

# 分担研究報告書

## ポリ塩化ビニル製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

分担研究者 山田隆 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨 6～10ヶ月の乳児の MOUTHING 行動の観察の結果、1日の MOUTHING 時間は、平均  $105.3 \pm 72.1$  分で、フタル酸エステルを溶出する可能性の無いおしゃぶりを口に行っている時間を除くと、平均  $73.9 \pm 32.9$  分（最大値 136.5 分、最小値 11.4 分）であった。

ヒトが、フタル酸ジイソノニル (DINP) 58% を含む玩具の片を口に含んだ際、 $10 \text{ cm}^2$  あたり平均  $63.7 \mu \text{g/hr}$  の DINP が唾液中に溶出した。この値と、MOUTHING 行動の平均時間を用いて、乳幼児が、この玩具を口に入れた場合に摂取する DINP の量は  $78.4 \mu \text{g}$  と試算された。渦巻き振とう機を用い  $15 \text{ cm}^2$  の玩具片に 30 ml の人工唾液を加えて 300 回転/分で 10 分間振とうを行うと、ヒトが chewing したときの最大溶出量に近似した値が得られた。この方法により、乳幼児が、ある玩具を口に入れた場合、どの程度のフタル酸エステルを摂取する可能性があるかを推測できる。

協力研究者

乳児 MOUTHING 行動の実態調査

谷村雅子 (国立小児病院 小児医療研究センター)

ヒトの chewing による玩具から唾液へのフタル酸エステルの溶出-移行

石橋亨 (東京顕微鏡院 食品・環境科学センター)

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

松木容彦 (食品薬品安全センター 秦野研究所)

ポリ塩化ビニル製玩具からのフタル酸エステルの溶出試験法の検討

杉田たき子 (国立医薬品食品衛生研究所)

### A. 研究目的

フタル酸エステル類には、内分泌かく乱作用や、発ガン性が疑われる物質もある。乳幼児は、特に、内分泌かく乱物質の影響を受けやすい可能性もあることから、乳幼児が、玩具を口に入れてしゃぶり、あるいは噛んだとき、どの程度のフタル酸エステル類が溶出し、体内に入る可能性があるかに関する情報を得ることを目的として検討を行った。

この目的のため、まず、乳幼児が、どの程度

玩具等を口に入れるのかに関する観察・記録を行った。ついで、玩具等を口に入れた際、唾液中に、どの程度フタル酸エステル類が溶出してくるのかを知るために、大人が、口中にポリ塩化ビニル製玩具の片を入れ、軽く噛んだり、口中で動かしたりした際に、唾液中にどの程度フタル酸エステルが溶出するのかを測定する実験を行った。

ついで、ヒトによる実験を代替しうる、*in vitro* での溶出試験法の開発を行うことを目的とし、

溶出試験法の検討を行った。

これらの結果を総合し、乳幼児が、玩具を口に入れることを通じて、どの程度のフタル酸エステルを摂取する可能性があるのかを推定すること、及び、ある玩具を、乳幼児が口に入れた場合、どの程度のフタル酸エステルが溶出するかを推定する方法を見いだすことを最終目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 乳児 MOUTHING 行動の実態調査

6～10ヶ月の各月齢児5名、計25名の親に、1回15分ずつ10回、計150分ビデオカメラで児の様子を記録してもらった。記録に基づき、被験児の MOUTHING 時間を秒単位で測定し、1日の活動時間中の MOUTHING 時間を推計した。

### 2. ヒトの chewing による玩具から唾液へのフタル酸エステルの溶出

試料としては、主として、玩具に使用頻度のもっとも高い、フタル酸ジイソノニル(DINP)を含む玩具の片を使用した。一部、フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)、フタル酸ジヘプチルを含む玩具も使用した。

玩具を、表面積、約15cm<sup>2</sup>の片とし、あるいは、そのまま、口に含み、軽く噛んだり、舌で口中を転がした。この間、唾液は飲み込まない。一定時間(主として15分間)後、唾液を他の容器に取った。この課程を4回(合計60分間)繰り返した。唾液を希釈あるいは抽出後、高速液体クロマトグラフィーにより、フタル酸エステル量を測定した。

### 3. *In vitro* 溶出試験

使用機器：渦巻き振とう機(回転振幅 20 mm)

人工唾液：BS 6684 British Standard

塩化ナトリウム	4.5g
塩化カリウム	0.3g
塩化アンモニウム	0.4g
硫酸ナトリウム	0.3g
尿素	0.2g
乳酸	3.0g

を1Lの水に溶かし、5 mol/l 水酸化ナトリウムでpH 6.8に調整したもの。

溶出方法：玩具に直接手で触れないように手袋を用い、表面積15 cm<sup>2</sup>に切断し、50 mlの遠心管に入れ、人工唾液30 mlを加え、一定時間振とうした。

人工唾液は、アセトニトリルで希釈後、高速液体クロマトグラフィーにより分離定量した。

## C. 研究結果

### 1. 乳児 MOUTHING 行動の実態調査

6～10ヶ月児25名の1日の活動時間は、平均、615.0 ± 100.5分であった。1日あたりの MOUTHING 推計時間は、平均105.3 ± 72.1分であった。通常、おしゃぶりはフタル酸エステルを含有しない材質で作られているので、おしゃぶり以外のものの MOUTHING 推計時間を算出すると、平均73.9 ± 32.9分(最大値136.5分、最小値11.4分)であった(表1)。MOUTHING 時間の長さは、おしゃぶり使用時間に依存していた。MOUTHING 持続時間は、おしゃぶり以外のものでは、指・身体11.8秒、玩具7.4秒、玩具以外の合成樹脂製品8.5秒、その他8.7秒であった。

### 2. ヒトの chewing による玩具から唾液へのフタル酸エステルの溶出

口中にポリ塩化ビニル製玩具試験片として、DINP 含量58%のおしゃぶりの15cm<sup>2</sup>の片を入れたときの唾液へのDINPの溶出は、95.5 ± 40.4 μg/hrであった。昨年の予備実験では、平均300 ± 89.4 μg/hrの値を得ている。DINP 含量32%のガラガラでは、64.3 ± 37.5 μg/hr(昨年度328 ± 39.3 μg/hr)、DINP 含量36%の歯固めでは49.2 ± 20.8 μg/hr(昨年度188 ± 27.8 μg/hr)であった。

### 3. *In vitro* 溶出試験

昨年度は、上下振とう用振とう機を用いて検討を行ったが、*In vitro* 溶出試験は、温度の影響を受けることが分かったため、恒温槽中で振とう試験ができる、渦巻き振とう機を使用した。渦巻き振とう機を用い、30℃で毎分300回の振

とうを 10 分間行なったとき、バラツキも少なく、ほぼ昨年度行った、ヒト chewing の時の唾液への溶出量と近似した値を得ることが出来た。

#### D. 考察

##### 1. 乳児 MOUTHING 行動の実態調査

ビデオ記録の解析の結果、1 回の MOUTHING 持続時間が秒単位であることが分かったため、オランダ等で行われていた人による観察を記録する方法は適当でないと考えられる。おしゃぶりを口に入れておける行動は、他のものを口に入れる場合と大きく異なるため、おしゃぶりをしゃぶっている時間は、本観察が目的としている MOUTHING 時間から省くのが適切と考えられる。

##### 2. ヒトの chewing による玩具から唾液へのフタル酸エステルの溶出

乳幼児が、玩具等を口に入れたとき、どの程度の強さで噛むか、また、口の中で、どの程度頻りに舌でなめたりするかに関するデータはこれまで得られていない。また、唾液への移行実験を乳幼児を使って行うことは倫理上許されないことを考えれば、口の中での試料の動かし方が乳幼児と大人で異なる可能性があることや、大人の唾液と乳幼児のそれとが異なることを考慮しても、大人がこの実験を代替することはやむを得ない。

昨年度の予備実験の結果と、今年度、人数を増やして行った結果を比較すると、DINP の溶出量は 3 - 5 倍昨年度の方が多かった。これは、昨年度は、口中でかなり頻りに試料を動かして実験を行い、今年度は、被験者の好みに任せて時々動かしたことによる差と考えられる。今年度、同一人物が一週間の間隔を空けて同じ実験を行ったとき、溶出量はほとんど同じ値であった。今回算出した平均値は、この 2 回の値より算出したものである。

##### 3. *In vitro* 溶出試験

ヒト chewing によって得られた溶出量が昨年度の方が大きかったため、安全を考慮して、昨

年度の溶出量に近い値が得られる条件を検討した。表 2 に示したように、おしゃぶりとガラガラの場合は、ヒトの chewing の結果と *in vitro* 溶出試験の結果でほぼ近い値が得られた。

玩具の形状によっては、試験片を同じ形に切ることが不可能であり、そのような場合には、バラツキは大きくなった。試料が歯固めの場合はその例であり、溶出試験でのバラツキも大きかったが、chewing の結果とも大きな差が出た。

#### E. 結論

乳児 MOUTHING 行動の実態調査の結果と、ヒトの chewing による玩具から唾液への DINP の溶出の結果より、乳幼児が、今回試験に供したおしゃぶりと同量の DINP を含む玩具を口に入れた際、一日に口の中に入る DINP の量を試算した。オランダの報告では、幼児の口に入れる大きさを 10 cm<sup>2</sup> としており、今回の検討は、表面積 15 cm<sup>2</sup> の片で行ったため、今回得た溶出量を 2/3 倍した。平均では、今年度の chewing の平均溶出量である 95.5 μg/hr の 2/3 とおしゃぶり以外のものの MOUTHING 行動の平均時間 73.9 分とを乗じた 78.4 μg、最大で、昨年度の chewing の最大溶出量である 401 μg/hr の 2/3 と MOUTHING 行動の最大時間 136.5 分を乗じた 608.2 μg/hr となった。

ヒト（成人）が玩具片を口に入れたとき、唾液中に溶出するフタル酸エステルの量は、玩具片を人工唾液中に入れ、渦巻き振とう器を用いて 300 回転/分で振とうすることにより類推できることが分かった。

#### F. 研究発表

無し。

#### G. 知的所有権の取得状況

無し。

きることが分かった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

無し

## 2. 学会発表

1. 新野竜大、加藤文秋、石橋亨、伊藤武、坂井千三、杉田たき子、山田隆：ポリ塩化ビニル製おもちゃ中のフタル酸ジイソノニル(DINP)のヒト唾液への溶出-移行. 日本食品衛生学会第78回学術講演会(1999年10月、長野)

2. 杉田たき子、山田隆、平山クニ、長谷川康行、石橋亨：ポリ塩化ビニル製おもちゃ中のフタル酸エステル含有量及び溶出試験法の検討. 日本食品衛生学会第78回学術講演会(1999年10月、長野)

3. 平林尚之、福原克治、鷹野祐子、遠藤和香子、安生孝子、松木容彦、杉田たき子、山田隆. おもちゃからのフタル酸ジイソノニル(DINP)の *in vitro* 溶出の検討  
日本食品衛生学会第78回学術講演会(1999年10月、長野)

## G. 知的所有権の取得状況

無し

表1 各被験児の MOUTHING 時間の推計値 (分)

	月齢	MOUTHING 対象					おしゃぶり
		指	おしゃぶり	他の玩具	玩具以外の合成樹脂製品	その他	以外の合計
6-a	6	28.4	0.0	50.6	22.0	14.1	115.0
6-b	6	14.7	0.0	54.4	0.0	3.5	72.5
6-c	6	38.1	0.0	25.2	0.0	22.6	85.9
6-d	6	30.5	0.0	1.0	0.0	2.4	34.0
6-e	6	25.2	0.0	46.6	4.8	6.9	83.4
7-a	7	0.3	19.2	16.5	42.1	1.9	60.8
7-b	7	46.7	0.0	52.4	4.2	12.8	116.1
7-c	7	9.3	0.0	60.4	66.2	0.7	136.5
7-d	7	50.0	0.0	16.3	0.0	7.3	73.7
7-e	7	0.6	0.0	24.1	31.6	4.7	60.9
8-a	8	4.1	0.0	28.1	0.8	23.1	56.1
8-b	8	24.5	314.1	6.9	0.1	6.2	37.7
8-c	8	2.3	132.7	22.0	25.5	0.7	50.4
8-d	8	2.2	0.0	17.0	36.8	25.0	80.9
8-e	8	68.2	0.6	11.5	11.4	6.3	97.5
9-a	9	9.2	15.5	30.7	11.8	33.2	84.9
9-b	9	5.6	0.0	6.0	14.4	9.1	35.2
9-c	9	28.5	90.4	21.8	34.0	10.2	94.5
9-d	9	59.2	0.0	14.3	0.1	14.6	88.2
9-e	9	5.0	163.9	37.6	13.1	4.3	60.0
10a	10	54.2	0.0	9.7	36.0	28.8	128.7
10b	10	0.7	46.7	50.0	16.1	0.1	66.9
10c	10	3.6	0.0	2.0	0.0	5.8	11.4
10d	10	55.7	0.0	20.0	15.9	10.8	102.4
10e	10	0.2	0.0	1.3	12.3	1.1	14.9

表2 ヒト chewing による溶出量と渦巻き振とう機による溶出量

試料	DINP 含有量 (%)	Chewing $\mu$ g/hr *	<i>in vitro</i> 試験 $\mu$ g/hr*
おしゃぶり	58	300 ± 89.4	342 ± 16
ガラガラ	38	328 ± 39.3	252 ± 20
歯固め	39	188 ± 27.8	314 ± 38

\* : 試験片 15cm<sup>2</sup> からの溶出量.