

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
分担研究報告書

国内のハウスダストのフタル酸エステル分析と粒径別の比較

研究分担者	稲葉 洋平	国立保健医療科学院
研究分担者	金 勲	国立保健医療科学院
研究分担者	戸次 加奈江	国立保健医療科学院
研究分担者	緒方 裕光	女子栄養大学
研究分担者	林 基哉	国立保健医療科学院
研究分担者	樺田 尚樹	国立保健医療科学院
研究協力者	内山 茂久	国立保健医療科学院

研究要旨

フタル酸エステルはプラスチックの製造工程で柔軟性や成形性を高める可塑剤として添加され、沸点が高く SVOC に分類される物質が多い。床材、壁紙など建材、玩具や子供用品、各種容器や化粧品など生活用品に至るまで我々の生活の中で幅広く使われている。SVOC の多くは蒸気圧が低いため空気中に存在しにくく物体表面やダスト表面などに付着して存在しているとされ、フタル酸類は内分泌かく乱の可能性があり、子供の喘息やアレルギー症にも関連性があるとされている。本研究は、69家屋のダストを回収し、100 μm 以下と100-250 μm のダストに分粒した。このダストを昨年度確立したLC/MS/MSを使用した9種類のフタル酸エステル分析法で実態調査を行った。

本研究では昨年度確立したフィルターを使用したダスト捕集を行ったが、フタル酸エステル分析に必要なダスト量が集まった家屋数は25となった。本研究のフィルターダスト中央値は、リビングが155 mgで寝室が70.5 mgであった。ダストと分粒には、200 mg以上のダストは必要であるため回収量は少なかった。今後の研究では、数日間のダスト捕集などの改良が必要であることが示唆された。次にフタル酸エステルの検出率は、分析法が高感度化されたため先行研究と比較すると上昇した。フタル酸エステルの分析結果は、DEHPが若干高値であるものの、過去の国内研究と比較すると同等の分析値となった。DNOPとDIDPの分析値はこれまで国内では報告されておらず、海外の報告と比較すると同等または若干低値であった。最後に、100 μm 以下と100-250 μm のダスト中フタル酸エステル量を比較したところ、DMP、DBP、DEHP、DINP、DNOPに有意差が確認され、100-250 μm のフタル酸エステル濃度が高い傾向にあった。この結果は、これまでの先行研究においても報告されていない結果であるため、その要因が家屋の床材、カーペット使用の有無、築年数との関係性についても詳細に統計解析を進める必要がある。

A 目的

プラスチックの製造工程で柔軟性や成形性を高める可塑剤として添加されているフタル酸エステルは、子供の喘息やアレルギー症に関係が疑われている (1) - (3)。このフタル酸エステル類は、平成22年9月6日付厚生労働省告示第336号によってフタル酸ビス(2-エチルヘキシル) (DEHP)、フタル酸ジイソノニル (DINP) を含む6物質「DEHP、DINP、フタル酸ジ-n-ブチル(DBP)、フタル酸ベンジルブチル(BBP)、フタル酸ジイソデシル(DIDP)、フタル酸ジ-n-オクチル(DNOP)」(Table. 1)へ規制の範囲を拡大した。その対象範囲は「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の指定するおもちゃ」とし、規制対象とするフタル酸エステルの限度値については0.1%となっている。このフタル酸エステルは、

EU、米国においても規制の対象となっている。

これらの化学物質はおもちゃだけでなく、床材や壁紙、什器、化粧品等あらゆる家庭用品に使われ、その国内出荷量が2016年は20.4万tonと膨大である (4)。その内訳は、フタル酸エステルのDEHPが11.6万、DBPが0.1万、DIDPが0.3万、DINPが7.7万ton、その他のフタル酸が0.9万tonとなっており、ここ5年間の出荷量に大きな変動はない (4)。フタル酸類では特にDEHPとDINPの出荷量が多く、この2成分がフタル酸系可塑剤の9割を占めている。このような状況から、乳幼児の居る家庭においておもちゃ以外にも床材、壁紙と家庭用品からフタル酸エステル類が放散・ブリーディングし、Hand-to-mouthによる曝露が懸念されている。これまでに日本におけるダスト中フタル酸エステル分析は行われているが、おもちゃの規制対象となった6成分

を同時分析した報告は少ない。

ダストのフタル酸エステル分析は、「ポリ塩化ビニルを主成分とする合成樹脂製おもちゃにおける6種類のフタル酸エステル試験法」においてガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC/MS) を採用していることからGC/MSの分析が大半である (5)。昨年度、本研究班では高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析装置 (LC/MS/MS) を利用したフタル酸エステル分析法を確立した。また、ハウスダストの粒径ごとの分析を行い、SVOCは粒径100 μm 未満、100-250 μm に多く存在し、濃度偏差も小さいことが確認できた。

ハウスダストの粒径サイズについていくつかの報告がされている (6)。手に付着するダストの粒径サイズは100 μm 未満は最低限調査が必要で、100-250 μm の粒径については寄与率が小さいが、リスク評価で無視して良いか検討する必要がある。そして250 μm 以上のダストは不要であると考えられた (6)。

昨年度の分析対象家屋は10に止まっていたため本研究は、昨年度に確立したPTFE素材を使った専用の捕集用吸引口フィルターを利用して66家屋のダストを回収し、100 μm 未満、100-250 μm のダスト中フタル酸エステルの分析を行った。

B 方法

(1) 試薬

フタル酸ジエチル (DEP)、フタル酸ジメチル (DMP)、フタル酸ブチルベンジル (BBP)、フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) (DEHP)、フタル酸ジイソノニル (DINP)、フタル酸ジブチル (DBP)、フタル酸ジ-n-オクチル (DNOP)、フタル酸ジイソデシル (DIDP) は、これら6成分を含むフタル酸エステル類混合標準液IIIとフタル酸ジイソブチル (DIBP) は関東化学から購入した。フタル酸ジエチル- d_4 (DEP- d_4)、フタル酸ジメチル- d_4 (DMP- d_4)、フタル酸ブチルベンジル- d_4 (BBP- d_4)、フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)- d_4 (DEHP- d_4)、フタル酸ジブチル- d_4 (DBP- d_4)、フタル酸ジ-n-オクチル- d_4 (DNOP- d_4) は、和光純薬から購入した。メタノール、アセトニトリルは、関東化学のフタル酸エステル分析用を使用した。実験に使用した純水は、採取口にEDS-Pakを装着したMillipore製のMilli-Q Integral 3システムを使用した。

(2) ダストの前処理

ダストは、電磁振動式篩分器MS-200 (伊藤製作所製) を使用し、100、250、500 μm の3種類

のふるいによって分粒した。得られた2種類のダスト (<100 μm 、100-250 μm) は、それぞれ5 mgを10 mL容試験管に入れ、アセトニトリル 1 mLを添加し超音波抽出を20分間行った。得られた抽出液は、0.20 μm フィルターを通過後、適宜希釈しLC/MS/MSへ供した。

(3) LC/MS/MS によるフタル酸エステル類の分析

フタル酸エステル分析には、Waters社製のACQUITY UPLCを使用した。分析用カラムは、ACQUITY UPLC BEH C18カラム (2.1 \times 50 mm、1.7 μm 、Waters社製) を使用した。カラムオープン温度は40°Cとし、試料注入量は2.5 μL とした。また、移動相には100mMギ酸アンモニウム溶液 (A液) とメタノール (B液) を用いた。送液プログラムは流速を0.35 mL/分とし、0-0.5分 (A液: 80%、B液: 60%)、0.5-3.5分 (A液: 25%、B液: 75%)、3.5-7.5分 (A液: 5%、B液: 95%)、7.5-11.5分 (A液: 5%、B液: 95%)、11.5-13.5分 (A液: 40%、B液: 60%) と設定し、分析時間は20分とした。質量分析にはタンデム四重極 (トリプル四重極) 質量分析計Vevo TQ-S (Waters社製) を用いた。イオン化モードはESIポジティブを用い、キャピラリー電圧は2.0 kVとし、コリジョンエネルギーとコーン電圧は分析対象物質ごとに条件を設定した (7)。

(4) ハウスダスト試料

本研究で家庭のダストは、昨年度確立したPTFE素材のフィルターを各家庭の掃除機に装着後、居間、寝室でそれぞれを捕集していただいた。また、家庭によってはダストが十分回収することが困難な家屋も予想されたため、すでに捕集されている掃除機のダストも回収した。参加は、70家屋であり、得られたダスト試料は計69家屋となった。そして篩がけが可能家屋数は64であった。フィルターで分析可能なダストが回収された家屋数は、25家屋で篩がけ可能家屋数の39%であった。なお、本研究は国立保健医療科学院研究倫理審査の承認を受けて実施した (NIPH-IBRA#12156)。

C 結果及び考察

(1) フィルターを利用したダストの回収

本研究では、参加者に昨年度確立したダスト捕集法をリビングと寝室でそれぞれ実施してもらった。参加70家屋中64家屋からダストが回収された (フィルターダスト及び掃除機ダストのいずれかを回収)。得られたフィルターからダストを回収したところ、篩がけ終了後、フタル

酸エステル分析が可能な家屋は25となり、ダストが回収された家屋の39%にとどまった。これは、参加者の掃除の頻度によってダスト回収率に影響していると考えられる。本研究のフィルターダスト中央値は、リビングが155 mgで寝室が70.5 mgであった。ダストと分粒には、200 mg以上のダストは必要であるため回収量は少なかった。今回の研究では、フィルターでのダスト捕集前の掃除についての制約や、必要ダスト量の設定も儲けることもせず実施した。今後は、フィルターでダストを捕集する場合は、2-3日間は掃除をしない日を設けるなどの制約が必要となる。家屋のダストは、日々の生活によって大きく変動する。そのため家屋の平均的なダストを考えると1ヶ月間のダストを回収し分析・評価することも課題である。

(2) ダストのフタル酸エステル類の検出率

本研究の分析結果をTable 1に示す。測定対象家屋のフタル酸エステル検出率は、DBP、DIBP、DEHP、DINP、DIDPが100%であった。一方で、DNOPは検出率が低く、13.6と36.5%であった。本研究の対象家屋ではDNOPを使用している家庭用品、床材などが少ないと考えられる。次に、国内の先行研究と比較するとBBP、DBP、DIBP、DEHP、DINPの検出率は、同等であった(2)。しかし、DMPとDEPは分析感度が向上しているため検出率も5.5から64.4%、16.4から84.7%と大幅に上昇した(2)。低濃度領域のフタル酸エステル分析が可能になったことで、これまでリスク評価が行われていないフタル酸エステル類についても応用が期待される。

(3) ダストのフタル酸エステルの分布

フィルターで捕集したダストと掃除機で回収されたダストの分析結果を統合することが可能であるかを評価した。その結果、ダスト中のフタル酸エステルに有意差が認められなかった。そこで本研究ではこの2つの分析結果を統合し、評価を進めた。

本研究の分析結果と先行研究の分析結果をTable 2に示した。本研究のダスト中DBP中央値は、100 μm 以下が18.5 $\mu\text{g/g}$ 、100-250 μm のダストが17.7 $\mu\text{g/g}$ であった。この分析結果は、先行研究の18.1(8)、16.6 $\mu\text{g/g}$ と同等の結果となったが海外では77、87 $\mu\text{g/g}$ と高値が報告されている(9,10)。これはBBPとDIBPについても同様の傾向が認められた。次にダスト中DINP中央値は、100 μm 以下が138 $\mu\text{g/g}$ 、100-250 μm のダストが188 $\mu\text{g/g}$ であった。この分析結果は、先行

研究の139(2)、129 $\mu\text{g/g}$ (10)と同等の結果となった。ダスト中DEHP中央値は、100 μm 以下が1381 $\mu\text{g/g}$ 、100-250 μm のダストが1865 $\mu\text{g/g}$ となった。この分析結果は、国内先行研究の810、1100 $\mu\text{g/g}$ より若干高値となった。一方で海外の報告と比較すると高値となった(11,12)。金らの報告によると、ダスト中のDEHPは床材の違いによって濃度が変動し、特にPVCを使用している家屋の濃度が高いと報告されている(8)。今回、PVC床材を使用している家屋数は、2のため比較検討は困難であった(90%以上がフローリングであった)。今後は床材による違いについても評価を進めて行く計画である。

(4) 粒径別のダスト中フタル酸エステルの比較

本研究は、過去の先行研究(6)をもとに手に付着するダストの粒径サイズは100 μm 未満は最低限調査が必要で、100-250 μm の粒径については寄与率が小さいが、リスク評価で無視して良いか検討する必要があると考え、100 μm 以下と100-250 μm のダストに分粒し、2区分の対応するダストが存在するフタル酸エステルの分析結果を比較した。一般的に粒径の小さいダストの方が表面積が大きくなるため、1 gあたりのフタル酸エステル量は高くなる、または有意差がないと考えていた。しかし結果は、DMP、DBP、DEHP、DINP、DNOPに有意差が確認され、100-250 μm のフタル酸エステル濃度が高い傾向にあった。本研究の100-250 μm のダストには、フタル酸エステルを含むプラスチックの破片等が含まれているために高くなったとも考えられる。本研究のダスト粒径別の分析結果は、日本人のダストによるフタル酸エステル曝露評価を行う際に、100 μm 以下と100-250 μm のどちらを採用するかで結果は異なることが予想される。また本研究では、DEHPとDINPについては、区分別の中央値においても濃度差が確認できることから、今後、家屋の床材、カーペット使用の有無、築年数との関係性についても詳細に統計解析を進める計画である。

今後の検討課題

今後は、ダスト試料だけではなく、空気中のフタル酸エステル類の高感度分析法を確立し、我が国の家屋におけるフタル酸エステル分析法および曝露評価法を確立し、大規模な実態調査を実施していきたい。

D 結論

本研究では、69家屋のダストを回収し、100 μm 以下と100-250 μm のダストに分画した。こ

のダストを昨年度確立したLC/MS/MSを使用した9種類のフタル酸エステル分析法実態調査を行った。本研究では昨年度確立したフィルターを使用したダスト捕集を行ったが、フタル酸エステル分析に必要なダスト量が集まった家屋数は25となった。今後の研究では、数日間のダスト捕集などの改良が必要であることが示唆された。次にフタル酸エステルの分析結果は、過去の国内研究と比較すると同等の分析値となった。一部、DEHPの分析結果は、若干高値であった。DNOPとDIDPの分析値はこれまで報告されていないため、海外の報告と比較すると同等または若干低値であった。最後に、100 µm以下と100-250 µmのダスト中フタル酸エステル量を比較したところ、DMP、DBP、DEHP、DINP、DNOPに有意差が確認され、100-250 µmのフタル酸エステル濃度が高い傾向にあった。この結果は、これまでの先行研究においても報告されていない結果であるため、その要因が家屋の床材、カーペット使用の有無、築年数との関係性についても詳細に統計解析を進める必要がある。

E 引用文献

- (1) Kolarik B, Naydenov K, Larsson M, et al. The association between phthalates in dust and allergic diseases among Bulgarian children. *Environ Health Perspect.* 2008 ;116:98-103.
- (2) Ait Bamai Y, Shibata E, Saito I, et al. Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults. *Sci Total Environ.* 2014;485-486:153-63.
- (3) Larsson M, Hägerhed-Engman L, Kolarik B, et al. PVC--as flooring material--and its association with incident asthma in a Swedish child cohort study. *Indoor Air* 2010; 20:494-501.
- (4) 可塑剤工業会. 生産出荷・統計データ 可塑剤国内出荷実績 . (<http://www.kasozai.gr.jp/data/toukei-pdf/2017-03syuka.pdf> 2017年5月8日 接続)
- (5) 厚生労働省. ポリ塩化ビニルを主成分とする合成樹脂製おもちゃにおける6種類のフタル酸エステル試験法 . 食安発0906第4号 平成22年9月6日 おもちゃにおけるフタル酸エステルの試験法について.
- (6) Cao Z, Yu G, Chen Y, et. al.

Mechanisms influencing the BFR distribution patterns in office dust and implications for estimating human exposure. *J Hazard Mater.* 2013; 15;252-253:11-18.

- (7) 稲葉洋平, 金勲, 樺田尚樹. ダストのフタル酸エステル分析法の確立と粒径別の分布. 平成28年度厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合 研究事業「半揮発性有機化合物をはじめとした種々の化学物質曝露によるシックハウス症候群への影響に関する検討」(研究代表者: 樺田尚樹. 28210701) 平成28年度総合研究報告書. 2017.3. p.10-21.
- (8) 金炫兌, 田辺新一. 住宅における空気・ハウスダスト中SVOC濃度測定. *日本建築学会環境系論文集* 2016;81(720): 199-207.
- (9) Kang Y, Man YB, Cheung KC, Wong MH. Risk assessment of human exposure to bioaccessible phthalate esters via indoor dust around the Pearl River Delta. *Environ Sci Technol.* 2012;46:8422-30.
- (10) Abb M, Heinrich T, Sorkau E, Lorenz W. Phthalates in house dust. *Environ Int.* 2009;35:965-70.
- (11) Guo Y, Kannan K. Comparative assessment of human exposure to phthalate esters from house dust in China and the United States. *Environ Sci Technol.* 2011;45:3788-94.
- (12) Langer S, Weschler CJ, Fischer A, Bekö G, Toftum J, et al. Phthalate and PAH concentrations in dust collected from Danish homes and daycare centers. *Atmos. Environ.* 2010;44: 2294-2301.

F 研究発表

稲葉洋平, 金勲, 戸次加奈江, 林基哉, 樺田尚樹. ハウスダスト中フタル酸エステルの粒径分布. 第54回全国衛生化学技術協議会年会 ; 2017.11.21-22 ; 奈良. 同抄録集. p.204-205.
稲葉洋平, 金勲, 戸次加奈江, 内山茂久, 林基哉, 樺田尚樹. ハウスダストの粒径別フタル酸エステルの分析. 第88回日本衛生学会学術総会 ; 2018.3.22-24 ; 東京. 同抄録集. PS69.

G 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 国内のハウスダスト中のフタル酸エステルの分布と粒径別の比較

	Phthalate ester ($\mu\text{g/g dust}$)										P*
	<100 μm (n=59)					100-250 μm (n=63)					
	min	max	Median	Detection (%)		min	max	Median	Detection (%)		
DMP	<LOQ	1.17	0.10	64.4		<LOQ	0.46	0.09	68.3		<0.05
DEP	<LOQ	1.67	0.41	84.7		<LOQ	1.52	0.41	93.7		0.297
BBP	<LOQ	41.4	0.39	79.7		<LOQ	123	0.58	88.9		0.161
DBP	2.2	239	18.5	100		1.7	404	17.7	100		<0.05
DIBP	<LOQ	72.1	2.82	93.2		0.63	56.3	3.40	100		0.173
DEHP	234	5900	1381	100		316	10308	1865	100		<0.01
DINP	13	936	138	100		26	1488	188	100		<0.01
DNOP	<LOQ	5.44	<LOQ	13.6		<LOQ	6.95	<LOQ	36.5		<0.01
DIDP	1.85	125	5.98	100		<LOQ	120	4.91	74.6		0.385

LOQ: Limit of quantification.

* Significant differences between floor and multi-surface dust were analyzed by paired t test.

Table 2 国内のハウスダスト中のフタル酸エステル濃度と先行研究との比較

Study	Instrument	Country	particle size (μm)	n	Median ($\mu\text{g/g dust}$)										
					DMP	DEP	BBP	DBP	DIBP	DEHP	DINP	DNOP	DIDP		
Present study	LC/MS/MS	Japan	<100	59	0.10	0.41	0.39	18.5	2.82	1381	138	<LOD	5.98		
		Japan	100-250	63	0.09	0.41	0.58	17.7	3.40	1865	188	<LOD	4.91		
Kim et al. 2016	GC/MS	Japan	-	21	-	-	-	18.1	-	810	-	-	-		
Ait Bamai et al. 2014	GC/MS	Japan	-	128	-	-	2.0	16.6	3.1	1100	139	-	-		
Kang et al. 2012	GC/MS	China	<100	23	0.05	1.50	4.63	77.0	34.1	1190	2.9*	7.63	2.9*		
Guo et al. 2011	GC/MS	China	<2	75	0.2	0.4	0.2	20.1	17.2	228	-	0.2	-		
Langer et al. 2011	GC/MS	USA	<150	33	0.08	2.0	21.1	13.1	3.8	304	-	0.4	-		
Abb et al. 2009	LC/MS/MS	Danish	<150	497	-	1.7	3.7	15	27	210	-	-	-		
		Germany	-	30	-	-	15	87	-	604	129	-	-		

*Total DINP and DIDP amounts.