衛生化学
EISEI KAGAKU
30 (3) 126-137 (1984)

家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求 (第2報)
市販ゴム手袋中の老化防止剤の分析およびパッチテスト陽性率

鹿庭正昭,^a 小嶋茂雄,^a 中村晃忠^a

関東裕美,^b 伊藤正俊,^b 石原 勝^b

国立衛生試験所,^a 東邦大学医学部^b

Chemical Approach to Contact Dermatitis Caused by Household Products. II.
Analysis of Antioxidants in Commercial Rubber Gloves and Incidence
of Positive Reactions to Antioxidants in Patch Testing

MASA-AKI KANIWA,^a SHIGEO KOJIMA,^a AKITADA NAKAMURA,^a

HIROMI KANTO,^b MASATOSHI ITO^b and MASARU ISHIHARA^b

National Institute of Hygienic Sciences,^a 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku,

Tokyo 158, Japan and School of Medicine, Toho University,^b

6-11-1, Omorinishi, Ota-ku, Tokyo 143, Japan

(Received December 22, 1983)

Antioxidants in 37 different brands of commercially available rubber gloves mainly for domestic use were analysed by the method previously reported (M. Kaniwa, S. Kojima, A. Nakamura, M. Ishihara, *Eisei Kagaku*, **28**, 137 (1982)).

It was clarified that almost every brand of the domestic gloves contained one or two of the following phenolic antioxidants: 2,2'-methylene-bis(4-methyl-6-*tert*-butylphenol) (MBMBP), styrenated phenol (SP), 2,2'-isobutylidene-bis(4,6-dimethylphenol) (IBBDMP), 4,4'-butylidene-bis(3-methyl-6-*tert*-butylphenol) (BBMBP). A nitrogen-containing antioxidant, *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD), known as a strong sensitizer, was detected in one brand of gloves for industrial use. The frequencies of detection of the antioxidants were as follows: MBMBP, 19/37; SP, 8/37; IBBDM, 6/37; BBMBP, 1/37; IPPD, 1/37.

Patch testing to various antioxidants was also studied in 40 patients with allergic contact dermatitis from rubber or poly(vinyl chloride) materials. No one reacted to the phenolic antioxidants tested, including MBMBP and SP. On the other hand, about one third of the patients reacted to IPPD.

From the results, it is preferred to use the phenolic antioxidants for not only domestic but also industrial rubber gloves.

Keywords — antioxidant determination; commercial rubber gloves; 2,2'-methylene-bis(4-methyl-6-*tert*-butylphenol); styrenated phenol; 2,2'-isobutylidene-bis(4,6-dimethylphenol); 4,4'-butylidene-bis(3-methyl-6-*tert*-butylphenol); *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine; patch testing; positive reaction incidence

緒 言

厚生省家庭用品安全対策室の主宰による“家庭用品による接触皮膚炎に関するモニター病院制度”を通じて、ゴム手袋によると考えられる接触皮膚炎の事例がいくつ

か挙がってきている。¹⁾

我々はそのうちの1つ、作業用ゴム手袋によるアレルギー性接触皮膚炎の事例について原因化学物質の検索を行い、その結果を前報²⁾で報告した。そして強い感作性

が知られている老化防止剤の *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD) が主な原因化学物質であると結論づけることができた。

しかし、このように原因化学物質を特定できるアレルギー性接触皮膚炎の事例は少ない。その理由は前報にも述べたように、製品中に含まれる化学物質が不明の場合が多く、パッチテストの対象化学物質の選定が難しいからである。こうした状況を改善するためには市販製品中の化学物質の使用実態を把握しておくことがまず必要である。

そこで、市販ゴム手袋中のゴム添加剤のうち、老化防止剤の使用実態を把握するために小売店で購入したもの、モニター病院を通じて入手したものなど、37点のゴム手袋について、どのような種類の老化防止剤がどのくらいの量でゴム手袋中に存在するかを調査した。その結果、市販ゴム手袋中に使用されている老化防止剤はほとんどフェノール系化合物であることが判った。

ところが、接触皮膚炎の原因物質を詳細に記載した Cronin や Fisher の成書にもフェノール系老化防止剤の感作性に関するまとまった記述は見当たらない。^{3,4)}

そこで、ゴム手袋から高頻度で検出された2種のフェノール系老化防止剤を含めた13種の老化防止剤について、皮膚科外来を受診した接触皮膚炎患者を対象としてパッチテストを行い、各々の老化防止剤の陽性率を求めた。その結果、フェノール系老化防止剤はいずれもほとんど陽性反応が認められなかった。その他では IPPD がとびぬけて高い陽性率を示した。

以上の結果について報告する。

実験方法

A. 市販ゴム手袋中の老化防止剤の分析 1. 試料——分析したゴム手袋37点についてブランド名、メーカー名、用途、色調を Table Ia, Ib に示した。37点のうち30点は1982年2月—4月にかけて東京都、千葉市、大阪市、高松市の小売店より購入したもの、2点は医療用手袋を譲渡されたもの、5点はモニター病院を通じて入手したものである。用途別では、家庭用30点、医療用2点、軽作業用（薄手）4点、前報で分析試料とした重作業用（厚手）1点であった。メーカー、ブランドについては、国内メーカー11社による26ブランド、外国メーカー4社、輸入発売元7社による11ブランドであった。

なお、プラスチックに繁用され、ゴム製品にも使用されている 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT) も分析対象としたが、BHT を含むゴム手袋が入手できなかったため、その代りに BHT を含むことを確認した医療用のイソプレンゴムシート（昭和ゴム製）を抽出方

法の検討の際の試料として用いた。我々の分析法で定量したところ、そのシートの BHT の定量値は 963 $\mu\text{g/g}$ であった。

2. 試薬——使用した老化防止剤、可塑剤の化学名、本文中の略称、商品名、メーカー名を Table II に示した。これらは精製せずに使用した。その他の試薬は原則として特級を用いた。なお、2,2'-isobutylidene-bis (4,6-dimethylphenol) (IBBDMP) は以下のように合成し、標品とした。

すなわち、2,4-dimethylphenol 2.44 g (2×10^{-2} mol) を 50 ml のナス形フラスコにとり、エタノール 10 ml を加えて溶かし、さらに濃硫酸約 1 ml を加えた後、isobutyraldehyde 約 1 ml を滴加し、80°C の水浴上で10時間還流した。冷後、水約 40 ml を加えて希釈し、エーテル 50 ml で4回振とうして抽出した。抽出液は合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、エバポレーターでエーテルを留去し、3.52 g の残留物を得た。

内径 20 mm のガラス製クロマト管に Merck 社製のラムクロマトグラフィー用 Kieselgel 60(70—230 mesh) 30 g をヘキサンで湿式法により充填したカラムに残留物を吸着させ、ヘキサン、5%、10%、50%-エーテル含有ヘキサン、エーテル各々 100 ml で溶離させた。主生成物は10%エーテル含有ヘキサン分画にほぼ溶出した。その分画について溶媒を留去した後、ヘキサンから再結晶して無色針状晶 (mp 155—156°C) 2.01 g を得た。その IR, NMR スペクトルを Fig. 1 に、MS データを Table III に示した。これらのスペクトルデータは本化合物の構造をよく裏付けている。

3. 装置——ガスクロマトグラフ 島津 GC-4CM (水素炎イオン化検出器付き)；ガスクロマトグラフ-質量分析計 島津 LKB-9000 型；質量分析計 日本電子 JMS-01SG-2 型；赤外分光光度計 日本分光 JASCO A-102 型；核磁気共鳴分析計 日本電子 FX-200 型。

4. 老化防止剤の分析法——分析法は前報の方法を用いた。ただし、試料量を 1 g、アセトン：クロロホルム (1:1) 混液の液量を 10 ml に変更した。また、定性、定量分析の条件は以下の通りとした。

GC 条件：2% OV-1 on Gas Chrom Q (80—100 mesh), 1.5 m $\times$ 3 mm I.D., ガラスカラム；温度、カラム 150—275°C (10°C/min), 注入口および検出器 280°C；キャリアガス、窒素 60 ml/min；検出器、水素炎イオン化法 (FID), 水素 0.4 kg/cm², 空気 0.5 kg/cm²。GC-MS 条件：GC 条件は上記と同じ。ただし、キャリアガスはヘリウム (30 ml/min) を用いた。MS 条件はイオン化電圧 70 V, イオン化電流 60 μA , イオン加速電圧

TABLE Ia. Analytical Data of Antioxidants and Plasticizers in Commercial Rubber Gloves by Japanese Manufacturers

No.	Brand	Manufacturer	Use ^{c)}	Color	Content, $\mu\text{g/g}$							
					MBMBP	IBBDM	SP	BBMBP	IPPD	DBP	BBP	DEHP ^{d)}
1	New Family	S.T. Chemical	D	Pink	1630	- ^{d)}	-	-	-	-	-	-
2	Family Soft	S.T. Chemical	D	Pink	1490	-	-	-	-	-	-	-
3	Jab	S.T. Chemical	D	Blue-green	3490	-	-	-	-	-	-	-
4	Family	S.T. Chemical	D	Blue-green	-	3710	-	-	-	-	-	-
5	Jab	S.T. Chemical	D	Pink	-	6740	-	-	-	-	-	-
6	Jab	S.T. Chemical	D	Pink	-	-	-	3480	-	-	-	-
7	1327 Gloves	Dunlop Home Products	D	Pink	2630	-	-	-	-	-	-	-
8	Dunlop Gloves	Dunlop Home Products	D	Pink	2250	-	-	-	-	-	-	-
9	Lotus Hand	Dunlop Home Products	D	Orange	2090	-	-	-	-	-	-	-
10	Sumai Robe	Dunlop Home Products	D	Pink	4860	-	-	-	-	-	-	-
11	Sweet Home	Sanko Kagaku Kogyo	D	Orange	-	-	5310	-	-	-	-	-
12	Minori Tebukuro	Sanko Kagaku Kogyo	D	Blue	-	-	5620	-	-	-	-	-
13	Minori Tebukuro	Sanko Kagaku Kogyo	D	Green	-	-	6080	-	-	-	-	-
14	Minori Tebukuro	Sanko Kagaku Kogyo	ND	Black	-	-	2730	-	-	-	-	-
15	*** ^{e)}	Sanko Kagaku Kogyo	M	Pale yellow	-	-	3230	-	-	-	-	-
16	Doctor Hand-2 ^{b)}	Fuji Latex	D	Pale yellow	-	2150	-	-	-	-	845	4220
17	Doctor Hand	Fuji Latex	M	Pale yellow	-	1590	-	-	-	-	-	-
18	Bilpearl ^{b)}	Okamoto Riken Gomu	D	Brown	-	1970	-	-	-	225	-	-
19	Bilpearl ^{b)}	Okamoto Riken Gomu	D	Green-blue	-	-	-	-	-	100	-	937
20	*** ^{b)}	Okamoto Riken Gomu	D	Pink	-	-	-	-	-	274	-	2100
21	New Rubber Hope	Atom	ND	Red-brown	399	-	-	-	-	-	-	-
22	Long Rubber Gloves	Taiyo Kogyo	D	Orange	2190	-	-	-	-	-	-	-
23	Tokyo Tebukuro	Tokyo Latex Co-op.	D	Pale blue-green	2040	2160	-	-	-	-	19000	-
24	Hanaki Tebukuro	Nippon Hanaki Gomu	ND	Black	-	-	5650	-	-	-	-	-
25	Koshin ^{b)}	Koshin Gomu	ND	Dark brown	-	-	1600	-	117	-	-	2450
26	Kogane Stout ^{e)}	Oji Gomu	ND	{Black (outside) Brown (inside)}	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLE Ib. Analytical Data of Antioxidants and Plasticizers in Commercial Rubber Gloves by Foreign Manufacturers

No.	Brand	Manufacturer ^{f)}	Distributor	Use	Color	Content, $\mu\text{g/g}$ MBMBP ^{a)}
27	Handy	Ansell	Dodwell & Co	D	Yellow	1820
28	Beauty	Ansell	Dodwell & Co	D	Orange	1940
29	New Austral	Ansell	Dodwell & Co	D	Blue	1490
30	Ansell	Ansell	Dodwell & Co	D	Red (outside) Moss-green (inside)	1700
31	Household Gloves	Ansell	Nippon N. R. Drug	D	Blue-green	6810
32	Marigold	London Rubber	Jardin Matheson & Co.	D	Red	244
33	***	Hutchinson Mapa	Showa Kako	D	Pink	645
34	Paris Gloves	Hutchinson Mapa	Showa Kako	D	Red	5170
35	France Baltex	Hutchinson Mapa	Miyai Sansho	D	Pale blue-green	1040
36	Kursaal Lux ^{e)}	S. A. E. Kursaal	Taki Gomu Kagaku	D	Pink	-
37	Mercy Robe ^{e)}	S. A. E. Kursaal	Fumakilla	D	Yellow	-

a) ***: unknown brand-name.

b) Obtained as gloves caused contact dermatitis.

c) D, for domestic use; ND, for non-domestic use; M, for medical use.

d) The full names are shown in Table II. Other antioxidants and plasticizers shown in Table II were not detected.

e) Phenolic antioxidants of unknown structures were detected.

f) Ansell, in Malaysia; London Rubber, in Malaysia; Hutchinson Mapa, in France, S.A.E. Kursaal, in Spain.

g) -: not detected.

TABLE II. Antioxidants and Plasticizers Used in the Experiment

No.	Compound	Abbreviation	Trade name ^{a)}
Antioxidant			
1	6-Ethoxy-2, 2, 4-trimethyl-1, 2-dihydroquinoline	ETMDQ	Antigen AW
2	Poly(2, 2, 4-trimethyl-1, 2-dihydroquinoline)	TMDQ	Nocrac 224
3	Phenyl- α -naphthylamine	PAN	Nocrac PA
4	<i>N</i> -(3'-Hydroxybutylidene)- α -naphthylamine	HBNA	Nocrac C
5	Phenyl- β -naphthylamine	PBN	Nocrac D
6	<i>p</i> -Phenylenediamine ^{b)}	PPD	
7	<i>N</i> -Isopropyl- <i>N'</i> -phenyl- <i>p</i> -phenylenediamine	IPPD	Nocrac 810-NA
8	<i>N</i> , <i>N'</i> -Di- β -naphthyl- <i>p</i> -phenylenediamine	DNPD	Nocrac White
9	<i>N</i> , <i>N'</i> -Diphenyl- <i>p</i> -phenylenediamine	DPPD	Nocrac DP-1
10	<i>N</i> -(3-Methacryloyloxy-hydroxypropyl)- <i>N'</i> -phenyl- <i>p</i> -phenylenediamine	MPPD	Nocrac G-1
11	<i>N</i> -(<i>p</i> -Toluenesulfonyl)- <i>N'</i> -phenyl- <i>p</i> -phenylenediamine	TPPD	Nocrac TD
12	2, 6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenol	BHT	Nocrac 220
13	Styrenated phenol	SP	Nocrac SP-N
14	2, 5-Di- <i>tert</i> -butyl-hydroquinone ^{b)}	DBHQ	
15	2, 2'-Methylene-bis(4-methyl-6- <i>tert</i> -butylphenol)	MBMBP	Nocrac NS-6
16	2, 2'-Methylene-bis(4-ethyl-6- <i>tert</i> -butylphenol)	MBEBP	Nocrac NS-5
17	2, 2'-Isobutylidene-bis(4, 6-dimethylphenol) ^{c)}	IBBDMP	
18	1, 1'-Bis(4-hydroxyphenyl)cyclohexane	BHPC	Antigen W
19	4, 4'-Butylidene-bis(3-methyl-6- <i>tert</i> -butylphenol)	BBMBP	Antigen BBMS
20	4, 4'-Thio-bis(3-methyl-6- <i>tert</i> -butylphenol)	TBMBP	Nocrac 300
21	Dilauryl 3, 3'-thiodipropionate ^{b)}	DLTDP	
22	Triphenyl phosphite ^{b)}	TPPI	
23	Triphenyl phosphate ^{b)}	TPPA	
Plasticizer			
24	Dibutyl phthalate ^{b)}	DBP	
25	Butylbenzyl phthalate ^{b)}	BBP	
26	Di(2-ethylhexyl) phthalate ^{b)}	DEHP	

a) "Nocrac," by Ouchi Shinko Chemical Ind. Co.

"Antigen," by Sumitomo Chemical Co., Ltd.

b) Purchased from Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.

c) Synthesized in our laboratory.

Fig. 1. Infrared Spectrum (A) and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum (B), of Authentic IBBDMP

IBBDMP: Colorless needle (recrystallized from hexane), mp 155–156°C.

(A): Measured by KBr method.

(B): ppm, in CDCl_3 ; 0.88, 0.91 (aliphatic methyl, 6H), 2.17, 2.22 (aromatic methyl, 12H), 2.56 (methine, 1H), 3.95, 4.00 (doublet, $J=10.5$ Hz, benzylic H, 1H), 5.87 (phenolic OH, 2H), 6.72, 6.95 (aromatic H, 4H).

3 KV, イオン源温度 330°C とした。MS 条件: 試料直接導入法による。イオン化電圧 70V, イオン化電流 200 μA , イオン加速電圧 10 KV.

B. パッチテスト Table II に示した標品のうち, No. 1–3, 6–9, 11 の含窒素系 8 種, No. 13, 15, 16, 18, 20 のフェノール系 5 種, 計 13 種の老化防止剤を 10%, 1%, 0.1% の割合で白色ワセリンに混和し, 鳥居薬品製のパッチテスト用 バンソウコウ「ミニ プラスター」を用いて被験者に貼付した。貼付後, 48 時間, 72 時間, 1 週間における皮膚反応を観察した。

被験者は 1980 年から 1982 年の間に東邦大学病院皮膚科外来を受診した患者のうち, ゴム製品による接触皮膚炎と診断されたもの 30 名 (ゴム群: 男 9 名, 女 21 名, 年齢 15–58 歳), および塩化ビニル製品による接触皮膚炎と診断されたもの 14 名 (塩ビ群: 男 1 名, 女 13 名, 年齢 18–57 歳) で, うち 4 名が重複していた。

実験結果

1. シリカゲルカラムクロマトグラフィー

標品 500 μg をカラムに吸着させ, シリカゲルカラム

Fig. 2. Elution Behavior of Antioxidants and Plasticizers on Silica Gel Column Chromatography

□ : phenolic antioxidant,
 ■ : nitrogen-containing antioxidant,
 ▨ : other type antioxidant,
 ▩ : plasticizer.

Sample: 500 μg of each compound was loaded.

Column: 5 g of silica gel (Kieselgel 60, 70–230 mesh) dispersed in hexane was packed into a glass column of 10 mm I.D.

Fractionation: Fr. A (with 50 ml of hexane), Fr. B (with 50 ml of 5% ether in hexane), Fr. C (with 50 ml of 10% ether in hexane), Fr. D (with 50 ml of 50% ether in hexane), Fr. E (with 50 ml of methanol).

The values in parentheses show total recoveries (%) from the column.

a) Compounds were found over several fractions in the percentage ratios described along the boxes.

クロマトグラフィーの操作を行なったときに, どの分画に溶離されてくるかを Fig. 2 に示した。複数の分画にわたって溶出したものについては, 各分画への溶出量の割合をパーセントで示した。また, カッコ内の数字は各々のカラムからの回収率 (%) を示す。

2. ガスクロマトグラフィー

標品についてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画 A–E を得た後, 各分画について実験方法 4 の GC 条件で分析したときのガスクロマトグラムを Fig. 3 に示した。各化合物の出現位置は IPPD の保持時間を 1.00 としたときの相対保持時間で示した。

いずれも対称性のよいピークを示した。ピークの分離の点では, 分画 B において styrenated phenol (SP) の成分の 1 つである SP-2 (相対保持時間 1.34) と 2,2'-methylene-bis(4-methyl-6-tert-butylphenol) (MBMBP)

Fig. 3. Gas Chromatograms of Authentic Anti-oxidants and Plasticizers

Condition: 2% OV-1 on Gas Chrom Q (80-100 mesh), glass column 150 cm $\times$ 3 mm I.D.; temperature, column 150–275°C (10°C/min), injection port and detector 280°C; carrier gas (nitrogen), 60 ml/min; detection (flame ionization detector), hydrogen 0.4 kg/cm², air 0.5 kg/cm². The retention time of IPPD was 8.05 min. Numbers in Fig. are the same with those in Fig. 2: 1 BHT, 2 DBHQ, 3 PAN, 4 HBAN, 5 PBN, 6 SP-2, 7 SP-4, 8 MBMBP, 9 MBEBP, 10 TPPI, 11 DEHP, 12 ETMDQ, 13 DPPD, 14 SP-1, 15 SP-3, 16 IBBDMPP, 17 DLTDP, 18 DBP, 19 BBP, 20 IPPD, 21 TPPD, 22 BHPC, 23 BBMBP, 24 TBMBP, 25 TPPA, 26 MPPD.

(1.35), 分画Cにおいて 6-ethoxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (ETMDQ) (0.57) と SP の成分である SP-1 (0.58) のピークがほぼ重なった。しかし, SP は SP-1–4 の4つの成分ピークが同時に認められるので, 単一のピークしか示さない MBMBP, ETMDQ とは SP のその他のピークの有無を確かめることで区別できる。

定量はピーク高さによる絶対検量線法によった。実験方法4に従って操作して得た検液の量を 0.5 ml とし, その 5 μ l を GC に注入し, FID の感度を 10^8 M Ω , レンジを 0.16 V とし, ピーク高さが 0.5 cm 以上の場合をピークとして定量した場合, 定量限界は triphenyl phosphate (TPPA), *N*-(3'-hydroxybutylidene)- α -naphthylamine (HBAN) では約 10 μ g/g, SP, *N*-(methacryloyloxy-hydroxypropyl)-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (MPPD), *N*-(*p*-toluenesulfonyl)-*N'*-phenylenediamine (TPPD), dilauryl 3,3'-thiodipropionate (DLTDP) では約 5 μ g/g, その他では約 1 μ g/g であった。

3. マススペクトロメトリー

標品について実験方法4の MS 条件 (試料直接導入法) でマススペクトルを測定した。ただし, SP は GC-MS 条件で測定し, SP-1–4 の各成分のマススペクトルを得た。その結果を Table III に示した。

TPPD, di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) 以外はすべて分子イオンを示した。TPPD (分子量 338) の場合, トシル基の脱離したイオン (m/z 184) が最大質量のフラグメントイオンであった。なお, *N*-phenyl- α -naphthylamine (PAN) と *N*-phenyl- β -naphthylamine (PBN) はほぼ同じマススペクトルを示した。しかし, 両者は GC での保持時間が異なっており, 実際試料の分析では GC-MS が用いられることから, 両者は区別できる。

4. 抽出法の検討

ゴムのように製造時に加熱などの苛酷な処理が行なわれる場合, 添加された化学物質の真の存在量を知ることとは不可能である。このような場合, 至適抽出条件を設定するには分析対象の化合物を含むことを確認した製品を用いて各種の条件で抽出を行い, 最大の抽出量を示す条件を至適抽出条件と考えるしかない。

そこで, 後述のように市販のゴム手袋から検出された MBMBP, SP, IBBDMPP, IPPD, および BHT の5種の老化防止剤を対象にして抽出条件を検討した。抽出溶媒としては, 前報で用いたアセトン:クロロホルム (1:1) 混液に加えてアセトン:ベンゼン (1:1) 混液, アセトン, メタノールの4種の溶媒系を用いた。検討の結果を Table IV に示した。

まず, 標品 200 μ g について溶媒 50 ml 中で 80°C の水浴上で2時間還流させた。MBMBP, IBBDMPP, SP, IPPD は定量的に回収されたが, BHT だけがどの溶媒系においても回収率が低かった。そこで, 標品 200 μ g について溶媒 50 ml 中で2時間振とうさせたとこころ, メタノール以外の溶媒系ではほぼ定量的に回収されたことから, BHT は加熱によって損失すると考えられた。

次に, 試料 No. 1 (MBMBP を含む), No. 5 (IBBDMPP を含む), No. 25 (SP および IPPD を含む) のゴム手袋およびイソプレンゴムシート (BHT を含む) 各々約 1 g を用いて抽出率を検討した。抽出率はアセトン:クロロホルム (1:1) 混液で30分間, 4回繰り返して振とうしたときの抽出量を 100(%)として示した。まず, 80°C で還流させたとこころ, BHT の抽出率がメタノール以外では 60% 以下と低かった。また, 室温で振とうしたところ, メタノールではいずれの老化防止剤も抽出率が 50% 以下と低く, アセトンでは BHT と SP がやや低い回収率を示した。

以上の結果から, 抽出法としては還流するよりも室温で振とうの方が良いこと, 抽出溶媒としてはアセトン:クロロホルム (1:1) 混液, アセトン:ベンゼン (1:1) 混液がほぼ同程度の抽出率を示し, この両者が

TABLE III. Mass Spectral Data of the Authentic Antioxidants and Plasticizers^{a)}

Molecular weight		Fragment ion, m/z (relative intensity, %)							
ETMDQ	217	217 (14, M ⁺)	202 (100)	174 (42)	145 (17)				
PAN	219	220 (20)	219 (100, M ⁺)	218 (70)	217 (55)	216 (20)			
HBAN	193	194 (12)	193 (54, M ⁺)	192 (18)	71 (26)	69 (18)	57 (25)	55 (25)	44 (100)
PBN	219	220 (21)	219 (100, M ⁺)	218 (38)	217 (25)				
IPPD	226	226 (74, M ⁺)	211 (100)	183 (35)	169 (13)	167 (13)	77 (13)		
DPPD	260	260 (100, M ⁺)	183 (15)	169 (25)	168 (13)	167 (19)	130 (10)	77 (12)	
MPPD	326	327 (28)	326 (100, M ⁺)	197 (82)	184 (10)	167 (12)	92 (14)	69 (10)	
TPPD	338	184 (26)	91 (62)	90 (33)	45 (67)	44 (100)	43 (52)	39 (20)	
BHT	220	220 (25, M ⁺)	205 (100)	177 (7)	145 (12)	57 (16)			
SP	SP-1 198	198 (46, M ⁺)	183 (100)	165 (25)					
	SP-2 302	302 (67, M ⁺)	287 (100)	210 (46)	198 (12)	105 (17)			
	SP-3 302	302 (50, M ⁺)	287 (100)	210 (26)	198 (19)	105 (31)			
	SP-4 406	406 (47, M ⁺)	391 (70)	314 (20)	302 (20)	235 (15)	105 (100)		
DBHQ	222	222 (75, M ⁺)	220 (23)	207 (100)	205 (22)	57 (75)	44 (35)	43 (37)	41 (57)
MBMBP	340	340 (80, M ⁺)	283 (20)	177 (100)	164 (60)	155 (18)	149 (40)	127 (20)	121 (20)
MBEBP	368	368 (82, M ⁺)	311 (24)	191 (100)	178 (70)	175 (48)	163 (35)	57 (23)	
IBBDMP	298	298 (30, M ⁺)	256 (20)	255 (100)	91 (10)	43 (8)			
BHPC	268	269 (30)	268 (90, M ⁺)	226 (22)	225 (100)	199 (34)	197 (15)	149 (27)	131 (33)
BBMBP	382	382 (18, M ⁺)	340 (30)	339 (100)	177 (12)	176 (9)	162 (10)	161 (8)	57 (15)
TBMBP	358	358 (100, M ⁺)	343 (20)	196 (38)	181 (72)	164 (27)	149 (73)	121 (20)	
DLTDP	514	514 (5, M ⁺)	346 (10)	329 (10)	178 (40)	161 (35)	143 (60)	105 (22)	89 (36)
		71 (45)	69 (45)	57 (95)	55 (85)	43 (100)			85 (25)
TPPI	310	310 (58, M ⁺)	217 (100)	199 (8)	170 (8)	152 (22)	151 (14)	93 (8)	77 (50)
TPPA	326	326 (18, M ⁺)	325 (13)	233 (19)	232 (9)	170 (7)	94 (100)	66 (36)	65 (28)
DBP	278	278 (4, M ⁺)	223 (6)	205 (4)	149 (100)	104 (5)	76 (4)	57 (6)	41 (8)
BBP	312	312 (15, M ⁺)	255 (10)	223 (13)	206 (28)	149 (100)	91 (32)	57 (10)	41 (10)
DEHP	390	279 (5)	167 (30)	149 (100)	71 (40)	70 (35)	57 (50)	55 (20)	43 (30)
									41 (25)

^{a)} MS condition (direct inlet technique): ionization voltage 70 V, ionization current 200 μ A, ion acceleration voltage 10 KV. GC-MS condition (for analysis of SP): GC condition is shown in Fig. 2, except that helium (30 ml/min) was used as carrier gas. MS condition: ionization voltage 70 V, ionization current 60 μ A, ion acceleration voltage 3 KV, ion source temp. 330°C.

TABLE IV. Recoveries of Antioxidants

	Acetone : Chloroform (1 : 1)		Acetone : Benzene (1 : 1)		Acetone Recovery (%)		Methanol	
	S	R	S	R	S	R	S	R
Standard solution ^{b)}								
MBMBP	96	118	90	98	96	93	84	108
IBBDMP	94	102	91	110	90	103	77	110
SP	96	97	96	101	86	104	77	103
BHT	98	12	98	30	92	27	59	34
IPPD	92	97	99	97	97	103	85	92
Commercial gloves ^{c)}								
MBMBP (No. 1) ^{d)}	100	93	98	100	97	98	43	93
IBBDMP (No. 5)	100	89	104	92	99	91	40	95
SP (No. 25)	100	102	95	109	85	110	21	85
BHT ^{e)}	100	61	102	60	87	45	30	102
IPPD (No. 25)	100	97	101	128	99	125	35	111

a) S : shaking with 10 ml of solvent, for 30 min, four times, at room temp.

R : reflux with 50 ml of solvent, for 2 h, at 80°C.

b) Added amount is about 200 µg.

c) Sampling amount is about 1 g.

d) The sample numbers in parentheses are the same with those in Table I.

e) Isoprene rubber sheet containing BHT was used in place of commercial rubber gloves.

適当であることが判った。そこで、以後の実験は前報と同じくアセトン：クロロホルム（１：１）混液を用い、室温で振とうして抽出することとした。

5. 定性、定量分析の実例、および市販ゴム手袋中の老化防止剤の調査

以上の検討により、ゴム手袋中の老化防止剤の分析法を確立したので、市販製品の調査を行なった。試料 No. 23 を例に分析の実例を説明する。

試料 No. 23 はやや厚手で丈の長い家庭用ゴム手袋「東京手袋」で、メーカー名の記載はなく、「東京ラテックス協同組合」の表示があった。抽出物のガスクロマトグラムにはピーク 1（相対保持時間 1.16）、ピーク 2（1.25）、ピーク 3（1.35）の 3 つのピークが認められた。ピーク 1、ピーク 3 の保持時間は IBBDMP および MBMBP のそれと一致した。そこで、抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけたところ、ピーク 1 は分画 C、D に、ピーク 3 は分画 B に溶出した。各分画について GC-MS を測定したところ、ピーク 1 は m/z 298 (M^+), 255 ($M^+ - 43$) に、ピーク 3 は m/z 340 (M^+), 283 ($M^+ - 57$), 177, 164 に主要なフラグメントイオンを示し、各々 IBBDMP, MBMBP の標品のマススペクトルとほぼ一致した。ピーク 1、ピーク 3 の GC-MS によるマススペクトルを Fig. 4 に示した。

以上より、試料 No. 23 には老化防止剤として MBMBP, IBBDMP が含まれることが判った。GC に

Fig. 4. Mass Spectra of (a) Peak Corresponding to MBMBP in Fr. B and (b) Peak Corresponding to IBBDMP in Fr. C of the Extract of Domestic Rubber Gloves "Tokyo Tebukuro," Separated by Silica Gel Column Chromatography

Mass spectra were measured under GC-MS condition shown in Table III.

よる定量分析の結果、MBMBP 2040 µg/g, IBBDMP 2160 µg/g であった。

なお、ピーク 2 についてはシリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける溶出挙動、GC における保持時間、GC-MS によるマススペクトルデータから可塑剤の butylbenzyl phthalate (BBP) と同定された。その定量

Chart 1. The Structures of the Antioxidants and the Plasticizers Found in Commercial Rubber Gloves

Fig. 5. Gas Chromatograms of (a) Extract of Commercial Rubber Gloves, and (b) Fr. A, (c) Fr. B, (d) Fr. C, (e) Fr. D, (f) Fr. E, Separated by Silica Gel Column Chromatography

GC condition is shown in Fig. 3.

The sample numbers (No. 6, 12, 18, 23, 32) are the same with those listed in Table I.

Numbers in Fig. are the same with those in Fig. 2: 6 SP-2, 7 SP-4, 8 MBMBP, 14 SP-1, 15 SP-3, 16 IBBDMPP, 18 DBP, 19 BBP, 23 BBMBP.

値は $19000 \mu\text{g/g}$ と高く、ゴム手袋にもフタル酸エステルが何らかの目的で使用されていることが判った。

ゴム手袋から老化防止剤が検出された典型例を Fig. 5 に示した。低分子量のゴム成分やワックス様物質などは分画Aにほとんど溶出してしまい、その他の分画には分析上妨害となるピークはほとんど見られなかった。

ただし、BHT は分画Aに溶出してくるため、BHT

の抽出量が少なかったり、夾雑物の量が多くなったときには定量が難しくなる。その場合にはゲルクロマトグラフィーなど、吸着クロマトグラフィーとは異なるモードでのクリーンアップを行う必要があるが未検討である。

本分析法を用いて 37 点のゴム手袋を分析した結果を Table Ia, Ib に示した。37 点のうち 32 点から老化防止剤が検出された。ほとんどが 1 種で、併用されていたのは試料 No. 23 (MBMBP と IBBDMPP), No. 25 (SP と IPPD) の 2 点だけであった。なお、試料 No. 19, 20, 26, 36, 37 からは Table II に挙げた老化防止剤はいずれも検出されなかった。また、No. 26, 36, 37 にはマスマススペクトルデータからフェノール系化合物と考えられる成分が認められたが、その構造については検討中である。

使用されていた老化防止剤としては外国メーカー品、国内メーカー品ともフェノール系化合物が主であった。すなわち、外国メーカー品では MBMBP が検出されたものが 11 点中 9 点 ($244-6810 \mu\text{g/g}$) と大半を占めていた。一方、国内メーカー品では含窒素系の IPPD が 1 点 ($177 \mu\text{g/g}$) 検出された以外はフェノール系化合物で、MBMBP が 10 点 ($399-4860 \mu\text{g/g}$)、SP が 8 点 ($1600-6080 \mu\text{g/g}$)、IBBDMP が 6 点 ($1590-6740 \mu\text{g/g}$)、4,4'-butylidene-bis (3-methyl-6-tert-butylphenol) (BBMBP) が 1 点 ($3480 \mu\text{g/g}$) 検出された。

また、フタル酸エステルは外国メーカー品からは全く検出されなかったが、国内メーカー品では 4 メーカー、6 ブランドから, dibutyl phthalate (DBP) が 3 点 (100

TABLE Va. Incidence of Positive Reactions to Antioxidants in Thirty Patients with Contact Dermatitis from Rubber Materials.

	Incidence of positive reactions (%)											
	48 h						72 h					
	10% ++	+	1 % ++	+	0.1% ++	+	10% ++	+	1 % ++	+	0.1% ++	+
IPPD	9	9	18	10	0		45	28	21	11	0	
TMDQ	0		0		0		0		0		0	
ETMDQ	0		0		0		0		0		0	
PAN	0		0		0		0		0		0	
DNPD	0		0		0		0		0		0	
DPPD	0	9	0		0	9	0	9	0		0	
TPPD	0		0		0		0	9	0	9	0	9
PPD	0		9	0	0	9	0		9	0	9	0
SP	0		0		0		0		0		0	
BHPC	0		0		0		0		0		0	
MBMBP	0	9	0		0		0		0		0	
MBEBP	0		0		0		0		0		0	
TBMBP	0		0		0		0		0		0	

TABLE Vb. Incidence of Positive Reactions to Antioxidants in Fourteen Patients with Contact Dermatitis from Poly (vinyl chloride) Materials

	Incidence of positive reactions (%)											
	48 h						72 h					
	10% ++	+	1 % ++	+	0.1% ++	+	10% ++	+	1 % ++	+	0.1% ++	+
IPPD	0		10	20	0		25	50	40	30	0	
TMDQ	0		0		0		0		0		0	
ETMDQ	0		0		0		0		0		0	
PAN	0		0		0		0		0		0	
DNPD	0		0		0		0		0		0	
DPPD	0		0		0		0		0		0	
TPPD	0		0		0		0		0		0	
PPD	0		0		0		0		0		0	
SP	0		0		0		0		0		0	
BHPC	0		0		0		0		0		0	
MBMBP	0		0		0		0		0		0	
MBEBP	0		0		0		0		0		0	
TBMBP	0		0		0		0		0		0	

—274 $\mu\text{g/g}$), BBP が2点 (845, 19000 $\mu\text{g/g}$), DEHP が4点 (937—4220 $\mu\text{g/g}$) 検出された. DBP, BBP, DEHP についてシリカゲルカラムクロマトグラフィーでの溶出位置, GC での保持時間, マススペクトルを Fig. 2, 3, Table III に示した.

なお, 市販ゴム手袋から検出された老化防止剤, フタル酸エステル構造式を Chart 1 に示した.

6. 老化防止剤のパッチテスト陽性率

パッチテストの結果を Table Va, Vb に示した. 各

化合物ごとに (+) 以上の陽性反応を示した患者の割合をパーセントで表示した.

パッチテスト後, 72時間での陽性率を各化合物間, およびゴム群と塩ビ群の間で比較した. MBMBP, SP を含めた5種のフェノール系老化防止剤はいずれも10%濃度においてもゴム群, 塩ビ群両群ともにほとんど陽性反応を示さなかった. 一方, 含窒素系老化防止剤では IPPD が1%濃度以上でゴム群, 塩ビ群のいずれに対しても数10%と, 他の化合物に比べてとびぬけて高い陽性

率を示した。

考 察

市販の家庭用ゴム手袋37点を分析した結果、使用されている老化防止剤は MBMBP, SP, IBBDMP などのフェノール系化合物が主であることが明らかとなった。すなわち、MBMBP が37点中19点、SP が8点、IBBDMP が6点、BBMBP が1点検出された。なお、含窒素系化合物では IPPD が1点だけ検出された。IPPD が検出された試料 No. 25 は暗色で、厚手の重作業用手袋で、普通家庭で使用されるものではない。Cronin の成書には、「*p*-フェニレンジアミン系老化防止剤は主に工業用ゴム製品に使用され、家庭用ゴム製品には用いられない。」とあり、^{3a)} 我々の分析結果はその記述と矛盾しない。

一方、病院皮膚科外来患者のうち、ゴム製品で接触皮膚炎を起こした患者（ゴム群）、および塩化ビニル製品で接触皮膚炎を起こした患者（塩ビ群）を対象にパッチテストを行なった。その結果、現在ゴム手袋に主に用いられている MBMBP, SP などのフェノール系老化防止剤はゴム群、塩ビ群いずれに対してもほとんど陽性反応を示さず、これらの感作性は弱いと考えられた。

前報において作業用手袋（試料 No. 25）によるアレルギー性接触皮膚炎の原因化学物質について、「IPPD は原因化学物質の1つであるが、SP はパッチテストを行っていないので、原因化学物質か否かは判定できない。」と結論したが、今回のパッチテストの結果から、SP が原因化学物質である可能性は少ないと考えられる。

我々の文献調査ではフェノール系老化防止剤による接触皮膚炎の報告は少なく、市販ゴム手袋から検出されたようなビスフェノール系化合物による事例は見当らなかった。フェノール系老化防止剤による接触皮膚炎の報告例としては、Cronin が感作性物質の1つに挙げている

dioxydiphenyl^{3a)}を使用した外科用手袋^{3b, 5)} およびゴムシート^{3c)} による事例、2-*p*-methylcyclohexyl-4,6-dimethylphenol を使用した手袋^{3d)} の事例、BHT, butylated hydroxyanisole (BHA)^{3e, 7)} による事例が Cronin の成書に挙げられている。また Fisher は monobenzyl hydroquinone が脱色能とともに感作能を持つことを指摘している。⁴⁾

一方、IPPD はパッチテストを行なった老化防止剤の中でとびぬけて高い陽性率を示した。関東らは Hartley 系白色モルモットを用いた感作実験により IPPD が強い感作能を有することを認めている。⁹⁾ また、Cronin, Fisher の成書にも IPPD が強い感作源であることが記述されており、^{3f, 4b)} IPPD を使用したタイヤ、⁹⁾ ゴムチューブ、¹⁰⁾ 潜水用ゴムマスク¹¹⁾ などによる接触皮膚炎の事例が報告されている。

なお、フタル酸エステルについては外国メーカー品からは全く検出されなかったのに対して、国内のいくつかのメーカーの製品に偏って DBP, BBP, DEHP が検出された。楠本らは飲食物用ゴム製品から DEHP を検出している。¹²⁾ 成書によれば、ゴムを軟化させ、配合剤の分散を良くし、押し出し、圧延成型などをやりやすくするために DBP, DEHP, tricresyl phosphate などの可塑剤が添加されるという。¹³⁾

以上を総合すると、現在市販されているゴム手袋には老化防止剤として MBMBP や SP などの感作性の低いフェノール系化合物が主に使用されており、老化防止剤に関しては接触皮膚炎患者にとって好ましい状況にあると考えられる。他の老化防止剤に比べてとびぬけて高い陽性率を示した IPPD は家庭用だけでなく、工業用のものも含めてゴム手袋全般に使用しないことが望ましいと考える。

引用文献

- 1) 国民生活センター編, “生活行政情報,” 1983 (No. 292), pp. 70—79.
- 2) 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 石原 勝, 衛生化学, **28**, 137 (1982).
- 3) E. Cronin, “Contact Dermatitis,” Churchill Livingstone, Edinburgh, 1980, a) p. 722; b) p. 744; c) p. 753; d) p. 743; e) p. 175; f) p. 736.
- 4) A.A. Fisher, “Contact Dermatitis,” 2nd ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1978, a) p. 166; b) p. 168.
- 5) M.K. Polano, *Dermatologica*, **116**, 105 (1958).
- 6) 谷奥喜平, 三浦 修, 野口義園, 篠野 倫編, “皮膚と免疫・アレルギー——その基礎から臨床まで——,” 金原出版, 東京, 1974, p. 386.
- 7) J. Roed-Peterson, N. Hjorth, *Br. J. Dermatol.*, **94**, 233 (1976); A.A. Fisher, *Cutis*, **16**, 961 (1975b); H. Degreef, L. Verhoeve, *Contact Dermatitis*, **1**, 269 (1975).
- 8) 関東裕美, 伊藤正俊, 石原 勝, 未発表データ.
- 9) B. Herve-Bazin, D. Gradiski, P. Duprat, B. Marignac, J. Foussereau, C. Cavelier, P. Bieber, *Contact Dermatitis*, **3**, 1 (1977); J. Foussereau, C. Cavelier, *Dermatologica*, **155**, 164 (1977).
- 10) L. Raith, *Contact Dermatitis*, **2**, 362 (1976).

-
- 11) H. Maibach, *Contact Dermatitis*, **1**, 330 (1975); E. Tuyp, J.C. Mitchell, *Contact Dermatitis*, **9**, 334 (1983).
 - 12) 楠本一枝, 馬場二夫, 齊藤 稜, 明橋八郎, 食衛誌, **20**, 391 (1979).
 - 13) 日本ゴム協会編. “新版・ゴム工業便覧,” 日本ゴム協会, 東京, 1973, p. 282.