

高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態解析

容器包装素材等からの内分泌かく乱化学物質の動態

血液バッグ保存血液中の内分泌かく乱化学物質の分析

主任研究者 中澤裕之  
星薬科大学

研究協力者 宮崎 豊  
猪飼誉友  
近藤文雄  
伊藤裕子  
岡 尚男  
松本 浩  
愛知県衛生研究所

要旨

輸血用血液バッグに豚の血液を詰めて冷蔵保存した後、揮発性有機化合物を分析したところ、その血液中にはベンゼン、トルエン、スチレンモノマーなどの芳香族系有機化合物が経時的に増加し、20日の保存期間でこれらは数十 ppb の濃度に達することが確認された。これらの化合物は、バッグ中に残存していたものが血中に溶出したもののみではなく、空気中に存在していたものがバッグを通過し、バッグ中の血液に移行した可能性も示唆された。また、これら芳香族系化合物の他に、血液バッグからはテトラヒドロフラン (THF) および 2-エチル-1-ヘキサノールが大量に溶出することも判明した。一方、母乳バッグに牛乳を詰めて 30 日間凍結保存した後、分析を行なったところ、調査した 2 種類のバッグのうち 1 種類からはトルエンの溶出が認められた。

A. 研究目的

輸血用の血液は通常プラスチック製バッグ中に採血、保存されるが、昨年度我々が実施した予備調査において、血液バッグに保存された血液は、ベンゼンやトルエン、スチレンモノマーなどの濃度が非保存血液に比べて、異常に高い値を示すことを見いだした。その原因については、血液バッグ中に残存している上述の化合物が保存中に血液中に溶出した可能性が考えられ、その化合物の種類や溶出量、さらには、製造メーカーの違いなどの調査を行なう必要性が生じた。しかしながら、このような調査には、汚染の少ない血液が大量に必要であり、人血を用いて行なうことは困難であると考えられた。そこで、と畜場で簡単に入手で

きる豚血液を用いて、血液バッグから血中に溶出する揮発性有機化合物の溶出挙動等について検討を加えた。一方、母乳を凍結保存する母乳バッグについても、血液バッグと同様にバッグから溶出する有機化合物による汚染が懸念されたことから、母乳の代わりに牛乳を用いて同様の検討を加えた。

B. 研究方法

1. 試薬および材料

揮発性有機化合物の標準品には「水中の揮発性有機化合物分析用標準溶液」（54 種混合メタノール溶液、各成分 1mg/mL、東京化成 S06052）を、また、内部標準物質として使用したベンゼン-d6、トルエン-d8、エチルベンゼン-d8、o, m, p-キシレン-d8、

スチレン-d8、p-ジクロロベンゼン-d4、ナフタレン-d8はCDN Isotopes社製(ケベック、カナダ)を、メタノールには和光純薬製残留農薬分析用を、ブランク水にはエピアン(輸入元:伊藤忠商事,販売者:カルピス)を、その他のについては、和光純薬製の特級試薬を使用した。血液バッグについては、JMS社製S-200(製造発売元:株式会社ジェイ・エム・エス、広島市)川澄製カーミC液KBS-200(製造元:川澄化学工業株式会社、東京都)、および、テルモ社製血液バッグCPD(製造元:テルモ株式会社、東京都)の3種類(いずれも採血容量200mL,CPD液入り)を、また、母乳バッグについてはカネソン本舗製(製造元:柳瀬ワイチ株式会社、大阪市)の100mLおよび200mL容量のもの2種類を用いた。

## 2. 試料の調製

血液バッグ と畜場において、と殺された豚から血液約10リットルをステンレス製バケツにて採取し、十分攪拌して均一化した。その血液を3種類の血液バッグ各10個に約200gずつ充填した後、チューブを2カ所結紮してバッグを密封した。血液の充填は、独自に考案した器具を用い、バッグ装着の採血針およびチューブを経由して行なった。それらとは別に、コントロールとしてバッグに詰めたものと同じ血液約500mLを50mL遠沈管10本に採取した。これらを衛生研究所に持ち帰り、血液バッグについては6°Cの冷蔵庫中に保存した。また、3種類のバッグの各1個は発泡スチロール製の小型容器に入れ、ふたを装着して、その他のバッグとは異なる冷蔵庫内で保存した。保存0日(血液採取当日)、および1、2、4、8、12、16、20日後にバッグを各1個ずつ開封して血液を50mL遠沈管に移し、遠心分離(3000rpm,20分)した後、上層に分離した血清を別の遠沈管にデカントにより移し、キャップをして分析を実施するまでの期間-30°Cで凍結保存した。発泡スチロール容器に入れたバッグは、20日後に開封し、同様に処理した。これら血液とは別に、血液採取当日に3種類の血液バッグ各2個にMilli Q水を約200mLずつ詰め、それらの各1個は、すぐに内容液を50mL遠沈管に移して凍結保存し、残りの1個は、密封して血液バッグと同じ冷蔵庫内

に保存し、20日後に開封して同様に処理した。

母乳バッグ 2種類の製品各2個に牛乳を規定量詰めて密封した。それらのうち各1個は即日開封して内容液を50mL遠沈管に移して凍結保存し、残りの各1個は-30°Cで30日間凍結保存した後、即日開封分とともに解凍し、試料とした。これらとは別に、2種類の製品各2個にMilli Q水を規定量詰め、牛乳の場合と同様に処理して試料とした。

ここで用いた50mL遠沈管は、すべてイワキ硝子製テフロンパッキン付きのスクリーキャップ型を用い、遠沈管部分は、洗剤およびメタノールで洗浄し、180°Cで5時間加熱処理後、窒素を吹き付けたものを、また、キャップ部分は洗剤およびメタノールによる洗浄後、窒素を吹き付けて使用した。

## 3. 分析条件

### ヘッドスペース条件

装置:Tekmer 7000 (Tekmer) バイアル容量:22mL (Chromacol, CV-22) バイアル加熱条件:60°C (20分) バイアル振とう装置:使用 (Power 5, 3分) サンプルループ容量:1mL サンプルループ温度:150°C トランスファーライン温度:160°C

### GC/MS条件

装置:AUTO MASS SYSTEM II (日本電子) カラム:Vocol (0.25 mm x 60 m, 1.5 μm, Spenco) カラム温度:40°Cで4分間保持し、230°Cまで毎分10°Cで昇温後、230°Cで5分間保持。イオン源温度:210°C イオン化:EI イオン化電圧:70 eV 検出方法:スキャン法 (m/z 46-260) モニターイオン:ベンゼン (m/z 78)、トルエン (m/z 91)、エチルベンゼン (m/z 91)、o, m, p-キシレン (m/z 91)、スチレン (m/z 104)、p-ジクロロベンゼン (m/z 111)、ベンゼン-d6 (m/z 84)、トルエン-d8 (m/z 98)、エチルベンゼン-d8 (m/z 98)、o, m, p-キシレン-d8 (m/z 98)、スチレン-d8 (m/z 112)、p-ジクロロベンゼン-d4 (m/z 115)。

## 4. 分析操作

試料 血清の場合は1mLを、牛乳の場合は2mLを、水の場合は7.5mLをそれぞれヘッドスペースバイアルに採り、希釈水を加えて全量を15mLとした後、内部標準溶液を

3  $\mu\text{L}$  加え、テフロン張りのシリコンゴムセプタムおよびアルミシールで密封した。このバイアルをヘッドスペースオートサンプラーにセットし、ヘッドスペース-GC/MS により測定を行なった。

**検量線および定量** ヘッドスペースバイアルにそれぞれの試料と同量のブランク水を入れ、希釈水を加えて全量を 15 mL とした後、内部標準溶液を 3  $\mu\text{L}$ 、および、混合標準溶液を 3  $\mu\text{L}$  加え、試料と同様に測定した。そこで得られた測定対象物質とその安定同位体内部標準の面積比により検量線を作成し、それを用いて試料中の濃度を算出した。**標準溶液等** 希釈水：300 $^{\circ}\text{C}$  で 5 時間加熱処理した食塩を飽和するまでブランク水に溶かした溶液 内部標準溶液：ベンゼン-d6、トルエン-d8、エチルベンゼン-d8、o, m, p-キシレン-d8、スチレン-d8 および p-ジクロロベンゼン-d4 の 5ppm メタノール溶液 混合標準溶液：水中の揮発性有機化合物分析用標準溶液 (54 種混合) をメタノールで段階的 (0.5、1.0、2.0、4.0 および 10.0ppm) に希釈した溶液。

## C. 結果と考察

### 1. 血液バッグ

予備分析として 20 日間保存した 3 種類のバッグから検出された血清中の揮発性有機化合物を、標準添加法、すなわち、コントロール豚血清に 54 種類の標準品を添加して作成した検量線を用いて、定量した。その結果、検出限界値 (表 1) 以上検出された化合物はベンゼン、トルエン、o, m, p-キシレン、エチルベンゼン、スチレンモノマー、p-ジクロロベンゼン、および、1,2,4-トリメチルベンゼンの芳香族系化合物 9 種類であった。しかしながら、ジクロロメタンおよびクロロホルムに関しては、実験室内および冷蔵庫内の汚染度が高く、検体に実際に含まれるこれらの物質の微量分析は不可能に近いことから、今回の検討の対象からは除外した。

予備分析で検出された化合物のなかで、安定同位体が入手できなかった 1,2,4-トリメチルベンゼンを除く 8 種類の化合物について安定同位体内部標準を用いて、試料の詳細な分析を実施した。その結果、表 2 に示したように、血液バッグの種類に関係無く、ほとんどの化学物質について保存期間

が長期に渡るほど血液中に高濃度に検出されてくる傾向が認められた。トルエンに関しては、保存しないコントロールの豚血清中には 0.8 ppb しか認められなかったものが、保存 20 日目には 10~20 倍となり、保存約 8 日目以降は非常に高濃度 (最高値 17.5 ppb) に検出された。一方、保存血中のベンゼン濃度は 20 日間という比較的長期の保存後に初めて著明に上昇し、2 種類のバッグではコントロールの検出限界値以下 ( $<0.5$  ppb) のものが、20 倍近い 9.0 ppb 以上の濃度に上昇していた。また、m, p-キシレンは 3 種類のバッグいずれにおいても、20 日間の保存後コントロールに比し約 5 倍の濃度の最高値を示した。o-キシレン、エチルベンゼン及び p-ジクロロベンゼンはコントロール血清中には検出されなかったものが、保存 20 日後には、最高でそれぞれ 1.1、3.2、2.5 ppb 検出された。さらに注目すべきことは、発泡スチロール容器に入れて保存した 3 種類のバッグ中の全ての血液から、異常に高濃度のスチレンモノマーが検出されたことである。コントロール血清中のスチレンモノマー濃度は検出限界以下であり、発泡スチロール容器に入れずに保存したバッグの血清中のスチレンモノマー濃度は最高でも 2.0ppb であったのに対し、発泡スチロール容器に保存されたバッグ中では最低でも 29.0 ppb、最高値は 43.4ppb と、約 20 倍もの高濃度であった。一方、血液バッグに Milli Q 水を詰めて行なった実験においても、血液の場合と同様に芳香族系化合物の増加が認められたが、それらの濃度は、血液に比べ低い傾向にあった。

以上の実験により、血液バッグに保存された血液中にはトルエン、キシレンおよびスチレンモノマーなどの芳香族系化合物が溶出し、その濃度は経時的に増加することが示唆された。また、発泡スチロール容器に保存したバッグと、そうでないバッグのスチレンモノマー濃度の顕著な違いから、血液中に検出される化合物は、バッグ中に残存していたものが血中に溶出したものばかりではなく、空気中に存在するこれらの化合物がバッグの中に入り込み、バッグ内の血液に移行したのも含まれる可能性が考えられた。もし、このように空気中の化合物が血液バッグを通り抜けて血中に移行

するのであれば、血液バッグの空気との接触面積が移行量に影響するものと考えられる。今回の実験で血液バッグは、チューブを上にして立てた状態で重ね合わせて保存されていたため、両端のバッグとその中間に置かれていたバッグでは空気に触れる面積に違いが生じていた。その違いが、表 2 に示したトルエンやベンゼンに顕著に見られる不規則的な濃度上昇の原因である可能性が十分に考えられる。また、20 日間保存したバッグからのみベンゼンが高濃度で検出されたことは、16 日目から 20 日目の保存期間中に、何らかの理由で冷蔵庫内のベンゼン濃度が急激に上昇する事態が発生したと仮定すれば、十分に説明可能である。その一方で、これら濃度のばらつきは、製品のばらつきによるものである可能性も否定できない。いずれにしても、例数を増し、条件をさらに変化させた追加実験が必要であると考えられる。

得られた分析データをさらに詳細に解析したところ、いずれの血液バッグからも、上述の 54 種類の揮発性有機化合物とは一致しない 3 種類の化合物が溶出していることが確認された。図 1 の①、②および③で示したように、それらの濃度はベンゼンやトルエンなどよりもはるかに高いことが推察された。図 2 に示したこれらのピーク付近のマススペクトルを基に、ライブラリー検索およびフラグメントイオンの解析などを行なったところ、①および③の 2 種類の化合物については、それぞれテトラヒドロフラン (THF) および 2-エチル-1-ヘキサノールであることが推定され、標準品とマススペクトルおよびリテンションタイムが一致することも確認された。②の化合物については、そのマススペクトルから③の 2-エチル-1-ヘキサノールに類似したアルコール系の化合物であることが推測されるが、現在まだ構造を推定するまでには至っていない。今後は、②の化合物の同定を行なうとともに、3 種類の化合物の血液中之への溶出挙動などについて検討を加える予定である。

テトラヒドロフランは、工業的には各種樹脂の溶剤、特に塩化ビニル系樹脂の溶剤として使用されている。今回検出されたものも、血液バッグに使われた樹脂に残存し

ていたものであると推察できる。一方、2-エチル-1-ヘキサノールについては、プラスチックなどに使われる可塑剤であるフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の製造原料であり、検出されたものは血液バッグの樹脂に使われた DEHP に含まれる未反応物、あるいは、バッグをオートクレーブで滅菌した際に、樹脂中に存在する DEHP が加水分解して生成した分解生成物であるという可能性が考えられる。

## 2. 母乳バッグ

母乳バッグ中に凍結保存した牛乳および Milli Q 水を、血液バッグと同様の条件下で分析した。その結果、表 3 に示したように、今回調査に用いた 2 種類のバッグのうち 1 種類 (100mL 容量の製品) において、牛乳中のトルエン濃度が保存 30 日後にコントロールの約 5.5 倍の濃度に増加していることが、また、同じ傾向が Milli Q 水についても認められた。その一方で、もう 1 種類の製品 (200mL 容量) では、牛乳中のトルエンの増加はほとんど認められず、Milli Q 水を用いた実験においてもトルエン濃度の増加はわずかであった。実験に用いたバッグは製造メーカー、材質等は同一で、容量のみが異なることから、前者のバッグは製造時に何らかの原因でトルエンに汚染され、バッグに含まれていたトルエンが保存時間の経過と共に溶出してきた可能性が示唆された。

## C. 結論

1. 血液バッグに詰めて冷蔵保存した豚血液中の揮発性有機化合物を分析したところ、ベンゼン、トルエン、スチレンモノマーなどの芳香族系有機化合物が検出され、それらは保存期間が長くなるに従い増加する傾向が認められた。

2. 発泡スチロール容器中に保存した血液バッグからは、発泡スチロールから放出されるスチレンモノマーが非常に高濃度に検出されたことから、空气中に存在する芳香族系有機化合物が、バッグを通過し、保存血液バッグ中の血液に移行する可能性が示唆された。

3. 血液バッグからは 3 種類の揮発性有機化合物が大量に溶出することが認められ、

それらのうちの2種類は、テトラヒドロフラン (THF) および 2-エチル-1-ヘキサノールであることが同定された。

4. 母乳バッグに牛乳を詰めて冷凍保存した検体からは、調査した2種類のバッグのうち1種類のみからトルエンの溶出が認められた。その原因は製造時におけるトルエンの混入と思われたが、その詳細については不明であった。

表1 予備分析した揮発性有機化合物名およびそれらの検出限界値

化合物名	検出限界値	化合物名	検出限界値
1,1-ジクロロエチレン	1ppb	エチルベンゼン	1ppb
ジクロロメタン	*	1,1,1,2-テトラクロロエチレン	2ppb
trans-1,2-ジクロロエチレン	1ppb	m,p-キシレン	1ppb
1,1-ジクロロエタン	1ppb	o-キシレン	1ppb
2,2-ジクロロプロパン	1ppb	スチレンモノマー	1ppb
cis-1,2-ジクロロエチレン	1ppb	イソプロピルベンゼン	1ppb
クロロホルム	*	ブromoホルム	2ppb
ブromokロロメタン	1ppb	1,1,2,2-テトラクロロエタン	2ppb
1,1,1-トリクロロエタン	1ppb	1,2,3-トリクロロプロパン	2ppb
1,1-ジクロロプロパン	1ppb	n-プロピルベンゼン	1ppb
四塩化炭素	1ppb	ブromobenゼン	2ppb
1,2-ジクロロエタン	1ppb	1,3,5-トリクロロベンゼン	1ppb
ベンゼン	1ppb	o,m-クロロトルエン	2ppb
トリクロロエチレン	1ppb	tertブチルベンゼン	1ppb
1,2-ジクロロプロパン	1ppb	1,2,4-トリメチルベンゼン	1ppb
ブromोजクロロメタン	1ppb	sec-ブチルベンゼン	1ppb
ジブromomeタン	2ppb	p-イソプロピルトルエン	1ppb
cis-1,3-ジクロロプロペン	2ppb	1,3-ジクロロベンゼン	1ppb
トルエン	1ppb	p-ジクロロベンゼン	1ppb
trans-1,3-ジクロロプロペン	2ppb	n-ブチルベンゼン	1ppb
1,1,2-トリクロロエタン	2ppb	1,2-ジクロロベンゼン	1ppb
1,3-ジクロロプロパン	1ppb	1,2-ジブromo-3-クロロプロパン	5ppb
テトラクロロエチレン	2ppb	1,2,4-トリクロロベンゼン	3ppb
ジブromokロロメタン	2ppb	ヘキサクロロブタジエン	3ppb
1,2-ジブromomeタン	2ppb	ナフタレン	3ppb
クロロベンゼン	1ppb	1,2,3-トリクロロベンゼン	3ppb

\* 研究室内の汚染のため、調査から除外した。

表2 血液バッグ保存実験の結果

JMS S-200 (200mL)	MiliQ水										
	コントロール						豚血液				
	0	20	0	1	2	4	8	12	16	20	20S*
ベンゼン	<0.05	<0.05	2.62	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	9.0	<0.5
トルエン	<0.05	0.15	2.23	0.8	12.2	3.8	17.5	6.7	9.1	16.3	11.5
m,p-キシレン	<0.05	<0.05	0.17	0.8	2.2	0.6	2.4	2.5	3.0	4.2	3.5
o-キシレン	<0.05	<0.05	0.06	<0.5	0.5	<0.5	0.5	0.5	0.7	0.9	1.0
エチルベンゼン	<0.05	<0.05	0.14	<0.5	1.1	<0.5	1.5	1.6	1.7	2.8	2.9
スチレンモノマー	<0.05	<0.05	0.06	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.0	1.0	1.5	29.0
p-ジクロロベンゼン	<0.05	<0.05	<0.05	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	2.0	1.7	1.8	1.2

カワスミ カーミC液 (200mL)	MiliQ水										
	コントロール						豚血液				
	0	20	0	1	2	4	8	12	16	20	20S*
ベンゼン	<0.05	<0.05	2.49	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.8	<0.5
トルエン	<0.05	0.14	1.36	0.8	4.4	1.3	6.8	6.7	8.0	8.0	7.0
m,p-キシレン	<0.05	<0.05	0.15	0.8	1.9	0.7	2.4	2.4	3.2	3.5	3.2
o-キシレン	<0.05	<0.05	0.05	<0.5	0.5	<0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.9
エチルベンゼン	<0.05	<0.05	0.13	<0.5	1.3	<0.5	1.6	1.5	2.1	2.6	3.1
スチレンモノマー	<0.05	<0.05	0.09	<0.5	0.6	<0.5	0.8	1.0	1.4	1.5	33.3
p-ジクロロベンゼン	<0.05	<0.05	0.15	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.0	1.1	1.4	<1.0

テルモ 血液バッグCPD (200mL)	MiliQ水										
	コントロール						豚血液				
	0	20	0	1	2	4	8	12	16	20	20S*
ベンゼン	<0.05	<0.05	3.42	<0.5	<0.5	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	9.6	<0.5
トルエン	<0.05	0.45	1.36	0.8	4.3	2.5	6.6	16.0	7.2	8.6	7.7
m,p-キシレン	<0.05	<0.05	0.19	0.8	1.7	1.5	1.8	2.0	3.2	4.6	3.9
o-キシレン	<0.05	<0.05	0.07	<0.5	0.5	<0.5	0.5	<0.5	0.7	1.1	1.2
エチルベンゼン	<0.05	<0.05	0.16	<0.5	1.0	0.9	0.9	1.1	2.1	3.2	4.1
スチレンモノマー	<0.05	<0.05	0.10	<0.5	<0.5	<0.5	0.8	0.6	1.5	2.0	43.4
p-ジクロロベンゼン	<0.05	<0.05	0.11	<1.0	<1.0	<1.0	1.1	1.1	1.7	2.5	1.8

単位：ppb, 20S\*発泡スチロールの容器に入れて20日間保存

表3 母乳バッグ保存実験の結果

カネソン本舗 母乳バッグ (100mL)

	MilliQ水				牛乳	
	コントロール		冷凍保存日数		コントロール	冷凍保存日数
	0	30	0	30	0	30
ベンゼン	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.5	<0.5
トルエン	<0.05	0.41	2.23	0.6	1.5	3.3
m,p-キシレン	<0.05	<0.05	0.07	0.7	0.7	0.7
o-キシレン	<0.05	<0.05	<0.05	<0.5	<0.5	<0.5
エチルベンゼン	<0.05	<0.05	0.06	<0.5	<0.5	<0.5
スチレンモノマー	<0.05	<0.05	<0.05	<0.5	<0.5	<0.5
p-ジクロロベンゼン	<0.05	<0.05	<0.05	<1.0	<1.0	<1.0

カネソン本舗 母乳バッグ (200mL)

	MilliQ水				牛乳	
	コントロール		冷凍保存日数		コントロール	冷凍保存日数
	0	30	0	30	0	30
ベンゼン	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.5	<0.5
トルエン	<0.05	<0.05	0.20	0.5	0.6	0.6
m,p-キシレン	<0.05	<0.05	0.09	0.7	0.7	0.6
o-キシレン	<0.05	<0.05	<0.05	<0.5	<0.5	<0.5
エチルベンゼン	<0.05	<0.05	0.07	<0.5	<0.5	<0.5
スチレンモノマー	<0.05	<0.05	<0.05	<0.5	<0.5	<0.5
p-ジクロロベンゼン	<0.05	<0.05	<0.05	<1.0	<1.0	<1.0

単位：ppb



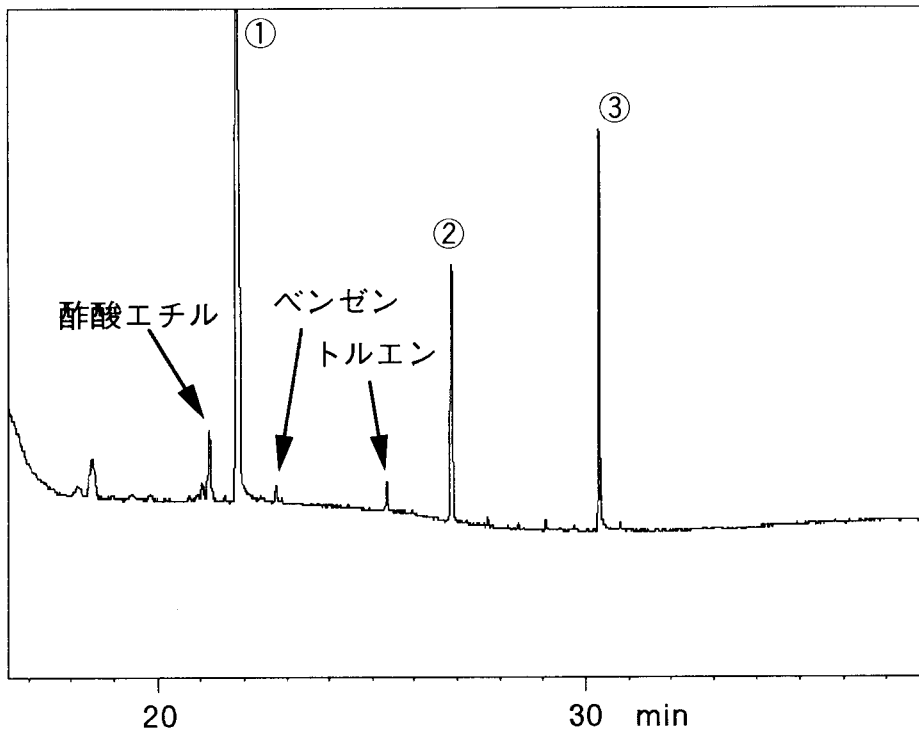


図1 血液バッグに詰めて20日間保存したMilliQ水のTIC

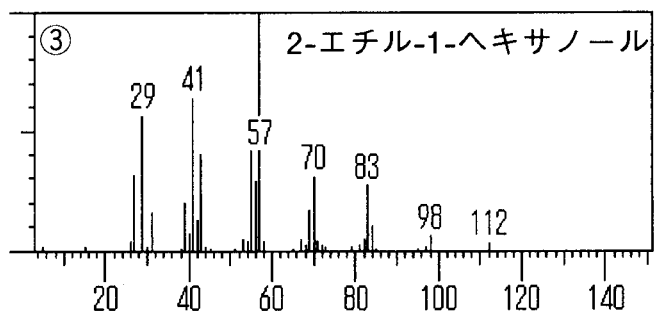
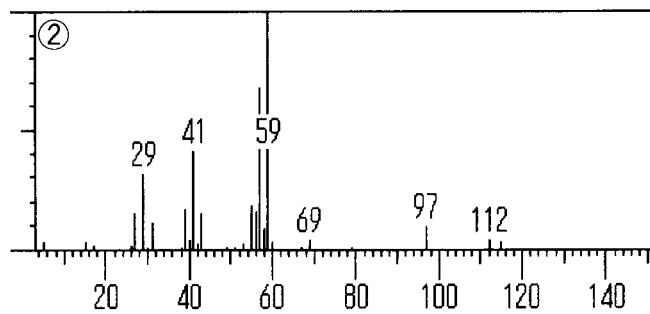
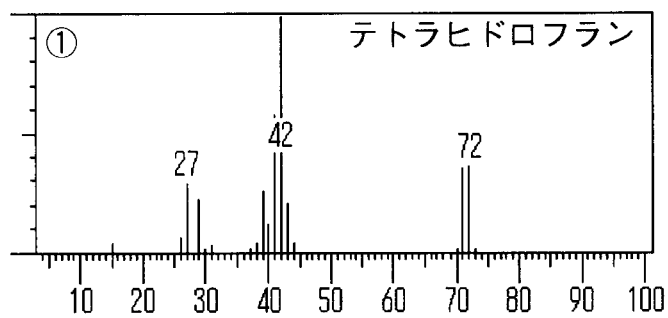


図2 血液バッグから溶出した3種類の化合物のマススペクトル  
およびそれらの同定結果