

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）研究報告書
市販魚中のアルキルフェノール及び 2,4-ジクロロフェノール汚染実態調査

分担研究者 今中 雅章 岡山県環境保健センター衛生化学科長

研究要旨

6 店舗で購入した市販魚中のアルキルフェノール類及び 2,4-ジクロロフェノールを分析した結果、35 検体中 24 検体から 9 ~ 800 ng/g のノニルフェノール (NP) が検出された (検出限界 8 ng/g)。

購入した店舗間で魚の NP 濃度に差が認められたことから、包装材の n-ヘプタンによる溶出試験を行った。その結果、NP が検出された魚の包装に使用されていたラップフィルムからは 70 ~ 931 ng/cm² の NP が溶出したが、NP 不検出の魚の包装ラップフィルムからはほとんど溶出しなかった。耐衝撃性ポリスチレン製トレイからも NP が溶出したが、トレイと魚中 NP レベルとの関連性は低かった。これらの結果から、魚中の NP には包装材、特にラップフィルムからの移行の関与が強く示唆された。

NP 以外には、2,4-ジクロロフェノール、4-tert-ブチルフェノール、4-tert-ペンチルフェノール及び 4-tert-オクチルフェノールが一部の魚から微量 (最大 3 ng/g) 検出された。

協力研究者

国立医薬品食品衛生研究所 食品部
佐々木久美子, 根本 了, 高附 巧

A. 研究目的

先に我々は食品中の 11 種のアルキルフェノール及び 2,4-ジクロロフェノールの分析結果を報告した¹⁾。分析したアルキルフェノールの中でノニルフェノール (NP) は食品からの検出頻度が最も高く、特に市販魚からは他の食品 (肉類, 果実, 野菜など) よりも高濃度に検出された。そこで、市販魚について更にこれらフェノール類による汚染実態を明らかにするとともに、検出頻度が高かった NP 汚染原因の一つの可能性として、包装材との関連について検討した。

B. 研究方法

1. 試料

ぶり, はまち, キングサーモン, 銀鮭, トラウトサーモン, あなご, たちうお, いしもち, あまだい, いわし及びあじ (合計 35 検体) を東京都及び神奈川県内の 6 軒のスーパー

マーケットで平成 11 年 3 月から 4 月に購入した。いずれもポリスチレン製トレイとラップフィルムで包装されたものであり、いしもち, あまだい, いわし及びあじは丸ごとの魚、これら以外は切り身であった。

2. 試薬

標準品: 東京化成工業(株), 関東化学(株) 又は Dr. Ehrenstorfen GmbH の試薬。なお, NP は東京化成工業のものを使用した。

有機溶媒, 無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウム: 片山化学(株), 和光純薬工業(株) 又は関東化学(株)製の残留農薬試験用試薬。

n-ヘプタン: 関東化学(株)製の特級試薬。

水: 住友精密工業(株)製の VOC 測定用試薬。

水酸化カリウム: ナカライテスク(株)製の半導体用特製試薬。

硫酸: 片山化学(株)製の精密分析用試薬。

トリエチルアミン: 片山化学(株)製の特級試薬。

ヘプタフルオロ酪酸(HFB)無水物: ジーエルサイエンス(株)製の試薬。

10% 含水アルミナ: ICN Biomedicals

GmbH 製の酸性アルミナ（活性 I）を 130°C で18時間以上活性化し、デシケーター中で放冷した後、45 g に水を加え 50 g とした。

カートリッジ：Bond Elut SAX (1 g/6 mL) (Varian 社製), Sep-Pak Plus C₁₈ 及び Sep-Pak Dry (Waters 社製), Extrelut NT3 (Merck 社製)

沸騰石：和光純薬工業(株)製水質分析用。

3. 装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ - 質量分析計：HP5890 (Series II) - HP5972 MSD (Hewlett Packard 社製)

カラム：魚試験溶液の測定には DB-5MS, 包装材料試験溶液の測定には DB-1 (いずれも内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 µm, J&W Scientific社製). ガードカラムとして不活性化キャピラリーカラム (内径 0.25 mm, 長さ 1 m) を接続した。

カラム恒温槽温度：50°C (1 min) 10°C/ min 300°C (4 min)

注入口温度：250°C

トランスファーライン温度：310°C

キャリアーガス：ヘリウム

注入時圧力プログラム：53 kPa 683 kPa/ min 276 kPa (0.1 min) 683 kPa/min 53 kPa (以降 1 mL/min で定流量モード)

イオン化電圧：70 eV

測定モード：SIM 及び SCAN (スキャン範囲：m/z 50 ~ 650)

モニターイオン：HFB 誘導体化した魚試験溶液の SIM 測定のモニターイオンは既報¹⁾に従った。誘導体化を行わなかった包装材料試験溶液のモニターイオンは表 1 に示した。

注入量：2 µL (スプリットレス)

4. 試験溶液の調製

魚の試験溶液調製は既報¹⁾の Scheme 1-1 及び Scheme 1-2 に従い、アルカリ分解、抽出、クリーンアップ及び HFB 誘導体化を行った。

5. 包装材料の溶出試験

魚の包装に使用されていたラップフィルム、トレイ及び中敷きシートについての溶出試験は次のように行った。ラップフィルムは

直接魚に接していなかった部分を 5 × 5 cm に切り取ったもの 2 枚、トレイは軽く水洗して汚れを落とし 6 × 1.5 cm に切り取ったもの 3 枚、中敷きシートは 6 × 1.5 cm に切り取ったもの 1 又は 2 枚を試料として、それぞれ共栓試験管に入れ、n-ヘプタン 20 mL を加え、室温で 60 分間振とう後、試料を除いたものを試験溶液とした。

6. 定量

測定は GC/MS(SIM)で行った。魚中のアルキルフェノール及び 2,4-ジクロロフェノール HFB 誘導体の測定イオンは既報¹⁾に従い、ピーク面積を用いて定量した。包装材料から溶出した NP は HFB 誘導体化せず、Table 1 に示したモニターイオンを用いて NP の主な 12 本のピークの総面積を用いて定量した。NP が検出された場合はマススペクトルあるいはフラグメントイオンの相対強度を標準品と比較して確認した。

C. 研究結果及び考察

市販魚からは、NP が高頻度で検出されたが、その他のアルキルフェノール類及び 2,4-ジクロロフェノールはほとんど検出されなかった。

1. 魚の NP 汚染実態

市販魚中の NP 分析結果を表 2 に示した。操作ブランクから 7.7 ± 2.5 ng/g の NP が検出されたので、これを試料測定値から差し引いて試料中濃度とした。また、ブランク値の標準偏差の 3 倍 (8 ng/g) を検出限界とした。分析した 35 検体中 24 検体から 9 ~ 800 ng/g の NP が検出された。前回調査¹⁾した岡山県及び福岡県で購入した市販魚における検出率 (14/29) に比べて検出率はやや高かったが、検出濃度は前回 (10 ~ 723 ng/g) と同程度であった。

キングサーモン、銀鮭及びぶりはそれぞれ 6 ~ 9 検体を分析したが、NP の検出率には魚種による大きな差は見られなかった。

一方、魚の NP 汚染には購入した店舗による差が認められた。店舗 A, B, C で購入した 19 検体全てから NP が検出され、濃度も

100 ng/g を超えるものが多かった。店舗Dで購入した8検体中5検体からNPが検出されたが、検出値は9～21 ng/gであり、店舗A、B、Cのものより低かった。店舗E、Fで購入した8検体からNPは全く検出されなかった。

2. 包装材の溶出試験

市販魚のNP汚染と購入店舗との関連が認められたため、包装材からの移行汚染を疑い、魚の包装に使用されていたラップフィルム、トレイ及び中敷きシートのうち保存してあったものについてn-ヘプタンによる溶出試験を実施した。包装に使用されていたラップフィルムの材質は確認していないが、一般に食品包装用のラップフィルムはポリ塩化ビニリデン製とポリ塩化ビニル製のものが多い。前者からはNPが検出されない²⁾が、業務用として多用される後者にはNPが530～2500 μg/g²⁾、10～2600 μg/g³⁾含まれることが報告されている。また、ポリ塩化ビニル製ラップフィルムの蒸留水による溶出試験では、15～45 ng/cm²³⁾、98～120 ng/cm²⁴⁾、n-ヘプタンによる溶出試験では、2340～2965 ng/cm²³⁾、480～610 ng/cm²⁴⁾のNPが溶出することが報告されている。さらにトレイの材質である発泡ポリスチレン(PSP)にはNPが含まれていないが、耐衝撃性ポリスチレン(HIPS)からNPが溶出することが報告されている³⁾。

溶出試験の結果、店舗A、B、Cのラップフィルムからそれぞれ70～367、730～931、303～431 ng/cm²のNPが溶出したが、店舗D、E、Fのラップフィルムからはほとんど溶出しなかった(表2)。

また、店舗B、Dの一部の魚の包装に使用されていたHIPSトレイからNPが120～270 ng/cm²溶出したが、各店舗のPSPトレイからはほとんど溶出しなかった。NPを含まないといわれている³⁾PSPトレイから微量溶出したNPは接触していたラップフィルムからトレイに移行したためと考えられる。

3. 魚のNP汚染と包装材の関連

溶出試験の結果は各店舗のラップフィルム

からのNP溶出とそこで購入した魚のNP汚染との関連性を示唆する結果であった。店舗AのはまちNo.1(NP濃度:177 ng/g)とNo.2(63 ng/g)、鮭No.1(37 ng/g)とNo.2(175 ng/g)、店舗BのキングサーモンNo.1(107 ng/g)とNo.2(746 ng/g)のようにNP溶出量がほぼ等しいラップフィルムで包装されていた同一店舗の同一魚種でもNP濃度には数倍の差が認められた。一包装あたりの魚重量、魚とラップフィルムの接触面積、接触時間等が異なるためと考えられる。

店舗BのはまちNo.2からは248 ng/gのNPが検出されたが、トレイからのNP溶出量は少なく(13 ng/cm²)、ラップフィルムからの溶出量が多かった(931 ng/cm²)。また、店舗DのぶりNo.2及びキングサーモンNo.1のHIPSトレイからはそれぞれ120、270 ng/cm²のNPが溶出したが、ラップフィルムからの溶出量は低く(21、9 ng/cm²)、魚のNP濃度は不検出及び18 ng/gであった。これらのことから今回分析した魚の汚染原因としてトレイよりラップフィルムの寄与が大きかったと考えられる。但し、これらの検体はいずれもトレイと魚が吸水用中敷きシートで隔てられていたために、トレイから魚へのNP移行が少なかった可能性も考えられる。HIPSトレイに直接接触した場合の魚へのNP移行については不明である。

市販魚のNP汚染についての報告はほとんどないが、英国の工業地帯河口で捕獲した6匹中3匹のカレイから5～55 ng/gのNPが検出されたことが報告されている⁵⁾。またNPの生物濃縮係数が40⁶⁾～1,300⁷⁾と比較的高いことから、魚のNP汚染原因には環境汚染由来の体内蓄積^{5)～7)}も考えられるが、今回の調査結果は、少なくとも市販魚中の高濃度のNPに関しては包装材からの移行が大きな汚染源である可能性を強く示唆するものである。

4. NP以外のアルキルフェノール及び2,4-ジクロロフェノールによる汚染

NP以外のアルキルフェノール及び2,4-ジクロロフェノールの分析結果を表3に示し

た。2,4-ジクロロフェノール, 4-tert-ブチルフェノール, 4-tert-ペンチルフェノール及び4-tert-オクチルフェノールが一部の試料から極微量検出された。最大値ははまちから検出された4-tert-オクチルフェノールの3.1 ng/gであった。これらのフェノール類は操作blankからも0.02 ~ 0.3 ng/g検出されたので、試料の測定値からそれらの値を差し引いて分析値を求めた。また、検出限界はblank値の変動から求めた。

上記以外のアルキルフェノール類(4-sec-ブチルフェノール, 4-n-ペンチルフェノール, 4-n-ヘキシルフェノール, 4-n-オクチルフェノール, 4-n-ノニルフェノール)は検出されなかった(検出限界: 0.01 ~ 0.04 ng/g)。

D. 結論

1) 市販魚を調査した結果, 35 検体中 24 検体から 9 ~ 800 ng/g の NP が検出された(検出限界 8 ng/g)。

2) 魚の NP 汚染には購入した店舗間で差が認められた。NP が検出された魚の包装に使用されたラップフィルムから NP が溶出したことから, ラップフィルムからの移行による汚染が示唆された。

3) 耐衝撃性ポリスチレン製トレイからも NP が溶出したが, 魚汚染との関連性は低かった。

4) 市販魚から NP 以外のアルキルフェノール類と 2,4-ジクロロフェノールは極微量検出されたに過ぎなかった。

E. 参考文献

1) 佐々木久美子, 高附 巧, 根本 了, 今中雅章, 衛藤修一, 村上恵美子, 豊田正武:

食品中のアルキルフェノール及び 2,4 -ジクロロフェノールの分析, 食衛誌, **40**, 460-472 (1999)

2) 河村葉子, 互井千恵子, 前原玉枝, 山田 隆: ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデン製品中の残存添加物, 食衛誌, **40**, 274-284 (1999)

3) 河村葉子, 前原玉枝, 飯嶋広代, 山田 隆: 食品用プラスチック製品及び玩具中のノニルフェノール, 食衛誌, **41**, 212-218(2000)

4) 川中洋平, 鳥貝 真, 尹 順子, 橋場常雄, 岩島 清: 食品包装用ラップフィルムからのノニルフェノール及びビスフェノールAの溶出, 環境化学, **10**, 73-78(2000)

5) Lye, C.M., Frid, C. L. J., Gill, M. E., Cooper, D. W., Jones, D. M., Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediments, and waters from the U.K. Tyne and Tees estuaries. Environ. Sci. Technol., **33**, 1009-1014(1999)

6) Lewis, S. K., Lech, J. J, Uptake, disposition, and persistence of nonylphenol from water in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) . Xenobiotica, **26**, 813- 819(1996)

7) Ekelund, R., Bergman, A., Granmo, A., Berggren, M., Bioaccumulation of 4-nonylphenol in marine animals. Environ. Pollut., **64**, 107-120(1990)

F. 研究発表

根本 了, 高附 巧, 佐々木久美子, 豊田正武: 市販魚中のノニルフェノールの分析, 食衛誌, **41**, 377-380(2000)