

ポリ塩化ビニル製手袋中の可塑剤及びノニルフェノールの溶出に関する研究

分担研究者 河村葉子 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第三室長

研究要旨

ポリ塩化ビニル製手袋には、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)及びノニルフェノールなどの化学物質が大量に残存している。これらの化学物質の中には生殖毒性や肝臓・腎臓への毒性が報告されているものがあり、また4種類すべての化学物質の内分泌かく乱作用が疑われている。さらに、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)については、コンビニ弁当や病院食への移行が問題となった。そこで、ポリ塩化ビニル製手袋に残存するこれら4種類の化合物について、食品擬似溶媒及びなたね油に対する溶出挙動を検討した。その結果、水、20%エタノール、4%酢酸による溶出試験では、溶出量は $0.005 \sim 0.416 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ とそれほど高くなかったが、*n*-ヘプタン(25 60分間)では、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が $1,410 \sim 2,500 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、フタル酸ジイソノニルが $720 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が $137 \sim 841 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、ノニルフェノールが $2.72 \sim 36.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ といずれの化合物についても極めて高い溶出が見られた。一方、なたね油60 30分間の溶出試験では、薄手手袋で*n*-ヘプタンの $1/2 \sim 1/4$ 、やや厚手の手袋では $1/4 \sim 1/10$ が溶出した。試験温度が高く、また試験時間が長いほど溶出量は多くなったが、低温や短時間でもかなり大量の溶出が見られた。以上よりポリ塩化ビニル製手袋を油脂または脂肪を含有する食品に使用すると、残存するフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)だけでなく、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)、ノニルフェノールも大量に食品へ移行することが示唆された。

A．研究目的

ポリ塩化ビニル製手袋には、可塑剤のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)を大量に含有しているが、そのほかにフタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)、酸化防止剤の分解物であるノニルフェノールも高濃度に残存している^{1),2)}。

これらの化合物のうち、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)はラット及びマウスの輸精管萎縮やセルトリ細胞の空洞化³⁾、精巢の病理的損傷⁴⁾、胚致死、胎仔の形質異常⁵⁾などの生殖発生毒性、フタル酸ジイソノニルはラットの肝臓及び腎臓の肥大、病理所見の変化などの慢性毒性⁶⁾が報告されてい

る。また、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)、ノニルフェノールは、いずれも内分泌かく乱作用が疑われている^{7),8)}。

これらの化合物は、ポリ塩化ビニル製手袋中の残存量が極めて高いため、食品と接触して使用した場合には食品への高濃度の移行が懸念された。さらに、前報²⁾において、ポリ塩化ビニル製手袋中のノニルフェノールが*n*-ヘプタンに極めて容易に溶出することが示された。

そこで、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)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)、ノニルフェノールについて、食品衛生法に準じた食品擬似溶媒による溶出試験とともに、ナタネ油を用いて実際の使用状況を考慮した様々な溶出温度及び時間による溶出試験を実施し、油脂または脂肪を含有する食品への溶出挙動を明らかにしたので報告する。

B．実験方法

1．試料

ポリ塩化ビニル製手袋 3検体 (No.1及び2は薄手の使い捨て、No.3はやや厚手)

2．試薬

フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)：特級(98.0%以上及び99.0%以上)、東京化成工業(株)製

フタル酸ジイソノニル：異性体の混合物

(99%以上)、Aldrich社製

ノニルフェノール：異性体の混合物、東京化成工業(株)製

フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₄ (フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₄)：環境分析用、和光純薬工業(株)製

アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₆ (アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₆)、4-*n*-ノニルフェノール-2,3,5,6-*d*₄ (ノニルフェノール-*d*₄)：環境分析用、関東化学(株)製

内標準溶液：フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₄、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₆及びノニルフェノール-*d*₄各10 mgを*n*-ヘキサンに溶解して10 mLとした。これを*n*-ヘキサンで50倍に希釈し内標準溶液とした(20 µg/mL)。

酢酸：精密分析用、和光純薬工業(株)製

食用ナタネ油：日清キャノーラ油、日清製油(株)製

n-ヘキサン、アセトニトリル、無水硫酸ナトリウム：残留農薬用、和光純薬工業(株)又は片山化学工業(株)製

水：MILLI-Q SP(Millipore社製)により精製した超純水。ナタネ油溶出試験には*n*-ヘキサンで洗浄後使用した。

ポリスチレン固相カートリッジ：GL-Pak PLS-2、270 mg/6 mL、ジーエルサイエンス(株)製

6%含水フロリジル：Florisil PR、Wako Chemicals USA社製を、200 で一晩加熱後デシケーター中で放冷し、6%になるように水を加えた後、よく振り混ぜて調製し

た。

フィルター：サンプレップLCR13-LH（孔径0.5 μm、直径13 mm）Millipore社製

塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム、ガラスウールは200 で一晩加熱後使用した。

3．装置及び器具

ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)
：ガスクロマトグラフ HP-6890、質量分析計 HP-5973、コンピューター Kayak XA
以上Hewlett Packard社製

減圧遠心濃縮器：CVE-100 東京理化器械(株)

ガラス器具：ナタネ油溶出試験用は200 で一晩加熱後使用した。

4．GC/MS測定条件

カラム：キャピラリーカラム DB-1(内径0.25 mm、長さ5 m、膜厚0.1 μm)、J&W Scientific社製の長さ30 mのカラムを5 mに切断したもの。

カラム温度：50 - 20 /min - 300

注入口温度：250

トランスファーライン温度：280

キャリアーガス：He、3.0 mL/min(1 psi 定圧)

注入量：1 μL

イオン化電圧：70 eV

イオン加速電圧：2.0 kV

測定モード：SIM (m/z 107, 121, 129, 135, 137, 149, 153)

5．材質試験法

はさみで細切した試料0.5 gに、シクロ

ヘキサン - 2-プロパノール(1:1)混液10 mLを加え、37 で一晩静置後メンブランフィルターでろ過して試験溶液とした。試験溶液は*n*-ヘキサンにより適宜希釈し、GC/MS-SIMにより定量を行った。

6．食品擬似溶媒による溶出試験法

試料から3×8.3 cmの試験片(両面で50 cm²)を作成し、試験温度に保った溶出溶媒50 mLに浸漬した後、恒温チャンバーに静置して溶出試験を行った。試験条件は、水60 及び95 30分間、20%エタノール及び4%酢酸60 30分間、*n*-ヘプタン25 60分間及びナタネ油60 30分間とした。

水及び4%酢酸を用いた溶出液は、ポリスチレン固相カートリッジに全量を負荷して5分間通気し、アセトニトリル5 mLで溶離した後、減圧下1 mLに濃縮して試験溶液とした。20%エタノールを用いた溶出液は、同量の水で希釈した後、水溶出液と同様に試験溶液を調製した。また、*n*-ヘプタンを用いた溶出液は1 mLまで減圧濃縮して試験溶液とした。ただし、ナタネ油を用いた溶出液は次項により調製した。

7．ナタネ油溶出液からの試験溶液の調製

ナタネ溶出液を2.0 gとり、内標準溶液0.5 mLを添加した後よく混和した。*n*-ヘキサン20 mLを用いて分液漏斗に移し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回抽出した。10%塩化ナトリウム溶液250 mLを入れた分液漏斗に、アセトニトリル層を加えて混和した後、*n*-ヘキサン100 mLで2回

抽出した。無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧下約5 mLに濃縮した。直径1 cmのガラスカラムに6%含水フロリジルを*n*-ヘキサンを用いて湿式充填し、その上に無水硫酸ナトリウムを層積した。このカラムに濃縮液を負荷し*n*-ヘキサン50 mLで洗浄後、1%アセトニトリル/*n*-ヘキサン50 mLで溶離した。溶離液は減圧下1 mLに濃縮し、GC/MS/SIMで定量した。

8 . 食用ナタネ油による簡易溶出試験法

試料から3×3 cmの試験片(両面で18cm²)を作成し、溶出温度に保ったナタネ油3.0 g(3.3 mL)に浸漬した後、恒温チャンバー又は冷蔵庫に静置して溶出試験を行った。溶出条件は5、25、40、60、95 で5分間、及び60 で0.5、5、10、30分間とした。

C . 研究結果及び考察

1 . 定量法

化合物の定量はGC/MS/SIMで行ったが、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)は*m/z* 149、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)は *m/z* 129を定量用イオンとした。また、フタル酸ジイソノニルは多数の異性体の混合物であるが、これらのピークが近接しているため1本のピークとみなし、*m/z* 149のピーク面積の合計で定量した。一方、ノニルフェノールも多数の異性体の混合物であるが、ピークがやや分離していることから、前報⁸⁾に従い6本のピークを用いて定量した。

2 . ポリ塩化ビニル製手袋中の残存量

今回使用した3種類の手袋中のフタル酸

ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)、ノニルフェノールの残存量を表1に示した。すべての手袋から、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が261,000~371,000 µg/g、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が21,100~75,500 µg/g、ノニルフェノールが356~2,390 µg/g検出され、手袋2からはそのほかフタル酸ジイソノニルが101,000 µg/g検出された。なお、試料の単位面積あたりの重さは、各々7.50、6.82、23.89 mg/cm²であった。

3 . 食品擬似溶媒による溶出試験

食品衛生法に準じ、水、20%エタノール、4%酢酸、*n*-ヘプタンによる溶出試験を行った(表2)。いずれの条件においても、手袋中に残存する4種類の化合物すべての溶出が認められた。

水系溶媒を用いた水60 及び95 、20%エタノール及び4%酢酸における溶出量は、4%酢酸でやや高く、また温度が高く、極性が高い方がやや多い傾向はみられたもののほぼ近似した値を示し、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が0.034~0.416 µg/cm²、フタル酸ジイソノニルが0.054~0.066 µg/cm²、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が0.009~0.069 µg/cm²、ノニルフェノールが0.005~0.122 µg/cm²であった。フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)とノニルフェノールでは材質中濃度が140~730倍異なることから、水系溶媒ではノニルフェノールの方が溶出しやすいと考えられた。

一方、油脂及び脂肪性食品の擬似溶媒である*n*-ヘプタンではフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が1,410~2,500 µg/cm²、フタル酸ジイソノニルが720 µg/cm²、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が137~841 µg/cm²、ノニルフェノールが2.72~36.4 µg/cm²と極めて高い溶出がみられた。

薄手の手袋1及び2では、いずれの化合物も残存量の80%以上とほぼ全量が溶出していたが、やや厚手の手袋3ではフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)は残存量の30%程度であった。これは、薄手の試料では溶媒が試料の中心部まで浸透し、ほぼ全ての残存物質を溶出させるのに対し、厚手の試料では浸透可能な表面に近い残存物質のみを溶出させるためと推定された。

n-ヘプタンにおけるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)の溶出量は、水60 30分間の数万倍、ノニルフェノールでも数百倍に達し、手袋1 cm²あたりの総溶出量はおよそ3 mgであった。

4. ナタネ油溶出試験法の検討

上記の*n*-ヘプタンによる溶出試験結果は、これらの化学物質が油脂及び脂肪性食品に高濃度に移行することを予測させた。そこで、実際の食用油脂への移行量、及び接触温度や接触時間との関連を明らかにするために、油脂を用いた溶出試験を行うこととした。

当初、油脂としてヨーロッパで総移行試験の食品擬似溶媒に用いられているオリ-

ブ油を検討した。しかし、試薬として販売されていた2社のオリーブ油はいずれも微量のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)を含有しており、本試験に使用することはできなかった。そこで、市販の食用ナタネ油を検討したところ、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)の混入がほとんど認められず、溶出溶媒として使用可能であった。

ナタネ油溶出液からの試験溶液の調製は、アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配で脂肪を除去し、6%含水フロリジルカラムでさらに精製を行った。

本法を用いて添加回収試験を行ったところ、表3に示すように、回収率は5 µg/g添加で46.1~74.6%、500 µg/g添加で59.1~86.8%と可塑剤ではやや低かった。そこで、各化合物の重水素置換体(サロゲート)を内標準物質として各5 µg/g添加し回収率の補正を行ったところ、94.8~103.5%及び88.5~106.4%といずれも良好な結果が得られた。なお、フタル酸ジイソノニルのサロゲートが入手出来なかったことから、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)-*d*₄により補正を行った。

以上の結果から、内標準物質を添加して試験溶液の調製を行い、測定値は内標準物質で補正することとした。また、内標準物質の添加量は、測定対象物とほぼ同程度が望ましいが、溶出液中の存在量には大きな開きがあり、必ずしも予測できない。また、対象化合物を500 µg/g添加しても良好な結果が得られたことから、ナタネ油2.0 gに

対して10.0 μgの割合で添加することとした。

5. ナタネ油による溶出試験

食用なたね油を用い、他の食品擬似溶媒と同様の方法で60 30分間の溶出試験を行った。表2に示すように、なたね油60 30分間の溶出量は、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が377~680 μg/cm²、フタル酸ジイソノニルが279 μg/cm²、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が63.0~123 μg/cm²、ノニルフェノールが1.56~8.53 μg/cm²であった。これらの溶出量は薄手の手袋1及び2では*n*-ヘプタン25 60分間の1/2~1/4、やや厚手の手袋3では1/4~1/10に相当した。

6. ナタネ油簡易試験法による試験温度及び時間の影響の検討

なたね油溶出試験において、試験後の廃棄する油量を減らし、かつ、検出感度を高めるため、試験片の大きさを1/3、油量を1/17にした簡易試験法を設定した。この試験法を用い、手袋2及び3を対象として、手袋の使用実態を考慮した5~95 で5分間、及び60 で0.5~30分間の溶出試験を行った(表4)。本試験の60 30分間の溶出量とこれまでの方法の溶出量を比較すると、近似した値が得られ、溶出試験としてほぼ同等であることが示された。

本試験法により5、25、40、60及び95 で5分間の溶出試験を行うと、試験温度が高いほど溶出量は多くなり、95 ではフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) 309及び278 μg

/cm²、フタル酸ジイソノニル 167 μg/cm²、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル) 101及び53.6 μg/cm²、ノニルフェノール 1.28及び5.85 μg/cm²に達した。しかし、5 でも、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) 55.3及び17.7 μg/cm²、フタル酸ジイソノニル 26.5 μg/cm²、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル) 15.1及び4.59 μg/cm²、ノニルフェノール0.17及び0.38 μg/cm²とかなり多い移行が見られた(図1, 2)。

また、60 で0.5、5、10及び30分間の溶出試験においても、試験時間が長いほど溶出量は多かったが、溶出速度は短時間の方が大きかった。0.5分間ではフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) 113及び56.5 μg/cm²、フタル酸ジイソノニル 68.5 μg/cm²、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル) 36.7及び10.9 μg/cm²、ノニルフェノール 0.41及び1.14 μg/cm²と極めて短時間の接触でも大量に移行することが示された(図3, 4)。

さらに、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)及びノニルフェノールのなたね油への溶出量を比較すると、試験条件に関わらずほぼ一定の比率で溶出しており、材質中の残存量の比率ともほぼ一致していた。

水系溶媒では親水性の高いノニルフェノールの方が溶出しやすいにもかかわらず、*n*-ヘプタンやなたね油ではすべての化合物が同じ溶出挙動を示す原因として、大量のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が溶出する

ため、他の化合物はそれにひきずられるもしくは巻き込まれるように、同時に溶出するためと推測された。

D. 結 論

ポリ塩化ビニル製手袋に大量に残存する可塑剤のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)及び酸化防止剤分解物のノニルフェノールの溶出について検討した。

これらの化合物は、水及び20%エタノールの溶出試験において、すべての化合物が0.005~0.416 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の範囲で溶出した。さらに、*n*-ヘプタンによる溶出試験では、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が1,410~2,500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、フタル酸ジイソノニルが720 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)が137~841 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、ノニルフェノールが2.72~36.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と極めて大量に溶出した。これは薄手の手袋では残存量のほぼ全量が溶出したことを示した。

食用なたね油を用いて溶出試験を行ったところ、60~30分間の溶出量は、*n*-ヘプタン25~60分間と比較して、薄手の手袋では1/2~1/4、やや厚手の手袋では1/4~1/10に相当した。なたね油への溶出量は接触温度が高く、また接触時間が長いほど多かったが、5~5分間といった低温短時間でも、総溶出量は数十 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ とかなり多かった。

このようにポリ塩化ビニル製手袋は食品と直接接触して使用すると、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)をはじめ、フタル酸ジイ

ソノニルが、アジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)及びノニルフェノールのいずれもが、油脂及び脂肪性食品に移行することが示された。

津村らは、コンビニ弁当や病院食でフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)による高濃度の汚染がみられることを報告し、それがポリ塩化ビニル製手袋に由来することを明らかにした⁹⁻¹¹⁾。そこで、厚生省は、平成12年6月14日、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)を含有するポリ塩化ビニル製手袋については食品に使用しないよう通知した¹²⁾。

器具・容器包装から、大量の化学物質、しかもその安全性に疑義がある物質が食品に移行することは食品衛生上望ましくないことである。ポリ塩化ビニル製手袋の食品用途への使用の回避が徹底されることを期待するとともに、それ以外の化学物質についても移行量の低減が期待される。

一方、*n*-ヘプタンによる溶出試験は、溶出力が強過ぎて、実際の油脂による溶出量とかけ離れているのではないかという疑念が出されることがある。今回の結果において、*n*-ヘプタンの溶出量はなたね油に比して数倍程度高かったが、溶出試験は実際の使用条件よりやや厳しい方が望ましい。しかも、*n*-ヘプタンによる試験は、油脂による試験と比較して、操作がはるかに簡便である。そのため、ポリ塩化ビニル製手袋の溶出試験における油脂及び脂肪性食品の食品擬似溶媒としては、*n*-ヘプタンが適当であるということが改めて確認された。

E . 参考文献

- 1) 河村葉子、互井千恵子、前原玉枝、山田隆、食品衛生学雑誌, **40**, 274-284 (1999).
- 2) 河村葉子、前原玉枝、飯島広代、山田 隆、食品衛生学雑誌, **41**, 212-218 (2000).
- 3) Poon, R., Lecavalier, P., Mueller, R., Valli, V.E., Procter, B.G., Chu, I., Subchronic oral toxicity of di-*n*-octyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate in the rat. Food Chem. Toxicol., **35**, 225-239 (1997).
- 4) Arcadi, F.A., Costa, C., Imperatore, C., Marchese, A., Rapisarda, A., Salemi, M., Trimarchi, G.R., Costa, G., Oral toxicity of bis(2-ethylhexyl) phthalate during pregnancy and suckling in the Long-Evans rat. Food Chem. Toxicol., **36**, 963-970 (1998).
- 5) Morrissey, R.E., Harris, M.W., Schwetz, B.A., Developmental toxicity screen: Results of rat studies with diethylhexyl phthalate and ethylene glycol monomethyl ether. Teratogenesis Carcinog. Mutagen., **9**, 119-129 (1989).
- 6) Lington, A.W., Bird, M.G., Pluntnick, R.T., Stubblefield, W.A., Scala, R.A., Chronic toxicity and carcinogenic evaluation of diisononyl phthalate in rats. Fundam. Appl. Toxicol. **36**, 79-89 (1997).
- 7) 環境庁環境保健部環境安全課 ” 環境ホルモン戦略計画 SPEED '98”, 1998, p.23.
- 8) Harries, C.A., Henttu, C.A., Parker, M.G., Sumpter, J.P., The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. Environ. Health Perspect., **105**, 802-811 (1997).
- 9) 津村ゆかり、石光進、中村優美子、吉井公彦、岡田 舞、外海泰秀、食品衛生学雑誌, **41**, 254-260 (2000).
- 10) 津村ゆかり、石光進、開原亜樹子、外海泰秀、酒井洋、小林ゆかり、斎藤 勲：日本食品衛生学会第79回学術講演会講演要旨集、p.43 (2000)。
- 11) 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所食品試験部、平成11年度食品等試験検査費研究報告書 市販弁当（いわゆるコンビニ弁当）におけるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)の移行(2000)。
- 12) 厚生省生活衛生局食品化学課長通知 ” 塩化ビニル製手袋の食品への使用について ” 平成12年6月14日。

F . 研究発表

1 . 論文発表

河村葉子、前原玉枝、和久井千世子、山田 隆「ポリ塩化ビニル製手袋中の可塑剤及びノニルフェノールの溶出」食品衛生学雑誌、**41**, 330-334 (2000)

2 . 学会発表

河村葉子、前原玉枝、飯嶋広代、山田 隆「ポリ塩化ビニル製ラップフィルム及び手袋中の残存物質の溶出試験」日本食品衛生学会第79回学術講演会(2000.5, 東京)