

ポリ塩化ビニル製玩具からのフタル酸エステルの溶出に関する研究

一 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

および回転振とう方式による人工唾液への溶出 一

分担研究者 山田 隆¹⁾

協力研究者 石橋 亨²⁾

新野竜大²⁾（共同研究者）

小野寺祐夫³⁾（共同研究者）

所属 ¹⁾国立医薬品食品衛生研究所, ²⁾(財)東京顕微鏡院, ³⁾東京理科大学薬学部

研究要旨

本研究は平成 10 年度の厚生科学研究の結果に基づいて人工唾液への溶出では振とう方式を代え、さらにヒト chewing 実験では被験者人数を増やし、それぞれ試験研究を行ったものである。

I. フタル酸エステルのジエステル体およびモノエステル体の HPLC 分析とその確認

フタル酸ジエステルの DBP, DEHP, DhP および DINP と、フタル酸モノエステルの MBP および MEHP の HPLC 分析は、逆相系の ODS カラムで、ジエステル体の移動相をアセトニトリル・水(80:20)をリニアグラジエントによりアセトニトリル(100)とし、またモノエステル体は移動相をアセトニトリル・2%酢酸水溶液(80:20)とし、それぞれ良好な分離能が得られた。

GC-MS による確認は SIM モードにて行った。ジエステル体の確認にはフラグメントイオン m/e149 を測定した。モノエステル体の確認にはカルボキシル基をメチルエステル化し、asymmetric なフタル酸エステルとしたのち、フラグメントイオン m/e163 にて測定した。

II. 回転振とう方式による人工唾液へのフタル酸エステルの溶出

振とう方式に回転式を採用し、人工唾液へのフタル酸エステル溶出の条件設定を行った。試験品は PVC 製のおしゃぶり (DINP58.3%含有)、歯がため (DINP35.9%含有)、ソフト人形 A (DEHP32.0%含有) およびソフト人形 B (DhP25.0%含有) の 4 試験片を用い、60 分間 (15 分×4 回) における溶出条件を検討した。溶出溶媒としての人工唾液量、溶出温度および振とう回数それぞれは、30mL、35±5℃ および 300rpm/分に溶出条件を設定した結果、それぞれのフタル酸エステル溶出量にバラツキが少なく、ほぼ一定の溶出量を得ることが可能となった。この条件でのそれぞれの試験片からの 1 時間あたりの溶出量は、溶出温度 30℃ で、おしゃぶりの DINP が 460 μg、歯がための DINP が 395 μg、ソフト人形 A の DEHP が 547 μg そしてソフト人形 B の DhP が 75.7 μg であった。

また、設定した条件で 1 区分 (15 分間) ずつの溶出量をみたとき、第 1 区分の溶出量が 4 試験片ともに多く、第 2, 3, 4 区分と減少する傾向が見られた。

III. ヒトの chewing による乳幼児製玩具から唾液へのフタル酸エステルの溶出-移行

被験者を 30 人のべ人数 (54 人) で PVC 製玩具試験片の chewing 実験を行った。試験品は DINP 含有のおしゃぶり、歯がため、ガラガラ、DEHP 含有ソフト人形 A および DhP 含有ソフト人形 B の 5 種類とした。chewing 時間は 1 区分 15 分間とし、これを 4 回繰り返し、合計 60 分間とした。おしゃぶり試験片は同一被験者が同種の試験片を 2 回 chewing し、その DINP 溶出-移行量は 95.8

$\mu\text{g/hr}$ と $101\mu\text{g/hr}$ であった。歯がため試験片も同様に 2 回行い、 $53.2\mu\text{g/hr}$ と $52.1\mu\text{g/hr}$ 、ガラガラ試験片は 1 回で、 $64.3\mu\text{g/hr}$ 溶出-移行した。ソフト人形 A 試験片は DEHP が $32.6\mu\text{g/hr}$ 、ソフト人形 B は DHpP が $6.95\mu\text{g}$ それぞれ溶出-移行した。

またそれぞれの区分間では、おしゃぶり、歯がためおよびガラガラの第 1 区分で溶出量が多く、第 2 区分、第 3, 4 区分と除々に減少する傾向があった。しかし、ソフト人形 A とソフト人形 B ではこの傾向が見られず、第 1 区分、第 2, 3, 4 区分間の溶出-移行量の差はあまり見られなかった。

また、DBP および DEHP 含有するボールを同様に chewing 試験を行った結果、DBP および DEHP の溶出-移行量は $29.8\mu\text{g/hr}$ および $75.9\mu\text{g/hr}$ であった。さらに、フタル酸ジエステルの変化物質であるフタル酸モノエステルを測定したところ、MBP および MEHP を検出した。

はじめに

フタル酸エステルはプラスチック、特にポリ塩化ビニル(PVC)樹脂の柔軟性を増すために使用される可塑剤として広く使用されている。しかし、近年この物質の一部に内分泌攪乱化学物質「いわゆる環境ホルモン」として疑われ、内外問わず社会的に大きな関心が持たれている。とくに、これらをヒトが生体内に取り込むと生体内の正常なホルモン作用を攪乱、生殖機能の障害、あるいは発ガン発生などを引き起こす可能性が指摘されている¹⁾。

また、この物質はその大量使用性から環境中に広く存在し²⁾、すでに、ヒトを含めた動物はこれらの物質に暴露されていることが報告されている³⁾。とくに、乳幼児が使用する玩具類には PVC 製品が多く用いられており、製品に十分な可塑性をもたせるためフタル酸エステルが高濃度で使用され、乳幼児がこれらを chewing および mouthing することによるフタル酸エステルの暴露の可能性が世界的規模で社会問題となっている。すでにフタル酸エステルは乳幼児玩具製品の可塑剤としての使用が世界各国で禁止、あるいは自主的にその使用を控えるなどの対策が講じられている⁴⁾。しかし、このフタル酸エステルを含有する PVC 製玩具は広く社会に出回っていると思われる。

このような背景から、PVC 製玩具から乳幼児へのフタル酸エステル暴露量を知るために、ヒト成人の chewing によるモデル実験を、平成

10 年度に引き続き成人ボランティアの人数を増やし行った。また、ヒト唾液へのフタル酸エステル溶出に近似した溶出条件を設定するため、振とう機を用いた人工唾液への溶出試験の設定もあわせて行ったので、平成 11 年度の厚生科学研究として、以下のように報告する。

I. フタル酸エステルのジエステル体およびモノエステル体の HPLC 分析とその確認

II. 回転振とう方式による人工唾液へのフタル酸エステル(DEHP, DHpP および DINP)の溶出

III. ヒトの chewing による乳幼児製玩具から唾液へのフタル酸エステル(DBP, DEHP, DHpP および DINP)の溶出-移行

I. フタル酸エステルのジエステル体およびモノエステル体の HPLC 分析とその確認

1. まえがき

フタル酸ジエステル(DBP, DEHP, DHpP および DINP)およびそのモノエステル体の HPLC 分析、およびその確認法としての GC-MS 分析それぞれについて検討した。

また、設定した HPLC 法とその確認法を用いて、本溶出試験に用いる試験品玩具中のフタル酸エステル分析を行った。

2. 実験方法

試薬および器具

標準フタル酸エステル

- 1) フタル酸ジブチル (DBP)
- 2) フタル酸ジ 2-エチルヘキシル (DEHP)
- 3) フタル酸ジヘプチル (DHPp)
- 4) フタル酸ジイソノニル (DINP)
- 5) フタル酸モノブチル (MBP)
- 6) フタル酸モノ 2-エチルヘキシル (MEHP)

上記 6 種類のうち、DINP は関東化学社製および和光純薬社製を、MBP および MEHP は東京化成社製を、その他は関東化学社製をそれぞれ使用した。

アセトニトリル (HPLC 用、関東化学社製)
n-ヘキサン (フタル酸エステル、PCB 測定用、関東化学社製)

アセトニトリル-2%酢酸 (8:2) 溶液：酢酸 (関東化学社製) を精製水に溶かし 2%酢酸溶液を調整し、アセトニトリルと 8:2 になるよう混合した。

フタル酸ジエステル標準溶液：本実験には DINP 標準溶液、DBP、DEHP および DHPp 混合標準溶液の 2 種類を調整した。DINP または DBP、DEHP および DHPp の標準試薬をそれぞれ 100mg 正確に量り、アセトニトリル 100mL で定容したものを HPLC 用標準原液 (1mg/mL) とし、n-ヘキサン 100mL で定容したものを GC-MS 用標準原液 (1mg/mL) とした。各標準原液はアセトニトリル-精製水 (5:5) 溶液または n-ヘキサンで希釈し、各種濃度の標準溶液とした。

フタル酸モノエステル標準溶液：MBP および MEHP の標準試薬をそれぞれ 100mg 正確に量り、アセトニトリル 100mL で定容したものを HPLC 用標準原液 (1mg/mL) とし、n-ヘキサン 100mL で定容したものを GC-MS 用標準原液 (1mg/mL) とした。アセトニトリル-2%酢酸 (8:2) 溶液、または n-ヘキサンで希釈し、各種濃度の標準溶液とした。

トリメチルシリルジアゾメタン (TMSD) :

Aldrich 社製)

本実験に用いた試薬はすべてフタル酸エステルが含まれないことを確認した。また、実験に使用したガラス器具は使用前に 220℃ で 5 時間以上加熱処理した。

試験用玩具の種類

- 1) おしゃぶり
- 2) 歯がため
- 3) ガラガラ
- 4) ソフト人形 A
- 5) ソフト人形 B
- 6) ボール

装置

UV 検出器付高速液体クロマトグラフィー (HPLC) : LC-10, 島津製作所社製

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) : GCMS5050, 島津製作所社製

HPLC 用分析条件

カラム : Inertsil C8-3 (4.6×250mm)

カラム温度 : 40℃

ジエステル用移動相 : アセトニトリル・水 (8:2) からリニアグラジエントにより 8 分間でアセトニトリル (10) とした

モノエステル用移動相 : アセトニトリル・2%酢酸 (8:2) 溶液

流速 : 1.0mL/分

検出器 : UV (検出波長 254nm)

GC-MS 測定条件

GC 部

カラム : CBP-5 (50m×0.25mm i. d., 0.25 μm)

カラム温度 : 初期温度 100℃ (1 分保持) → 昇温 20℃/分 → 最終温度 280℃

注入口温度 : 290℃

インターフェース温度 : 290℃

MS 部

イオン源温度 : 290℃

イオン化電圧 : 70eV

検出モード : SIM

フタル酸エステルの確認

フタル酸ジエステルの確認は、直接 GC-MS の SIM モードにて行った。確認に用いたフラグメントイオンは m/e 149 である。

また、フタル酸モノエステルの確認は、フタル酸モノエステルのカルボキシル基をメチルエステル化し、GC-MS の SIM モードにて行った。確認に用いたフラグメントイオンは m/e 163 である。

メチルエステル化：GC-MS 用フタル酸モノエステル標準溶液 1mL を窒素気流下で濃縮乾固させ、酢酸エチル、メタノールおよび TMSD をそれぞれ 500, 100 および 30 μ L 加え、室温で 30 分間メチルエステル化を行った。反応後、窒素気流により濃縮乾固させ、*n*-ヘキサンを 1mL 加え、GC-MS 分析を行った。

3. 結果および考察

フタル酸ジエステルの HPLC 分析

DBP, DEHP, DHpP および DINP の HPLC 分析法について検討した。

HPLC 分析用カラムは逆相系の ODS 系カラムを用い、移動相にはアセトニトリル・水の混合溶媒を使用した。すでにフタル酸エステルの HPLC 分析条件は数多く報告され、また著者らは平成 10 年度の厚生科学報告書で、アセトニトリル・水の混合比を変化させたアセトニトリル濃度勾配法による HPLC 分析条件を設定している。この方法は 11 種類のフタル酸エステルを良好に分離するために 70%アセトニトリル水を 15 分と比較的緩やかな濃度勾配で 100%にするものである。しかし、本実験では対象としているフタル酸エステルが 4 種類と少ないため、初期のアセトニトリル濃度を 80%とし、8 分間で 100%とする濃度勾配法を利用した。このことより、短時間で分析を行うことを可能とした。

フタル酸モノエステルの HPLC 分析

モノエステル体の MBP または MEHP はジエステル体の DBP または DEHP から一つのエステ

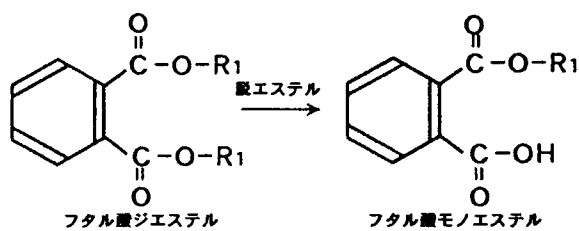


図-1 フタル酸ジエステルの脱エステル化によるフタル酸モノエステルの生成

ル結合が切断し、脱離したもので、図-1 で示されるフタル酸エステルである。

フタル酸モノエステルは、それ自身にカルボキシル基を持つ酸性物質であるため、フタル酸ジエステルを分析する移動相アセトニトリル・水 (8:2) ではクロマトグラムのピーク形状がブロードになってしまい、分析することが困難であった。そこで、ジエステル体分析に使用した移動相に 2%酢酸水溶液を添加し、移動相を酸性にして分析を行った。アセトニトリル・2%酢酸水溶液 (8:2) を移動相とし、MBP および MEHP を分析したところ、ピーク形状良好な MBP および MEHP のピークが得られた。

またこの HPLC 分析条件で、MBP と MEHP さらに DBP と DEHP の合計 4 種類のフタル酸エステル混合液を分析したところ、分離能良好なクロマトグラムが得られた。

フタル酸ジエステルとモノエステルの GC-MS による確認

フタル酸ジエステルはこの分子のまま GC-MS 分析が可能であり、SIM モードにて、フタル酸エステルのエステル部分が脱離した、無水フタル酸の基準フラグメントイオン m/e 149 を測定することで DBP, DEHP, DHpP および DINP の確認を行うことが可能である。

一方、モノエステルの MBP および MEHP は、分子内にカルボキシル基を有し、GC 分析を行うには十分な無極性を持っていない。そこで、そのカルボキシル基をエステル化した後、GC-MS 分析する手段について検討した。本報告で対象としているフタル酸ジエステルはその構造上 symmetric 体である。これらエステルの 1

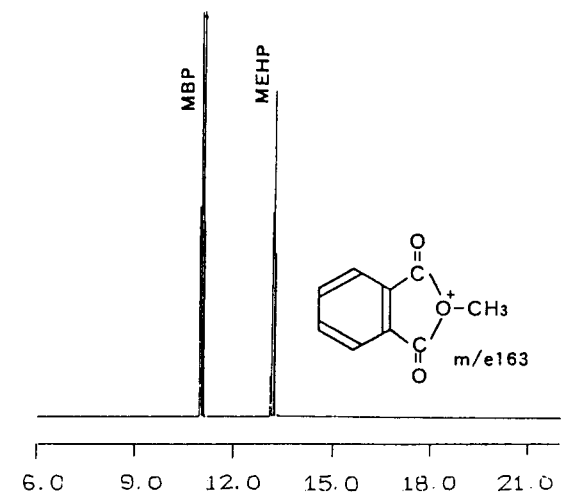


図-2 メチルエステル化MBPおよびMEHPのGC-MS分析におけるSIMクロマトグラム

MBPおよびMEHP:各々100 μ g, モニターイオン:m/e163
MBP:フタル酸モノブチル, MEHP:フタル酸モノ2-エチルヘキシル

つが脱離し、モノエステルを生成することから、著者らはカルボキシル基をメチルエステル化することにした。メチルエステル化するためのエステル化剤は種々報告されているが⁵⁾、本実験では操作性が簡易なエステル化剤テトラメチルシリルジアゾメタン(TMSD)を用い⁶⁾、Asymmetricなフタル酸ジエステルとし、これを上記に示したフタル酸ジエステルの分析条件にてGC-MS分析を行った。その結果、MEPおよびMEHPのメチル誘導体よりm/e163のフラグメントイオンが得られ、これをSIMモードにて測定することでMBPおよびMEHPの分別確認が可能となった(図-2)。

玩具のおしゃぶり、歯がため、ガラガラ、ソフト人形およびボールそれぞれを細片し、アセトニトリルまたはn-ヘキサン抽出し、材質中のフタル酸ジエステルについてHPLCまたはGC-MS分析を行った。

その結果、おしゃぶりからDINPが58%、歯がためからDINP32%、ガラガラからDINP36%、ソフト人形AからDEHPが32%、ソフト人形BからDHpPが25%、ボールからDBPおよびDEHPがそれぞれ10%および18%検出され、平成10年度報告した玩具材質中のフタル酸ジエステルとほぼ同様の結果が得られた。

さらに、ボールを細片し、テトラヒドロフ

ランで溶解し、アセトンで高分子を析出させ、20%DCM含有n-ヘキサンで抽出し、材質中のフタル酸モノエステルについてHPLCおよびGC-MS分析を行った。

その結果、DBPおよびDEHPを含有するボールより、それぞれのモノエステル体であるMBPおよびMEHPを微量ながら確認した。

4. まとめ

フタル酸ジエステルDBP, DEHP, DHpPおよびDINPと、モノエステルMBPおよびMEHPそれぞれのHPLC分析法および、これらの確認法としてのGC-MS分析法にちて検討し、以下のような結果が得られた。

- 1) フタル酸ジエステルのHPLC分析は、移動相をアセトニトリル・水(8:2)からアセトニトリル(10)に濃度勾配をかけることで、4種の混合溶液を一斉分析できた。
- 2) フタル酸モノエステルのHPLC分析は、移動相をアセトニトリル・2%酢酸水溶液(8:2)にすることで、MBPおよびMEHPの混合溶液を良好に分離することができ、またそれぞれのジエステルを含む4種の一斉分析が可能となった。
- 3) GC-MSによる確認法は、フタル酸ジエステルではフラグメントイオンをm/e149とし、直接SIM分析することで可能となった。また、フタル酸モノエステルでは、カルボキシル基をメチルエステル化した後、フラグメントイオンをm/e163とし、SIM分析することができた。

II. 回転振とう方式による人工唾液へのフタル酸エステルの溶出

1. まえがき

振とう方式を用いたPVC製玩具から人工

唾液へのフタル酸エステルの溶出についてすでに平成10年度厚生科学研究に行っている。その結果を踏まえ、本年度(平成11年度)では上下振とう方式から、回転振とう方式に変えフタル酸エステルの溶出条件の検討を行った。

2. 実験方法

試薬および器具

ムチン：ブタ胃製，和光純薬社製

その他使用する標準試薬および一般試薬は前報 I に準じた。

人工唾液：塩化ナトリウム 4.5g，塩化カリウム 3.0g，無水硫酸ナトリウム 0.3g，塩化アンモニウム 0.4g，乳酸 0.3g および尿素 0.2g それぞれを蒸留水に溶かし，0.1N 水酸化ナトリウムで pH7.0 に調整し，全量を 1000mL とした 8)。

ネジ蓋付 50mL 容遠心分離管：ガラス製

その他使用する器具は前報 I に準じた。

装置

振とう数可変装置付回転式振とう機：VR-36，TAITEC 社製

恒温機：SANYO MIR-152，三洋電機社製

その他本実験で使用した装置は前報 I に準じた。

試験用玩具の種類

- 1) おしゃぶり (DINP58%含有)
- 2) 歯がため (DINP32%含有)
- 3) ソフト人形 A (DEHP32%含有)
- 4) ソフト人形 B (DHP25%含有)

試験片の作製

それぞれの玩具を表面積が 15cm² になるように，玩具の均一部分を縦 2.5cm，横 3.0cm に切断したものを溶出用試験片とした。

回転振とう方式による人工唾液へのフタル酸エステルの溶出条件

試験片をネジ蓋付遠心分離管に採取し，人工唾液を 30mL 加え，蓋をし，溶出温度 35±5℃，振とう数 300rpm/分で 15 分間の振とう溶出を

行った。最初の 15 分間を第 1 区分とし，合計 4 区分 (60 分間) 溶出試験を行った。1 区分ごとに溶出溶媒を採取し，新たに人工唾液を 30mL 加え，第 2 区分の溶出試験を行った。以降同様に，3，4 区分の溶出試験を行った。

溶出条件の検討を以下に示した。

- 1) 溶出温度の検討：恒温機に振とう機をセットし，溶出温度を 20℃ (室温)，30℃，35℃ および 40℃ と変化させた。
- 2) 振とう数の検討：回転式振とう機の振とう数を 200，300 および 400rpm/分 と変化させた。
- 3) 溶出液量の検討：人工唾液量を 10，20，30 および 40mL と変化させた。
- 4) 人工唾液へのムチン添加効果：人工唾液に粘性物質ムチンを 0.16% 添加した。

フタル酸エステルの測定

得られた各区分の溶出液 5mL を 10mL 容試験管に採取し，アセトニトリル 5mL を加え，激しく振とうし，HPLC 分析用試験液とし，これを前報 I の HPLC 分析条件により測定した。

3. 結果および考察

人工唾液による DINP 溶出条件を設定するため，以下のような検討を行った。

DINP 溶出量に及ぼす人工唾液量の影響

試験品玩具のおしゃぶり (DINP58.3%含有) と歯がため (DINP35.9%含有) を用い，振とう回数を 300rpm/分，溶出温度を 20℃ (室温) と一定にし，溶出溶媒としての人工唾液量を 10mL，20mL，30mL および 40mL と変化させ，第 1 区分 (0～15 分)，第 1 区分 (15～30 分)，第 3 区分 (30～45 分) および第 4 区分 (45～60 分) での DINP 溶出量を測定した。

その結果を図-3 に示した。おしゃぶりと歯がための両試験片において，第 1 区分で溶出量が最も多く，第 2 区分，第 3 区分と急激に減少した。第 1 区分と第 3 区分での溶出量を比較すると，おしゃぶりの 40mL，30mL，20mL また

表-1 人工唾液量に対するPVC製玩具から人工唾液へのDINP溶出量

PVC製玩具 溶出条件	おしゃぶり		歯がため	
	DINP溶出量 ($\mu\text{g/hr}$)	C.V. (%)	DINP溶出量 ($\mu\text{g/hr}$)	C.V. (%)
40mL	383	27	226	44
30mL	349	15	228	31
20mL	377	38	133	38
10mL	217	31	177	29

DINP溶出量: 第1~4区分溶出量の合計で、3回繰り返し平均値
 PVC製玩具: おしゃぶり(DINP58.3%含有)と歯がため(DINP35.9%含有)
 を表面積が 15cm^2 になるよう切断し、試験片とした。
 DINP: フタル酸ジイソノール C.V.: 変動係数

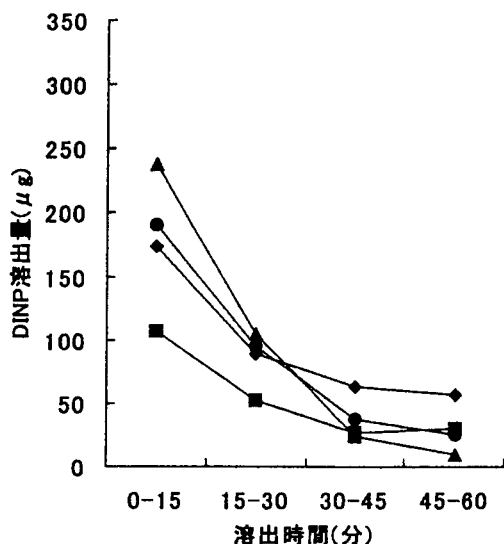


図-3-1 おしゃぶりから人工唾液へのDINP溶出に及ぼす人工唾液量の影響

おしゃぶり(DINP58.3%含有): 表面積が 15cm^2 になるよう切断し、試験片とした。
 人工唾液量: \blacklozenge : 40mL, \bullet : 30mL, \blacktriangle : 20mL, \blacksquare : 10mL
 溶出温度: 20°C (室温) 振とう数: 300rpm/分
 DINP溶出量: 3回繰り返し実験の平均値

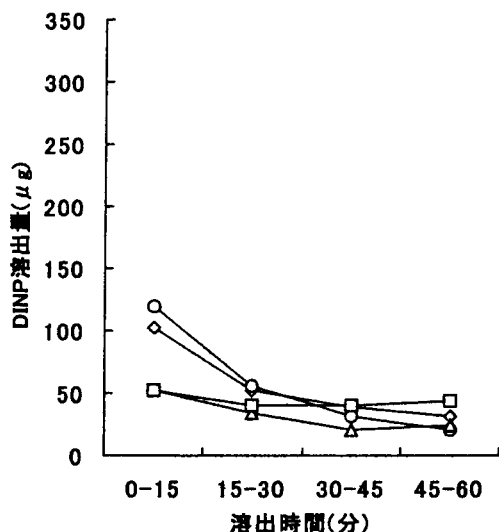


図-3-2 歯がためから人工唾液へのDINP溶出に及ぼす人工唾液量の影響

歯がため(DINP35.9%含有): 表面積が 15cm^2 になるよう切断し、試験片とした。
 人工唾液量: \diamond : 40mL, \circ : 30mL, \triangle : 20mL, \square : 10mL
 溶出温度: 20°C (室温) 振とう数: 300rpm/分
 DINP溶出量: 3回繰り返し実験の平均値

は10mLでは約57%, 78%, 82%または76%減少し、歯がためでは約50%, 64%, 50%または11%減少なのであった。

おしゃぶりでの人工唾液量とDINP溶出量の関係は、第1区分では液量20mLで最も多くDINPが溶出し、第3区分では40mLで最多であ

った。歯がための第1区分では液量30mLで最も多くDINPが溶出し、第3区分では10mLが最も多かった。このことより、人工唾液量とDINP溶出量には相関関係が見られないことが明らかとなった。

また、各人工唾液量に対する1時間あたりのDINP溶出量とその相対標準偏差を表-1に示した。おしゃぶりでは人工唾液量40mL, 30mL, および20mLで、DINP溶出量が多く、 $383\mu\text{g}$, $349\mu\text{g}$ および $377\mu\text{g}$ と近似し、相対標準偏差は27%, 15%および38%であった。歯がためでは人工唾液量40mL および30mLで多く溶出し、その量は $226\mu\text{g}$ および $228\mu\text{g}$, 相対標準偏差は44%および31%であった。おしゃぶり、歯がための両試験片共に、人工唾液量30mLにおいてDINP溶出量が多く、相対標準偏差が小さい値であり、良好な条件であることがわかった。

以上の結果より、本実験における溶出溶媒としての人工唾液量を30mLと設定した。これは、食品衛生法に基づく容器包装の溶出試験での溶出量の設定、試験片 1cm^2 あたり2mLの基準と一致した。

DINPの溶出に及ぼす回転式振とう数の影響

おしゃぶり(DINP58.3%含有)および歯がため(DINP35.9%含有)の試験片を用い、人工唾液量30mL, 溶出温度 20°C (室温)それぞれを一定にして、振とう数を1分あたり200rpm, 300rpm および400rpmにおけるDINP溶出量を測定した。振とう時間は15分ずつの区分を4回、合計60

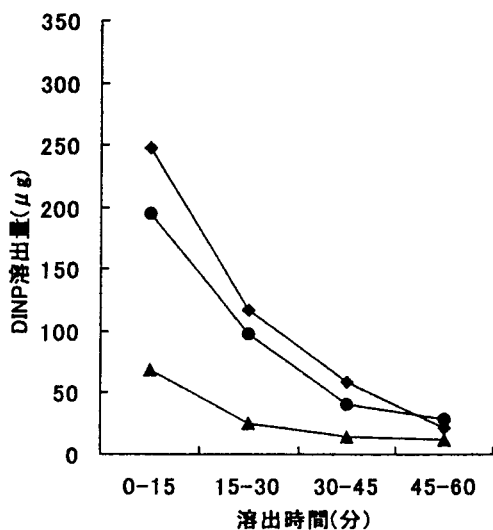


図-4-1 おしゃぶりから人工唾液へのDINP溶出に及ぼす振とう機振とう数の影響
 おしゃぶり(DINP58.3%含有): 表面積が15cm²になるよう切断し、試験片とした。
 振とう機振とう数 ◆: 400rpm/分, ●: 300rpm/分, ▲: 200rpm/分。人工唾液量: 30mL。溶出温度: 20℃(室温)
 DINP溶出量: 3回繰り返し実験の平均値

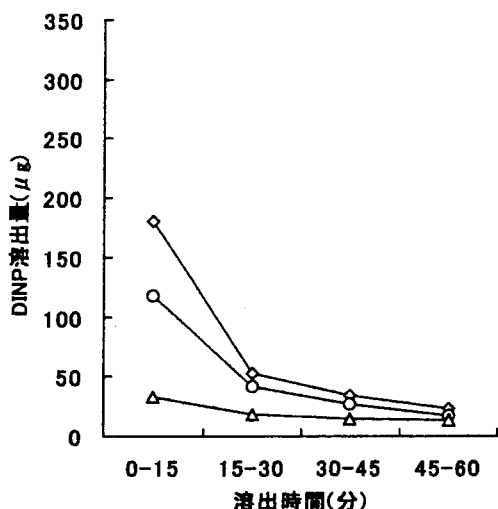


図-4-2 歯がためから人工唾液へのDINP溶出に及ぼす振とう機振とう数の影響
 歯がため試験片(DINP35.9%含有): 表面積が15cm²になるよう切断し、試験片とした。
 振とう機振とう数 ◇: 400rpm/分, ○: 300rpm/分, △: 200rpm/分。人工唾液量: 30mL。溶出温度: 20℃(室温)
 DINP溶出量: 3回繰り返し実験の平均値

分間とした。その結果を表-2と図-4に示した。

おしゃぶりの場合、60分間のDINP溶出量は振とう数200rpm/分で121μg、300rpm/分で363μgおよび400rpm/分で445μgであり、振とう数が多くなるほど、その溶出量が増加する傾向であった。また、それぞれの振とう数にお

表-2 振とう数に対するPVC製試験片から人工唾液へのDINP溶出量

PVC製玩具 溶出条件	おしゃぶり		歯がため	
	DINP溶出量 (μg/hr)	C.V. (%)	DINP溶出量 (μg/hr)	C.V. (%)
400rpm/分	445	27	291	39
300rpm/分	363	17	204	32
200rpm/分	121	24	79	39

DINP溶出量: 第1~4区分溶出量の合計で、3回繰り返し実験の平均値
 PVC製玩具: おしゃぶり(DINP58.3%含有)と歯がため(DINP35.9%含有)を表面積が15cm²になるよう切断し、試験片とした。
 DINP: フタル酸ジイソニル C.V.: 変動係数

いての区分間でのDINP溶出量は、第1区分が他の区分と比較して最も多く、その後第2, 3, および4区分と減少し、その減少率は200rpm/分で第1区分は第3区分と比較し約80%, 300rpm/分では約75%, 400rpm/分では約71であった。

歯がためでもおしゃぶりと同様の振とう数と溶出量に相関性がある結果が得られた。また、60分間のDINP溶出総量は歯がためよりおしゃぶりのほうが多かった。これは材質に含まれるDINP含有量によるものと考えられる。また、それぞれの振とう数でのDINP溶出量のバラツキをあらわす相対標準偏差は、おしゃぶりが200rpm/分と400rpm/分で24%と27%, 歯がためが39%と39%と大きく、300rpm/分は両試験片ともに比較的小さい値であった。

以上の結果より、本実験の回転式振とう数は300rpm/分とした。

DINP溶出に及ぼす溶出温度の影響

溶出温度のDINP溶出に及ぼす影響を検討するため、試験片はおしゃぶり(DINP58.3%含有)および歯がため(DINP35.9%含有)を用い、溶出溶媒の人工唾液量を30mL、振とう数を300rpm/分と一定にし、溶出温度を20℃(室温)、30℃、35℃および40℃と変化させ、それぞれについてのDINP溶出量を測定した。その結果を表-3と図-5にそれぞれ示した。

それぞれの試験片における60分間のDINP溶出総量は溶出温度の上昇にともなって増加