

図1 TVOC Monitorで測定した室内TVOC濃度の瞬時変動 (1/2)

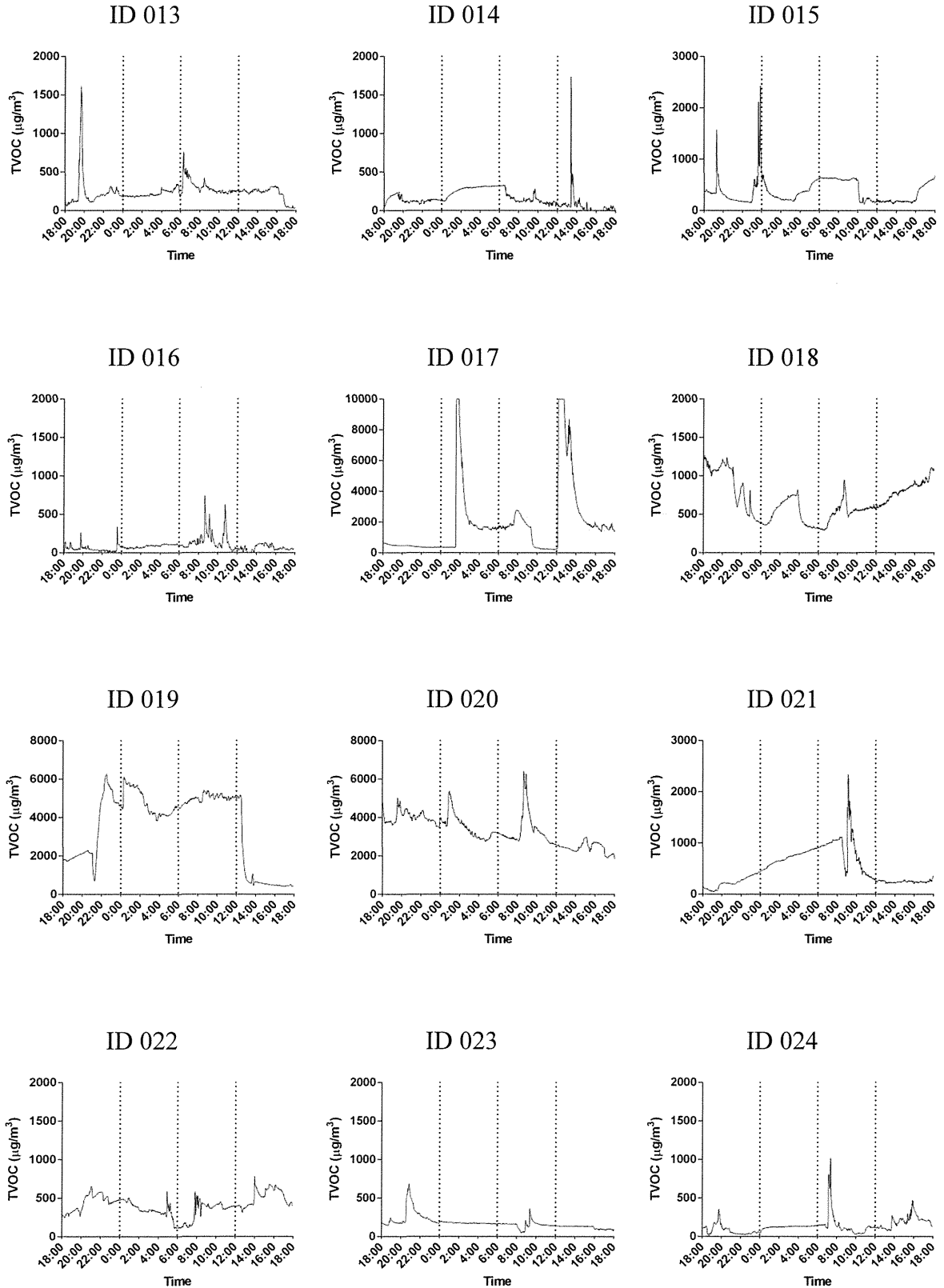


図1 TVOC Monitor で測定した室内 TVOC 濃度の瞬時変動 (2/2)

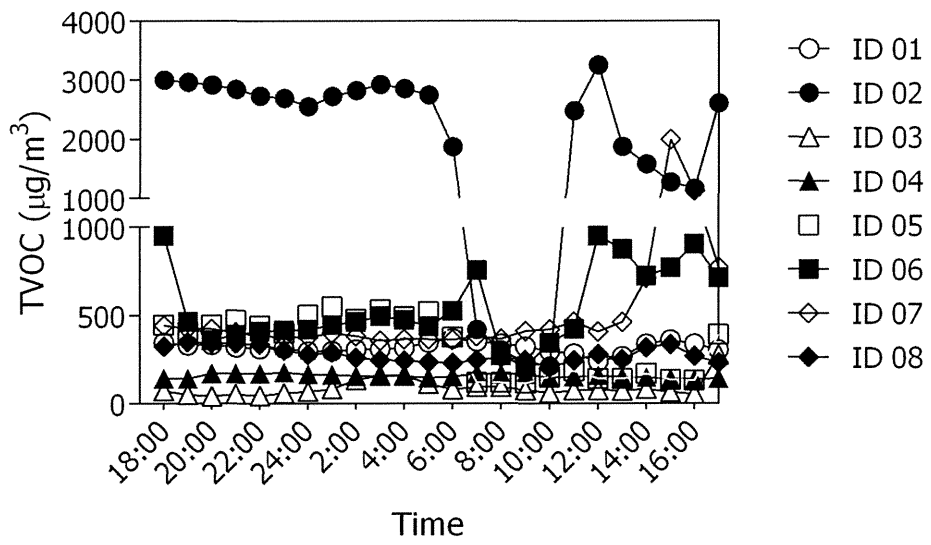
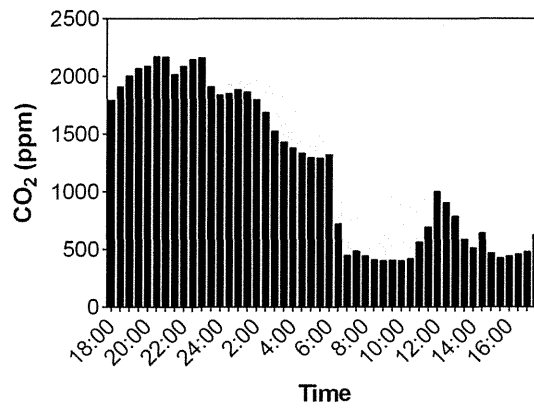
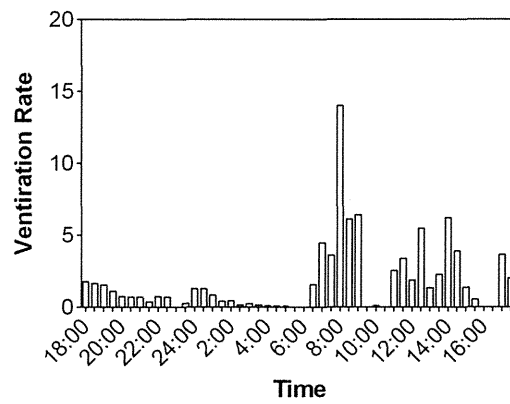


図2 室内 TVOC 濃度の日内変動

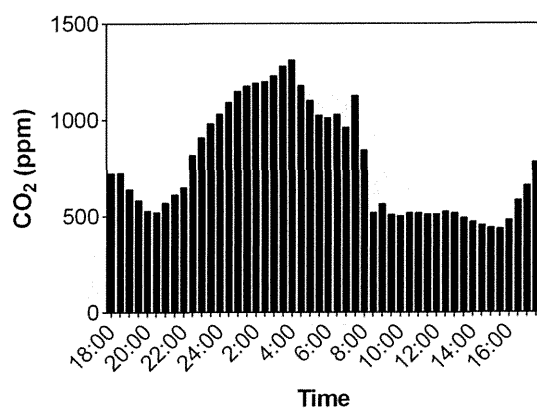
ID 02



ID 02



ID 06



ID 06

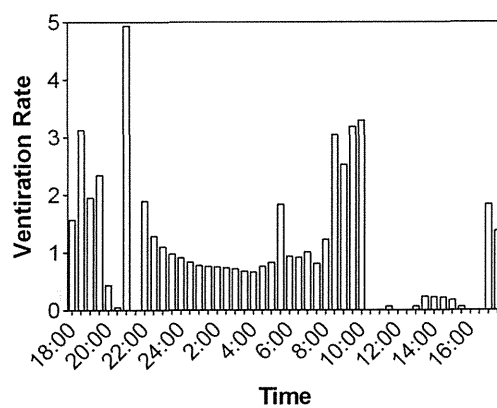
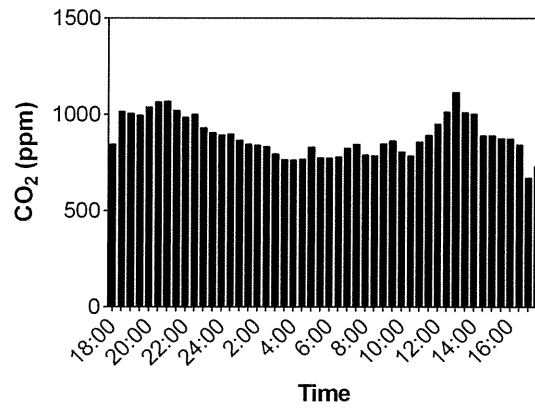


図4 空気採取居室内の換気回数 (ID 06)

ID 07



ID 07

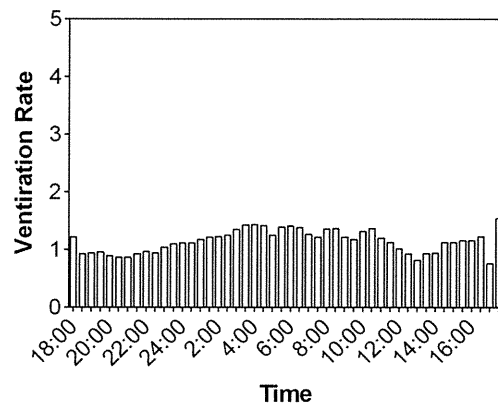


図 5 空気採取居室内の換気回数 (ID 07)

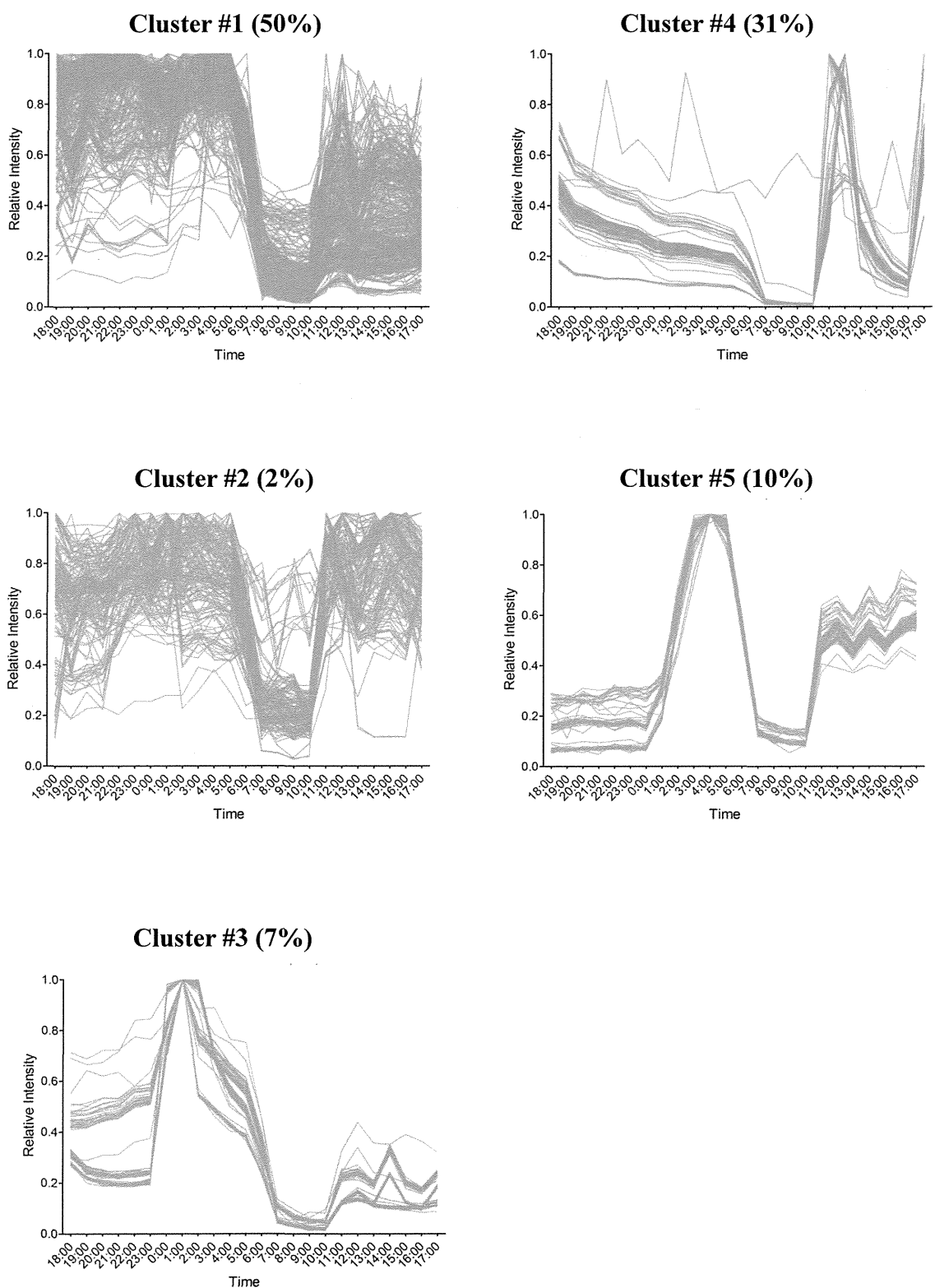


図 6 室内空気 TVOC 構成成分のクラスター解析結果 (Case-1, ID 02)

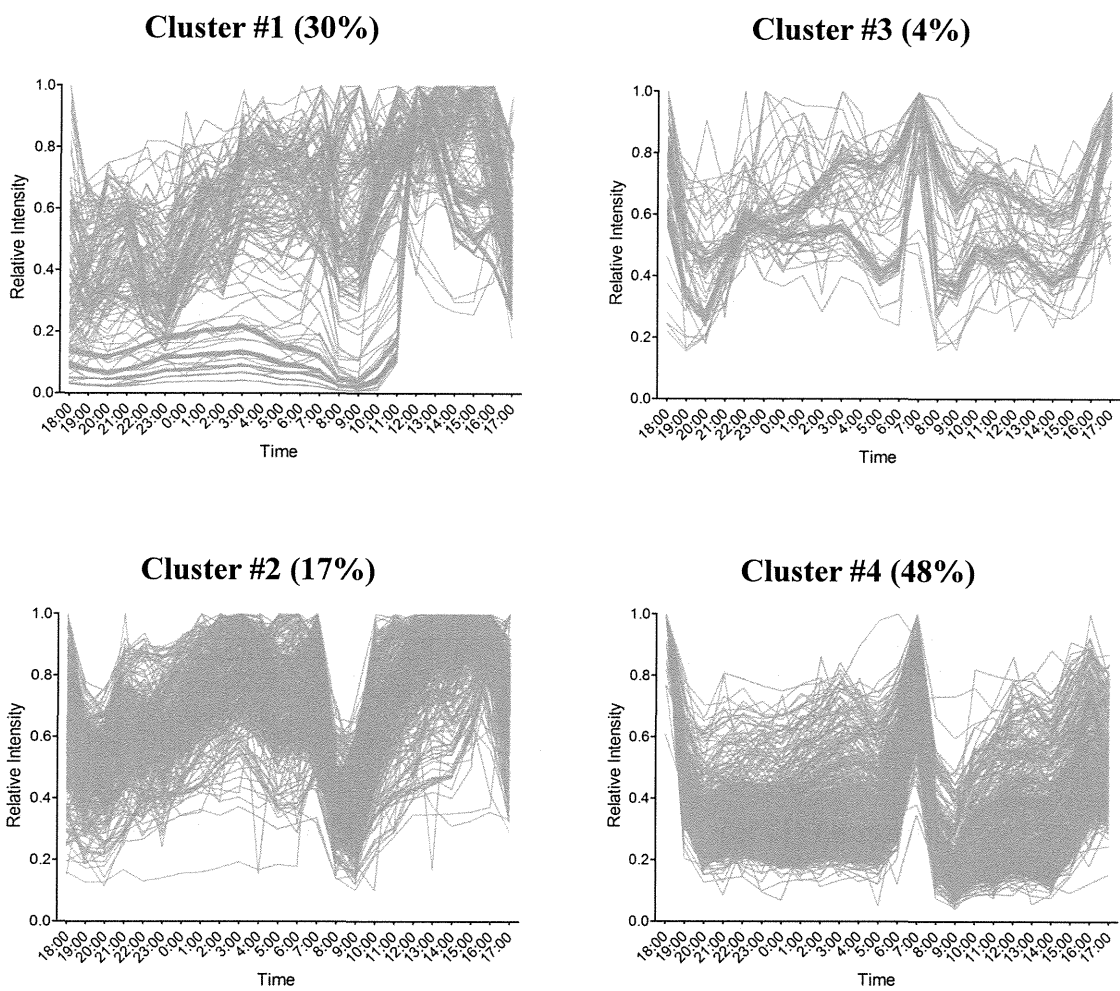


図7 室内空気 TVOC 構成成分のクラスター解析結果 (Case-2, ID 06)

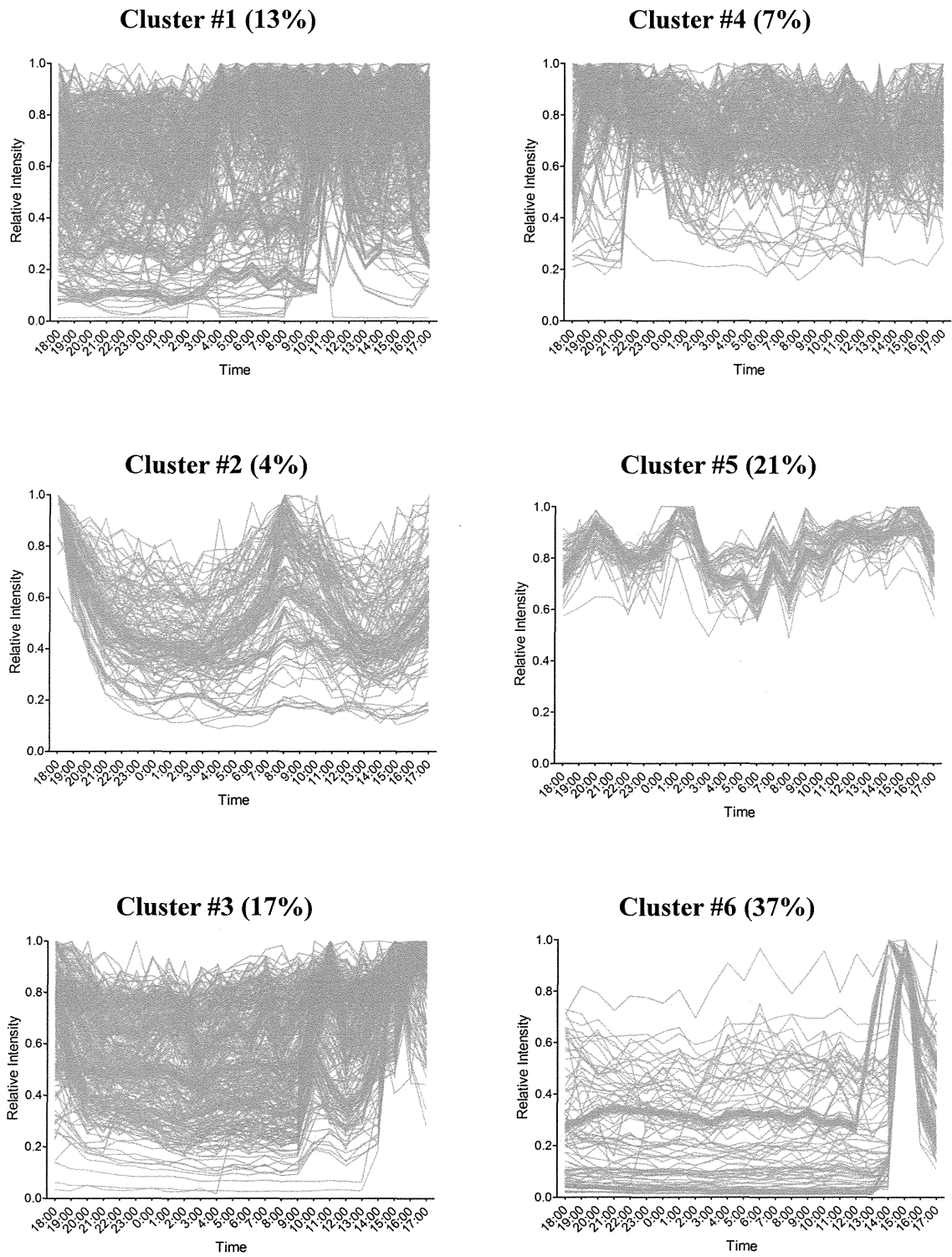


図 8 室内空気 TVOC 構成成分のクラスター解析結果 (Case-3, ID 07)

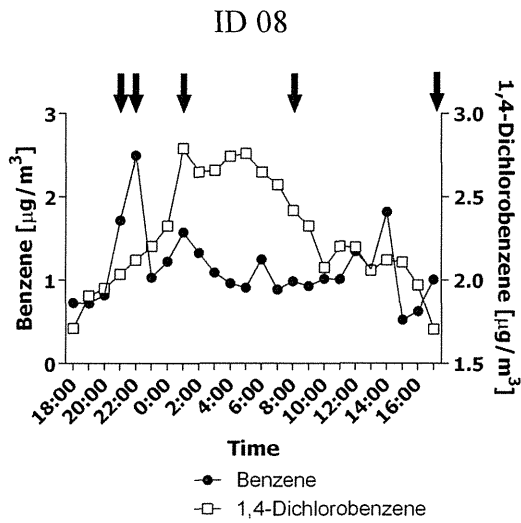
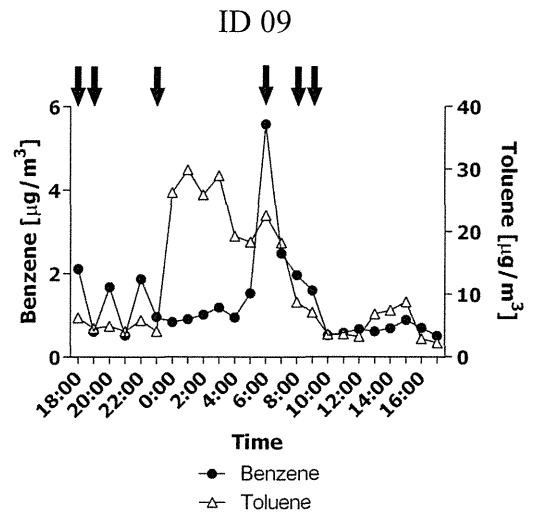
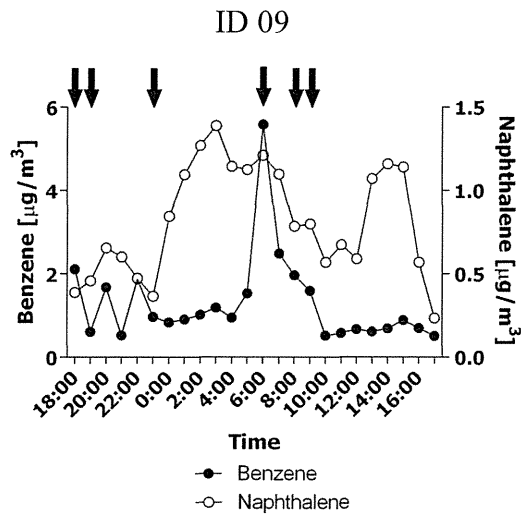


図9 室内空气中ベンゼン濃度の日内変動 —喫煙行為による影響—
 →：喫煙のタイミング

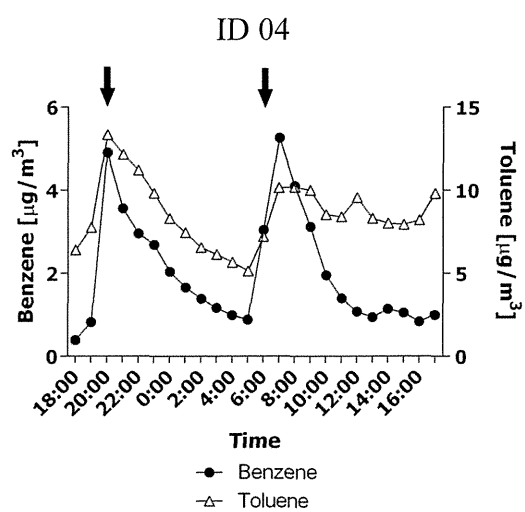
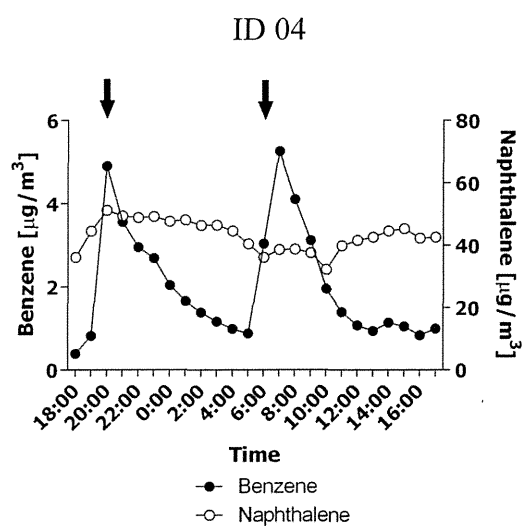
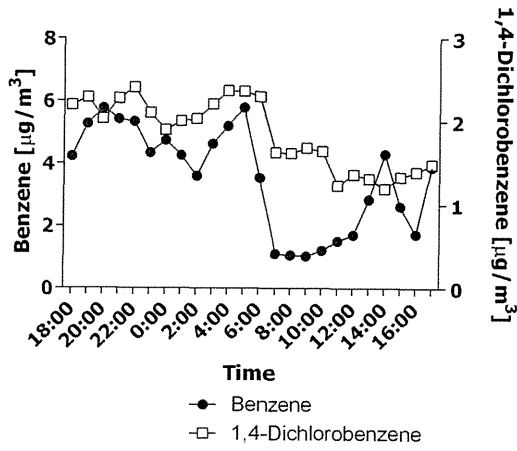
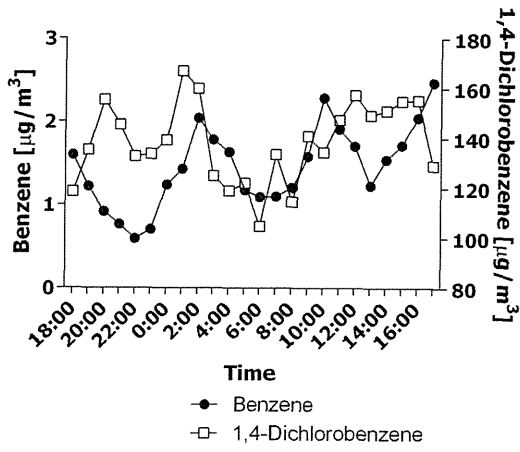


図 10 室内空气中ベンゼン濃度の日内変動 —線香焼香による影響—
 →：線香焼香のタイミング

ID 05



ID 07



ID 07

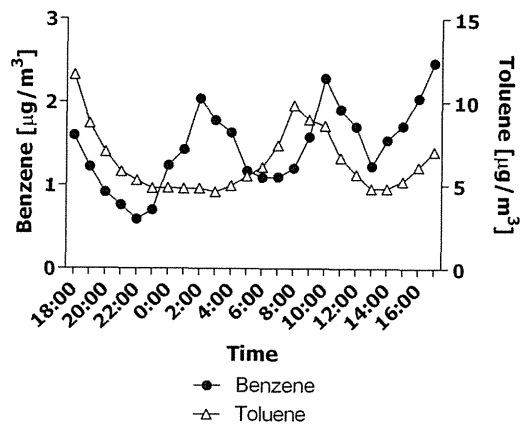


図 11 室内空气中ベンゼン濃度の日内変動

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 総合研究報告書

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ハンドポンプ式家庭用水性スプレー製品を対象とし、以下の3点について研究した。

① 細胞毒性試験による刺激性評価とその原因物質の探索

細胞毒性試験にて家庭用スプレー20製品の刺激性強度を評価した結果、 IC_{50} が 8.4×10^{-3} (%) から1%濃度で細胞毒性を示さない試料まで幅が認められた。また、強い細胞毒性を示した製品の原因物質として、didecyldimethyl ammonium 及びポリオキシエチレンラウリルエーテル (EO 鎖が4~13程度) が考えられた。さらに、非イオン界面活性剤とBITとの共存による細胞毒性の増強が確認された。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。

② 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

家庭用スプレー中の環状ポリジメチルシロキサン分析法を開発し22製品を分析した。アイロン用仕上げ剤及び室内清浄用スプレーの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。

② グリコール類及びグリコールエーテル類の分析法の検討と実態調査

グリコール類及びグリコールエーテル類の分析法を検討し、グラファイトカーボンによる固相抽出で良好な回収率と再現性が得られた。この方法にて、54製品を測定したところ、8種類の化合物が検出された。検出頻度はDPGが最も多く、44製品から検出され ($1.1 \sim 1.8 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$)、次いでPGが22製品 ($1.5 \sim 2.9 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$)、DGMEEが15製品 ($tr \sim 1.9 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$)、DEGが9製品 ($1.0 \times 10^1 \sim 2.4 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$)、13BG及び2E1Hがそれぞれ5製品 ($tr \sim 7.4 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$ 及び $3.2 \times 10^{-1} \sim 4.4 \mu\text{g/mL}$)、DGMBEが4製品 ($2.1 \sim 7.1 \mu\text{g/mL}$) 及び3-methoxy-3-methylbutanol (MMB) が2製品 ($2.4 \sim 4.7 \times 10^2 \mu\text{g/mL}$) から検出された。PG、DGMEE、13BG、2E1H及びMMBは、室内空気汚染全国調査で $10^{-2} \sim 10^{-1} \text{ mg/m}^3$ の濃度レベルで検出が報告されている。そこで、DGMBEを除く各化合物が最も高濃度で検出された試料を使用した際の、平均室内空气中濃度を推定した。その結果、2E1Hを除く6種類の化合物はその濃度レベルが $10^{-2} \sim 1.0 \text{ mg/m}^3$ と算出された。そのため、これらの化合物については芳香剤等の家庭用スプレー製品もその放散源の一つになり得ることが明らかとなった。また、2E1Hについては、製品使用時の平均室内空气中濃度は 10^{-4} mg/m^3 レベルと推定され、ポリ塩化ビニルや塗料等の別の放散源の影響が大きいと考えられた。

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。我が国では、室内空気の安全性について 13 種類の化学物質について室内濃度指針値が策定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だが、建築資材由来と家庭用品由来とに大別される。このうち、建築資材や家具等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う製品の品質管理等により、それらの室内空気中濃度は減少傾向にある³⁾。また、建築資材や家具等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と考えられる。一方、室内への持ち込みや持ち出しが常に伴う芳香剤、殺虫剤及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、建築資材及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は、製品事故に伴う急性中毒と慢性影響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（ブタンガス等）の吸引による心肺への障害（心室細動等）⁶⁾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。さらに、瞬時放散型家庭用品であるスプレー式製品に

よる吸入事故では、その要因として殺虫剤、洗剤以外に芳香・消臭・脱臭剤の件数が増加傾向にある。これらの製品は有症率が 60% と高く（平成 23 年度）、目や喉の痛みといった粘膜の刺激症状が特徴である。そのため、これらの製品に含まれる刺激性物質の種類及び強度を把握する必要がある。

一方、瞬時放散型家庭用品の使用に伴う慢性影響が、疫学調査にて指摘されている。スペインで実施された出生コホート調査⁹⁾では、妊娠時及び出産後の洗剤用製品〔漂白剤（bleach）、溶剤（solvents）、ガラスクリーナー、室内芳香・消臭剤（air freshener）等〕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）及び喘鳴（wheezing）との関連を検討し、妊娠期の洗剤用スプレーまたは室内芳香・消臭剤の使用により、LRTI の期間有病数の増加や、洗剤用スプレー及び溶剤の使用による喘鳴のオッズ比の上昇が示された。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）との関連性が調査され、医師が喘息と診断した患者と、週に 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¹⁰⁾。さらに、スプレー製品の使用頻度及び種類の異なる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、家具用スプレー及び室内芳香・脱臭剤の使用が、それらの患者に共通し認められた。

家庭用スプレー製品については、循環器系への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及び芳香剤（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）及び TP（Total power）は減少し、特に室内消臭剤で顕著であった。そして、24 時間 SDNN 及び TP と閉塞性肺疾患の患者のクリーニングスプレー、室内消臭剤及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、洗浄剤及び室内芳香・消臭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総揮発性有機化合物 (Total volatile organic compound: TVOC) 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⁾等、様々な調査・研究が実施されている。我が国では、シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会にて、室内空気汚染に関する議論がなされており、その一環として室内空気汚染全国調査が実施されている¹⁶⁾。その中では、室内空気指針値が定められている 13 物質以外の物質についても調査され、特に環状ポリジメチルシロキサン類、グリコール類及びグリコールエーテル類等が比較的高頻度、高濃度で検出されることが報告されている。

本研究では、室内空気汚染物質瞬時型放散源としてハンドポンプ式家庭用水性スプレー製品を対象に、①細胞毒性試験による刺激性評価と原因物質の探索、②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及び③グリコール類及びグリコールエーテル類の分析法の検討と実態調査を実施した。さらに、③では実態調査の結果から、検出化合物について平均室内空気中濃度を推定しそれらの室内空気質への寄与を評価した。

B. 研究方法

B1. 試料

2013 年及び 2015 年にインターネットサイト、東京都及び埼玉県内の小売店で家庭用スプレー製品を 24 製品 (H25_1~22) 及び 32 製品 (H27_1~32) (計 56 製品) 購入した。これらの製品の用途別分類及び製品に表示されていた成分名を Table 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、リネンウォーター及びアイロン仕上げ剤等であった。

B2. 試薬類

B2.1 細胞毒性試験による刺激性評価と原因物質の探索

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及び 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及びメタノールは Sigma-Aldrich 製の試薬特級及び HPLC 用を、ギムザ染色液は MERCK 製を、牛胎児血清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 benzoisothiazoline (BIT)、tetradecyldimethylbenzylammonium chloride 及び dihexadecyldimethylammonium bromide は東京化成工業製を、polyoxyethylene (23) lauryl ether は和光純薬工業製を用いた。非イオン界面活性剤の定量は常盤化学工業製のエコロジーナ高感度 AE ELISA キットを用いた。塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは Sigma-Aldrich 製、酢酸、酢酸ナトリウム及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、クロロホルム及びギ酸は和光純薬工業製の残留農薬分析用及び 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。

B2.2 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

対象化合物の一覧を Table 2 に、それらの構造式を Fig.1 に示した。サロゲート物質として使用した tetrakis(trimethylsiloxy)-silane (M4Q) は Acros Organic 製を、内部標準物質として使用した 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol (BHT) -*d*₂₄ は C/D/N Isotopes 製をそれぞれ用いた。酢酸エチル、ジエチルエーテル及びヘキサンは関東化学製の残留農薬分析用を用いた。

B2.3 グリコール類及びグリコールエーテル類の分析法の検討と実態調査

対象化合物の一覧を Table 2 に、それらの化学構造式を Fig.1 にそれぞれ示した。これらの化合物は、世界保健機関の定義¹⁷⁾では、全て揮発性有機化合物 (VOC) に分類される。なお、dipropylene glycol (DPG) に関して

は異性体混合物との表記があったが、具体的な異性体の種類及びそれらの含有比率は不明であった。メタノールはSigma-Aldrich製、ジクロロメタンは関東化学製の残留農薬分析用をそれぞれ用いた。内部標準物質として使用した dichlorobenzene-d₄ は Acros Organic 製、naphthalene-d₈ は関東化学製、propylene glycol-d₈ 及び diethylene glycol-d₈ は Cambridge Isotope Laboratories 製をそれぞれ用いた。

B3. 分析方法

B3.1 細胞毒性試験による刺激性評価と原因物質の探索

刺激性評価には H25_1~H25_20 までの 20 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¹⁸⁾に準じ、V79 細胞を用いたコロニー形成法を行った。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、試料の刺激性スクリーニング試験を行った。この予備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、H25_1 及び H25_19 は異なる種類の香りの製品が販売されていることから、H25_1 は 5 種類、H25_19 は 4 種類の香りの異なる製品も試験した。

製品表示及び刺激性物質の分析により、BIT、非イオン界面活性剤及び陽イオン界面活性剤が刺激性物質として考えられたため、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には polyoxyethylene (23) lauryl ether を、陽イオン界面活性剤には dihexadecyldimethylammonium bromide をそれぞれ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 H25_1 及び H25_19 を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及び陽イオン界面活性剤に対象を絞った。H25_19 には防腐剤である BIT 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。各試料中の非イオン界面活性剤総量は ELISA 法にて測定した。陽イオン界面活性剤総量は、H25_1 について JIS K0102:2013 オレンジⅡ吸光光度法¹⁹⁾に準じ分析した。標準品には tetradecyldimethylbenzylammonium chloride を用いた。試料溶液中の非イオン界面活性剤及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でポジティブモードにて測定した。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。

B3.2 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

H25_1~H25_22 までの 22 試料を測定対象とした。始めに、試料 0.5 g をねじロガラス試験管に量り採り、塩化ナトリウム 0.15 g 及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にて脱水した。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 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及びイオンソ

ース温度はそれぞれ250、280及び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たが、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を用いた。各測定対象化合物の保持時間、定量及び定性イオン等についてはTable 3に記した。

B3.3 グリコール類及びグリコールエーテル類の分析法の検討と実態調査

H25_14及びH25_18を除く54試料を測定対象とした。試料0.5 mL採取し、超純水を4.5 mL加え混ぜ合わせた。次に、あらかじめジクロロメタン1 mL、メタノール2 mL×2回及び超純水3 mLでコンディショニングしたENVI-Carb Plus Reversible Tube (400 mg/mL、Sigma-Aldrich 製)に試料溶液を負荷した²⁰⁾。その後、ENVI-Carb Plus Reversible TubeにCarboxen™ 1000 (100 mg/0.5 mL)を装着し、10分間空気を吸引して乾燥させた。次に、Carboxen™ 1000を外した後、無水硫酸ナトリウムを入れたガラスチューブに5 mLのメタノール/ジクロロメタン=1/1 (v/v)で対象化合物を溶出させた。この溶出液を溶出溶媒で10 mLに定容した後、GC/MSにて分析した。

分析にはFocus GC/DSQ IIを用い、キャピラリーカラムはInertCap WAX-HT (長さ30 m、内径0.25 mm、膜厚0.25 µm：ジーエルサイエンス製)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及びイオンソース温度はそれぞれ250、270及び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1分間保持した後、180°Cまで10°C/minで昇温させた後に1分保持し、その後270°Cまで20°C/minで昇温し、270°Cで20分間保持した。イオン化法はEI法、イオン化電圧は70 eVとした。測定はSIMモード

にて行った。各測定対象化合物の保持時間、定量及び定性イオン等についてはTable 4に記した。

C. 結果及び考察

C1. 細胞毒性試験による刺激性評価と原因物質の探索

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及び各試料のIC₅₀値をTable 5に示した。試料1%濃度で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。細胞毒性が認められなかった製品には、H25_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。また、1%濃度で細胞毒性を示した試料では、細胞毒性は容量依存的に認められ(データ非掲載)、ほとんどは、IC₅₀値が10⁻¹(%)レベルであった。H25_1及びH25_19はIC₅₀値が4.2×10⁻²(%)及び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、H25_1及びH25_19では香りの異なる製品についても細胞毒性試験を行った。その結果、H25_1では5種類でIC₅₀は4.1~4.5×10⁻²(%)、H25_19では4種類で7.6~8.4×10⁻³(%)と、香りの異なる製品間では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。

細胞毒性試験よりH25_1及びH25_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ことから、これら2製品を主対象として、その原因物質を検討した。H25_19には防腐剤であるBIT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 µg/mLであった。BITの最少発育阻止濃度(MIC)は細菌・真菌類で5~49 ppm²¹⁾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。H25_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 $5.2 \times 10^{-1} \sim 5.6 \times 10^3$ $\mu\text{g/mL}$ であった (Table 5)。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 H25_1 及び H25_19 では AE 濃度も他の試料に比べて高い値となり、特に H25_19 は 5.6×10^3 $\mu\text{g/mL}$ と非常に高濃度であった。一方で、 IC_{50} 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。

H25_1 の陽イオン界面活性剤濃度を測定し、tetradecyldimethylbenzylammonium chloride 換算値として 5.0×10^3 $\mu\text{g/mL}$ 検出された。さらに、H25_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及び陽イオン界面活性剤の同定を試みた。H25_1 希釈溶液の HRMS 測定から得られたマススペクトルを Fig.2 に示した。測定の結果、単一のピークとして①及び④、化合物群として②及び③のピークが認められた。①は $m/z=326.37854$ であり、組成式 $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}$ の理論値 $m/z=326.37813$ との差は $+0.41$ mmu であった。H25_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 Fig. 2 に示した陽イオン界面活性剤である didecyldimethyl ammonium の可能性が示唆された。didecyldimethyl ammonium 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²²⁾、鳥インフルエンザの防除にも使用されている²³⁾。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、Fig.2 に示した非イオン界面活性剤である polyoxyethylene (10) lauryl ether の Na 付加体である $\text{C}_{32}\text{H}_{66}\text{O}_{11}\text{Na}$ (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、Fig.2 には $\text{C}_{32}\text{H}_{66}\text{O}_{11}\text{Na}$ 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、 $\text{C}_{37}\text{H}_{66}\text{O}_{11}\text{Na}$ (理論値: 709.44973 , -0.12 mmu) と推定された。これ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、ピーク①の物質が 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。

細胞毒性の原因と考えられる物質の分析より、製品中の防腐剤である BIT、非イオン界面活性剤及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 polyoxyethylene (23) lauryl ether、陽イオン界面活性剤については dihexadecyldimethylammonium bromide を細胞毒性試験に用いた。それらの結果を Fig.3 に示した。H25_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及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。H25_19 については、非イオン界面活性剤及び BIT 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鎖の付加量の多い polyoxyethylene (23) lauryl ether を使用したが、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²⁴⁾。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及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²⁵⁾。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だけでなく、試験時に不溶物が生じており、その影響も考えられた。Didecylidimethyl ammonium については、ラット *in vitro* 系試験において、ethylene glycol との共存により肺細胞に対する細胞毒性を増強させることが報告されている²⁶⁾。非イオン界面活性剤と BIT 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 BIT 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。

C2. 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

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、ジエチルエーテル及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。Fig. 4 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) 及び 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 (Table 3)。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、JIS K0123 ガスクロマトグラフ質量分析通則²⁷⁾に従い、低濃度試料の分析値から検出下限値 (LOD) を求めた。また、一般に定量下限値 (LOQ) は標準偏差の 10 倍とされている²⁸⁾ことから、それに従って LOQ を算出した。その結果、LOD 及び LOQ は 0.0016-0.017 µg/g 及び 0.21-0.77 µg/g であった (Table 3)。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及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 Fig.5 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 Table 6 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、H25_14、18 及び 21 の3製品からのみ、LOD 以上で検出された。H25_14 のトータルイオ

ンクロマトグラム及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 Fig.5 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。

化粧品や制汗剤及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 $\mu\text{g/g}$ 、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²⁹⁻³¹⁾、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 ($m/z=50\sim 500$) を行ったところ、Fig.5 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。

C3. グリコール類及びグリコールエーテル類の分析法の検討と実態調査

グリコール類及びグリコールエーテル類は極性が強いことから GC/MS 分析にて WAX 系カラムを用いたところ、各化合物は良好なピーク形状を示し、それぞれの化合物も十分な分離が認められた (Fig. 6)。なお、異性体混合物である DPG については、保持時間が 14.24 分 (DPG-1)、14.77 分 (DPG-2) 及び 14.84 分 (DPG-3) の 3 つのピークが確認され、そのうち DPG-2 及び DPG-3 のマススペクトルは類似していた。DPG は各異性体の含有量が不明なため、各ピーク面積を合算して検量線を作成し定量した。

始めに、超純水を用いてバックグラウンドレベルの検討を行ったところ ($n=4$)、DGMBE 及び DGMBEA はそれらの保持時間と同じ所にピークが確認され、それぞれ 0.070 ± 0.006 ng/mL 及び 0.087 ± 0.009 ng/mL に相当した。

しかしながら、これらの化合物が何に由来するのかはわからなかった。これら以外の化合物では、それらの保持時間の箇所にピークは認められなかった。

超純水に、各化合物を 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 、 4 $\mu\text{g/mL}$ 及び 40 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加し、回収率試験を行った結果を Table 7 に示した。回収率試験の結果、 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 試料では 12BG、13BG、PGMEE が検出されなかった。一方、DPG では DPG-2 及び 3 は検出されたが、DPG-1 は検出されなかったため、回収率は計算しなかった。また、DGMBE 及び DGMBEA はバックグラウンド値の影響から、回収率が求められなかった。これら以外の 12 化合物については、74~111% ($\text{CV}=2.1\sim 9.8\%$) と良好な回収率が得られた。また、 4 $\mu\text{g/mL}$ 及び 40 $\mu\text{g/mL}$ 試料では全ての化合物が検出され、その回収率は 87~132%であった。このうち、DGMBE 及び DGMBEA が 4 $\mu\text{g/mL}$ 試料で 122%及び 132%とやや高く、バックグラウンドの影響が考えられた。これら 2 つの回収率を除くと、87~109%と良好な回収率が認められた。また、その変動係数も 0.35~5.7%と小さかった。次に、H27_18 を用いて実試料の回収率試験を実施した ($n=3$)。各測定対象化合物を 40 $\mu\text{g/mL}$ となるように添加し回収率を求めた (Table 7)。その結果、polyethylene glycol (PG) を除く各測定対象化合物は回収率が 93~105%、その変動係数は 0.62~3.6%と良好な値を示した。一方、PG については回収率が 42%と低い値を示した。そのため、実試料中の夾雑物質の影響が考えられた。ただし、その変動係数は 3.3%と再現性は良好であった。

各化合物の LOD 及び LOQ は、 0.8 $\mu\text{g/mL}$ (12BG、13BG、DPG 及び PGMEE では 4 $\mu\text{g/mL}$) 添加試料を分析した際の標準偏差の 3 倍及び 10 倍とした³²⁾。また、DGMBE 及び DGMBEA については、バックグラウンド試料を分析した際の平均値及び標準偏差を用いて、 $\text{LOQ}=\text{平均値}+5\times\text{標準偏差}$ ³³⁾とし、LOD は設定しなかった。その結果、LOD 及び LOQ は $0.043\sim 1.6$ $\mu\text{g/mL}$ 及び $0.14\sim 5.5$ $\mu\text{g/mL}$ であった (Table 7)。

各化合物の測定結果を Table 8 に、検出濃度範囲と検出頻度を Table 9 にそれぞれ示した。