

平成 12 年度 厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態研究

ポリ塩化ビニル製手袋中のフタル酸ジ 2-エチルヘキシルの食品中への移行に関する研究

主任研究者	中澤裕之	星薬科大学
研究協力者	吉村吉博	星薬科大学
	加藤嘉代子	星薬科大学
	井之上浩一	星薬科大学
	堀江正一	埼玉県衛生研究所
	石井里枝	埼玉県衛生研究所
	吉田栄充	埼玉県衛生研究所
	平山クニ	神奈川県衛生研究所
	藤巻照久	神奈川県衛生研究所
	月岡 忠	長野県衛生公害研究所
	寺沢潤一	長野県衛生公害研究所
	岡 尚男	愛知県衛生研究所
	伊藤裕子	愛知県衛生研究所

研究要旨

塩化ビニル樹脂（PVC）を中心としたプラスチック製品は、工業用としての他に、食品用や、医療用として広く使用されている。この PVC の可塑剤として内分泌かく乱作用が危惧されているフタル酸ジ 2-エチルヘキシル（DEHP）などが使用されている。これらの物質は、食品製造の際にプラスチック製手袋などから食品へ移行し、人が摂取していると危惧されている。そこで、PVC 製手袋中の DEHP の分析と実際の食品への移行実験を実施した。PVC 製手袋中の DEHP の分析の精度管理を行った結果、5 研究機関による DEHP 室間再現精度は 5%以内と良好であった。PVC 製手袋中 DEHP の食品への移行量は DEHP 含有率及び手袋の接触時間の増加に伴い増加した。切り干し大根への DEHP の移行量は、コロツケやおにぎりの場合と比較して大きく、DEHP の脂溶性が多く関与していた。おにぎりへの DEHP の移行量は少なかったが、アルコール噴霧した手袋から DEHP が溶出し、それがおにぎりに移行した。PVC 製手袋中の DEHP のコロツケへ移行は、短時間でかつ油を介していることが分かった。本研究は、厚生省生活衛生局食品化学課に依頼を受けて平成 12 年度に実施した研究である。

A. 研究目的

フタル酸エステル、アジピン酸エステル類は機能性、加工性、経済性等に優れたプラスチック可塑剤として広くかつ大量に使用されている。塩化ビニル樹脂（PVC）を中心としたプラスチック製品は、生活用品のみならず、人工腎臓の血液回路、輸血用セット（チューブやバッグ）、カテーテルなど医療器材としても広く使用されている。このように幅広い用途で使用される可塑剤に、内分泌かく乱化学物質としての

作用が疑われている<sup>1),2)</sup>。これらの物質は、プラスチック製手袋などから食品に移行し、人に摂取されていると危惧されている。そこで、調理用手袋から食品調理時にどの程度 DEHP が移行するか、実際の食品を用いて検討した。まず材質試験として、塩化ビニル製手袋中のフタル酸ジ 2-エチルヘキシル（DEHP）の含量を従来から使用されている液体クロマトグラフィー（HPLC）、ガスクロマトグラフィー（GC）及びガスクロマトグラフ/質量分析（GC/MS）法によ

り測定した<sup>3)-5)</sup>。次に食品への移行試験として、切り干し大根、コロッケ及びおにぎりの調理時にPVC製手袋を使用し、DEHPの食品への移行について検討した。

## B 研究方法

### B1 試料

塩化ビニル製手袋は2種類の市販の異なるメーカーのものを用いた。

#### B・1 試薬

アセトン、ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、酢酸エチルは関東化学社製又は和光純薬製フタル酸エステル試験用を用い、アセトニトリル、塩化ナトリウムは和光純薬製残留農薬試験用を用いた。フロリジルはフロリジン社製フロリジルPRを用いた。消毒用アルコールは食品添加物アルコール製剤(エタノール 67.9%、乳酸 0.1%、リゾチーム 0.04%)を用いた(オーヤラックス製)。精製水には日本ミリポア社製Milli-Q(EDSポリッシャー付き)で製したものをを用いた。

#### B・2 標準品

内部標準物質として、DEHP-d4は関東化学社製環境分析用を用いた。

#### B・3 移行試験対象資料

切り干し大根は長野市内のストアで購入したものをを用いた。コロッケはスーパーマーケットで生を購入し、実験室で揚げたものをを用いた。おにぎりに用いたお米は新潟県産こしひかり(平成11年産)を用いた。

#### B・3 装置及び測定条件

##### 研究機関(A)

材質試験: GC-FID装置は島津製GC-17Aを用い以下の条件で行った。カラム: HP-5、0.53mm×30m×1µm、カラム温度は: 80 (2min) - 10 /min-300 (5min)、キャリアーガス: N<sub>2</sub> 3ml/min

移行試験: GC/MS装置は日本電子製GC-mate、GC装置はHP-5890シリーズを用い以下の条件で行った。カラム: HP-5、0.32mm×30m×0.25µm、カラム温度:

60 (2min) - 30 /min - 180 - 5 /min - 250 - 10 /min - 300 (5min)、キャリアーガス: He 1ml/min、イオン化電流: 300µA、イオン化電圧: 70V、注入方法: スプリットレス(パージオフ1min)、モニターイオン: m/z=149、153、167、171、279

##### 研究機関(B)

材質試験: LC/UVの装置はHP製LC1050を用い、以下の条件で行った。カラム: Wakosil 2-5C18 (15cm×4.6mm)、移動相: 90%アセトニトリル、流速: 1.0 ml/min、検出波長: 225及び280nm、サンプルサイズ: 10 µl

移行試験: GC/MS装置はHP製の5989型を用い以下の条件で行った。カラム: HP-5、0.25mm×30m×0.25µm、カラム温度: 60 (2min) - 30 /min - 180 - 5 /min - 250 - 10 /min - 300 (5min)、キャリアーガス: He 1ml/min、イオン化電流: 300µA、イオン化電圧: 70V、注入方法: スプリットレス(パージオフ1min)、モニターイオン: m/z=149、153、167、171、279

##### 研究機関(C)

材質試験: GC/FID装置はHP製-6890シリーズを用い、以下の条件で行った。カラム: HP-5(0.32mm×30、0.25µm)、カラム温度: 150 (1min)-20 /min-250 (24min)、キャリアーガス: He 2ml/min、注入方法: スプリット(20:1)、注入量: 1 µl

移行試験: GC/MS装置は日本電子製Automass20、GCはHP5890シリーズを用い、以下の条件で行った。カラム: DB-5ms(0.25mm×30m、0.25µm)、カラム温度: 50 (1min)-20 /min-280 (15min)、キャリアーガス: He 1.2ml/min、イオン化電流: 300µA、イオン化電圧: 70eV、注入方式: スプリットレス、注入量: 2µl、モニターイオン: m/z=149、153、167、171

##### 研究機関(D)

材質試験: LC/UV装置はIRICA製981(PUMP)、IRICA 9820(OVEN) IRICA 983(UV DETECTOR) IRICA 986(AUTO LOADER)を用いた。カ

ラムは Capcell PAK C18(UG120, 3um 4.6mm 150mm)、移動相はアセトニトリル/H<sub>2</sub>O=90/10 (1.0ml/min)、波長は 225nm で行った。

移行試験:GC/MS 装置は HP の GC/MS を用いた。カラム: HP 社製 HP-30。0 m × 250 μ m × 0.25 μ m、キャリアーガス: He (0.6ml/min)、カラム温度: 150 (2min) - 15 /min - 280、サンプル注入量: 2 μ L、イオン化: EI 法 70eV、m/z=149、d4 体: m/z=153。

#### 研究機関(E)

材質試験: LC/UV の装置は島津製作所製 LC-10Avp を用い、以下の条件で行った。カラム: Mightsil RP-18 GP 5um (15cm × 4.6mm)、カラム温度: 30、移動相: 90% アセトニトリル、流速: 1.0ml/min、検出波長: 225 nm、サンプルサイズ: 20 μ l

#### B・4 材質試験法

手袋試料を 5mm 角に細断して、これを 2.5g 精秤し、n-ヘキサン中にいれて 50ml にスプレッドした後、DEHP を溶出させた。手袋中の DEHP は 1 時間で DEHP がほぼ n-ヘキサン中に溶出されるため (Fig.1)、1~24 時間浸漬させたものを用いた。溶出温度は 20-30 の室温で行った。

#### B・5 移行試験法

##### (1) 切り干しダイコン

切り干しダイコンの移行試験は Scheme 1 に示す。切り干し大根をガラス製シャーレに入れておき、これをフタル酸エステルを含有する PVC 製手袋で数秒握って、他の容器へ移し、試料とした。試料 30g を 300ml のトルビーカーに採り、これにサロゲート (DEHP-d4) を添加し、30 分放置した。アセトン:ヘキサン (1:1) 100ml を加え、超音波を 10 分間照射し、その抽出液をろ紙を用いて 500ml 分液ロートへろ過した。残渣にアセトン:ヘキサン (1:9) 50ml を加え、超音波抽出し、抽出液を合わせ、再度この操作を繰り返し、抽出液を合わせた。分液ロートに精製水 50ml を加え、3 分振り混ぜ、洗浄し、これに無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、ロータリーエバポレータ

で濃縮乾固した。濃縮残留物をヘキサン 30ml で溶解し、100ml 分液ロートに移し、ヘキサン飽和アセトニトリル 30ml で 2 回アセトニトリル分配し、脂肪分を除去した。これを濃縮し、定容とし、GC/MS-SIM で定量した。

##### (2) コロツケ

コロツケの移行試験は Scheme 2 に示す。コロツケを油で揚げた後、表面温度 35-40 に到達したときに手袋でつかんだ。このコロツケ一個をビーカーに入れ、スパークテルで細かくした。これにサロゲート 20 μ g を入れ一時間放置した。次にアセトン 100ml を入れホモジナイズした後、遠心分離し、上清を分取した。さらに残留物にアセトンを入れ、同様に操作した後、上清を合わせ、減圧下でアセトンを除去した。これに 10%塩化ナトリウム溶液 50ml を入れ、酢酸エチル:ヘキサン (1:2) で 2 回抽出を行った。有機層を減圧下で除去した後、ヘキサンで 20ml にした。このヘキサン溶液を 10ml とり、これにヘキサン 10ml を入れ、ヘキサン飽和アセトニトリル 20ml で 3 回抽出を行った。アセトニトリル層を減圧下で濃縮乾固し、ヘキサン 2ml に溶解した。この溶液をフロリジルカラムに入れ、ヘキサン 50ml で洗浄した後、1%アセトニトリル/ヘキサン溶液 50ml で溶出した。溶出液を濃縮乾固した後、ヘキサン 10ml を入れ試験溶液とした。この試験溶液を GC/MS で測定した。

##### (3) おにぎり

おにぎりの移行試験を Scheme 3 に示す。米飯は一般家庭で行う通常の方法で炊飯した。霧吹きはポリプロピレン製の霧吹きを用いた。また使用器具は全て 70℃ で 2 回洗浄後、100℃ で 1 時間以上乾燥して使用した。アルコール噴霧 PVC 製手袋は手袋片手にはめ、消毒用アルコールを約 30cm 離れた位置から 2 回噴霧し、軽く 2 回手袋を握ったものを使用した。

炊飯後約 40~45 に冷却した米飯 30g をスパークテルでペトリ皿に量り取る。PVC 製手袋をはめた手で米飯を 2~3 回つまみ、軽く握ってステンレス製カップに移す。ステンレス製カップの中の米飯上にサロゲ

ート 15 µg 添加 (添加条件 15ppm, 1ml) し、2~3分放置する。これに n-ヘキサン 50ml を加え、3分間の超音波抽出した。ヘキサン層を遠心管に移し、遠心分離 (3,000rpm、10分) 後、GC/MS で測定した。

## C 研究結果

### C・1 定量範囲

材質試験のために、標準 DEHP を用いての検量線を作成したところ、0.1-20 mg/ml の範囲で相関係数が 0.999 の良好な直線性が得られた。(Fig.2)

### C・2 材質試験法のクロスチェック

5 研究機関による同一 PVC 製手袋中の DEHP の材質試験を行った。手袋 及び手袋 ともに DEHP が平均 40.4%、20.5%含まれていた。また 5 機関の測定のバラツキの指標である相対標準偏差も 2.4%、4.3%と良好であった。(Table 1)

### C・3 ダイコンへの移行

切り干し大根を PVC 製手袋でつかむ時間すなわち接触時間と DEHP 移行量との関係を検討し、その結果を Fig.3 に示す。接触時間が長いほど DEHP の移行量も大きくなり、相関性が認められた ( $r^2=0.9804$ )。

切り干し大根を 3 秒間 DEHP 含有 PVC 製手袋でつかみ、DEHP 移行量を測定した。40.4%の DEHP を含む手袋 を使用した場合、43.9ppm (平均) の DEHP が切り干し大根から検出された。また 4 機関の分析結果には、顕著な差は認められず (RSD : 2.64%)、良好な分析結果を得た。一方 20.5%の DEHP を含む PVC 製手袋 を用いて模擬実験を行った結果、切り干し大根中に 28.0ppm (平均) が認められた。またこのときのブランク値は 0.367ppm (平均) であった。(Fig.4)

### C・4 コロツケへの移行

油で揚げたコロツケ 1 個 (63-70g) を、表面温度 35-40 になった時点で 2 種類の PVC 製手袋でつかんだ。これをピーカに入れ、スパーテルで細切して試料とし、酢酸エチル : ヘキサン (1:2) 及びヘキサン飽和アセトニトリルで抽出後 GC/MS により DEHP の移行量を求めた。2 種類の PVC 手袋

を使用した模擬実験の結果、手袋 が 0.48ppm、手袋 が 0.27ppm (平均) の DEHP が認められた。4 機関ともに顕著な差は認められず (RSD : 10.1%、11.0%)、良好な分析結果を得た。

PVC 製手袋でコロツケをつかんだ後、再度コロツケをつかむ実験を実施したところ、Fig.6 に示すように、手袋 、手袋 を使用した場合、それぞれ、9ppm、4.8ppm (平均) の DEHP 含量の上昇が認められた。これは DEHP が脂溶性であるため手袋に付いた油を経由して食材へ移行したと考えられる。

### C・5 おにぎりへの移行

米を一般家庭で行う通常の方法で炊飯して試料とした。消毒用アルコールを (67.9%アルコール含) をポリプロピレン製の霧吹きに入れ、約 30cm 離れた位置から PVC 製手袋をはめて手に 2 回噴霧した。さらに軽く 2 回手袋を握ってから炊飯後の約 40-50 に冷却した米飯を 2~3 回つまみ、軽く握ってステンレス製カップに移したものを試料とし、抽出操作後、GC/MS で分析した。その結果、Fig.7 に示すように、消毒用アルコールを併用しない場合、手袋 と の DEHP の移行はブランク値が 0.02ppm に対して、それぞれ 0.076ppm、0.069ppm と極僅かであった。消毒用アルコールを噴霧した場合、手袋 、手袋 の DEHP の移行量は 1.45ppm、0.55ppm (平均) と大きな移行が認められた。これは DEHP が脂溶性であり、アルコールに溶解されて、食品へ大量に移行したものと考えられる。

また、噴霧直後から 30 秒経過して乾燥した手袋を使用した場合の DEHP の移行量は、手袋 では 3.8ppm から 0.43ppm、手袋 では 2.3ppm から 0.37ppm と移行量が大きく減少した (Fig.8)。

## D 考察

PVC 製手袋中の DEHP の食品への移行性について検討する前に、その測定方法のバリデーションを行った。5 研究機関による DEHP 測定法の室間再現精度について検討した結果、2 種類の手袋中ではいずれも 5% 以内と良好であった。従って、DEHP の食品中への移行実験について本測定法の適用

は可能であると判断した。

切り干し大根を使用した移行実験の結果から、PVC 製手袋から食品へ移行する DEHP 量は、手袋の DEHP 含有率及び手袋の接触時間に比例してその移行量が増加することが分かった。また脂溶性の液体である媒体を経由して極めて短時間のうちに移行が起こることが判明した。

切り干し大根は油を使用して調理され、また PVC 製手袋との接触面積が大きいと思われるため、瞬時に食材への DEHP の移行が認められ、コロッケやおにぎりの場合と比較して大きな移行量が認められた。コロッケの場合は油で揚げてあり、食品自身が油性であるが接触面積や接触時間が短いため、切り干し大根よりも移行量が少なかった。おにぎりの移行実験では消毒用アルコールを手袋に噴霧後使用した場合、アルコールを噴霧しない場合と比較して大きな DEHP の移行が確認できた。おにぎりは水性であるため、DEHP の移行量は少ないが、アルコール噴霧した手袋から DEHP が溶出して、それがおにぎりに接触することにより移行したものと考えられる。従って、手袋にアルコールを噴霧後、アルコールを揮散させた場合は、DEHP の移行量が大きく減少することが分かった。

また、手袋中の DEHP は油に溶解しやすいため、一度コロッケを握った手袋を、再度使用してコロッケを握ると、コロッケ中の DEHP の移行量が飛躍的に増加した。従って、PVC 製手袋からの食材への DEHP の移行は、脂溶性の媒体を経由して極めて短時間のうちに起こることが分かった。

## E 結論

PVC 製手袋中の DEHP 分析法の精度管理を行った結果、5 研究機関による DEHP 室間再現精度について 5%以内と良好であった。PVC 製手袋中 DEHP の食品への移行量は DEHP 含有率及び手袋の接触時間の増加に伴い増加した。切り干し大根への DEHP の移行量は、コロッケやおにぎりの場合と比較して大きく、DEHP の脂溶性が多く関与していた。おにぎりは DEHP の移行量は少ないが、アルコール噴霧した手袋から DEHP が溶出して、それがおにぎりに移行した。PVC 製手袋中の DEHP のコロッケへ移行性

は、短時間でかつ油を介していることが分かった。DEHP の TDI 基準を諸外国の基準から鑑みて 40-140  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  (2000-7000  $\mu\text{g}/50\text{kg}/\text{day}$ : 平均 4500  $\mu\text{g}/50\text{kg}/\text{day}$ ) に設定した場合、今回アルコール処理した手袋で作られたおにぎり (DEHP 含量: 1.45  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) をヒト (50kg 体重) が毎日 2 個 (100g  $\times$  2 個) 摂取すると DEHP 摂取量は 290  $\mu\text{g}/\text{day}$  となる。従って、ヒトの DEHP 摂取量は TDI (4500  $\mu\text{g}$ ) と比較すると約 0.064 倍であり、直ちに問題があるレベルには思われない。

## F 参考文献

1. 環境庁保健調査室シリーズ No14、1993 「WHO 環境保健クライテリア 131 フタル酸ジエチルヘキシル」(1993).
2. 環境庁「外因性内分泌かく乱化学物質問題への環境庁の対応方針について—環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」(1998).
3. Giust, J.A., Seipelt, T., Anderson, B.K., Deis, D.A., Hinders, J.D., Determination of bis(2-ethylhexyl)phthalate in cow's milk and infant formula by high-performance liquid chromatography, J. Agric. Food Chem., 38, 415-418 (1990).
4. Nakamura, Y., Oohata, T., Tsujii, H., Ito, Y., Tatsuno, T., Tomita, I., Application of the simultaneous analytical method for plasticizers as food contaminants to the film-packed foods and the plasticizer levels in the commercial foods., Nippon Hoso Gakkaishi, 2, 230-238(1993).
5. Petersen, J.H., Survey of di(2-ethylhexyl)phthalate plasticizer contamination of retail Danish milk Food Addit. Contam., 8, 701-706(1991).

## G 研究発表

1. HPLC/PDA による生体内フタル酸モノエステル類の分析 加藤嘉代子、荘田祥子、吉村吉博、中澤裕之、伊藤 裕

子、岡 尚男、日本薬学会第 121 年会、  
北海道、2001、3  
2. GC/MS analysis of phthalic and adipic  
acid esters in beverage using  
distillation clean up, Kayoko KATO,  
Yoshihiro YOSHIMURA, Hiroyuki

NAKAZAWA, Yuko ITO, Hisao OKA  
ILSI EUROPE 2nd International  
Symposium Food Packaging: Ensuring  
the safety and quality of foods, Vienna,  
Austria, Nov. 2000

## フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の参考資料

DEHP の TDI について

資料より、各国の TDI が以下のように出されています。

国	TDI		NOAEL (mg/kg/day)	毒性評価
	μg/kg/day	μg/day(50kg)		
EU	37	1850	3.7	精巣毒性
イギリス	50	2500	5	肝毒性
デンマーク	5	250	5	発がん性
アメリカ	100 ?	5000 ?	10	精巣毒性
日本	40-140	2000-7000	3.7-14	精巣毒性、生殖毒性

\*アメリカは TDI は示されていないが、NOAEL から推定した。

今回、EU の値を基準で報道等にて論議されているが、表のように各国により TDI の基準にばらつきが大きい。日本での TDI の基準は 40-140 μg/kg/day と設定して、おにぎり中の DEHP 含量を検証した。

おにぎり 1.45ppm = 1.45 μg/g      おにぎり 2 個 ( 1 個 100g ) 摂取 / day とすると

$$1.45 \mu\text{g/g} \times 100\text{g} \times 2 \text{ 個} = \underline{290 \mu\text{g/day}}$$

TDI が 40-140 μg/kg/day は体重 50kg あたりに換算すると 2000-7000 μg/day ( 平均 4500 ) となりため、おにぎり 200g を摂取した場合は TDI の 0.064 倍でありため、ほとんど問題ないと考えられる。