

おもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

協力研究者

平山クニ

神奈川県衛生研究所

研究要旨

ポリ塩化ビニル製おもちゃ 24 検体について内分泌かく乱化学物質としての疑いがもたれているフタル酸エステル類およびアジピン酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHA) 等可塑剤の使用実態を調査した。さらに種々条件下、おもちゃから人工唾液への溶出試験を行った。その結果、すべてのおもちゃから可塑剤が検出され、主な可塑剤はフタル酸ジイソノニル (DINP) であった。その他フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP)、フタル酸ジ-n-ブチル (DBP) および DEHA が検出された。これらおもちゃから人工唾液への DINP および DEHP の溶出量は超音波の下では 0.05ppm 以上の溶出がみられたが、その他の条件では 0.05ppm 以下のものが多かった。DBP については材質に検出された試料では、いずれの条件においても 0.05ppm 以上の溶出が見られた。

A. 研究目的

近年、内分泌かく乱化学物質が大きな問題として取り上げられている。プラスチックの可塑剤として使用されるフタル酸エステル類やアジピン酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHA) 等も内分泌かく乱化学物質としての疑いがもたれている¹⁾。

軟質のポリ塩化ビニル製品には可塑剤が添加されており、おもちゃ類にもポリ塩化ビニル製のものがある。とくにおしゃぶりや、歯がためは乳幼児が直接口に入れるものであり、それ以外のおもちゃについても口に入れる可能性が充分考えられる。このような状況のもとでは、おもちゃの材質に由来する可塑剤の溶出が懸念される場所である。そこで、各種おもちゃについて、フタル酸エステル類および DEHA の使用実態を調査した。さらに、幼児がおもちゃをしゃぶることを想定し、種々条件下、おもちゃから人工唾液への溶出量を調査した。

本研究は幼児への暴露量を推察するための資料を提供するものである。

B. 研究方法

1, 試料

I 群：ガラガラ、歯がため、おしゃぶり、ボール 2 検体の計 5 検体、II 群：ままごと道具等 19 検体 (表 1)。

2, 測定項目

フタル酸ジエチル (DEP)、フタル酸ジプロピル (DPP)、フタル酸ジ-n-ブチル (DBP)、フタル酸ジ-n-ペンチル (DPEP)、フタル酸ブチルベンジル (BBP)、フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP)、フタル酸ジヘキシル (DHP)、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHA)、フタル酸ジノニル (DNP)、フタル酸ジ-n-オクチル (DnOP)、フタル酸ジイソノニル (DINP)、フタル酸ジイソデシル (DIDP) 以上 13 項目

3, 試薬

フタル酸エステル標準品：和光純薬 (株) および関東化学 (株)、ヘキサノール：関東化学 (株) 製フタル酸エステル測定用、アセトニトリル：和光純薬 (株)

4, 装置

ガスクロマトグラフ：Hewlett packard 社

製 HP6890 シリーズ

ガスクロマトグラフ／質量分析計：
Hewlett packard 社製 HP5890 シリーズおよび
日本電子（株）社製 Automass20

高速液体クロマトグラフ：Hewlett
Packard 社製 HP1100 シリーズ

5. 試験溶液の調製および測定

5.1 材質試験

試料を細切し、0.20g を三角フラスコに量りとり、ヘキサン 50mL を入れ、ときどき振りながら 48 時間放置した。この試験溶液を適宜希釈し、GC で測定し、GC/MS で確認を行った。

GC の測定条件

カラム：Hewlett packard 社製 HP-5
(30mmX0.32mm 膜厚 0.25 μ m)，カラム
温度：150 $^{\circ}$ C (1min) - 20 $^{\circ}$ C / min - 250
 $^{\circ}$ C (24min)，検出器：FID，注入方式：スプリット (20:1)

GC/MS の測定条件

カラム：J&W Scientific 社製 DB-1701
(30mX0.25mm 膜厚 0.25 μ m)，カラム温
度：50 $^{\circ}$ C (1min) - 20 $^{\circ}$ C / min - 280 $^{\circ}$ C
(15min)，注入口温度：220 $^{\circ}$ C，注入方式：
スプリット (50:1)，イオン化電圧：70eV，
イオン源温度：200 $^{\circ}$ C，インターフェイス
温度：240 $^{\circ}$ C

5.2 溶出試験

5.2.1 人工唾液の調製

1L 中に NaCl 4.5g, KCl 0.3g, Na₂SO₄ 0.3g ,
NH₄Cl 0.4g, 乳酸 3.0g , 尿素 0.2g を含む。

5.2.2 溶出条件

A) 室温で超音波 (45Hz) の下 10 分間放置，
B) 37 $^{\circ}$ C 24 時間放置，C) ガラス玉を入
れ，37 $^{\circ}$ C 24 時間振とう (90 回転 / min)

5.2.3 操作方法

1) フタル酸エステル類について

I 群の試料については、試料を 25 cm² に
切り取り、200mL のピーカーに入れ、人工
唾液 100mL を加え、5.2.2 の A) ~ C) の溶出

条件下で溶出を行なった。II 群の試料につ
いては B) の条件下でのみ溶出試験を行っ
た。また、一部の試料については切り取ら
ずに、100mL の人工唾液に入れ、おおよそ
の面積を計算して 1cm² につき 2mL になる
ように換算した。溶出液の測定は HPLC で
行った。また、検出限界以下の試料のうち
いくつかの試料について、溶出液 50mL を
ヘキサン 50mL で抽出後、減圧下、濃縮乾
固し、これにアセトニトリル 2mL を入れ
HPLC で測定を行った。

2) DEHA について

DEHA については、上記 1) で得られた溶
出液 50mL をヘキサン 50mL で抽出し、ヘ
キサン層を減圧下で 1mL に濃縮した後、GC
による測定を行った。

HPLC の条件

カラム：ODS-80Ts, 4.6mmID x25 cm L, カ
ラム温度：40 $^{\circ}$ C，移動相：アセトニトリ
ル：水 (95:5)，流速：1mL/min，検出波長
：225nm，注入量：50 μ L

C 実験結果および考察

1. 材質試験について

I 群のおもちゃ 5 検体、II 群のおもちゃ
19 検体計 24 検体について、材質中の可塑
剤の調査を行った。測定結果を表 1 に、標
準品と試料のガスクロマトグラムの一例を
図 1-1 ~ 1-3 に示した。24 検体すべてにフ
タル酸エステルが検出された。そのうち 20
検体に DINP が使用され、DINP だけのもの
とフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) あ
るいはフタル酸ジ-n-ブチル (DBP) との併用
されているものがあつた。その他 4 検体は
DEHP, DBP が使用され、DEHA が併用され
ているものもあつた。DINP は複数の異性
体の集合体であり、その標準品は図 1-2 の
ガスクロマトグラムに示すように、メーカ
ーによっては若干の違いがあつた。おもち
ゃの試料抽出液に検出された DINP もまた、
大きく分けて 2 つのパターンを示した (図

1-3). なお, DINP の含有量はパターンの似通った標準品との比較で測定した. また, DINP の分析は異性体をグループ化し, 総量として測定した. おもちゃ中のフタル酸エステル等の含有量は合計で 34.3-57.8% (No.12 と 13 を除く) と高い値を示した. No.12 はふうせん, No.13 は笛のストロー部分であり, DBP がそれぞれ 0.25% および 0.19% 検出された. 以上のようにおもちゃ類に使用されている可塑剤はフタル酸エステル類であり, DINP の使用が主流であった.

2, 溶出試験について

2.1 分析方法について

フタル酸エステルの分析は操作を重ねるごとに環境, 試薬, その他からの汚染を受け, ブランク値が大きくなることは避けられない. そこで, 操作行程を最短にするため, 5.2.3 に示したように溶出液をそのまま HPLC で測定することとした. DINP の液体クロマトグラムもまた, ガスクロマトグラム同様, 図 2-1 に示すように 2 通りのパターンを示した. DINP は異性体の集合体であるため, DEHP 等と比べて感度を得られず, 検出限界は 0.05ppm とした. ただし, 0.05-0.1ppm の試料および 0.05ppm 以下の試料では, 一部の試料について 5.2.3 の操作法に示したように, 溶出液をヘキサンで抽出し, 25 倍に濃縮した後, HPLC による測定を行い, 溶出量を確認した. また, DEHP および DBP の検出限界はブランク値を考慮に入れ, 今回は DINP 同様 0.05ppm とした. なお, DEHA は本条件においては感度を得られないため, 5.2.3 2) に示したように GC による測定を行った.

2.2 I 群のおもちゃからの可塑剤の溶出について

I 群のおもちゃは比較的乳幼児が使用するおもちゃが中心で, 口に入れることがを目的としたものや, 口に入れる可能性が考

えられるものである. これら I 群のおもちゃについては 5.2.2 に示した A) ~ C) の条件下で溶出試験を行った. 3 回行った溶出試験の結果を表 3 に示した. また, 標準品および試料抽出液の高速液体クロマトグラムを図 3 に示した. A) の溶出条件下では DINP および DEHP はバラツキはあるものの 0.05ppm 以上の溶出が見られた. しかし, B) および C) の条件下では 0.05ppm 以下のものが多かった. No.3 の試料は, B) の条件下でも 0.05ppm 以上の溶出が見られたが, ガラス玉を入れ, 振とうをした C) の条件下では 0.05ppm 以下となり, ガラス玉を入れ振とうしたにもかかわらずかえって溶出量が低かった. このことについてはビー玉を入れたため, 人工唾液への接触面が小さくなったためか, 溶出した可塑剤がビー玉に付着したためと考えられる. なお, 0.05ppm 以下を示した試料, つまり No.1 から No.5 の溶出条件 B) と C) のうち nd とした溶出液を用い, 試験方法に示したように濃縮操作を試みた. DEHP はブランク値が高くなり判断が難しいが, DINP は 0.01 ~ 0.05ppm の範囲で溶出があり, 不検出としたおもちゃからも若干の溶出は見られることを確認した.

DBP については, No.4 および 5 のように樹脂に DBP が使用されている場合には, いずれの条件においても溶出が見られた. DBP の溶出は A) の超音波の下より, B) および C) の条件のほうが溶出量がかえって高い値を示した. DBP の溶出量は超音波の振動より, 接触時間に影響されることが推測された.

また, DEHA は No.4 および 5 についてのみ測定したがすべての条件で 0.05ppm 以下であった.

No.1 ガラガラおよび No.3 のおしゃぶりをを用い, 試料を切り取らず試料の一部を 100mL の人工唾液に浸し, A) の条件下で溶

出試験を行った。この溶液を測定し、おおよそ 1 cm² に対し 2mL に換算したところ、0.05ppm 以下であった。表 2 に示すように 5x5 cm に切り取って測定した値と異なる結果となった。この違いは、おもちゃの内側と外側で何らかの違いがあるのか、切断面の影響であるのか明らかにすることはできなかったが、このことは傷などがついた場合には溶出量が高くなることをも示唆しているように思われた。

2.3 II 群のおもちゃからの可塑剤の溶出について

II 群のおもちゃについては溶出条件 B) のみの試験を行った。また、試料の数の都合により、2 回あるいは 3 回の測定となった。結果を表 3 に示した。II 群のおもちゃは一部の試料で表面積の計算が困難なため、全体を人口唾液 100mL に入れ溶出試験としたものがある (No10,11)。

I 群のおもちゃ同様に、II 群のおもちゃにおいても DINP, DEHP の溶出量は 0.05ppm 以下のものが多かった。表 3 に nd で示した試料のうち、7 試料の溶出液を濃縮し分析したところ、I 群のおもちゃ同様 0.01 ~ 0.05ppm の溶出があることが確認された。No.6, 7, 12.および 13 のように樹脂に DBP が含有された試料では 0.05ppm 以上の溶出がみられた。DINP および DEHP に比べて材質の含有量が低いにもかかわらず高い溶出が見られた。DINA の溶出量が大きかった検体は No.11 のままごと道具 F であるが、食品の素材がそれらしく表現されたおもちゃであり、表面積が非常に大きいと推測された。

以上、溶出試験の結果を示したが、ポリ塩化ビニル製おもちゃからの人工唾液への溶出については明確な傾向は得られなかったが、条件によっては多量の可塑剤が溶出される危険を含んでおり、幼児がなめたり、かんだりする事によってフタル酸エステル

等可塑剤の摂取はさけられないことが推測される。フタル酸エステルの生体への影響については種々報告³⁾⁻⁷⁾されており、幼児が使用するこれらおもちゃの可塑剤については慎重に扱う必要がある。

D まとめ

1) ポリ塩化ビニル製のおもちゃにはすべてフタル酸エステルが検出され、DINP が使用された検体が多く、その他 DEHP, DBP, DEHA が検出された。

2) おもちゃ材質中から人工唾液への溶出試験は、超音波の下では 0.05ppm 以上の溶出が見られたが、その他の条件においては検出限界 0.05ppm 以下のものが多かった。しかし、一部の試料の溶出液を濃縮し、測定したところ 0.01 ~ 0.05ppm の溶出が確認された。

3) DBP は材質中から人工唾液に溶出されやすいことが確認された。

4) 溶出条件の設定において、ガラス玉を入れ回転数(90/min)での振とうでは、想定した条件に至らなかったことが推測された。おもちゃからの可塑剤の溶出についてはすでに報告²⁾があるが、今後さらに乳幼児がしゃぶったり、なめたりするような、条件設定の下、溶出試験を実施し、より多くデータを提供することが必要である。

E 参考文献

- 1) 外因性内分泌かく乱化学物質に関する中間報告, 1997年7月 環境庁
- 2) Phthalate release from soft PVC baby toys, Report from the Dutch Consensus Group (<http://www.minvws.nl/engzoek..asp>)
- 3) Gray T.J.B and Gangolli S.D. : Aspects of the testicular toxicity of phthalate esters. , Environ Health Perspect , **65** , 229-235 (1986)
- 4) Agarwal D.K., et al : Effects of pararenteral di-(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP) on gonadal biochemistry , pathology, and reproductive performance of mice. J Toxicol Environ Health,

26, 39-59 (1989)

5) Dogra, R.K.S, Khanna, S., Srivastava,S.N., Shukla, L.J., Chandra, K., Saxena, G. and Shanker R.: Immunomoduration due to coexposure to styrene and dioctyl phtalate in mice, *Immunopharmacol Immunotoxicol*, **15**, 491-514 (1993)

6) Davis, B.J., Maronpot, R.R., and Heindel, J.J.: Di-ethylhexyl phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats , *Toxicol Appl Pharmacol*, **128**, 216- 223 (1994)

7) Jobling S., Reynold T., White R., Parker M.G. and Sumpter J.P : A Variety of environmenntally persistent chemicals, Including some phthalate plasiticizers, are weakly Estrogenic., *Environ Health Perspect.*, **103** , 582-587 (1995)

表1 おもちゃ材質中の可塑剤使用実態調査

試料No.	品名	DINP(%)	DEHP(%)	DBP(%)	DEHA(%)
I 群	1 ガラガラ A	41.3			
	2 歯がため	43.6			
	3 おしゃぶり	57.8			
	4 ボール A		16.7	11.3	1.4
	5 ボール C		34.7	22.3	0.3
II 群	6 ままごと道具 A	30.0	4.5	4.5	
	7 ままごと道具 B	14.5	10.1	9.4	
	8 ままごと道具 C	40.1			
	9 ままごと道具 D	39.4			
	10 ままごと道具 E	45.4			
	11 ままごと道具 F	37.1			
	12 ストロー A			0.25	
	13 ストロー B			0.19	
	14 ソフトドール I	37.2			
	15 ソフトドール J	34.3	3.4		
	16 ソフトドール K	42.6			
	17 ソフトドール L	41.0			
	18 ソフトドール S	38.6			
	19 ソフトドール T	34.9			
	20 ソフトドール U	36.8			
	21 トレーニング用おもちゃ	40.0			
	22a お寿司	19.3			
	22b お寿司入れ物	27.9			
	23 人形 D			38.2	
	24 人形 E	14.3			

表2 I群おもちゃの人工唾液への溶出試験

No.	商品名	検出された可塑剤	n	溶出条件											
				A			B			C					
				DINP	DEHP	DBP	DINP	DEHP	DBP	DINP	DEHP	DBP			
1	ガラガラ A	DINP	1	0.94			nd					nd			
			2	0.83			nd					nd			
			3	3.46			0.08						0.05		
2	歯がため	DINP	1	0.71			nd					nd			
			2	2.01			nd					nd			
			3	1.81			nd					nd			
3	おしゃぶり	DINP	1	1.56			0.11					nd			
			2	1.04			0.15					nd			
			3	0.77			0.16					nd			
4	ボール A	DEHP, DBP, DEHA	1		0.15	0.24				nd	0.52		nd	0.60	
			2		0.17	0.31				nd	0.52		0.05	0.61	
			3		0.07	0.24				0.05	0.51		nd	0.60	
5	ボール C	DEHP, DBP, DEHA	1		0.17	0.25				nd	0.81		0.08	0.83	
			2		nd	0.15				nd	0.83		0.14	0.85	
			3		0.14	0.13				nd	0.83		nd	0.83	

溶出条件 A: 室温で超音波(45Hz)の下10分間放置

B: 37°C 24時間静置

C: ガラス玉を入れ、37°C 24時間振とう

nd: <0.05ppm

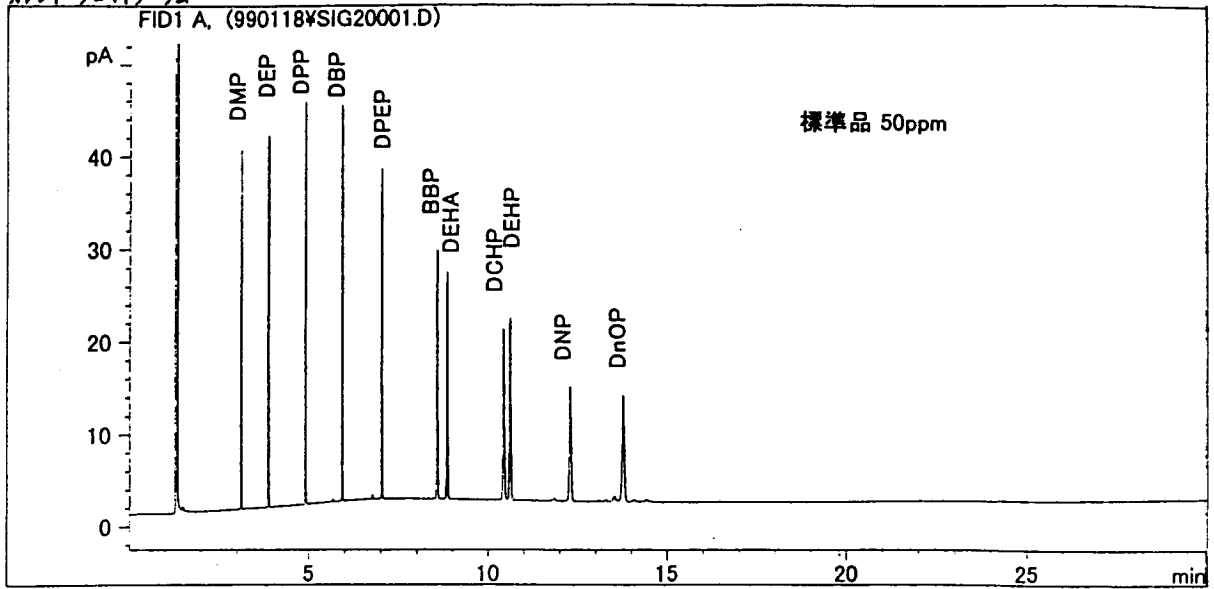
表3 II群おもちゃの溶出試験結果

No.	品名	材質に検出された可塑剤	DINP			DEHP		DBP	
			1	2	3	1	2	1	2
6	ままごと道具 A	DINP, DEHP, DBP	nd	nd		nd		0.64	0.84
7	ままごと道具 B	DINP, DEHP, DBP	nd	nd		nd		0.63	0.60
8	ままごと道具 C	DINP	nd	nd					
9	ままごと道具 D	DINP	nd	nd					
10	ままごと道具 E	DINP	nd	nd					
11	ままごと道具 F	DINP	0.36	0.54					
12	ストロー A	DBP						0.22	0.19
13	ストロー B	DBP						0.81	0.70
14	ソフトドール I	DINP	nd	0.06	nd				
15	ソフトドール J	DINP, DEHP	nd	nd		nd			
16	ソフトドール K	DINP	nd	nd	nd				
17	ソフトドール L	DINP	nd	nd					
18	ソフトドール S	DINP	nd	0.05	nd				
19	ソフトドール T	DINP	nd	nd	nd				
20	ソフトドール U	DINP	0.11	0.36	0.49				
21	ソフトドール	DINP	nd	nd	nd				
22a	お寿司	DINP	nd	nd	nd				
22b	お寿司入れ物	DINP	nd	nd					
23	人形 D	DEHP				nd			
24	人形 E	DINP					nd		

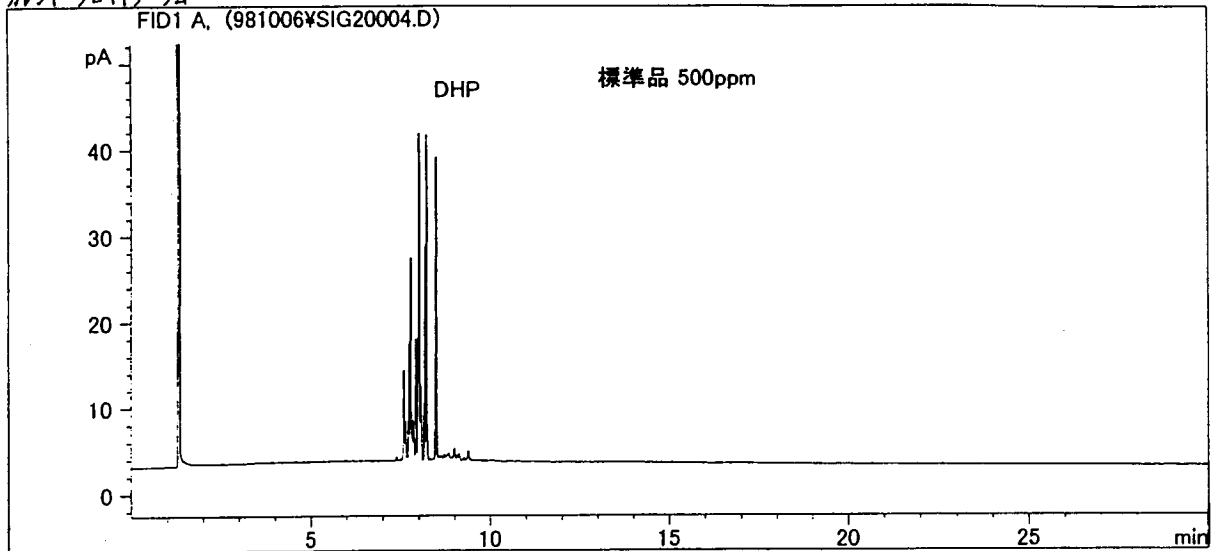
溶出条件: 37°C 24時間静置

nd: <0.05ppm

カレントクロマトグラム



カレントクロマトグラム



カレントクロマトグラム

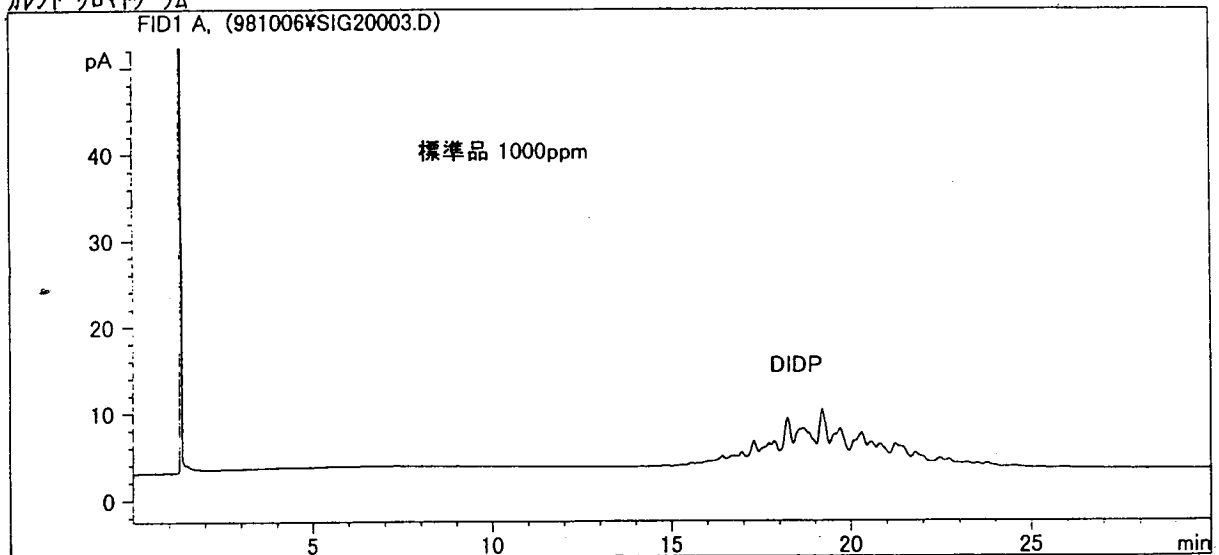
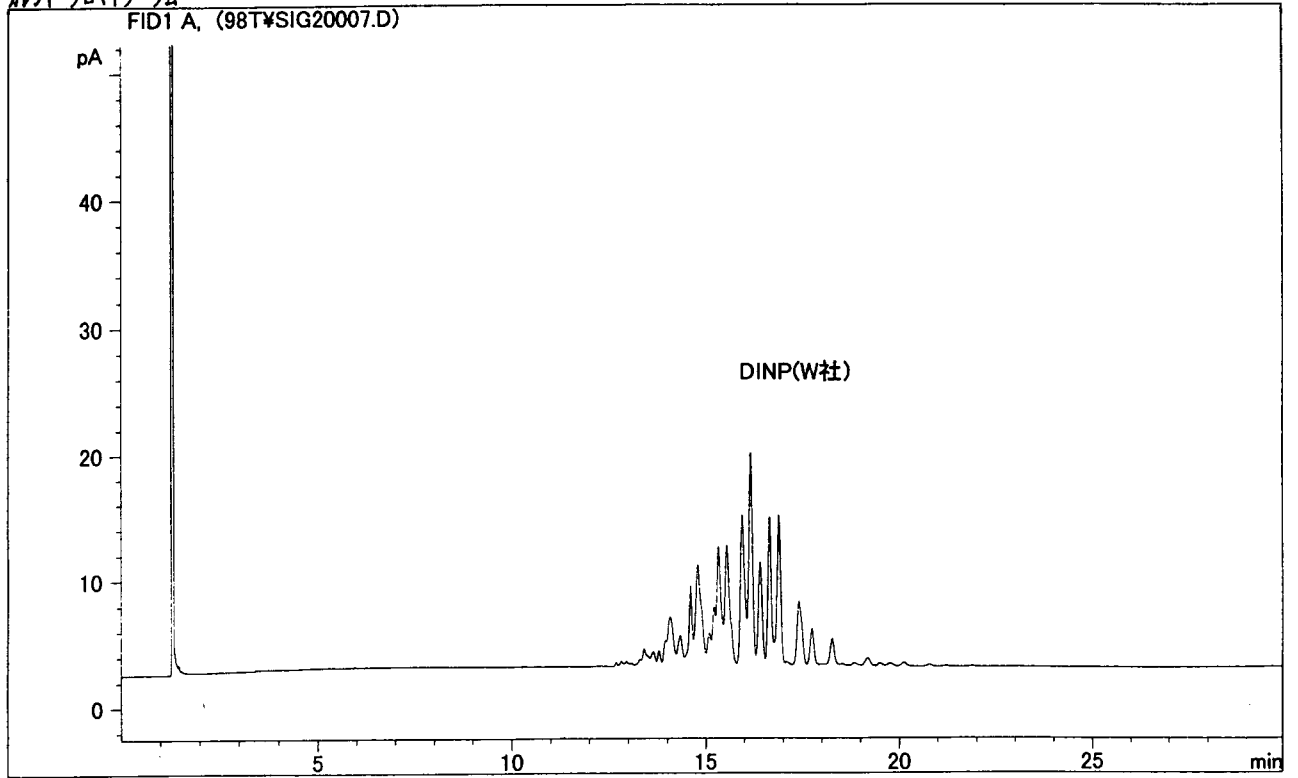


図 1-1 標準品のガスクロマトグラム

ガスクロマトグラム



ガスクロマトグラム

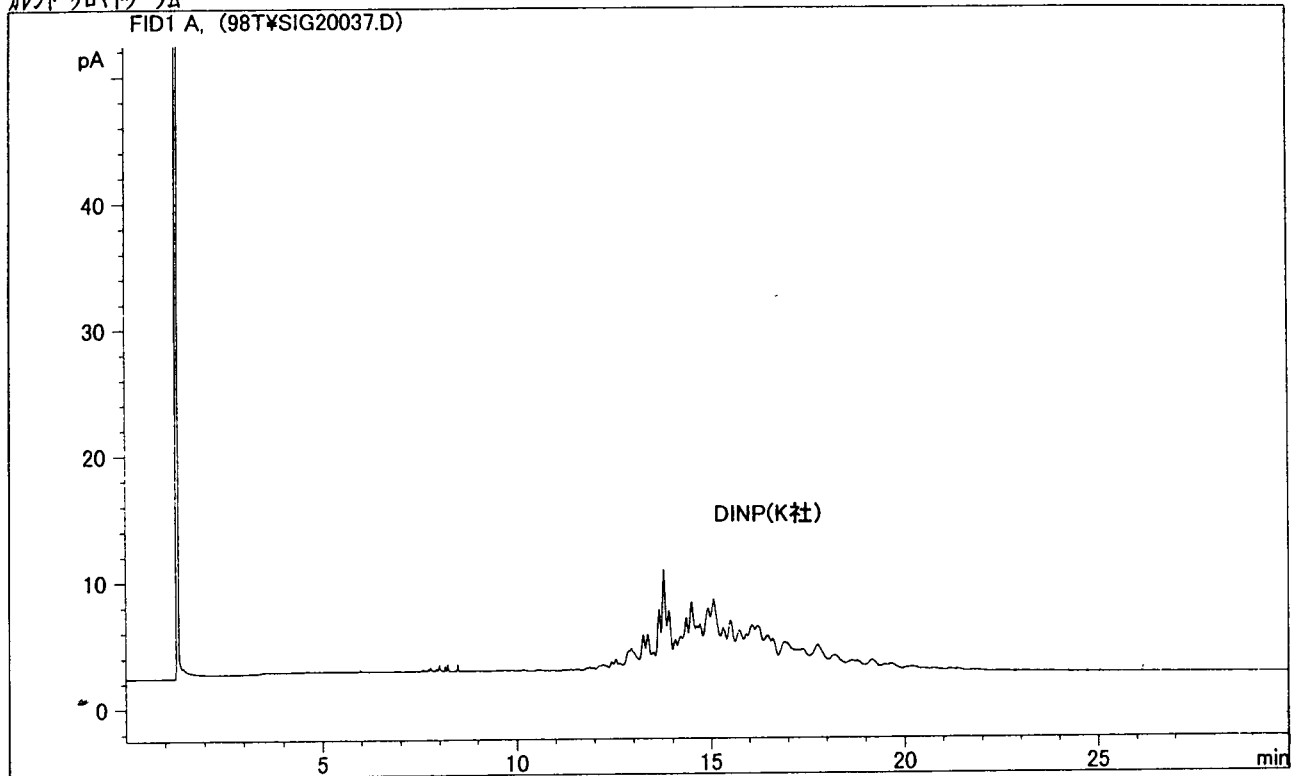
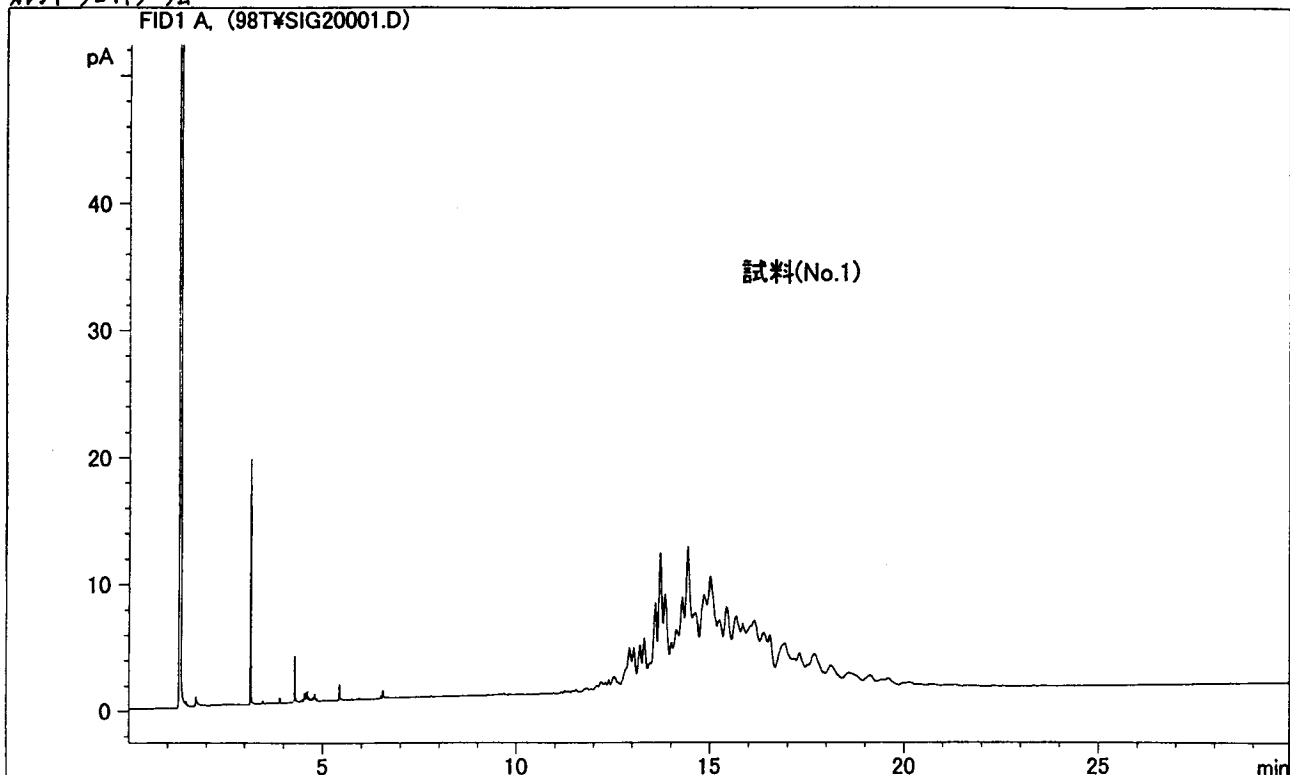


図 1-2 標準品のガスクロマトグラム

カレント クロマトグラム



カレント クロマトグラム

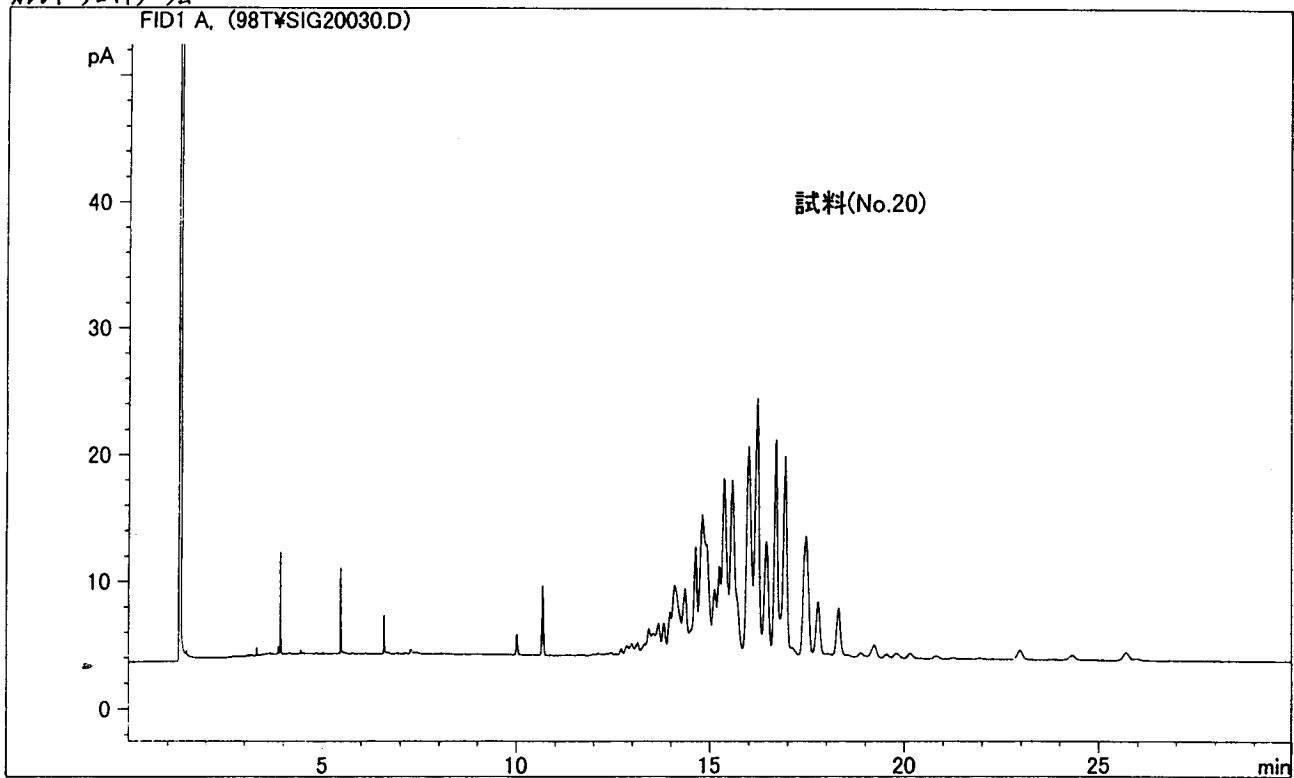
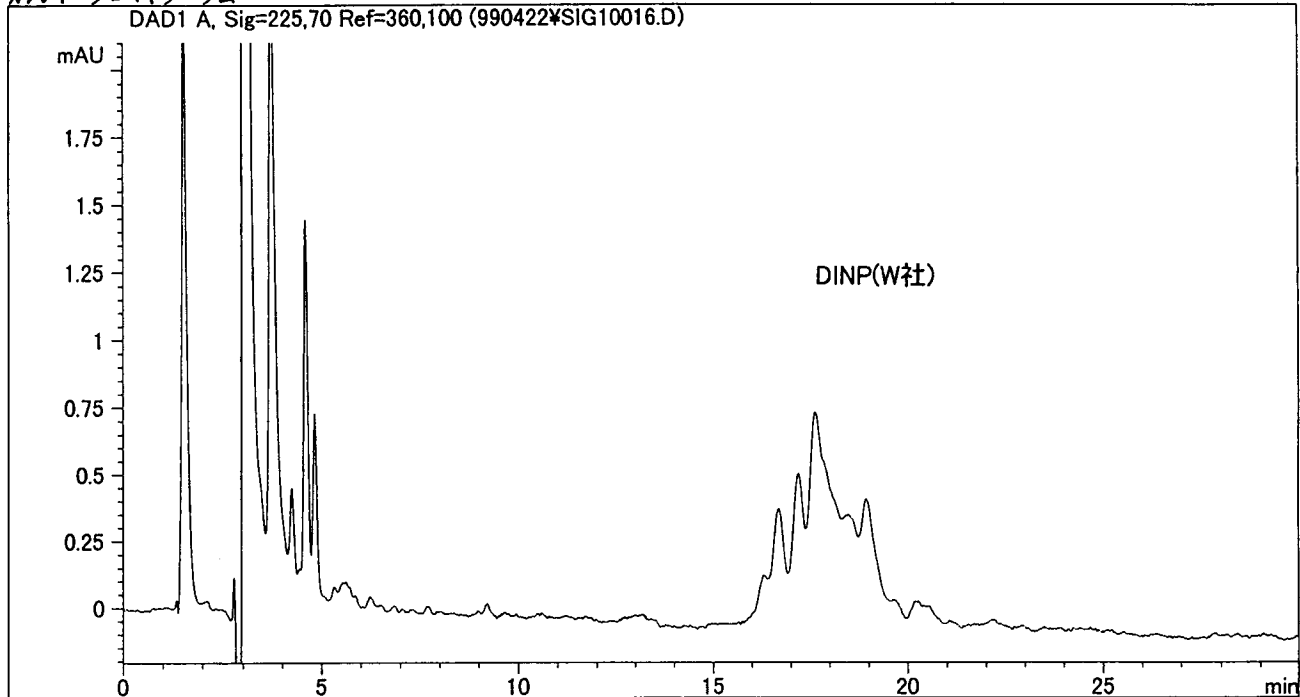


図 1-3 試料抽出液のガスクロマトグラム

カレント クロマトグラム



カレント クロマトグラム

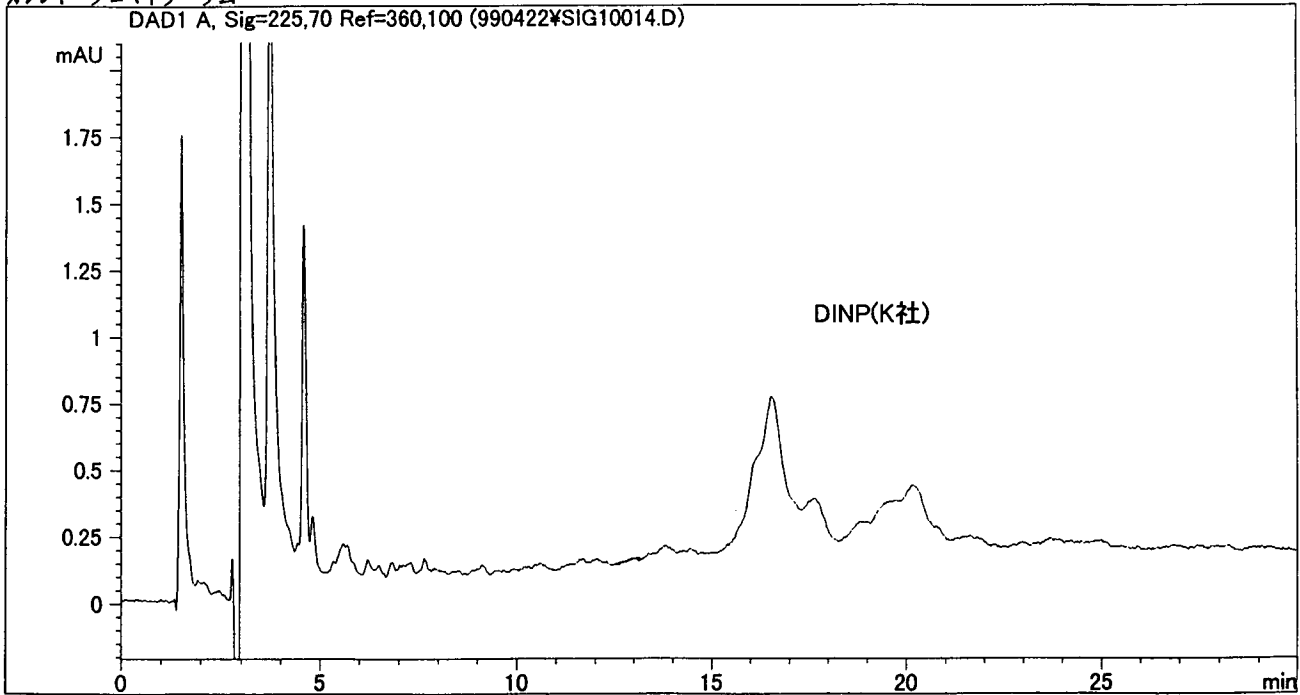
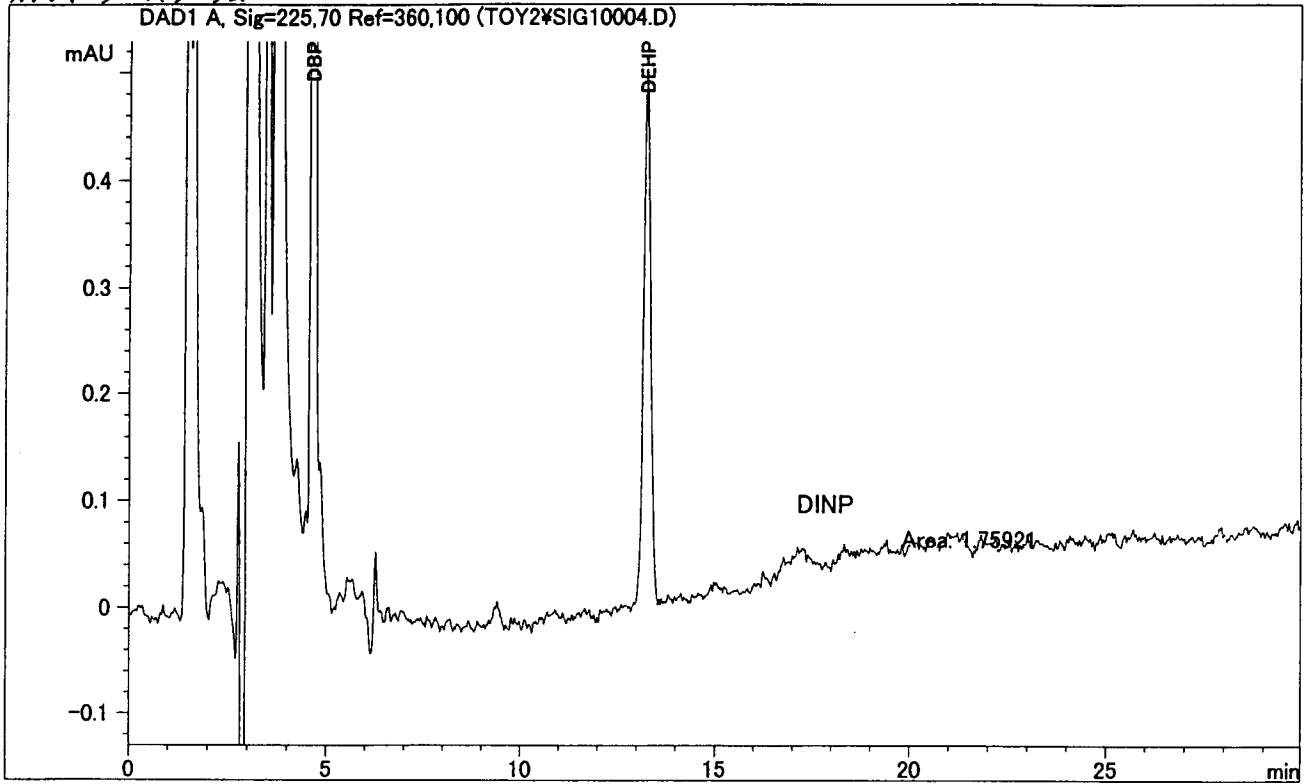


図 2-1 DINP 標準品の高速液体クロマトグラム

カレント クロマトグラム



カレント クロマトグラム

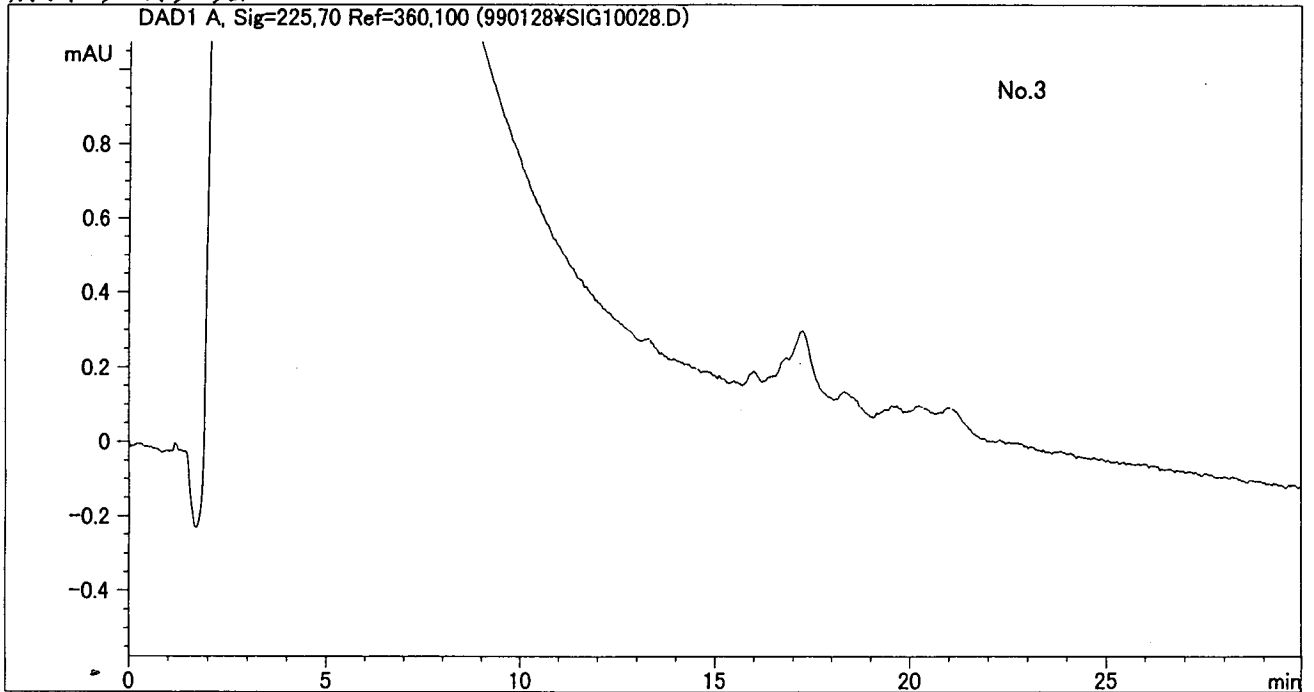


図 2-2 標準品 (DBP, DEHP, DINP:0.05ppm)および試料抽出液の高速液体クロマトグラム