% (21 分リニアグラジエント) \rightarrow B 液 90% (3 分リニアグラジエント) \rightarrow B 液 90% (16 分保持) とした。流速は 1.3 ml/分、カラムオープン温度は 40 $^{\circ}\text{C}$ 、注入量は 25 μL 、測定波長は $\lambda = 226 \text{ nm}$ とした。

各試料中の非イオン界面活性剤総量は ELISA 法を用いて測定した。試料をメタノールにて適当な濃度に希釈した後、ELISA キットに添付された方法に従い分析を行った (定量範囲: 3~150 $\mu\text{g/L}$)。

陽イオン界面活性剤総量については、No1 について JIS K0102:2013 オレンジ II 吸光光度法²⁶⁾に準じ分析した。始めに、分液漏斗に、試料 50 mL、50%メタノール 25 mL、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液 (pH3.5) 5 mL、塩化ナトリウム 0.75 g、オレンジ II 水溶液 5 mL を加えて振り混ぜた。次に、クロロホルム 5 mL 加え、3 分間振とうした後、クロロホルム層を分

取した。もう一度クロロホルム抽出した後、クロロホルム層を合わせ 10 mL に定容した。次に、無水硫酸ナトリウムでクロロホルムを脱水した後、クロロホルム溶液を波長 485 nm の吸光度を島津製作所製の紫外可視分光光度計 UV-160A で測定した。試料溶液は水で適当な濃度まで希釈し、標準品にはテトラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリドを用いた。

試料溶液中の非イオン界面活性剤および陽イオン界面活性剤の同定のため、高分解能質量分析計 (HRMS) を用いた分析を行った。HRMS は LTQ Orbitrap (Thermo Fisher Scientific 製) を用い、infusion 法で試料を導入した。イオン化法はエレクトロスプレー法 (ESI) でポジティブモードにて測定した。流速は 0.2 $\mu\text{L}/\text{分}$ 、スプレー電圧は 1.5 kV、キャピラリー温度は 200 $^{\circ}\text{C}$ 、分解能は 10 万に設定した。測定時はポリチロシン三量体由来のイオンをロックマス用とした ($m/z=508.20783$)。データ解析は Xcalibur ver.2.1/Qual Browser で行った。試料は 0.1%ギ酸水溶液で 100 倍に希釈した後、アセトニトリルと 1/1 (v/v) の割合で混合したものをを用いた。

B4. 環状ポリジメチルシロキサン分析

No.1~22 までの試料を測定対象とした。始めに、試料 0.5 g をねじ口ガラス試験管に量り採り、塩化ナトリウム 0.15 g およびサロゲート物質として M4Q を 1 μg 添加した。次に、ジエチルエーテル/酢酸エチル=1/1 (v/v) 溶液 2 mL を加え、15 分間振とうした。その後、3000 rpm で 5 分間遠心した後、上清を分取した。この抽出操作をもう一度行い、得られた上清を

合わせ、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水した。そして、ジエチルエーテル/酢酸エチル=1/1 (v/v) を用いて 10 mL に定容した。この試料溶液から 1 mL 分取し、内部標準物質として BHT-d₂₄ を 2 µg/mL 含むヘキサン溶液を 50 µL 加えた後、GC/MS にて分析した。また、分析中の環状ポリジメチルシロキサン汚染の影響を評価するため、試料の代わりに水を用いた操作ブランクも測定した (n=3)。

分析には Thermo Fisher Scientific 製の Focus GC/DSQ II を用い、キャピラリーカラムは VF-5ms (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 µm : Agilent 製) を用いた。キャリアーガスには He を用い、流量は 1 ml/min に設定した。注入口、トランスファーラインおよびイオンソース温度はそれぞれ 250、280 および 250°C に設定し、スプリットレスモードで試料溶液 1 µl を注入した。カラムオープン温度プログラムは、初期温度 40°C で 3 分間保持した後、310°C まで 20°C/min で昇温させ、310°C で 8 分間保持した。イオン化法は Electron Ionization (EI) 法、イオン化電圧は 70 eV とした。測定は Selected Ion Monitoring (SIM) モードにて行った。なお、M4Q をサロゲート物質として用いているが、その分析値は抽出効率の評価にのみ使用し、実際の各化合物の定量は BHT-d₂₄ を用いて行った。各測定対象化合物の保持時間、定量および定性イオン等については表 2 に記した。

C. 結果および考察

C1. スプレー製品の細胞毒性試験

各製品を 1% の濃度でスクリーニング

として細胞毒性試験を行った結果を図 4 および表 3 に示した。その結果、試料 1% 濃度ではコロニーが形成されない、または数%程度のコロニー形成率となり、細胞毒性を示した試料と、コロニー形成率が 70% 以上で、細胞毒性を示さない試料とに二分された。この結果を製品の用途から検討すると、細胞毒性が認められなかった製品には、No.10 を除きリネンウォーターが大半を占め、細胞毒性が認められた製品は、室内(空間)芳香剤やアイロン用剤であった。

次に、スクリーニング試験でコロニー形成率が 50% 以下となった試料について、試料を段階的に希釈し容量反応性を観察した結果を図 5 に示した (No.16 除く)。また、各試料の IC₅₀ 値を表 3 に示した。各試料ともに、容量依存的に細胞毒性を示し、試験対象とした試料のほとんどは、IC₅₀ 値が 10⁻¹ (%) レベルであったが、No.1 および No.19 は IC₅₀ 値が 4.2×10⁻² (%) および 8.4×10⁻³ (%) と他の試料に比べて低く、より強い細胞毒性が認められた。また、No.1 および No.19 について、香りの異なる製品が販売されていることから、それらについても細胞毒性試験を行った。その結果、No.1 では 5 種類で IC₅₀ は 4.1~4.5×10⁻² (%)、No.19 では 4 種類で 7.6~8.4×10⁻³ (%) と、香りの異なる製品間で細胞毒性に差は認められなかった。そのため、これらの製品中に含まれる香料の細胞毒性への寄与は低いものと考えられた。

以上の様に、家庭用スプレー製品の中には細胞毒性を示す、すなわち刺激性を示す製品があり、その強さにも幅があることが明らかとなった。

C2.スプレー製品中細胞毒性物質の分析

細胞毒性試験より No.1 および No.19 は他に比べて強い細胞毒性を示すことが明らかとなった。そこで、これら 2 製品を主対象として、その細胞毒性を示す要因物質の検討を行った。

始めに、No.19 には防腐剤であるベンゾイソチアゾリノンの使用が製品に表示されていたことから、その濃度を HPLC/PDA にて測定したところ、56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。ベンゾイソチアゾリノンの最少発育阻止濃度 (MIC) は細菌・真菌類で 5~49 ppm²⁷⁾ とされており、検出された濃度はその点から妥当な濃度であった。

次に、全試料中の非イオン界面活性剤としてポリオキシエチレンアルキルエーテルについて、ELISA 法を用いてその濃度を測定した。その際、中性洗剤等で洗浄したガラス製器具では、使用前に有機溶媒洗浄や 250°C で 12 時間焼成しても、操作ブランクのバックグラウンド値が定量範囲半ばから低下しなかった。一方、ポリスチレン製のチューブやシリコナイズされたチップを用いたところ改善した。No.4 を除く全ての製品から定量下限値以上で AE が検出され、その濃度範囲は $5.2 \times 10^{-1} \sim 5.6 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった (表 3)。各試料の細胞毒性強度と AE 濃度とを比較すると、細胞毒性が他に比べて強かった No.1 および No.19 では AE 濃度も他の試料に比べて高い値となった。特に、No.19 では $5.6 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{mL}$ と非常に高濃度であった。一方で、IC₅₀ 値が 10⁻¹ (%) レベルもしくは試料濃度 1% でコロニー形成率が 70% 以上であった試料では、AE 濃

度と毒性との間に関連性は認められなかった。そのため、AE は細胞毒性に寄与しているものの、それ以外の物質の影響が大きい可能性が示唆された。

No.1 について、JIS K0102:2003 オレンジ II 吸光光度法に従い、陽イオン界面活性剤濃度を測定したところ、テトラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド換算値として $5.0 \times 10^3 \mu\text{g}/\text{mL}$ 検出された。

さらに、No.1 について HRMS を用いて、含有されている非イオン性界面活性剤および陽イオン界面活性剤の同定を試みた。No.1 の希釈溶液の HRMS 測定から得られたマススペクトルを図 6a に示した。測定の結果、単一のピークとして①および④、化合物群として②および③のピークが認められた。①は $m/z=326.37854$ であり、組成式 C₂₂H₂₈N の理論値 $m/z=326.37813$ との差は +0.41 mmu であった。No.1 に陽イオン界面活性剤が高濃度で含有されていることから、この化合物は図 7 に示した陽イオン界面活性剤である第 4 級アンモニウムのジデシルジメチルアンモニウムの可能性が示唆された。ジデシルジメチルアンモニウムは陽イオン界面活性剤であるだけでなく消毒剤としても使用されており²⁸⁾、鳥インフルエンザの防除にも使用されている²⁹⁾。そのため、No.1 の成分表示に記載された除菌剤は、ジデシルジメチルアンモニウムを対象としていると考えられた。

また、②に示したピークは最も強度が強いもので $m/z=649.44967$ であり、図 7 に示した非イオン界面活性剤であるポリオキシエチレン (10) ラウリルエーテル

の Na 付加体である $C_{32}H_{66}O_{11}Na$ (理論値: 649.44973、-0.06 mmu) と推定された。この種類の界面活性剤は、エチレンオキシド鎖の数が異なる化合物群として使用されており、図 6a には $C_{32}H_{66}O_{11}Na$ を中心にエチレンオキシド鎖の数が 1 つずつ異なる、すなわち質量電荷比が 44 ずつ異なるポリオキシエチレンラウリルエーテル由来のイオンが確認できた (エチレンオキシド鎖の数が 4~13 程度)。また、③で示した個所にも質量電荷比が 44 ずつ異なる化合物群の存在が確認できた。そのうち、 $m/z=709.44961$ について組成推定したところ、 $C_{37}H_{66}O_{11}Na$ (理論値: 709.44973、-0.12 mmu) と推定された。こちらの化合物群については、これ以上の推定はできなかった。ピーク④ ($m/z=186.22168$) については、図 6b に示したピーク④をプリカーサーイオンとして MS^2 分析した際のプロダクトイオン ($m/z=186.22170$) とほぼ一致 (-0.02 mmu) しており、infusion 分析時にイオン化部で熱分解等により生成した可能性が考えられた。

C3. 家庭用スプレー製品の細胞毒性と製品中の化学物質との関連

細胞毒性の要因と考えられる物質の分析より、製品中の防腐剤であるベンゾイソチアゾリノン、非イオン界面活性剤および陽イオン界面活性剤の存在とその濃度が明らかとなった。そこで、各物質を製品中濃度と同じ濃度で単独、または共存させた溶液を調製し、試料と同様に細胞毒性試験に供試した。ただし、非イオン界面活性剤についてはポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル、陽イオン

界面活性剤についてはジヘキサデシルジメチルアンモニウムブロミドを細胞毒性試験に用いた。それらの結果を図 8 に示した。

No.1 について、陽イオン界面活性剤のみで調製した溶液は、実際の試料溶液よりも弱いものの細胞毒性が認められた。一方、非イオン界面活性剤のみで調製した溶液は、試験濃度範囲で細胞毒性は認められなかった。また、陽イオン界面活性剤および非イオン界面活性剤を共存させた溶液では、陽イオン界面活性剤のみとほぼ同じ細胞毒性を示した。

No.19 については、非イオン界面活性剤およびベンゾイソチアゾリノンのみで調製した溶液について、同程度の細胞毒性が認められた。さらに、両者を混合した溶液ではそれらに比べて細胞毒性が増強することが認められたが、実際の試料溶液よりは細胞毒性は弱かった。

今回、細胞毒性試験には試料中に存在を確認したポリオキシエチレンラウリルエーテル (エチレンオキシド鎖が 4~13 程度) よりもエチレンオキシドの付加量の多いポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテルを使用した。非イオン界面活性剤についてはエチレンオキシド鎖の付加モル量が 10 以下で抗菌作用が認められることが報告されている³⁰⁾。そのため、実際の試料から検出されたエチレンオキシド鎖の付加量が 4~14 程度のポリオキシエチレンラウリルエーテルを用いて細胞毒性試験を実施すると、より実試料に近い結果となるものと考えられる。

陽イオン界面活性剤は、非イオン界面活性剤および陰イオン界面活性剤に比べ

て殺菌作用が強いことが知られている³¹⁾。今回、細胞毒性試験に使用した陽イオン界面活性剤は実際に検出されたものより、アルキル鎖が長く、分子量の大きいものを使用しており、実試料との細胞毒性の差異に、その影響もあると思われる。陽イオン界面活性剤と非イオン界面活性剤とを共存させた溶液では、陽イオン界面活性剤のみと、その細胞毒性はほとんど変わらなかった。これは、非イオン界面活性剤濃度が低いためだけではなく、試験時に不溶物が生じており、その影響も考えられた。非イオン界面活性剤とベンゾイソチアゾリノンとを共存させた溶液では、それぞれ単独よりも細胞毒性が強くなっていたが、その要因として非イオン界面活性剤の乳化・可溶化作用³¹⁾がベンゾイソチアゾリノンの細胞毒性を増強していると考えられた。

以上の検討から、家庭用スプレー製品の刺激性には、界面活性剤、特に陽イオン界面活性剤の影響が大きいと考えられた。ただし、実際の試料の細胞毒性は、各化合物単独よりも強いことから、今回検討した以外の細胞毒性を示す刺激性物質が存在する可能性や、それらが界面活性剤等と相加・相乗的に寄与している可能性が考えられた。

C3. 家庭用スプレー製品中の環状ポリジメチルシロキサン類

家庭用スプレー製品中の環状ポリジメチルシロキサン類の分析に際して、始めに抽出溶媒の検討を行った。ヘキサシロキサン、ジエチルエーテルおよびジエチルエーテル/酢酸エチル=1/1 (v/v) の3種類の溶媒

について、試料の代わりに水を用いて添加回収試験を行ったところ、どの溶媒でも良好な結果が得られた(データ未掲載)。一方、実際の試料では、エマルジョンが生じ抽出溶媒と試料溶液とが分離しない場合や、全体がゲル化する場合が認められた。そのため、塩化ナトリウムを用いた塩析を行ったところ、改善が認められた。また、塩析を行い、抽出溶媒をジエチルエーテル/酢酸エチル=1/1 (v/v) とすると、どの試料でも溶媒と試料との分離が可能であった。そこで、塩析を行い、抽出溶媒にはジエチルエーテル/酢酸エチル=1/1 (v/v) を用いる事とした。図9に環状ポリジメチルシロキサン標準溶液のトータルイオンクロマトグラムを示した。

実試料に各化合物を1 µg/g(低濃度)および20 µg/g(高濃度)となるよう添加して、分析操作における回収率を測定した(n=4)。その結果、D₄は低濃度で130%とやや高く、高濃度で67%とやや低い結果となったが、それ以外の化合物は83~98%と良好な回収率が得られた(表2)。また、各分析における変動係数は5.9%以下と良好であった。また、検出下限値(LOD)については、JIS K0123 ガスクロマトグラフ質量分析通則³²⁾によると低濃度試料の分析値の標準偏差 ρ および検量線の傾き a、および内部標準物質との相対感度 r より、「LOD=3.3×ρ/ar」と定義されている。また、一般にMQLは標準偏差 ρ の10倍とされている³³⁾ことから、それらに従ってLOD およびLOQを算出した結果、LOD およびLOQは0.0016~0.017 µg/g および0.21~0.77 µg/gであった(表2)。操作ブランクでは各化合物はLOD以上で検

出されたが、全て LOQ 以下であった。操作ブランクのトータルイオンクロマトグラムおよび各化合物の定量用イオンによるマスクロマトグラムを図 10 に示した。

家庭用スプレー22 製品について、環状ポリジメチルシロキサン類を分析した結果を表 4 に示した。実試料分析時の M4Q 回収率は 20~81%とばらついており、全体的に低い傾向を示した。そのため、環状ポリジメチルシロキサン類の濃度や検出頻度は、全体としてやや低く見積もっている可能性が考えられ、さらなる分析法の改善が必要と思われる。環状ポリジメチルシロキサン類は、No.14、18 および 21 の 3 製品からのみ、LOD 以上で検出された。特に、No.14 は D₄、D₅ および D₆ ともに LOQ 以上で検出された。No.14 のトータルイオンクロマトグラムおよび各化合物の定量用イオンによるマスクロマトグラムを図 11 に示した。環状ポリジメチルシロキサン類が検出されたこれらの製品は、アイロン仕上げ剤や室内清浄用の製品であり、いずれも製品の成分表示にシリコンもしくはポリシロキサン誘導体と記載されていた。No.21 は室内清浄用製品であるが、製品の表示に使用時に 6 回スプレーする、との記載があった。そこで、6 回スプレーする際に放出される溶液量を測定したところ 4.75 g (n=4、0.79 g/回) となった。そのため、No.21 を一度 (6 回スプレー) すると、D₅ および D₆ が 4.7 および 12.8 μg 室内に放出されると見積もられた。その他の 2 製品は、アイロン使用時に用いるスプレーではあるが、No.21 と同様にスプレーした際の放出量を測定した (n=4) ところ、No.14 では 0.77 g/回と

なり、D₄、D₅ および D₆ の放出量は 2.9、3.1 および 0.85 μg/回と見積もられた。

一方、化粧品や制汗剤および防臭剤のようなパーソナルケア製品では、数百から数千 μg/g、もしくはそれ以上の濃度で環状ポリジメチルシロキサン類が検出されており²²⁻²⁴⁾、それらに比べると今回調査した家庭用スプレー製品中のポリ環状ジメチルシロキサン類濃度は非常に低かった。ただし、環状ポリジメチルシロキサン類が検出された製品について、GC/MS の Scan 分析 (m/z=50~500) を行ったところ、図 12 に示したように、対象化合物以外のピークが多く認められ、それらの多くが等間隔のピークを示し、環状シロキサンまたは鎖状シロキサンに由来すると推察された。そのため、室内空气中の揮発性/準揮発性有機化合物濃度に対するシロキサン類の寄与に関して、今回対象とした以外の化合物の影響は無視できず、今後もさらなる調査が必要であると考えられた。

D. まとめ

瞬時放散型家庭用品として家庭用スプレー製品を対象として、それらの刺激性およびその要因物質の検討を行った。さらに、室内空気の汚染物質の一つとして、家庭用スプレー製品中の環状ポリジメチルシロキサン分析法の検討と実態調査を行った。細胞毒性試験により、家庭用スプレー20 試料の刺激性を評価したところ、IC₅₀ が 8.4×10^{-3} (%) の試料から 1%濃度では細胞毒性を示さない試料まで、その刺激性強度には幅が認められた。細胞毒性の強かった製品を対象に、その要因物

質を検討したところ、陽イオン界面活性剤および非イオン界面活性剤が考えられた。また、非イオン界面活性剤と防腐剤ベンゾイソチアゾリノンの細胞毒性は互いに共存することで増強していた。そのため、実試料では複数の刺激性物質による相加・相乗効果が生じている可能性が考えられた。環状ポリジメチルシロキサン類は、アイロン用剤および室内清浄用の3製品からD₄~D₆が検出され、その濃度はtr.~4.0 µg/gであった。これらの値は、既報の化粧品やパーソナルケア製品に比べると低い傾向を示したが、試料中には調査対象とした以外の環状ポリジメチルシロキサン類および鎖状シロキサン類と推察されるピークが認められ、今後はそれらを含めた調査が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

G. 引用文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室: 室内濃度指針値一覧,

<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/situnai/hyou.html>

- 2) 国土交通省: 改正建築基準法に基づくシックハウス対策の概要,
<http://www.mlit.go.jp/jutakukentiku/build/sickhouse.files/gaiyou.pdf>
- 3) 東賢一: 国内外における室内空気質汚染の現状と対策, 生活衛生, 54, 116-127, 2010.
- 4) 波多野弥生・今別府文昭・野村奈央・財津佳子・飯塚富士子・遠藤容子・黒木由美子・大橋教良・吉岡敏治: 防水スプレー吸引による健康被害, 中毒研究, 23, 73-78, 2010.
- 5) 黄英文・佐山宏一・松崎圭一・宮崎雅樹・須藤晃彦・千代谷厚・田島敦志・向井万起男: スプレー式家庭用洗浄剤が誘因となった肺胞出血の1例, 日呼吸誌, 1, 62-66, 2012.
- 6) Senthilkumaran S., Meenakshisundaram R., Michaels A.D., Balamurgan N. Thirumalaikolundusubramanian P.: Ventricular fibrillation after exposure to air freshener-death just a breath away, J. Electrocardiol., 45, 164-166, 2012.
- 7) 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室: 家庭用品等に係る健康被害病院モニター報告,
[http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/katei/monitor\(new\).html](http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/katei/monitor(new).html)
- 8) 波多野弥生・三瀬雅史・竹内明子・橘俊宏・黒川友里亜・高野博徳・荒木浩之・黒木由美子・遠藤容子・吉岡俊治: 家庭用品等の吸入、眼への曝露による健康被害 ー厚生労働省「家庭用品等に係

- る健康被害病院モニター報告」より一、
中毒研究, 26, 72-77, 2013.
- 9) Casas L., Zock J.P., Carsin A.E.,
Fernandez-Somoano A., Esplugues A.,
Santa-Marina L., Tardón A., Ballester F.,
Basterrechea M., Sunyer J.: The use of
household cleaning products during
pregnancy and lower respiratory tract
infections and wheezing during early life,
Int. J. Public Health, 58, 757-764, 2013.
- 10) Zock J.P., Plana E., Jarvis D., Antó J.M.,
Kromhout H., Kennedy S.M., Künzli N.,
Villani S., Olivieri M., Torén K., Radon K.,
Sunyer J., Dahlman-Hoglund A., Norbäck
D., Kogevinas M.: The use of household
cleaning sprays and adult asthma: an
international longitudinal study, *Am. J.
Respir. Crit. Care Med.*, 176, 735-741,
2007.
- 11) Mehta A.J., Adam M., Schaffner E.,
Barthélémy J.C., Carballo D., Gaspoz J.M.,
Rochat T., Schindler C., Schwartz J., Zock
J.P., Künzli N., Probst-Hensch N.,
SAPALDIA Team.: Heart rate variability
in association with frequent use of
household sprays and scented products in
SAPALDIA, *Environ. Health Perspect.*,
120, 958-964, 2012.
- 12) Singer B.C., Destailhats H., Hodgson A.T.,
Nazaroff W.W.: Cleaning products and air
fresheners: emissions and resulting
concentrations of glycol ethers and
terpenoids, *Indoor Air*, 16, 179-191, 2006.
- 13) Jo W.K., Lee J.H., Kim M.K.:
Head-space, small chamber and in-vehicle
tests for volatile organic compounds
(VOCs) emitted from air fresheners for
Korean market, *Chemosphere*, 70,
1827-1834, 2008.
- 14) 神野透人・香川(田中)聡子・小濱と
も子・宮川真琴・吉川淳・小松一裕・
徳永裕司: 室内空気中の総揮発性有機
化合物(TVOC)に対する芳香剤・消臭
剤の影響に関する研究, *国立衛研報*,
125, 72-78, 2007.
- 15) Nazaroff W.W., Weschler C.J.: Cleaning
products and air fresheners: exposure to
primary and secondary air pollutants,
Atmos. Environ., 38, 2841-2865, 2004.
- 16) 河村葉子・中島明子・六鹿元雄・山田
隆・米谷民雄: 食品用シリコーンゴム製
品中の残存化学物質, *食衛誌*, 42,
316-321, 2001.
- 17) Lieberman M.W., Lykissa E.D., Barrios
R., Ou C.N., Kala G., Kala S.V.:
Cyclosiloxanes produce fatal liver and
lung damage in mice, *Environ. Health
Perspect.*, 107, 161-165, 1999.
- 18) Klykken P.C., Galbraith T.W., Kolesar
G.B., Jean P.A., Woolhiser M.R., Elwell
M.R., Burns-Naas L.A., Mast R.W.,
McCay J.A., White K.L. Jr, Munson A.E.:
Toxicology and humoral immunity
assessment of
octamethylcyclotetrasiloxane (D₄)
following a 28-day whole body vapor
inhalation exposure in Fischer 344 rats,
Drug. Chem. Toxicol., 22, 655-677, 1999.
- 19) Siddiqui W.H., Stump D.G, Plotzke K.P.,
Holson J.F, Meeks R.G, A two-generation
reproductive toxicity study of
octamethylcyclotetrasiloxane (D₄) in rats

- exposed by whole-body vapor inhalation, *Reprod. Toxicol.*, 23, 202-215, 2007.
- 20) Siddiqui W.H., Stump D.G., Reynolds V.L., Plotzke K.P., Holson J.F., Meeks R.G.: A two-generation reproductive toxicity study of decamethylcyclopentasiloxane (D₅) in rats exposed by whole-body vapor inhalation, *Reprod. Toxicol.*, 23, 216-225, 2007.
- 21) Quinn A.L., Regan J.M., Tobin J.M., Marinik B.J., McMahan J.M., McNett D.A., Sushynski C.M., Crofoot S.D., Jean P.A., Plotzke K.P.: In vitro and in vivo evaluation of the estrogenic, androgenic, and progestagenic potential of two cyclic siloxanes, *Toxicol. Sci.*, 96, 145-153, 2007.
- 22) Horii Y., Kannan K.: Survey of organosiloxane compounds, including cyclic and linear siloxanes, in personal-care and household products, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 55, 701-710, 2008.
- 23) Wang R., Moody R.P., Koniecki D., Zhu J.: Low molecular weight cyclic volatile methylsiloxanes in cosmetic products sold in Canada: Implication for dermal exposure, *Environ. Int.*, 35, 900-904, 2009.
- 24) Dudzina T., von Goetz N., Bogdal C., Biesterbos J.W., Hungerbühler K.: Concentrations of cyclic volatile methylsiloxanes in European cosmetics and personal care products: prerequisite for human and environmental exposure assessment, *Environ. Int.*, 62, 86-94, 2014.
- 25) 第十六改正日本薬局方: 7.02 プラスチック製医薬品容器試験法
- 26) JIS K0102:2013 オレンジⅡ吸光光度法
- 27) The Dow Chemical Company, KORAKONE™ B-119, http://www.dow.com/assets/attachments/business/biocides/koralone/koralone_b-119/tds/koralone_b-119.pdf
- 28) 動物医薬品協同組合: 動物医薬品副作用等情報集 成分名: 塩化デシルジメチルアンモニウム, <http://www.nval.go.jp/vet-cop/sub4/ammونیウム.htm>
- 29) 剣持堅志・浦山豊弘・吉岡敏行・中桐基晴・藤原博一: 環境中微量有害化学物質の分析、検索技術の開発に関する研究 -LC/MS/MS を用いた陽イオン界面活性剤の分析法-, 岡山県環境研年報, 32, 35-46, 2008.
- 30) 石関忠一: 非イオンおよびアニオン系界面活性剤の抗菌性に関する研究, 衛研試報, 88, 75-78, 1970.
- 31) 山内仁史・佐久間信至: 第3編 界面活性剤による機能創製と基本技術 第5章 医療・食品における殺菌・消毒及び静菌, 最新・界面活性剤の機能創製・素材開発・応用技術 (堀内照夫・鈴木敏幸 編), エヌ・ティー・エス, pp.204-210., 2005.
- 32) JIS K0123 ガスクロマトグラフ質量分析通則
- 33) 中村宗知: 機器分離・分析における精度管理、有機化学物質の機器分析法 - 農薬と化学物質- (小林裕子・中村幸二 編), ソフトサイエンス社, pp.66-83, 2008.

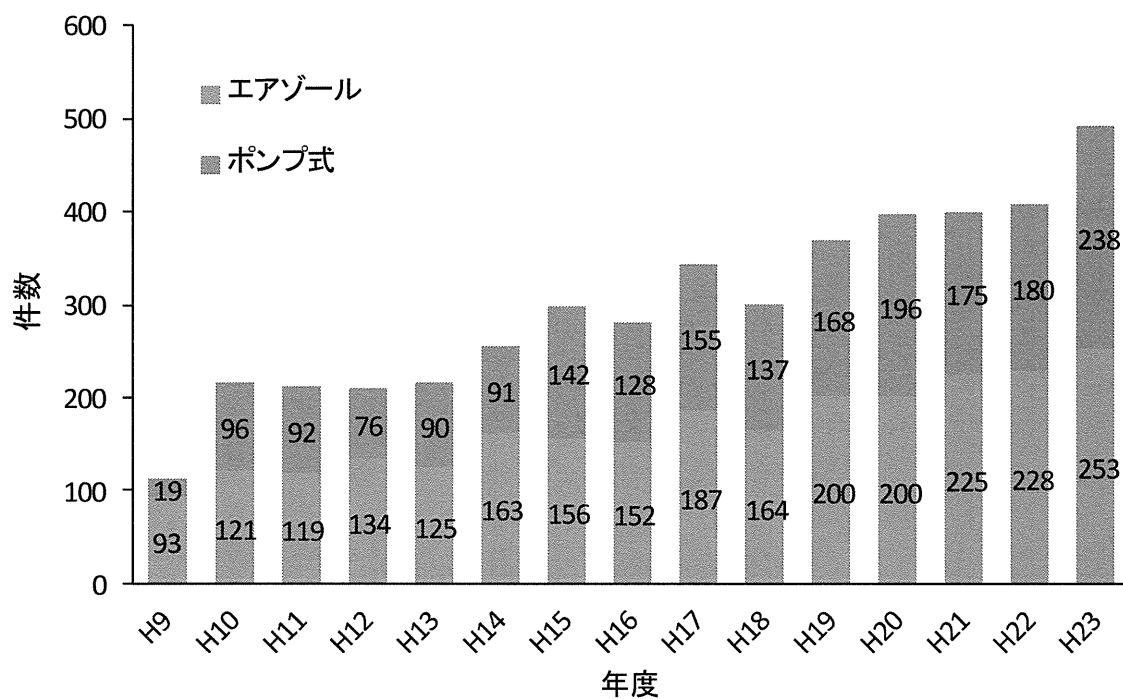


図1. 家庭用スプレー製品による健康被害報告件数の推移⁷⁾

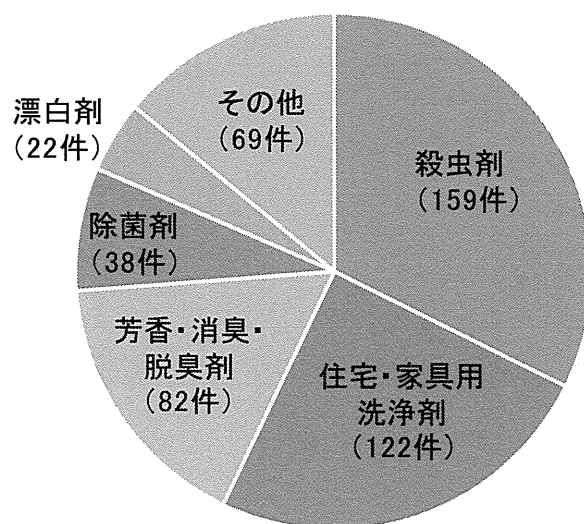


図2. 平成23年度における家庭用スプレー製品の用途別健康被害報告件数⁷⁾