

平成31年度～令和2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)
分担総合研究報告書

2. 国内ハウスダストのフタル酸エステル類およびフタル酸エステル代替物質分析

研究分担者 稲葉 洋平 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。これまで本研究班は、ハウスダストのフタル酸エステルの分析を実施してきた。最近では、フタル酸エステルの規制が実施されており、代替物質への移行が進んでいる。既に代替物質として報告のあるアジピン酸ジイソノニル、1,2-シクロヘキサジカルボン酸ジイソノニルエステルなどを測定対象に追加し、LC/MS/MS分析法の確立を行い、今年度はハウスダスト試料162家屋の分析を行なった。またハウスダスト試料を篩で分画し、100 µm以下と100-250 µmのダストに分けてから分析を行なった。特に100 µm以下のダストは、hand-to-mouthで経口曝露が懸念されている。

フタル酸エステル及び代替物質の分析は、高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS/MS)で実施した。分離カラムにFluoro Phenylカラムを採用することで、分離度が向上し分析感度が向上した。しかし、DEHPとその異性体であるDEHTのピークが重なってしまうため、この2成分はガスクロマトグラフ質量分析計によって分析を行うことに決定した。フタル酸エステルの分析では、最も多い成分は、DEHP(100 µm以下、100-250 µmの2区分)であった。次に、多い成分がDINPとなった。この分析結果は、これまでの日本における先行研究と同等の結果となった。

おもちゃの規制のフタル酸エステル6成分に関しては、ハウスダストにおいてDBP、DEHP、DIDP、DINPの検出率が高かった。本研究と国内のハウスダスト中のフタル酸エステル濃度および先行研究との比較を行ったところ、日本のハウスダストは、DEHPとDINPの含有量が高い傾向であった。

A 目的

プラスチック製品は、製造工程で柔軟性や加工性を高めるために可塑剤が使用されている。可塑剤として最も使用されているフタル酸エステルは、日本における生産量の80%近くを占めている。このフタル酸エステルの特徴として、移行性がある(接触などによって移動する)ために、環境中に移行する。これまでに、室内空气中及びハウスダスト中の検出が報告されてい

る。このフタル酸エステルは、実験動物を用いた毒性試験で生殖・発生毒性を示すと報告されている。さらに、子供の喘息やアレルギー症への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 2-. 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1,000 ppm (0.1%)となっている。このフタル酸エステルは、欧州連合 (EU), 米国においても規制の対象となっている。さらにEUでは、2019年7月からRoHS 指令 (Restriction of Hazardous Substances) においても、4種類のフタル酸エステル (DEHP, DBP, DIBP, BBP) を電気・電子機器への最大許容含有量0.1%として規制されている。

国内の可塑剤生産量は、1992-2000年までは40万トンであったが、それ以降は減少が続き2009年以降は20万トンで推移している⁴⁾。我が国のフタル酸類は、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。2019年のデータでは、DEHPとDINPの生産量の比率は1:1となっている⁵⁾。一方で、欧州の可塑剤市場では、57%がDINP/DIDP/DPHPに置き換えられ、DEHPのシェアは10%となっている。次に、国内におけるDEHPとDINPの使用用途によると、DEHPの44%が建材 (床材料, 壁紙), 17%が一般フィルム・シート, 10%が電線となっている。DINPにおいて最も用途が多いのは、36%の電線, 13%一般フィルム・シートと続き、建材は8%となっていた⁴⁾。この報告からも分かるように、国内における室内のフタル酸エステルは、DEHPが現在も多いことが予想される。しかしながら、最近ではフタル酸エステルの代替物質が報告されており、2019年にTakeuchiらは、58成分の純揮発性有機化合物について分析・国内の実態調査を室内空気 (粒子及びガス成分), ハウスダストについて行った⁶⁾。国内の一般家庭の室内空気とハウスダストからも検出されている。また、平田, Barnerdらによって報告されたフタル酸エステル代替物質に

についての毒性評価及び分析法について報告された^{7,8)}。

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かった。そこで、2017年のシックハウス研究班 (樺田班) 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、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⁹⁾。この方法を利用し、50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。しかしながら、フタル酸エステル代替物質の分析は行っていなかった。現在のフタル酸エステルの使用状況を見渡すと我が国においても少しずつフタル酸エステル代替物質へ置き換わっていく状況にあることが予想される。そこで本研究は、これまでの分析法に加えて、フタル酸エステル代替物質10成分について新たに分析法を確立し、2019年度に72家屋と2020年度に90家屋の回収ダストについてフタル酸エステル類およびフタル酸エステル代替物質分析を目的とした。

B 方法

B.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。フタル酸エステル代替物質を含めた測定対象物質のリストを Table 2- 1 に示した。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。

B.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 フィルターろ過後、適宜希釈し LC/MS/MS へ供した。

B.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、Raptor Fluoro Phenyl カラム (2.1 \times 100 mm, 1.8 μm , RESTEK 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 10 mM 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 0.3 mL/分 とし、0-0.5 分 (A 液 : 40%, B 液 : 60%), 0.5-3.5 分 (A 液 : 30%, B 液 : 70%), 3.5-11 分 (A 液 : 5%, B 液 : 95%), 11-14 分 (A 液 : 5%, B 液 : 95%), 14-14.5 分 (A 液 : 40%, B 液 : 60%) と設定し、分析時間は 22 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。

B.4 ハウスダスト試料

本研究の家庭のダストは、一般家庭から回収されたダスト試料を使用した。今年度は、2019 年度に 72 家屋、2020 年度に 90 家屋のダストをフタル酸エステル類およびフタル酸エステル代替物質分析に適用した。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

C.1 LC/MS/MS によるフタル酸エステル関連物質の分析

Table 2- 2 は、今回確立した LC/MS/MS 分析法の定量下限値を示す。ほとんどの化学物質の定量下限値は 1 または 2 ng/mg dust であり、DINP が 20 ng/mg dust と DINA が 10 ng/mg dust となった。この 2 成分は GC/MS 分析時にピークの溶出時間が長くなり、定量性が低い成分である。今回、Fluoro Phenyl カラムによる分離によって、溶出時間が短くなり、ピークとして確認可能となった。

今回ハウスダスト試料において、20 種類の成分分析結果を評価すると、2EH, TXOL, DEHT と TXIB については、LC/MS/MS による分析よりもガスクロマト質量分析装置 (GC/MS) の方が適しているようであった。これらの成分は、揮発性の成分であることが要因であった。また、DEHT に関しては、DEHP との分離が HPLC カラムでは困難であり、DEHP ピークと重なっていた。DEHP 含有量が、DEHT 含有量と比較して 10 倍以上高いことが予想されるために、DEHP と DEHT の分離が可能な GC/MS による分析が適していることが確認された。

C.2 ダストのフタル酸エステル代替物質の分析

本研究の分析結果を Table 2- 3 に示す。2019 および 2020 年度のフタル酸エステルの分析で

は、最も多い成分は、DEHP (100 µm以下, 100-250 µmの2区分) であった。次に、多い成分がDINPとなった。この分析結果は、これまでの日本における先行研究と同等の結果となった。

おもちゃの規制のフタル酸エステル6成分に関しては、DBP, DEHP, DIDP, DINPの検出率が高かった。次に、本研究期間で新たに測定対象としたフタル酸エステル代替物質は、ATBC, DEHA, TOTMとDINCHの検出率が高かった。これら成分に関しては、数件ではあるが非常に含有量が高い家屋が確認された。これは、建材や壁紙以外の発生源であることが予想されるが、本アンケートでは家庭用品に関するアンケートは行っていないので、正確な発生源を突き止めることに限界がある。

Table 2-4は、本研究と国内のハウスダスト中のフタル酸エステル濃度および先行研究との比較をしている。日本のハウスダストは、DEHPとDINPの含有量が高い傾向であった。今後は、TXOL, DEHT, 2EH, TXIBについてGC/MS分析法を確立し、ハウスダストサンプルの詳細な分析を実施する計画である。

D 結論

本研究では、これまでのフタル酸エステルに加えて、新たにフタル酸エステル代替物質を同時分析する手法の確立を実施した。この分析法では、LC/MS/MSの分離カラムをODSからFluoro Phenylに変更することによって、GC/MSにおいてピーク分離が難しいDINPなどの成分を安定して定量することが可能になった。本研究では、この2カ年でフタル酸エステルとフタル酸エステル代替物質を同時分析する手法の確立し、回収したダスト (162家屋) 中の分析をLC/MS/MSで実施した。2019および2020年度のフタル酸エステルの分析では、最も多い成分は、DEHP (100 µm以下, 100-250 µmの2区分) であった。次に、多い成分がDINPとなった。この分析結果は、これまでの日本における先行

研究と同等の結果となった。

おもちゃの規制のフタル酸エステル6成分に関しては、DBP, DEHP, DIDP, DINPの検出率が高かった。次に、本研究期間で新たに測定対象としたフタル酸エステル代替物質は、ATBC, DEHA, TOTMとDINCHの検出率が高かった。これら成分に関しては、数件ではあるが非常に含有量が高い家屋が確認された。

E 参考文献

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. 可塑剤インフォメーション 2018 ; No 29:22. (http://www.kasozai.gr.jp/wordpress/wp-content/uploads/2020/01/HP%E7%94%A8_no29.pdf 2020年3月31日 接続)
5. 可塑剤工業会. 可塑剤国内出荷実績 (<http://www.kasozai.gr.jp/wordpress/wp-content/uploads/2019/04/2020%E5%B9%B404%E6%9C%88%E5%8F%AF%E5%A1%91%E5%89%A4%E5%9B%BD%E5%86%85%E5%87%BA%E8%8D%B7%E5%AE%9F%E7%B8%BE%EF%BC%88HP%E7%94%A8%EF%BC%89.pdf> 2020年5月5日 接続)

6. Takeuchi S, Tanaka-Kagawa T, Saito I, Kojima H, Jinno H. Distribution of 58 semi-volatile organic chemicals in the gas phase and three particle sizes in indoor air and house dust in residential buildings during the hot season in Japan. *BPB Reports* 2019; 2: 91-98.

7. 平田睦子, 高橋美加, 松本真理子, 川村智子, 小野 敦, 広瀬明彦. 小児用玩具に使用されるフタル酸エステル代替可塑剤の毒性影響 *Bull. Natl. Inst. Health Sci.* 2012; 130: 31-42.

8. L Bernard , B Décaudin , M Lecoeur , D Richard, D Bourdeaux , R Cueff , V Sautou *Analytical Methods for the Determination of DEHP Plasticizer Alternatives Present in Medical Devices: A Review* *Talanta.* 2014; 129: 39-54.

9. 稲葉洋平, 金勲, 戸次加奈江, 緒方宏光, 林基哉, 樺田尚樹. 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. 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29年度分担研究報告書.

F 研究発表

1. 稲葉洋平, 戸次加奈江, アイツバマイゆふ, 荒木敦子, 岸玲子. 北海道のハウスダスト中のフタル酸エステル類及びその代替物質の分析 91 回日本衛生学会学術総会. 2021.3.6-8. オンライン開催.

2. 稲葉洋平, 戸次加奈江, 東賢一, 金勲. 国内のハウスダストのフタル酸エステル類およびフタル酸エステル代替物質分析 2020 年室内環境学会学術大会. 2020.12.3-4. 郡山市と Web 開催. 同講演要旨集. P85-86.

G 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 2-1 本研究班における測定対象フタル酸エステルとフタル酸エステル代替物質

日本語表記		化学物名称	略称	CAS No.	分子量	試験会社
未規制の フタル酸エステル	1	フタル酸ジメチル	Dimethyl phthalate	DMP 131-11-3	194.184	東京化成
	2	フタル酸ジエチル	Diethyl phthalate	DEP 84-66-2	222.24	東京化成
	3	フタル酸ジイソブチル	Diisobutyl phthalate	DIBP 84-69-5	278.34	関東化学
	4	フタル酸ジシクロヘキシル	Dicyclohexyl Phthalate	DCHP 84-61-7	330.42	関東化学
規制フタル酸 エステル類	5	フタル酸ベンジルブチル	Butyl benzyl phthalate	BBP 85-68-7	312.36	関東化学 フタル酸エステル類混合 標準液Ⅲ（6種混合）
	6	フタル酸ジ-n-ブチル	Di-butyl phthalate	DBP 84-74-2	278.35	
	7	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)	Bis(2-ethylhexyl)phthalate	DEHP 117-81-7	390.56	
	8	フタル酸ジイソデシル	Di-isodecyl phthalate	DIDP 26761-40-0	446.66	
	9	フタル酸ジイソノニル	Di-isononyl phthalate	DINP 28553-12-0	418.62	
	10	フタル酸ジ-n-オクタチル	Di-octyl phthalate	DNOP 117-84-0	390.56	
未規制の フタル酸エステル 代替可塑剤	11	アセチルクエン酸トリブチル	Acetyl tributyl citrate	ATBC 77-90-7	402.48	東京化成
	12	セバシン酸ジブチル	Dibutyl sebacate	DBSb 109-43-3	314.46	東京化成
	13	アジピン酸ビス-(2-エチルヘキシル)	Bis(2-ethylhexyl)adipate	DEHA 103-23-1	370.57	SUPELCO
	14	テレフタル酸ビス-(2-エチルヘキシル)	Bis(2-ethylhexyl)terephthalate	DEHT 6422-86-2	390.56	SUPELCO
	15	アジピン酸ジイソノニル	Diisononyl adipate	DINA 33703-08-1	398.62	和光純薬
	16	1,2-シクロヘキサジカルボン酸ジイソノニルエステル	1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester	DINCH 166412-78-8	424.66	BLD Pharmatech Ltd.
	17	テキサノール	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol-isobutyrate	TXOL 25265-77-4	398.62	AccuStandard
	18	トリオクタトリメリタート	Tris(2-ethylhexyl) Trimellitate	TOTM 3319-31-1	546.79	東京化成
	19	2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタジオールジイソノブチレート	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	TXIB 6846-50-0	286.41	SUPELCO
	20	2-エチル-1-ヘキサノール	2-Ethyl-1-hexanol	2EH 104-76-7	130.23	東京化成

Table 2- 2 ハウスダストのフタル酸エステルとその代替物質の定量下限値

DUST_フタル酸エステル				
下限値				
DMP	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DEP	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DIBP	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DBP	0.5	ng/mL	1	ng/mg_dust
BBP	0.5	ng/mL	1	ng/mg_dust
DCHP	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
ATBC	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DBSb	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DEHP	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DEHA	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DNOP	0.5	ng/mL	1	ng/mg_dust
DINP	10	ng/mL	20	ng/mg_dust
DIDP	0.5	ng/mL	1	ng/mg_dust
DINA	5	ng/mL	10	ng/mg_dust
TOTM	1	ng/mL	2	ng/mg_dust
DINCH	1	ng/mL	2	ng/mg_dust

Table 2-3 日本国内のハウスダストのフタル酸エステルとその代替物質の分析結果(162 家屋)

	Amounts (ng/mg dust)							
	<100 μm				100-250 μm			
	Median	Min	Max	Detection (%)	Median	Min	Max	Detection (%)
DMP	3.38	n.d.	28.3	4.94	3.50	n.d.	4.92	1.85
DEP	4.38	n.d.	19.9	6.79	3.01	n.d.	15.7	13.
DIBP	6.04	n.d.	132	73.5	7.66	n.d.	219	60.5
DCHP	4.66	0.19	19.9	9.88	3.59	0.01	11.4	3.7
BBP	3.20	n.d.	714	24.7	2.79	n.d.	101	24.7
DBP	29.9	n.d.	1,456	95.7	39.4	n.d.	2,157	94.4
DEHP	1,431	141	23,674	100.	1,831	203	10,907	100.
DIDP	34.3	0.73	13,344	99.4	28.9	n.d.	3,110	100.
DINP	200	16.7	1,315	100.	173	18.2	2,434	100.
DNOP	3.01	n.d.	164	16.	1.56	0.12	97.2	17.3
ATBC	13.0	n.d.	542	81.5	12.4	n.d.	1,042	60.5
DBSb	2.95	n.d.	10.0	3.7	4.33	n.d.	5.61	1.23
DEHA	7.33	0.20	110	86.4	8.6	n.d.	223	80.9
DINA	51.4	n.d.	108	4.94	44.0	n.d.	51.0	1.85
DINCH	5.77	0.19	1,593	87.	6.27	n.d.	2,752	71.6
TOTM	15.1	2.56	216	100.	13.1	2.65	182	100.

Table 2-4 国内のハウスダストのフタル酸エステルとその代替物質含有量と先行研究との比較

Study	Instrument	Country	particle size (μm)	n	Median (μg/g dust)								
					DMP	DEP	BBP	DBP	DIBP	DEHP	DINP	DNOP	DIDP
Present study	LC/MS/MS	Japan	<100	162	3.38	4.38	3.20	29.9	6.04	1431	200	3.01	34.3
		Japan	100-250	162	3.50	3.01	2.79	39.4	7.66	1831	173	1.56	28.9
Kim et al. 2016	GC/MS	Japan	-	21	-	-	-	18.1	-	810	-	-	-
Ait Barnai 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	-
		USA	-	33	0.08	2.0	21.1	13.1	3.8	304	-	0.4	-
Langer et al. 2011	GC/MS	Danish	<150	497	-	1.7	3.7	15	27	210	-	-	-
Abb et al. 2009	LC/MS/MS	Germany	-	30	-	-	15	87	-	604	129	-	-

*Total DINP and DIDP amounts.