

厚生科学研究費補助金(内分泌かく乱物質の健康影響に関する調査研究)  
分担研究報告書

内分泌かく乱物質の食品、食器等からの暴露に関する調査研究  
協力研究者 松原チヨ 東京薬科大学生命科学部教授

研究要旨 ビスフェノールA(BPA)は缶詰等の容器の内面にコーティングされているエポキシ樹脂の合成原料として用いられているため、食品等への溶出が懸念される。本研究では清涼飲料水、果実シロップ漬け缶詰等 93 検体の食品中のビスフェノール A の含有量を調査した。紅茶、煎茶、ウーロン茶、ブレンド茶、フルーツジュース、炭酸飲料、ビール、カクテル、ワイン、果実シロップ漬け缶詰は BPA は検出限界(5ppb)以下であった。しかしコーヒー飲料はすべて低い濃度 (13.5 ~ 35.2ppb) ではあるが BPA が検出された。

## A.研究目的

内分泌かく乱物質は微量で生体内のホルモン系をかく乱し、生態系や人体に重大な影響を及ぼす事が懸念されている化学物質である。内分泌かく乱物質のヒトへの侵入経路は水、食品、空気などが考えられるが、そのうち主な経路は食品からと考えられている。しかし、内分泌かく乱物質の食品からヒトへの暴露量についてはほとんど把握されていないのが現状である。ビスフェノール A(BPA)は内分泌かく乱物質の一つと考えられており、食用缶詰の内面はコーティング剤としてビスフェノール A を原料としたエポキシ樹脂が多く使用されていることから、これらの合成樹脂に残存した BPA が食品に移行することが考えられる。本研究では清涼飲料水、果物シロップ漬け等の缶詰食品について BPA の含有量を調査したので報告する。

## B.研究方法

### 試料

試料は都内のスーパーより購入した。購

入した缶詰は紅茶、煎茶、ウーロン茶、ブレンド茶、フルーツジュース、コーヒー、炭酸飲料、ビール、カクテル、ワイン、果実シロップ漬け缶詰の 11 種類で、調査した試料数は延べ 93 検体であった。調査した試料の詳細については表 1 に示した。

>表 1<

### 試薬

アセトニトリル、ジクロロメタンは高速液体クロマトグラフ用を用いた。またその他の試薬は残留農薬用または試薬特級を用いた。固相抽出用カートリッジ GL-Pak PLS2 および GC-MS 用誘導体調製試薬 BSTFA は GL サイエンス社製のものを用いた。

### 装置

HPLC は JASCO PU-980 型ポンプ、821-FP 型蛍光検出器を用いた。またデータ解析は JASCO 807 IT 型データ処理装置を用いた。分析用カラムは Inertsil ODS-3

250 × 4.6 mm(GLサイエンス社製)で、移動相はアセトニトリル: 水 (3.5:6.5)を用いた。GC-MS はヒューレットパッカード社製 HP 5972-MSD を用いた。赤外分光光度計は日本分光株式会社製 FT/IR 620 および反射測定装置 DR-81 を用いた。

## 測定方法

固形物を含まない清涼飲料水等の試料は 50ml をビーカーに取り、塩酸システインを 20mg 加えて溶解した後、さらに塩酸を用いて pH2 に調整した。GL-Pak PLS カートリッジはあらかじめジクロロメタン 20ml、アセトニトリル 20ml、精製水 20ml、0.01MHCl 20ml を順次流して洗浄した後、試料を通過させ、BPA を吸着させた。カートリッジは水 50ml で洗浄後、吸引して脱水した。ジクロロメタン 50ml を通過させて BPA を溶出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ジクロロメタンを 40 °C 以下で減圧濃縮した。内部標準物質として p-phenylphenol 25ppb になるよう調製したアセトニトリル溶液 5ml を残さに加えて溶解した。これを分析用試料溶液として HPLC に 25  $\mu$ l 注入して測定を行い、得られた検量線から BPA の濃度を計算した。固形物の浮遊する清涼飲料水の場合は、試料をろ紙を用いて吸引ろ過した後、清涼飲料水と同様に行った。また果実シロップ漬け試料は、固形物とシロップに分け、固形物は 10g に塩酸 1 ~ 2 滴ならびに塩酸システイン 20mg を加えた後、アセトニトリル 50ml を加えてホモジナイズした。遠心分離後、アセトニトリル層を取り、さらに固形物にアセトニトリル 50ml を加えてホモジナイズし、アセトニトリル層を合わせて水に混合し、全量を 200ml とした。この水溶液 50ml を GL-Pak PLS カートリッジに通過させ、BPA を吸着させた。またシロップは遠心分離して固形物を除去したの

ち、その 10ml に水を加えて適宜希釈し、塩酸システイン 20mg を加え、さらに塩酸を加えて pH2 になるように調整した。この溶液をカートリッジに通過させて清涼飲料水と同様の操作を行い、HPLC により測定した。添加回収率は、それぞれの試料にビスフェノール A 20ppb になるよう添加して調製し、同様の操作を行って求めた。

HPLC 上で BPA と同じ相対保持時間をもつピークが確認された一部の試料については BSTFA による誘導体化を行った後、GC-MS による BPA の確認を行った。すなわち分析用試料溶液 5ml を減圧濃縮した後、ジクロロメタン 1ml を加え、さらに BSTFA 0.2ml を加えて密栓して 1 時間放置し、その 2  $\mu$ l を GC-MS に注入して確認した。

## 測定条件

### HPLC 測定条件

カラム Inertsil ODS-3 4.6 × 250mm  
溶離液 アセトニトリル: 水 3.5:6.5  
流速 1.5 ml/min  
カラム温度 40 °C  
検出器 蛍光検出器  
Ex 275nm, Em317nm

### GC-MS 測定条件

カラム Ultra Alloy1 30m  
キャリアーガス He  
キャリアーガス圧力 10Pka  
カラム温度 200 °C(1min 保持)-10 °C /mink-(昇温)- 280 °C(3min 保持)  
注入口温度 280 °C  
検出器 HP5972-MSD  
検出モード スキャンおよび SIM モード  
検出イオン m/z 357, m/z 372 (SIM モード)

## C. 研究結果

煎茶、ウーロン茶、ブレンド茶に BPA を 20ppb になるよう添加して回収率を求めたところ、70 ~ 110%と良好な結果が得られたことから、GL-Pak PLS カートリッジを用いて清涼飲料水の BPA の精製に有効であると考えられた。またコーヒーにおいては添加回収率は 68 ~ 98 %であった。果実シロップ漬けでは添加回収率はみかん 87 %、黄桃 68 %であった。なお添加回収実験により得られた結果より検出限界を 5ppb とした。

紅茶 (5 検体)、煎茶 (19 検体)、ウーロン茶 (10 検体)、ブレンド茶 (9 検体)、フルーツジュース (2 検体)、炭酸飲料 (9 検体)、ビール (13 検体)、カクテル類 (15 検体)、ワイン (2 検体)、果実シロップ漬け (4 検体) すべて BPA は検出限界以下であった。しかしコーヒー飲料 (5 検体) は 5 検体とも 13.5 ~ 35.2ppb の範囲で BPA が検出された。HPLC クロマトグラム上でビスフェノール A が検出された試料について GC-MS 測定を行ったところ、SIM モードにおいて BPA に由来するピーク  $m/z$  357,  $m/z$  372 のイオンが観察された。またスクリーンモードにおいても BPA のマススペクトルが確認された。またこれらの結果を表 2 に示した。

>表 2<

#### D. 考察

缶詰飲料、果実シロップ漬缶詰等に含まれる BPA の含有量調査を行ったところ、コーヒー飲料 5 検体すべてから BPA が検出されたが、それ以外の飲料では検出限界 (5ppb) 以下であった。コーヒー飲料の缶コーティング材質はすべて PET (polyethylene terephthalate) であり、缶充填後の加熱により溶出したものと推定された。しかし、それ以外の食品では EP (epoxy resin) ならび

に PET からの溶出は検出限界 (5ppb) 以下であった。HPLC を用いて BPA の分析を行うにあたって、アセトニトリル：水、70 : 30 ~ 45 : 55 の移動相では缶詰食品中の夾雑物質が BPA の分析に著しい妨害を与えたが、アセトニトリルの濃度を下げ、アセトニトリル：水 (3.5:6.5) の組成の移動相を用いる事により BPA ならび夾雑物質との分離に良好な結果を与えた。しかしカラム温度を上げないと分析に要する時間がかかりすぎるため、本研究では 40 °C とした。またシアノプロピル基を結合させた Inertsil CN-3 4.6 × 250mm を用いて検討したところ BPA と夾雑成分との相互分離は悪かった。

回収率の検討では固形物を含まない飲料では比較的良い回収率を求められたが、黄桃からの回収率は低かった。これは果実中の繊維質による吸着が行われたものと考えられた。しかし、アスパラガス、マッシュルームなど固形食品の回収率はさらに低い。ため、固形物を含む缶詰食品の定量にはなお抽出法の検討を要すると考えられた。また茶類中のフェノール性化合物によると思われる妨害がみられたが、移動層のアセトニトリル濃度をさげることにより改善された。

#### E. 結論

缶詰飲料ならびに果実シロップ漬缶詰を中心に HPLC-蛍光検出器を用いて食品中の BPA の定量を行った。缶入り飲料 89 検体、果実シロップ漬 4 検体について BPA の移行を調査したところ、コーヒー飲料 5 検体すべてから 13.5 ~ 35.2ppb の茶、ピー BPA が検出されたが、それ以外の缶詰食品ではすべて検出限界 (5ppb) 以下の濃度であった。

表1 缶詰食品試料の内訳および検体数

種類	品目	検体数
1	紅茶	5
2	煎茶	19
3	ウーロン茶	10
4	ブレンド茶	9
5	フルーツジュース	2
6	コーヒー	5
7	炭酸飲料	9
8	ビール	13
9	カクテル	15
10	ワイン	2
11	果実シロップ漬缶詰	4

表2 缶詰食品中のビスフェノールA含有量

EP; Epoxy resin, PET; Polyethylene terephthalate

No.	品名	試料含有BPA濃度(ppb)	缶材質	コーティング
1	紅茶1	<5.0	スチール	EP
2	紅茶2	<5.0	スチール	EP
3	紅茶3	<5.0	スチール	EP
4	紅茶4	<5.0	スチール	EP
5	紅茶5	<5.0	スチール	EP
6	煎茶1	<5.0	アルミニウム	PET
7	煎茶2	<5.0	アルミニウム	PET
8	煎茶3	<5.0	アルミニウム	PET
9	煎茶4	<5.0	アルミニウム	PET
10	煎茶5	<5.0	アルミニウム	PET
11	煎茶6	<5.0	アルミニウム	PET
12	煎茶7	<5.0	アルミニウム	PET
13	煎茶8	<5.0	アルミニウム	
14	煎茶9	<5.0	アルミニウム	
15	煎茶10	<5.0	アルミニウム	
16	煎茶11	<5.0	アルミニウム	
17	煎茶12	<5.0	スチール	PET
18	煎茶13	<5.0	スチール	PET
19	煎茶14	<5.0	スチール	PET
20	煎茶15	<5.0	スチール	PET
21	煎茶16	<5.0	スチール	
22	煎茶17	<5.0	スチール	
23	煎茶18	<5.0	スチール	
24	煎茶19	<5.0	スチール	
25	ウーロン茶1	<5.0	アルミニウム	EP
26	ウーロン茶2	<5.0	アルミニウム	EP
27	ウーロン茶3	<5.0	アルミニウム	EP
28	ウーロン茶4	<5.0	アルミニウム	EP
29	ウーロン茶5	<5.0	アルミニウム	
30	ウーロン茶6	<5.0	アルミニウム	
31	ウーロン茶7	<5.0	スチール	EP
32	ウーロン茶8	<5.0	スチール	EP
33	ウーロン茶9	<5.0	スチール	EP
34	ウーロン茶10	<5.0	スチール	EP
35	ブレンド茶1	<5.0	アルミニウム	PET
36	ブレンド茶2	<5.0	アルミニウム	PET
37	ブレンド茶3	<5.0	アルミニウム	PET
38	ブレンド茶4	<5.0	アルミニウム	
39	ブレンド茶5	<5.0	スチール	PET
40	ブレンド茶6	<5.0	スチール	PET
41	ブレンド茶7	<5.0	スチール	PET
42	ブレンド茶8	<5.0	スチール	
43	ブレンド茶9	<5.0	スチール	
44	フルーツジュース1	<5.0	スチール	EP
45	フルーツジュース2	<5.0	アルミニウム	EP
46	コーヒー1	13.5	スチール	PET
47	コーヒー2	14.7	スチール	PET
48	コーヒー3	18.6	スチール	PET
49	コーヒー4	35.2	スチール	PET
50	コーヒー5	10.8	スチール	PET

	品名	試料含有BPA濃度(ppb)	缶材質	コーティング
51	炭酸飲料1	<5.0	アルミニウム	EP
52	炭酸飲料2	<5.0	アルミニウム	EP
53	炭酸飲料3	<5.0	アルミニウム	EP
54	炭酸飲料4	<5.0	アルミニウム	EP
55	炭酸飲料5	<5.0	アルミニウム	EP
56	炭酸飲料6	<5.0	アルミニウム	EP
57	炭酸飲料7	<5.0	アルミニウム	EP
58	炭酸飲料8	<5.0	アルミニウム	PET
59	炭酸飲料9	<5.0	アルミニウム	PET
60	ビール1	<5.0	アルミニウム	EP
61	ビール2	<5.0	アルミニウム	EP
62	ビール3	<5.0	アルミニウム	EP
63	ビール4	<5.0	アルミニウム	EP
64	ビール5	<5.0	アルミニウム	EP
65	ビール6	<5.0	アルミニウム	EP
66	ビール7	<5.0	アルミニウム	EP
67	ビール8	<5.0	アルミニウム	EP
68	ビール9	<5.0	アルミニウム	EP
69	ビール10	<5.0	アルミニウム	EP
70	ビール11	<5.0	アルミニウム	EP
71	ビール12	<5.0	アルミニウム	EP
72	ビール13	<5.0	アルミニウム	EP
73	カクテル1	<5.0	アルミニウム	EP
74	カクテル2	<5.0	アルミニウム	EP
75	カクテル3	<5.0	アルミニウム	EP
76	カクテル4	<5.0	アルミニウム	EP
77	カクテル5	<5.0	アルミニウム	EP
78	カクテル6	<5.0	アルミニウム	EP
79	カクテル7	<5.0	アルミニウム	EP
80	カクテル8	<5.0	アルミニウム	EP
81	カクテル9	<5.0	アルミニウム	EP
82	カクテル10	<5.0	アルミニウム	EP
83	カクテル11	<5.0	アルミニウム	EP
84	カクテル12	<5.0	アルミニウム	EP
85	カクテル13	<5.0	アルミニウム	EP
86	カクテル14	<5.0	アルミニウム	EP
87	カクテル15	<5.0	アルミニウム	不明
88	ワイン1	<5.0	アルミニウム	EP
89	ワイン2	<5.0	アルミニウム	EP
90	黄桃1	<5.0	スチール	内壁錫 蓋EP
	シロップ	<5.0		
91	黄桃2	<5.0	スチール	内壁錫 蓋EP
	シロップ	<5.0		
92	白桃1	<5.0	スチール	内壁錫 蓋EP
	シロップ	<5.0		
93	みかん	<5.0	スチール	内壁錫 蓋EP
	シロップ	<5.0		