

平成 26 年度
環境研究総合推進費補助金 研究事業
総合研究報告書

製品に含まれる化成品及び不純物に由来する有害廃棄物対
策と循環方策構築に向けた研究
(3K1 3 3 0 0 1)

平成 27 年 3 月

独立行政法人国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター
滝上 英孝

補助事業名 環境研究総合推進費補助金研究事業（平成 25 年度～平成 26 年度）

所管 環境省

国庫補助金 65,223,000 円（複数年度の総計）

研究課題名 製品に含まれる化成品及び不純物に由来する有害廃棄物対策と循環方策構築に向けた研究

研究期間 平成 25 年 4 月 1 日～平成 26 年 3 月 31 日

研究代表者名 滝上 英孝（国立環境研究所）

研究分担者 酒井 伸一（京都大学）
田辺 信介（愛媛大学）
高橋 真（愛媛大学）
小瀬 知洋（新潟薬科大学）
川口 真以子（明治大学）
鈴木 剛（国立環境研究所）

研究協力者 平井 康宏（京都大学）
磯部 友彦（愛媛大学）
松神 秀徳（国立環境研究所）

目次

第1章	環境研究総合推進費補助金 総合研究報告書概要	1
第2章	臭素系・リン系難燃剤のヒト・生態曝露実態評	5
	分担研究者： 高橋 真、田辺 信介（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）	
	研究協力者： 磯部 友彦（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）	
第3章	縮合型リン系難燃剤のバイオアッセイによる安全性評価	26
	分担研究者： 鈴木 剛、滝上 英孝（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）	
	研究協力者： 松神 秀徳（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）	
第4章	リン系難燃剤の動物毒性・行動学的影響評価	41
	分担研究者： 川口 真以子（明治大学 農学部）	
	鈴木 剛、滝上 英孝（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）	
第5章	縮合型リン系難燃剤含有試料を用いた分解性と生成物の環境放散性評価	63
	分担研究者： 小瀬 知洋（新潟薬科大 応用生命科学部）	
第6章	化成品や不純物問題に関連した臭素系・リン系難燃剤含有廃棄物等の対策と適正処理に関する展望	82
	分担研究者： 鈴木 剛、滝上 英孝（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）	
	酒井 伸一（京都大学 環境科学研究センター）	
	高橋 真、田辺 信介（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）	
	研究協力者： 平井 康宏（京都大学 環境科学研究センター）	
	研究概要図	100
	英文概要	101

第1章 環境研究総合推進費補助金 研究事業 総合研究報告書概要

研究課題名：製品に含まれる化成品及び不純物に由来する有害廃棄物対策と循環方策構築に向けた研究

研究番号：3K133001

国庫補助金清算所要額：65,223,000 円（複数年度の総計）

研究期間：平成25年4月1日～平成27年3月31日

研究代表者名：滝上 英孝（国立環境研究所）

研究分担者：酒井 伸一（京都大学）
田辺 信介（愛媛大学）、高橋 真（愛媛大学）
小瀬 知洋（新潟薬科大学）
川口 真以子（明治大学）
鈴木 剛（国立環境研究所）

研究協力者：平井 康宏（京都大学）
松神 秀徳（国立環境研究所）

1. 研究目的

資源循環における有用物質（資源性物質）の回収強化と並行し、製品のライフサイクルにおける化成品の安全性要求に応えるための規制、規格が国内外で整備されつつある。従って、製品ライフサイクルの上流側（化成品および製品製造等の動脈側）では、化成品の利用による化学リスクを最小限にするとともに、廃棄物の適正処理、循環利用を最適化するための化成品デザインのあり方が求められる。また、上流側では把握が困難で下流側（製品の使用・廃棄、リサイクル過程等の静脈側）でそのリスク性が認識される化学物質検出の事例が多くある。さらに下流側では、物質拡散・情報散逸が進むとともに、予想外のプロセス・場所における発生や集積などにより‘ホットスポット’が生じることも指摘されている。よって、製品のライフサイクルの静脈側における有害化学物質管理にむけた情報整理や実態把握、適正な処理技術等の確保が必要となる。

本研究では、（1）化成品を対象に製品の静脈側ライフサイクルでリスク要因になり得る不純物問題の事例についてとりまとめ、（2）化成品による化学リスクを最小限にし、廃棄物の適正処理、循環利用を最適に進めるための化成品のデザインのあり方や廃棄物処理・リサイクル過程での適切なリスク制御のための科学的知見の収集を進めた。

2. 研究方法

(1) 製品ライフサイクル静脈側におけるリスク要因となり得る化成品や不純物の事例整理を実施した。具体的にはプラスチック樹脂や繊維製品中に使用される臭素系難燃剤 (PBDE) の製剤不純物としての臭素系ダイオキシン類や高分子系臭素系難燃剤の原料や末端封止剤として使用されている 2,4,6-トリブロモフェノールに焦点を当て、そのリスク性認識と制御に関する課題を取りまとめた。

(2) 難燃剤は、テレビやパソコン、繊維製品など室内で使用する様々な製品に含まれている。一部の PBDEs や HBCDs は、POPs 条約に追加され、原則として使用・製造が禁止された (建築用のビーズ法発泡ポリスチレン及び押出発泡ポリスチレンに難燃剤として用いる HBCDs の製造及び使用を適用除外)。従って、その代替難燃剤については、使用量が増加していると予測されるため、環境中での残留レベル、生態系での生物蓄積レベル、生態系やヒトへの有害性などの把握を目的とした研究・調査の実施が求められている。代替難燃剤と想定されるリン系難燃剤は、ハウスダスト中で PBDEs や HBCDs よりも高濃度で検出されている。これは、製品に使用されている難燃剤の組成を反映していると考えられ、リン系難燃剤に着目した研究展開の必要性を示す。本研究では、化成品・不純物の存在性とハザードを網羅的に実施できる測定技術 (LC-QTOF-MS による一斉化学分析とバイオアッセイ) を導入の上、リン系難燃剤及び縮合型リン系難燃剤に着目したヒト・生態曝露実態評価、バイオアッセイによる安全性評価、動物毒性・行動学的影響評価、熱・加水分解を通じた環境放散性評価に関する事例研究を実施した。また、POPs 条約で規制された臭素系難燃剤 HBCDs については、含有製品が廃棄フェーズに入ってくるため、適切な処理処分を実施していく必要がある。そこで HBCD 含有廃棄物を、国立環境研究所熱処理プラント (パイロットスケールの実験炉) においてダイオキシン類の排出削減対策がなされた条件で焼却し、焼却過程における HBCDs 等の挙動を確認した。

3. 結果と考察

(1) 化成品として臭素系難燃剤を取り上げ、非意図的生成物としての臭素系ダイオキシン類、合成未反応物の 2,4,6-TriBPh に関する不純物問題を整理した。臭素系ダイオキシン類は、PBDE 製剤中に数十 ppm 程度と低い濃度で含まれている。また、2,4,6-TriBPh は、末端防止剤として使用している臭素系難燃剤に未反応物として数十～数百 ppm 程度含まれている。しかし、このように含有濃度が低い不純物であっても、ハザードが強い或いは蒸気圧が高い場合には、そのリスク性を認識する必要がある。

(2) 難燃剤を対象として、人・生態曝露実態評価、*in vitro/in vivo* 試験による毒性影響評価、静脈側ライフサイクルにおける排出制御評価を行ない、これらのリスク性や制御方策に資する知見を得た。人・生態曝露実態評価では、人母乳や魚類に蓄積している代表的なリン系難燃剤の特定がなされ、生物蓄積性に関する基礎情報を得た。毒性影響評価では、化成品使用製品の使用実態の影響を大きく反映するハウスダストが有するハザード (抗アンドロゲン性等) 情報に基づき、抗アンドロゲン作用を検出する *in vitro/in vivo* 試験法を開発し、ハウスダスト中に高い濃度で検出されるリン系難燃剤の TPHP や TDCIPP の抗アンドロゲン作用を検出した。バイオアッセイ/セミマイクロ HPLC/LC-QTOF を用いて縮合型リン系難燃剤のハザード (エスロゲン性) に関与する物質について評価したところ、構成主体の縮合型リン系難燃剤のハザード寄与は低いことが示され、縮合体化が毒性を下げる化成品デザインであると考えられた。一方、含有不純物がハザードに寄与していることが示され、その環境中拡散や毒性等リスク

性の評価が今後の課題と考えられた。廃プラを主原料とする固形化燃料（RPF）の製造プロセスから生じるフェノール等の分解生成物等の挙動を把握した。HBCD 含有廃棄物のパイロットスケールの実験炉を用いた制御燃焼試験を行い、ビーズ法発泡ポリスチレンと押出ポリスチレン中の HBCD について 99.9999%（6 ナイン）以上の分解率を確認できた。ダイオキシン類の排出削減対策がなされた条件であれば、既存の廃棄物焼却施設を HBCDs の分解破壊処理に適用できることが示された。

4. 環境政策への貢献

（1）環境省が検討等を進めてきた化成品関連の化学物質対策についてのレビュー3編を執筆し、広く情報発信を行うとともに今後の調査研究課題についてのポイントを挙げ、化成品・不純物の化学リスク問題の構造を整理した。

（2）リン系難燃剤の微量一斉分析法は、環境省の化学物質環境汚染実態調査検討体系の枠組み（化学物質環境実態調査等）の中で、同様に高極性・熱分解性を示す物質の新規化学分析法として、その活用や応用が期待できる。化成品は、環境負荷低減化や安全性確保の観点から、化学物質単品としての評価だけでなく、不純物や分解生成物等を含む総合的な評価が重要である。その観点から、バイオアッセイ/LC-QTOF-MS 法は、不純物を含む製剤のハザード評価と関連物質の推定に有用で、製剤の安全性やリスク性に関する知見提供が可能であった。これは、静脈側の化学物質リスクの把握だけでなく、動脈側の「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）等の適切な推進にも役立つ。*In vivo* 毒性影響試験法は、OECD 毒性試験法等の毒性試験方法では検出できない生殖毒性影響が検出可能であり、適切な化学物質管理の推進に貢献可能である。重要な循環利用法である廃プラスチックを主原料とする固形化燃料（RPF）の製造工程において、加熱造粒後の水冷時に有害な親水性を有する揮発性有機化合物の発生を確認、製造プロセス改善の提案と、分解中間生成物のリスク評価の実施を提言した。POPs として規制された HBCDs 含有廃棄物は、ダイオキシン類排出削減対策を講じている焼却施設での制御燃焼で適正処理できることが示された。

5. 研究成果の実現可能性

今後、製品（化成品）中の化学物質の長期使用やその廃棄段階を含めたリスク評価手法の確立に向けた調査・検討が健康リスク評価や環境排出量推計を行う際に重要になるものと考えられ、ライフサイクル全体、特に静脈系（リサイクル・廃棄物処理）における化学物質管理政策に示唆を与える成果（対象物質や排出・曝露過程における優先度付けに科学的根拠を与える成果）が本研究を通じて得られている。同時に化成品のデザインや代替という観点での川上産業界（製剤製造、製品製造）との対話を図ることも重要な使命であり、環境中挙動や毒性等のリスク性に係る学術的な結果を共有することで、研究成果の実現可能性や社会還元が可能となる。

6. 結論

本研究では、製剤中不純物の臭素化ダイオキシン類と 2,4,6-TriBPh を例として化成品と不純物に関する問題点を取りまとめその課題を整理すると共に、POPs として規制された臭素系難燃剤やその代替物質のリン系難燃剤と縮合型リン系難燃剤に着目して事例研究を実施した。本研究の実施によって、環境放散性や毒性等のリスク性に着目した化成品と不純物の適切な管理のための評価の在り方や、難燃剤の曝露実態、毒性やリサイクル工程における挙動等の製品のライフサイクルにおける有害化学物質管理に資する知見を得た。

第2章 臭素系・リン系難燃剤のヒト・生態曝露実態評価

分担研究者： 高橋 真（愛媛大学 農学部）
田辺 信介（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）
研究協力者： 磯部 友彦（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）

1. はじめに

臭素系難燃剤（BFRs）は、プラスチック製品や繊維製品の防燃・難燃加工を目的として、多様な電気・電子製品、家具や建材、自動車部品等に利用されてきた。一方近年、難燃剤成分のポリ臭素化ジフェニルエーテル類（PBDEs）やヘキサブロモシクロドデカン（HBCD）については、その毒性等に関する知見が集積されるとともに、環境残留性や生物蓄積性、長距離輸送性が明らかとなり、環境や生態系における汚染レベルも上昇傾向にあることが、様々な調査・研究により報告された¹⁻⁴⁾。このような実態をうけ、2009年5月のストックホルム条約（POPs条約）締約国会議において、PBDEsのうちPentaBDE製剤（TetraBDEs・PentaBDEs）とOctaBDE製剤（HexaBDEs・HeptaBDEs）が同条約の付属書A（製造・使用・輸出入を禁止する措置を取るべき物質としての掲載）に追加された。また、2013年5月のPOPs条約締約国会議により、HBCDについても付属書Aに追加されることが決定された。日本では、PBDEsのTetraBDE製剤やOctaBDE製剤は、それぞれ1990年および1999年に難燃剤業界での自主規制が行われ、その後は実質的な利用はなく²⁾、また上記POPs条約による付属書への追加によって、2010年4月に化学物質審査規制法の第一種特定化学物質に指定された。現在はPBDE製剤のうち、DecaBDE製剤のみ使用が継続しているが、その需要量は1990年をピーク（年間10,000t）に以後漸減傾向にある⁵⁾。加えて、2013年10月にHBCDsが化学物質審査規制法の第一種特定化学物質に指定された。

上記のようなPBDE・HBCD製剤の生産・使用の禁止・規制が進む中、‘代替難燃剤’の利用が増えている。代替難燃剤は大きく非PBDEs型の新規臭素系難燃剤（NBFRs）とリン酸エステル系難燃剤（PFRs）に分けられる。国内においては、デカブロモジフェニルエタン（DBDPE）[別名：ビス（ペンタブロモフェニル）エタン]が、PBDE製剤の使用規制に伴い、1993年以降市場に導入され、その需要量が伸びている^{2,5)}。米国や中国などにおいても、DBDPEはDecaBDE製剤の代替として生産/使用量が近年増えていることが報告されている⁶⁾。また、ビス（トリブロモフェノキシ）エタン（BTBPE）は、日本における需要量は少ないが、米国等ではOctaBDE製剤の代替として広く利用されている⁶⁾。DBDPEやBTBPEは、PBDEsと同様に‘添加型’の難燃剤であることから、テトラブロモビスフェノールA（TBBPA）などの‘共重合型’難燃剤よりも、環境移行しやすく、ヒトや野生生物への曝露につながる可能性が高い。実際、中国の電気・電子機器廃棄物（e-waste）のリサイクル処理地域から採取した魚類および鳥類からDBDPEやBTBPEが比較的高濃度で検出された事例⁷⁾や、ノルウェー北極圏・グリーンランドに生息する鳥類や海棲哺乳動物にこれら物質の蓄積を認めた事例が報告されている^{8,9)}。日本の野生生物については、瀬戸内海沿岸に座礁したスナメリの脂皮組織からBTBPEおよびDBDPEを検出した事例が報告されているが¹⁰⁾、それ以外にNBFRsの生態曝露に関する情報はなく、実態は未解明のままである。さらに日本沿岸の底質柱状試料や野生生物の長期保管試料を用いた調査研究から、PBDEsによる沿岸生態系の汚染レベルは、1990年代以降上昇から横ばいあるいは低減傾向に転じたことが示唆されている⁴⁾。一方、HBCDsの汚染レベルにつ

いては、1990年代以降も顕著な上昇傾向にあり、BFRs に対する使用規制の導入時期が、物質による経時的な汚染トレンドの違いに反映していることが指摘されている。DBDPE 等の NBFRs についても、生態曝露に関する経時的な推移について関心が持たれるが、現時点ではそれらを評価するための基礎情報が欠落している。加えて、近年国内の BFRs の総需要量が減少傾向にあるなか、PFRs の需要量は 1990 年代以降、顕著に増加している（1990 年の 9150t/年から 2012 年の年間 29000t/年に増加）⁵⁾。EU 諸国でも同様の傾向が報告されており、PFRs 需要量は 2004 年の 83700t/年から 2006 年の 91000t/年に増加している¹¹⁾。また、PFRs はプラスチックや繊維、建材、塗料等の化成品に古くから用いられてきた難燃剤であり、ハウスダストなど室内環境含む多くの環境媒体から検出が報告されている^{12,13)}。よって、ヒトや生態系への曝露や影響も懸念されるが、生物を対象とした調査研究は分析法上の難点等から実施例が少なく、汚染実態や生物蓄積などの動態に関する知見は限定的である。とくにアジア地域は、途上国・振興工業国における近年の著しい経済成長に伴って、POPs や BFRs による汚染の拡大・深刻化が指摘されているが⁴⁾、ヒトや野生生物の PFR 曝露に関する情報はほぼ皆無であり、その実態解明が望まれてきた。

そこで本研究では、生体試料を対象とした PBDEs・NBFRs の一斉分析法を開発するとともに、日本の鳥類（トビおよびハシボソガラス）の保管試料を用いて、生態系における PBDEs および NBFRs の汚染実態やその経時的なトレンド、鳥類における蓄積特性などについて検討した。さらに生物試料を対象とした PFRs の一斉分析法を開発し、魚類試料（フィリピン）およびヒト（日本・フィリピン・ベトナム）の母乳試料に適用することで、アジア諸国における PFRs の汚染実態と蓄積特性について検討した。また、既報のヒト母乳を対象とした BFRs（PBDEs, HBCD）の汚染実態調査の結果と比較し、PFRs・BFRs のヒト曝露の特徴を明らかにするとともに、乳幼児等への曝露リスクについて評価した。

2. 研究方法

2. 1. 試料

2. 1. 1. 鳥類試料

本研究では愛媛県松山市の松山空港において 1990 年から 2014 年までに航空安全確保のために害鳥として駆除されたトビ (*Milvus migrans*) 12 検体およびハシボソガラス (*Corvus corone*) 10 検体を調査対象とした。試料は分析時まで -25°C で冷凍保管し、解剖後その筋肉部を BFRs の化学分析に供試した。表 1 に調査対象とした野生鳥類の採取年、検体数および体長・体重を示す。本研究では、経年的な BFRs 汚染の推移を検討するため、成長段階の違いによる蓄積濃度のばらつきが生じないように、対象となる鳥類試料は全て成鳥とし、サイズ（体長・体重）が各採取年でほぼ同一となるよう選択した。また、蓄積濃度の性差については、鳥類の場合、PBDEs 濃度に明らかな性差は認められないことが既報の研究で示されている^{14,15)}。従って、本研究においても鳥類試料の性別については、とくに考慮せずに選択した。トビはタカ目タカ科の猛禽類で、留鳥であること、主に動物の死骸や小動物（カエルなどの両生類および魚類含む）を捕食することなどから、地域の生態系における高次野生生物の指標種として選択した。一方、ハシボソガラスは、スズメ目カラス科の留鳥であり、雑食性でとくに農耕地や河川敷、都市域など人間生活に密着した生息域を持つことから、人間活動由来の化学物質に曝露しやすい野生生物種の代表として選択した。

表1 松山空港で採取されたトビ (*Milvus migrans*) およびハシボソガラス (*Corvus corone*) の詳細

Species/code	No. of samples	Sampling Year	Body Length (cm)	Body Weight (g)	Fat % in muscle
Black kites (<i>Milvus migrans</i>)					
BK-1990s	6	1990	55.1±1.8	937±59	5.8±1.3
BK-2010s	6	2012-2014	56.0±3.9	966±31	4.6±0.7
Carrion crow (<i>Corvus corone</i>)					
CC-2000s	5	2001-2002	42.8±2.4	554±25	3.0±0.6
CC-2010s	5	2012-2014	43.8±2.2	544±37	2.8±0.6

2. 1. 2. 魚類試料

アジアの水圏生態系における PFRs の汚染実態と生物濃縮の特性を評価するため、2008 年にフィリピン・マニラ湾で採取し、愛媛大学の生物環境試料バンク (es-BANK) に冷凍保存された魚類 20 種 ($n=58$) を PFRs の化学分析に供試した。また、魚類の栄養段階等を解析するため、筋肉試料中の炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$) を INTEGRA-CN アナライザで測定した。表2に供試した魚類試料の詳細と $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ の測定結果を示す。

表2 フィリピン・マニラ湾で採取された魚類の詳細

Family	Common name	Scientific name	<i>n</i>	Habitat	Body length (cm) mean ± sd	Body weight (g) mean ± sd	Lipid content (%) mean ± sd	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) mean ± sd	$\delta^{13}\text{C}$ (‰) mean ± sd
Carangidae	Bumpnose trevally	<i>Carangoides hedlandensis</i>	3	Demersal	13.3 ± 0.2	38.4 ± 1.7	0.4 ± 0.2	12.9 ± 1.2	16.3 ± 0.2
	Purse-eye scad	<i>Selar crumentalmops</i>	3	Pelagic	20.2 ± 1.6	132 ± 27.8	2.6 ± 1.7	11.4 ± 0.3	15.9 ± 0.7
	Yellowtail scad	<i>Atule mate</i>	3	Pelagic	11.0 ± 0.5	14.2 ± 1.7	2.4 ± 1.3	13.4 ± 0.6	14.6 ± 0.7
	Yellowstripe scad	<i>Selaroides leptolepis</i>	3	Demersal	11.2 ± 0.8	16.7 ± 4.4	2.5 ± 1.4	12.1 ± 0.7	14.4 ± 0.4
Mugilidae	Redtail scad	<i>Decapterus kurroides</i>	2	Pelagic	19.5 ± 0.7	68.2 ± 2	1.2 ± 0.3	11.8 ± 0.8	17.2 ± 0.9
	Bluetail mullet (adult)	<i>Valamugil buchanani</i>	1	Demersal	31.0	531	0.2	14.1	13.6
Clupeidae	Bluetail mullet (juvenile)	<i>V. buchanani</i>	2	Demersal	24 ± 0.7	157 ± 18	1.3 ± 0.6	10.0 ± 1.5	133.2 ± 2.3
	Flathead grey mullet	<i>Mugil cephalus</i>	3	Demersal	14.7 ± 0.4	33.4 ± 2.1	0.7 ± 0.4	11.1 ± 1.3	15.3 ± 0.4
	Chacunda gizzard shad	<i>Anodontostoma chacuda</i>	3	Pelagic	12.4 ± 0.1	20.9 ± 2.3	1.6 ± 0.6	10.8 ± 0.2	15.5 ± 0.7
Gerreidae	Toli shad	<i>Tenualosa toli</i>	7	Pelagic	12.4 ± 0.6	20.5 ± 3.0	1.2 ± 0.2	12.4 ± 0.5	15.0 ± 0.6
	Deep-bodied mojarra	<i>Gerres erythrouros</i>	3	Demersal	13.5 ± 0.9	43.6 ± 13.3	0.8 ± 0.3	12.5 ± 1.0	16.3 ± 2.6
Teraponidae	Longfin mojarra	<i>Pentapirion longimanus</i>	3	Demersal	12.7 ± 0.7	32.4 ± 4.5	0.5 ± 0.3	12.5 ± 0.5	15.6 ± 0.7
	Fourlined terapon	<i>Pelates quadrilineatus</i>	3	Pelagic	11.5 ± 1.3	21.0 ± 5.6	2.5 ± 1.7	12.4 ± 0.2	14.0 ± 0.7
Engraulidae	Indian anchovy	<i>Stolephorus indicus</i>	3	Pelagic	8.50 ± 0.5	7.3 ± 1.9	1.6 ± 1.5	15.2 ± 1.3	18.1 ± 1.6
Scombridae	Indian mackerel	<i>Rastrelliger kanagurta</i>	1	Pelagic	20.0	93.4	1.2	10.7	15.9
Polynemidae	Common ponyfish	<i>Leiognathus equulus</i>	3	Demersal	8.67 ± 0.6	11.4 ± 1.2	1.1 ± 0.7	11.0 ± 2.0	18.4 ± 0.7
Sillaginidae	Silver sillago	<i>Sillago sihama</i>	2	Demersal	14.3 ± 0.4	23.9 ± 1.4	0.2 ± 0.1	12.3 ± 1.0	15.1 ± 1.2
Mullidae	Yellowstriped goatfish	<i>Upeneus vittatus</i>	2	Demersal	13.5 ± 0.7	32.4 ± 5.2	0.2 ± 0.1	9.99 ± 0.3	15.7 ± 0.7
Scatophagidae	Spotted scat	<i>Scatophagus argus</i>	3	Pelagic	15.5 ± 1.1	119 ± 15.3	0.4 ± 0.1	9.06 ± 1.5	18.1 ± 1.6
Labridae	Tripletail wrasse	<i>Cheilinus trilobatus</i>	1	Demersal	20.0	156	0.3	13.4	14.3
Serranidae	Coral grouper (adult)	<i>Epinephelus corallicola</i>	1	Demersal	27.0	369	0.1	14.3	14.5
	Coral grouper (juvenile)	<i>Epinephelus corallicola</i>	3	Demersal	14.3 ± 1.1	47.4 ± 10.6	0.4 ± 0.3	12.8 ± 0.1	14.6 ± 0.3

2. 1. 3. ヒト母乳試料 (フィリピン・ベトナム・日本)

アジア諸国におけるヒトの PFRs 汚染実態を評価するため、2008~2011 年に日本 (神奈川: $n=20$)、フィリピン (Marate: $n=19$, Payatas: $n=22$)、ベトナム (Hanoi: $n=7$, Bui Dau: $n=10$, Trang Minh: $n=9$) で採取され、es-BANK で冷凍保管されたヒトの母乳試料を化学分析に供試した。表3に分析に供試したヒト母乳試料の詳細を示す。

表3 日本、フィリピン、ベトナムから採取したヒト母乳試料の詳細

Parameter	Japan	Philippines		Vietnam		
	Kanagawa	Malate	Payatas	Hanoi	Bui Dau	Trang Minh
Year	2009-2011	2008		2008		
No. of samples	20	19	22	7	10	9
Age (years)	33 (25-42)	26 (18-45)	26 (17-40)	27 (21-32)	25 (21-31)	28 (23-34)
Height (cm)	160 (150-170)	155 (135-167)	158 (145-180)	157 (150-162)	154 (148-158)	155 (149-160)
Weight (kg)	50 (44-58)	48 (35-90)	48 (36-70)	53 (45-65)	47 (39-56)	48 (42-56)
BMI (kg m^{-2})	19 (16-23)	20 (16-32)	20 (13-28)	22 (19-25)	20 (16-24)	20 (18-23)
No. of children	1.7 (1-3)	1	2.6 (2-7)	1.9 (1-3)	1.3 (1-2)	2
Location type	Urban area	Urban area	Dumping site	Suburban area	E-waste recycling site	E-waste recycling site

2. 2. 分析法

2. 2. 1. 臭素系難燃剤の一斉分析法

PBDEs および DBDPE や BTBPE などの NBFRs を同時かつ高感度に一斉分析するため、既存の野生生物の組織を対象とした試料前処理法^{15,16)}を改良するとともに、負化学イオン化法 (NCI) に基づくガスクロマトグラフ-四重極型質量分析計 (GC-qMS) を用いた新規分析法を構築した。微量物質の質量分析において NCI を用いることは、環境試料中のハロゲン化合物を高感度に検出する手法¹⁷⁾として以前から提案されているが、本研究では 3 ~ 10 臭素化までの PBDE 異性体 34 異性体に加え、DBDPE および BTBPE、ヘキサブロモベンゼン (HBBz)、ペンタブロモエチルベンゼン (PBDEB) の NBFRs 4 成分を同時に分析した。また、NBFRs には含まれないが、PBDEs が導入される以前に使用されていたポリ臭素化ビフェニール (PBBs) のうち、生物濃縮性が高く、生体試料からの検出事例が報告されている PBB 異性体の BB153 についても測定対象とした。図 1 に本研究の野生鳥類試料に関して分析対象とした BFRs の化学構造を示す。

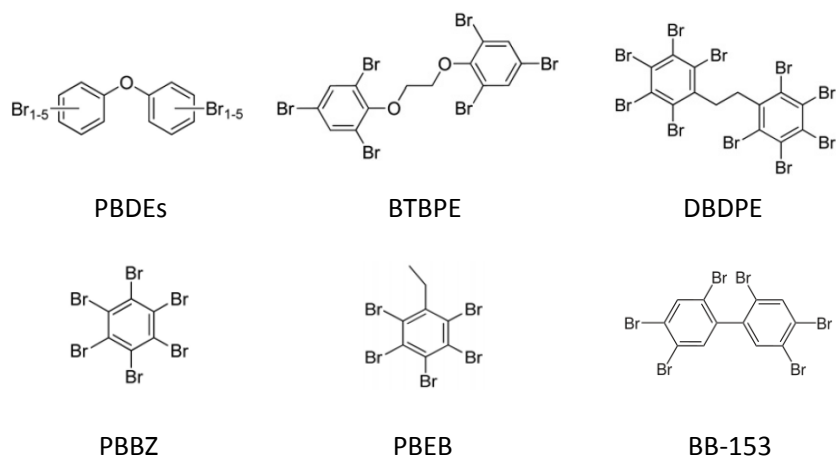


図 1 野生鳥類の試料に関して分析対象とした BFRs (PBDEs, NBFRs, BB153) の化学構造

試料の前処理フローを図 2 に示す。鳥類の筋肉試料 (約 10g) をフリーズドライにより乾燥、粉碎処理し、高速加熱流下抽出装置 (SE-100, 三菱化学アナリテック) を用いてアセトン : ヘキサン (1 : 1) 溶液で 1 時間抽出した。抽出後の粗抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮し、正確に 10 ml にメスアップした後、そのうち 2ml を BFRs (PBDEs, NBFRs, BB153) の一斉分析に供試した (残りの抽出液試料は、脂肪含量の測定および他の有害物質測定のための保管試料とした)。また、サロゲート物質として表 4 の標準物質を含むクリーンアップ・スパイク (CS) 溶液を調整し、抽出液に 50 μ L 添加した。CS を添加した抽出液を濃硫酸および硫酸シリカゲルカラム処理を行って、脂肪およびその他の狭雑物質を除去した後、さらに活性化シリカゲルカラム処理を行って極性物質等を除去、精製を行った。最終溶液にサロゲート物質の回収率確認のためのシリンジ・スパイク (SS) 溶液 50 μ L (表 4) とデカンを添加し、窒素気流下で 200 μ L にまで濃縮した後、GC-MS に導入した。

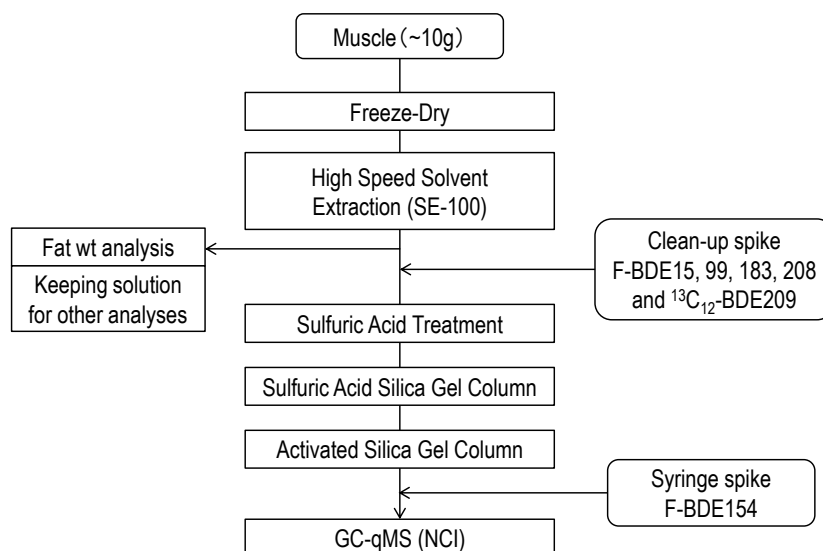


図2 BFRs 分析のための鳥類（筋肉）試料の前処理フロー

表4 クリーンアップ・スパイク（CS）またはシリンジスパイク（SS）溶液に含まれる F ラベル化および ^{13}C ラベル化標準物質とその濃度

Compounds		Concentration (pg/mL)	CS/SS
F-BDE15	2-fluoro-4,4'-dibromodiphenyl ether	8	CS
F-BDE99	6'-fluoro-2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether	16	CS
F-BDE183	3-fluoro-2,2',4,4',5,5',6-heptabromodiphenyl ether	32	CS
F-BDE208	4'-fluoro-2,2',3,3',4,5,5',6,6'-nonabromodiphenyl ether	80	CS
MBDE209	$^{13}\text{C}_{12}$ -BDE209 ($^{13}\text{C}_{12}$ -decabromodiphenyl ether)	160	CS
F-BDE154	3'-Fluoro-2,2',4,4',5,6'-hexabromodiphenyl ether	16	SS

GC-MS による BFRs の分析は、従来 MS 測定 of イオン化法としてエレクトロン・インパクト (EI) 法が用いられてきたが、とくに PBDEs の高臭素化異性体 (Nona~DecaBDEs) や DBDPE に関して検出感度が低下する問題があった。そこで本研究ではそれらを高感度に検出可能な NCI 法を用いた質量分析法を BFRs の測定に適用した。但し、NCI 法では、1~7 臭素化の PBDEs は Br^- (m/z : 79 および 81) および HBr_2^- (m/z : 159 および 161) が SIM におけるモニタリングイオンとなるため、EI 法で通常用いられている ^{13}C ラベル化の標準物質が 1~7 臭素化の異性体測定では利用できない。そこで本研究では、AccuStandard 社から市販されている F ラベル化の PBDE 標準物質 (F-BDE 異性体) (表 4) を Tri-NonaBDEs のサロゲート物質として使い、内部標準法による定量を行った。また、8 臭素化以上の PBDEs については、フラグメントイオンとして $\text{Br}_4\text{-Phenoxy}^-$ および $\text{Br}_5\text{-Phenoxy}^-$ が多く生成するため¹⁷⁾、これを SIM におけるモニタリングイオンとした。さらに DecaBDE (BDE209) の定量に関しては、Wellington 社の $^{13}\text{C}_{12}$ -BDE209 (MBDE209) をサロゲート物質として使い、 $^{13}\text{C}_6\text{-Br}_5\text{-Phenoxy}^-$ をモニタリングすることで内部標準法による定量を行った。NBFRs (DBDPE, BTBPE, HBBz, PBDEB) および BB153 についても、GC 上の保持時間が近接する F-BDE 異性体または MBDE209 をサロゲートとして、内部標準法による定量を行った。表 5 に GC-qMS (NCI) による BFRs の測定条件を示す。

内部標準法による検量線の直線性は、BDE209 を除く全ての物質について $R=0.99$ 以上であった。BDE209 に関しては、PBDEs 等の分析精度検定に関する既報の研究でも、直線性が他の PBDE 異性体に比べ劣ることが報告されており、その対策として実試料中の濃度に即した範囲の検量線から相対感度係数を求めることが提案されている¹⁸⁾。本研究でも BDE209 の分析については、同様の配慮を行って、分析精度を確保

した。本研究で確立された上記分析法を用いて、ウシ血清試料に測定対象となる PBDEs34 異性体 (Tri~DecaBDEs)、NBFRs の 4 成分、BB153 の標準物質 (各 0.4 ng~8.0 ng) を添加し、回収試験を行ったところ 61~113%の回収率となり、実試料に対する本分析法適用の妥当性が示された。また、本分析法の検出下限 (MDLs) について、JIS K0311・K0312 に基づく方法で算出したところ、Tri~OctaBDEs の異性体および NBDFs について 0.001~0.02 ng/g wet wt の値をえた。但し、NonaBDEs および DecaBDE (BDE209) についてはブランク試料中に明らかなピークが確認されたことから、検出下限はそれらを考慮してブランク試料中ピーク面積の 3 倍相当濃度に設定した (0.08~1.0 ng/g wet wt)。

表 5 GC-qMS (NCI) による BFRs の測定条件

GC-MS	Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra
Column	Agilent Technologies DB-5HT (15m × φ 0.25mm × 0.1μ m)
Oven	130°C/min (1 min) → 10°C/min → 215°C (0min) → 5°C/min → 275°C (0min) → 20°C/min → 290°C (0.5min) → 310°C (4min)
Carrier gas	He
Carrier gas flow	1.2 mL/min (variable pressure)
Reagent gas	CH ₄
Column inlet	Spritless
Inlet temp	260°C
MSD interface temp	310°C
Ion source temp	250°C
Ionization mode	NCI
Monitoring Ion (m/z)	Br ⁻ (79.00, 81.00) for All compounds
	HBr ₂ ⁻ (158.8, 160.8) for All compounds
	Br ₄ Phenoxy ⁻ (406.6, 408.6) for Octa-NonaBDEs
	Br ₅ Phenoxy ⁻ (486.5, 488.5) for Nona-DecaBDEs
	¹³ C ₆ -Br ₅ Phenoxy ⁻ (486.5, 488.6) for ¹³ C ₁₂ -BDE209

2. 2. 2. リン酸エステル系難燃剤の一斉分析法

本研究では、フィリピン の 魚 類 試 料 お よ び ア ジ ア 諸 国 の ヒ ト 母 乳 試 料 を 対 象 に PFRs の 分 析 を 行 っ た。PFRs の 分 析 法 開 発 に あ た っ て は、生 体 試 料 に 由 来 す る 高 マ ト リ ク ス 成 分 に 由 る 妨 害 ノ イ ズ を 低 減 す る た め、測 定 対 象 物 質 に 対 し て 高 い 選 択 性 を 有 す る 超 高 速 液 体 ク ロ マ ト グ ラ フ タ ン デ ム 型 質 量 分 析 装 置 (UHPLC-MS/MS) を 用 い た 分 析 系 を 構 築 し た¹⁹⁾。本 研 究 で 測 定 対 象 と し た PFRs は、Triethyl phosphate (TEP), Tri-n-butyl phosphate (TnBP), Tripentyl phosphate (TPeP), Triphenyl phosphate (TPhP), Tripropyl phosphate (TPP), 2-Ethylhexyl diphenyl phosphate (EHDPP), Tris-(2-butoxyethyl) phosphate (TBOEP), Tris-(methylphenyl) phosphate (TMPP), Tris-(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), Tris-(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP) の 10 成 分 で あ る。各 PFRs の 基 本 化 学 構 造 と 略 称・置 換 基・主 な 用 途 に つ い て 図 3 に 示 す。











General structure	TEP	TnBP	TPeP	TPhP	TPP	EHDPP	TBOEP	TMPP	TCEP	TDCIPP
Substituent (R)										
Flame retardant				○		○	○	○	○	○
Plasticizer	○	○		○		○	○		○	○
Lubricant		○		○				○		
Wax		○					○			
Paint		○		○		○	○	○	○	○
Antifoamer		○					○			
Solvent	○	○	No information		No information			○	○	

図 3 本研究で分析対象とした PFRs の基本化学構造と略称・置換基・主な用途

試料の前処理フローを図4に示す。魚類の筋肉試料（約5g）またはヒト母乳試料（10 mL）ををフリーズドライにより乾燥、粉碎処理し、重水素ラベル化した PFRs 標準物質（TEP- d_{15} , TMPP- d_{21} , TCEP- d_{12} , TnBP- d_{27} , TPhP- d_{15} ）をサロゲート物質として各 1.0 ng 添加して、高速加熱流下抽出装置（SE-100, 三菱化学アナリテック）を用いてアセトン：ヘキサン（1：1）溶液で 0.5 時間抽出した。粗抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮し、抽出後の正確に 10 ml にメスアップした後、そのうち 1 mL を PFRs の一斉分析に供試した（残りの抽出液試料は、脂肪含量の測定および他の有害物質測定のための保管試料とした）。抽出液をゲル浸透クロマトグラフィー（GPC：Bio-Beads S-X3, Bio-Rad Laboratoriesm CA, 2 cm i. d. ×50 m）に供試し、シクロヘキサン：酢酸エチル（3：1）を用いて脂肪（～95 mL）と目的物質（95～120 mL）を分離した。その後、目的物質を含む画分を再濃縮し、5%含水不活性化シリカゲル（4g）を充填したカラムを用いて、狭雑物質を除去、精製した。最終溶液を窒素気流下で濃縮し、サロゲート物質の回収率確認のためのシリンジ・スパイク標準物質（TPP- d_{15} ）1 ng を添加し、アセトニトリル 1mL に転溶して UHPLC-MS/MS に導入した。

UHPLC-MS/MS は、質量検出部に AB SCIEX Triple Quad 5500 を使い、ESI+によるイオン化およびMRMモードによる測定を行った。表6にUHPLC-MS/MSによるPFRsの測定条件を示す。内部標準法による検量線の直線性は全ての物質についてR=0.99以上であった。PFRsの標準物質（各1.0 ng）をヒト母乳試料に添加し、回収試験を行った結果、70～115%の回収率となり、実試料に対する本分析法適用の妥当性が示された。分析法の検出下限（MDLs）について、ブランク試料中のバックグラウンドピーク面積の標準偏差の3倍値（ 3σ ）から求めた結果、全ての物質について0.01～0.08 ng/g lipid wtとなった。

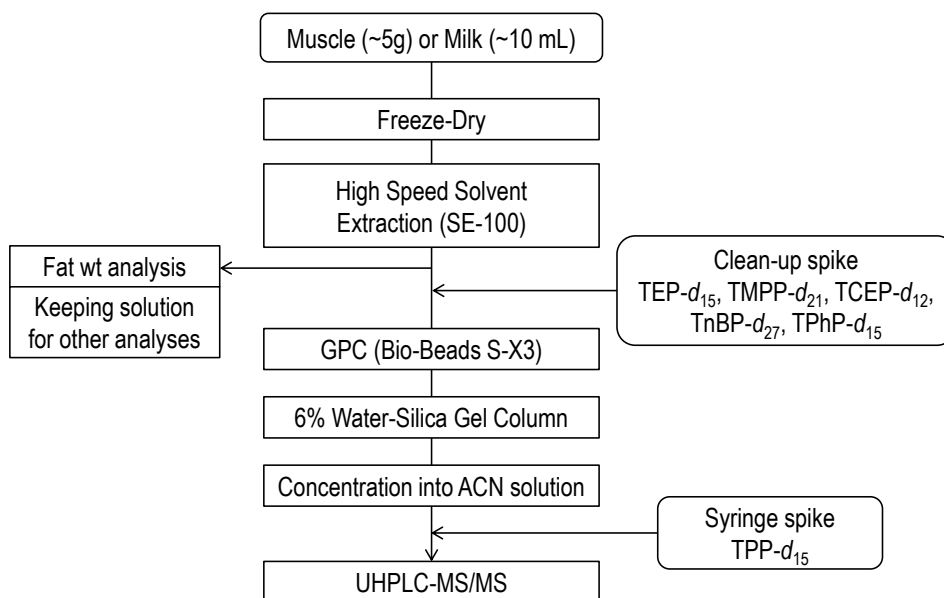


図4 PFRs 分析のための魚類（筋肉）およびヒト母乳試料の前処理フロー

表 6. UHPLC-MS/MS による PFRs の測定条件

UHPLC	
Instrument	Shimazu UFLC-XR System
Column	Asentis express C18 column (2.7 μ m, 100 \times 2.1 mm), 40 °C
Mobile Phase	A: 0.1% Formic acid in Milli-Q water B: 10 mM Ammonium acetate in ACN
Flow Rate	0.2 mL/min
Injection Volume	10 μ L
MS/MS	
Instrument	AB SCIEX Triple Quad 5500
Ionization	ESI+
Capillary Voltage	5.5 kV
Temperature	700 °C
Ion Source Gas (1)	80 °C
Ion Source Gas (2)	70 °C
Quantification MRM1 (m/z); Qualification MRM2 (m/z)	
TMPP: 369.0 > 165.0; 369.0 > 65.0	
TEP: 183.0 > 127.0; 183.0 > 99.0	
TEHP: 435.1 > 71.1; 435.1 > 99.0	
TBEP: 399.1 > 299.1; 399.1 > 199.1	
TPhP: 327.0 > 51.1; 327.0 > 152.0	
TPhP-d15: 342.2 > 82.0; - - -	
TBP: 267.1 > 155.0; 267.1 > 99.0	
TBP-d27: 294.2 > 101.9; - - -	
TPrP: 225.0 > 98.9; 225.0 > 81.0	
EHDPP: 363.0 > 251.0; 363.0 > 76.9	
TPeP: 309.0 > 81.0; 309.0 > 98.9	

3. 結果と考察

3. 1. 野生鳥類における臭素系難燃剤の曝露実態

愛媛県松山空港で捕獲されたトビおよびハシボソガラスの筋肉試料を分析した結果、全ての試料から PBDEs が検出された。また、トビの一部試料から NBRs の BTBPE と BB153 が、ハシボソガラスの一部試料から NBRs の DBDPE と BB153 が検出された。表 7 に試料の採取年度ごとにまとめたトビおよびハシボソガラス筋肉中の PBDEs 濃度と NBRs 4 成分・BB153 の濃度の平均値と範囲を示す。

表 7 愛媛県松山空港のトビ (BK-1990s・BK-2010s) およびハシボソガラス (CC-2000s・CC-2010s) の筋肉試料から検出された PBDEs および NBRs・BB153 の濃度 (ng/g lipid wt)

	Black kite		BK-2010s (n=6)		Carrion crow		CC-2010s (n=5)	
	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
Lipid (%)	5.8	(4.3-7.6)	4.6	(3.7-5.6)	3	(2.5-3.9)	2.8	(2.0-3.5)
BDE17	nd		0.78	(<0.04-4.7)	nd		nd	
BDE28	nd		nd		nd		nd	
BDE30	nd		nd		nd		nd	
BDE47	nd		nd		nd		0.08	(<0.06-0.4)
BDE49	22	(9.2-37)	16	(<0.1-76)	17	(<63)	2.8	(<0.1-11)
BDE66	0.12	(<0.02-0.70)	0.06	(<0.02-0.4)	nd		nd	
BDE71	nd		nd		nd		nd	
BDE77	nd		0.6	(<0.02-3.6)	nd		nd	
BDE85	1.7	(<0.04-7.8)	4.9	(<0.04-27)	0.6	(<0.04-3.0)	nd	
BDE99	3.6	(<0.12-11)	3.8	(<0.12-20)	38	(<0.12-150)	4.2	(<0.12-8.3)
BDE100	4.6	(1.1-9.6)	2.7	(<0.04-11)	12	(2.6-26)	1.4	(<0.04-4.4)
BDE119	0.71	(<0.06-2.9)	0.15	(<0.06-0.5)	1.6	(<0.06-2.5)	0.6	(<0.06-1.1)
BDE126	0.03	(<0.02-0.2)	0.87	(<0.02-5.1)	nd		nd	
BDE138	nd		0.03	(<0.12-0.20)	0.4	(<0.12-2.0)	0.76	(<0.12-2.7)
BDE139	0.28	(<0.04-1.7)	nd		5.7	(<0.04-28)	0.13	(<0.04-0.40)
BDE140	0.01	(<0.02-0.1)	0.03	(<0.02-0.20)	0.3	(<0.02-0.8)	0.48	(<0.02-2.4)
BDE153	4.0	(2.1-6.3)	4	(1.7-8.0)	17	(4.8-33)	6.4	(1.2-13)
BDE154	6.8	(4.6-8.3)	11	(4.0-21)	4.8	(1.8-10)	2.5	(1.0-5.7)
BDE156/169	nd		0.06	(<0.02-0.20)	nd		nd	
BDE171	0.03	(<0.04-0.2)	0.04	(<0.04-0.2)	0.21	(<0.02-0.8)	nd	
BDE180	0.01	(<0.04-0.1)	0.14	(<0.04-0.80)	2.3	(<0.04-4.7)	1.9	(<0.04-7.5)
BDE183	0.9	(<0.12-2.5)	0.66	(<0.12-2.0)	5.0	(<0.12-14)	5.4	(<0.12-16)
BDE184	0.21	(<0.04-0.8)	1.2	(<0.04-2.8)	0.59	(<0.04-1.2)	0.29	(<0.041.0)
BDE191	nd		nd		0.18	(<0.02-0.5)	nd	
BDE196	nd		nd		2.8	(<0.20-14)	1.5	(<0.20-7.5)
BDE197	0.56	(<0.1-1.3)	nd		11	(<0.10-22)	0.92	(<0.10-4.6)
BDE201	0.06	(<0.16-0.2)	nd		0.06	(<0.16-0.3)	0.04	(<0.16-0.20)
BDE203	nd		nd		0.68	(<0.36-3.4)	0.72	(<0.36-3.6)
BDE204	nd		0.08	(<0.12-0.30)	nd		nd	
BDE205	0.07	(<0.12-0.4)	0.14	(<0.12-0.80)	nd		nd	
BDE206	nd		2.9	(<2.0-12)	18	(5.9-36)	26	(<2.0-110)
BDE207	2.9	(<2.0-7.1)	14	(<2.0-62)	86	(34-200)	220	(10-920)
BDE208	1.7	(<1.6-7.0)	7.8	(1.8-15)	51	(25-110)	130	(5.6-570)
BDE209	7.0	(<26-42)	56	(<26-120)	250	(160-370)	210	(74-370)
ΣPBDE	57	(27-98)	130	(29-220)	520	(290-750)	630	(100-2000)
PBEB	nd		nd		nd		nd	
HBBZ	nd		nd		nd		nd	
BTBPE	0.06	(<0.02-0.4)	0.23	(<0.02-1.4)	nd		nd	
DBDPE	nd		nd		nd		0.66	(<0.4-1.7)
BB153	nd		0.33	(<0.06-2.0)	nd		0.04	(<0.06-0.2)

1998 年から 2001 年の間に日本各地で採取された野生鳥類 9 種 (筋肉試料) を対象に、PBDEs の蓄積濃度を測定した¹⁵⁾の研究報告と比較すると、本研究のトビやハシボソガラスの PBDEs 濃度は、外洋性鳥類のコアハウドリ (25 ng/g lipid wt) などよりも高く、オオタカ (33000 ng/g lipid wt) やオオワシ (11000 ng/g lipid wt) などの大型猛禽類に比べると低値であり、沿岸性鳥類のウミネコ (350 ng/g lipid wt) や魚食性鳥類のカワウ (530 ng/g lipid wt)、陸棲鳥類のハシブトガラス (1300 ng/g lipid wt) と同程度であった (括弧内の数値は全て ΣPBDE の平均濃度)。すなわち、今回調査したトビ・ハシボソガラスにおける PBDEs の蓄積レベルは、食性や生息域の類似する他の日本の野生鳥類種と概ね同等と考えられ

る。また、トビに比べ、ハシボソガラスの Σ PBDE濃度がやや高い傾向にあり、とくにNona~DecaBDEsの高臭素化異性体の濃度は、トビよりハシボソガラスで有意に高かった ($p>0.05$, U-test) (図5 図6)。上記の日本の野生鳥類に関する Kunisue ら¹⁵⁾の研究でも、ハシボソガラスなどの陸棲鳥類が沿岸・外洋の魚食性鳥類よりもNona~DecaBDEsの異性体を高濃度に蓄積することが報告されており、本研究で得られた結果と一致する。Nona~DecaBDEsの異性体は、現在でも利用が継続されているDecaBDE製剤の主成分であることから、カラスなどの陸上鳥類が、DecaBDE製剤を含む樹脂製品や廃棄物などから直接的な曝露を受けていると推察される。また、肉食性の強いトビに比べ、カラスが雑食性で人間活動の影響を強く受ける地域に生息していることも、両種の蓄積プロファイルの違いに反映していると考えられる。

さらに、試料の採取年度(トビ:1990s vs 2010s、ハシボソガラス:2000s vs 2010s)によるPBDEsの蓄積プロファイルの違いについて解析した結果、 Σ PBDE濃度には顕著な差異は認められなかったが ($p>0.05$, U-test)、Nona~DecaBDEsの濃度・組成に大きな差異が認められた。すなわち、2010年代のトビでは1990年代に比べ、顕著にそれら高臭素化異性体の濃度・組成が上昇していた ($p<0.05$, U-test)。また、ハシボソガラスでも統計的に有意ではないものの、2010年代の検体では2000年代よりもPBDEsの組成に占めるTri~OctaBDEsの割合が減少し、Nona~DecaBDEsの割合や濃度が増加する傾向がみられた(図5・図6)。従って、野生鳥類へのPBDEsの曝露に関しては、早期にその使用が中止されたTetraBDE・OctaBDE製剤に含まれる同族体成分(Tri~OctaBDEs)への曝露量は漸減傾向にあるものの、DecaBDE製剤に含まれるNona~DecaBDEsへの曝露は現在でも継続しており、1990年代に比べてその汚染レベルは未だ増加傾向にあることが示唆される。DecaBDE製剤に含まれるBDE209などの高臭素化同族体/異性体は、Tetra/PentaBDE製剤、OctaBDE製剤に含まれる同族体/異性体に比べ、生物濃縮性や毒性が低く³⁾、野生生物や生態系に対する影響は相対的に低いと考えられてきた。しかしながら、陸上の野生生物に対するDecaBDE製剤由来と考えられるPBDEsの曝露・蓄積は明らかであり、脱臭素化などによるリスク上昇の可能性²⁰⁾などと併せて、今後もDecaBDE製剤による生態系汚染の動向や環境動態について注視する必要がある。

また、本研究により、日本の野生鳥類から初めて、BTBPEおよびDBDPEなどのNBFRsが検出された(表7)。今回、トビから検出されたBTBPEやハシボソガラスから検出されたDBDPEの残留濃度は、PBDEsの主要異性体に比べ低値であった。従ってPBDEsに比べ、これら物質の生物蓄積性が低いことや野生生物に対する曝露レベルが低いことが推察される。しかしながら、2000年代のハシボソガラスでは検出されていないDBDPEが、2010年代の検体で、比較的高い濃度で検出されていることから、この物質の生態系への移行や蓄積が進んでいる可能性も示唆される。また、ハシボソガラスで検出されたDBDPEがトビでは検出されていないこと、トビで検出されているBTBPEが、ハシボソガラスでは検出されていないことは、両物質の環境動態や野生生物の曝露ルートが異なる可能性を示唆している。DBDPEはDecaBDE製剤の代替、BTBPEはOctaBDE製剤の代替として利用されていることから、DBDPEやBTBPEはそれぞれDecaBDE製剤やOctaBDE製剤と類似の汚染源や曝露動態を示す可能性がある。但し、本研究で対象とした野生鳥類はわずか2種・22検体のみであることから、今後さらに対象生物種や検体数を増やして、これらNBFRsの汚染実態や環境動態、曝露源等について検証する必要がある。また、本研究のトビから検出されたBTBPEの濃度は、ノルウェー北極圏(nd-0.26 ng/g wet wt)⁸⁾やグリーンランド(<0.012-0.022 wet wt)⁹⁾の野生鳥類の組織・卵等から検出された濃度と同程度で、中国のe-wasteリサイクル処理地域の野生鳥類(0.07-2.14 ng/g lipid wt)²¹⁾より低値であった。また、ハシボソガラスから検出されたDBDPEの濃度

は、グリーンランドの野生鳥類の組織・卵から検出された濃度 (<0.025-0.10 wet wt)⁹⁾と同程度で、瀬戸内海沿岸に座礁したスナメリ (7.3 ng/g wet wt)¹⁰⁾や中国の e-waste 処理地域の野生鳥類 (9.6-124 ng/g lipid wt)²¹⁾より低値であった。

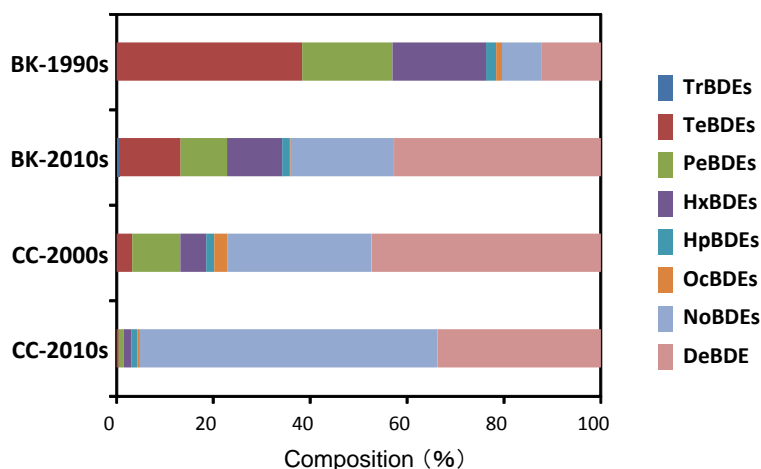


図5 トビ (BK-1990s・BK-2010s) およびハシボソガラス (CC-2000s・CC-2010s) におけるPBDEs同族体組成

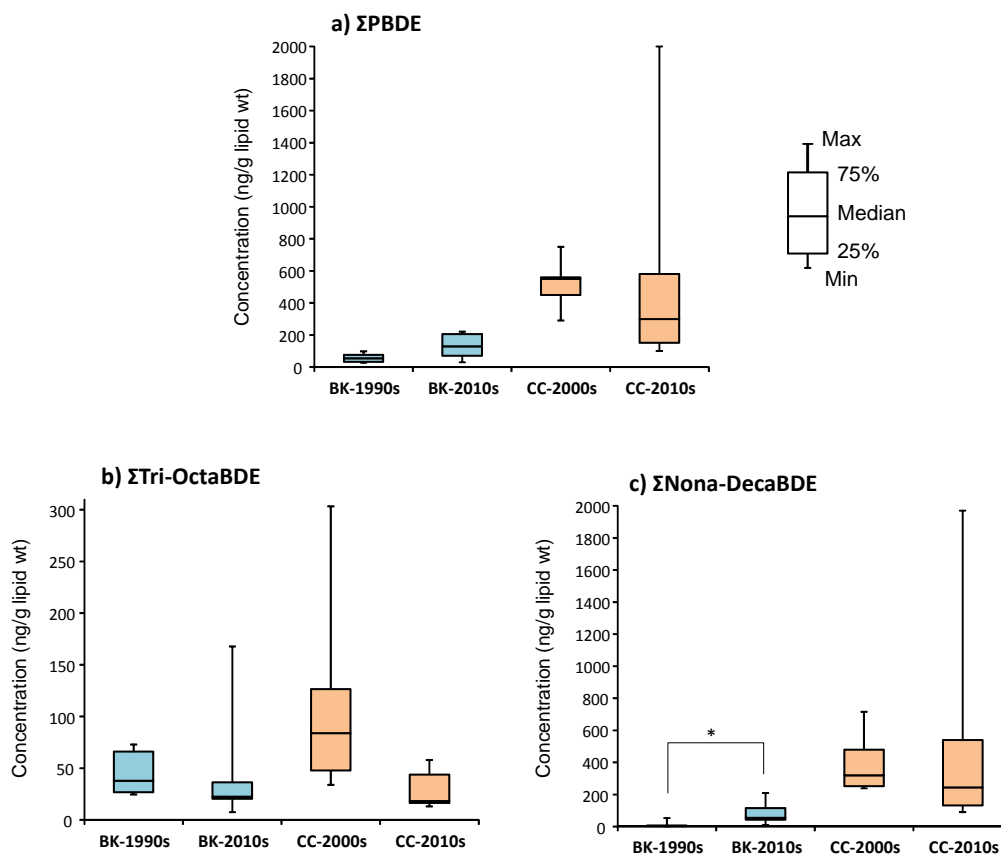


図6 トビ (BK-1990s・BK-2010s) およびハシボソガラス (CC-2000s・CC-2010s) における (a) 総PBDE濃度、(b) Tri-OctaBDE同族体濃度および (c) Nona-DecaBDE同族体濃度の比較 (*採取年代間の濃度に有意差あり, $p < 0.05$, U-test)

3. 2. フィリピン・マニラ湾の魚類におけるリン酸エステル系難燃剤の蓄積特性

フィリピン・マニラ湾の魚類試料を分析した結果、全ての検体から PFRs が検出され、本物質群による広範な水圏生態系の汚染が確認された。PFRs のうち、TEP, TPeP, TnBP の検出率が 80% を超えていた。残留濃度は、TEHP (170 ng/g lipid wt) \approx TEP (170 ng/g lipid wt) > TnBP (130 ng/g lipid wt) > EHDPP (58 ng/g lipid wt) > TPhP (31 ng/g lipid wt) \approx TPeP (31 ng/g lipid wt) の順に高かった (括弧内濃度は全て魚種平均値) (表 8)。上記以外の PFRs は、概ね一桁程度魚類における残留濃度は低かった。これらの残留傾向は、おそらく PFRs の使用実態や環境負荷量を反映すると思われるが、フィリピンにおける PFRs の生産・使用に関する情報はなく、今後のそれら使用実態と併せた調査が必要と思われる。TEHP は、log Kow が 9.49 と高く、水圏生態系における本物質の生物濃縮性は顕著であると考えられた²²⁾。一方で、log Kow (0.8) の小さい TEP も多くの魚種で高濃度に検出されていることから、物理化学的特性だけでなく、その使用量または環境負荷量の多いことが推察された。TBEP (TBOEP) は、下水処理施設 (WWTP) における高い除去率 (84%)²³⁾ が報告されているが、同物質の魚類における検出率は低かった。今回、マニラ湾の魚類から検出された TnBP の濃度は、既報のスウェーデン沿岸の魚類 (ニシン: 3.1-7.9 ng/g lipid wt、パーチ: 16-23 ng/g lipid wt 等)²⁴⁾ に比べ、概して高い傾向にあった。このことは、アジアの水圏環境においても、先進国と同等かそれ以上の PFRs による汚染が進んでいることを示唆している。

また、魚種により PFRs の濃度や組成は大きく異なっており、概して遊泳性よりも底性魚種で濃度が高い傾向にあった。上記のスウェーデン沿岸の魚類においても、同様の傾向が報告されている²⁴⁾。また、マニラ湾の魚類における $\delta^{15}\text{N}$ と PFRs の濃度の相関を解析した結果、TPhP は、底性魚種において蓄積濃度と $\delta^{15}\text{N}$ の間に有意な相関 ($r=0.45$, $p<0.05$) が認められた (図 7)。リン酸トリエステル類は、環境や生体内における加水分解等から、食物連鎖による濃縮性は概して低いと考えられてきたが、本研究から TPhP に関して食物網における濃縮性が示唆された。但し、今回は魚類 20 種のみを対象とした調査研究であることから、今後より低次および高次の野生生物を含む食物連鎖系において、PFRs の濃縮性を解析・評価する必要がある。

ヒトの健康に対する PFRs の許容摂取量 (reference dose: RfD) は、TBEP, TnBP, TPhP に関してそれぞれ 1500, 2400, 7000 ng/kg/day と報告されている²⁵⁾。フィリピン・マニラ湾の魚類から検出された TBEP, TnBP, TPhP の平均濃度は、それぞれ 0.06, 0.73, 0.14 ng/g wet wt であり、フィリピン人の平均魚介類摂取量が年間 30kg²⁶⁾であることを考慮すると、成人 (60kg) が魚介類摂取によりこれら PFRs に曝露する量は、0.08, 1.0, 0.19 ng/kg/day となる。従って、マニラ湾の魚類から試算されるフィリピン人の PFRs 曝露量は、RfD に比べ数桁以下のレベルとなり、ヒトに対する顕著な曝露リスクはないと考えられる。

表8 フィリピン・マニラ湾の魚類（筋肉）試料から検出されたPFRsの濃度（ng/g lipid wt）

Species	TBEP	EHDPP	TnBP	TCP	TEP	TPeP	TPhP	TPrP	TEHP	ΣOPCs
Detection frequency (%)	31	71	83	47	98	90	45	69	62	
Bumpnose trevally	4.1 ± 7.0 ND ^a - 12	110 ± 9.2 100 - 120	400 ± 160 280 - 590	4.7 ± 4.4 ND - 8.7	300 ± 87 260 - 410	83 ± 33 44 - 100	13 ± 12 ND - 22	4.0 ± 1.3 2.7 - 5.4	210 ± 50 160 - 260	1100
Purse-eye scad	0.18 ± 0.31 ND - 0.54	1.8 ± 3.2 ND - 5.5	4.7 ± 4.1 ND - 7.7	0.80 ± 1.0 ND - 2.0	110 ± 35 69 - 130	44 ± 7.8 39 - 53	1.3 ± 2.2 ND - 3.8	4.2 ± 3.5 0.22 - 6.6	23 ± 20 ND - 38	190
Yellowtail scad	14 ± 16 ND - 31	22 ± 39 ND - 67	51 ± 19 32 - 70	15 ± 13 ND - 24	58 ± 29 31 - 89	49 ± 15 32 - 62	11 ± 20 ND - 34	17 ± 19 ND - 30	67 ± 59 ND - 110	300
Yellowstripe scad	1.2 ± 2.0 ND - 3.5	110 ± 61 50 - 170	47 ± 43 13 - 95	0.81 ± 1.4 ND - 2.4	190 ± 87 130 - 290	18 ± 19 ND - 39	ND	ND	ND	370
Redtail scad	ND	ND	2.9 ± 4.1 ND - 5.9	3.3 ± 4.7 ND - 6.6	120 ± 18 110 - 130	37 ± 7.0 32 - 42	ND	5.7 ± 5.4 1.9 - 9.6	280 ± 66 160 - 250	370
Bluetail mullet (adult)	ND	740	ND	ND	150	ND	110	ND	ND	1000
Bluetail mullet (juvenile)	ND	45 ± 30 31 - 60	8.7 ± 12 ND - 17	3.6 ± 0.49 3.3 - 4.0	130 ± 58 85 - 170	10 ± 4.2 7.1 - 13	8.3 ± 3.2 6.0 - 11	4.5 ± 0.76 4.1 - 5.1	22 ± 32 ND - 45	230
Flathead grey mullet	12 ± 3.9 7.2 - 14	ND	140 ± 47 83 - 170	0.71 ± 1.2 ND - 2.1	180 ± 46 140 - 230	16 ± 6.6 8.7 - 21	8.0 ± 14 ND - 24	1.8 ± 1.0 1.0 - 2.9	100 ± 95 ND - 190	460
Chacunda gizzard shad	ND	6.4 ± 11 ND - 19	7.2 ± 6.3 ND - 11	1.0 ± 1.8 ND - 3.1	73 ± 18 56 - 91	31 ± 6.0 26 - 38	17 ± 15 ND - 30	1.9 ± 0.71 1.5 - 2.7	110 ± 97 ND - 180	250
Toli shad	3.2 ± 5.9 ND - 15	10 ± 15 ND - 41	87 ± 53 ND - 140	0.33 ± 0.87 ND - 2.3	200 ± 81 65 - 280	49 ± 29 17 - 99	ND	2.0 ± 2.6 ND - 7.0	43 ± 110 ND - 300	390
Deep-bodied mojarra	34 ± 29 ND - 50	38 ± 33 ND - 57	64 ± 39 41 - 110	3.9 ± 2.8 0.88 - 6.5	100 ± 59 51 - 170	5.2 ± 4.5 ND - 8.0	ND	3.0 ± 1.3 1.6 - 4.2	160 ± 150 50 - 330	410
Longfin mojarra	ND	39 ± 25 10 - 56	120 ± 100 ND - 200	ND	200 ± 57 140 - 250	11 ± 16 ND - 29	110 ± 20 82 - 120	0.49 ± 0.86 ND - 1.5	93 ± 31 60 - 120	560
Fourlined terapon	2.4 ± 4.1 ND - 7.1	1.9 ± 1.7 ND - 3.0	28 ± 24 ND - 45	0.40 ± 0.69 ND - 1.2	64 ± 29 35 - 91	12 ± 0.66 11 - 12	ND	0.68 ± 0.60 ND - 1.1	ND	110
Indian anchovy	ND	58 ± 2.9 56 - 61	220 ± 61 150 - 280	16 ± 7.3 11 - 24	240 ± 28 220 - 280	68 ± 22 43 - 81	51 ± 12 43 - 65	19 ± 4.5 14 - 23	8.2 ± 14 ND - 2	680
Indian mackerel	ND	24	9.6	ND	91	48	ND	4.7	500	680
Common ponyfish	ND	42 ± 25 25 - 71	320 ± 82 250 - 410	6.9 ± 1.8 5.0 - 8.6	230 ± 90 160 - 330	30 ± 15 17 - 47	51 ± 18 33 - 70	23 ± 11 16 - 35	56 ± 52 ND - 101	760
Silver sillago	7.0 ± 4.3 4.0 - 10	180 ± 32 160 - 200	420 ± 120 330 - 500	ND	150 ± 32 130 - 170	17 ± 13 8.3 - 26	ND	6.4 ± 9.1 ND - 13	1000 ± 2.1 1000 - 1000	1800
Yellowstriped goatfish	34 ± 19 20 - 47	12 ± 5.9 8.0 - 16	330 ± 53 300 - 370	ND	260 ± 31 240 - 290	31 ± 11 23 - 38	ND	ND	1200 ± 1100 420 - 2000	1900
Spotted scat	ND	59 ± 30 41 - 94	200 ± 90 100 - 280	5.8 ± 5.2 ND - 10	240 ± 41 210 - 300	16 ± 14 ND - 25	73 ± 20 51 - 91	6.5 ± 5.6 ND - 10	160 ± 140 ND-260	760
Tripletail wrasse	ND	530	ND	ND	430	ND	230	ND	300	1500
Coral grouper (adult)	ND	ND	140	45	ND	21	350	ND	120	680
Coral grouper (juvenile)	4.5 ± 7.8 ND - 14	27 ± 21 9.5 - 51	140 ± 123 ND - 230	3.5 ± 6.0 ND - 10	60 ± 20 46 - 83	12 ± 4.5 6.7 - 15	24 ± 23 ND-46	2.8 ± 3.4 ND - 6.5	260 ± 61 190 - 310	530
Total concentrations	120	2100	2700	110	3600	610	1100	110	4600	

^a ND indicates values below the method detection limit (MDL).

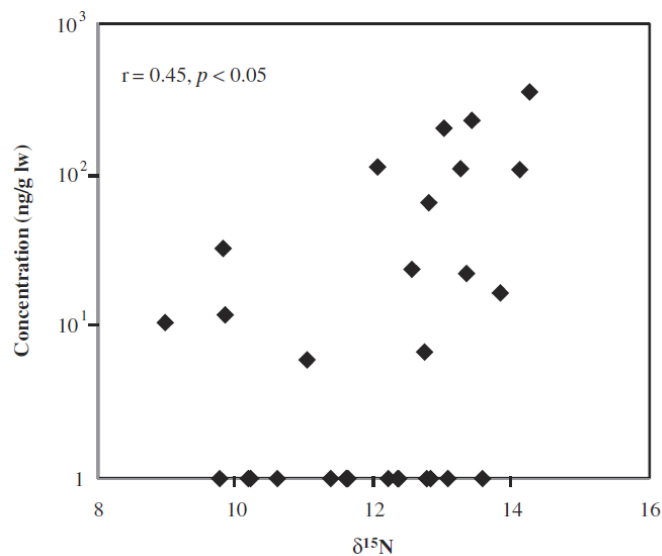


図7 マニラ湾底性魚類におけるTPHP濃度とδ¹⁵Nの相関

3. 3. アジア諸国のヒト母乳におけるリン酸エステル系難燃剤の汚染実態とリスク評価

アジア諸国のヒト母乳試料の分析の結果、8種類のPFRsが調査した3カ国すべてで検出された。とくにTnBP, TPhP, TBOEP, TMPP, TCEPが高頻度で検出された(表9)。フィリピンや日本の母乳試料から検出されたPFRsの残留プロファイルは、既報のフィリピンの室内ダスト²⁷⁾や日本の市販製品²⁸⁾を対象とした調査結果とも概ね類似していた。よって、アジア地域において上記のPFRsが広く使用されており、ヒトへの曝露や蓄積にも反映していると考えられる。

国別にPFRsの濃度レベルを比較すると、フィリピンの総PFR濃度は日本やベトナムに比べ、有意に高値を示した($p < 0.05$, U-test)。とくにフィリピン人の母乳では、TCEPの濃度が高く、特異な曝露源の存在が推定された。また、既報のフィリピンの室内ダスト²⁷⁾に比べ、母乳におけるTCEPの検出率が高いことから、この物質が高い生物蓄積性や母乳移行性を示す可能性、あるいはダスト以外の曝露ルートで人体に取り込まれる可能性が示唆される。一方、TBOEPは、フィリピンよりも日本やベトナムの母乳試料で高かった。さらに、スウェーデン人の母乳試料を対象とした既報の調査結果²⁴⁾と比較すると、フィリピン人の母乳から検出された総PFRs濃度は、約1.5~2倍程度高値であった。従って、PFRsによる人体汚染や曝露リスクは、先進国のみならず、アジアの途上国等でも顕在化する可能性がある。また、スウェーデン人の母乳から検出されているTDC1PPは、フィリピンやベトナムの母乳試料からは検出されず、日本の一部検体でのみ検出された。以上の結果から国・地域によって、PFRsの使用実態やヒトへの曝露状況は、かなり異なることが示唆される。今後はそれらの違いを生じる要因の特定や高濃度曝露群に対する詳細な調査が必要と思われる。また、上記3.2の魚類の結果と比較すると、TBOEPやTPhPは魚類よりも母乳試料での検出率が高いことから、陸圏/室内環境におけるヒトへのPFRs曝露と水圏環境における野生生物へのPFRs蓄積では、その態様が異なることも示唆される。

乳幼児に対する健康リスクを評価するため、本研究の母乳試料の結果を用いて、母乳摂取による乳幼児のPFRs一日当り摂取量(DI)を求め、既報のPFRsに関するRfD²⁵⁾との比較を行った(図8)。乳幼児におけるPFRsのDI(ng/kg/day)は、乳幼児の母乳摂取量を700g/day、体重を5kgとして、母乳中PFRsの湿重当り濃度(C_{milk} , ng/g wet wt)から以下の式(1)により求めた。

$$DI = 700/5 \times C_{\text{milk}} \quad (1)$$

PFRsのDIとRfDを比較した結果、TnBP・TPhP・TMPPに関しては、全ての国・地域においてDIはRfDよりも1~2桁程度低値であったが、日本人の母乳のTBOEP(最大1380 ng/kg/day)やTDC1PP(最大980 ng/kg/day)およびフィリピン人のTCEP(最大1610 ng/kg/day)については、RfDに近接するDI値が得られた。TCEPは、動物実験において発ガン性や生殖毒性が指摘されている¹³⁾。また、TDC1PPに関しては、神経細胞分化のモデルであるラット副腎髄質由来細胞腫「PC12」を用いた*in vitro*試験において、濃度依存的な酸化ストレスの誘導や細胞増殖の抑制、DNA合成・細胞分化における攪乱作用が認められている²⁹⁾。今回、母乳摂取によるPFRsのDI推算では、RfDを大きく上回る検体はなかったが、母乳以外の曝露ルート(例えば室内ダストや大気、食品由来)も併せて考慮した場合、総DIがRfDを上回る可能性も考えられる。本研究は、アジア諸国のヒト母乳からPFRsを検出し、リスク評価を行った初めての試みであることから、今後さらに詳細な調査やリスク評価を実施する必要がある。

表9 日本・フィリピン・ベトナムのヒト母乳試料から検出されたPFRsの濃度（中央値と範囲）
 (ng/g lipid wt)

	Compound	TEP	TNBP	TPEP	TPHP	TPP	EHDPP
	CAS #	78-40-0	126-73-8	2528-38-3	115-86-6	513-08-6	1241-94-7
	DF (%)	16	67	30	86	0	13
Japan	Kanagawa	ND (ND-15)	0.39 (ND-25)	ND (ND-7.9)	1.4 (ND-15)	ND (ND)	ND (ND-0.35)
Philippines	Payatas	ND (ND-1.2)	ND (ND-3.7)	ND (ND-2.0)	19 (1.8-68)	ND (ND)	ND (ND-38)
	Malate	ND (ND-1.5)	2.4 (ND-21)	ND (ND-1.7)	20 (7.6-140)	ND (ND)	ND (ND-102)
	Overall	ND	1.5	ND	19	ND	ND
Vietnam	Hanoi	ND (ND)	1.3 (0.09-5.8)	ND (ND-0.59)	5.0 (ND-22)	ND (ND)	ND (ND)
	Bui Dau	ND (ND-0.80)	3.5 (ND-8.4)	ND (ND-2.6)	8.1 (1.6-17)	ND (ND)	ND (ND-6.1)
	Trang Minh	ND (ND)	1.8 (ND-4.0)	ND (ND-0.15)	0.28 (ND-29)	ND (ND)	ND (ND-8.2)
	Overall	ND	2.0	ND	4.9	ND	ND

ND: not detected.

	Compound	TBOEP	TMPP	TCEP	TDCIPP	Total
	CAS #	78-51-3	1330-78-5	115-96-8	13674-87-8	
	DF (%)	39	59	60	2.0	
Japan	Kanagawa	0.24 (ND-127)	ND (ND-85)	0.14 (ND-20)	ND (ND-162)	22 (0.32-177)
Philippines	Payatas	22 (ND-89)	1.7 (ND-9.3)	41 (ND-512)	ND (ND)	101 (11-585)
	Malate	ND (ND-206)	2.5 (ND-11)	42 (ND-153)	ND (ND)	60 (16-600)
	Overall	ND	2.3	42	ND	70
Vietnam	Hanoi	ND (ND-0.37)	0.34 (ND-4.2)	ND (ND)	ND (ND)	6.2 (0.09-24)
	Bui Dau	ND (ND-1.6)	0.83 (ND-7.9)	ND (ND-18)	ND (ND)	16 (3.2-48)
	Trang Minh	ND (ND-1.1)	ND (ND-2.5)	ND (ND-18)	ND (ND)	6.6 (ND-41)
	Overall	ND	0.28	ND	ND	10

ND: not detected.

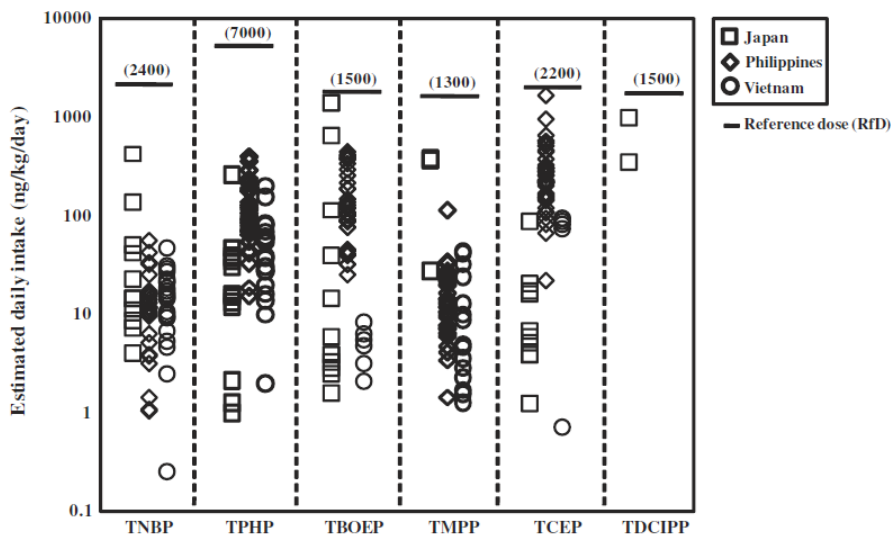


図8 乳幼児におけるPFRsの一日当たり摂取量（母乳中濃度からの推定値）とRfD値の比較

3. 4. ヒト母乳における PFRs・BFRs の汚染実態比較とリスク評価

本研究で明らかとなったアジア諸国（日本・フィリピン・ベトナム）のヒト母乳における PFRs 汚染の実態を既報の BFRs（PBDEs・HBCD）に関する調査研究と比較し、難燃剤成分に関するヒトの曝露実態やリスクについて考察した。日本人の母乳中 PBDEs の残留濃度については、Eslami ら³⁰⁾が、北海道・宮城・岐阜・兵庫の計 89 検体を測定した調査例と、Inoue ら³¹⁾が、日本の 13 都道府県の計 105 検体を測定した調査例が報告されている。母乳中の総 PBDE 濃度（平均±SD）は、前者の調査（BDE209 など高臭素化異性体の測定を含む）で 1.74 ± 0.81 ng/g lipid wt、後者の調査（Tri~HexaBDEs の主要異性体のみ測定）で 2.54 ± 3.77 ng/g lipid wt と報告されている。従って、これら母乳中の PBDEs 濃度は、表 8 に示す日本人の母乳中の PFRs 濃度に比べ概して低値であるといえる。検体数や地域の違いがあるため、単純比較は難しいが、日本では PBDEs よりも PFRs への曝露が顕著となっている可能性がある。

また、ベトナムに関しても、本研究と同じ Hanoi, Bui Dau, Trang Minh の 3 地域について、ヒト母乳試料中の PBDEs および HBCD を測定した例が報告されている³²⁾。ベトナムのこれら地域における PBDEs の濃度（中央値）は、0.57(Hanoi), 84(Bui Dau), 2.3(Trang Minh) ng/g lipid wt、HBCD の濃度（中央値）は、0.33(Hanoi), 0.38(Bui Dau), 2.0(Trang Minh) ng/g lipid wt と報告されており、表 8 に示す PFRs の測定結果と比較すると e-waste 処理地域の Bui Dau を除けば、概して PFRs の濃度が高い傾向にある。さらに、フィリピンについても、本研究と同一の Malate と Payatas において、ヒト母乳試料中の PBDEs および HBCD を測定した例が報告されている^{33,34)}。フィリピンのこれら地域における PBDEs の濃度（中央値）は、2.6-3.8 ng/g lipid wt、HBCD の濃度（中央値）は、0.19-0.62 ng/g lipid wt と報告されており、表 8 の結果と比較すると、PFRs の濃度が明らかに高値である。以上のことから、ベトナムやフィリピンなどの途上国においても、PFRs によるヒトの母乳汚染が BFRs よりも進んでいることが示唆される。

また、母乳摂取による乳幼児への曝露リスクに関して、上記の Tue ら³²⁾は、ベトナムの e-waste リサイクル処理地域（Bui Dau）の一部検体において、BDE47 の ID が、BDE47 の RfD（100 ng/kg/day）を超えることを指摘している。しかしながら、ベトナムの Hanoi³²⁾やフィリピン^{33,34)}の母乳試料に関しては、乳幼児に対する PBDEs の ID 値は、EPA の提示する BDE47, 99, 153, 209 の RfD 値（100, 100, 200, 7000 ng/kg/day）³⁵⁾を大きく下回ることを報告している。日本人の母乳に関して、上記の Eslami ら（2006）や Inoue ら（2006）の調査結果などから推算される PBDEs の ID 値は、EPA の RfD 値を大きく下回ると考えられる。一方、上記 3. 3 における PFRs の曝露に関するリスク評価では、ベトナムの Bui Dau よりも、フィリピンの都市部（Malate）や日本の神奈川県検体で、TBOEP や TDCIPP、TCEP の RfD に近い摂取量が示された。従って、PFRs の曝露に関しては、e-waste リサイクル処理地域など特定の排出源が想定される地域だけでなく、都市の一般環境における曝露源や曝露ルート、一般住民に対する潜在的なリスクを今後詳細に調査・評価する必要があると考えられる。

4. 結論

本研究では、従来の PBDEs に加え、BTBPE や DBDPE などの新規代替臭素系難燃剤（NBFRs）を含む BFRs の一斉分析法を構築した。愛媛県松山空港で 1990 年代から 2010 年代にかけて採取されたトビおよびハシボソガラスの筋肉試料について、BFRs の一斉分析を実施した結果、全ての検体から PBDEs が検出され、また一部の検体から BTBPE や DBDPE などの NBFRs が検出された。ハシボソガラスは、トビに比べて Nona~DecaBDEs の高臭素化同族体を高濃度で蓄積しており、雑食性で人間活動に隣接して生息する本鳥種が、

DecaBDE 製剤を含む化成品や廃棄物等からの直接的曝露を受けていることが示唆された。また、試料の採取年度で PBDEs の濃度や蓄積プロファイルと比較すると、1990 年代/2000 年代と 2010 年代の検体では、PBDEs の組成や高臭素化同族体の濃度に大きな変化がみられ、2010 年代の検体では Nona~DecaBDEs の濃度や割合が顕著に増加する傾向が認められた。よって、PBDEs の生態曝露に関しては、Tetra・PentaBDE 製剤や OctaBDE 製剤に関する使用規制の効果は見られるものの、DecaBDE 製剤由来の環境負荷は継続しており、とくに人間活動の影響を受けやすい野生生物種でその曝露が顕在化していると考えられる。また、BTBPE や DBDPE の濃度レベルは、概して PBDEs に比べ低値ではあるものの、ハシボソガラスの結果から DBDPE の濃度上昇が示唆された。本研究は日本の野生鳥類から NBFRs を検出した初めての例であり、今後も DecaBDE 製剤の利用継続や NBFRs の導入に伴う生態曝露の動向や潜在的リスクについて継続的な調査や評価が必要である。

また、本研究では、生体試料を対象とした PFRs の一斉分析法を開発した。フィリピン・マニラ湾の魚類試料を分析した結果、全ての検体から PFRs が検出され、本物質群による広範な水圏生態系の汚染が確認された。PFRs のなかでも TEHP、TEP、TnBP の検出率や濃度が高く、スウェーデン沿岸の魚類における TnBP 濃度と比較してもマニラ湾の魚類の汚染レベルは高い傾向にあった。従って、アジア途上国の水圏環境においても、先進国と同等かそれ以上の PFRs 汚染が広がっていることが示唆される。また、魚種により PFRs の濃度や組成は大きく異なっており、TPhP は食物連鎖による濃縮性が示唆された。今後は魚類以外にも多様な低次・高次生物を対象に調査を実施し、PFRs による生態曝露の実態と環境動態についてより詳細に解析する必要がある。また、日本・フィリピン・ベトナムのヒト母乳の分析結果では、TnBP、TPhP、TBOEP、TMPP、TCEP などの PFRs が高頻度で検出され、とくにフィリピンの PFRs 濃度がアジアの他国や既報のスウェーデンなどの結果と比較しても高いことが示された。よって、アジア地域において上記の PFRs が広く使用されており、その人体汚染や曝露リスクは、先進国のみならず、アジアの途上国等でも顕在化していることが示唆された。さらに母乳を介した乳幼児への曝露リスクについて評価した結果、TBOEP・TDC1PP（日本）や TCEP（フィリピン）に関して RfD に近接する摂取量が見積もられた。さらに既報のアジア人の母乳を対象とした BFRs の調査結果と比較したところ、PFRs による母乳汚染や曝露リスクは、アジアの都市住民において BFRs よりも顕著となっていることが示された。本研究は、アジア諸国のヒト母乳から PFRs を検出し、リスク評価を行った初めての試みである。今後さらに BFRs や他の化成品由来の化学物質に関する調査と併せて、ヒトへの曝露実態や影響を包括的に評価する必要がある。

5. 参考文献

- 1) de Wit, C. A., 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment PBDEs. *Chemosphere* 46: 583-624.
- 2) Watanabe I, Sakai S., 2003. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environment International* 29: 665-682.
- 3) Darnerud, P. O., 2003 Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife. *Environment International* 29: 841- 853.
- 4) Tanabe, S., Ramu, K., Isobe, T., Takahashi, S., 2008. Brominated flame retardants in the environment of Asia-Pacific: an overview of spatial and temporal trends. *J. Environmental*

Monitoring 10: 188-197.

- 5) 環境省水・大気環境局総務課ダイオキシン対策室, 2014. 平成25年度臭素系ダイオキシン類排出実態等調査結果報告書. 参考資料-1 国内の主な難燃剤需要量推移および世界の臭素生産量(推定), pp. 137-140.
- 6) Covaci, A., Harrad, S., Abdallah, M. A. E., Ali, N., Law, R. J., Herzke, D., de Wit, C. A., 2011. Novel brominated flame retardants: a review of their analysis, environmental fate and behaviour. *Environment International* 37: 532-556.
- 7) Wu, J., Zhang, Y., Luo, X., She, Y., Yu, L., Chen, S., Mai, B., 2012. A review of polybrominated diphenyl ethers and alternative brominated flame retardants in wildlife from China: Levels, trends, and bioaccumulation characteristics. *Journal of Environmental Sciences* 24: 183-194.
- 8) Verreault, J., Gebbink, W.A., Gauthier, L.T., Gabrielsen, G.W., Letcher, R.J., 2007. Brominated flame retardants in Glaucous Gulls from the Norwegian Arctic: more than just an issue of polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Science & Technology* 41:4925-31.
- 9) Vorkamp, K., Bossi, R., Riget, F. F., Skov, H., Sonne, C., Dietz, R., 2015 Novel brominated flame retardants and dechlorane plus in Greenland air and biota. *Environmental Pollution* 196: 284-291.
- 10) Takasuga T., Matsukami H., Watanabe K., Takemori H., Takahashi S., Tanabe S., 2006, Comprehensive analytical approach for organobromine compounds in environmental samples with GC-(NCI/EI)-LR/HRMS. *Organohalogen Compounds* 68: 1178-1181.
- 11) European Flame Retardants Association, 2007 Market Statistics. http://www.flameretardants.eu/DocShareNoFrame/docs/1/HGJJCNFBPCEOKPEPPIPEICDF53V443-HA4YW3PDB348BT/EFRA/docs/DLS/EFRA_web_11-2007_Market_statistics-1.pdf2007.
- 12) Reemtsma, T., Quintana, J.B., Rodil, R., Garcia-López, M., Rodriguez, I., 2008. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in water and air - I. Occurrence and fate. *Trends in Analytical Chemistry*, 27: 727-737
- 13) van der Veen, J., De Boer, J., 2012. Phosphorus flame retardants: properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere* 88: 1119-1153.
- 14) Lundstedt-Enkel, K., Johansson, A.-K., Tysklind, M., Asplund, L., Nylund, K., Olsson, M., Orberg, J., 2005. Multivariate data analyses of chlorinated and brominated contaminants and biological characteristics in adult guillemot (*Uria aalge*) from the Baltic Sea. *Environmental Science & Technology* 39: 8630-8637.
- 15) Kunisue, T., Higaki, Y., Isobe, T., Takahashi, S., Subramanian, An. and Tanabe, S., 2008. Spatial trends of polybrominated diphenyl ethers in avian species: Utilization of stored samples in the Environmental Specimen Bank of Ehime University (es-Bank). *Environmental Pollution*, 154: 272-282.
- 16) Takahashi, S., Oshihoi, T., Ramu, K., Isobe, T., Ohmori, K., Kubodera, T., Tanabe, S., 2010. Organohalogen compounds in deep-sea fishes from the western North Pacific, off-Tohoku, Japan: Contamination status and bioaccumulation profiles. *Marine Pollution Bulletin*, 60: 187-196.

- 17) Hites, R. A., 2008. Electron impact and electron capture negative ionization mass spectra of polybrominated diphenyl ethers and methoxylated polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Science & Technology* 42: 2243-2252.
- 18) Takahashi, S., Sakai, S., Watanabe, I., 2006. An intercalibration study on organobromine compounds: results on polybrominated diphenylethers (PBDEs), polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PBDDs/DFs) and mixed polybrominated/chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PXDDs/DFs). *Chemosphere* 64: 234-244.
- 19) Kim, J.-W., Isobe, T., Muto, M., Tue, N. M., Katsura, K., Malarvannan, G., Sudaryanto, A., Chang, K.-H., Prudente, M., Viet, P. H., Takahashi, S., Tanabe, S., 2014. Organophosphorus flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries. *Chemosphere* 116: 91-97.
- 20) Robrock, K. R., Korytar, P., Alvarez-Cohen, L., 2008. Pathways for the anaerobic microbial debromination of polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Science and Technology* 42: 2845-2852.
- 21) Shi, T., Chen, S. J., Luo, X. J., Zhang, X. L., Tang, C. M., Luo, Y., Ma, Y. J., Wu, J. P., Peng, X. Z., Mai, B. X., 2009. Occurrence of brominated flame retardants other than polybrominated diphenyl ethers in environmental and biota samples from southern China *Chemosphere* 74: 910-916.
- 22) Kim, J.-W., Isobe, T., Chang, K.-H., Amano, A., Maneja, R. H., Zamora, P. B., Sirigan, F. P., Tanabe, S., 2011. Levels and distribution of organophosphorus flame retardants and plasticizers in fishes from Manila Bay, the Philippines. *Environmental Pollution* 159: 3653-3659.
- 23) Meyer, J., Bester, K., 2004. Organophosphate flame retardants and plasticizers in wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Monitoring* 6: 599-605.
- 24) Sundkvist, A. M., Olofsson, U., Haglund, P., 2010. Organophosphorus flame retardants and plasticizers in marine and fresh water biota and in human milk. *Journal of Environmental Monitoring* 12: 943-951.
- 25) van den Eede, N., Dirtu, A. C., Neels, H., Covaci, A., 2011. Analytical development and preliminary assessment of human exposure to organophosphate flame retardants from indoor dust. *Environment International* 37: 454-461.
- 26) Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2010. Food security. Quantities: food items. <http://www.fao.org/economic/ess/ess-fs/fs-data/essfadata/en/>.
- 27) Kim, J. W., Iosbe, T., Sudaryanto, A., Malarvannan, G., Chang, K. H., Prudente, M., Tanabe, S., 2013. Organophosphorus compounds in house dust from the Philippines: occurrence and assessment of human exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 20: 812-822.
- 28) Kajiwara, N., Noma, Y., Takigami, H., 2011. Brominated and organophosphate flame retardants in selected consumer products on the Japanese market in 2008. *J. Hazard. Mater.* 192: 1250-1259.
- 29) Dishaw, L. V., Powers, C. M., Ryde, I. T., Roberts, S. C., Seidler, F. J., Slotkin, T. A., Stapleton, H. M., 2011. Is the PentaBDE replacement, tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), a

- developmental neurotoxicant? Studies in PC12 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 256: 281-289.
- 30) Eslami, B., Koizumi, A., Ohta, S., Inoue, K., Aozasa, O., Harada, K., 2006. Large-scale evaluation of the current level of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from 13 regions of Japan. *Chemosphere* 63: 554-561.
- 31) Inoue, K., Harada, K., Takenaka, K., Uehara, S., Kono, M., Shimizu, T., Takasuga, T., Senthilkumar, K., Yamashita, F., Koizumi, A., 2006. Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ. Health Perspect.* 114: 1179-1185.
- 32) Tue, N. M., Sudaryanto, A., Minh, T. B., Isobe, T., Takahashi, S., Viet, P. H., Tanabe, S., 2010. Accumulation of polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in breast milk from women living in Vietnamese e-waste sites. *Science of the Total Environment* 408: 2155-2162.
- 33) Malarvannan, G., Kunisue, T., Isobe, T., Sudaryanto, A., Takahashi, S., Prudente, M., Subramanian, A., Tanabe, S., 2009. Organohalogen compounds in human breast milk from mothers living in Payatas and Malate, the Philippines: levels, accumulation kinetics and infant health risk. *Environ. Pollut* 157: 1924-1932.
- 34) Malarvannan, G., Isobe, T., Covaci, A., Prudente, M., Tanabe, S., 2013. Accumulation of brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in human breast milk and scalp hair from the Philippines: levels, distribution and profiles. *Sci. Total. Environ.* 442: 366-379.
- 35) EPA. Integrated risk information system. U.S. Environmental Protection Agency; 2008. [<http://www.epa.gov/iris> accessed March 2015].

6. 研究発表

6. 1. 誌上発表

- 1) Kim, J.-W., Isobe, T., Muto, M., Tue, N. M., Katsura, K., Malarvannan, G., Sudaryanto, A., Chang, K.-H., Prudente, M., Viet, P. H., Takahashi, S., Tanabe, S., 2014. Organophosphorus flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries. *Chemosphere* 116: 91-97.

6. 2. 学会発表

- 1) 磯部友彦・武藤 衛・金 俊佑・Tue, N. M.・桂 加奈・Agus, S.・Malarvannan, G.・Maricar, P.・Viet, P. H.・高橋 真・田辺信介 (2013): 日本・ベトナム・フィリピンにおける母乳中有機リン系難燃剤レベルの比較. 第22回環境化学討論会, 東京, 7-8月, 講演要旨集, 332-333.
- 2) 桂 加奈・Tue, N. M.・Tuyen, L. H.・鈴木 剛・高橋 真・Viet, P. H.・田辺信介 (2013): ベトナム廃プラスチック処理地域で採取したヒト母乳の *in vitro* 内分泌攪乱活性スクリーニングと乳幼児のリスク評価. 第22回環境化学討論会, 東京, 7-8月, 講演要旨集, 560-561.
- 3) 高橋 真・Kim, J. W.・Tue, N. M.・磯部友彦・三崎健太郎・江口哲史・Riyadi, A. S.・Jang, H. S.・Viet, P. H.・田辺信介・松村千里 (2013): アジア途上国・新興国の廃棄物処理現場等におけるパー

フルオロ化合物の汚染実態と発生源プロファイルの解析, 第22回環境化学討論会, 東京, 7-8月, 講演要旨集, 712-713.

- 4) Takahashi, S., Kim, J. W., Teu, N. M., Isobe, T., Misaki, K., Eguchi, A., Slamet, R., Jang H. S., Viet, P. H., Tanabe, S. and Matsumura, C. (2013): Contamination status and emission profiles of perfluorinated compounds from waste treatment and recycling activities in some Asian countries. The 33rd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN 2013), Daegu, Korea, August, Abstract Book, P-0223.
- 5) 磯部友彦・金 俊佑・西岡宗一郎・張 光弦・田辺信介 (2013): 魚類中リン酸エステル系難燃剤の分析とヒト暴露評価, 第16回日本水環境学会シンポジウム, 沖縄, 11月, 講演集, 167.
- 6) Isobe, T., Muto, M., Kim, J.W., Tue, N.M., Katsura, K., Sudaryanto, A., Malarvannan, G., Prudente, M., Viet P.H., Takahashi, S., and Tanabe, S. (2013): Organophosphate flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries. 6th International Symposium on Brominated Flame Retardants, San Francisco, USA, April, Abstract, 35.
- 7) 松神秀徳・Tue, N. M.・鈴木 剛・染矢雅之・宇智田(野田) 奈津代・藤森 崇・Tuyen, L. H.・阿草 哲郎・Viet, P. H.・高橋 真・田辺信介・滝上英孝 (2014): ベトナム北部のE-waste リサイクル施設における難燃剤の環境排出実態調査(第二報), 第23回環境化学討論会, 京都, 5月, 講演要旨集, 246-247.
- 8) 西本 慶・Kim, J. W.・西岡宗一郎・Sudaryanto A.・Ilyas, M.・Slamet R. A.・磯部友彦・田辺信介 (2014): リン酸エステル系難燃剤によるインドネシアの母乳汚染, 第23回環境化学討論会, 京都, 5月, 講演要旨集, 258-259.

第3章 縮合型リン系難燃剤のバイオアッセイと LC-QTOF-MS による安全性評価

分担研究者： 鈴木 剛、滝上 英孝（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）
研究協力者： 松神秀徳（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）

1. はじめに

プラスチック樹脂や繊維製品中に使用される縮合型リン系難燃剤¹⁻³⁾は、オリゴマー化やポリマー化等縮合して製造され、分子量が大きくなることからモノマー型リン系難燃剤と比較して揮発等を通じた環境放散性が低くなると考えられている。ハザードの観点においても、縮合型については、分子量が大きくなることで、生物利用能が下がり、毒性発現能も低下していることが期待される。従って縮合体化は、環境上適切な化成品のデザインの在り方と捉えることが出来る。一方で、臭素系難燃剤中の臭素系ダイオキシシン類⁴⁾や2,4,6-トリブロモフェノール⁵⁾を例として、構成主体の化成品よりもハザードの強い不純物が含まれることがあり、含有不純物によるリスク性が無視できない場合がある。

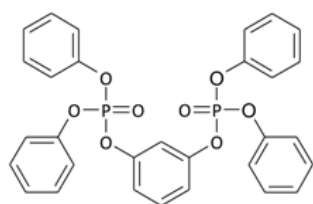
縮合型リン系難燃剤は、用途によって POPs として規制された臭素系難燃剤 (POP-BFRs) の主要な代替物になると考えられている。縮合型リン系難燃剤は、既に一般家庭やオフィスなどの室内環境^{6,7)}、廃電気電子機器リサイクル現場周辺の屋外環境⁸⁾ に遍在している。製剤含有のその他構成成分についても、同様に検出される可能性がある。縮合型リン系難燃剤の構成成分は、重合体とその単量体の混合物であるといわれているが⁹⁻¹⁷⁾、非意図的生成物等の構成成分はこれまでに調査されていない。また、不純物等を含む製剤のハザードの評価もこれまで実施されていない。

本研究では、リン系代替難燃剤の主流と考えられている縮合型リン系難燃剤のうち、国内外で広く販売されている4種類の製剤を対象として、LC-QTOF-MSによるノンターゲット分析によって製剤構成成分を明らかにし、バイオアッセイによるハザード評価を行なった。また、セミマイクロ HPLC 法を用いて製剤構成成分の溶離時間に応じた分離・分画を行ない、得られた画分についてバイオアッセイ/LC-QTOF-MSを実施して、ハザード関連物質を推定して縮合型リン系難燃剤の安全性やリスク性に関して考察した。

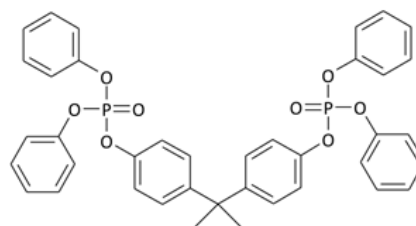
2. 研究方法

2. 1. 縮合型リン系難燃剤

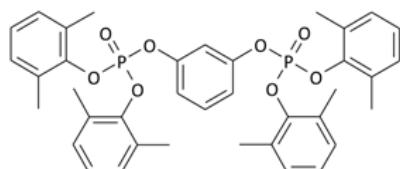
本研究では、大八化学工業製から市販されているジエチレングリコールビス[ジ(2-クロロイソプロピル)ホスフェート] (製剤名 CR-504L)、1,3-フェニレンビス(ジフェニルホスフェート) (製剤名 CR-733S)、ビスフェノール A ビス(ジフェニルホスフェート) (製剤名 CR-741)、1,3-フェニレンビス[ジ(2,6-ジメチルフェニル)ホスフェート] (製剤名 PX-200) の4種類の縮合型リン系難燃剤の製剤を使用した。常温では、CR-504L、CR-733S 及び CR-741 が液状、PX-200 が粉状である。これら難燃剤の主な用途を次に示す¹⁸⁾。CR-504L は、主にポリウレタンフォームに使用されており、自動車用フレームラミネート（自動車の内装等に使用）としても加工され使用されている。CR-733S と CR-741 については、各種エンジニアリングプラスチック（耐熱性等特定の機能を強化しているプラスチックの総称）や合成繊維の難燃剤として使用されている。PX-200 は、CR-741 よりも耐熱性が優れているとされており、また粉状で取り扱いが容易なため、各種エンジニアリングプラスチック、エポキシ樹脂、合成繊維、粘接着剤の難燃剤として幅広く使用されている。



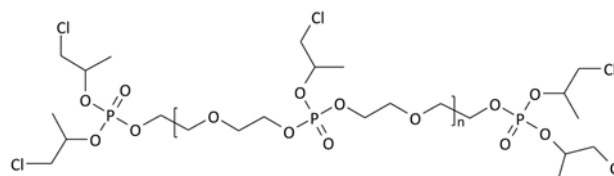
1,3-フェニレン ビス (ジフェニルホスフェート)
(製品名 : CR-733S)



ビスフェノール A ビス (ジフェニルホスフェート)
(製品名 : CR-741)



1,3-フェニレン ビス [ジ (2,6-ジメチルフェニル) ホ
スフェート] (製品名 : PX-200)



ジエチレングリコール ビス [ジ (2-クロロイソプロピル)
ホスフェート] (製品名 : CR-504L)

図 1 本研究で対象とした 4 種類の縮合型リン系難燃剤

2. 2. ノンターゲット分析による製剤構成成分評価

2. 2. 1. 縮合型リン系難燃剤の調製

縮合型リン系難燃剤を 10 mg 秤量後、10 ml のテトラヒドロフラン (THF) に定容した 1000 μ g/ml の製剤原液を調製した。各製剤原液を THF で 100 倍希釈した 10 μ g/ml の製剤希釈液を調製した。製剤中不純物と想定されるモノマー型リン系難燃剤のリン酸トリス(2-クロロイソプロピル) (TCIPP)、リン酸トリフェニル (TPHP)、リン酸トリス(2,6-ジメチルフェニル) (TDMPP) の同定及び定量には、それぞれ和光純薬工業製、東京化成工業製、林純薬工業製の標準物質を使用した。各標準物質を正確に 10 mg 秤量後、10 ml の THF に定容した 1000 μ g/ml の標準原液を調製した。各標準原液を THF で 20 倍希釈した後 (濃度: 50 μ g/ml)、5 水準の濃度 (0.01、0.05、0.2、1、及び 5 μ g/ml) に希釈した標準希釈液を調製した。

2. 2. 2. LC-QTOF-MS

測定装置には、アジレント・テクノロジー製の Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS システム (LC-QTOF-MS) を使用した。分離カラムには、昭和電工製の KF-402HQ (内径: 4.6 mm、長さ: 250 mm、ポリスチレンでの排除限界: 5000) を使用した。移動相には高速液体クロマトグラフ用 THF (安定剤不含) を使用し、分離カラムの温度は 30°C、移動相の流速は 0.3 ml、サンプルの注入量は 5 μ l に設定した。APPI-QTOF-MS のキャピラリー電圧は 3500 V、フラグメンターは 150 V、スキマーは 65 V に設定した。乾燥ガス及び気化ガスの温度は、それぞれ 350°C 及び 300°C に設定した。ネブライザーガスの圧力は 50 psi に設定した。コリジョンガスにはアルゴン (>99.9999%) を使用した。精密質量データの取得及び解析には、アジレント・テクノロジー製の MassHunter ソフトウェアを使用した。

2. 2. 3. モノマー型リン系難燃剤の同定及び定量

製剤希釈液と標準希釈液を対象として、m/z 100~3200 の質量範囲で MS 測定を行い、製剤中のモノマー型リン系難燃剤を同定した。具体的には、製剤中成分のうち、標準物質で検出された分子量関連イオンの精密質量と保持時間が一致する成分を確認した。標準物質の分子量関連イオンをプリカーサーイオ

ンに設定して m/z 50~1500 の質量範囲で MSMS 測定を行い、標準物質で確認されたプロダクトイオンが一致することを確認した。製剤中モノマー型リン系難燃剤は次の手順で定量した。測定用標準溶液及び測定用製剤溶液について MS 測定で得られた質量データの中からモノマーの標準物質で確認された分子量関連イオンの抽出イオンクロマトグラム (EIC) を ±20 ppm の質量範囲で作成した。モノマーのピーク面積を求め、測定用標準溶液の濃度比から絶対検量線法に基づき定量値を求めた。当該測定法では、0.01~5 µg/ml の範囲で作成した標準物質の検量線の相関係数が 0.99 以上であり良好な直線性が確認された。製剤中成分のカラム分離、イオン化、TOF-MS の精密質量分離により、モノマーの正確な定量を干渉するオリゴマーや不純物等は確認されなかった。3 回繰り返し測定で得られた定量値の変動係数 (C.V.) は、0.9~6.6% の範囲であり、安定した定量分析が可能であった。分析工程における汚染は検出下限以下であることが確認された。

2. 2. 4. 製剤中のその他構成成分の推定

製剤希釈液を対象として、m/z 100~3200 の質量範囲で MS 測定を行い、製剤中構成成分の分子量関連イオンの精密質量に基づいて元素組成を決定した。各成分の分子量関連イオンをプリカーサーイオンに設定して m/z 50~1500 の質量範囲で MSMS 測定を行った。MSMS 測定時に設定したコリジョン電圧値は各成分の開裂に適した値を検討した。各成分のプロダクトイオンの精密質量から開裂経路を解析し、化学構造に基づいて構成成分を推定した。

2. 3. バイオアッセイによるハザード特性評価

2. 3. 1. 縮合型リン系難燃剤の調製

縮合型リン系難燃剤を 30 mg 秤量後、1 ml の DMSO に定容して製剤原液を調製した。試験時には、製剤原液で活性が確認されたものについて、用量反応データを取得するために段階的な希釈を行なった。本研究では細胞への曝露濃度を 0.1% DMSO とするため、30mg/ml の製剤原液を曝露する場合は細胞への曝露濃度が 30 µg/ml となる。

2. 3. 2. バイオアッセイ

本研究では、オランダ・BioDetection Systems b. v. で開発された表 1 に示す核内受容体結合レポーター遺伝子アッセイ (CALUX アッセイ) を用いて、縮合型リン系難燃剤の各種核内受容体の作動性 (アゴニスト活性) 及び拮抗性 (アンタゴニスト活性) を評価した。エンドポイントは、REACH 規則 (EU の化学品の登録 (Registration)・評価 (Evaluation)・認可 (Authorisation)・制限 (Restriction) に関わる規則) で採り上げられている生殖毒性等に注目して、アンドロゲン受容体 (AR)、エストロゲン受容体アルファ (ER α)、プロゲステロン受容体 (PR) 等のアゴニスト及びアンタゴニスト活性を対象とした。AR、ER α 及び PR のアゴニスト及びアンタゴニスト活性は、EU で実施された臭素系難燃剤のリスク評価プロジェクト (FIRE: Flame retardants Integrated Risk assessment for Endocrine effects) に採用された実績を有する¹⁹⁾。本報告書の 4 章では、当該バイオアッセイで AR アンタゴニスト及び ER アゴニストとしてスクリーニングされたリン系難燃剤について、生殖系に関わる動物毒性・行動学的影響を確認しており、生殖毒性スクリーニング手法としての有効性を確認している。

各種核内受容体のアゴニスト及びアンタゴニスト活性は、外来遺伝子であるホタルのルシフェラーゼ遺伝子を安定的に挿入した組み換えヒト骨肉腫 (U2OS) 細胞を用いる CALUX アッセイを用いて測定した。バイオアッセイは、基本的に既報に準じて実施した²⁰⁾。概要を以下に示す。U2OS 細胞は、培養用培地を用いて、37°C 及び 5% CO₂ の条件で培養した。バイオアッセイを行なう際には、培養フラスコ中の U2OS

細胞を、96well マイクロプレートに 9,000~12,000 cells/well の濃度で播種して、約 24 時間培養した。アゴニスト活性試験では、96well マイクロプレートの各 well から培地を除去した後、DMSO に溶解した各種標準物質溶液と縮合型リン系難燃剤溶液を培養用培地に対して 0.1% DMSO 濃度になるように添加して調製した培地を各 well に添加し、U2OS 細胞への曝露を行なった。曝露 24 時間後、誘導されたルシフェラーゼ活性をルミノメーターで測定した。連続的な容量依存応答を示し、アゴニスト標準物質の最高濃度の活性を 100%とした際の相対活性が 5%以上であった場合にアゴニスト活性有り と判断した。アンタゴニスト活性試験では、96well マイクロプレートの各 well から培地を除去した後、アゴニスト標準物質溶液と縮合型リン系難燃剤溶液を培養用培地に対してそれぞれ 0.1%になるように添加して調製した培地（この場合、0.2% DMSO）を各 well に添加して、U2OS 細胞への曝露を行なった。アンタゴニスト活性試験では、次の 3 種類の試験を順に実施して活性の有無を判断した：試験①相対活性 50%を示す濃度（EC50）のアゴニスト標準物質との共曝露試験を行ない、曝露 24 時間後にルシフェラーゼ活性を測定した。得られた活性が連続的な容量依存応答を示し、アンタゴニスト標準物質の最高濃度の阻害活性を 100%とした際の相対阻害活性が 20%以上であった場合に、試験②を実施した。試験②アンタゴニスト活性試験①と同様に曝露を行ない、細胞毒性試験を実施した。試験①で示された相対阻害活性が細胞毒性に因らないことを確認した場合に、試験③を実施した。試験③EC50 の 100 倍の濃度のアゴニスト標準物質との共曝露試験を行ない、曝露 24 時間後にルシフェラーゼ活性を測定した。試験①で観察された阻害が、過剰量のアゴニスト標準物質との共曝露試験（試験③）で回復した（阻害されない）場合に、受容体特異的なアンタゴニスト活性と判断した。

2. 3. 3. データ解析

本研究では、各種試験を少なくとも n=3 で実施した。アゴニスト活性試験及びアンタゴニスト活性試験で連続的な容量依存応答を示した縮合型リン系難燃剤については、SigmaPlot 13 を用いてシグモイド曲線を描き、EC50 と IC50（共曝露したアゴニスト標準物質による活性を 50%阻害する濃度）を算出した。

表 1 本研究で使用したレポーター遺伝子アッセイ

適用手法	対象核内受容体	核内受容体の機能
AR-CALUX アッセイ	アンドロゲン受容体 (AR)	男性ホルモン作用
ER α -CALUX アッセイ	エストロゲン受容体 α (ER α)	女性ホルモン作用
PR-CALUX アッセイ	プロゲステロン受容体 (PR)	妊娠準備・維持作用
PPAR γ 2-CALUX アッセイ	ペルオキシソーム増殖活性化受容体 γ 2 (PPAR γ 2)	脂肪細胞の調節、血糖降下作用

2. 4. ハザード関連物質のプロファイリング

縮合型リン系難燃剤には、構成主体のオリゴマー型或いはポリマー型のリン系難燃剤以外にも、合成未反応物や分解生成物と想定される不純物が含まれている。従ってバイオアッセイでは、不純物を含む全ての製剤構成成分のハザードを評価している。本研究では、製剤構成成分から主要なハザード関連物質を推定するために、製剤含有のハザード関連物質のプロファイリングを実施した。THF に溶解した各種縮合型リン系難燃剤 (10mg/ml) をセミマイクロ HPLC に供して、溶離液を溶離時間に応じて 96 ディープウェルプレートに分取した。分離カラムには、昭和電工製の KF-402HQ（内径：4.6 mm、長さ：250 mm、ポリスチレンでの排除限界：5000）を使用した。移動相には、高速液体クロマトグラフ用 THF（安定剤不含）をメンブレンフィルターでろ過したものを要時調製して使用した。分離カラムの温度は、40℃、

移動相の流速は 0.3 ml、サンプルの注入量は 2 μ l (20 μ g 相当量) とした。分取した溶離液は、3%DMSO/ヘキサン洗浄水を添加後、遠心エバポレーターで THF を除去した。濃縮後の溶離液についてバイオアッセイを行ない、ハザードを示す溶離液画分を選定した。当該溶離液画分を対象として、先述した 2. 2. ノンターゲット分析による製剤構成成分評価を行ない、ハザード関連物質を推定した。

3. 結果と考察

3. 1. 縮合型リン系難燃剤の含有成分

縮合型リン系難燃剤の構成成分は、分子サイズで分離後、APPI 条件下で水素付加イオンとなり、TOF-MS で精密質量分離され、ポジティブイオンモードで検出された。ネガティブモードでは検出されなかった。分子量関連イオンの精密質量について EIC を作成した結果、CR-733S では 6 成分、CR-741 では 6 成分、PX-200 では 4 成分、CR-504L では 9 成分が、各製剤の構成成分として確認された。CR-733S 及び CR-741 では、構成成分の 1 成分が TPHP 標準物質の分子量関連イオンの精密質量及び保持時間と一致した。PX-200 では 1 成分が TDMPP の標準物質と一致し、CR-504L では TCIPP の標準物質と一致した。分子量関連イオンの精密質量の理論値と実測値の誤差は 1.57-3.51 ppm の範囲であり、高い質量精度が確認された。さらに、製剤中 TPHP、TDMPP、TCIPP と各標準物質のプロダクトイオンが一致することも確認された。

標準希釈液及び製剤希釈液の MS 測定データから作成した EIC を用いて、製剤中のモノマー型リン系難燃剤 (TPHP、TDMPP、TCIPP) のピーク面積を求めて絶対検量線法に基づき定量値を求めた (表 2)。CR-733S 及び CR-741 中 TPHP の含有量はそれぞれ 2.0%及び 1.2%、PX-200 中 TDMPP の含有量は 2.8%であった。CR-733S、CR-741 及び PX-200 は、オキシ塩化リンと二価のフェノール系化合物、及びフェノール (またはアルキルフェノール) との反応によって製造され⁹⁻¹¹⁾、CR-733S には 5%未満の TPHP、CR-741 には 3%未満の TPHP が含まれると報告されている¹³⁻¹⁷⁾。CR-504L 中 TCIPP の含有量は 5.7%であった。CR-504L は、触媒の存在下で、アルキレンオキサイドとオキシ塩化リンとの反応によって製造され、6%未満の TCIPP を含有することが報告されている⁹⁾。本研究の結果は、既報値の範囲内であった。PX-200 中 TDMPP の含有量については、本研究が初めての報告となった。

表 2 縮合型リン系難燃剤中のモノマー型リン系難燃剤の含有量

対象製剤	TPHP			TDMPP			TCIPP		
	濃度 (mg/g)	重量%	平均	濃度 (mg/g)	重量%	平均	濃度 (mg/g)	重量%	平均
	平均	標準偏差	平均	平均	標準偏差	平均	平均	標準偏差	平均
CR-733S	20	0.55	2.0	-	-	-	-	-	-
CR-741	12	0.11	1.2	-	-	-	-	-	-
PX-200	-	-	-	28	0.88	2.8	-	-	-
CR-504L	-	-	-	-	-	-	57	3.8	5.7

- : 測定していない

MS 測定で検出された CR-733S の 6 成分、CR-741 の 6 成分、PX-200 の 4 成分、CR-504L の 9 成分を対象に MSMS 測定を実施した。各成分のプロダクトイオンの精密質量から元素組成を決定し、開裂経路を解明して化学構造の候補を探索した。CR-733S では、TPHP と二量体から五量体までのオリゴマー、リン酸[(3-

ヒドロキシフェニル)ジフェニル] (HP-DPHP) が含有成分と推定された。CR-741 では、TPHP と二量体から四量体までのオリゴマー、リン酸[4-[2-(4-ヒドロキシフェニル)プロパン-2-イル]フェニル]ジフェニル] (BPA-DPHP) などの BPA-BDPP の類縁物質が含有成分と推定された。PX-200 では、TDMPP と二量体と三量体のオリゴマー、リン酸[(3-ヒドロキシフェニル)ジ(2,6-ジメチルフェニル)] (HP-2,6-DDMPP) が含有成分と推定された。CR-504L では、TCIPP と二量体から五量体までのオリゴマー、TCIPP 及び DEG-BDCIPP の類縁物質が含有成分と推定された。

3. 2. 縮合型リン系難燃剤のハザード特性

縮合型リン系難燃剤の生殖毒性に関わるハザードを評価した結果、ER α アゴニスト活性、AR アンタゴニスト活性及び PR アンタゴニスト活性が検出された。CR-733S 及び CR-504L では ER α アゴニスト活性、AR アンタゴニスト活性及び PR アンタゴニスト活性が、CR-741 及び PX-200 では ER α アゴニスト活性と PR アンタゴニスト活性が示された。縮合型リン系難燃剤の ER α アゴニスト活性、AR アンタゴニスト活性及び PR アンタゴニスト活性の容量依存応答を図 2、図 3 及び図 4 に示す。連続的な容量依存応答から算出した REC5、EC50 及び RIC20 を表 3 に示す。

表 3 縮合型リン系難燃剤のアゴニスト活性 (REC5、EC50) とアンタゴニスト活性 (RIC20)

試験物質	アゴニスト (mg/l)		アンタゴニスト (mg/l)			
	ER α		AR		PR	
	REC5	EC50	RIC20	IC50	RIC20	IC50
E2	8.2×10^{-8}	9.7×10^{-7}	—	—	—	—
Flutamide	—	—	2.8×10^{-2}	1.8×10^{-1}	—	—
RU486	—	—	—	—	4.3×10^{-6}	4.1×10^{-5}
CR-733S	1.0	1.1	3.0	3.6	1.0	2.2
CR-741	1.0×10	NC	NE	NC	3.0×10	NC
PX-200	3.0×10^{-1}	1.3	NE	NC	3.0	NC
CR-504L	3.0×10	NC	3.0×10	NC	3.0	1.4×10

NE：最高濃度 (30mg/l) で活性なし、NC：計算できない

縮合型リン系難燃剤の構造から推測されるように、CR-733S と CR-741 には TPHP が、PX-200 には TDMPP が、CR-504L には TCIPP が、それぞれ不純物として数%程度含まれていることを明らかにした。縮合型リン系難燃剤のハザード強度を評価するために、まずは各縮合型製剤に関連のあるモノマー型リン系難燃剤のハザードと比較考察を行なった。モノマー型リン系難燃剤については、既報においてハザード特性や強度を明らかにしている²⁰⁾。TPHP、TDMPP 及び TCIPP の REC5 或いは RIC20 をモルベースから重量ベースに換えると、ER α アゴニスト活性の REC5 は TPHP=0.33mg/l、TDMPP=0.0041mg/l、TCIPP=>3.3mg/l、AR アンタゴニスト活性の RIC20 は TPHP=0.98mg/l、TDMPP=0.41mg/l、TCIPP=3.3mg/l、PR アンタゴニスト活性の RIC20 は TPHP=0.33mg/l、TDMPP=0.41mg/l、TCIPP=0.98mg/l となる。これらの評価値を縮合型リン系難燃剤の REC5 或いは RIC20 と比較すると、いずれの製剤についても、関連するモノマー型リン系難燃剤よりも評価値が高くなっており、ハザード強度が低くなっていることが示された。

縮合型リン系難燃剤の ER α アゴニスト活性については、REC5 に基づく活性強度の順位が PX-200 > CR-733S > CR-741 > CR-504L となり、ポリマー型の CR-504L で最も活性が低かった。試験濃度範囲で得られた容量依存応答に基づく、CR-733S と PX-200 は、E2 (陽性コントロール) と類似の容量依存応答性を示す ER α アゴニストであると考えられた。RIC20 に基づく活性強度の順位は、AR アンタゴニスト活性について CR-733S > CR-504L であり、PR アンタゴニスト活性について CR-733S > PX-200 = CR-504L > CR-741 であった。試験濃度範囲で得られた容量依存応答に基づく、CR-733S は Flutamide (陽性コントロール) 或いは RU486 (陽性コントロール) と類似の容量依存応答性を示す AR アンタゴニスト或いは PR アンタゴニストであると考えられた。本研究では、LC-QTOF-MS を用いて各種縮合型リン系難燃剤の含有成分を測定しており、表 2 に示す通り各製剤に関連するモノマー型リン系難燃剤が数%オーダーで含有されている。従って、これらモノマー型リン系難燃剤の各種活性への寄与を考慮することができる。既報²⁰⁾によると、TPHP と TMDPP が ER α アゴニスト活性と AR アンタゴニスト活性及び PR アンタゴニスト活性を、TCIPP が AR アンタゴニスト活性及び PR アンタゴニスト活性を有しており、縮合型リン系難燃剤で検出されるハザードは、含有モノマー型リン系難燃剤で検出されるハザードと概ねよく一致している。一方で、縮合型リン系難燃剤中のモノマー型リン系難燃剤の含有濃度から想定したハザード強度は、実際に縮合型リン系難燃剤の製剤よりも低い傾向にあり、モノマー型リン系難燃剤以外の含有成分のハザード寄与が想定された。中でも CR-733S については、すべての活性で想定よりも 15 倍以上強い活性が示された。その他の製剤についても、検出されるエンドポイントの種類や濃度が想定と異なる場合がみられ、モノマー型リン系難燃剤に加え、それ以外の含有成分のハザード寄与が考えられた。モノマー型リン系難燃剤以外の製剤中含有成分についても、先述の通り LC-QTOF-MS で物質数や構造を推定しており、これら関連物質のハザード寄与が想定された。

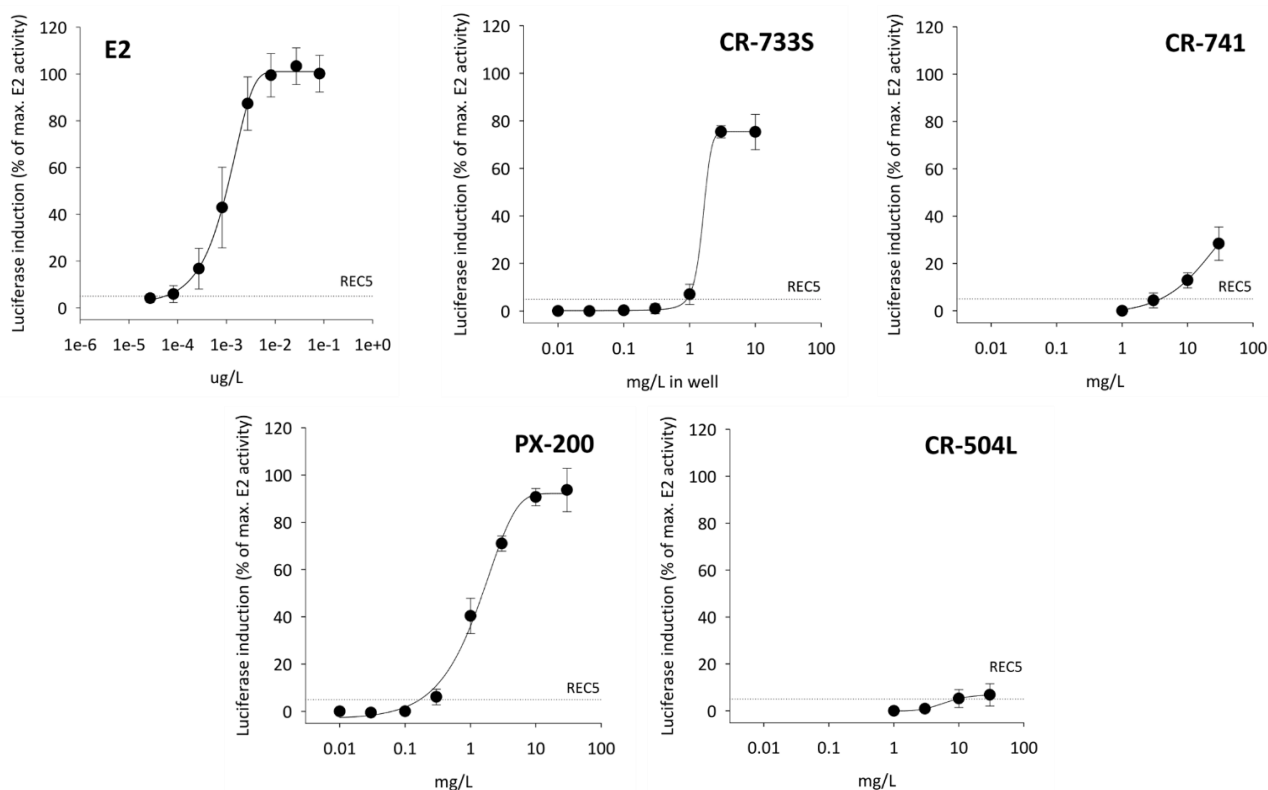


図2 E2 (陽性コントロール) と縮合型リン系難燃剤でみられた ER α アゴニスト活性

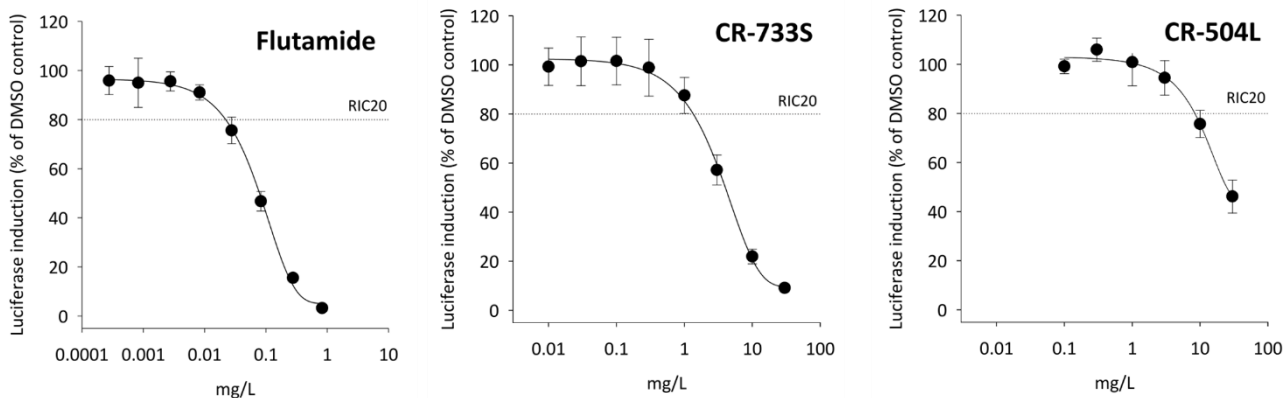


図3 Flutamide (陽性コントロール) と縮合型リン系難燃剤でみられたARアンタゴニスト活性

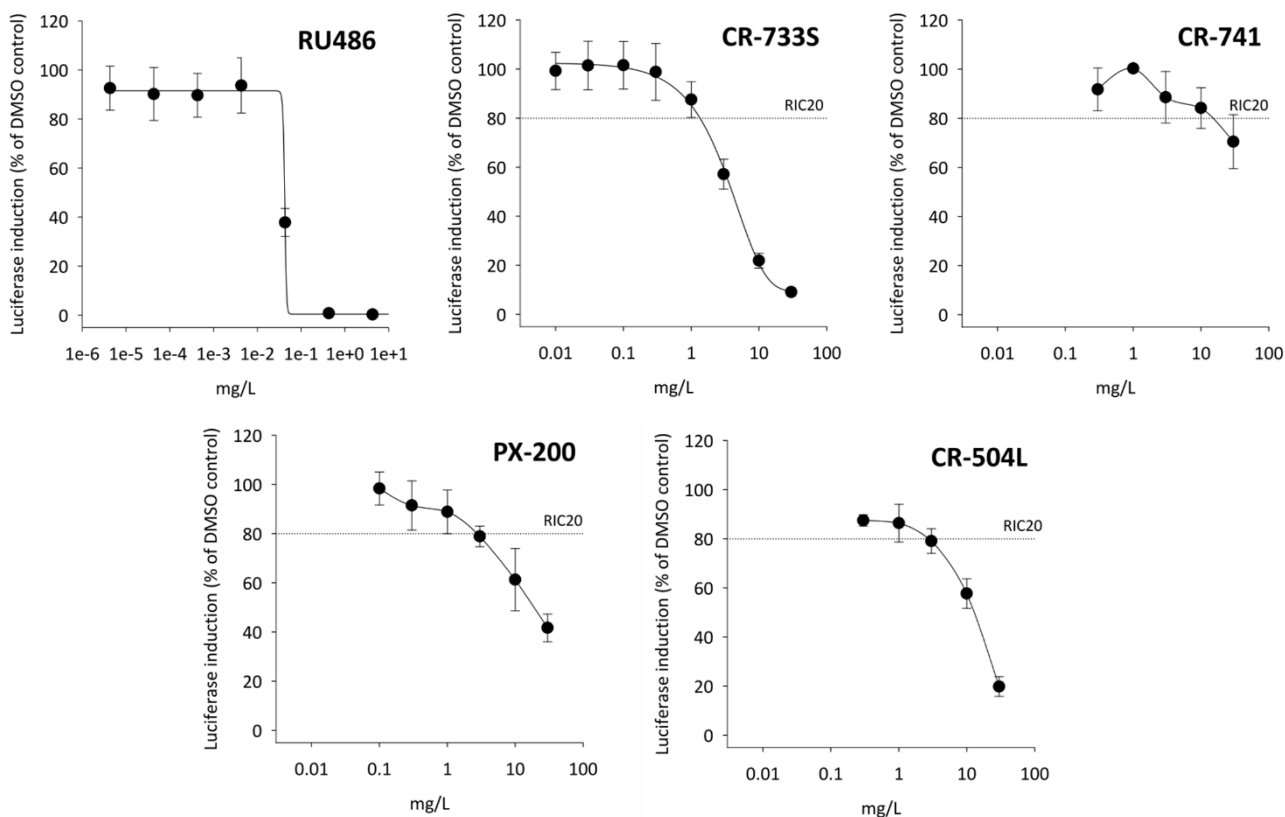


図4 RU486 (陽性コントロール) と縮合型リン系難燃剤でみられたPRアンタゴニスト活性

3. 3. ハザード関連物質のプロファイリング

縮合型リン系難燃剤に数%オーダーで含有されるモノマー型リン系難燃剤のハザード寄与を推定したところ、検出されるハザードの強度や種類が想定と異なる場合があり、その他含有成分のハザード関与が想定された。その他含有成分については、化学物質標準品が存在しないため、縮合型リン系難燃剤中の濃度が測定出来ず、また、各種ハザード強度を評価することが出来ない。そこで本研究では、セミマイクロ HPLC 法による製剤構成成分の溶離時間に応じた分離・分画を行ない、得られた画分についてバイオアッセイ/LC-QTOF-MS を実施して、ハザード関連物質を推定した。

縮合型リン系難燃剤で検出された ER α アゴニスト活性、AR アンタゴニスト活性及び PR アゴニスト活性については、既報においても難燃剤やハウスダストで共通して検出されており²⁰⁾、相互に関連性のあるエンドポイントであることが考えられる。中でも ER α アゴニスト活性は、ハウスダスト²⁰⁾、室内空気²¹⁾、表層水²²⁾、環境水中粒子状物質^{22,23)}、下水処理水²²⁾、堆積物²³⁻²⁵⁾、屋外大気中粒子状物質²⁶⁾等の様々な媒体で検出されており、評価重要度の高いハザードと考えられる。そこでここでは、検出されたハザードのうち、ER α アゴニスト活性を対象として、ハザード関連物質のプロファイリングを行なった。はじめに、セミマイクロ HPLC を用いて縮合型リン系難燃剤の構成成分を分子サイズに応じて分離して分取した画分について ER α アゴニスト活性試験を実施した。得られた結果を図 5 に示す。CR-504L を除く 3 種の縮合型リン系難燃剤で ER α アゴニスト活性が示された。表 3 に示している通り、CR-504L については、ER α アゴニスト活性が対象製剤中で最も低いため、活性プロファイルが取得できなかったことが考えられた。縮合型リン系難燃剤の ER α アゴニスト活性プロファイルを見ると、CR-733S では溶離時間 7 分から 7.5 分にかけて 2 つのピークが、CR-741 では 7 分に 1 つのピークが、PX-200 では 7 分から 8 分にかけて 2 つのピークが、それぞれ示されている。実線で示される示差屈折率は、溶離溶媒と分離された構成成分を含む溶液との屈折率の差を示しており、製剤構成成分の相対的含有量の目安となると考えられる。従って、各製剤でみられる最も大きなピークは、構成比の高い縮合型リン系難燃剤由来と考えられた。活性プロファイルと示差屈折率の結果から、CR-733S については示差屈折率の最も大きい縮合型リン系難燃剤のピークで ER α アゴニスト活性が示されるものの、いずれの製剤についても縮合型リン系難燃剤そのものが主要なハザード寄与物質ではないと考えられた。リン系難燃剤については、オリゴマー化やポリマー化等縮合型にすることによって、環境放散性が低くなることが良く知られている。これに加えて、本研究の結果から、リン系難燃剤の縮合型化は、分子量が上がることで、生物利用能や毒性発現能も低下することが考えられ、結果としてハザードを低くすることが示唆された。

縮合型リン系難燃剤とモノマー型リン系難燃剤以外の構成成分のハザード寄与を推定するため、ER α アゴニスト活性を示す画分と、活性を示さない前後の画分について、LC-QTOF-MS による MS 測定を行い、分子量関連イオンの精密質量に基づいて元素組成を決定して画分中成分を推定すると共に、そのピーク面積を求めた。各画分中成分のピーク面積と相対活性の関係性から、ハザード関連物質を推定した。CR-733S では、対象画分に TPHP の二量体 (CR-733S の構成主体) と三量体、HP-DPHP が検出され、TPHP の二量体 (1,3-フェニレンビス (ジフェニルホスフェート)、CR-733S の構成主体) (図 5 Compound A) と HP-DPHP (図 5 Compound B) が ER アゴニストと推定された。CR-741 では、対象画分にビスフェノール A ビス (ジフェニルホスフェート) (CR-741 の構成主体) と BPA-DPHP が検出され、BPA-DPHP (図 5 Compound C) が ER α アゴニストと推定された。PX-200 では、HP-2,6-DDMPP、TDMPP、TDMPP の二量体 (1,3-フェニレンビス [ジ (2,6-ジメチルフェニル) ホスフェート]、PX-200 の構成主体) が検出され、HP-2,6-DDMPP (図 5 Compound D) と TDMPP (図 5 Compound E) が ER α アゴニストと推定された。ハザ

ード関連物質については、合成等によって化学物質標準品を入手して、製剤中濃度やハザード強度を調査してそのリスク性を評価する必要がある。中でもFR-733Sに含まれるHP-DPHPについては、検出されたハザード強度と含有濃度を考慮するとER α アゴニスト活性が比較的高いことが想定され、中でも優先して評価すべき物質と想定された。

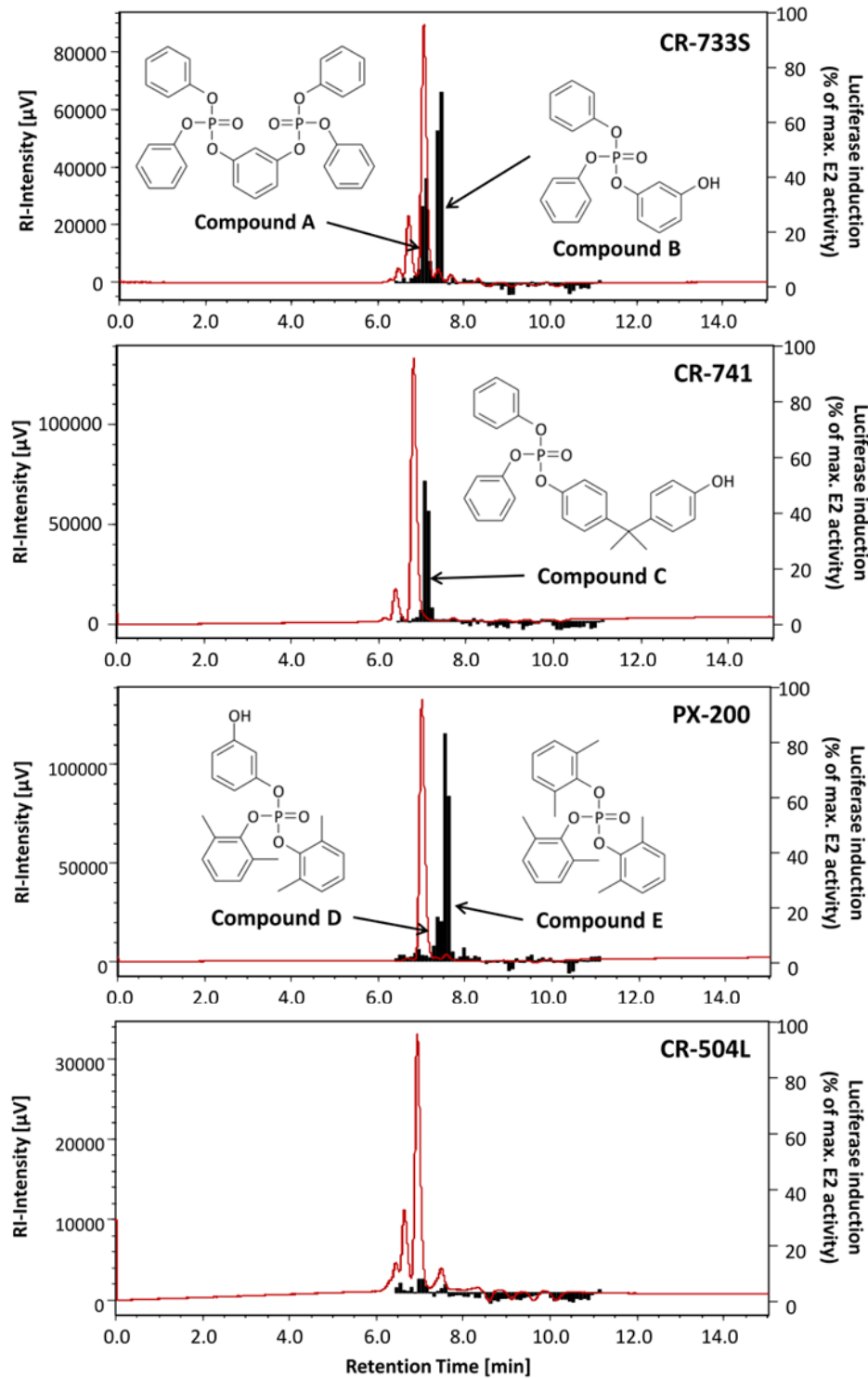


図5 縮合型リン系難燃剤のERアゴニスト活性プロファイル

— : 示差屈折率、■ : ERアゴニスト活性

3. 4. 縮合型リン系難燃剤のハザードに関する見解

本研究では、縮合型リン系難燃剤が構成主体として含まれる製剤で、ER α アゴニスト活性、AR アンタゴニスト活性及びPR アンタゴニスト活性を検出した。その活性強度は、関連性のあるモノマー型リン系難燃剤と比較して低いと考えられた。縮合型リン系難燃剤については、縮合型にすることによって、環境放散性が低くなるだけでなく、生物利用能も低くなり毒性発現能も低下することが推察された。これは、オリゴマーやポリマー化といった縮合体化が環境負荷低減化や安全性確保の観点から、化成品の適切なデザインとなり得ることを示唆する。一方で、縮合型リン系難燃剤中の不純物がハザードに寄与していることが示された。これは、6章の“2. 1. 2. 2,4,6-トリブロモフェノール”で述べるように、製品安全データシート等に記載されていない含有不純物の環境放出や毒性等リスク性が、POP-BFRsの代替難燃剤のひとつ、縮合型リン系難燃剤でも同様にみられることを示している。本研究では、水酸基が導入された化学物質のハザード寄与が想定されており、気相経路だけでなく水相経路の環境放出とそれに伴う毒性等リスク性を考えていく必要がある。縮合体化という化成品デザインについては、構成主体ではなく、その製造プロセスで生じる未反応単量体や水酸化体等の非意図的生成物のリスク性に注目する必要があるかもしれない。また縮合型リン系代替難燃剤については、今後使用量が増えていく可能性が高く、含有製品の使用、廃棄物処理、リサイクル過程の静脈側ライフサイクルにおける未反応単量体や水酸化体を含む分解物等の非意図的生成物の挙動把握とリスク制御が重要な課題と考えられる。

4. 結論

本研究では、市販されている縮合型リン系難燃剤の4製剤を対象として、バイオアッセイとLC-QTOF-MSを用いて安全性評価を実施した。縮合型リン系難燃剤の構成成分を評価したところ、未反応単量体と考えられるモノマー型リン系難燃剤が数%オーダーで検出され、CR-733S及びCR-741にはTPHPが2.0%及び1.2%、PX-200にはTDMPPが2.8%、CR-504LにはTCIPPが5.7%、それぞれ含まれていた。また、化学物質標準品がないため定量は出来ていないが、モノマー型リン系難燃剤以外にも、CR-733Sには5成分、CR-741の5成分、PX-200の3成分、CR-504Lの8成分の含有成分の存在が明らかとなった。不純物を含む縮合型リン系難燃剤の生殖毒性に関わるハザードを評価した結果、ER α アゴニスト活性、AR アンタゴニスト活性及びPR アンタゴニスト活性が検出された。縮合型リン系難燃剤で検出されるハザードは、含有モノマー型リン系難燃剤で検出されるハザードと概ねよく一致していた。縮合型リン系難燃剤中のモノマー型リン系難燃剤の含有濃度から想定されるハザード強度は、実際に縮合型リン系難燃剤の製剤で検出されるハザードよりも低い傾向であった。セミマイクロ HPLC 法による製剤構成成分の溶離時間に応じた分離・分画を行ない、得られた画分についてバイオアッセイ/LC-QTOF-MSを実施して、検出ハザードのうちER α アゴニスト活性を対象として関連物質を推定した。本研究で対象とした4製剤については、縮合型リン系難燃剤そのものが主要なハザード寄与物質ではないと考えられた。本研究の結果から、リン系難燃剤の縮合型化は、分子量が上がることで、生物利用能や毒性発現能も低下することが考えられ、結果としてハザードを低くすることが示唆された。一方で、縮合型リン系難燃剤が示すER α アゴニスト活性には、同様のハザードを有することが良く知られているモノマー型リン系難燃剤ではなく、水酸基が導入されている関連物質の関与が大きいと推定された。本研究の結果は、縮合体化の化成品デザインとしての有用性と共に、含有される不純物の環境放出や毒性等リスク性の評価の必要性を示した。

5. 参考文献

- 1) Daihachi Chemical Industry Co., Ltd. Available on <http://www.daihachi-chem.co.jp> (accessed Feb. 2015).
- 2) Pawlowski, K.H.; Scharrel, B.: Flame retardancy mechanisms of triphenyl phosphate, resorcinol bis(diphenyl phosphate) and bisphenol A bis(diphenyl phosphate) in polycarbonate/acrylonitrile-butadiene-styrene blends, *Polym. Int.* 56, 1404-1414 (2007)
- 3) Despinasse, M.C.; Scharrel, B.: Influence of the structure of aryl phosphates on the flame retardance of polycarbonate/acrylonitrile-butadiene-styrene, *Polym. Degrad. Stab.* 97, 2571-2580 (2012)
- 4) 酒井伸一、滝上英孝: 臭素系ダイオキシシン類の発生と制御に関する現状と展望, *環境化学*, 23, 129-135 (2013)
- 5) 鈴木 剛、滝上英孝、渡部真文、酒井伸一: 臭素系難燃剤に含まれる不純物としての2,4,6-トリブロモフェノールの同定, *環境化学*, 23, 123-127 (2013)
- 6) Brandsma, S.H.; Sellstrom, U.; de Wit, C.A.; de Boer, J.; Leonards, P.E.G.: Dust measurements of two organophosphorus flame retardants, resorcinol bis(diphenylphosphate) (RDBPP) and bisphenol A bis(diphenylphosphate) (BPA-BDPP), used as alternatives for BDE-209, *Environ. Sci. Technol.* 47, 14434-14441 (2013)
- 7) 鈴木剛、鈴木弥生、滝上英孝、吉永淳、高木麻衣、中山祥嗣: エコチル調査パイロット調査におけるハウスダスト中樹脂添加剤等の測定. *環境科学会 2014 年会, 講演要旨集*, 216-217 (2014)
- 8) Matsukami, H.; Tue, N.M.; Suzuki, G.; Someya, M.; Tuyen, L.H.; Viet, P.H.; Takahashi, S.; Tanabe, S.; Takigami, H.: Flame retardant emission from e-waste recycling operation in northern Vietnam: Environmental occurrence of emerging organophosphorus esters used as alternatives for PBDEs. *Sci. Total Environ.* in press.
- 9) Daihachi Chemical Industry Co., Ltd. Japan Patent, 259577, (1996)
- 10) Daihachi Chemical Industry Co., Ltd. Japan Patent, 227632 (1988)
- 11) Gunkel, L.T.; and Barda, H.J. European Patent Application, 485, 807, FMC Corporation (May 20, 1992)
- 12) Brady, B.L.; Bright, D.A.; and Schafer, F.M. U.S. Patent, 5, 457, 221, to Akzo Nobel, N.V. (October 10, 1995)
- 13) Bright, D.A.; Dashevsky, S.; Moy, P.Y.; Williams, B.J.: Resorcinol bis(diphenyl phosphate), a non-halogen flame-retardant additive, *J. Vinyl Addit. Technol.* 3, 170-174 (1997)
- 14) Levchik, S. V.; Bright, D. A.; Moy, P.; Dashevsky, S.: New. Developments in Fire Retardant Non-Halogen Aromatic Phosphates, *J. Vinyl Addit. Technol.* 6, 123-128 (2000)
- 15) Syracuse Research Corporation for the Washington State Department of Health and submitted to Washington State Department of Ecology. Flame Retardant Alternatives (An assessment of potential health and environmental impacts of RDP and BAPP, two phosphate-based alternatives to Deca-BDE for use in electronics) (2006)
- 16) Pakalin, S.; Cole, T.; Steinkellner, J.; Nicolas, R; Tissier, C.; Munn, S.; Eisenreich, S. European Report EUR 22693 EN (2007)

- 17) Rossi, M.; Heine, L. The green screen for safer chemicals: Evaluating flame retardants for TV enclosures; Clean Production Action (2007)
- 18) 日本難燃剤協会ホームページ: 会員各社商品紹介「大八化学工業株式会社」
<http://www.frcj.jp/company/company08.html>
- 19) Hamers, T., Kamstra, J.H., Sonneveld, E., Murk, A.J., Kester, M.H., Andersson, P.L., Legler, J., Brouwer, A. In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicol. Sci.* 92, 157-173 (2006)
- 20) Suzuki, G., Tue, N.M., Malarvannan, G., Sudaryanto, A., Takahashi, S., Tanabe, S., Sakai, S.-I., Brouwer, A., Uramaru, N.; Kitamura, S., Takigami, H.: Similarities in the endocrine-disrupting potencies of indoor dust and flame retardants by using osteosarcoma (U2OS) cell-based reporter gene assays. *Environ. Sci. Technol.* 47, 2898-2908 (2013)
- 21) Kennedy, K., Macova, M., Leusch, F., Bartkow, M. E., Hawker, D. W., Zhao, B., Denison, M. S., Mueller, J. F.: Assessing indoor air exposures using passive sampling with bioanalytical methods for estrogenicity and aryl hydrocarbon receptor activity. *Anal. Bioanal. Chem.* 394, 1413-1421 (2009)
- 22) Murk, A. J., Legler, J., van Lipzig, M. M., Meerman, J. H., Belfroid, A. C., Spenkelink, A.: van der Burg, B., Rijs, G. B., Vethaak, D.: Detection of estrogenic potency in wastewater and surface water with three in vitro bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 16-23 (2002)
- 23) Legler, J., Leonards, P., Spenkelink, A., Murk, A. J.: In vitro biomonitoring in polar extracts of solid phase matrices reveals the presence of unknown compounds with estrogenic activity. *Ecotoxicology* 12, 239-249 (2003)
- 24) Grung, M., Næs, K., Fogelberg, O., Nilsen, A. J., Brack, W., Lübcke-von Varel, U., Thomas, K. V.: Effects-directed analysis of sediments from polluted marine sites in Norway. *J. Toxicol. Environ. Health A* 74, 439-454 (2011)
- 25) Houtman, C. J., Booij, P., Jover, E., Pascual del Rio, D., Swart, K., van Velzen, M., Vreuls, R., Legler, J., Brouwer, A., Lamoree, M. H.: Estrogenic and dioxin-like compounds in sediment from Zierikzee harbour identified with CALUX assay-directed fractionation combined with one and two dimensional gas chromatography analyses. *Chemosphere* 65, 2244-2252 (2006)
- 26) van der Linden, S. C., Heringa, M. B., Man, H. Y., Sonneveld, E., Puijker, L. M., Brouwer, A., van der Burg, B.: Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5814-5820 (2008)

6. 研究発表

6. 1. 誌上発表

- 1) Matsukami H., Tue N.M., Suzuki G., Someya M., Tuyen L.H., Viet P.H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H.: Flame retardant emission from e-waste recycling operation in northern Vietnam: Environmental occurrence of emerging organophosphorus esters used as alternatives

for PBDEs. *Sci. Total Environ.* in press.

- 2) Suzuki G., Tue N.M., Takahashi S., Tanabe S., Sakai S., Takigami H.: Effect-based Hazard Identification of House Dust by In Vitro Assays Detecting Dioxin-like Compounds, Thyroid and Reproductive Toxicants. *Curr. Org. Chem.* 18, 2231-2239 (2014)
- 3) Matsukami H., Kose T., Watanabe M., Takigami H. Pilot-scale incineration of wastes with high content of chlorinated and non-halogenated organophosphorus flame retardants used as alternatives for PBDEs. *Sci. Total Environ.* 493, 672-681 (2014)
- 4) 松神秀徳, 戸館侑孝, Sicco H. Brandsma, Pim E.G. Leonards, 滝上 英孝.: リン酸エステル系難燃剤の定量分析法の開発と国際相互検定研究による検証. *環境化学* 24 (2), 41-49 (2014)
- 5) 鈴木 剛.: 臭素化ダイオキシン類のリスク評価: 規制管理へ向けたアプローチ. *ぶんせき*. 11, 692-693 (2013)

6. 2. 学会発表

- 1) Suzuki G., Suzuki Y., Takigami H., Yoshinaga J., Takagi M., Nakayama S.: Flame retardants and other additives in house dust collected from Japan. *SETAC Nor America 35th Annual Meeting*, Abstracts 259 (2014)
- 2) Suzuki G., Suzuki Y., Takigami H., Yoshinaga J., Takagi M., Nakayama S.: Flame retardants and other additives in house dust from Japan. *34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants Abstracts* (2014)
- 3) Matsukami H., Tue N.M., Suzuki G., Someya M., Tuyen L.H., Agusa T., Viet P.H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H.: Emissions of PBDEs and alternative aryl phosphates around e-waste recycling area in the northern part of Vietnam. *34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants Abstracts* (2014)
- 4) Suzuki Y., Suzuki G., Takigami H., Yoshinaga J., Takagi M., Nakayama S.: Plastic additives in indoor dust from Japanese household. *34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants Abstracts* (2014)
- 5) 松神秀徳, Nguyen Minh Tue, 鈴木剛, 染矢雅之, 宇智田(野田)奈津代, 藤森崇, Le Huu Tuyen, 阿草哲郎, Pham Hung Viet, 高橋真, 田辺信介, 滝上英孝.: ベトナム北部の E-waste リサイクル施設における難燃剤の環境排出実態調査(第二報). *第23回環境化学討論会*, (2014)
- 6) Matsukami H., Tue N.M., Suzuki G., Someya M., Uchida-Noda N., Fujimori T., Tuyen L.H., Agusa T., Viet P.H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H.: Cumulative Health Risk Assessment of Flame Retardants and Plasticizers in Soils from Vietnamese Informal E-Waste Recycling Site. *1st Southeast Asian Workshop on the Integrated Exposure and Effects Analysis* (2014)
- 7) Matsukami H., Tue N.M., Suzuki G., Someya M., Noda N., Fujimori T., Tuyen L.H., Agusa T., Viet P.H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H.: Emissions of PBDE and non-PBDE flame retardants from primitive E-waste recycling activities in the northern part of Vietnam. *33rd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants* (2013)
- 8) Matsukami H., Kose T., Watanabe M., Takigami H.: Destruction behavior of organophosphorus flame retardants during incineration of solid wastes. *33rd International Symposium on*

Halogenated Persistent Organic Pollutants (2013)

- 9) 松神秀徳, Tue Nguyen M., 鈴木剛, 染矢雅之, 宇智田 (野田) 奈津代, 藤森崇, Tuyen Le H., 阿草哲郎, Pham H. Viet, 高橋真, 田辺信介, 滝上英孝.: ベトナム北部における E-waste リサイクルに伴う難燃剤の環境排出実態調査 (第一報). 第 22 回環境化学討論会 (2013)
- 10) 松神秀徳.: リン酸エステル類および塩素化パラフィン類の分析技術に関する研究の紹介. 第 22 回環境化学討論会 (2013)

第4章 リン系難燃剤の動物毒性・行動学的影響評価

分担研究者： 川口 真以子（明治大学 農学部）
鈴木 剛、滝上 英孝（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）

1. はじめに

我々の生活は、多くの化学物質の研究や開発によって豊かなものとなっている。その一方で、これらの化学物質の中には、生活の質を向上させるだけでなく、人体へ悪影響を及ぼすものも存在する。このような化学物質のうち、特に内分泌系へ影響を及ぼして個体の発達・発育、あるいは体内環境の恒常性の維持をかく乱するものを「内分泌かく乱化学物質」と呼ぶ。このようなヒトや動物へ影響を及ぼす内分泌かく乱化学物質は、我々の身近に多く存在する。内分泌かく乱化学物質は我々の生活空間に漂う埃、ハウスダストの中からも多数検出されており、これらハウスダスト中の化学物質は呼吸によって慢性的に体内へ取り込まれている。ハウスダスト中から検出される化学物質の1つに、家具や家電に添加し、火災などにより炎が燃え広がることを予防する難燃剤がある。過去に難燃剤として幅広く利用されていた臭素系難燃剤 Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) は、体内での蓄積性、内分泌かく乱性、そして胎児の成長阻害性といった健康被害から使用が禁止、あるいは制限されている^{1,2)}。近年、PBDEsの代替物質としてリン系難燃剤 tris-(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP) や Tripropyl phosphate (TPhP) が利用されている。ヒト細胞を用いた *in vitro* の研究から、TDCIPP と TPhP に抗アンドロゲン作用を示し、TPhP はさらにエストロゲン様作用を示すことが認められている³⁾。このような内分泌かく乱作用は生体へ悪影響を及ぼす可能性が懸念されるものの、この可能性を明らかにするための動物実験はほとんど実施されていない。

そこで、本研究では実験動物であるラットを用い、リン系難燃剤 TDCIPP と TPhP が生体へどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的とした。そのため、生後0日齢から28日齢までの連日これらの化学物質を曝露し、幼若期と成熟期の末梢臓器重量への影響、成熟期の行動と中枢神経系への影響について検討した。

2. 研究方法

2. 1. 投与物質と評価項目

ハウスダスト中の TDCIPP と TPhP は、呼吸により口から体内へと取り込まれることから、本研究での被験物質は全て強制経口投与とした。TDCIPP の投与量は、既報研究のワーストシナリオでのハウスダスト摂取量とハウスダスト中被験物質濃度を参考に、0.25 mg/kg/day、2.5 mg/kg/day、25 mg/kg/day、そして250 mg/kg/day とした。TPhP の投与量は、TDCIPP と比較検討が可能になるよう25 mg/kg/day、250 mg/kg/day とした。これらの被験物質の陽性対照物質として、本研究では前立腺ガンの抗ガン剤として用いられる抗アンドロゲン剤 flutamide (F1) を用い、投与量を2.5 mg/kg/day とした。また溶媒対照物質として Sesame oil (Oil) を用いた。成熟後の行動への影響を調査するために、情動行動・学習行動・生殖行動に関する各行動実験を実施した。情動行動を評価するためにオープンフィールド試験と高架式十字迷路試験、学習行動を評価するために受動回避学習試験、生殖行動を評価するために性行動試

験を実施した。また、成熟後の末梢臓器への影響を調査するために、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、精巣上体、精巣、凝固腺、前立腺、精嚢、陰莖、および球海綿体筋の各組織重量を測定した。加えて中枢神経系への影響を調査するために、脊髄の球海綿体脊髄核 (Spinal nucleus of the bulbocavernosus, SNB) でのアンドロゲン受容体 (AR) の発現量と脳の外側中隔 (Lateral septum, LS) および内側視索前野 (Medial preoptic area, MPA) での AR とエストロゲン受容体 (ER) の mRNA の発現量を測定した。

2. 2. TDCIPP の生体への影響の調査

実験 1 : 0.25、2.5 mg/kg/day TDCIPP

Wister-imamichi 系雄ラットに対して、被験物質を 0 日齢から 28 日齢まで強制経口投与を実施した。被験物質には TDCIPP、陽性対照物質に F1、そして溶媒対照物質に Oil を用いた。各被験物質の投与量は、TDCIPP : 0.25 mg/kg/day (LTD 群)、2.5 mg/kg/day (HTD 群)、F1 : 2.5 mg/kg/day (F1 群)、Oil : 5 ml/kg/day (Oil 群) とした。被験物質の投与最終日の翌日となる 29 日齢で各群の半数の動物を麻酔下にて断頭し、臓器の摘出を行った。摘出した臓器は、各組織重量を測定した。

各群残り半数の動物は、15 週齢時に高架式十字迷路試験と性行動試験 (初回) を実施した。16 週齢時に性行動試験 (2 回目) を、17 週齢時に性行動試験 (3 回目) を、18 週齢時にオープンフィールド試験と受動回避学習試験を実施した。全ての行動試験終了後、19 週齢時に麻酔下にて断頭し、臓器の摘出を行った。これらの試料に対し 29 日齢と同様の測定を行った。

実験 2 : 25、250 mg/kg/day TDCIPP

Wister-imamichi 系雄ラットに対して、被験物質を 0 日齢から 28 日齢まで強制経口投与を実施した。被験物質には TDCIPP、陽性対照物質に F1、そして溶媒対照物質に Oil を用いた。各被験物質の投与量は、TDCIPP : 25 mg/kg/day (LTD 群)、250 mg/kg/day (HTD 群)、F1 : 2.5 mg/kg/day (F1 群)、Oil : 5 ml/kg/day (Oil 群) とした。被験物質の投与最終日の翌日となる 29 日齢で各群の半数の動物を麻酔下にて断頭し、臓器の摘出を行った。摘出した臓器は、各組織重量を測定した。

各群残り半数の動物は、実験 1 と同様のスケジュールで各行動実験を行った。全ての行動試験終了後、麻酔下にて断頭し、臓器の摘出を行った。これらの試料に対し 29 日齢と同様の測定を行った。また同時に HTD 群、F1 群、そして Oil 群のみ脊髄 L4-S1 および脳を摘出し、定量的 Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) により SNB での AR 発現量、LS と MPA での ER あるいは AR の mRNA 発現量を測定した。

2. 3. TPhP の生体への影響の調査

実験 3 : 25、250 mg/kg/day

Wister-imamichi 系雄ラットに対して、被験物質を 0 日齢から 28 日齢まで強制経口投与を実施した。被験物質には TPhP、陽性対照物質に F1、そして溶媒対照物質に Oil を用いた。各被験物質の投与量は、TPhP : 25 mg/kg/day (LTP 群)、250 mg/kg/day (HTP 群)、F1 : 2.5 mg/kg/day (F1 群)、Oil : 5 ml/kg/day (Oil 群) とした。被験物質の投与最終日の翌日となる 29 日齢で各群の半数の動物を麻酔下にて断頭し、臓器の摘出を行った。摘出した臓器は、各組織重量を測定した。

各群残り半数の動物は、実験 1 と同様のスケジュールで各行動実験を行った。ただしオープンフィールド試験は 15 週齢で行い、高架十字迷路試験は 19 週齢で行った。全ての行動試験終了後、麻酔下にて断頭し、臓器の摘出を行った。これらの試料に対し 29 日齢と同様の測定を行った。

3. 結果と考察

3. 1. TDCIPP の生体への影響

実験 1 : 0.25、2.5 mg/kg/day TDCIPP

29 日齢（幼若期）での解剖結果を表 1 に示す。F1 群の精巣上体および副生殖腺の体重あたり重量において Oil 群と比較して減少が認められた ($P < 0.01$)。

15 週齢時の高架式十字迷路試験の結果、各被験物質曝露間で総移動距離、Open arm 侵入回数、そして Open arm 滞在時間に差は認められなかった (図 1)。

性行動試験（初回）の結果を図 2 に示す。各被験物質曝露間で観察時間 5 分あたりの Mount 回数および Mount 潜時に Oil 群と比較して差は認められなかった。F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少し ($P < 0.05$)、Intromission 潜時および Ejaculation 潜時では、F1 群が Oil 群と比較して増加した ($P < 0.01$)。

16 週齢時の性行動試験（2 回目）の結果を図 3 に示す。各被験物質曝露間で Mount 回数に Oil 群と比較して差が認められなかったが、F1 群の Mount 潜時が Oil 群と比較して長くなった ($P < 0.05$)。また、F1 群の Intromission 回数は Oil 群と比較して減少し ($P < 0.05$)、Intromission 潜時の増加 ($P < 0.01$) と Ejaculation 潜時の増加が認められた ($P < 0.01$)。

17 週齢時の性行動試験（3 回目）の結果を図 4 に示す。F1 群の観察時間 5 分あたりの Mount 回数は、Oil 群と比較して減少し ($P < 0.05$)、Mount 潜時が長くなった ($P < 0.01$)。また F1 群の Intromission 回数は表れなくなった ($P < 0.01$)

18 週齢時のオープンフィールド試験の結果、各被験物質曝露間で総移動距離に差は認められなかった (図 5)。また、受動回避学習試験においても群間の差は認められなかった。

全行動実験終了後（成熟期）の解剖結果は、表 2 に示す。F1 群の体重は Oil 群と比較して減少が認められた ($P < 0.05$)。また F1 群の肝臓および陰茎の体重あたり重量は Oil 群と比較して減少が認められ (肝臓重量 : $P < 0.05$ 、陰茎重量 : $P < 0.01$)、陰茎長の短縮が認められた ($P < 0.01$)。

実験 2 : 25、250 mg/kg/day TDCIPP

幼若期での解剖結果は、表 3 に示す。LTD 群の腎臓および副腎の体重あたり重量は Oil 群と比較して増加した ($P < 0.01$)。HTD 群では肝臓および腎臓の体重あたり重量が Oil 群と比較して増加した ($P < 0.01$)。F1 群では精巣上体、副生殖腺、そして陰茎の体重あたり重量が Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、さらに陰茎長が短くなった ($P < 0.01$)

15 週齢時の高架式十字迷路試験の結果、各被験物質曝露間で総移動距離、Open arm 侵入回数、そして Open arm 滞在時間に差は認められなかった (図 6)。

性行動試験（初回）の結果を図 7 に示す。各被験物質曝露間で観察時間 5 分あたりの Mount 回数および Mount 潜時に Oil 群と比較して差は認められなかった。F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、Intromission 潜時および Ejaculation 潜時では、F1 群が Oil 群と比較して増加した ($P < 0.01$)。

16 週齢時の性行動試験 (2 回目) の結果を図 8 に示す。全ての群の Mount 回数および Mount 潜時は Oil 群と比較して差が認められなかった。一方で、F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、Intromission 潜時の増加と Ejaculation 潜時の増加が認められた ($P < 0.01$)。

17 週齢時の性行動試験 (3 回目) の結果を図 9 に示す。F1 群の観察時間 5 分あたりの Mount 回数および Mount 潜時に差は認められなかった。一方で、F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少し、Intromission 潜時と Ejaculation 潜時はいずれも増加がした ($P < 0.01$)

18 週齢時のオープンフィールド試験の結果、各被験物質曝露間で総移動距離に差は認められなかった (図 10)。また、受動回避学習試験においても群間の差は認められなかった。

成熟期の脳内 LS 領域での ER α 、ER β および AR の各 mRNA 発現量を解析した結果、各被験物質曝露群間でそれぞれの受容体 mRNA 相対発現量に差は認められなかった (図 11 A-C)。同様に脳内 POA での各受容体 mRNA 発現量を解析した結果もまた、各被験物質曝露群間で mRNA 相対発現量に差は認められなかった (図 11 D-F)。また、脊髄 RDLN および SNB 領域での AR mRNA 発現量を解析した結果、いずれの領域においても被験物質曝露群間で差は認められなかった (図 11 F, G)。

成熟期での解剖結果は、表 4 に示す。HTD 群の体重が Oil 群と比較して増加が認められた ($P < 0.05$)。また F1 群の凝固腺、精囊、球海綿体筋および陰茎の体重あたり重量が Oil 群と比較して減少が認められ ($P < 0.05$)、陰茎長の短縮が認められた ($P < 0.01$)。加えて、HTD 群の精巣、精巣上体、前立腺、陰茎の体重あたり重量が Oil 群と比較して減少が認められた ($P < 0.05$)。

3. 2. TPhP の生体への影響

実験 3 : 25、250 mg/kg/day TPhP

幼若期での解剖結果は、表 5 に示す。HTP 群では、体重が Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、臓器重量については肝臓、腎臓、および副腎の体重あたり重量が増加し ($P < 0.05$)、一方で副生殖腺の体重あたり重量は減少した ($P < 0.01$)。LTP 群では副生殖腺の体重あたり重量が Oil 群と比較して減少した ($P < 0.01$)。F1 群では、精巣上体、副生殖腺および陰茎の体重あたり重量が Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、さらに陰茎長の短縮が認められた ($P < 0.05$)。

15 週齢時のオープンフィールド試験の結果、各被験物質曝露間で総移動距離に差は認められなかった (図 12)。

性行動試験 (初回) の結果を図 13 に示す。各被験物質曝露間で観察時間 5 分あたりの Mount 回数および Mount 潜時に Oil 群と比較して差は認められなかった。F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、Intromission 潜時および Ejaculation 潜時では、F1 群が Oil 群と比較して増加した ($P < 0.01$)。

16 週齢時の性行動試験 (2 回目) の結果を図 14 に示す。初回の結果と同様に、各被験物質曝露間で観察時間 5 分あたりの Mount 回数および Mount 潜時に Oil 群と比較して差は認められなかった。F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少し ($P < 0.01$)、Intromission 潜時および Ejaculation 潜時では、F1 群が Oil 群と比較して増加した ($P < 0.01$)。

17 週齢時の性行動試験 (3 回目) の結果を図 15 に示す。F1 群の観察時間 5 分あたりの Mount 回数および Mount 潜時に差は認められなかった。また F1 群の Intromission 回数は、Oil 群と比較して減少した ($P < 0.01$)。HTP 群と F1 群の Intromission 潜時と Ejaculation 潜時はいずれも増加した ($P < 0.05$)。

19 週齢時の高架式十字迷路試験の結果、各被験物質曝露間で総移動距離、Open arm 侵入回数、そして Open arm 滞在時間に差は認められなかった (図 16)。また、受動回避学習試験においても群間の差は認められなかった。

成熟期での解剖結果は、表 6 に示した。HTP 群の体重が Oil 群と比較して増加し ($P < 0.05$)、精巣上体および陰茎の体重あたり重量が減少した ($P < 0.05$)。一方で、F1 群の肝臓の体重あたり重量が Oil 群と比較して増加した ($P < 0.05$)。また、凝固腺、精囊、前立腺、陰茎および球海綿体筋の体重あたり重量が減少した ($P < 0.01$)。さらに陰茎長の短縮が認められた ($P < 0.01$)。

3. 4. 末梢臓器への TDCIPP、TPhP、および Flutamide の影響

Flutamide の亜慢性曝露により、幼若期の精巣上体および副生殖腺の重量が低下した (実験 1)。さらに陰茎の重量増加や陰茎長の短縮 (実験 2) も認められた。これらの臓器の発達はアンドロゲンの作用により促進されることから、Flutamide によるアンドロゲン作用の阻害が原因であると考えられる。また、成熟期では幼若期の場合と同様に精巣上体、副生殖腺、および陰茎の重量の減少と陰茎長の短縮が認められた (実験 1)。さらには凝固腺、精囊、および球海綿体筋の重量が低下した (実験 2、実験 3)。本研究で用いた Flutamide と同等の抗アンドロゲン作用を有する化学物質の幼若期曝露によりアンドロゲン依存性臓器の発達が不十分であると、生涯にわたって、その影響が残る可能性が示唆された。

TDCIPP の亜慢性曝露により、幼若期でのみ肝臓および副腎の臓器重量が増加し、腎臓の重量が減少した (実験 2)。Flutamide 曝露においてはこのような影響が認められなかったことから、本試験で用いた濃度の TDCIPP には抗アンドロゲン作用とは異なる可逆的な毒性効果があると考えられる。成熟期では、体重が増加し、精巣、精巣上体、前立腺、および陰茎の重量が低下した (実験 2)。幼若期での TDCIPP の亜慢性曝露により、動物の摂食行動を支配する脳領域へ影響して摂食量が増加したか、代謝が変化したことで体重が増加したと考えられる。また精巣、精巣上体、前立腺、あるいは陰茎といった末梢臓器の重量が成熟期でのみ Oil 曝露群より低下していたことは、TDCIPP の持つ作用により成熟後の精巣からのテストステロン分泌あるいはこれら臓器のアンドロゲンに対する感受性が変化し、成熟後の発達に影響が表れた可能性が考えられる。

TPhP の亜慢性曝露により、Flutamide 曝露と同様に幼若期の副生殖腺重量が低下した (実験 3)。TPhP の持つ抗アンドロゲン作用によるアンドロゲン作用の阻害が原因であると推測される。また同濃度の TDCIPP では、副生殖腺重量の低下が確認されなかったことから、TPhP は TDCIPP に比べ高い抗アンドロゲン作用を持つ可能性が示唆される。また体重の減少や肝臓、腎臓、および副腎の重量が増加したことから、本試験で用いた濃度の TPhP には TDCIPP と同様に可逆的な毒性効果があると考えられる。成熟期では、TPhP の曝露により体重の増加と精巣上体および陰茎の重量が低下した。TDCIPP の場合と同様に、TPhP の持つ作用により成熟後の精巣からのテストステロン分泌あるいは臓器のアンドロゲンに対する感受性が変化した可能性が考えられる。ただし体重増加に関しては、エストロゲン作用による摂食調節中枢の雄性化もあり得る。

3. 5. 情動行動あるいは学習行動への TDCIPP、TPhP、および Flutamide の影響

TDCIPP、TPhP、および Flutamide の亜慢性曝露は、成熟期の動物の示す情動行動あるいは学習行動へ影響しないことが明らかになった (実験 1、実験 2、および実験 3)。アンドロゲンは不安の緩和、認知機能の促進、空間記憶の形成に関わることが明らかになっているものの、本研究の被験物質の曝露方法

である出生後 28 日間曝露によりアンドロゲン作用を阻害しても、成熟後には被験物質の影響が消失してしまうと考えられる。

3. 6. 性行動への TDCIPP、TPhP および Flutamide の影響

Flutamide の亜慢性曝露により、性行動試験中の陰茎の挿入回数である Intromission 回数が減少し、Intromission 潜時、あるいは Ejaculation 潜時が増加した（実験 1、2 および実験 3）。これらの被験ラットでは、成熟期の陰茎の重量の低下および陰茎長の短縮が認められた。さらに射精と密接な関係をもつ球海綿体筋の重量の低下も認められた。このような、陰茎の発達不全や球海綿体筋の重量低下が、性行動中の一部の行動発現低下を引き起こしたと考えられる。

250 mg/kg/day TDCIPP および TPhP の亜慢性曝露により、3 回目の性行動試験中、被験ラットの射精に至るまでの時間である Ejaculation 潜時が増加した（実験 2 および実験 3）。これらの被験ラットでは、Flutamide の場合と同様に成熟期の陰茎の重量の低下および陰茎長の短縮が認められたことから、Ejaculation 潜時の増加は、TDCIPP および TPhP の抗アンドロゲン作用により陰茎の発達が不十分であったことによると考えられる。

本研究で用いた被験化学物質の亜慢性曝露により、性行動の一部が抑制されたことから、中枢神経系のホルモン受容体の発現量を測定した。性行動発現制御には、脳 LS および mPOA が深く関与し、脊髓 SNB は球海綿体筋へ神経投射を持つ。そこで、LS および mPOA では ER あるいは AR の mRNA 発現量、脊髓 SNB では AR mRNA 発現量をそれぞれ測定した（実験 2）。しかしいずれの領域についても被験化学物質による ER、AR の mRNA 発現量への影響は認められなかった。

4. 結論

本研究から、リン系難燃剤 TDCIPP あるいは TPhP の生後早期の 28 日間経口曝露は、副生殖腺や陰茎の発達を阻害し、成熟期の性行動の一部を抑制することが明らかになった。またその最少影響濃度は、250 mg/kg/day と 25 mg/kg/day の間にあることが示された。一方、抗アンドロゲン剤である Flutamide もまた、出生後 28 日間経口曝露もまた、成熟期の副生殖腺や生殖器などの末梢臓器の発達を阻害し、性行動の一部を抑制することが明らかになった。加えてその最少影響濃度は、250 mg/kg/day と 25 mg/kg/day の間にあることが示された。

5. 参考文献

- 1) John D. Meeker, Paula I. Johnson, David Camann, Russ Hauser. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) concentrations in house dust are related to hormone levels in men. *Science of the Total Environment*, 407, 3425-3429 (2009)
- 2) John D. Meeker¹, Sheela Sathyanarayana and Shanna H. Swan. Phthalates and other additives in plastics: human exposure and associated health outcomes. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 364, 2097-2113 (2009)
- 3) Suzuki G, Tue NM, Malarvannan G, Sudaryanto A, Takahashi S, Tanabe S, Sakai S, Brouwer A, Uramaru N, Kitamura S, Takigami H. Similarities in the endocrine-disrupting potencies of

indoor dust and flame retardants by using human osteosarcoma (U2OS) cell-based reporter gene assays. *Environ Sci Technol.*, 47, 2898-908 (2013)

6. 研究発表

6. 1. 誌上発表

該当なし。

6. 2. 学会発表

- 1) 神島 愛未、鈴木 剛、滝上 英孝、堀井 康行、渡辺 元、田谷 一善、近藤 保彦、川口 真以子. : 幼若期の tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP) と flutamide (FI) の慢性曝露が雄ラットの性行動、副生殖腺重量、生殖器重量および血中 testosterone 濃度に及ぼす影響. *第17回日本内分泌攪乱化学物質学会*, (2014)
- 2) 植村 英恵、神島 愛未、堀井 康行、渡辺 元、田谷 一喜、滝上 英孝、鈴木 剛、近藤 保彦、川口 真以子 : 幼若期及び成熟期の TDCIPP 及び flutamide 慢性曝露が雄ラットの性行動、副生殖腺重量、血中ホルモン濃度に及ぼす影響. *日本畜産学会第118回大会*, (2014)
- 3) Kamishima, M., Uemura, H., Horii, Y., Watanabe, G., Taya, K., Takigami, H., Suzuki, G., Kondo, Y., Kawaguchi, M. : ANTIANDROGEN DURING JUVENILE INDUCE HYPOPLASIA OF PENIS AND SUPPRESSION OF SEXUAL BEHAVIOR OF MALE RATS. *4th International NeuroMalaysia Symposium*, (2013)
- 4) Kamishima, M., Uemura, H., Horii, Y., Watanabe, G., Taya, K., Harigaya, T., Takigami, H., Suzuki, G., Kondo, Y., Kawaguchi, M. : EFFECTS OF ANTIANDROGEN ON SEXUAL BEHAVIOR, ORGAN WEIGHT AND HORMONE LEVELS OF MALE RATS. *The Endocrine Society's 95th Annual Meeting & Expo*, (2013)

表1 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、29日齢（幼若期）の各臓器重量

	臓器重量(平均値±SEM)							
	Oil	(n)	LTD	(n)	HTD	(n)	Fl	(n)
体重(g)	92.980 ± 2.500	22	88.010 ± 2.860	15	94.830 ± 3.550	16	92.160 ± 2.320	19
下垂体/体重(%)	0.017 ± 0.004	6	0.018 ± 0.004	6	0.024 ± 0.003	6	0.017 ± 0.004	3
肝臓/体重(%)	4.553 ± 0.128	6	4.379 ± 0.054	6	4.520 ± 0.093	6	4.521 ± 0.153	3
腎臓/体重(%)	0.976 ± 0.019	6	0.932 ± 0.094	6	1.066 ± 0.017	6	1.005 ± 0.026	2
副腎/体重(%)	0.029 ± 0.001	6	0.026 ± 0.002	6	0.027 ± 0.002	6	0.028 ± 0.001	3
精巣/体重(%)	0.434 ± 0.080	6	0.561 ± 0.029	6	0.527 ± 0.017	6	0.435 ± 0.043	3
精巣上体/体重(%)	0.087 ± 0.004	6	0.087 ± 0.002	6	0.083 ± 0.003	6	0.057 ± 0.002*	3
副生殖腺/体重(%)	0.094 ± 0.006	6	0.110 ± 0.003	6	0.100 ± 0.003	6	0.071 ± 0.004*	3

LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、Fl : flutamide (2.5mg/kg/Day)

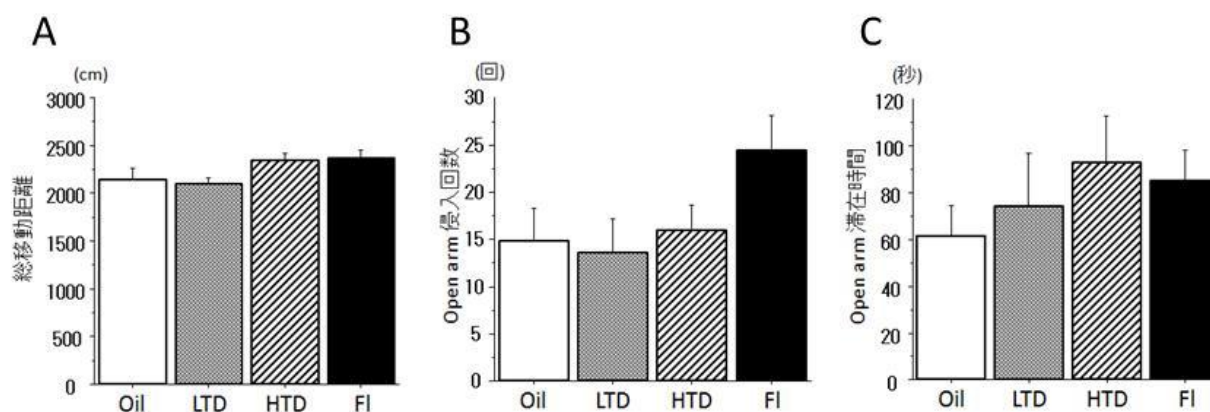


図1 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、15週齢時の高架式十字迷路試験の結果

(A) 総移動距離、(B) Open arm への侵入回数、(C) Open arm 滞在時間

LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、Fl : flutamide (2.5mg/kg/Day)

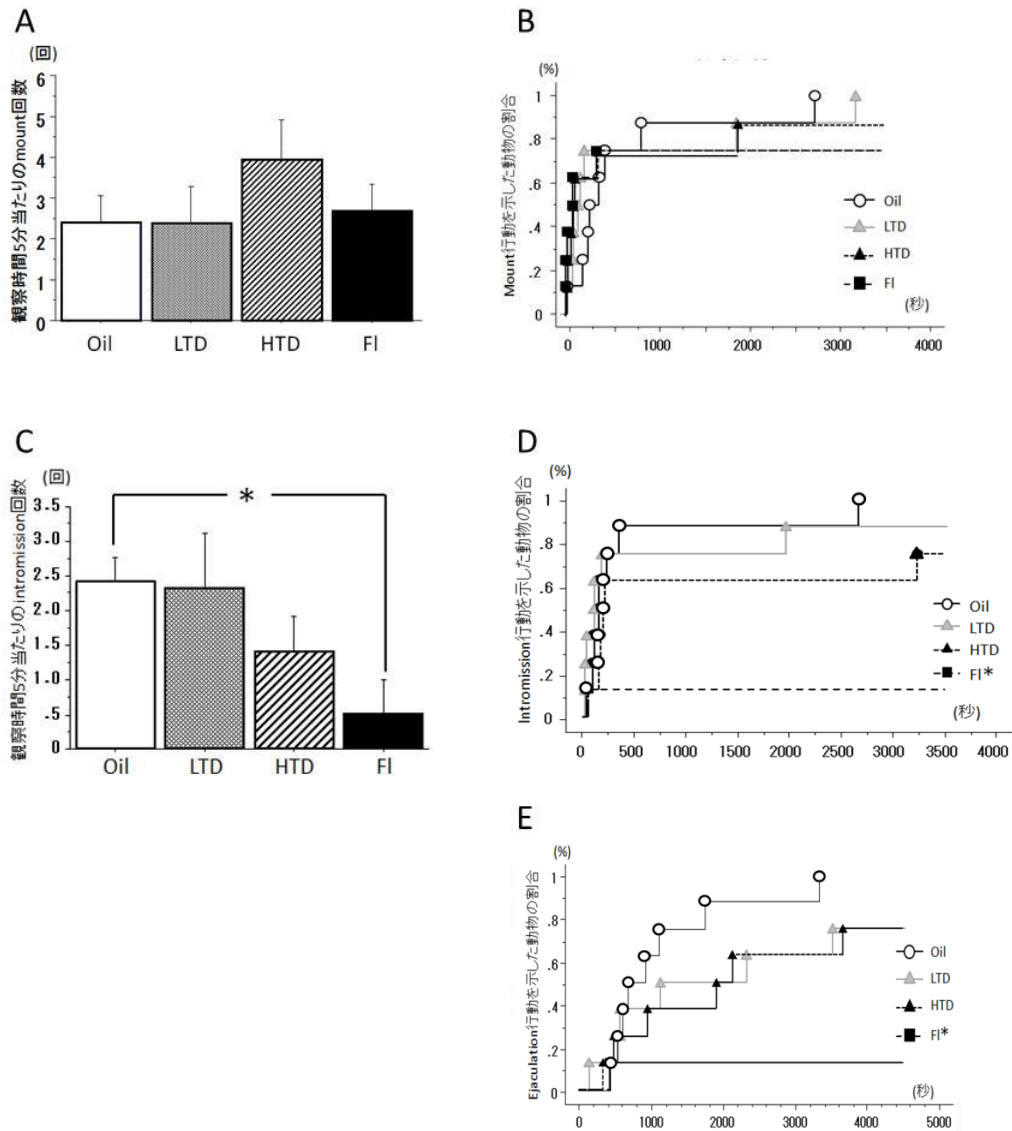


図2 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、15 週齢時の性行動試験（初回）の結果

(A) 観察時間 5 分あたりの Mount 回数、(B) Mount 行動を示した動物の割合、(C) Intrusion 行動の回数、(D) Intrusion 行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation 行動を示した動物の割合
 LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、FI : flutamide (2.5mg/kg/Day)

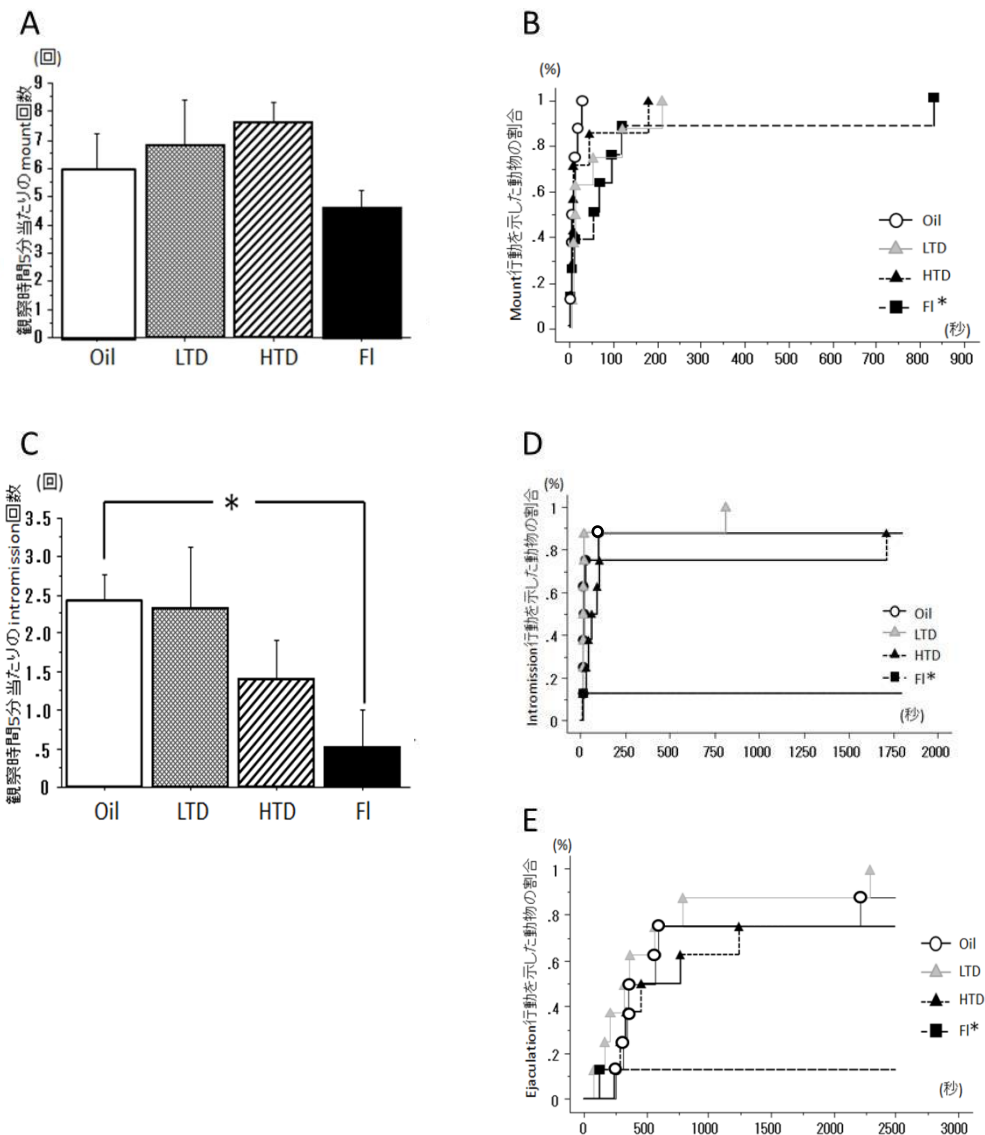


図3 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、16 週齢時の性行動試験（2 回目）の結果

(A) 観察時間 5 分あたりの Mount 回数、(B) Mount 行動を示した動物の割合、(C) Intromission 行動の回数、(D) Intromission 行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation 行動を示した動物の割合
 LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、FI : flutamide (2.5mg/kg/Day)

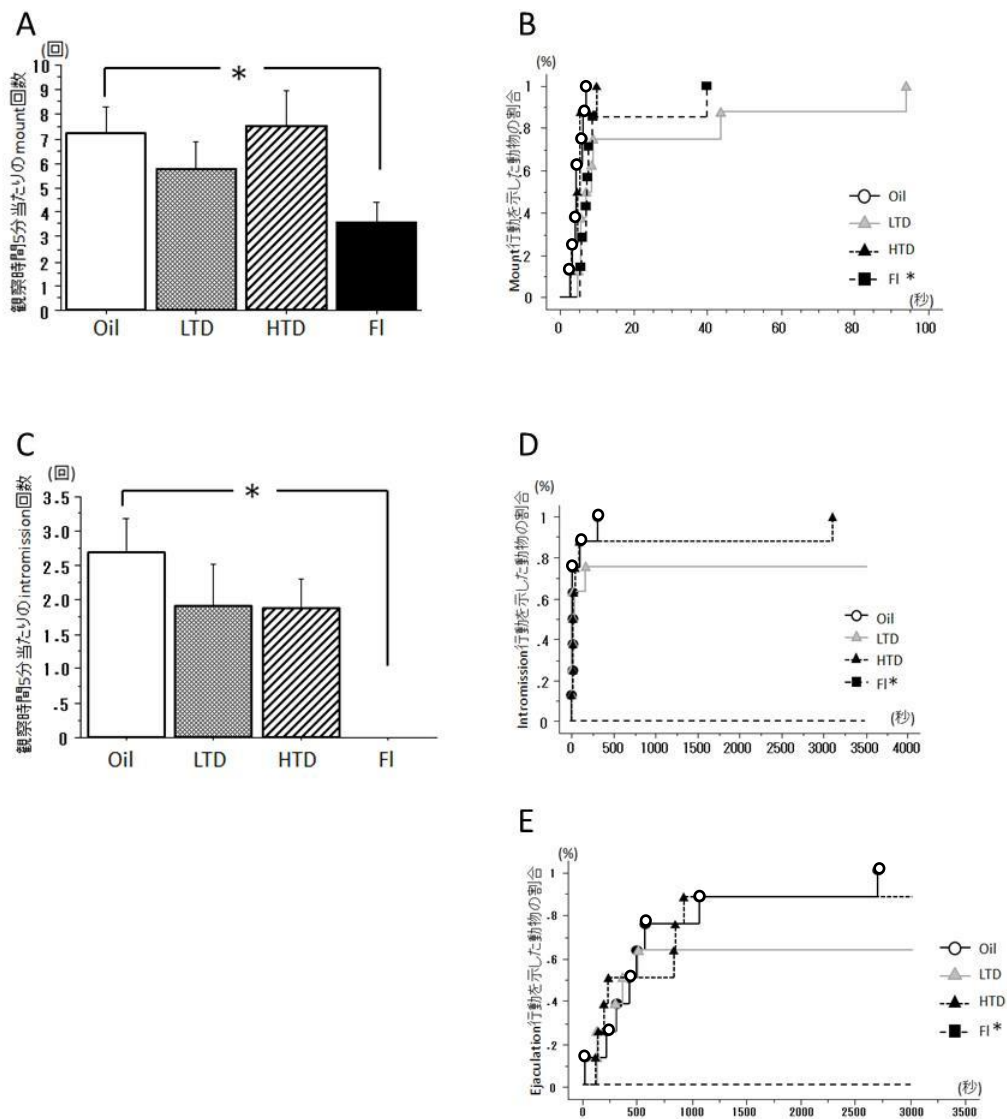


図4 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、17 週齢時の性行動試験（3 回目）の結果

(A) 観察時間 5 分あたりの Mount 回数、(B) Mount 行動を示した動物の割合、(C) Intromission 行動の回数、(D) Intromission 行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation 行動を示した動物の割合
 LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、Fl : flutamide (2.5mg/kg/Day)

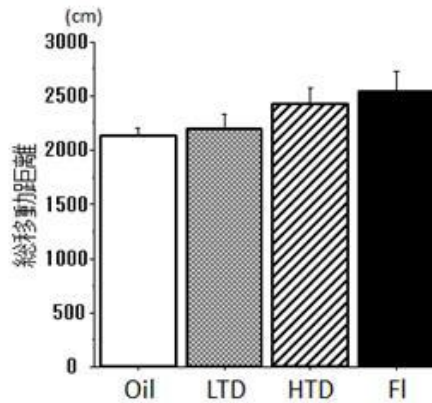


図5 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、18 週齢時のオープンフィールド試験の結果
 LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、Fl : flutamide (2.5mg/kg/Day)

表2 TDCIPP、あるいは flutamide の亜慢性曝露後、19 週齢（成熟期）の各臓器重量

	臓器重量 (平均値±SEM)											
	Oil		LTD		HTD		Fl					
		(n)		(n)		(n)		(n)				
体重 (g)	572.963	± 16.455	9	576.706	± 14.417	9	564.776	± 10.688	9	521.291	± 9.124 *	8
下垂体/体重 (%)	0.002	± 0.001	9	0.002	± 0.001	9	0.002	± 0.001	8	0.002	± 0.001	8
肝臓/体重 (%)	3.669	± 0.055	9	3.693	± 0.056	9	3.687	± 0.071	9	3.464	± 0.054 *	8
腎臓/体重 (%)	0.727	± 0.012	9	0.732	± 0.014	9	0.722	± 0.018	9	0.731	± 0.015	8
副腎/体重 (%)	0.010	± 0.001	9	0.010	± 0.001	9	0.010	± 0.001	9	0.010	± 0.001	7
精巣/体重 (%)	0.534	± 0.014	9	0.514	± 0.015	9	0.539	± 0.010	9	0.550	± 0.012	8
精巣上体/体重 (%)	0.269	± 0.014	9	0.252	± 0.006	9	0.257	± 0.007	9	0.253	± 0.006	8
凝固腺/体重 (%)	0.039	± 0.003	9	0.032	± 0.002	9	0.034	± 0.001	9	0.030	± 0.004	8
精囊/体重 (%)	0.352	± 0.027	9	0.354	± 0.022	9	0.318	± 0.015	9	0.274	± 0.039	8
前立腺/体重 (%)	0.266	± 0.022	9	0.281	± 0.011	9	0.252	± 0.015	9	0.226	± 0.027	8
陰茎重量/体重 (%)	0.126	± 0.006	9	0.119	± 0.004	9	0.124	± 0.004	9	0.091	± 0.005 *	8
球海綿体筋/体重 (%)	0.168	± 0.007	9	0.167	± 0.007	9	0.148	± 0.010	9	0.157	± 0.009	8
陰茎短 (mm)	10.168	± 0.452	9	10.043	± 0.424	9	9.908	± 0.380	8	8.461	± 0.789	8
陰茎長 (mm)	19.322	± 0.491	9	19.059	± 0.796	9	18.383	± 0.647	8	13.294	± 0.825 *	8

LTD : TDCIPP (0.25mg/kg/Day)、HTD : 2.5mg/kg/Day、Fl : flutamide (2.5mg/kg/Day)

表3 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、29日齢（幼若期）の各臓器重量

	臓器重量(平均値±SEM)							
	Oil	(n)	LTD	(n)	HTD	(n)	Fl	(n)
体重(g)	92.980 ± 2.500	22	88.010 ± 2.860	15	94.830 ± 3.550	16	92.160 ± 2.320	19
下垂体/体重(%)	0.008 ± 0.002	14	0.007 ± 0.001	14	0.007 ± 0.002	7	0.008 ± 0.002	12
肝臓/体重(%)	4.940 ± 0.063	22	5.330 ± 0.273	15	6.130 ± 1.910*	16	4.980 ± 0.071	19
腎臓/体重(%)	1.030 ± 0.160	22	1.260 ± 0.075*	15	1.520 ± 0.054*	16	1.020 ± 0.022	17
副腎/体重(%)	0.026 ± 0.001	22	0.032 ± 0.001*	15	0.026 ± 0.001	16	0.028 ± 0.001	17
精巣/体重(%)	0.581 ± 0.011	22	0.620 ± 0.039	15	0.629 ± 0.012	16	0.583 ± 0.008	19
精巣上体/体重(%)	0.083 ± 0.003	22	0.087 ± 0.007	15	0.080 ± 0.003	16	0.065 ± 0.001*	19
副生殖腺/体重(%)	0.089 ± 0.003	22	0.095 ± 0.006	15	0.085 ± 0.004	16	0.061 ± 0.002*	19
陰茎重量/体重(%)	0.064 ± 0.003	22	0.069 ± 0.004	15	0.068 ± 0.002	15	0.041 ± 0.001*	19
球海綿体筋/体重(%)	0.037 ± 0.003	21	0.044 ± 0.004	15	0.034 ± 0.004	15	0.030 ± 0.002	18
陰茎短(mm)	5.500 ± 1.460	22	6.180 ± 0.183	15	5.710 ± 2.310	15	4.630 ± 0.184*	19
陰茎長(mm)	16.020 ± 3.290	22	15.360 ± 0.289	15	15.360 ± 2.890	15	13.000 ± 0.341*	19

LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

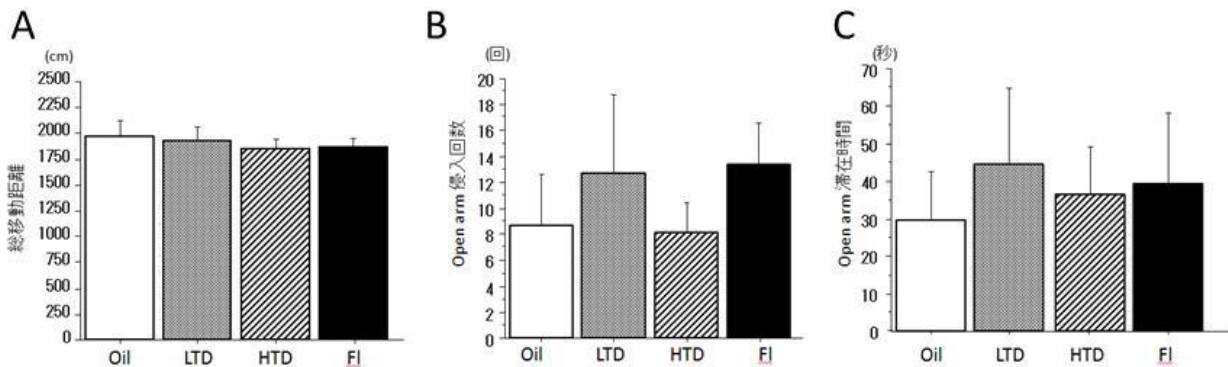


図6 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、19週齢時の高架式十字迷路試験の結果

(A) 総移動距離、(B) Open arm への侵入回数、(C) Open arm 滞在時間

LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

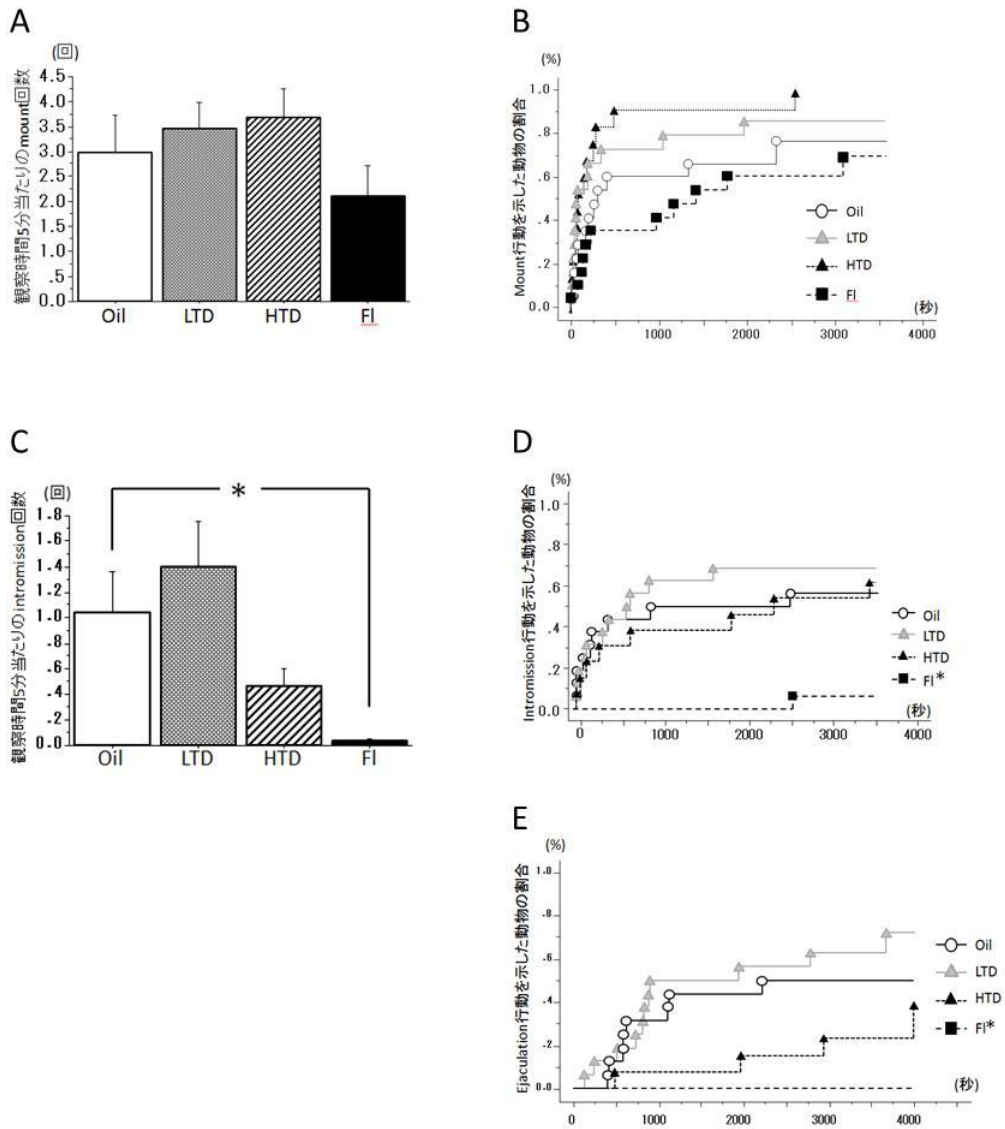


図7 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、15週齢時の性行動試験（初回）の結果

(A) 観察時間5分あたりのMount回数、(B) Mount行動を示した動物の割合、(C) Intrusion行動の回数、(D) Intrusion行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation行動を示した動物の割合
 LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

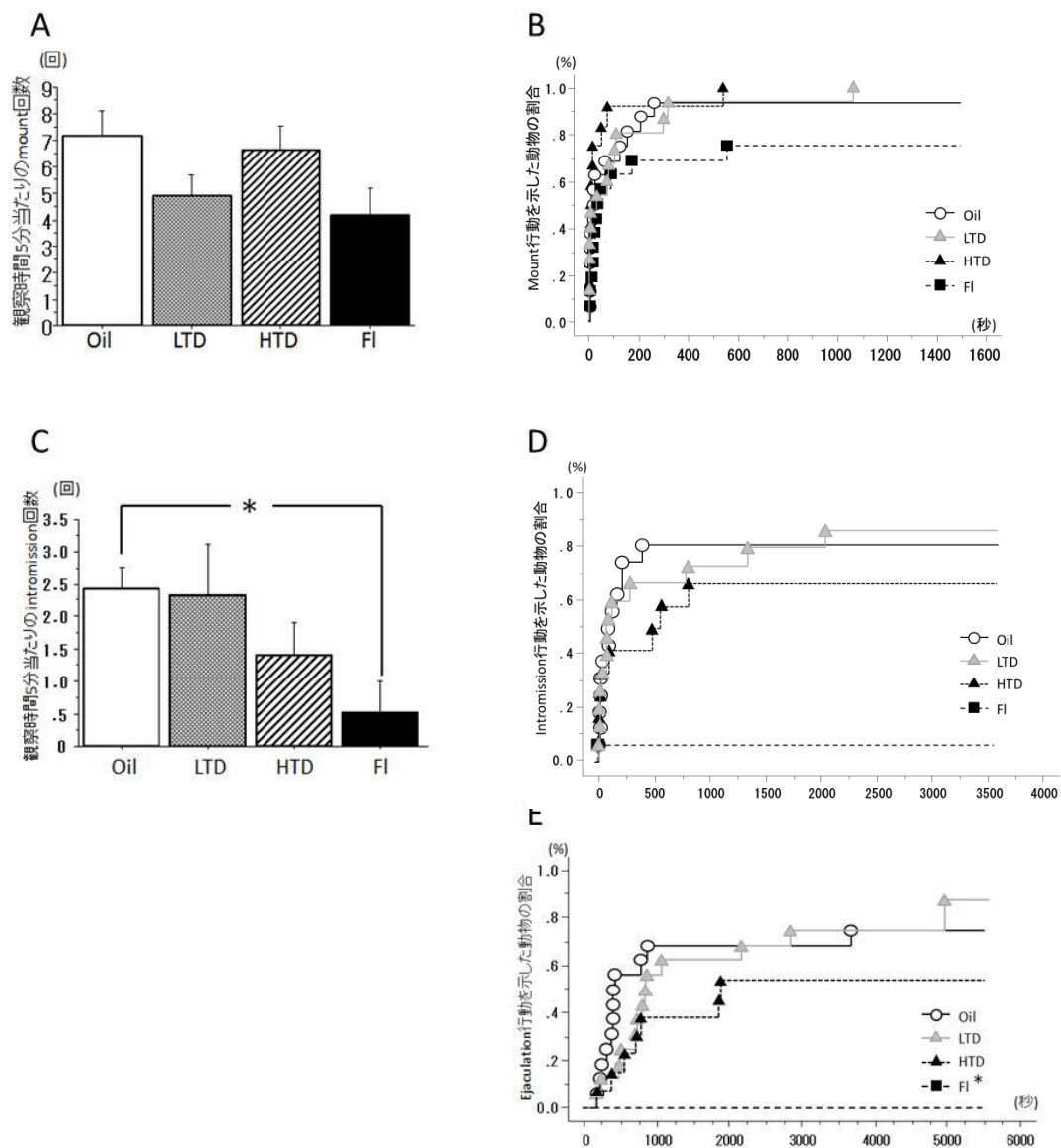


図8 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、16週齢時の性行動試験（2回目）の結果

(A) 観察時間5分あたりのMount回数、(B) Mount行動を示した動物の割合、(C) Intromission行動の回数、(D) Intromission行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation行動を示した動物の割合
 LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、FI : flutamide (2.5 mg/kg/day)

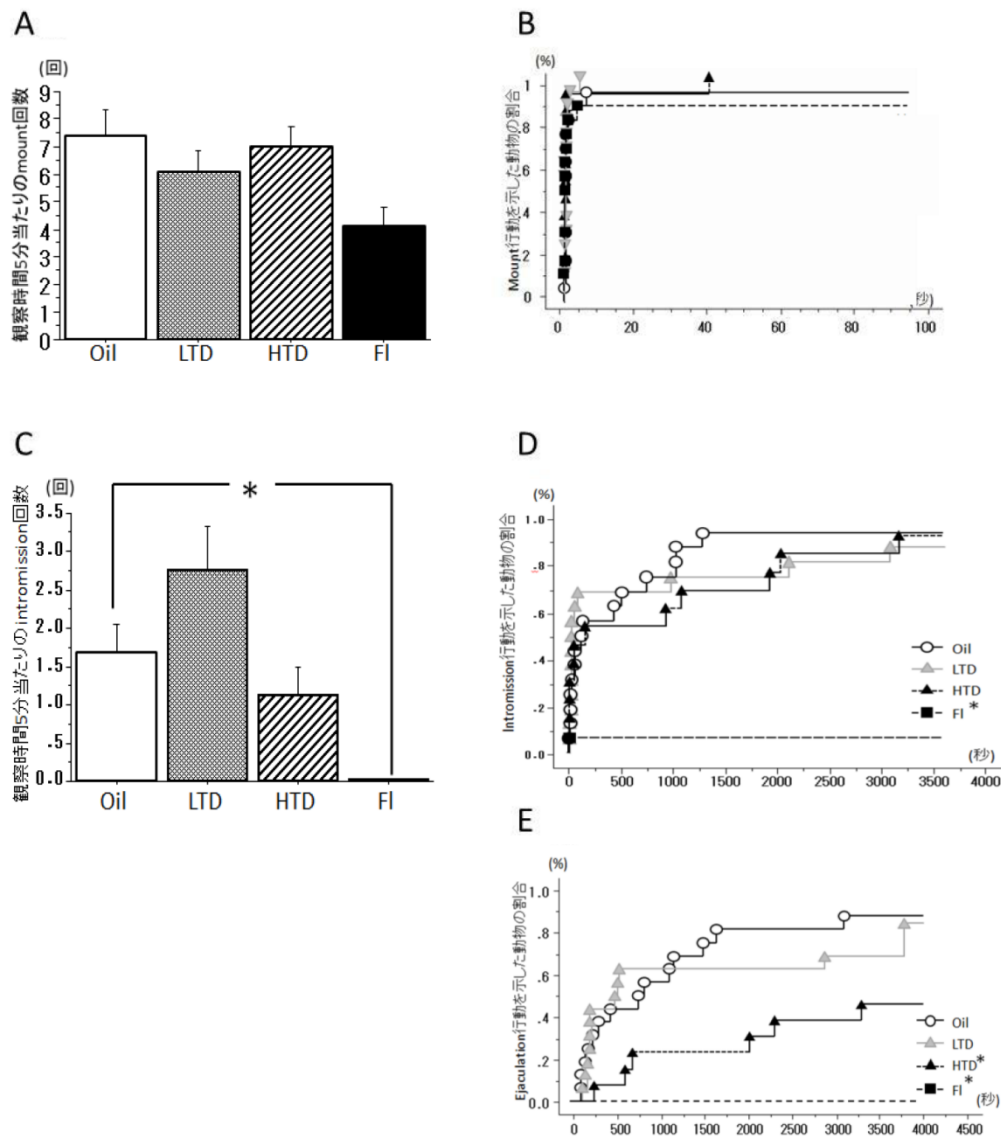


図9 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、17週齢時の性行動試験(3回目)の結果

(A) 観察時間5分あたりのMount回数、(B) Mount行動を示した動物の割合、(C) Intramission行動の回数、(D) Intramission行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation行動を示した動物の割合
 LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、FI : flutamide (2.5 mg/kg/day)

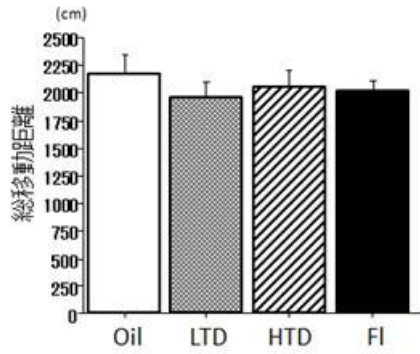


図10 TDCIPPあるいはflutamideの長期曝露後、18週齢時のオープンフィールド試験の結果
 LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

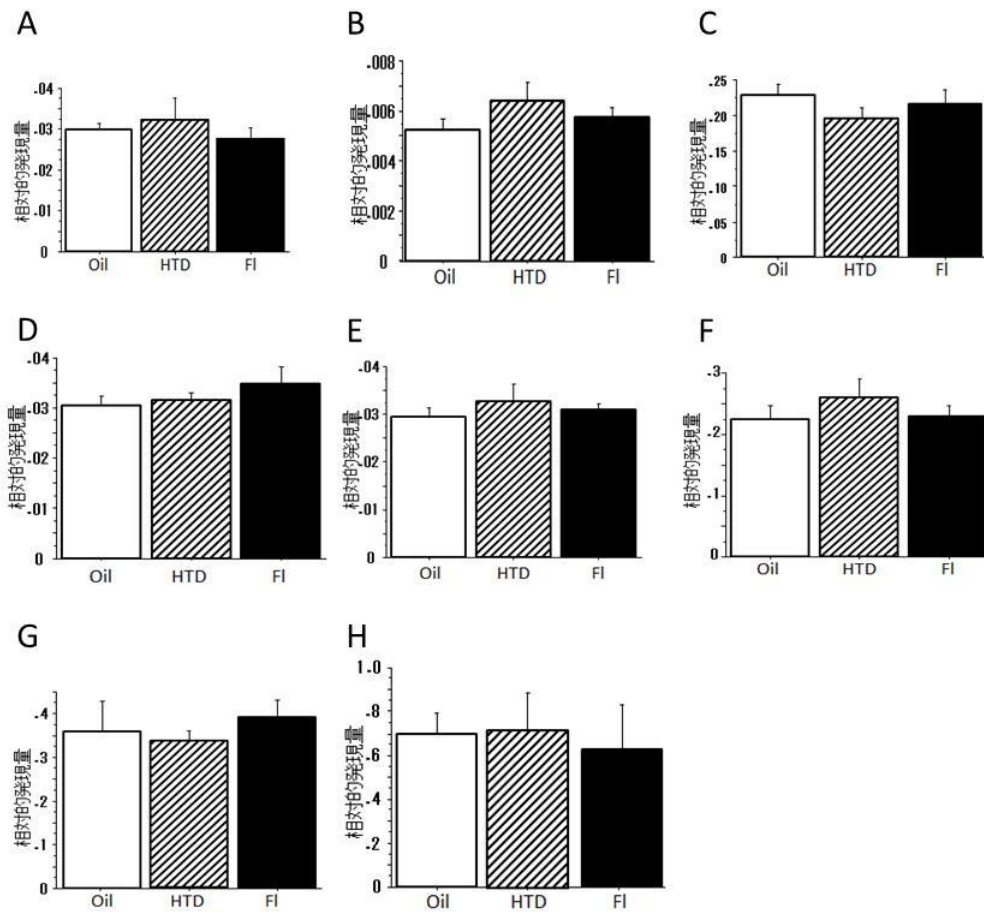


図11 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、19週齢時の脳および脊髄でのER α 、ER β 、およびARの各mRNA発現量の測定結果

各グラフは脳内LS領域の(A)ER α 発現量、(B)ER β 発現量、(C)AR発現量、脳内POA領域での(D)ER α 発現量、(E)ER β 発現量、(F)AR発現量を示す。また、(G)脊髄RDLNおよび(H)SNB領域のAR発現量を示す。

HTD : TDCIPP (250 mg/kg/day)、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

表4 TDCIPPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、19週齢（成熟期）の各臓器重量

	臓器重量(平均値±SEM)							
	Oil	(n)	LTD	(n)	HTD	(n)	Fl	(n)
体重(g)	583.160 ± 7.770	16	569.740 ± 8.090	16	622.810 ± 11.490*	13	579.980 ± 9.850	16
下垂体/体重(%)	0.004 ± 0.001	15	0.003 ± 0.001	15	0.003 ± 0.001	13	0.003 ± 0.003	15
肝臓/体重(%)	3.740 ± 0.082	15	3.630 ± 0.066	16	3.850 ± 0.066	13	3.930 ± 0.089	16
腎臓/体重(%)	0.725 ± 0.012	16	0.729 ± 0.021	16	0.674 ± 0.014	13	0.736 ± 0.011	15
副腎/体重(%)	0.011 ± 0.001	16	0.010 ± 0.001	16	0.009 ± 0.001	13	0.011 ± 0.001	16
精巣/体重(%)	0.545 ± 0.008	16	0.575 ± 0.011	16	0.503 ± 0.009*	13	0.549 ± 0.010	16
精巣上体/体重(%)	0.238 ± 0.003	16	0.238 ± 0.004	16	0.219 ± 0.005*	13	0.225 ± 0.005	16
凝固腺/体重(%)	0.046 ± 0.002	16	0.047 ± 0.002	16	0.042 ± 0.002	13	0.035 ± 0.002*	16
精囊/体重(%)	0.467 ± 0.017	16	0.482 ± 0.015	16	0.416 ± 0.019	13	0.381 ± 0.013*	16
前立腺/体重(%)	0.227 ± 0.009	16	0.229 ± 0.009	16	0.175 ± 0.012*	13	0.198 ± 0.015	16
陰茎重量/体重(%)	0.112 ± 0.003	16	0.115 ± 0.002	15	0.102 ± 0.002*	13	0.088 ± 0.003*	16
球海綿体筋/体重(%)	0.148 ± 0.005	16	0.152 ± 0.004	15	0.132 ± 0.005	13	0.123 ± 0.006*	16
陰茎短(mm)	9.015 ± 0.730	15	8.456 ± 0.219	16	7.987 ± 0.152	12	6.433 ± 0.430*	16
陰茎長(mm)	17.569 ± 0.612	15	18.213 ± 0.397	16	17.024 ± 0.351	12	13.003 ± 0.851*	16

LTD : TDCIPP (25 mg/kg/day)、HTD : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

表5 TPhPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、29日齢（幼若期）の各臓器重量

	臓器重量(平均値±SEM)							
	Oil	(n)	LTP	(n)	HTP	(n)	Fl	(n)
体重(g)	91.094 ± 2.451	25	95.339 ± 1.233	22	76.451 ± 3.800*	18	94.497 ± 1.848	27
下垂体/体重(%)	0.009 ± 0.002	17	0.005 ± 0.001	13	0.005 ± 0.001	10	0.008 ± 0.001	20
肝臓/体重(%)	4.941 ± 0.056	25	4.891 ± 0.071	21	5.575 ± 0.067*	18	4.972 ± 0.055	27
腎臓/体重(%)	1.030 ± 0.160	24	1.060 ± 0.018	22	1.155 ± 0.042*	18	1.045 ± 0.034	26
副腎/体重(%)	0.026 ± 0.001	24	0.029 ± 0.001	22	0.031 ± 0.002*	18	0.029 ± 0.001	27
精巣/体重(%)	0.567 ± 0.012	25	0.594 ± 0.010	22	0.605 ± 0.014	18	0.571 ± 0.009	27
精巣上体/体重(%)	0.082 ± 0.003	25	0.073 ± 0.002	22	0.077 ± 0.004	18	0.061 ± 0.001*	27
副生殖腺/体重(%)	0.089 ± 0.003	25	0.073 ± 0.003*	22	0.077 ± 0.004*	18	0.057 ± 0.002*	27
陰茎重量/体重(%)	0.064 ± 0.002	24	0.062 ± 0.002	20	0.063 ± 0.002	17	0.039 ± 0.001*	25
球海綿体筋/体重(%)	0.036 ± 0.003	23	0.036 ± 0.003	20	0.031 ± 0.004	15	0.030 ± 0.002	24
陰茎短(mm)	6.136 ± 0.362	25	5.903 ± 0.443	21	5.162 ± 0.123	17	4.890 ± 0.238*	26
陰茎長(mm)	13.839 ± 0.917	25	13.134 ± 0.964	21	15.709 ± 0.410	17	11.982 ± 0.629	25

LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

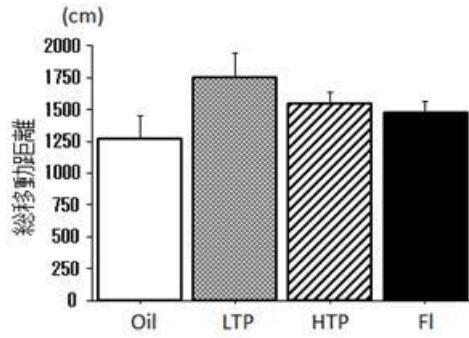


図12 TPhPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、15週齢時のオープンフィールド試験の結果
LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、FI : flutamide (2.5 mg/kg/day)

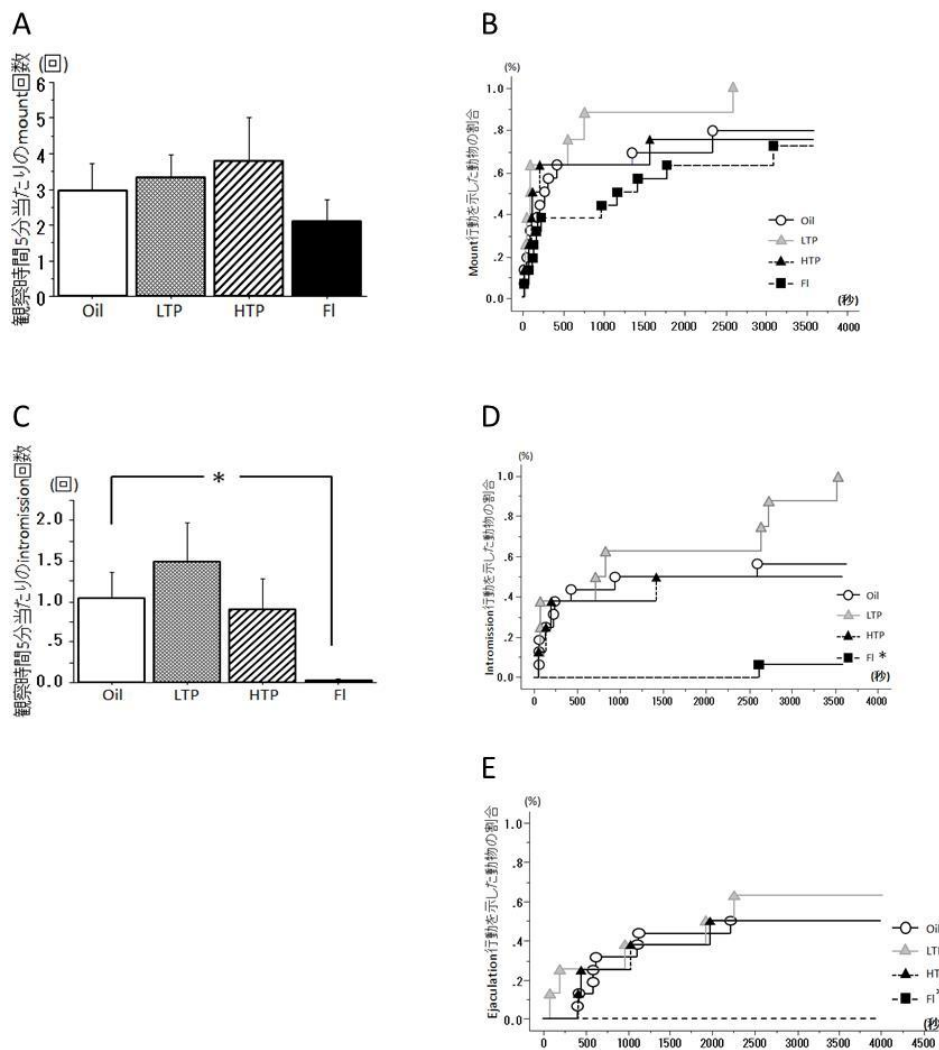


図13 TPhPあるいはflutamideの亜慢性曝露後、15週齢時の性行動試験（初回）の結果
(A) 観察時間5分あたりのMount回数、(B) Mount行動を示した動物の割合、(C) Intrusion行動の回数、(D) Intrusion行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation行動を示した動物の割合
LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、FI : flutamide (2.5 mg/kg/day)

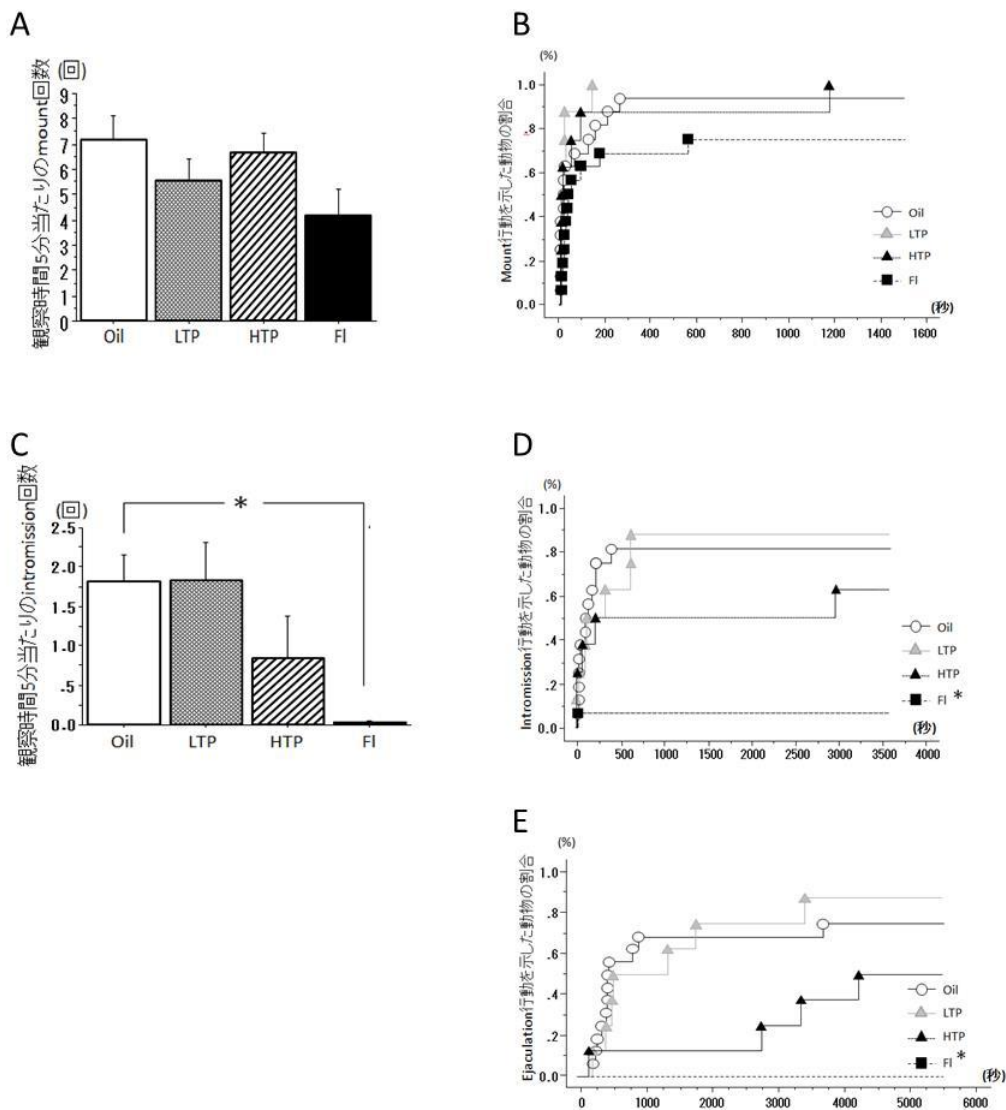


図 14 TPhP あるいは flutamide の亜慢性曝露後、16 週齢時の性行動試験（2 回目）の結果

(A) 観察時間 5 分あたりの Mount 回数、(B) Mount 行動を示した動物の割合、(C) Intromission 行動の回数、(D) Intromission 行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation 行動を示した動物の割合
 LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、FI : flutamide (2.5 mg/kg/day)

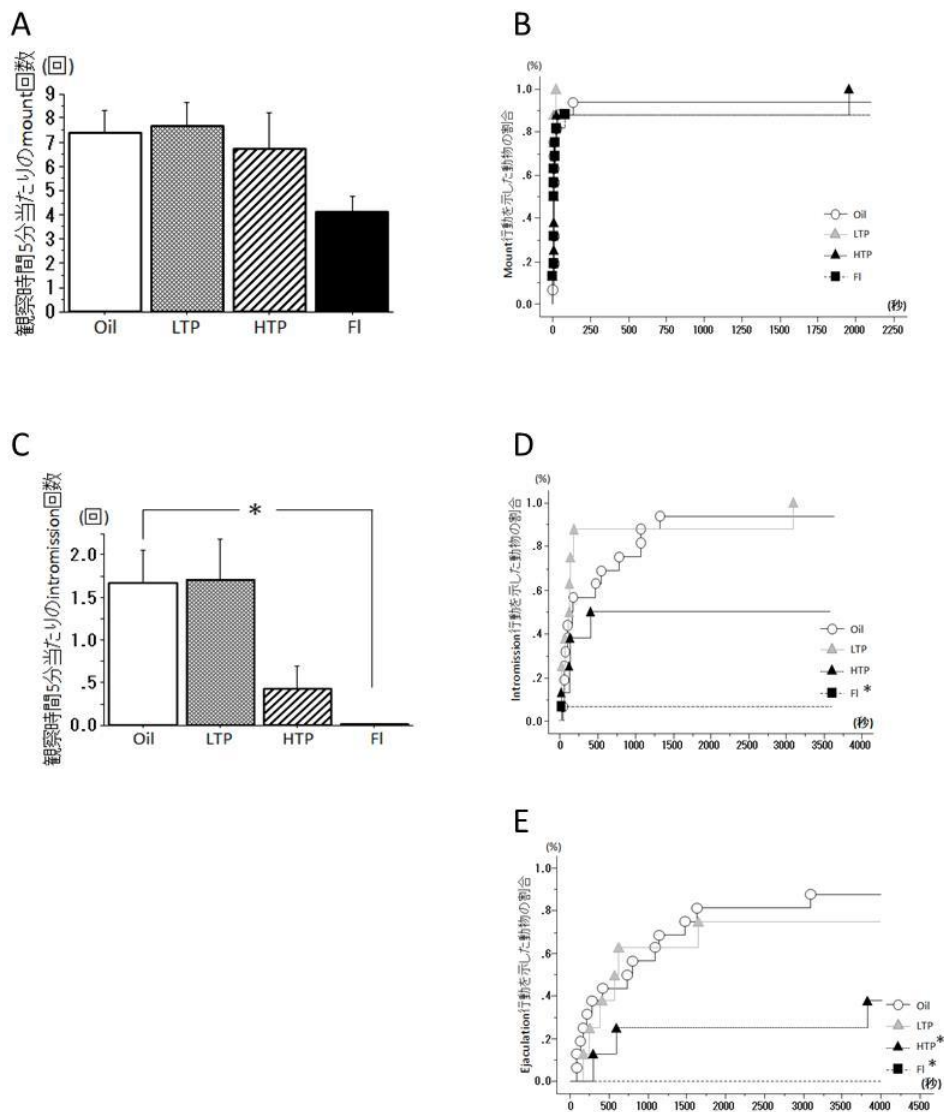


図 15 TPhP あるいは flutamide の亜慢性曝露後、17 週齢時の性行動試験（3 回目）の結果

(A) 観察時間 5 分あたりの Mount 回数、(B) Mount 行動を示した動物の割合、(C) Intromission 行動の回数、(D) Intromission 行動を示した動物の割合、(E) Ejaculation 行動を示した動物の割合
 LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

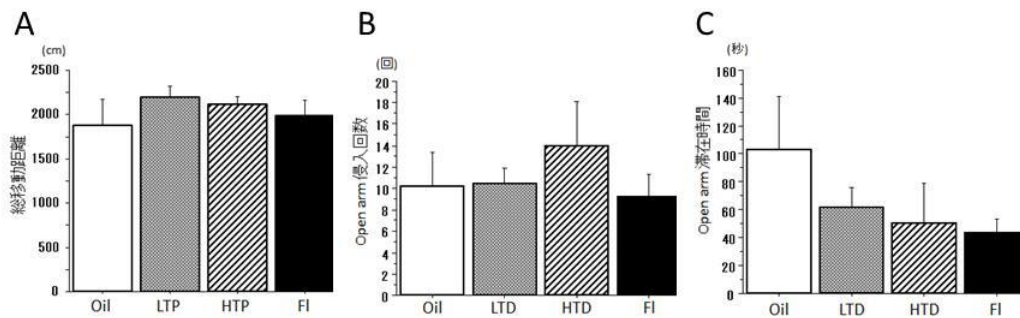


図 16 TDCIPP あるいは flutamide の亜慢性曝露後、19 週齢時の高架式十字迷路試験の結果

(A) 総移動距離、(B) Open arm への侵入回数、(C) Open arm 滞在時間

LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

表 6 TDCIPP あるいは flutamide の亜慢性曝露後、19 週齢（成熟期）の各臓器重量

	臓器重量 (平均値±SEM)											
	Oil			LTP			HTP			Fl		
		(n)		(n)		(n)		(n)		(n)		
体重 (g)	592.680 ± 11.146	24	597.736 ± 9.961	16	640.694 ± 11.532 *	16	614.620 ± 12.495	24				
下垂体/体重 (%)	0.003 ± 0.001	23	0.003 ± 0.001	16	0.002 ± 0.001	15	0.003 ± 0.001	22				
肝臓/体重 (%)	3.587 ± 0.074	23	3.633 ± 0.103	16	3.796 ± 0.090	16	3.870 ± 0.068 *	24				
腎臓/体重 (%)	0.691 ± 0.013	24	0.705 ± 0.013	16	0.629 ± 0.013	16	0.717 ± 0.010	23				
副腎/体重 (%)	0.011 ± 0.001	24	0.011 ± 0.001	15	0.010 ± 0.001	16	0.011 ± 0.001	24				
精巣/体重 (%)	0.532 ± 0.008	24	0.548 ± 0.011	15	0.492 ± 0.011	16	0.528 ± 0.010	24				
精巣上体/体重 (%)	0.226 ± 0.005	24	0.218 ± 0.006	15	0.200 ± 0.005 *	16	0.213 ± 0.005	24				
凝固腺/体重 (%)	0.044 ± 0.002	24	0.041 ± 0.002	16	0.043 ± 0.004	16	0.032 ± 0.002 *	24				
精囊/体重 (%)	0.415 ± 0.020	24	0.343 ± 0.024	16	0.355 ± 0.026	16	0.328 ± 0.019 *	24				
前立腺/体重 (%)	0.232 ± 0.009	24	0.226 ± 0.009	16	0.201 ± 0.011	16	0.191 ± 0.011 *	24				
陰茎重量/体重 (%)	0.110 ± 0.003	23	0.112 ± 0.004	16	0.097 ± 0.003 *	16	0.085 ± 0.003 *	24				
球海綿体筋/体重 (%)	0.143 ± 0.005	23	0.139 ± 0.006	16	0.126 ± 0.003	16	0.116 ± 0.005 *	24				
陰茎短 (mm)	8.735 ± 0.485	23	8.141 ± 0.139	16	7.869 ± 0.181	16	6.966 ± 0.348 *	24				
陰茎長 (mm)	17.537 ± 0.406	23	17.484 ± 0.396	16	16.831 ± 0.434	16	11.606 ± 0.588 *	24				

LTP : TPhP (25 mg/kg/day)、HTP : 250 mg/kg/day、Fl : flutamide (2.5 mg/kg/day)

第5章 縮合型リン系難燃剤含有試料を用いた分解性と生成物の環境放散性評価

分担研究者： 小瀬 知洋（新潟薬科大 応用生命科学部）

1. はじめに

難燃剤は、電気・電子機器、自動車や車両に用いられる樹脂、建築材料、紙、繊維などを難燃化し、火災による人的・経済的損失を低減するために用いられる。難燃剤は無機系難燃剤と有機系難燃剤に大別される。有機系難燃剤の中ではハロゲンラジカルによる強い難燃化性能を有する含ハロゲン系と、主に樹脂の可塑剤としての性質も併せ持ちポリリン酸被覆の形成による酸素遮断作用による難燃化性能を有するリン系難燃剤に分別される。PCB 問題に代表される有機塩素化合物の有害性や塩素化ダイオキシンなどの環境問題が注目されたことから、含ハロゲン系難燃剤の主流は臭素系難燃剤(BFR)に移行した。臭素系難燃剤においても優れた難燃効果を有するのみならず、低有害性の難燃剤の開発及び実用化がされている¹⁾。BFR は経済的に安価かつ優れた難燃効果を有していることから世界中で最も多く使用されていた²⁾。しかしながら、最も主要な BFR であったポリ臭素化ビフェニルおよびポリ臭素化ジフェニルエーテル類の人体残留性が指摘されたことから、2006 年 7 月に欧州有害物質制限(Restriction on Hazardous Substances; RoHS)指令で使用が制限されている³⁾。近年ではその規制はデカブロモシクロドデカン等の比較的新しい BFR に及び、これらは新規臭素系難燃剤(NBFR)で代替される一方で、一部は有機リン系難燃剤(PFR)で代替されている^{4),5)}。

有機リン系難燃剤の中でも近年使用が増加している縮合リン酸エステル類難燃剤(CPFR)は PC/ABS アロイ樹脂などの難燃剤として主にパソコンやテレビなどの電子機器に使用されている。CPFR にはビスフェノール A ビスジフェニルホスフェート(BPA-BDPP)、レゾルシノールビスジフェニルホスフェート(PBDPP)及びレゾルシノールビスジキシレニルホスフェート(PBDXP)があり、BPA-BDPP は現在最も使用されている CPFR である。PBDPP は BPA-BDPP の使用以前に最も使用されていた CPFR で BPA-BDPP より高い加水分解性を有していることがわかっている⁶⁾。その使用のピーク時期を鑑みると現在静脈系において最も排出されている CPFR であると考えられ、廃プラのリサイクル工程中に混入する可能性が高い物質である。PBDXP についてはバイオアッセイの結果、他の 2 種の CPFR と比較して毒性が高かった⁶⁾。CPFR は古くから可塑難燃剤として使用されてきたリン酸トリエステル類が 2 価アルコール及びフェノールを架橋物質としてオリゴマー化した化合物でモノマー型リン酸エステル類というべき構造のリン酸トリエステル類難燃剤と比べて低可塑性かつ低揮発性であり、毒性も低い。しかしながら、加水分解性を有することから、添加された電化製品の使用時や埋め立てといった最終処分及びリサイクル時にフェノール類をはじめとする低分子量化合物の生成、放出のリスクが懸念される。

プラスチックは最終処分されるものもあるが、可能な限り再資源化し、再生利用することが重要視されている。廃プラのリサイクル方法には 3 種類あり、素材から素材へのリサイクルであるマテリアルリサイクル、化学的な工程を利用したケミカルリサイクル、焼却などにより熱エネルギーとして回収するサーマルリサイクルがある。特にサーマルリサイクルについては 2005 年 5 月に廃棄プラスチックの分別基準を可燃ごみに統一した際に、廃棄物処理法の基本方針を「廃プラについては、まず発生抑制を、次に再生利用を推進する」とし、「なお残るものについては、直接埋め立てを行わず、熱回収を行なうのが適当である」と改正・告示された。東京 23 区においては 2008 年度から本格的に焼却・エネルギー回収に

よる埋め立てゼロを目指した取り組みを開始しており、埋め立てからサーマルリサイクルへの移行が進んでいる⁷⁾。プラスチックのサーマルリサイクルの方法について、プラスチック類を含む廃棄物を直接焼却し、発電用、温室、温水プールなどの熱源に使用方法があるが、プラスチック類、紙類、廃木材を利用して組成を調整し粉碎成形して固形燃料にする方法もある⁸⁾。

古紙・廃プラ固形燃料 (Refused Paper & Plastic Fuel; RPF) とは、主に産業系廃棄物のうち、マテリアルリサイクルおよびケミカルリサイクルが困難な廃プラスチック類および古紙を主原料として造粒される高品位の固形燃料である。RPF の特徴として、原料となる古紙・廃プラの配合比率を変更することで発熱量の調整が可能であり、高カロリーなので、石炭やごみ焼却時の助燃料の灯油などの化石燃料の代替燃料として使用可能なことが挙げられる⁹⁾。また、難燃剤をはじめとして多量の添加剤を含むプラスチックはマテリアルリサイクル及びサーマルリサイクルが困難である。特に BFR については一部の BFR が熱及び光分解しダイオキシンを生成することから、リサイクル工程中の廃プラスチックを溶解させる際の熱によりダイオキシンの生成が懸念されるため、通常マテリアルリサイクル及びケミカルリサイクルに BFR を含むプラスチックは使用されない。サーマルリサイクルにおいても RPF 製品の使用時に不純物によってダイオキシンの発生や燈を傷める可能性がある。特に塩素については JIS Z 7311 に定める 3 段階の等級のうち RPF-A において、RPF 中の全塩素分を 0.3 wt.% 以下にすることが求められており、またこれは含塩素有機リン系難燃剤に含まれる塩素についても規格が適応されるが、含塩素有機リン系難燃剤が混入した一般廃棄物固形化燃料 (RDF) の焼却試験において有機リン系難燃剤は小型焼却試験装置で分解され、JIS Z 7311 に定める塩素濃度範囲においてダイオキシン類の生成が起これないと報告されている¹⁰⁾。また臭素分についても全塩素分と同様の目的のため自主的に規制を設けている RPF 造粒工場も存在することから BFR を含む含ハロゲン系難燃剤を含有する廃プラスチックの RPF への使用は減少すると考えられる。しかしながら、リンについてその制限はない¹¹⁾ ことから、今後 PFR を含有した廃プラスチックを原料とする RPF の増加が予想され、中でもサーマルリサイクルされやすいエンジニアリングプラスチック中に含有する BPA-BDPP、PBDPP 及び PBDXP の RPF への混入の増加が考えられる。

RPF はリングダイ、スクリュウダイといった手法で圧縮し、圧縮熱によって樹脂を溶解させることで造粒成形するが、その際に RPF が高温になるため、造粒後の RPF を散水や冷却水槽に浸漬するなどして冷却する工程がある。しかし、廃プラ中に混入した CPFR が加熱水冷処理により加水分解する可能性があり、揮発性のあるフェノール類が作業環境中に放出されることが懸念される。このことから、RPF の加熱水冷処理においてフェノール類の発生源と生成濃度を解明することが必要とされている。我々のこれまでの研究で RPF の加熱水冷処理を模した実験において BPA-BDPP が加水分解し、フェノール類を生じることが明らかとなった。しかし、BPA-BDPP の詳細な加水分解生成物や加水分解経路は明らかでない。また、PBDPP 及び PBDXP について加熱水冷処理における加水分解生成物の生成濃度及び詳細な加水分解生成物は明らかになっていない。

そこで本研究では、静脈側ライフサイクルにおける化成品由来化学物質の循環利用に伴うリスクの低減に資するために、古紙廃プラ固形燃料製造での加熱および水冷工程における原料廃プラスチック中に混入した縮合リン酸エステル類難燃剤の加水分解生成物を明らかにし、それらの中でも特に環境放出性の高いフェノール類化合物について生成能を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

2. 1. 試薬と装置

RPF は容器包装リサイクルプラ、産業廃棄物、電子基盤成型残渣を主原料として扱う国内の廃プラリサイクル工場から実製品の提供を受けた。BPA-BDPP dimer を主成分とする CR-741 製剤、PBDPP dimer を主成分とする CR-733S 製剤、PBDXP dimer を主成分とする PX-200 製剤は大八科学工業株式会社（日本、愛媛）から提供を受けた。各難燃剤製剤の成分を表 1 に示す。最終分解生成物であるフェノール類の標準品およびラベル体のうち、フェノール、ビスフェノール A (BPA)、及びフェノール-d₅、BPA-d₁₆ は AccuStandard (New Heaven, CT, USA)、レゾルシノールの分析用標準品は Sigma-Aldrich 社、2,6-ジメチルフェノールの分析用標準品は FLUKA 社 (Sigma-Aldrich Co. inc., St. Louis, MO) からそれぞれ入手した。モノマー型リン酸エステル類のトリフェニルホスフェート (TPHP) は AccuStandard (New Heaven, CT, USA) から入手した。また重水素ラベル体の TPHP-d₁₅、リン酸トリクレジル (TCP-d₂₁) は林純薬工業株式会社（日本、大阪）から入手した。GC-MS 分析時の内標純物質であるフェナンスレンの重水素ラベル体標準品は関東科学株式会社（日本、東京）から入手した。フェノール類の TMS 化誘導体化試薬として用いた N,O-ビス (トリメチルシリル) トリフルオロアセトアミド+10 %トリメチルクロロシアン (BSTFA) は ThermoFisher Scientific 社 (Boston, MA, USA) から入手した。実験に使用した有機溶媒は残留農薬試験・PCB 試験用 (5000 倍濃縮検定品) もしくはそれと同等の等級を使用した。その他一般試薬は特級もしくはそれと同等の等級を使用した。

表 1 各難燃剤製剤の成分組成

	成分	Content (%)
BPA-BDPP 製剤	BPA-BDPP 二量体	86.82
	製品名 CR741 BPA-BDPP 三量体	11.33
	リン酸トリフェニル (TPHP)	0.98
	フェノール	0.0047
	ビスフェノール A	0.00085
	その他	0.90
PBDPP 製剤	PBDPP 二量体	70.29
	製品名 CR733S PBDPP 三量体	21.63
	TPHP	2.59
	その他	5.49
PBDXP 製剤	PBDXP 二量体	97.31
	製品名 PX200 リン酸トリス (2,6-ジメチルフェニル)	1.97
	その他	0.72

フェノール、BPA、レゾルシノール、2,6-ジメチルフェノールを分析するためにガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) は ThermoFisher Scientific 社 (Boston, MA, USA) 製 TraceGC、および POLARIS-Q から構成されるシステムを用いた。各難燃剤製剤主成分及び加水分解生成物を分析するために液体クロマトグラフ/飛行時間質量分析計 (LC/TOF-MS) は島津製作所 (日本、京都) 製 LC-30AD、及び Burker Inc. (ドイツ、ブレーメン及び USA, MA) 製 micrOTOFII から構成されるシステムを使用した。前述の分析に供する試料のろ過は孔径 0.50 μm のシリンジフィルター (ADVANTEC 製 DISMIC-03JP PTFE) をアセトニトリル 10 mL でコンディショニングして使用した。

2. 2. 実験方法

リン酸エステル結合に加水分解によって生じる各難燃剤製剤主成分の加水分解生成物の LC-TOF/MS 分析における保持時間および生じる付加体を明らかにするのに際して、RPF 由来の妨害物質の影響を受けずに評価するため、以下に論ずる方法で加水分解実験を行った。100 mL の三角フラスコに各難燃剤製剤を 1 g 秤量し、水酸化ナトリウム及び塩酸を用いて pH 13.0 に調整した純水を 100 mL 加え、50 $^{\circ}\text{C}$ 、暗所に設定したインキュベーター内に振とう機を設置し、150 rpm で 165 時間振とうを行った。試料水中のフェノール等の酸性物質のイオン化を防ぐために塩酸を用いて pH 2.0 に調整した後、ジクロロメタン 15 mL で液液抽出を 3 回行った。抽出液は無水硫酸ナトリウムで脱水後、ジクロロメタンで 50 mL に定容し粗抽出液とした。粗抽出液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで溶媒転溶後、10 mL に定容し、内標純物質として TCP-d₂₁ を 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 相当量添加した。その後、孔径 0.5 μm のシリンジフィルター (DISMIC-03JP, PTFE) を用いて濾過を行い LC/TOF-MS で加水分解生成物の定性分析を行った。

RPF 製造工程において原料廃プラスチックに CPFR が混入した際の、難燃剤成分の加水分解挙動を評価するために、RPF 加熱水冷実験を行った。本実験における評価対象は BPA-BDPP 製剤 (製品名: CR-741)、PBDPP 製剤 (製品名: CR-733S)、PBDXP 製剤 (製品名: PX-200) 製剤の 3 種の CPFR 製剤とし、試験に供する RPF は以下の方法によって調製した。実際の廃プラスチックリサイクル工場において採取した RPF 製品を 1 g 程度の大きさに切断し均質化した。10%程度の難燃剤成分を含有する廃プラスチックが原料に 10 wt.%程度混入することを想定して、RPF の小片に各難燃剤製剤の 10%アセトン溶液を用いて、製剤量として 1 wt.%になるように添加し、その後デシケーター内で十分に溶媒を乾燥させた。乾燥後の試料片を 5 g 程度ステン保存容器 ($\phi 54 \times 80$) に入れ、マッフル炉内で 180 $^{\circ}\text{C}$ で 1 時間加熱を行った後、実際の加熱水冷処理を想定してステン保存容器の中に 50 mL の milli-Q 水を加え冷却した。実験後のステン保存容器の中から RPF を取り出したものを RPF 試料とし、冷却に使用した milli-Q 水を冷却水試料とした。

加熱水冷実験においては RPF 試料に難燃剤製剤を添加し、加熱水処理を行ったものを系列 1 とした。加熱水処理におけるフェノール類の生成濃度を評価するための対照系として RPF 試料に難燃剤製剤を添加し、加熱水冷処理を行わなかったものを系列 3 とした。また RPF 自体から生じるフェノール等のバックグラウンドを評価するために難燃剤製剤を添加せず、加熱水冷処理を行ったものを系列 2、行わなかったものを系列 4 とした。

2. 3. 分析方法

加水分解実験試料および加熱水冷実験における冷却水の全量に対して塩化ナトリウムを 3 wt.%添加後、1 mol/L の塩酸を用いて pH 2.0 以下に調整した。pH 調整後、サロゲートとしてフェノール-d₅、BPA-d₁₆、

TPHP-d₁₅ を 10 µg ずつ添加し、ジクロロメタン 15 mL を加えて 20 分間液液抽出を行った。さらに同様の抽出操作をさらに 2 回繰り返した抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水を行い、得られた溶液を粗抽出液とした。フェノール、BPA、レゾルシノール及び 2,6-ジメチルフェノールを定量するため、定容した抽出液から適量を分取し、窒素流下で 100 µL に濃縮後、内標準物質のフェナンスレン-d₁₀ を 0.05 µg 添加し、BSTFA 誘導体化試薬を 20 µL 加え、室温で 1 時間以上静置し、TMS 誘導体化を行った後、GC/MS で定量分析を行った。CPFR 製剤の主要成分である二量体、三量体及びリン酸トリエステル体は、抽出液を分取し、アセトニトリルを用いて適宜希釈定容後 1 mL を分取して、内標準物質 TCP-d₁₅ を 0.1 µg 添加し、アセトニトリル 10 mL でコンディショニングした孔径 0.50 µm の PTFE 製シリンジフィルターを用いてろ過し、LC/TOF-MS で定量分析した。

RPF 試料は、5 g をアセトンでソックスレー抽出 (40 回転、6 時間) し、その後残さをトルエンでソックスレー抽出 (110 回転、16 時間) した。得られた 2 つの粗抽出液を定容し、それぞれ等量を分取、混合し、窒素流下で 100 µL に濃縮後、内標準物質のフェナンスレン-d₁₀ を 0.05 µg 添加し、BSTFA 誘導体化試薬を 20 µL 加え、室温で 1 時間以上静置し、TMS 誘導体化を行った後、GC/MS で定量分析を行った。加えて LC/TOF-MS によって各難燃剤製剤主成分の定量分析および加水分解生成物の定性分析を行うため、各抽出液を適量分取し、等量混合を行い、窒素流下でアセトニトリル 1 mL に溶媒転溶後、サロゲートとして TPHP-d₁₅ を 1 µg 添加し、アセトニトリル 10 mL でコンディショニングした孔径 0.50 µm の PTFE 製シリンジフィルターで、ろ過を行った後、LC/TOF-MS で分析を行った。

フェノール、BPA、レゾルシノールおよび 2,6-ジメチルフェノールは GC/MS で相対検量線に基づく定量分析を行った。相対検量線の内標準物質として、フェナンスレン-d₁₀ およびクリセン-d₁₂ を使用した。GC/MS 用分離カラムは J&W Scientific 社 (USA, CA) 製 DB-5MS (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 µm) を用いた。昇温条件を 50 °C で 1 分保持した後、10 °C/min で 250 °C まで昇温した。注入口温度は 250 °C、インターフェイス温度は 250 °C、イオン源温度は 200 °C とした。イオン化法は EI モード、キャリアガスはヘリウム (流量 1.0 mL/min) を用いた。試料溶液の注量は 1 µL (スプリットレス注法) とし、Full Scan モード (m/z 45~450) で測定を行った。フェノールの TMS 誘導体は m/z 151 を定量イオンとし、m/z 166 を確認イオンとした。BPA の TMS 誘導体は m/z 357 を定量イオンとし、m/z 372 を確認イオンとした。フェノール-d₅ の TMS 誘導体は m/z 156 を定量イオンとし、m/z 171 を確認イオンとした。BPA-d₁₆ の TMS 誘導体は m/z 368 を定量イオンとし、386 を確認イオンとした。レゾルシノールの TMS 誘導体は m/z 239 を定量イオンとし、m/z 254 を確認イオンとした。2,6-ジメチルフェノールの TMS 誘導体は m/z 194 を定量イオンとし、m/z 179 を確認イオンとした。9-ブロモアントラセンは m/z 256 を定量イオンとし、258 を確認イオンとした。フェナンスレン-d₁₀ は m/z 188 を定量イオンとし、m/z 160 を確認イオンとした。クリセン-d₁₂ は m/z 240 を定量イオンとした。

また、各難燃剤製剤主成分の定量分析および加水分解生成物の定性分析を LC/TOF-MS で行った。難燃剤製剤主成分の定量分析は表 1 に示した製剤中の主成分組成に基づいて、製剤を標準物質として使用し、相対検量線の内標準物質として TCP-d₁₅ を使用して行った。内標準物質は 10 µg/mL 溶液を作成し、試料および標準試料への添加液として使用した。各難燃剤製剤主成分および加水分解生成物は LC/TOF-MS で測定を行った。カラムは Agilent 社 (USA, CA) 製 Zorbax Eclipse XDB-C18 (長さ 150 mm、内径 4.6 mm、膜厚 5 µm) を用いた。オープン温度は 40°C に設定した。移動相は A : 5 mmol/L 酢酸アンモニウムと B : メタノールを用いてグラジエント分析を行った。グラジエント条件は 0 分 (B=5 %) → 5 分 (B=50 %) →

20 分 (B=99 %) →30 分 (B=100 %) とした。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) で、positive (m/z 50~3,000)、イオン源温度は 200°C に設定した。試料溶液の注入量は 5 μ L に設定した。

3. 結果と考察

3. 1. CPFR 製剤の加水分解生成物の評価手法

CPFR 製剤の二量体の化学構造および加水分解経路を図 1 に示した。図 1 に示すように各 CPFR 製剤における末端基を R_1 、架橋基を R_2 と定義し、例示した末端基の脱離体を dimer- R_1 と表記する。各難燃剤製剤における末端基及び架橋基を表 2 に示す。

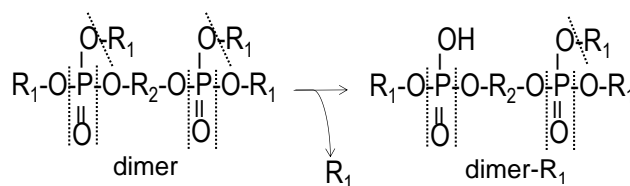


図 1 CPFR 製剤の二量体の化学構造および加水分解経路

表 2 各難燃剤製剤における末端基及び架橋基

難燃剤	末端基 (R_1 -OH)	架橋基 (HO- R_2 -OH)
BPA-BDPP	Phenol	BPA
PBDPP	Phenol	Phenol
PBDXP	2,6-dimethylphenol	Resorcinol

各 CPFR 製剤を用いた加水分解実験によって製剤成分から生成しうる加水分解生成物の LC/TOF-MS 分析における保持時間および生成する付加体を検討し、難燃剤製剤添加 RPF 加熱水冷実験におけるそれぞれの加水分解生成物の増減を加熱水冷処理前後のピーク強度の増減によって検討した。なお、加熱水冷実験は 5 回繰り返して実施し、その増減は t 検定によって評価した。

3. 2. BPA-BDPP 製剤の RPF 製造工程における加水分解挙動

BPA-BDPP 二量体から加水分解により生じる可能性のある加水分解生成物の付加イオン毎の精密質量を表 3 に、BPA-BDPP 製剤及びその加水分解後における製剤のクロマトグラムを図 2 に、加熱水冷実験における BPA-BDPP 製剤添加 RPF 抽出液のクロマトグラムを図 3 に、加熱水冷処理に伴う加水分解生成物のピーク強度の増減を表 4 に示す。

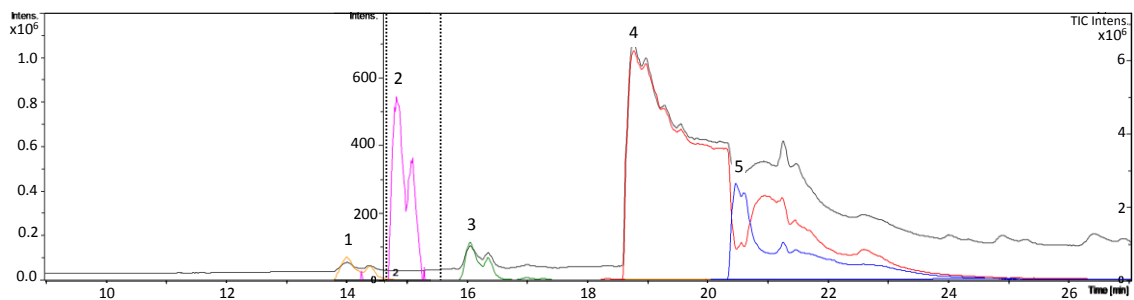
図 2 に示した BPA-BDPP 製剤および加水分解物のクロマトグラムにおいて m/z 326.07 の化合物 1 が保持時間 14.0 分に、 m/z 616.14 の化合物 2 が保持時間 14.8 分に、 m/z 460.14 の化合物 3 が保持時間 16.1 分に、 m/z 692.17 の化合物 4 が保持時間 18.8 分に、 m/z 1058.27 の化合物 5 が保持時間 20.5 分に確認された。化合物 1 から 4 は表 3 に示す水素イオン付加体の精密質量の m/z 327.08、 m/z 617.15、 m/z 461.15 及び m/z 385.12 と一致し、化合物 5 は表 3 に示すアンモニウムイオン付加体の精密質量の m/z 1076.31 と一致した。このことから、化合物 1 は BPA-BDPP monomer、化合物 2 は dimer- R_1 、化合物 3 は dimer-(R_1O)₂P、化合物 4 は BPA-BDPP dimer、化合物 5 は BPA-BDPP trimer であることが確認された。また、加水分解し

た BPA-BDPP 製剤において、BPA-BDPP 製剤では確認されなかった m/z 384.11 の化合物 6 が保持時間 9.8 に確認された。化合物 6 は表 3 に示す水素イオン付加体の精密質量の m/z 385.12 と一致していることから、化合物 6 は dimer- $[(R_1O)_2P+R_1]$ であると確認された。これらの化合物のピークは BPA-BDPP 製剤添加 RPF の加熱水冷処理においても検出され、精密質量及び保持時間が一致した。また、BPA-BDPP 添加 RPF の加熱水冷処理において m/z 464.08 の化合物 7 を保持時間 17.7 に確認した。化合物 7 は表 3 に示すカリウムイオン付加体の精密質量の m/z 503.04 と一致したことから、dimer- $3R_1$ であると確認した。

表 3 BPA-BDPP 二量体から加水分解により生じ得る加水分解生成物の付加イオン毎の精密質量

化合物	分子式	各付加イオンの m/z					
		M	M+H	M+Na	M+NH ₄	M+K	2M+H
Dimer	C39H34O8P2	692.17	693.18	715.16	710.21	731.14	1385.35
Trimer	C60H53O12P3	1058.27	1059.28	1081.26	1076.31	1097.24	2117.56
Monomer	C18H15O4P	326.07	327.08	349.06	344.10	365.03	653.15
Diphenylphosphate	C12H11O4P	250.04	251.05	273.03	268.07	289.00	501.09
Phenylphosphate	C6H7O4P	174.01	175.02	197.00	192.04	212.97	349.02
BPA	C15H16O2	228.12	229.12	251.10	246.15	267.08	457.24
Phenol	C6H6O	94.04	95.05	117.03	112.08	133.01	189.09
Phosphoric acid	H3O4P	97.98	98.98	120.97	116.01	136.94	196.96
Dimer- R_1	C33H30O8P2	616.14	617.15	639.13	634.18	655.10	1233.29
Dimer- $2R_1$	C27H26O8P2	540.11	541.12	563.10	558.14	579.07	1081.23
Dimer- $3R_1$	C21H22O8P2	464.08	465.09	487.07	482.11	503.04	929.17
Dimer- $4R_1$	C15H18O8P2	388.05	389.05	411.04	406.08	427.01	777.10
Dimer- $(R_1O)_2P$	C27H25O5P	460.14	461.15	483.13	478.18	499.11	921.30
Dimer- $[(R_1O)_2P+R_1]$	C21H21O5P	384.11	385.12	407.10	402.15	423.08	769.23
Dimer- $[(R_1O)_2P+2R_1]$	C15H17O5P	308.08	309.09	331.07	326.12	347.04	617.17

難燃剤製剤



加水分解物

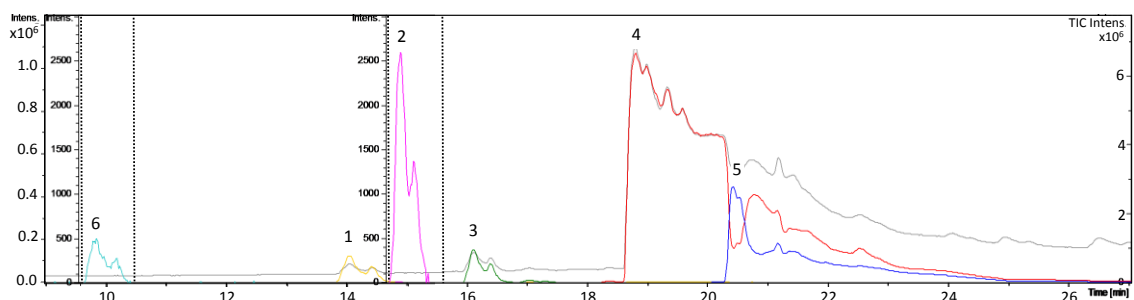


図2 BPA-BDPP 製剤およびその加水分解物の LC/TOF-MS クロマトグラム

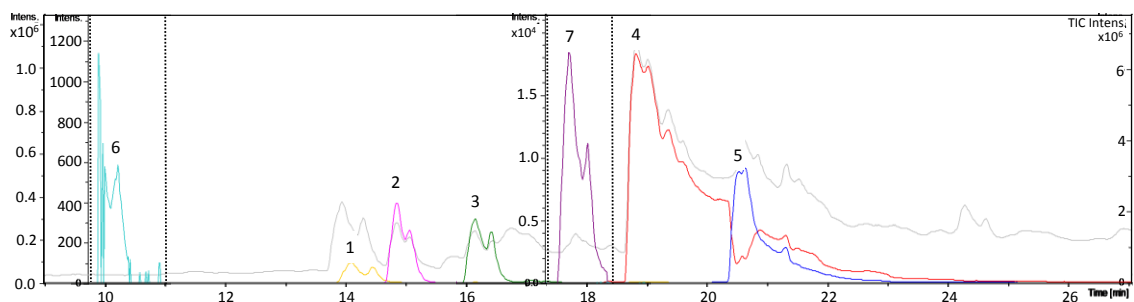


図3 BPA-BDPP 製剤添加 RPF の加熱水冷実験後の LC/TOF-MS クロマトグラム

BPA-BDPP 添加 RPF を用いた加熱水冷実験における加水分解生成物の生成の有無を検討するために加熱水冷処理の前後で生成物ごとの相対強度を比較した結果を表 4 に示す。BPA-BDPP 二量体および三量体に加熱水冷処理に伴う有意な減少は見られなかったが、その加水分解生成物である dimer- R_1 、dimer- $3R_1$ 及び dimer- $(R_1O)_2P$ のピーク強度は加熱水冷処理に伴って有意に増加 ($p < 0.05$) したことから、二量体の加水分解が示唆される。この結果から図 4 に示した加水分解反応に伴い化合物が生成していることが推察され、フェノールおよびビスフェノール A の生成が懸念される。

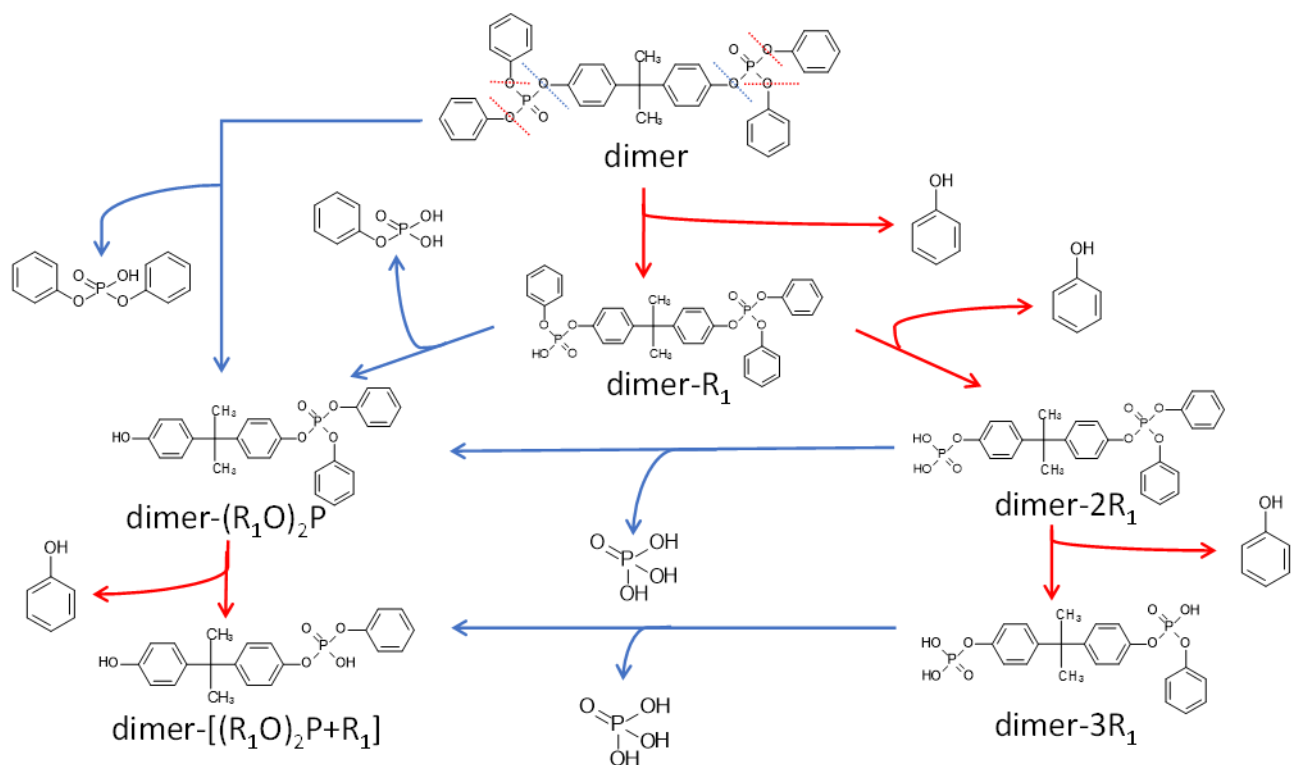


図4 RPF 加熱水冷処理における BPA-BDPP 二量体の加水分解経路

表4 BPA-BDPP 添加 RPF 加熱水冷処理前後における各生成物の増減

ピーク 番号	化合物	保持時間 (min)			強度増減		
		加水分解 物	加熱水冷処理		F test	t test	
			系列 3	系列 1			
1	Monomer	14.0	14.1	14.1	↑	-	-
2	Dimer- R_1	14.8	14.9	14.8	↑	*	*
3	Dimer- $(R_1O)_2P$	16.1	16.1	16.2	↑	-	*
4	Dimer	18.8	18.8	18.8	↓	-	-
5	Trimer	20.5	20.5	20.6	↑	-	-
6	Dimer- $[(R_1O)_2P+R_1]$	9.8		9.8	↑ ^{a)}	b)	+
7	Dimer- $3R_1$		17.7	17.7	↑	*	-

a) : 加熱水冷処理後のみ検出された b) : 検定を行っていない * : $p < 0.05$ で有意

3. 3. PBDPP 製剤の RPF 製造工程における加水分解挙動

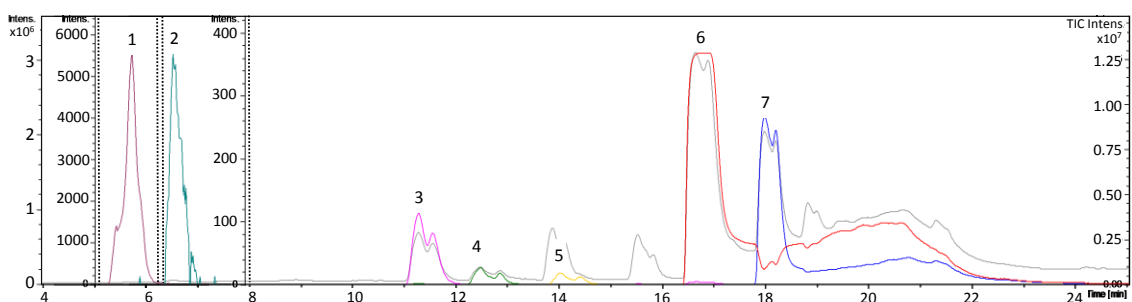
BPA-BDPP 二量体から加水分解により生じる可能性のある加水分解生成物の付加イオン毎の精密質量を表5に、BPA-BDPP 製剤及びその加水分解後における製剤のクロマトグラムを図5に、加熱水冷実験における BPA-BDPP 製剤添加 RPF 抽出液のクロマトグラムを図6に、加熱水冷処理に伴う加水分解生成物のピーク強度の増減を表6に示す。

表 5 PBDPP 二量体から加水分解により生じ得る加水分解生成物の付加イオン毎の精密質量

化合物	分子式	各付加イオンの m/z					
		M	M+H	M+Na	M+NH ₄	M+K	2M+H
Dimer	C30H24O8P2	574.09	575.10	597.08	592.13	613.06	1149.20
Trimer	C42H33O12P3	822.12	823.13	845.11	840.15	861.08	1645.24
Monomer	C18H15O4P	326.07	327.08	349.06	344.10	365.03	653.15
Diphenylphosphate	C12H11O4P	250.04	251.05	273.03	268.07	289.00	501.09
Phenylphosphate	C6H7O4P	174.01	175.02	197.00	192.04	212.97	349.02
Resorcinol	C6H6O2	110.04	111.04	133.03	128.07	149.00	221.08
Phenol	C6H6O	94.04	95.05	117.03	112.08	133.01	189.09
Phosphoric acid	H3O4P	97.98	98.98	120.97	116.01	136.94	196.96
Dimer-R ₁	C24H20O8P2	498.06	499.07	521.05	516.10	537.03	997.13
Dimer-2R ₁	C18H16O8P2	422.03	423.04	445.02	440.07	461.00	845.07
Dimer-3R ₁	C12H12O8P2	346.00	347.01	368.99	364.03	384.96	693.01
Dimer-4R ₁	C6H8O8P2	269.97	270.98	292.96	288.00	308.93	540.95
Dimer-(R ₁ O) ₂ P	C18H15O5P	342.07	343.07	365.05	360.10	381.03	685.14
Dimer-[(R ₁ O) ₂ P+R ₁]	C12H11O5P	266.03	267.04	289.02	284.07	305.00	533.08
Dimer-[(R ₁ O) ₂ P+2R ₁]	C6H7O5P	190.00	191.01	212.99	208.04	228.97	381.01

図 5 に示した PBDPP 製剤および加水分解物のクロマトグラムにおいて m/z 422.03 の化合物 1 が保持時間 5.8 分に、m/z 250.04 の化合物 2 が保持時間 6.5 分に、m/z 498.06 の化合物 3 が保持時間 11.3 分に、m/z 342.07 の化合物 4 が保持時間 12.5 分に、m/z 326.07 の化合物 5 が保持時間 14.0 分に、m/z 574.09 の化合物 6 が保持時間 16.9 分に、m/z 822.12 の化合物 7 が保持時間 18.0 分に確認された。化合物 1 から 6 は表 3 に示す水素イオン付加体の精密質量の m/z 423.04、m/z 251.05、m/z 499.07 m/z 343.07、m/z 327.08、及び m/z 575.10 と一致し、化合物 7 は表 3 に示すアンモニウムイオン付加体の精密質量の m/z 845.11 と一致していることから、化合物 1 は dimer-2R₁、化合物 2 はジフェニルホスフェート、化合物 3 は dimer-R₁、化合物 4 は dimer-(R₁O)₂P、化合物 5 は TPHP、化合物 6 は PBDPP 二量体、化合物 7 は PBDPP 三量体であることが確認された。また、加水分解した製剤において確認された化合物 3 から 7 は PBDPP 製剤添加 RPF の加熱水冷処理においても確認され、精密質量及び保持時間が一致した。

PBDPP 製剤



加水分解物

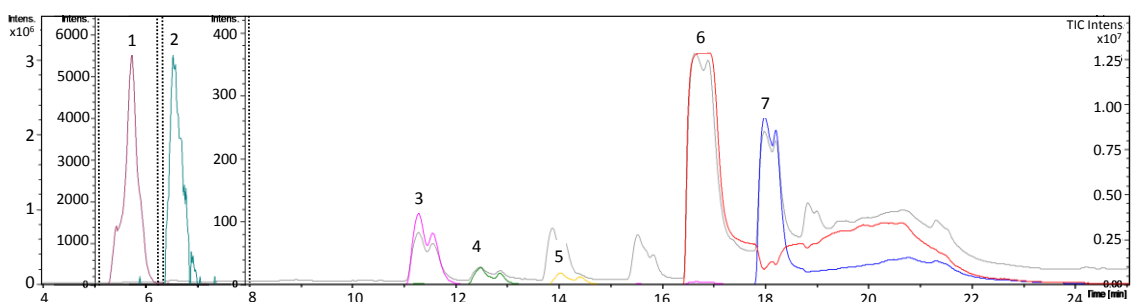


図5 PBDPP 製剤およびその加水分解物の LC/TOF-MS クロマトグラム

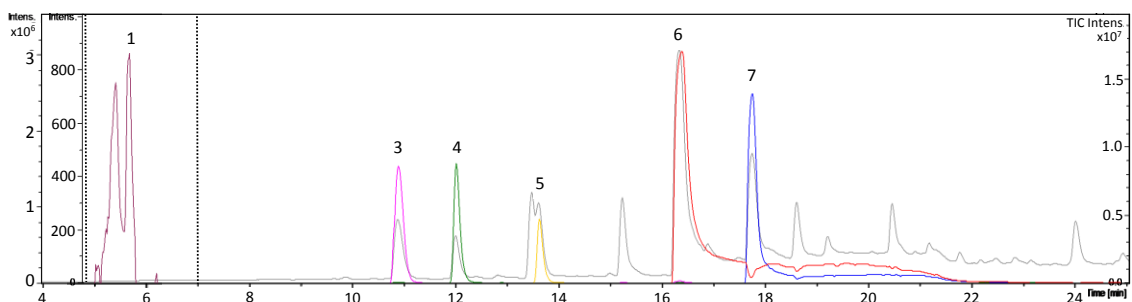


図6 PBDPP 製剤添加 RPF の加熱水冷実験後の LC/TOF-MS クロマトグラム

加熱水冷処理における加水分解生成物の生成を検討するために未処理と加熱水冷処理の相対強度で t 検定を行った結果を表 6 に示す。PBDPP 二量体および三量体は有意に減少 ($p < 0.05$) する一方で dimer- R_1 及び dimer- $(R_1O)_2P$ のピーク強度は加熱水冷処理に伴って有意に増加 ($p < 0.05$) した。この結果から図 7 に示した加水分解反応に伴い化合物が生成していることが推察され、フェノールおよびレゾルシノールの生成が懸念される。

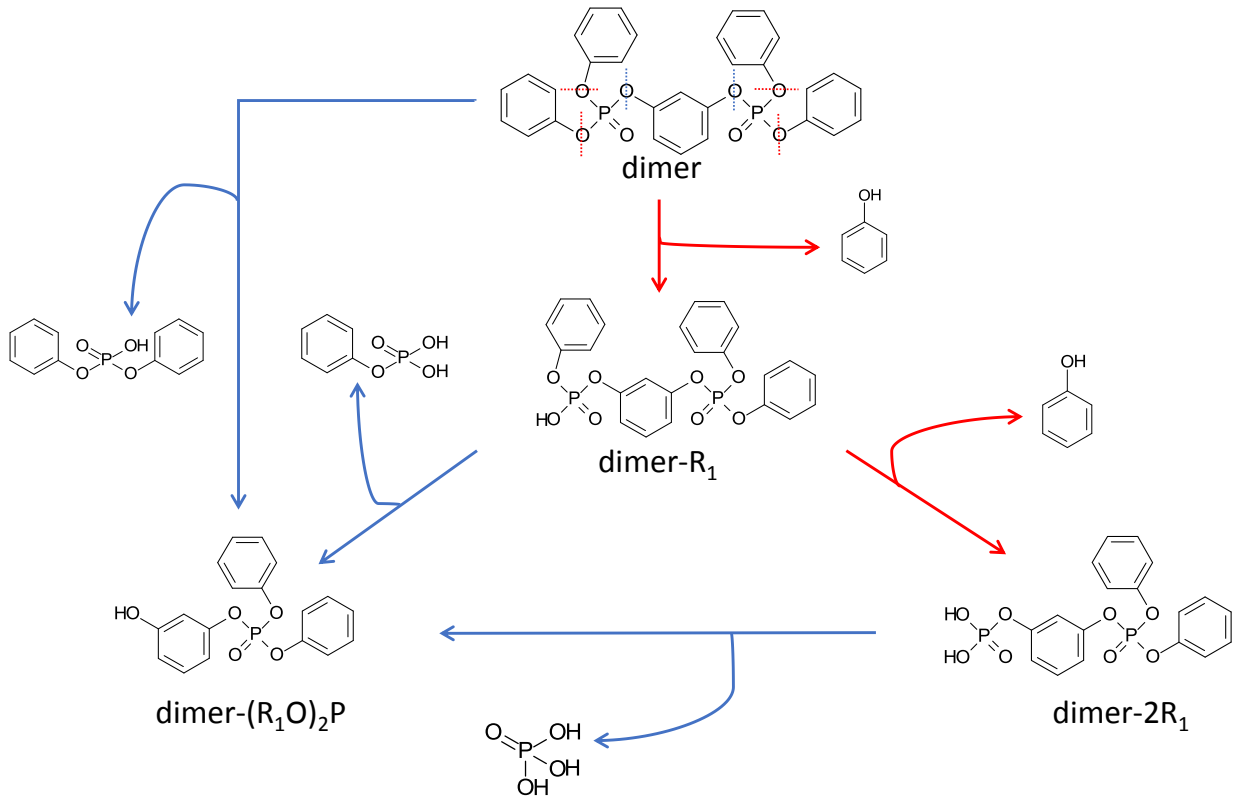


図7 RPF 加熱水冷処理における PBDPP 二量体の加水分解経路

表6 PBDPP 製剤添加 RPF 加熱水冷処理前後における各生成物の増減

ピーク 番号	化合物	保持時間 (min)		強度増減			
		加水分解 物	加熱水冷処理		F t	tes t test	-
			系列3	系列1			
1	Dimer-2R ₁	5.8					
2	Diphenylphosphate	6.5					
3	Dimer-R ₁	11.3	11.3	10.9	↑	*	-
4	Dimer-(R ₁ O) ₂ P	12.5	12.4	12.0	↑	*	*
5	Monomer	14.0	14.0	13.6	↑	*	*
6	Dimer	16.9	16.6	16.4	↓	-	*
7	Trimer	18.0	17.7	17.7	↓	-	*

* : p<0.05 で有意

3. 4. PBDXP 製剤の RPF 製造工程における加水分解挙動

PBDXP dimer から加水分解により生じ得る加水分解生成物の付加イオン毎の精密質量を表7に、PBDXP 製剤及び加水分解における製剤のクロマトグラムを図8に、加熱水冷処理における PBDXP 製剤添加 RPF

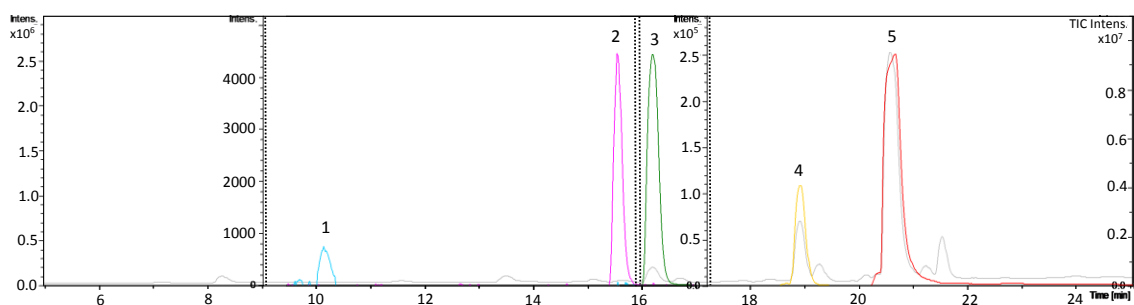
抽出液のクロマトグラムを図 9 に、表 8 に加熱水冷処理の有無による加水分解生成物のピークの増減を示す。

PBDXP 製剤において m/z 306.10 の化合物 1 が保持時間 10.0 分に、m/z 582.16 の化合物 2 が保持時間 15.4 分に、m/z 398.13 の化合物 3 が保持時間 16.1 分に、m/z 410.16 の化合物 4 が保持時間 18.8 分に、m/z 686.22 の化合物 5 が保持時間 20.5 分に確認された。化合物 1、3 及び 4 は表 3 に示す水素イオン付加体の精密質量の m/z 307.11、m/z 399.14 及び m/z 411.17 と一致し、化合物 2 及び 5 は表 3 に示すアンモニウムイオン付加体の精密質量の m/z 600.19 及び m/z 709.21 と一致していることから、化合物 1 は monomer-R₁、化合物 2 は dimer-R₁、化合物 3 は dimer-(R₁O)₂P、化合物 4 は monomer、化合物 5 は dimer であることが確認された。また、PBDXP 添加 RPF 加熱水冷処理において化合物 1 から 5 が確認され、ピークと精密質量及び保持時間が一致した。また PBDXP 製剤添加 RPF の加熱水冷処理において、m/z 478.09 の化合物 6 が保持時間 20.0 分に確認された。化合物 6 の水素イオン付加体の精密質量の m/z 479.10 と一致していることから、化合物 6 は dimer-2R₁ と同定された。

表 7 PBDXP 二量体から加水分解により生じ得る加水分解生成物の付加イオン毎の精密質量

化合物	分子式	各負荷イオンの m/z					
		M	M+H	M+Na	M+NH ₄	M+K	2M+H
Dimer	C38H40O8P2	686.22	687.23	709.21	704.25	725.18	1373.45
Monomer	C36H29O12P3	410.16	411.17	433.15	428.20	449.13	821.34
Resorcinol	C6H6O2	110.04	111.04	133.03	128.07	149.00	221.08
2,6-Dimethylphenol	C8H10O	122.07	123.08	145.06	140.11	161.04	245.15
Phosphoric Acid	H3O4P	97.98	98.98	120.97	116.01	136.94	196.96
Dimer-R ₁	C30H32O8P2	582.16	583.16	605.15	600.19	621.12	1165.32
Dimer-2R ₁	C22H24O8P2	478.09	479.10	501.08	496.13	517.06	957.20
Dimer-3R ₁	C14H16O8P2	374.03	375.04	397.02	392.07	413.00	749.07
Dimer-4R ₁	C6H8O8P2	269.97	270.98	292.96	288.00	308.93	540.95
Monomer-R ₁	C16H19O4P	306.10	307.11	329.09	324.14	345.07	613.21
Monomer-2R ₁	C8H11O4P	202.04	203.05	225.03	220.07	241.00	405.09
Dimer-(R ₁ O) ₂ P	C22H23O5P	398.13	399.14	421.12	416.16	437.09	797.26
Dimer-[(R ₁ O) ₂ P+R ₁]	C14H16O8P2	374.03	375.04	397.02	392.07	413.00	749.07
Dimer-[(R ₁ O) ₂ P+2R ₁]	C6H8O5P	191.01	192.02	214.00	209.04	229.97	383.03

PBDPP 製剤



加水分解後

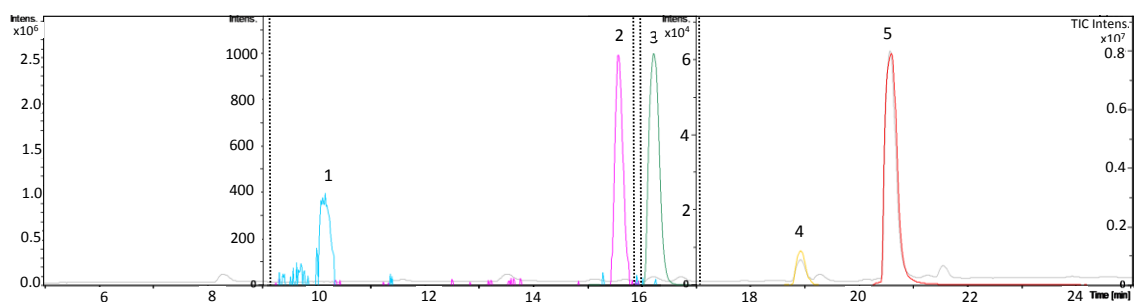


図 8 PBDXP 製剤およびその加水分解物の LC/TOF-MS クロマトグラム

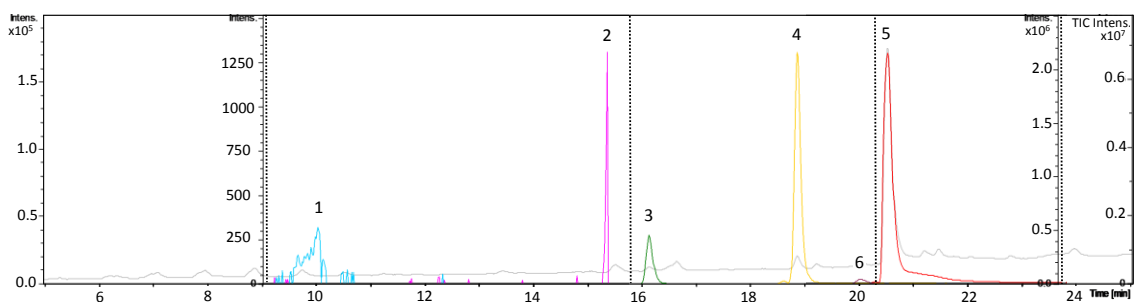


図 9 PBDXP 製剤添加 RPF の加熱水冷実験後の LC/TOF-MS クロマトグラム

また加熱水冷処理における加水分解生成物の生成の有無を検討するために未処理と加熱水冷処理の相対強度で t 検定を行った結果を表 8 に示す。PBDXP 二量体が有意な減少は見られなかったが、dimer-R₁ 及び dimer-(R₁O)₂P のピーク強度は加熱水冷処理に伴って有意に増加 ($p < 0.05$) しており、二量体の加水分解が示唆される。この結果から図 10 に示した加水分解反応に伴い化合物が生成していることが推察され、キシレノールおよびレゾルシノールの生成が懸念される。

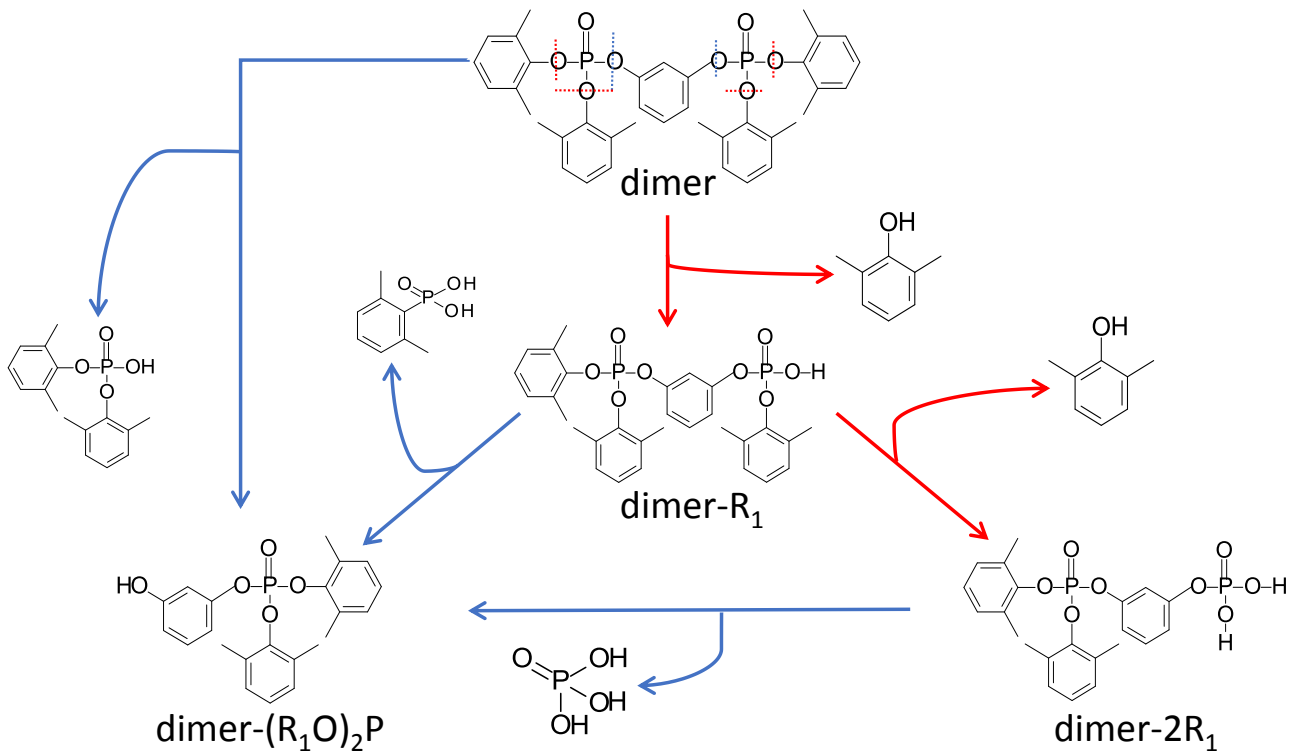


図 10 RPF 加熱水冷処理における PBDXP 二量体の加水分解経路

表 8 PBDXP 製剤添加 RPF 加熱水冷処理前後における各生成物の増減

ピーク 番号	化合物	保持時間 (min)			強度増減		
		加水分解 物	加熱水冷処理		F test	t test	
			系列 3	系列 1			
1	Monomer- R_1	10.0	10.0	10.0	○ ^{a)}	+ ^{b)}	+
2	Dimer- R_1	15.4	15.4	15.4	↑	*	*
3	Dimer- $(\text{R}_1\text{O})_2\text{P}$	16.1	16.1	16.1	↑	*	*
4	Monomer	18.8	18.8	18.8	↑	-	-
5	Dimer	20.5	20.5	20.5	↓	-	-
6	Dimer- 2R_1			20.0	○	+	+

a) : 加熱水冷処理後のみ検出された b) : 検定を行っていない * : $p < 0.05$ で有意

3. 5. 加熱水冷処理に伴うフェノール類の生成能の検討

CPFR 製剤を添加した RPF を使用した加熱水冷処理において各難燃剤製剤成分の加水分解およびフェノール類の生成の可能性が示唆されたため、その生成能を明らかにするために 4 つの系列を設定した。系列 1 は RPF 自体と添加した各難燃剤製剤の加水分解から生成したフェノール類濃度を示す。系列 2 は RPF

自体から生じるフェノール類濃度を示す。系列3はRPF自体と各難燃剤製剤に元々含まれるフェノール類濃度を示し、系列4はRPF自体に含まれるフェノール類濃度を示す。

4つの系列における各製剤主成分および加水分解における最終分解生成物であるフェノール及びビスフェノールの濃度を表9に示す。系列2および系列4において何れのCPFR製剤成分も検出されなかったことから、供試体の作成に使用したRPFはCPFRのバックグラウンドを有さないことが確認された。TPHPに関してはRPFから定量下限値未満の濃度で検出されたものの、BPA-BDPPおよびPBDPP製剤に由来するTPHP濃度と比較してきわめて低く、これに関してもRPFからのバックグラウンドの影響はないと考えられた。一方でフェノール、ビスフェノールAおよびキシレノールに関してはRPF自体を測定した系列4においても若干量含まれており、かつRPF自体に加熱水冷処理を施した系列2においても同程度の濃度(p>0.05で有意差なし)で含まれることから難燃剤由来の生成量を評価するためにRPF自体に由来するフェノール類を減算して以下の評価を行った。

先にも論じたようにPBDPP製剤を添加したRPFにおいては、製剤の二量体および三量体成分が加熱水冷処理によって減少する傾向が見られた。一方でBPA-BDPP二量体においてはやや逆転する傾向が見られたが、これは製剤添加時のばらつきに起因すると考えられる。

表9 加熱水冷実験におけるBPA-BDPP製剤主成分および加水分解生成物濃度

		(mg/kg)				
		二量体	三量体	TPHP	フェノール	ビスフェノールA
BPA-BDPP	系列1	8000±960	710±110	130±35	120±34	6.2±1.3
	系列2	<200	<20	(0.04)	27±10	4.8±1.5
	系列3	7200±1200	720±79	98±16	24±4.6	5.8±4.8
	系列4	<200	<20	(6)	20±7.0	4.3±4.0
PBDPP	系列1	6000±150	1600±60	290±15	600±96	3.5±2.3
	系列2	<200	<20	(0.04)	27±10	0.71±0.24
	系列3	7300±450	2200±110	290±9	510±29	1.4±0.15
	系列4	<200	<20	(6)	20±7.0	(0.3)
PBDXP	系列1	9400±500	- ^a	<10	9.3±1.2	0.34±0.031
	系列2	<100	- ^a	<0.1	<0.3	0.71±0.24
	系列3	9500±1800	- ^a	<10	2.3±0.57	(0.3)
	系列4	<100	- ^a	<0.1	<0.3	(0.3)

a: 製剤中に三量体が確認されなかったため定量を行っていない。

表10に3種の製剤を添加したRPFにおける加熱水冷処理工程における難燃剤主成分の分解量およびフェノール類の生成量を示す。全ての難燃剤製剤において末端基であるフェノールもしくはキシレノールの生成が確認された。

フェノールを末端基とする BPA-BDPP および PBDPP を添加した RPF における RPF 質量あたりのフェノール類の生成能は 90 mg/kg であり、キシレノールを末端基とする PBXDP の 5.6 mg/kg と比較して 1 オーダー高い値であった。PBDXP の工業的合成に用いられるキシレノールの主成分は 2,6-キシレノールであり、フェノール性水酸基の両側にメチル基を有する。PBDXP 製剤における末端基由来のキシレノール生成能が低かった原因として、このメチル基による立体障害やベンゼン環への電子供与作用の影響によりフェノール性水酸基のリン酸エステル結合の加水分解が阻害され、結果として PBDXP は他の 2 つの製剤と比較して末端基由来のフェノールの生成能が低くなったのではないかと考えられた。

PBDPP 製剤および BPA-BDPP 製剤の架橋基であるレゾルシノールとビスフェノール A においても同様の傾向が見られ、レゾルシノール生成能は 8 mg/kg であったが、ビスフェノール A の生成は確認できなかった。ビスフェノール A はフェノール性水酸基に隣接する位置に置換基を有さないため立体障害は起こりにくいと考えられ、*p* 位置のメチレン基による電子供与作用の影響ではないかと推察される。しかしながら架橋基由来化合物が生成するためには架橋基両端のリン酸エステル結合の加水分解が必要なため、レゾルシノールの生成能が低いことや、PBDXP においてレゾルシノールの有意な生成が確認されなかった点など不明瞭な点も多く、この点に関しては架橋基の一方のリン酸エステル結合の加水分解によって生じる dimer-(R₁O)₂P 体の定量評価を含む更なる検討を要する。

表 10 加熱水冷処理過程における難燃剤成分の分解およびフェノール類の生成能

		(mg/kg)				
		分解量			生成量	
BPA-BDPP		二量体	三量体	TPHP	フェノール	ビスフェノール A
	加熱水冷処理	- ^a	- ^a	- ^a	90	- ^a
	うち製剤由来	- ^a	- ^a	- ^a	80	- ^a
PBDPP		二量体	三量体	TPHP	フェノール	レゾルシノール
	加熱水冷処理	1300	600	- ^a	90	2.1
	うち製剤由来	1300	600	- ^a	80	1.7
PBDXP		二量体	三量体	TXP	キシレノール	レゾルシノール
	加熱水冷処理	- ^a	- ^a	- ^a	7.0	- ^a
	うち製剤由来	- ^a	- ^a	- ^a	7.0	- ^a

a : 加熱水冷処理に伴う有意な増加もしくは減少 ($p < 0.05$) が見られなかった

PBDPP 製剤添加系における二量体の分解量 1300 mg/kg から推算されるフェノール類の生成量はフェノールにおいて 230~910 mg/kg であり、レゾルシノールにおいて 250 mg/kg である。但しこの値はフェノールにおいては 1 mol の PBDPP 二量体から 1~4 mol のフェノールおよび 1 mol のレゾルシノールが生成すると仮定した値である。実際に確認された生成量はこの値と比較してフェノールにおいて 8.8~35% であり、レゾルシノールにおいて 0.7% であった。したがって二量体の減少に占める寄与は何れも小さく、dimer-(R₁O)₂P 体などに代表される加水分解生成物の生成が予想され、定量的評価が必要と考えられた。これらの生成物は揮発性をはじめとする環境放出性は最終加水分解生成物であるフェノール類と比較して低い、その生態毒性には不明な点が多く、今後毒性学的手法と分析化学的手法を組み合わせた網羅的な評価が必要になると考えられる。

4. 結論

3種の難燃剤製剤を添加したRPFを使用した加熱水冷実験において、BPA-BDPP製剤、PBDPP製剤及びPBDXP製剤の最も主要な成分である二量体の加水分解と分解生成物の生成が確認された。BPA-BDPP dimerから生じるdimer-R₁、dimer-3R₁及びdimer-(R₁O)₂Pのピーク強度は加熱水冷に伴って有意に増加($p < 0.05$)し、PBDPP dimerから加水分解により生じるdimer-R₁及びdimer-(R₁O)₂Pのピーク強度は加熱水冷に伴って有意に増加($p < 0.05$)し、PBDXP dimerから加水分解により生じるdimer-R₁及びdimer-(R₁O)₂Pのピーク強度は加熱水冷に伴って有意に増加($p < 0.05$)したことから、RPF中に混入したCPFRが加水分解をしてフェノール類を生成することが示唆された。

BPA-BDPP製剤或いはPBDPP製剤を添加したRPFの加熱水冷処理においてフェノールが90 mg/kg生成し、うち80 mg/kgが難燃剤製剤に由来した。PBDPP製剤を添加したRPFにおいてレゾルシノールは2.1 mg/kg生成し、1.7 mg/kgが製剤に由来した。PBDXP製剤を添加したRPFにおいて、7.0 mg/kgのキシレノールが生成し、これらは全て製剤に由来した。以上のことから、CPFR製剤を含む廃プラを原料としてRPFの加熱水冷処理を行う場合、フェノール類が生成することが確認された。

5. 参考文献

- 1) 大槻勝一：リン系縮合型難燃剤の進歩，マテリアルライフ学会誌 (Materiaru Raifu Gakkaishi)，14 [4] 181～183 (Oct. 2002)
- 2) 臭素科学・環境フォーラム (BSEF)，臭素系難燃剤の現在 (2013) (<http://www.bsef-japan.com/library.html>)
- 3) European Commission, ENVIROMENT, (2014) (http://ec.europa.eu/environment/waste/rohs_eee/index_en.htm)
- 4) ダイオキシン対策，ダイオキシンを発生させない素材・製品開発， (https://www.jpo.go.jp/shiryuu/s_sonota/map/ippan14/2/2-6-1.htm)
- 5) Ali, N., Harrad, S., Goosey, E., Neels, H., Covaci, A.: ‘ ‘Novel’ ’ brominated flame retardants in Belgian and UK indoor dust: Implications for human exposure. *Chemosphere*, **83**, 1360-1365 (2011)
- 6) 滝上英孝，倉持秀敏，梶原夏子，小瀬知洋，田辺信介，高橋真，森千里，松野義晴，戸高恵美子，酒井伸一，平井康宏，：平成 21 年度循環型社会形成推進科学研究費補助金 研究成果報告書 循環過程を含む製品ライフサイクルにおけるBFRのリスクコントロールに関する研究 (K2121)，46-59 (2010)
- 7) 一般社団法人 プラスチック循環利用協会 プラスチックリサイクルの基礎知識 2014 17-24 (2013)
- 8) 勝亦 毅：プラスチックリサイクルにおける国内外の動向，高分子 48 巻 10 月号，773，(1999)
- 9) 日本 RPF 工業会，RPF とは，(2013) (<http://www.jrpf.gr.jp/rpf-1.html>)
- 10) Matsukami, H et al.,. Organohalogen Compounds,. 75, 928-931 (2013)
- 11) kikakurui.com, 日本工業規格 廃棄物由来の紙、プラスチックなど固形化燃料，(2010) (<http://kikakurui.com/z7/Z7311-2010-01.html>)

6. 研究発表

6. 1. 誌上発表

該当なし

6. 2. 学会発表

- 1) 小瀬 知洋, 戸舘 侑孝, 川田邦明, 滝上 英孝: 古紙廃プラ固形燃料製造工程における樹脂添加剤の分解挙動、第 22 回環境化学討論会、東京 (2013)
- 2) 戸舘侑孝, 小瀬知洋, 川田邦明, 滝上英孝: 古紙廃プラ固形燃料製造工程における縮合リン酸エステル類難燃剤の分解挙動、第 23 回環境化学討論会、京都 (2014)
- 3) 田村沙貴、戸舘侑孝、小瀬知洋、滝上英孝、川田邦明: RPF 製造工程における縮合リン酸エステル類難燃剤の加水分解挙動、第 25 回廃棄物資源循環学会研究発表会、広島(2014)
- 4) 松縄泰天、小瀬知洋、滝上英孝、酒井伸一、川田邦明: 車内環境における内装部材からダストへの有機リン系難燃剤の移行、第 49 回日本水環境学会年会、石川(2015)

第6章 化成品や不純物問題に関連した臭素系・リン系難燃剤含有廃棄物等の対策と適正処理に関する展望

分担研究者： 鈴木 剛、滝上 英孝（国立環境研究所 資源循環・廃棄物研究センター）
酒井 伸一（京都大学 環境科学研究センター）
高橋 真、田辺 信介（愛媛大学 沿岸環境科学研究センター）
研究協力者： 平井 康宏（京都大学 環境科学研究センター）

1. はじめに

資源循環における有用物質（資源性物質）の回収強化と並行し、製品のライフサイクルにおける化成品の安全性要求に応えるための規制、規格が国内外で整備されつつある。従って、製品ライフサイクルの上流側（化成品および製品製造等の動脈側）では、化成品の利用による化学リスクを最小限にするとともに、廃棄物の適正処理、循環利用を最適化するための化成品デザインのあり方が求められる。また、上流側では把握が困難で下流側（製品の使用・廃棄、リサイクル過程等の静脈側）でそのリスク性が認識される化学物質検出の事例が多くある。さらに下流側では、物質拡散・情報散逸が進むとともに、予想外のプロセス・場所における発生や集積などにより‘ホットスポット’が生じることも指摘されている。よって、製品のライフサイクルの静脈側における有害化学物質管理にむけた情報整理や実態把握、適正な処理技術等の確保と情報伝達の強化も必要となる。

本研究では、①製品に含まれる有機化学物質（臭素系難燃剤やリン系難燃剤）を対象に製品の静脈側ライフサイクルでリスク要因になり得る化成品・不純物（分解生成物、変換物を含む）の事例整理を行い、②化成品による化学リスクを最小限にし、廃棄物の適正処理、循環利用を最適化するための化成品のデザインのあり方や廃棄物処理・リサイクル過程での適切な技術開発のための科学的知見の収集を進めた。②については、化成品・不純物の存在性とハザードを網羅的に評価できる測定技術（一斉化学分析とバイオアッセイ）を導入してツールとして駆使し、POPsとして規制された臭素系難燃剤（POP-BFRs）やリン系代替難燃剤に着目した事例研究に取り組んだ。具体的には、人・生態曝露実態評価、*in vitro/in vivo*試験によるリン系代替難燃剤の毒性影響評価（バイオアッセイによる安全性評価と動物毒性・行動学的影響評価）、静脈側ライフサイクルにおける排出制御評価（熱・加水分解を通じた環境放散性評価と適正処理性の技術担保研究）を行なった。

ここでは、化成品や不純物に関連した廃棄物対策に関する展望として、先述の①と②について実施した研究で得られた結果から環境政策に活用できる知見や今後の課題等を取りまとめた。

2. 化成品関連の化学物質問題の事例整理と解析

2. 1. 化成品と不純物をめぐる課題

化成品由来化合物として、本研究でも主対象に据える化成品であるプラスチック樹脂や繊維製品中に使用される臭素系難燃剤の不純物としての臭素系ダイオキシン類や高分子系臭素系難燃剤に末端封止剤等として使用されている2,4,6-トリブロモフェノールに焦点を当てて、レビューやノート記事を執筆して掲載に至っており^{1,2)}、ここではこれらを化成品と不純物をめぐる課題の重要事例として報告する。

臭素系ダイオキシン類に関しては、環境省がダイオキシン類対策特別措置法の附則に基づいてこれまでに実施してきた臭素系ダイオキシン類に関する調査研究を総括、レビューするワークショップ（2012

年2月)での議論内容や課題についてとりまとめている。2,4,6-トリブロモフェノールは、室内汚染(室内空気、ハウスダスト)を介して比較的高いハザード(甲状腺ホルモン系のかく乱)を有することが分かっている留意すべき物質であるが^{3,4)}、高分子系化学物質に不純物として含有される際のリスク性をどのように考えるか、課題を整理したので報告する。

2. 1. 1. 臭素系ダイオキシン類

1990年代より、難燃剤成分そのものであるポリ臭素化ジフェニルエーテル類(PBDEs)を含む臭素系難燃剤の毒性影響と挙動に強い関心が集まり^{5,6)}、その後の十数年で非常に多くの知見が蓄積されてきた⁷⁻¹⁴⁾。臭素系難燃剤に関しては、2009年5月のストックホルム条約(POPs条約)締約国会議において、5臭素化ジフェニルエーテル製剤(厳密には、4臭素化と5臭素化体が対象物質)と8臭素化ジフェニルエーテル製剤(厳密には、6臭素化と7臭素化体が対象物質)が付属書A(製造・使用・輸出入を禁止する措置を取るべき物質としての掲載)に追加されている。また、2013年5月のPOPs条約締約国会議により、ヘキサブロモシクロデカン(HBCDs)についても附属書Aに追加されることが決定された。こういった難燃剤の国際規制をめぐる調査検討の中で、PBDEsの含有不純物としての臭素系ダイオキシン類¹⁵⁾、臭素系難燃剤の製品使用・循環・廃棄過程における変換産物としての臭素系ダイオキシン類¹⁶⁻¹⁹⁾についても継続的に注視がなされている。上記のように、環境汚染物質としての臭素系ダイオキシン類は臭素系難燃剤との関係を念頭に置く必要がある。

2012年2月に開催された環境省主催の「臭素系ダイオキシン類に係る総括ワークショップ」では、環境省がこれまで実施してきた臭素系ダイオキシン類の人の健康影響等に関する調査や施設等からの排出実態調査の成果が報告されるとともに、国内外の最近の研究成果が専門家から紹介され、臭素系ダイオキシン類に係る知見の現状を総括的にレビューし、今後の行政対応の方向性等について議論が行われた。環境省内で、人の健康影響に関する調査部局(環境保健部)と環境存在や発生源同定等に関する調査部局(水・大気環境局)が連携し、包括的な検討を進めるとともに、有識者の知見も取りまとめて、今後の行政対応を検討する上での調査課題を抽出することを目的として開催された。関係者から報告された話題のうち、臭素系難燃剤の製品使用・循環・廃棄過程に伴う臭素系ダイオキシン類の挙動に関する話題のタイトルとその概要を以下に取りまとめ、課題を整理した。

・臭素系ダイオキシンの人への健康影響に関する調査研究

臭素系ダイオキシン類の毒性、汚染実態、ヒトへの蓄積量についての報告がなされた。報告内容は主に2000~2007年(平成12~19年度)に行われた臭素系ダイオキシンの人への健康影響に関する調査研究報告²⁰⁾に関するものであり、国内の環境大気、ハウスダスト、降下ばいじん、水質、底質、水生生物、土壌、地下水、野生生物、食事試料、室内空気の各種媒体での測定結果が示された。臭素系ダイオキシン類(PBDD/DFs)のダイオキシン類(PCDD/DFs)に対する割合は、他の媒体よりもハウスダストにおいて高い傾向が示されている。また、PBDD/DFs異性体の検出感度が年々改善されていることも報告された。各種媒体濃度をもとに個人曝露量についても推計計算された。

・臭素系ダイオキシンの排出実態等調査

1998年から始まっている臭素系ダイオキシン排出実態調査(排出源調査、周辺環境調査)²¹⁾の結果概要が示された。本調査では、PBDD/DFsに加えて、塩素化・臭素化ダイオキシン類(PXDD/DFs)、PCDD/DFs、ダイオキシン様PCBを対象に調査が行われており、PBDD/DFsに関連して臭素の供給源となり得る物質であり、周辺環境中における施設からの排出との関連性を考察する上での指標物質として臭素系難燃剤も

併せて調査が行われている。この調査の過程では、PBDD/DFs の標準的な測定方法も作成されており、2007年には高臭素化体の分析方法も取り入れられて暫定調査方法が改定されている²²⁾。

調査対象は、PBDD/DFs や BFRs をめぐる製品ライフサイクル上の重要施設（難燃剤製造、難燃プラスチック製造、難燃繊維加工、プラスチック成形加工、セメント製造、下水汚泥焼却、家電リサイクル、廃棄物焼却等）が選定されている。調査媒体としては、施設からの排ガス、排水、作業環境、周辺環境が対象となっている。これまでの各施設からの PBDD/DFs の排出について、排出ガス及び排出水の濃度データ（検出された PBDD/DFs と同じ位置に塩素を有する PCDD/DFs の毒性等価係数を用いて毒性等量換算したもの）について図 1 に示す。

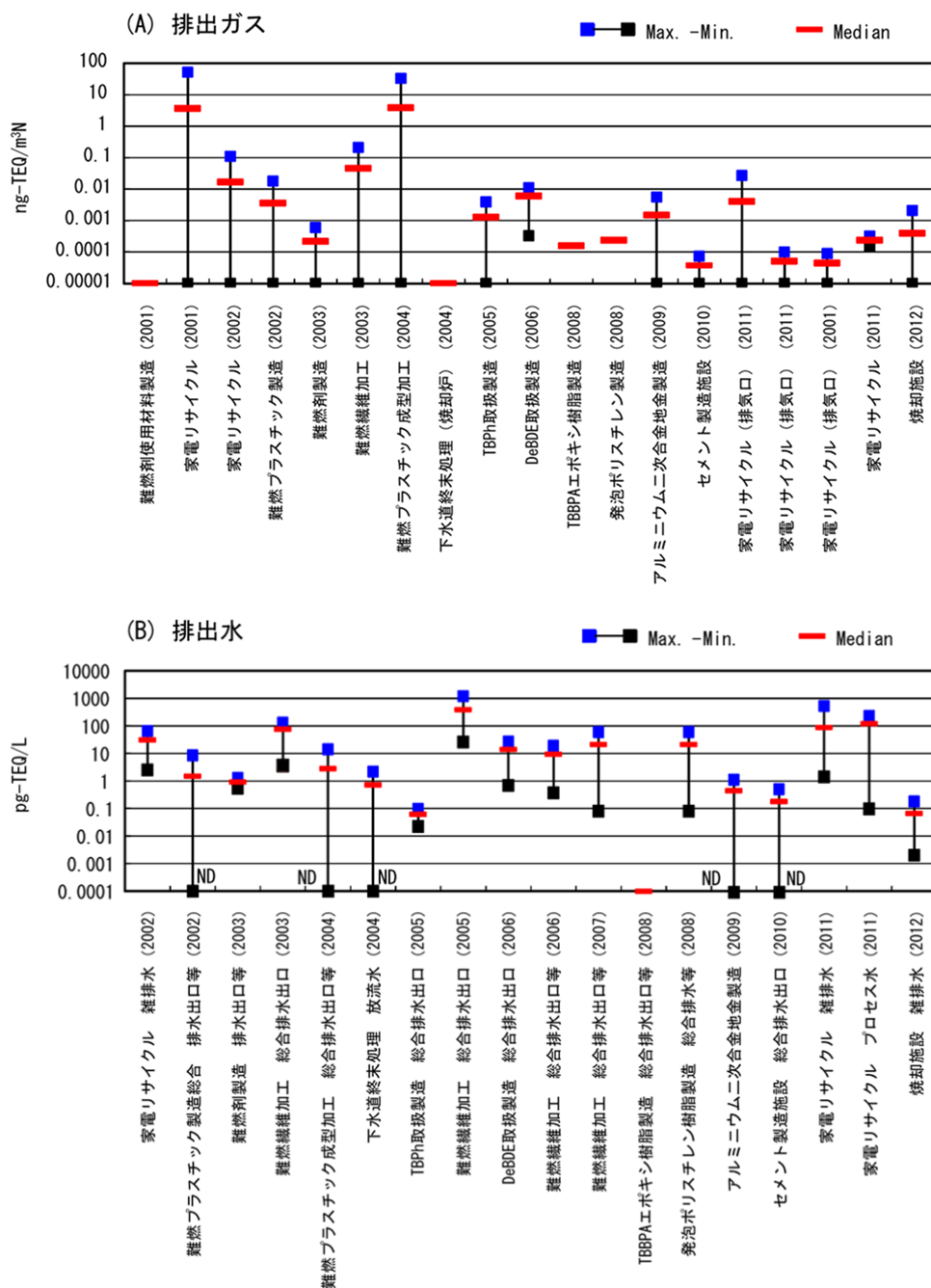


図 1 各種特定排出源の排出ガス及び排水中の PBDD/DFs レベル（毒性等量換算）¹⁾

排出実態調査の小括としては、全ての対象施設から、濃度の差異はあるが臭素系ダイオキシン類の排出が実測値として確認されている。検出濃度レベルには、施設の種類による差異、同一種の施設でも個別施設毎の差異が非常に大きい。同構造の塩素化体 PCDD/DFs と同様の毒性等価係数（重量ベース）を用いて評価すると、検出濃度は総じて低レベルの場合が多いが、排出水中の毒性等量値では、難燃繊維加工施設、難燃プラスチック成形加工施設等、一部施設の排水において塩素化ダイオキシン類の排出基準レベル（10 pg-TEQ/L）を超える濃度が相当数検出された。施設の周辺環境の水質も、難燃繊維加工施設等周辺で、環境基準値相当（1 pg-TEQ/L）を超過する事例があった。周辺環境大気は、検出濃度が低い場合が大半であるが、一部の施設周辺で、塩素化ダイオキシン類の環境基準値（0.6 pg-TEQ/m³）を超える大気濃度も検出されていた。

臭素系ダイオキシン類の高濃度排出事例でのデータ解析から、臭素系難燃剤（特に PBDEs）の排出との強い相関関係がみられ、臭素系ダイオキシン類の生起に PBDEs が深く関わっていることが示唆されている。臭素系難燃剤の規制強化が進む副次的効果として、環境中へ臭素系難燃剤そのもの、また、臭素源の供給が減少してゆくことにより、臭素系ダイオキシン類の発生や排出抑制にも正の効果があると考えられる旨についても報告された。

・臭素化ダイオキシン類による環境汚染の動向―東京湾の堆積物―

東京湾の堆積物試料を用いて地点ごとの PBDD/DFs と PBDEs の水平、鉛直分布の調査がなされており、湾奥部、表層部ほど高濃度であることが報告された²³⁾。よって、近年における汚染負荷の増大が示唆された。また、PBDFs と PBDEs の濃度に有意な正の相関が認められた。解析の結果、臭素系ダイオキシン類の中でも PBDFs はその大半が人為起源によることが示唆され、曝露評価やリスク評価は人為起源の PBDFs を優先的に行うべきであるとの考察がなされた。一方、PBDDs には、天然起源と考えられる 3～4 臭素化の同属体が多く含まれ、堆積物下層から表層にかけて濃度が低減した。このことは海域の PBDDs を産生する藻類等の生態系の変化と連動している可能性が示唆された。

・ベトナム e-waste リサイクル地域の汚染実態

ベトナム e-waste リサイクル地域におけるこれまでの調査成果が概観され、e-waste リサイクル地域のダストや母乳試料から対象地域に比べて高い濃度の PBDEs や PBDD/DFs を含むダイオキシン類縁化合物を検出している。e-waste の処理地域では、PBDEs に関して食品よりもダスト経由の摂取寄与が高いことが示唆されている。また、ダスト中のダイオキシン類縁化合物のなかでも PBDFs の濃度が最も高く、バイオアッセイで得られたダイオキシン様活性に占める寄与も高かった^{24,25)}。一方、ヒト母乳中では、ダスト中のダイオキシン類縁化合物中の組成に比べて、PBDD/DFs の占める割合が小さいことが示された。その要因として、食物経由による PBDD/DFs の取り込みが PCDD/DFs より少ないこと、PBDD/DFs のバイオアベイラビリティが低いこと、あるいは代謝排泄が速いことなどが可能性として指摘された。

・製品ライフサイクルにおける臭素化ダイオキシン類の挙動と制御

製品ライフサイクルのうち、特に静脈系での PBDD/DFs の挙動と制御に関する研究例として廃棄物焼却、溶融といった熱処理プロセス、廃棄物の破碎、圧縮プロセス、家電リサイクルプロセス（テレビ解体、破碎）でのケーススタディが示された。制御燃焼条件においては、PBDD/DFs は PCDD/DFs と異なり、著しい減少傾向を示すこと、また、破碎、圧縮、家電リサイクル時には PBDD/DFs はそのほとんどが粒子付着態として挙動し、粒子除去が排出低減の鍵となることが示された。その他、臭素系難燃剤含有製品からの PBDD/DFs のハウスダストへの排出は、ハウスダストの非意図的摂取を介した室内曝露につながる可能性があり、製品部材の剥離からハウスダストに PBDD/DFs が取り込まれる可能性が高いとする報告がな

された²⁶⁾。また、製品使用時に PBDEs が太陽光の照射を受けて PBDFs を生成する実験結果が報告された¹⁷⁾。

これまでの調査・研究の結果をみると、臭素系ダイオキシン類による環境汚染や発生源の状況については、一定程度の現象把握はできているといえるが、発生源からのより詳細な排出動態（とくに水系への移行プロセス）や人体曝露の状況、とくにダストを介した曝露とそのリスクについては、なお調査を充実することが必要である。現時点では、一般環境の汚染レベルや一般人に対する曝露・蓄積は比較的低いレベルにとどまっていると考えられるが、局所的な汚染や曝露、すなわちホットスポットの存在が懸念される。環境汚染等の状況についてよりの確な評価を行うためには、その基礎となる情報をなお充実させていく必要がある。特に、毒性等量の試算において基準値等を超える排出が認められる施設も確認されており、臭素系ダイオキシン類は、その物理化学特性等から汚染分布が局在化しやすいと考えられることから、潜在的な高曝露集団・地域に着目した、環境調査、曝露調査を充実していく意義は高く、その結果等を踏まえた情報発信が望まれる。難燃プラスチックや難燃性繊維の製造・加工工場や家電・e-waste 等のリサイクル処理施設ではとくに労働作業環境における曝露やハウスダスト・リサイクル製品を介した曝露について、今後、注視していくことが必要と考えられる。その際、ハウスダストによるリスクについては、臭素系ダイオキシン類に加えて、未同定の物質によるダイオキシン様活性が存在する可能性も考慮する必要がある^{3,25)}。また、臭素系ダイオキシン類の排出インベントリーについては、今後より確実なものにしていくことが必要と考えられる。とくに、過去に比較的高濃度の排出が測定された施設等については、今後優先的に調査すべきである。また、排出負荷の大きな水系排出源についても着目すべきである。さらに排出量等の調査の精度向上や検出下限に関わる課題の解決にも努めていくべきである。PBDFs の排出は、臭素系難燃剤 PBDEs の排出と密接にリンクしていると考えられる。今後 PBDEs を含むプラスチック・繊維製品等の廃棄やリサイクル処理が進むことで、臭素系ダイオキシン類の環境放出が継続・増加する可能性も否定できない。このため、将来的な社会変化の可能性等も念頭に置きつつ、難燃プラスチック・繊維製品の廃棄処分・リサイクル処理の適正化や下流側フローにおけるより精緻な情報把握などを含めた今後の臭素系難燃剤の使用動向調査や排出予測解析およびそれらにともなう臭素系ダイオキシン類の発生予測等についても、研究を進めるべきである。

2. 1. 2. 2,4,6-トリプロモフェノール

国立環境研究所では、様々な製品の使用・廃棄・リサイクルといったライフサイクルを通じて排出される難燃剤等化成品を含む化学物質の分析評価研究を実施してきた^{26,27-30)}。その一環として、難燃剤の室内曝露源としての重要度が高まっているハウスダスト（室内で採取した埃や塵）を対象とした研究も行っている。2005年に実施した研究では、日本国内の一般家庭やオフィス等で採取したハウスダスト中の PBDEs を測定し、その濃度レベルが欧州諸国などよりも高く、汚染度の高い北米に匹敵することを明らかにしている²⁷⁾。PBDEs が高濃度に検出される原因を追究した研究では、ハウスダストが製品時に放散・剥離などにより排出した難燃剤の吸着の場であることを示し、難燃剤を含む製品とハウスダスト中難燃剤の関連性を指摘した²⁶⁾。現行研究では、臭素系難燃剤やその潜在代替物だけでなく、その他のプラスチック樹脂添加剤についてもハウスダスト中濃度レベルを明らかにし、これらを含む製品の使用実態や使用時の曝露状況の把握、有害性情報の取得や類型評価等を行っている²⁸⁻³¹⁾。

ハウスダストに着目した研究は、個別の化学物質分析によるアプローチに加え、毒性影響指標（エンドポイント）に応じて化学物質リスク（ハザード×実測濃度）を包括的に検出し、関連化学物質の検索

同定を行う影響要因分析法を用いても展開している^{4,32)}。EUにおける臭素系難燃剤のリスク評価プロジェクト（FIRE 2006年6月終了）では、エンドポイントとして甲状腺ホルモン運搬タンパク（TTR）への競合結合活性が対象とされており、上記の研究においても一般家庭やオフィスから採取したハウスダスト中のフェノール系化合物を対象に同活性を評価するためのバイオアッセイ法を適用して包括影響分析を実施した³²⁾。結果として、2,4,6-トリブロモフェノール（TriBPh）は主要な関連物質のひとつとして同定された。ハウスダストを対象として定量分析を実施した結果、2,4,6-TriBPhは全てのダストで検出され（中央値：66 ng/g、範囲：16~620 ng/g、n=33）、一般家庭やオフィスに遍在することがわかった。家電製品の使用台数多く使用時間が長い家屋で採取したハウスダストについては、2,4,6-TriBPhの濃度が高くなっており、家電製品との関連性が示唆されている。一方、国内外で使用されている2,4,6-TriBPhは臭素系難燃剤のひとつとされているが^{33,34)}、難燃剤としての直接利用ではなく、その他臭素系難燃剤の末端封止（エンドキャップ）剤として利用されている可能性が高いと推察される³⁵⁾。

2,4,6-TriBPhは、その化学構造を考慮すると、臭素系難燃剤として使用されているFF-680（1,2-ビス（トリブロモフェノキシ）エタン³⁵⁾）、BC-58（末端封止型テトラブロモビスフェノールAカーボネートオリゴマー）及びF-3100（末端防止型臭素化エポキシレジン³⁵⁾）の合成原料やエンドキャップとして使用されている可能性が高い（図2）。しかしながら、このような臭素系難燃剤中の2,4,6-TriBPhの分析調査例はなく、これまでの知見からはこれらの臭素系難燃剤が2,4,6-TriBPhの発生源となり得るのか言及が出来なかった。そこで室内に遍在する2,4,6-TriBPhの発生源を推測するため、2,4,6-TriBPhを原料としている臭素系難燃剤を対象として、2,4,6-TriBPhの定量分析を実施して含有量の把握を行い、測定対象の臭素系難燃剤との関連性、環境排出ポテンシャルや製剤中の不純物問題に関して考察した。

調査対象とした臭素系難燃剤は、Webサイト上で販売されていたBTBPE（商品名FF-680）、TBBPAカーボネートオリゴマー（商品名BC-58）及び臭素化エポキシレジン（商品名F-3100）であり、これら3種類の臭素系難燃剤中の2,4,6-TriBPh含有量を調査した。2,4,6-TriBPh含有量は、BTBPEで520 ppm、TBBPAカーボネートオリゴマーで130 ppm、臭素化エポキシレジンで34 ppmであり、BTBPE>TBBPAカーボネートオリゴマー>臭素化エポキシレジンの濃度順位であった。

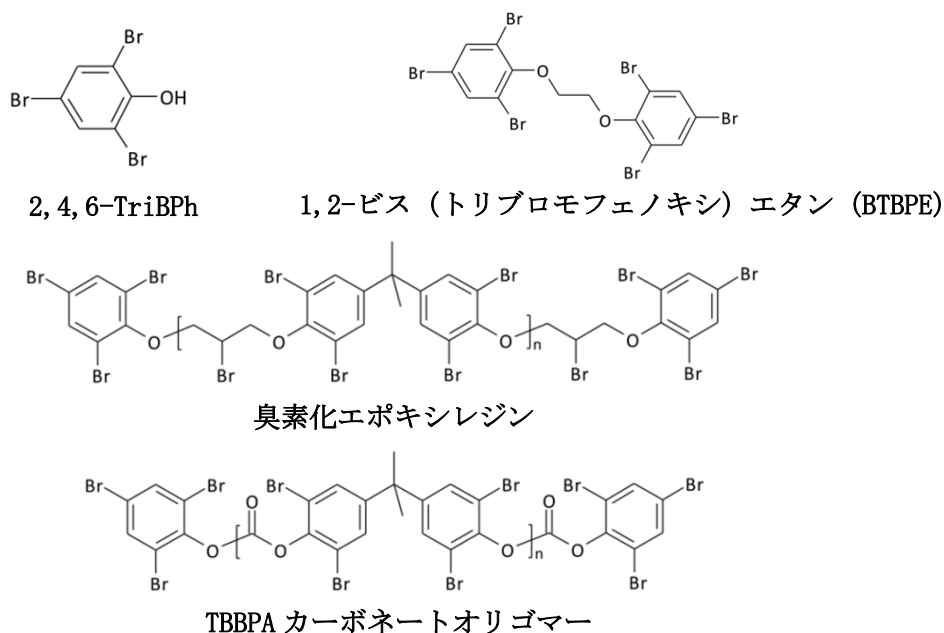


図2 調査対象の臭素系難燃剤と2,4,6-トリブロモフェノール（TriBPh）の構造

本研究では、エンドキャップ剤としてではなく原料として使用されている、2,4,6-TriBPhのダイマー（二量体）のBTBPEで2,4,6-TriBPhが最も高い濃度で検出された。また、エンドキャップ剤として使用されている臭素系難燃剤については、ポリマー体の臭素化エポキシレジンではなく、オリゴマー体のTBBPAカーボネートオリゴマーで2,4,6-TriBPh含有量が高かった。製品安全データシート或いはProducts & Propertiesによると、TBBPAカーボネートオリゴマーと臭素化エポキシレジンの分子量は、それぞれ3500³⁶⁾と15000³⁷⁾と記載されている。これに基づくと、1単位（例えば1 kg）当たりの臭素化エポキシレジンの分子数はTBBPAカーボネートオリゴマーよりも少なくなり、それに応じてエンドキャップ剤としての2,4,6-TriBPhの使用量も少ないことが考えられる。従って、エンドキャップ剤としての使用量の差が未反応物として検出された2,4,6-TriBPh含有量の差に表れていると推察される。本研究の分析事例は少ないものの、工業製剤の構造から含有される不純物の種類や量のある程度予測できることを示すかもしれない。

2,4,6-TriBPhは、測定対象の臭素系難燃剤に、4~5桁程度低い濃度で含まれていた。従って今回は、構成成分の主体である臭素系難燃剤に対して、不純物の2,4,6-TriBPhが1%以下で存在する事例である。人の健康及び生態系に影響を及ぼすおそれがある化学物質による環境汚染の防止を目的とする「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）では、その運用通知において、不純物を「目的とする成分以外の未反応原料、反応触媒、指示薬、非意図的な副生成物等」と定義されている³⁸⁾。定義の上では、本研究で対象とした2,4,6-TriBPhも不純物と類型できる。しかしながら、化審法における不純物は、含有量1%以上の成分が特定すべき対象となり、今回の2,4,6-TriBPhの事例のように含有割合が1%以下の不純物に関しては法制度の対象外となる。一方で本研究における上記の結果は、化成品中の含有量1%以下の不純物であっても2,4,6-TriBPhのように生活環境上のリスク要因となりうる事例があることを示唆している。

さらに、2,4,6-TriBPhおよび関連臭素系難燃剤成分の物理化学パラメーター（蒸気圧等）を考慮した場合、その環境排出ポテンシャルに大きな違いがあることも留意すべきである。2,4,6-TriBPhの蒸気圧は、実験値で $2.2\text{E-}04$ mmHg (25°C)³⁹⁾、米国EPAで開発されたEPI suite（化学物質の構造から各物質の物性値を予測・算出するモデル）の推算値で $3.0\text{E-}04$ mmHg (25°C)である。BTBPEの蒸気圧は、実験値で $1.7\text{E-}13$ mmHg (25°C)⁴⁰⁾、EPI suiteの推算値で $2.4\text{E-}10$ mmHg (25°C)であり、2,4,6-TriBPhよりも6~9桁程度低いことが示された。また、水溶解度に関しても、2,4,6-TriBPh（実測値：61.3 mg/L、EPI suite 推算値： $7.79\text{E-}2$ mg/L）とBTBPE（EPI suite 推算値： $6.55\text{E-}7$ mg/L）⁴⁰⁾を比較すると、大きな違いがある。このような物理化学的特性の違いを考慮すると、環境排出量については、含有量が4桁程度高いBTBPEよりも2,4,6-TriBPhで高くなることが推察される。TBBPAカーボネートオリゴマー及び臭素化エポキシレジンは、実験値やEPI suiteによる推算は出来なかったが、それぞれオリゴマー及びポリマーであるため（図2）、BTBPEよりもさらに蒸気圧や水溶解度が低いことが予想される。従って、TBBPAカーボネートオリゴマー及び臭素化エポキシレジンについても、環境排出量は構成主体の臭素系難燃剤より不純物の2,4,6-TriBPhが高いと推察される。すなわち、化成品中の不純物については、その含有量の多寡だけでなく、物理化学的パラメーターを考慮した環境排出ポテンシャルの推定が必要であり、またその解析結果に基づいて生態系や人への曝露リスクを導出する予測手法の確立が必要と思われる。

さらに上記のような考察・提案の妥当性を示す調査結果として、一般家庭 2 世帯の室内空気とハウスダストを対象として 2, 4, 6-TriBPh、PBDEs、HBCDs 及び TBBPA 等の臭素系難燃剤を分析評価した既往研究の成果を紹介する⁴¹⁾。当該研究では、ハウスダスト中で 2, 4, 6-TriBPh の濃度が測定対象物質中最も低値であったのに対し、室内空気中では最も高値であることを見出している。この結果は、蒸気圧の差（ペンタ BDE : 1.1E-06 mmHg (25°C)、デカ BDE : 4.7E-12 mmHg (25°C)、HBCD : 1.7E-08 mmHg (25°C)、TBBPA : 1.5E-09 mmHg (25°C) [EPI suite 推算値]) を反映しているものと考えられ、蒸気圧の高い化学物質の環境排出ポテンシャルの高さを示している事例といえる。本研究で対象とした臭素系難燃剤のうち、BTBPE については、一般家庭や e-waste リサイクル施設の作業環境から採取したハウスダスト⁴²⁻⁴⁵⁾や室内空気⁴⁶⁻⁴⁷⁾での検出事例が海外で多数報告されている。BTBPE だけでなく 2, 4, 6-TriBPh も測定している事例はないが、本研究の結果から 2, 4, 6-TriBPh も同様に存在することが予想され、製品安全データシートに記載されていない化学物質による環境中拡散の一例になるとと思われる。

難燃剤等の工業製剤合成における未反応物に関する情報は、含有量が重量ベースで 1% 以下の場合、製品安全シート等にその具体を記載されることがない。しかしながら、2, 4, 6-TriBPh のように蒸気圧や水溶解度が高く環境放出性の高い化学物質については、使用時や廃棄時における環境や人への曝露制御対策を実施する観点から、潜在不純物として製剤中に存在する可能性や、その環境放出性等の情報（例えば、構成主体と未反応物の蒸気圧・水溶解度などの物理化学的パラメーター）を記載することが望ましい。

3. 臭素系難燃剤及びリン系代替難燃剤を対象とした化成品・不純物を巡る研究事例と展望

3. 1. はじめに

難燃剤は、テレビやパソコン、繊維製品など室内で使用する様々な製品に含まれている。先述の通り、一部の PBDEs や HBCDs は、POPs 条約に追加され、原則として使用・製造が禁止された（建築用のビーズ法発泡ポリスチレン及び押出發泡ポリスチレンに難燃剤として用いる HBCDs の製造及び使用を適用除外）。従って、その代替難燃剤については、使用量が増加していると予測されるため、環境中での残留レベル、生態系での生物蓄積レベル、生態系やヒトへの有害性などの把握を目的とした研究・調査の実施が求められている。代替難燃剤としては、PBDEs や HBCDs 以外の臭素系難燃剤、リンや窒素、塩素を含む非臭素系難燃剤、金属水酸化物やアンチモン系などの無機難燃剤など、多種多様な難燃剤が候補として挙げられる。これら難燃剤は、物質特有の性質に応じて組み合わせや使用される製品が異なる。PBDEs 等の臭素系難燃剤と三酸化アンチモンの組み合わせは、難燃効果が高く、幅広い製品に使用されてきた。今後は、先述の規制の影響を受けて、この組み合わせが変わってくるのが推測される。事実、代替難燃剤と想定されるリン系難燃剤は、ハウスダスト中で PBDEs や HBCDs よりも高濃度で検出されており^{41, 48)}、国内で実施された最近の調査においても同様の結果が得られている⁴⁹⁾。これは、製品に使用されている難燃剤の組成を反映していると考えられ、リン系難燃剤に着目した人・生態曝露実態評価、バイオアッセイによる安全性評価、動物毒性・行動学的影響評価、熱・加水分解を通じた環境放散性評価の動機付けとなっている。また、POPs 条約で規制された臭素系難燃剤 HBCDs については、含有製品が廃棄フェーズに入ってくるため、適切な処理処分を実施していく必要がある。

3. 2. 臭素系・リン系難燃剤のヒト・生態曝露の実態評価の概要と展望

近年、残留性・高濃縮性の有害物質に対する規制の強化が進むにつれて、化成品等に利用される化合物は比較的濃縮性が低く、易分解性の物質が増えている。PBDEs の DecaBDE 製剤に含まれる高臭素化の PBDE 同族体 (Nona~DecaBDEs) や代替難燃剤である DBDPE は、他の PBDE 同族体より分子サイズが大きく、その生物濃縮性は低いと考えられているが、分析法上の難点から、生態曝露に関する情報は極めて断片的であった。本研究では、負化学イオン化法 (NCI) と呼ばれるハロゲン化合物に高感度な質量分析手法を、生体試料を対象とした GC-MS 測定に適用することで、野生鳥類における PBDEs および代替臭素系難燃剤 (NBFRs) の曝露実態を、経年的な汚染や蓄積プロファイルの変化とあわせて解析した。その結果、雑食性で人間活動に隣接した生息域を持つハシボソガラスでは、PBDEs の中でも DecaBDE 製剤由来と考えられる Nona~DecaBDE 同族体を高濃度蓄積していることやそれら同族体濃度が経年的に上昇傾向にあることが明らかとなった。すなわち、PBDEs の生態曝露に関しては、Penta/OctaBDE 製剤等の使用規制の効果は見られるものの、DecaBDE 製剤由来の環境負荷は継続しており、とくに人間活動の影響を受けやすい野生生物種でその曝露が顕在化していることが示唆された。さらに本研究により、日本の野生鳥類から初めて BTBPE や DBDPE が検出され、NBFRs による生態曝露の一端が明らかとなった。BTBPE や DBDPE の濃度レベルは、概して PBDEs に比べ低値ではあるものの、ハシボソガラスの結果から DBDPE の濃度上昇が示唆された。よって、今後も代替難燃剤の利用拡大に伴う生態曝露の動向や潜在的リスクについて継続的な調査や評価が必要である。

また、難燃剤の総需要に着目すると、国内外ともに BFRs 含むハロゲン系難燃剤の利用が漸減していくなかで、リン酸エステル系難燃剤 (PFRs) の需要が増加している。しかしながら、PFRs は熱分解性や極性の物質が多く含まれることから、従来の分析法では包括的な曝露評価が困難であった。そこで本研究では生物試料に最適な抽出・精製法を検証するとともに、超高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析装置 (UHPLC-MS/MS) を用いて、微量の PFRs を一斉分析する手法を確立した。当該手法を活用して、愛媛大学の生物環境試料バンク (es-BANK) に冷凍保管されていた日本を含むアジア諸国で採取した魚類試料およびヒトの母乳試料を対象として、PFRs による汚染実態および蓄積特性の一端を明らかにした。本研究によって魚類やヒト母乳に蓄積している代表的な PFRs の特定がなされ、その生物蓄積性に関する基礎情報を得た。魚類における蓄積性の評価から TPhP が食物連鎖により濃縮する可能性が示唆された。また、ヒト母乳には、ハウスダストや家庭用製品で検出される PFRs が蓄積しており、難燃剤等化成品の使用実態や室内環境における曝露状況等との関連性が示唆された。母乳摂取による乳幼児の健康リスク評価では、TBOEP・TDC1PP (日本) や TCEP (フィリピン) による曝露リスクが示唆された。さらに既報のアジア人の母乳を対象とした BFRs の調査結果と比較したところ、PFRs による母乳汚染や曝露リスクは、アジアの都市住民において BFRs よりも顕著となっていることが示された。

本研究の成果は、今後行政機関等が POP-BFRs の代替物質の環境モニタリングやリスク評価を実施する際の物質選定、プライオリティーリスト作成などにおいて有益な情報を提供するものと考えられる。さらに、フィリピンなどアジア途上国における PFRs の広範な利用と汚染拡大を示唆したことも、今後の国際的な資源循環・環境政策の推進において世界に先駆けた貴重なモニタリング成果として活用できる。本研究で開発した手法は、GC-qMS (NIC) や UHPLC-MS/MS の混合物に対する高い分離能や選択性を活用したもので、BFRs や PFRs の一斉分析のみならず、今後広く生体試料中の化成品由来化合物の微量分析/一斉分析ツールとして応用が可能である。具体的には、新規代替難燃剤や紫外線安定剤、殺菌剤、保存剤など、近年その人や生態リスクが懸念されている化成品由来の化合物について、今後、環境行政による広域モニタリング等を実施する際に重要な技術情報やノウハウを提供できる見込みである。

3. 3. *In vitro/in vivo* 試験によるリン系代替難燃剤の安全性／毒性影響評価の概要と展望

化学分析と並行してハザード・リスク事象（毒性影響）を探索する強力なツールがバイオアッセイ（*in vitro* 試験）と動物試験（*in vivo* 試験）である。バイオアッセイとしては遺伝子組み換え細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイにより内分泌かく乱性を検出する核内受容体結合アッセイを活用して対象物質（特に臭素系難燃剤の代替であるリン系難燃剤）のスクリーニングを行い、ハザードの高い化学物質に関して慢性毒性を評価する動物実験までを一貫して進めている。*In vitro* でのスクリーニングと *in vivo* での毒性評価によってリスク評価指標値（無毒性量（NOAEL）やベンチマークドーズ（BMD）等）を得るアプローチは、*in vitro/in vivo* 試験法の有用性の認識を深め、生産量や曝露量ではなく毒性の面から問題性のある化学物質を優先的に選定して評価することが可能となる。化成品を対象として事例を積み上げていき、リスクコミュニケーションの基礎として、産業界等との対話を継続していく。

バイオアッセイは、化学分析の代替法としての役割のみならず、化学物質のハザードをスクリーニングする上での有望な技術的ツールとして、EUにおいて内分泌かく乱性評価の分野で動物実験代替としての試験法標準化が進められている。その代表的なアッセイであるレポーター遺伝子アッセイ（CALUX アッセイ）を用いてアンドロゲン受容体（AR）、エストロゲン受容体（ER）、プロゲステロン受容体（PR）、グルココルチコイド受容体（GR）、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体（PPAR）といった各種核内受容体への結合能を評価して対象化学物質や試料のハザード評価の類型化を行っている³¹⁾。例えば、化成品使用製品の使用実態の影響を大きく反映するハウスダストが有するハザード（エストロゲン性と抗アンドロゲン性等）にはハウスダストで高い濃度で検出されるモノマー型リン系難燃剤の TPHP や TDCIPP が関連していると解析されたため、本研究で実施した次段階の動物試験にこれらの物質を適用している。動物試験では、抗アンドロゲン剤（陽性対象）を幼若期と成熟期に同じ期間、類似の濃度で曝露した結果、幼若期曝露では性行動を抑制する一方、成熟期曝露ではそのような影響が生じないことを示した。従って、抗アンドロゲン作用を有する化学物質のリスク評価や規制等を検討する場合、幼若期曝露をより重視すべきであると考えられた。また、今回実施した動物試験では、性行動への影響と並行して臓器重量や血中ステロイドホルモン濃度などへの影響について検討した。その結果、性行動と最も近い変化を示したのは生殖器のひとつである陰茎であった。従って、げっ歯類の臓器重量を指標に生殖行動を検討する場合は、陰茎重量あるいは陰茎長を項目に加えることが望ましいと考えられた。また、今回の TPHP と TDCIPP 曝露の陰茎など臓器への影響は、曝露直後の幼若期の解剖では不明瞭であり、成熟期の臓器重量でのみ検出されていることから、抗アンドロゲン作用の表れる最少濃度付近で影響を検出するためには、幼若期曝露の後、成熟期に臓器重量あるいは行動試験のいずれかを行う必要があることが示された。本研究の試験法を TPHP と TDCIPP に適用した結果、高濃度曝露群で抗アンドロゲン作用が検出されており（表 1）、*in vitro/in vivo*（スクリーニング／毒性確定）試験による毒性影響評価の有効性と妥当性が示されている。*In vitro/in vivo* 試験による総合的なアプローチは、膨大な数の化学物質を対象とする環境省の化学物質審査関係の試験にも活用可能と考えられる。将来的には、適切な評価指標を検出する *in vitro/in vivo* 試験の組み合わせを標準化していくことが望ましい。

表1 TDCIPP 或いは Flutamide の亜慢性曝露後 19 週齢（成熟期）の各臓器重量

	コントロール (0i1)	(n)	LTD	(n)	HTD	(n)	F1	(n)
体重(g)	583.16 ± 7.77	16	569.740 ± 8.090	16	622.810 ± 11.490	13	579.980 ± 9.850	16
下垂体/体重(%)	0.0004 ± 0.001	15	0.003 ± 0.001	15	0.003 ± 0.001	13	0.003 ± 0.003	15
肝臓/体重(%)	3.740 ± 0.082	15	3.3630 ± 0.066	16	3.850 ± 0.066	13	3.930 ± 0.089	16
腎臓/体重(%)	0.725 ± 0.012	16	0.729 ± 0.021	16	0.674 ± 0.014	13	0.736 ± 0.011	15
副腎/体重(%)	0.011 ± 0.001	16	0.010 ± 0.001	16	0.009 ± 0.001	13	0.011 ± 0.001	16
精巣/体重(%)	0.545 ± 0.008	16	0.575 ± 0.011	16	0.503 ± 0.009*	13	0.549 ± 0.010	16
精巣上体/体重(%)	0.238 ± 0.003	16	0.238 ± 0.004	16	0.219 ± 0.005*	13	0.225 ± 0.005	16
凝固線/体重(%)	0.046 ± 0.002	16	0.047 ± 0.002	16	0.042 ± 0.002	13	0.035 ± 0.002*	16
精囊/体重(%)	0.467 ± 0.017	16	0.482 ± 0.015	16	0.416 ± 0.019	13	0.381 ± 0.013*	16
前立腺/体重(%)	0.227 ± 0.009	16	0.229 ± 0.009	16	0.175 ± 0.012*	13	0.198 ± 0.015	16
陰茎重量/体重(%)	0.112 ± 0.003	16	0.115 ± 0.002	15	0.102 ± 0.002*	13	0.088 ± 0.003*	161
球海綿体筋/体重(%)	0.148 ± 0.005	16	0.152 ± 0.004	15	0.132 ± 0.005	13	0.123 ± 0.006*	16
陰茎短/体重(%)	9.015 ± 0.730	15	8.456 ± 0.219	16	7.987 ± 0.152	12	6.433 ± 0.430*	16
陰茎長/体重(%)	17.569 ± 0.612	15	18.213 ± 0.397	16	17.024 ± 0.351	12	13.003 ± 0.851*	16

*P<0.01, LTD: TDCIPP (25mg/kg/day), HTD: TDCIPP (250mg/kg/day), F1: Flutamide (2.5mg/kg/day)

また本研究では、リン系代替難燃剤の主流と考えられている縮合型（オリゴマー及びモノマー型）リン系難燃剤のうち、1,3-フェニレンビス（ジフェニルホスフェート）（製品名：CR-733S）、ビスフェノールAビス（ジフェニルホスフェート）（製品名：CR-741）、1,3-フェニレンビスジ[2,6-ジメチルフェニル]ホスフェート（製品名：PX-200）、ジエチレングリコールビス[ジ(2-クロロイソプロピル)ホスフェート（製品名：CR-504L）]についてバイオアッセイによるハザードスクリーニングを行い（第3章 図1）、検出されたハザード（エストロゲン性）についてセミマイクロHPLC法とLC-QTOFによるノンターゲット一斉分析法によって寄与物質の単離と精密質量数による物質推定を行った。いずれの製剤についても、主要構成物質である縮合型リン系難燃剤のハザード寄与が低いことが分かった。物質同定を行ないin vivo試験によって慢性的な毒性影響を確定する必要があるが、縮合型リン系難燃剤については、縮合型にすることによって、環境放散性が低くなるだけでなく、生物利用能も低くなり毒性発現能も低下することが推察された。これは、オリゴマーやポリマー化といった縮合体化が環境負荷低減化や安全性確保の観点から、化成品の適切なデザインとなり得ることを示唆する。一方で、縮合型リン系難燃剤中の不純物がハザードに寄与していることが示された。これは、先述したように、製品安全データシート等に記載されていない含有不純物による環境中拡散や毒性等リスク性が、POP-BFRsの代替難燃剤のひとつ、縮合型リン系難燃剤でも同様にみられることを示している。縮合体化という化成品デザインについても、その製造プロセスで生じる未反応原料や非意図的生成物のリスク性を考えていく必要がある。縮合型リン系代替難燃剤については、今後使用量が増えていく可能性が高く、含有製品の使用、廃棄物処理、リサイクル過程の静脈側ライフサイクルにおける未反応原料や分解物等の非意図的生成物の挙動把握とリスク制御が重要な課題である。

3. 4. 静脈側ライフサイクルにおける排出制御評価の概要と展望

静脈側ライフサイクルにおける化成品由来化学物質の循環利用に伴うリスクを低減するために、重要な循環利用法である廃プラスチックを主原料とする固化燃料 (RPF) の製造工程に着目して、化学物質の LC-QTOF によるノンターゲット分析を適用し製造プロセスから生じる化成品やその分解生成物等の挙動を評価した。原料廃プラスチックに縮合リン酸エステル類難燃剤 (PBDPP、BPA-BDPP、PBDXP (第 3 章図 1)) が混入すると、RPF 造粒時の加熱とその後の水冷時に加水分解が起こり、有害な揮発性有機化合物であるフェノール類が生成することが確認された。なかでも PBDPP および BPA-BDPP においては生成量が非混入時と比較して 1 オーダー上昇することを確認した。一方で PBDPP と類似の構造を有する PBDXP における 2,6-ジメチルフェノール生成量は PBDPP におけるフェノール生成量と比較して 1 オーダー低く、化成品の化学構造の最適化によって加水分解に起因するリスクを制御できる可能性が示唆されており、フェノール骨格を有する化成品 (対象とした縮合型リン系難燃剤等) を含むプラスチックの RPF への使用を避けることと合わせて、化成品の化学構造の改善が望まれる。一方で既にこれらの化成品が使用されている製品については、RPF 造粒後の冷却時に水冷を行わないか、冷却工程を密閉系で行い、冷却水についても十分な水処理を行うといった対応が考えられる。また最も加水分解性の高かった PBDPP 製剤においても最終的な加水分解生成物であるフェノールの生成量は製剤主成分である二量体の分解量から予測される値の 8.8~35%、レゾルシノールにおいては 0.7%にとどまった。したがって分解生成物の大半は製剤からフェノールが部分的に脱離した化合物や、架橋構造が開裂した化合物などの中間生成物であり、今後、個別の加水分解中間生成物の定量的評価や生態リスク評価が必要と考えられる。なお、RPF 製造工程において生成したフェノールの全てが揮発するわけではなく、かつ RPF が燃料として使用される際には容易に燃焼すると考えられ、生成したフェノール全てが問題となりうるわけではない。しかしながら、フェノールは非常に揮発性の高い物質であり、作業環境や大気に放出され易いことや、水溶性が高く冷却水に容易に排出されると考えられ、水生生物保全環境基準の要監視項目や大気汚染防止法における特定物質に挙げられる物質である。以上のような観点から RPF 製造工程におけるフェノールの生成と排出は抑制されることが望ましいと考えられる。本研究において得られた RPF への 1 wt.% の縮合型リン系難燃剤の混入によって、RPF 製造時のフェノール生成量が 1 オーダー増加するという知見は、今後 RPF 原料として使用される原料廃プラスチックに要求される品質や、RPF 製造プロセスの改善において検討の意義を有する知見である。フェノールに限らず種々の樹脂や添加剤から多種多様な分解産物が生じるものと考えられ、リスクの軽重について判断をする必要がある。POP-BFRs の代替難燃剤についていえば、高分子化する傾向にあり、静脈系における分解生成物のリスクについて、“3. 3. *In vitro/in vivo* 試験によるリン系代替難燃剤の安全性/毒性影響評価の概要と展望” で得られた知見も加味して、その制御の必要性を検討する必要がある。

平成 25 年 5 月のストックホルム条約締約国会議により、HBCDs は、附属書 A (廃絶) に追加されることが決定された。HBCDs はビーズ法発泡ポリスチレン (EPS) と押出ポリスチレン (XPS) に難燃剤として使用されており、将来的に (現行においても) EPS、XPS が廃棄物となった際には適正な処理が求められる。本研究では、HBCD を含有する EPS 及び XPS をそれぞれ混合した模擬廃棄物を、(独) 国立環境研究所熱処理プラント (パイロットスケールの実験炉) においてダイオキシン類の排出削減対策がなされた条件で焼却し、焼却過程における HBCDs 等の挙動を確認した。得られた結果として、EPS 添加実験時及び XPS 添加実験時のいずれの実験時においても、投入した HBCDs の分解率は 99.9999% (6 ナイン) 以上を達成していた。環境排出ガス及び灰中の HBCD 濃度は、EPS 添加実験時及び XPS 添加実験時のい

れの実験においてもブランク実験時と同程度であった（表2）。また、副生成される臭素系ダイオキシン類や臭化水素／臭素の発生抑制も十分になされていた。今後の HBCDs の廃棄物としての排出を考えた場合、その分解破壊処理に廃棄物焼却施設を活用してゆくことが不可欠であると考えられ、実機による実証試験の前段試験としてその適正処理性を示せたことは意義があると考えられる。

表2 HBCDs の環境排出ガス濃度と環境大気中レベルの比較

本実験における環境排出ガス中の HBCD 濃度 (ng/m ³ _N)			
	ブランク実験	EPS 添加実験	XPS 添加実験
BF 出口排出ガス	0.5	0.5	0.5
最終出口排ガス	0.5	0.4	0.3

環境大気との比較			
採取場所	焼却炉	樹脂形成加工工場	下水道終末処理場
媒体	環境排出ガス	環境大気 ⁵¹⁾	環境大気 ⁵¹⁾
平均 (ng/m ³)	0.5*	0.44	0.65
濃度幅 (ng/m ³)	0.4~0.7*	<0.005~5.1	<0.005~3.4
検出頻度	6/6	9/12	5/6

* 20°C、101.32kPa における濃度に換算

4. 結論

本研究では、①製品に含まれる化成品を対象に製品の静脈側ライフサイクルでリスク要因になり得る不純物問題の事例についてとりまとめ、②化成品による化学リスクを最小限にし、廃棄物の適正処理、循環利用を最適に進めるための化成品のデザインのあり方や廃棄物処理・リサイクル過程での適切なリスク制御のための科学的知見の収集を進めた。

①では、化成品として臭素系難燃剤を取り上げ、非意図的生成物としての臭素系ダイオキシン類、合成未反応物の 2,4,6-TriBPh に関する不純物問題を紹介した。臭素系ダイオキシン類は、PBDEs に含まれる不純物であり、PBDE 製剤中に数十 ppm 程度と低い濃度で含まれている¹⁵⁾。しかし、臭素系ダイオキシン類の毒性は塩素化ダイオキシン類と同程度とされており⁵⁰⁾、毒性等量を試算すると一定レベルの環境排出が認められる施設が確認されている。また、2,4,6-TriBPh については、2,4,6-TriBPh を末端防止剤として使用している臭素系難燃剤（図2）に未反応物として数十～数百 ppm 程度で含まれている²⁾。2,4,6-TriBPh の蒸気圧は構成主体の臭素系難燃剤と比較して 6 桁程度以上高く、環境放散性は含有濃度を考慮しても 2,4,6-TriBPh の方が高い。含有濃度が低い不純物であっても、ハザードが強い或いは蒸気圧が高い場合には、そのリスク性を認識する必要がある。

②では、臭素系難燃剤やリン系代替難燃剤を対象として、人・生態曝露実態評価、in vitro/in vivo 試験による毒性影響評価、静脈側ライフサイクルにおける排出制御評価を行ない、これらのリスク性や制御方策に資する知見を紹介した。人・生態曝露実態評価では、人母乳や魚類に蓄積している代表的なリン系難燃剤の特定がなされ、その生物蓄積性に関する基礎情報を得た。特に人母乳評価では、ハウスダストや家庭用製品等で高頻度・高濃度で検出されるリン系難燃剤（TnBP や TPhP）が蓄積しており、難

燃剤等化成品の人への曝露と含有製品の室内での使用状況の関連性が確認された。毒性影響評価では、化成品使用製品の使用実態の影響を大きく反映するハウスダストが有するハザード（抗アンドロゲン性等）情報に基づき、抗アンドロゲン作用を検出する *In vitro/in vivo* 試験法を開発し、ハウスダスト中に高い濃度で検出されるリン系難燃剤の TPHP や TDCIPP の抗アンドロゲン作用を検出した。また、バイオアッセイ/セミマイクロ HPLC/LC-QTOF を用いて縮合型リン系難燃剤のハザード（エストロゲン性）に関する物質について評価したところ、構成主体の縮合型リン系難燃剤のハザード寄与は低いことが示され、縮合体化が毒性を下げる化成品デザインであると考えられた。一方、含有不純物がハザードに寄与していることが示され、その環境中拡散や毒性等リスク性の評価が今後の課題と考えられた。廃プラスチックを主原料とする固形化燃料（RPF）の製造プロセスから生じる分解生成物等の挙動を評価し、縮合型リン系難燃剤については RPF 造粒時の加熱とその後の水冷時に加水分解が起こり、有害な揮発性有機化合物であるフェノールの生成量が非混入時と比較して1オーダー上昇することを確認した。静脈側ライフサイクルにおける化成品由来化学物質の排出についても、構成主体の化成品だけでなく分解生成物に注視する必要がある。POPs として規制された HBCDs を含む廃棄物については、ダイオキシン類排出削減対策を講じている焼却施設での制御燃焼で適正処理できることが示された。

5. 参考文献

- 1) 酒井伸一、滝上英孝：臭素系ダイオキシン類の発生と制御に関する現状と展望, 環境化学, 23, 129-135 (2013)
- 2) 鈴木 剛、滝上英孝, 渡部真文, 酒井伸一：臭素系難燃剤に含まれる不純物としての 2,4,6-トリブロモフェノールの同定, 環境化学, 23, 123-127 (2013)
- 3) Suzuki, G., Takigami, H., Nose, K., Takahashi, S., Asari, M., Sakai, S.: Dioxin-like and transthyretin-binding compounds in indoor dusts collected from Japan: average daily dose and possible implications for children. *Environ Sci Technol.*, 41, 1487-1493.
- 4) Suzuki, G., Takigami, H., Watanabe, M., Takahashi, S., Nose, K., Asari, M., Sakai, S.: Identification of brominated and chlorinated phenols as potential thyroid-disrupting compounds in indoor dusts. *Environ Sci Technol.* 42, 1794-17800.
- 5) 立川 涼、渡辺 功：有機臭素系難燃剤の環境問題, 公害と対策, 26, 34-48 (1990)
- 6) Pijnenburg, A.M., Everts, J.W., de Boer, J. and Boon J.P.: Polybrominated biphenyl and diphenylether flame retardants: analysis, toxicity, and environmental occurrence. *Rev Environ Contam Toxicol.*, 141, 1-26 (1995)
- 7) 酒井伸一：有機臭素系のダイオキシン類縁化合物—難燃材料における存在と制御方策を中心に—, 廃棄物学会誌, 11, 210-222 (2000)
- 8) Watanabe, I. and Sakai, S.: Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environ Int.*, 29, 665-682 (2003)
- 9) Alae, M., Arias, P., Sjödin, A. and Bergman, A.: An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ Int.* 29, 683-689 (2003)
- 10) de Wit, C.A.: An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere.*

- 46, 583-624 (2002)
- 11) Law, R. J., Allchin, C. R., de Boer, J., Covaci, A., Herzke, D., Lepom, P., Morris, S., Tronczynski, J. and de Wit, C. A.: Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment. *Chemosphere*, 64, 187-208 (2006)
 - 12) Tanabe, S., Ramu, K., Isobe, T. and Takahashi, S.: Brominated flame retardants in the environment of Asia-Pacific: an overview of spatial and temporal trends. *J Environ Monit.*, 10, 188-197 (2008)
 - 13) Frederiksen, M., Vorkamp, K., Thomsen, M. and Knudsen, L. E.: Human internal and external exposure to PBDEs—a review of levels and sources. *Int J Hyg Environ Health.*, 212, 109-134 (2009)
 - 14) Birnbaum, L. S. and Bergman, A.: Brominated and chlorinated flame retardants: the San Antonio Statement. *Environ Health Perspect.*, 118, A514-A515 (2010)
 - 15) Hanari, N., Kannan, K., Miyake, Y., Okazawa, T., Kodavanti, P. R., Aldous, K. M. and Yamashita N.: Occurrence of polybrominated biphenyls, polybrominated dibenzo-p-dioxins, and polybrominated dibenzofurans as impurities in commercial polybrominated diphenyl ether mixtures. *Environ Sci Technol.*, 40, 4400-4405 (2006)
 - 16) Watanabe, I. and Tatsukawa, R.: Formation of brominated dibenzofurans from the photolysis of flame retardant decabromobiphenyl ether in hexane solution by UV and sun light. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 39, 953-959 (1987)
 - 17) Ebert, J. and Bahadir, M.: Formation of PBDD/F from flame-retarded plastic materials under thermal stress. *Environ Int.*, 29, 711-716 (2003)
 - 18) Weber, R. and Kuch, B.: Relevance of BFRs and thermal conditions on the formation pathways of brominated and brominated-chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans. *Environ Int.*, 29, 699-710 (2003)
 - 19) Kajiwar, N., Noma, Y. and Takigami H.: Photolysis studies of technical decabromodiphenyl ether (DecaBDE) and ethane (DeBDethane) in plastics under natural sunlight. *Environ Sci Technol.* 42, 4404-4409 (2008)
 - 20) 環境省環境保健部：平成 19 年度臭素系ダイオキシンの人への健康影響に関する調査研究報告等，
<http://www.env.go.jp/chemi/hokokusho.html> (平成 25 年 9 月 1 日確認)
 - 21) 環境省水・大気環境局総務課ダイオキシン対策室：臭素系ダイオキシン類に関する調査結果，
<http://www.env.go.jp/chemi/dioxin/chosa/shuki.html> (平成 25 年 9 月 1 日確認)
 - 22) 環境省水・大気環境局 総務課ダイオキシン対策室：ポリブロモジベンゾ-パラ-ジオキシン及びポリ
ブロモジベンゾフランの暫定調査方法 平成 19 年 3 月改訂，
<http://www.env.go.jp/air/report/h14-03/index.html> (平成 25 年 9 月 1 日確認)
 - 23) 後藤哲智，染矢雅之，磯部友彦，高橋真，田辺信介：東京湾堆積物における臭素化ダイオキシン類
の汚染実態と経年変化，第 20 回環境化学討論会講演要旨集，20pr0207 (2012)
 - 24) Tue, N. M., Takahashi, S., Suzuki, G., Isobe, T., Viet, P. H., Kobara, Y., Seike, N., Zhang, G., Sudaryanto, A. and Tanabe, S.: Contamination of indoor dust and air by polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants and relevance of non-dietary exposure in Vietnamese

- informal e-waste recycling sites. *Environ Int.* 51, 160-167 (2013)
- 25) Tue, N.M., Takahashi, S., Subramanian, A., Sakai S. and Tanabe S. : Environmental contamination and human exposure to dioxin-related compounds in e-waste recycling sites of developing countries. *Environ Sci Process Impacts*, 15, 1326-1331 (2013)
- 26) Suzuki, G., Kida, A., Sakai, S. and Takigami H. : Existence state of bromine as an indicator of the source of brominated flame retardants in indoor dust. *Environ Sci Technol.* 43, 1437-1442 (2009)
- 27) Suzuki, G., Nose, K., Takigami, H., Takahashi, S., Sakai, S.-I. : PBDEs and PBDD/Fs in house and office dust from Japan. *Organohalogen Compd.* 68, 1843-1846 (2006)
- 28) Kose, T., Suzuki, G., Kajiwara, N., Takigami, H., Sakai, S.-I. : Determination of the emission amount of organic pollutants from household products using a model room. *Organohalogen Compd.* 70, 2305-2308 (2008)
- 29) Takigami, H., Suzuki, G., Hirai, Y., Ishikawa, Y., Sunami, M., Sakai, S. : Flame retardants in indoor dust and air of a hotel in Japan. *Environ. Int.* 35, 688-693 (2009)
- 30) Takigami, H., Suzuki, G., Hirai, Y., Sakai, S. : Brominated flame retardants and other polyhalogenated compounds in indoor air and dust from two houses in Japan. *Chemosphere* 76, 270-277 (2009)
- 31) Suzuki, G., Tue, N.M., Malarvannan, G., Sudaryanto, A., Takahashi, S., Tanabe, S., Sakai, S.-I., Brouwer, A., Uramaru, N.; Kitamura, S., Takigami, H. : Similarities in the endocrine-disrupting potencies of indoor dust and flame retardants by using osteosarcoma (U2OS) cell-based reporter gene assays. *Environ. Sci. Technol.* 47, 2898-2908 (2013)
- 32) Suzuki, G., Someya, M., Takahashi, S., Tanabe, S., Sakai, S.-I., Takigami, H. : Dioxin-like activity in Japanese indoor dusts evaluated by means of in vitro bioassay and instrumental analysis: Brominated dibenzofurans are an important contributor. *Environ. Sci. Technol.* 44, 8330-8336 (2010)
- 33) Watanabe, I., Sakai, S.-I. : Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environ. Int.* 29, 665-682 (2003)
- 34) Öberg, K., Warman, K., Oberg, T. : Distribution and levels of brominated flame retardants in sewage sludge. *Chemosphere* 48, 805-809 (2002)
- 35) Howe, P.D., Dobson, S., Malcolm, H.M. : 2,4,6-Tribromophenol and other simple brominated phenols. In *WHO, IPCS Concise International Chemical Assessment Documents.* 66 (2005)
- 36) Great Lakes Chemical Corporation. : *Technical Information.* Great Lakes BC-58™. (2006)
- 37) BROMOKEM. : *Products & Properties.* F-3000 SERIES - End capped Brominated Epoxy.
- 38) 経済産業省 : 化審法とは, www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/about/about_index.html
- 39) Kuramochi, H., Maeda, K., Kawamoto, K. : Water solubility and partitioning behavior of brominated phenols. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1386-1393 (2004)
- 40) Takigami, H., Suzuki, G., Hirai, Y., Ishikawa, Y., Sunami, M., Sakai, S. : Flame retardants in indoor dust and air of a hotel in Japan. *Environ. Int.* 35, 688-693 (2009)

- 41) Kuramochi, H., Takigami, H., Scheringer, M., Sakai S.: Estimation of physicochemical properties of 52 non-PBDE brominated flame retardants and evaluation of their overall persistence and long-range transport potential. *Sci. Total Environ.* 491-492, 108-117 (2014)
- 42) Karlsson, M., Julander, A., van Bavel, B., Hardell, L.: Levels of brominated flame retardants in blood in relation to levels in household air and dust. *Environ. Int.* 33, 62-69 (2007)
- 43) Ali, N., Harrad, S., Muenhor, D., Neels, H., Covaci A.: Analytical characteristics and determination of major novel brominated flame retardants (NBFRs) in indoor dust. *Anal. Bioanal. Chem.* 400, 3073-3080 (2011)
- 44) Tue, N.M., Takahashi, S., Suzuki, G., Isobe, T., Viet, P.H., Kobara, Y., Seike, N., Zhang, G., Sudaryanto, A., Tanabe, S.: Contamination of indoor dust and air by polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants and relevance of non-dietary exposure in Vietnamese informal e-waste recycling sites. *Environ. Int.* 51, 160-167 (2013)
- 45) Julander, A., Westberg, H., Engwall, M., van Bavel, B.: Distribution of brominated flame retardants in different dust fractions in air from an electronics recycling facility. *Sci. Total Environ.* 350, 151-160 (2005)
- 46) Petterson-Julander, A., van Bavel, B., Engwall, M., Westberg, H.: Personal air sampling and analysis of polybrominated diphenyl ethers and other bromine containing compounds at an electronic recycling facility in Sweden. *J. Environ. Monit.* 6, 874-880 (2004)
- 47) Sjödin, A., Carlsson, H., Thuresson, K., Sjölin, S., Bergman, Å., Östman, C.: Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments. *Environ. Sci. Technol.* 35, 448-454 (2001)
- 48) Brommer, S., Harrad, S., Van den Eede, N., Covaci, A.: Concentrations of organophosphate esters and brominated flame retardants in German indoor dust samples. *J. Environ. Monit.* 14, 2482-2487 (2012)
- 49) 鈴木剛, 鈴木弥生, 滝上英孝, 吉永淳, 高木麻衣, 中山祥嗣: エコチル調査パイロット調査におけるハウスダスト中樹脂添加剤等の測定. 環境科学会 2014 年会, 講演要旨集, 216-217 (2014)
- 50) van den Berg, M., Denison, M.S., Birnbaum, L.S., Devito, M.J., Fiedler, H., Falandysz, J., Rose, M., Schrenk, D., Safe, S., Tohyama, C., Tritscher, A., Tysklind, M., Peterson, R.E.: Polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls: inclusion in the toxicity equivalency factor concept for dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.* 133, 197-208 (2013)
- 51) 環境省: 平成 16 年度臭素系ダイオキシン類排出実態等調査結果報告書 (2006)

6. 研究発表

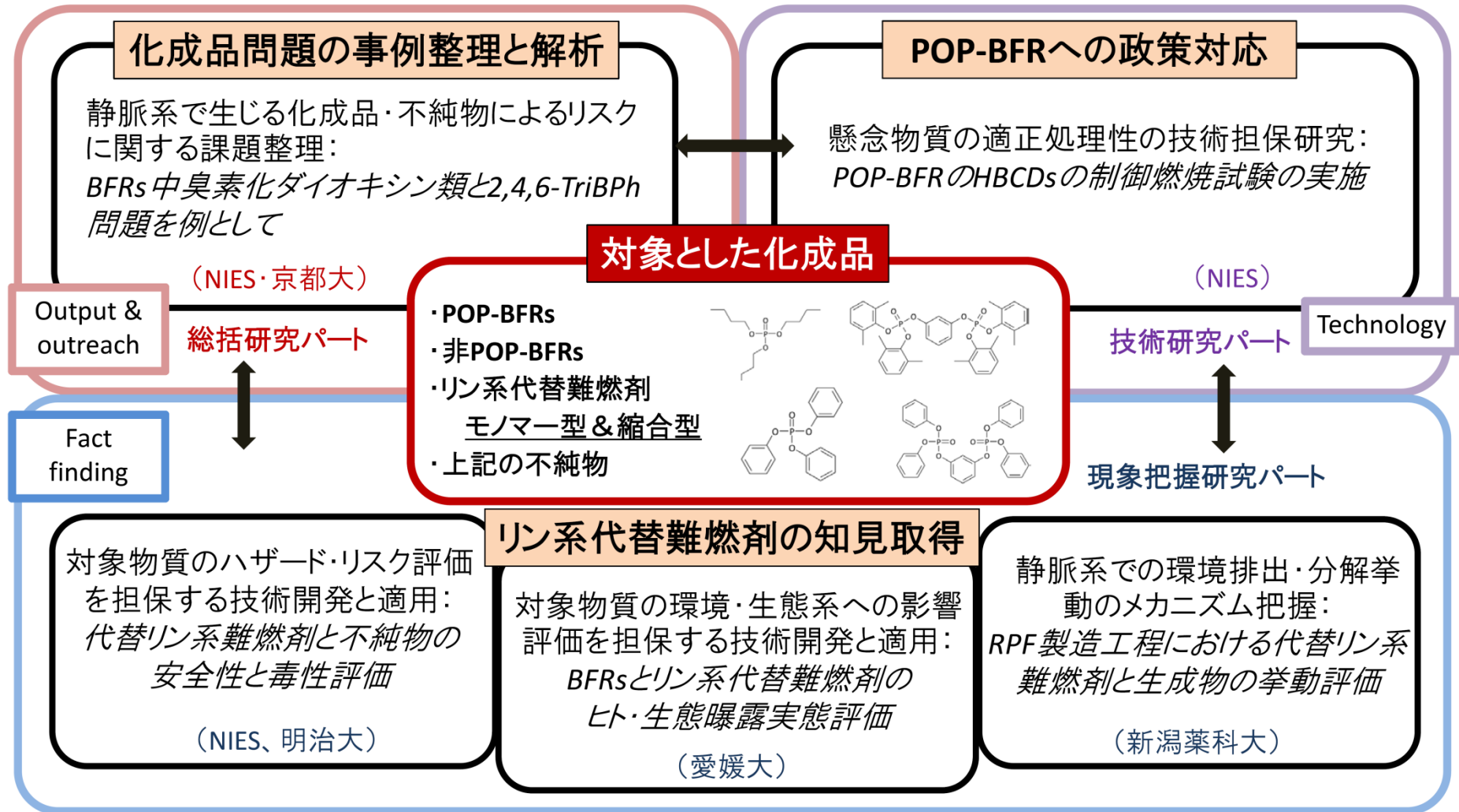
6. 1. 誌上発表

- 1) 酒井伸一, 滝上英孝: 臭素系ダイオキシン類の発生と制御に関する現状と展望, *環境化学*, 23, 129-135 (2013)
- 2) 鈴木 剛, 滝上英孝, 渡部真文, 酒井伸一: 臭素系難燃剤に含まれる不純物としての 2,4,6-トリブロモフェノールの同定, *環境化学*, 23, 123-127 (2013)

- 3) 滝上英孝, 酒井伸一, 新美育文: 化学物質管理、廃棄物管理の面から見たホルムアルデヒド水質事故に関する議論と対応, *日本リスク研究学会誌*, 2, 77-80 (2013)

研究概要図

製品に含まれる化成品及び不純物に由来する有害廃棄物対策と循環方策構築に向けた研究 (3K133001)



英文概要

Study on the Hazard/Resource Management of Product Chemicals and Their Impurities

National Institute for Environmental Studies,
Center for Material Cycles and Waste Management Research

Hidetaka Takigami

Public administration is improving domestic and international legislation and regulations related with chemical risk management to meet safety demand of chemical during product lifecycle. There have been several incidents of pollution during a downstream of product lifecycle such as product usage, waste management and recycle, which is difficult to detect in that upstream side. The purpose of this study was (1) to organize key impurity issues that cause chemical risk and (2) to conduct case studies for chemical risk management during a downstream of product lifecycle.

As a result, (1) the outline and points at impurity issues of brominated dioxins and 2,4,6-TriBPh as important case examples were promptly depicted as an unintentional production and intermediates for chemical product such as flame retardants (FRs). Our study points out that, with the objective of control for exposure of chemicals to environment and human, product information should consider impurity with potent toxicity or higher environmental emission. In the present circumstances, there is no obligation for its notification as an impurity according to the act on the evaluation of chemical substances and regulation of their manufacture in Japan when its percent by weight is less than 1%. (2) Several case studies for phosphorus and brominated FRs about human and environmental exposure, *in vitro/in vivo* toxic assessments, and emission control in a downstream of product lifecycle were conducted in this study. In the study for human and environmental exposure levels, phosphorus FRs accumulated were identified in human milk and fish, which is basic information of their bioaccumulation. *In vivo* study revealed lowest observed effect concentration of reproductive toxicity about TPhP and TDCIPP detected with a high frequency and relative high concentration (ppm level) in house dust. *In vitro* bioassay combined with LC-QTOF-MS revealed that impurities, but not major component, in polymeric and oligomeric phosphorus FRs, strongly contributed to *in vitro* toxicity (ER α agonist activity), which serves the objectives of environmentally-sound chemical design to reduce their toxicity. Behavior of oligomeric phosphorus FRs and their breakdown products such as phenols were confirmed during refuse FRs-containing plastic fuel production. HBCDs designated as POPs (persistent organic pollutants) in waste were destroyed with destruction efficiencies greater than 99.999% in a pilot-scaled incinerator, indicating that emissions of HBCDs and unintentional POPs such as dioxins can be controlled during incineration by the current regulations in Japan.