

平成10年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

内分泌かく乱物質の食品、食器等
からの曝露に関する調査研究

報 告 書

主任研究者	齋藤 行生	国立医薬品食品衛生研究所
分担研究者	山田 隆	国立医薬品食品衛生研究所
	豊田 正武	国立医薬品食品衛生研究所
	外海 泰秀	国立医薬品食品衛生研究所
	宮崎 奉之	東京都立衛生研究所
	渡辺 悠二	東京都立衛生研究所

— 目 次 —

総括研究報告書

- 齋藤行生 (国立医薬品食品衛生研究所)

分担研究報告書

- 山田 隆 (国立医薬品食品衛生研究所)
 - ・ おもちゃ、ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究
 - ・ ポリスチレン製器具・容器等のスチレンダイマー及びトリマーに関する研究
- 豊田正武 (国立医薬品食品衛生研究所)
 - ・ フタル酸エステル等の暴露に関する調査研究
 - 食品経路一日摂取量等に関する調査研究 —
 - ・ 食品中のアルキルフェノール化合物及び2, 4-ジクロロフェノールの含有量に関する調査研究
 - ・ 魚介類のトリブチルスズ、PCB、DDT等による汚染に関する調査研究
 - ・ 食品中の有機塩素系農薬に関する調査研究
- 外海泰秀 (国立医薬品食品衛生研究所)
 - ・ 食品中の植物エストロゲンに関する調査研究
- 宮崎奉之 (東京都立衛生研究所)
 - ・ 畜水産食品中の内分泌攪乱作用物質残留実態調査
- 渡辺悠二 (東京都立衛生研究所)
 - ・ ビスフェノールA等フェノール化合物の暴露に関する調査研究
 - ポリカーボネート食器、食品缶詰等からの溶出に関する調査研究 —

総括研究報告書

内分泌攪乱物質の食品、食器等からの 曝露に関する調査研究

主任研究者

齋藤 行生

内分泌かく乱化学物質の食品、食器等からの曝露に関する調査研究

主任研究者 齋藤 行生 国立医薬品食品衛生研究所 副所長

研究要旨 内分泌系をかく乱する化学物質に対する曝露は主として経口によると考えられる。そこで生活環境中に比較的多く検出される化学物質のうち内分泌系をかく乱すると考えられている物質、フタル酸エステル類、有機スズ化合物、イソフラボン類、肥育ホルモン、ビスフェノールA等フェノール化合物をとりあげ分析法に関する検討及び実態調査を行った。その結果、食品中のフタル酸エステルの分析については重水を利用する分析法を検討しバックグラウンド値を精度よく差し引く方法を工夫した。更に歯がため及びおもちゃから経口的に乳幼児が直接摂取するフタル酸エステル類のレベル推計する方法を検討した。スチレンダイマー及びトリマーのポリスチレン製品中の残留量は平均7,920 μ g/gであったが、食品擬似溶媒への溶出は、水60 $^{\circ}$ C、30分では見られなかった。PCBの検出率は96%で殆どの魚介類から検出されたが、養殖魚では濃度が低く、且つ地域差よりは魚種による差が大きいことが明らかとなった。DDT及びHCH等は東京湾や瀬戸内海の内海産の魚介でレベルが高い傾向にある。植物エストロゲンの摂取量はゲニン体として算出したところ27.5mgであった。肥育ホルモンの摂取量はFAO/WHO合同食品添加物専門家会議で提案されているADIから判断すると問題となる量ではないと思われる。ポリカーボネート製品から溶出するビスフェノールAは95 $^{\circ}$ C、30分で0.2~68.1ng/mlであった。又、給食時児童が1人当たり約0.15 μ g/kg/回と推計された。

分担研究者名

山田 隆 国立医薬品食品衛生研究所

豊田 正武 国立医薬品食品衛生研究所

外海 泰秀 国立医薬品食品衛生研究所

大阪支所

宮崎 奉之 東京都立衛生研究所

渡辺 悠二 東京都立衛生研究所

モン（エストラジオール-17 β 、プロゲステロン及びテストステロンへの牛肉経由の曝露）、トリブチルスズ、PCB、DDT、（魚介類経由の曝露）、スチレンダイマー及びトリマー（ポリスチレン製食器等からの溶出と食品経由の曝露）、有機塩素系農薬、及び植物エストロゲンをとり挙げ、必要な場合には分析法を確立し、これらの物質に対する曝露量を推計し衛生行政上の基礎資料とする。

A. 研究目的

内分泌かく乱物質に対する曝露の量を明らかにすることは、衛生行政上の対策の第一歩である。本研究においては、生活環境中に頻繁に現れる化学物質のうち、内分泌かく乱性が疑われている以下の物質、即ちフタル酸エステル類（食品経由曝露、おもちゃや食器からの曝露）、ビスフェノールA等フェノール化合物（食品経由の曝露、ポリカーボネート製食器、食品缶詰等からの溶出）、肥育ホル

B. 研究方法

◇ フタル酸エステル類は、操作ブランク中に分析環境からの汚染レベルが高く均質なデータが得にくい。そこで重水素ラベルしたフタル酸エステルを内部標準として分析することとした。

◇ スチレンダイマー及びトリマーは、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合

樹脂（ABS樹脂）及びアクリロニトリル・スチレン共重合樹脂（AS樹脂）を試料として、材質試験（含有量試験）、溶出試験（食器として使用する場合の溶出量分析）及び即席食品への移行などを調理後調査した。測定機器は水素イオン化検出器ガスクロマトグラフ（FID-GC）及びGC-MSである。

◇ トリブチルスズ及びPCB等では、東北北海道海域、東京湾、瀬戸内海、若狭湾及び琵琶湖で捕獲された魚介類30種につき、有機スズ化合物 TBT、DBT、TPT、及びDPT、PCB、塩素系農薬、*p, p'*-DDD、*p, p'*-DDE、*o, p'*-DDE、*p, p'*-DDT、*o, p'*-DDT、 α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、ヘキサクロロベンゼン（HCB）、アルドリン、ディルドリン及びヘプタクロルエポキシド等を分析した。有機スズはFPD-GCで、有機塩素系化合物はECD-GC或いはGC-MSで測定した。

◇ 植物エストロゲン9種(daidzin, daidzein, glycitin, glycitein, genistin, genistein, equol, formononetin, biochaninA)の食品中（大豆、大豆加工品等12種、48試料）の分析を行った。測定器としてHPLCを用いた。

◇ 牛肉中の肥育ホルモンとしてエストラジオール-17 β 、プロゲステロン、テストステロンの牛肉中の含有量を調べた。方法としては、アセトニトリル・メタノール抽出、ヘキサン洗浄、減圧乾固、Sep-pakRC18カートリッジ及びBond Elute DFA カートリッジによる精製RIAによる測定を順次行う。

◇ フェノール化合物分析については、ビスフェノールAに関してはHPLCでアルキルフェノール、オクチルフェノール等の場合にはGC-MSにて同時分析を実施した。

C. 結果と考察

フタル酸エステルに対する食品経由の暴露量を明らかにすることは、バックグラウンドレベルが高く精度の高い分析は困難である。しかし、重水素を標識した標準品を利用することにより、バックグラウンドレベルを精度高く差し引くことができるようになった。暴露量に関しては、更に例数を増やして推計することが望ましい。おもちゃや歯がためからの乳幼児への暴露量を正しく評価するために成人のボランティア3人による予備実験を行い、唾液1mlあたり5.7~11.1 μ g/15分(4回実験結果)のフタル酸ジイソノールが溶出した。

そこで人工唾液を使って、人が実際に口に入れる実験を行うことなく *in vitro* 溶出実験で上記の実験結果に近い溶出量を推計できる条件を得るために、人工唾液を使い水平方向のサークル振とう、及び縦振とうを速度を変えて行った。その結果毎分300回の縦振とうでもっとも多量に溶出し、15分間で平均9.9 μ g/ml、60分間では35.8 μ g/mlであることが判明した。更に検討を繰り返して、振とう時間を決定する必要がある。

スチレンダイマー及びトリマーのポリスチレン製品中の残存量は平均7,920 μ g/gであった

が、食品擬似溶媒への溶出量は、水60 $^{\circ}$ C30分間では溶出は見られなかった。

TBTは海産魚120検体中90検体から（検出率75%、ND~116ppb、平均19ppb）、タチウオ、ハマチ、スズキ、セイゴ、タイで50ppb以上と比較的高い濃度であった。

淡水魚介類では15検体中10検体から検出され検出率は71.7%（ND~7ppb、平均1.8ppb）であった。TPTは海産魚120検体中19検体から検出され検出率は40.8%（ND~73ppb、平均5.7ppb）でアジ、スズキ、ボラで比較的高い濃度であった。

今回調査した魚から検出された全ての化合物濃度は概ね過去に調査した魚介の分析値と大差のないレベルであった。即ち、TBTは検出率75.0%、濃度範囲ND~116ppb、平均19ppb、DBTは検出率43.3%、濃度範囲ND~33ppb、平均2.3ppb、TPTは検出率40.8%、濃度範囲ND~73ppb、平均5.7ppbであり、DBTはいずれの検体からも検出されなかった。これら検出有機スズ化合物濃度は、タチウオ、ハマチ、スズキ、セイゴ、アジ及びボラ等で比較的高かった。地区別では瀬戸内海で捕獲された魚介中の濃度が最も高かった。天然魚と養殖魚を比較すると養殖魚ではTBTによる汚染頻度が高かった。PCBは検出率96.0%でほとんどの魚介から検出され、濃度範囲ND~472ppb、平均38ppbであった。養殖魚では濃度は低く、地域差よりも魚種による差が大きく、アジ、ハタハタ、セイゴ、タチウオで高かった。DDTはかなりの魚介より検出され、最大70ppbであった。HCHは最大17ppbで、ディルドリンは最大6ppbであった。これら有機塩素系農薬汚染には地域差が見られ、東京湾や瀬戸内海の内海産の魚でレベルが高い傾向にある。また琵琶湖産の一部の魚も汚染されていた。

植物エストロゲン9種の大豆及び大豆加工食品中の含有量を推計し、日本人の大豆及びその加工食品からの植物エストロゲンの摂取量を遊離型（ゲニン）として算出するとdaidzin 1.01mg、glycitein 2.28mg、genistein 13.46mg、計27.75mgである。これら植物エストロゲンには内分泌系かく乱性等の有毒作用と、がん、心臓血管系疾患や骨粗鬆症等の予防効果も観察され、今後更に有害性と有用性のバランスのうえに好ましい摂取量を定める必要がある。

牛肉中の肥育ホルモン量を確立した高感度分析法で調べたところFAO-WHO合同食品添加物専門家会議で提案されているADIから判断すると今回得られたレベルから算定されるADIは問題となる値ではないことが判明した。

ポリカーボネート製食器から溶出するビスフェノールAは95 $^{\circ}$ Cの水30分間で0.2~68.1ng/mlであった。又エポキシ樹脂のハシではND~369ng/mlであった。ポリカーボネート給食器からは0.4~120ng/mlの範囲でビスフェノールAの溶出が認められた。なお給食時におけるビスフェノールAの摂取量は児童1人当たり約0.15 μ g/kg/回と推測される。

ほ乳びんからの乳幼児のビスフェノールAの摂取量は約0.04 μ g/kg/日と推定される。

魚介類及び肉類からノニルフェノールが検出されており、それぞれ10～723ng/g、0.3～180ng/gであった。

D. 結論

上記、各調査の研究は短時間のしかもきわめて限られた範囲の試料中の各内分泌かく乱物質の分析である。今後、更にサンプリング範囲を広げて調査研究することが必要であろう。

(別添)

研究課題の構成は以下の通り

「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」

1. フタル酸エステル等の暴露に関する調査研究
 - ・食品経由一日摂取量等に関する調査研究
 - ・おもちゃ、ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究
2. ビスフェノールA等フェノール化合物の暴露に関する調査研究
 - ・食品中のアルキルフェノール化合物及び2, 4-ジクロロフェノールの含有量に関する調査研究
 - ・ポリカーボネート食器、食品缶詰等からの溶出に関する調査研究
3. 肥育用ホルモン等の畜水産食品中の残留に関する調査研究
 - ・畜水産食品中の内分泌攪乱作用物質残留実態
 - ・魚介類のトリブチルスズ、PCB、DDT等による汚染に関する調査研究
4. その他内分泌かく乱物質の暴露に関する調査研究
 - ・ポリスチレン製器具・容器等のスチレンダイマー及びトリマーに関する研究
 - ・食品中の有機塩素系農薬に関する調査研究
 - ・食品中の植物エストロゲンに関する調査研究

分担研究報告書

- ・ おもちゃ、ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究
- ・ ポリスチレン製器具・容器等の
スチレンダイマー及びトリマーに関する研究

分担研究者

山田 隆

分担研究報告書

1. フタル酸エステル等の暴露に関する調査研究

②おもちゃ、ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

分担研究者 山田隆 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨 内分泌かく乱作用を疑われている物質のうち、フタル酸エステル類について、それらの暴露量を知る目的で溶出試験を行った。食器や器具では、ポリ塩化ビニルが使われている製品は現在市販されていないと考えられるが、その他の材質の製品のの一部からフタル酸エステル類が検出された。フタル酸エステル類は水にはほとんど溶出しなかった。ポリ塩化ビニル製の玩具に関しては、乳幼児が、それらをどの程度口に含むかを知る目的で、幼児の行動に関する予備実験を行った。また、その際、幼児唾液中にどの程度溶出するかを知るため、成人有志による予備実験を行った。また、前記の成人有志による試験を代替しうる溶出試験の条件を見つけるための研究を行った。

協力研究者

乳児MOUTHING行動の実態調査

谷村雅子 (国立小児病院 小児医療研究センター)

ポリ塩化ビニルおもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

杉田たき子 (国立医薬品食品衛生研究所)

石橋亨 (東京顕微鏡院 食品・環境科学センター)

松木容彦 (食品薬品安全センター 秦野研究所)

平山クニ (神奈川県衛生研究所)

佐伯政信 (千葉県衛生研究所)

ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

食品関係に使用するゴム製品、紙製品、塗製品等に含まれるフタル酸エステルの実態

馬場二夫 (大阪市立環境科学研究所)

平山クニ (神奈川県衛生研究所)

フタル酸エステルのポリエチレン、ポリプロピレン製容器包装からの溶出に関する調査研究

石井里江, 堀江正一, 小林進 (埼玉県衛生研究所)

A. 研究目的

内分泌かく乱作用を疑われている物質のうちで、食品に接触する器具や容器、玩具からの溶出が疑われる物質としては、フタル酸エステル類がある。これらのうち、ポリ塩化ビニル製の器具や容器から、どの程度フタル酸エステル類が食品に溶出するのかについての情報が必要である。

乳幼児は、内分泌かく乱化学物質に対して、特に感受性が高い可能性があることから、乳幼児がフタル酸エステル類を摂取する可能性がある、ポリ塩化ビニル製の玩具を乳幼児が口に入れた際、どの程度のフタル酸エステル類を摂取することになるのかについての情報も必要である。このためには、まず、乳幼児が、どの程度玩具等を口に入れるのか？その際、唾液中に、どの程度フタル酸エステル類が溶出してくるのか？を知る必要がある。また、ヒトによる実験を代替しうる溶出試験法の開発も必要である。

B. 研究方法

1. ポリ塩化ビニルおもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究では、調査対象エステル類は、以下の11種類とした。

- 1) フタル酸ジエチル (DEP)
- 2) フタル酸ジプロピル (DPP)
- 3) フタル酸ジ-n-ブチル (DBP)
- 4) フタル酸ブチルベンジル (BBP)
- 5) フタル酸ジヘキシル (DHP)
- 6) フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP)
- 7) フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)
- 8) フタル酸ジ-n-オクチル (DOP)
- 9) フタル酸イソノニル (DINP)
- 10) フタル酸ジイソデシル (DIDP)
- 11) アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル (DEH

A)

乳幼児がポリ塩化ビニル製の玩具をどの程度口に入れ、玩具からどの程度のフタル酸エステルを摂取するかを検討するため、3-12ヶ月児50名を対象とした、母親による、15分ずつ10回の家庭でのMOUTHING行動を観察、記録してもらい、その合計時間を算出した。ビデオ記録による方法も採用した。

また、成人の有志に玩具から切り取った試験片 (15 cm² DINP含量58%) を15分間ずつ4回口に含んでもらい、その唾液中に溶出するフタル酸エステルを定量する、予備的実験を行った。

多数の試料からの溶出状況を知るためには、ヒトが口に入れる実験を行うことなく、*in vitro*の溶出実験で上記の実験結果に近いフタル酸エステル類の溶出量を得る条件を知ることが必要である。そこで、種々に条件を変えて、溶出実験を行った。溶出は、人工唾液を使い、40℃で行った。

また、玩具に、どのようなフタル酸エステルが含まれているかを知る目的で、材質試験を行った。

2. ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究では、調査対象フタル酸エステル類は、前項と同じ11種類とした。

試料としては、関東及び近畿圏でポリエチレン及びポリプロピレン製の食品用器具・容器包装を主とした家庭用品194検体を購入した。これらについて、材質試験を行い、フタル酸エステル類が検出された試料について、食品疑似溶媒への溶出試験を行った。溶出液は、n-ヘプタン溶液についてはそのまま、その他の溶液については、ヘキサンへ転溶させ、ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS) で定性・定量を行った。

C. 研究結果

1. ポリ塩化ビニルおもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

3-12ヶ月児50名の1日あたりのMOUTHING時間は、平均180分±87分(活動時間の31.5%)、中央値161分、最小28分、最大389分と推定され、数名のビデオ記録からも妥当な数値と考えられた。口に入れる時間や、対象物は、年齢とともに変化した。

大人が、口に入れる実験では、3人で予備実験を行った結果、15分間ずつ4回の実験で、104~267 μ g、唾液1 mlあたり5.7~11.1 μ gのDINPが溶出した。

溶出試験の振とう方法は、水平方向のサークル振とう、縦振とうを速度を変えて行い、超音波洗浄機を用いた溶出も試みた。その結果、毎分300回の縦振とうで、もっとも多量に溶出し、15分間で平均9.9 μ g/ml、60分間では35.8 μ g/mlであった。

2. ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

材質試験の結果は、194検体中、6検体からフタル酸エステルが検出された。複数のフタル酸エステルが検出された試料もあり、ポリエチレン製品2検体からはDBP (18.7, 74.4ppm)が検出された。ポリプロピレン製品3検体からはDBP (19.1, 33.7, 56.8ppm)が検出され、そのうち2検体からDEHP (7.8, 90.3ppm)が検出された。ポリ塩化ビニル部品1検体からはDBP (6.9ppm)、DEHP (599.0ppm)、DEHA (365.0ppm)が検出された。食品疑似溶媒への移行は、水・室温ではほとんど移行しなかった。ヘプタンへはいずれの試料とも移行(3.8~70.9%)が確認された。

D. 考察

1. ポリ塩化ビニルおもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

MOUTHING時間は、オランダの報告と大きく異なるため、おしやぶり以外の玩具や玩具以

外のもののMOUTHING時間が最も長いと考えられる6-10ヶ月児を対象とした、客観的な詳細な調査が必要である。

ヒトの口中での溶出実験は、もっと例数を増やして検討する必要がある。その結果と似たような溶出量を示すin vitro試験の方法としては、今回の実験でもっとも溶出量が多かった方法、すなわち縦振とう、300回/分で、時間をどれくらいにすればよいかを検討する必要がある。

2. ポリ塩化ビニル食器等からのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

食品疑似溶媒への移行は、ヘプタンへの移行率が3.8~70.9%と、試料により大きな違いが見られたが、これは、表面積の差によるものと考えられる。ヘプタン以外の溶媒については、水・95℃、4%酢酸、20%エタノール、ヘプタンの順に移行率が高まる傾向が認められた。

E. 結論

3-12ヶ月児50名の家庭での観察記録から、1日あたりのMOUTHING時間は平均180分±87分、最小28分、最大389分と推定された。しかし、オランダの報告と大きく異なるため、MOUTHING時間が最も長いと考えられる6-10ヶ月児を対象とした、詳細な調査が必要である。

幼児の摂取量を推定するため、大人が口中に試験片を含む実験を更に継続し、また、その結果と近い人工唾液への溶出量を示すin vitro試験法を、縦振とう300回/分で、時間をどの程度にすればよいかを検討する必要がある。

フタル酸エステルを含有している食器の割合は少なく、ポリエチレン及びポリプロピレン製の食品用器具・容器包装中3%であり、含有量はDBP19~74ppm、DEHPは7.8及び90ppmであった。ヘプタンへは、良く溶出するが、水へは溶出しなかった。

F. 研究発表

無し

G. 知的所有権の取得状況

無し

ポリ塩化ビニルおもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究

協力研究者	谷村 雅子	国立小児病院 小児医療研究センター
協力研究者	杉田 たき子	国立医薬品食品衛生研究所
協力研究者	石橋 亨	東京顕微鏡院
協力研究者	松木 容彦	食品薬品安全センター
協力研究者	平山 クニ	神奈川県衛生研究所
協力研究者	佐伯 政信	千葉県衛生研究所

研究要旨

ポリ塩化ビニル製おもちゃからのフタル酸エステル類の溶出について、上記6研究機関で検討項目を分担した。すなわち乳児 MOUTHING 行動の実体調査は国立小児病院の谷村氏が担当し、フタル酸エステル類の分析法の検討、おもちゃ中のフタル酸エステル類の残存量の調査及びおもちゃからのフタル酸エステルの溶出等については5機関で実施し、以下の結果を得た。

I. 乳児 MOUTHING 行動の実体調査では、3～10ヶ月児50名を対象として母親による観察記録調査を実施したところ、1日の MOUTHING 時間は平均180分（活動時間の32%）であった。6～12ヶ月児数名のビデオによる観察ではオランダの報告よりも MOUTHING 時間が長いことが解った。

II. フタル酸エステル類の分析法の検討は5機関で行ったところ、材質中の残存量の定量はGC法が適しており、入手した15種類のフタル酸エステル及び2種類のアジピン酸エステルの定量が可能であった。溶出試験溶液の定量はHPLC法が適した。

III. おもちゃ中のフタル酸エステル類の残存量の結果を表1にまとめた。試料は乳幼児が口に入れることを目的としたおしゃぶり、歯がため、ストローの他、口に入れる可能性があるおもちゃ等57種類を測定した。フタル酸エステル類のうち、フタル酸ジイソニル (DINP) が36試料で、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) が16試料で、フタル酸ジブチル (DBP) が13試料で、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHA) が4試料で、またフタル酸ジノニル (DNP) が2試料で検出された。DINPの残存量は14～58%であり、ほとんどの場合単独で用いられていた。ボール類からは DEHP, DBP 及び DEHA が検出されたが、DINP が検出されたのは1試料であった。やや堅めのストローでは DEHP 及び DBP が検出されたが、残存量は比較的少なかった。

IV. フタル酸エステルの溶出に関する研究は、ボランティアによるヒト口腔内でのチューイングの予備的試験を実施するとともに、研究室で各種振とう機器を用いて溶出試験を実施し、ヒト口腔内でのチューイング試験の代替えとなる溶出試験法を検討した。

1) ヒトボランティア3名による口腔内におけるおもちゃ試験片から DINP の唾液への移行試験

おしゃぶり、ガラガラ及び歯がための各試験片からの DINP の平均総移行量はそれぞれ、300、341 及び 182 μg であった。唾液量は 25.0 ml ~ 39.9 ml であり、唾液中の濃度はおしゃぶりで 5.8 ~ 11.2 $\mu\text{g/ml}$ 、ガラガラでは 8.4 及び 11.6 $\mu\text{g/ml}$ 、また歯がためでは 4.4 及び 6.0 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2) 各種振とう機器を用いたおもちゃ試験片からの DINP の溶出試験

縦(上下)振とう、水平方向の8の字振とう及び往復振とう、超音波振とう等による溶出試験を検討したところ、縦(上下)振とう法が最も溶出量のバラツキが少なく、また、試験片の形状や重量等の影響も小さく、振とう効率が良いことが明らかとなった。DINP の溶出量は溶出用器具の中でのおもちゃ試験片の動きが大きいほど多くなり、ビー玉を加えると、試験片の動きが妨げられ DINP の溶出量は低下した。

縦(上下)振とう法は、溶出時間等のさらなる検討を要するが、乳幼児のおしゃぶりによる DINP 曝露量推定の外挿法として有用な方法となる可能性が示唆された。

表1. おもちゃ中のフタル酸エステルの残存量

試料	DINP	DEHP	DBP	DEHA
おしゃぶり	58, 58, 58	—	—	—
ガラガラ	32, 41, 42	—	—	—
歯がため	36, 44, 38	—	—	—
ボール A	—	16, 15, 15, 15	11, 12, 12, 3.3	0.9, 0.6, 1.1, 1.4
B	—	20, 20, 19, 19	10, 11, 10, 9.8	1.2, 1.0, 1.5, 1.2
C	—	32, 27	16, 20	0.7
D	—	37, 39, 36	22, 22, 22	—
E	26	—	—	—
F	—	25	20	—
ソフトドール A	16			
B	38			
C	13, 16			
D	35			
E	26			
F	22			
G		1.8		(DNP 5.7)
H	30			
I	37			
J	34	3.4		
K	43			
L	41			
O	29			
Q				
R				
S	39			
T	35			
U	37			
V		20		(DNP 3.4)

表1. おもちゃ中のフタル酸エステルの残存量 (Continued)

試料	DINP	DEHP	DBP	DEHA
ストロー A			0.25	
B			0.19	
C		0.8		
D		1.0		
E			7.9	
ままごと道具 A	30	4.5	4.5	
B	15	10	9.4	
C	40			
D	39			
E	45			
F	37			
G	40		0.3	
H	26		5.2	
I	29		8.3	
J	37			
人形 A				(不検出)
B				
C				
D		38		
E	14			
キッチンセット	18			
ままごとセット	24			
チャイム		0.2		
楽器 A	32			
ビーチボール		25		
チェア		26		3.5
トレーニング用	40			
寿司	19			
寿司入れ物	28			

「内分泌かく乱物質等、生活環境中の化学物質による健康影響及び安全性の確保等に関する研究」

研究報告書

おもちゃからのフタル酸エステルの溶出に関する調査研究 －乳児MOUTHING行動の実態調査－

研究協力者 谷村雅子 国立小児医療研究センター小児生態研究部長

研究要旨 3-12カ月児50名を対象として、オランダのGrootらと同じ方法で母親による15分ずつ10回の家庭での観察記録調査を行い、1日のMOUTHING時間は平均180分±87分(活動時間の32%)、中央値161分、最小28分、最大389分と推計された。数名のビデオ記録からも妥当な値と考えられ、月齢との関係もオランダと同様であったが、オランダより時間が顕著に長いので、おしゃぶり以外の物のMOUTHING時間が長い6-10カ月児を対象とした、客観的な詳細な調査が必要である。

A. 研究目的

塩化ビニル製(PVC)の玩具や食器に可塑剤として使用されているフタル酸エステルが内分泌かく乱物質の疑いがあるため、乳幼児のMOUTHING行動を介したPVC暴露の安全性に関する検討が世界的に進められている。その基礎研究として、オランダのGrootらが1998年に3カ月-36カ月児42名を対象とした調査を行った結果、MOUTHING時間は3-12カ月児(19名)が最も長く、うち1名は動物実験に基づく安全規定量を越える恐れのある時間であった。MOUTHING時間に関する報告は他にない。

MOUTHING行動は育児環境により異なる可能性があるため、わが国における3-12カ月児のMOUTHING行動の実態を把握するため、ビデオ記録による調査とオランダと同じ方法による観察調査とを行った。本報告書では、乳児のMOUTHINGを介した、玩具等のフタル酸エステル摂取量推定に必要な、1日あたりのMOUTHING時間(食事時間以外の1日の起きている時間に口にもものを入れる可能性のある時間)の推定とMOUTHING時間が長い月齢を報告する。

B. 研究方法

1. ビデオ記録による調査

8ヶ月児1名および3ヶ月児1名の、家庭におけるMOUTHING行動をビデオ記録し、秒単

位で解析した。

2. 親の観察記録による調査

1) 3-12カ月児の各月齢児5名、計50名の乳児の親に、オランダの調査と同様の下記の観察記録を依頼した。

① 2日にわたって児の起床時刻、就寝時刻、食事開始・終了時刻を記録する。

② 児が起きているときに、15分間ずつ観察し、口に何をいつからいつまで入れて、どのようにしていたかを、分単位で記録する。15分間の観察を2日間にわたって10回行う。

2) 観察記録に基づき、口に入れていたものを、児の指、おしゃぶり、歯固め、他の玩具、玩具以外の合成樹脂製、その他に分け、各被験児が観察時間中に口に入れていた時間を合計し、1日の活動時間におけるMOUTHING時間を推計した。

C. 研究結果

1. ビデオ記録に基づくMOUTHING行動の解析

8ヶ月児の家庭でのMOUTHING行動のビデオ記録から、秒単位でMOUTHING時間を計測した。被験児は2歳の兄がいる男児で、調査当日、伝い歩きもはいはいもでき、歯が6本生えていた。手の動きは小さいものを拾ったり手のひらの開閉運動を盛んに行なっていたが、手を使って遊ぶ動作はまだ殆ど観察されなかった。はいはいや伝い歩きで活発に動き回りな

がら、手でものを掴み、口に入れてなめたり噛んだり、口に入れたり出したり、眺めたり、手で振ったりしていた。従って、対象物のMOUTHING行動開始から中止までの時間のうち、実質的に口に入れていた時間は16.7-85.7%、平均50.9%であった(表1)。また、口に入れてもすぐに出して他のものに関心に移る場面も頻繁に観察された。乳児が長く口にするものには傾向があり、弾力性のあるひもや紙や味のするものを比較的長く噛んでいた。

2. 母親による観察記録に基づくMOUTHING行動の解析

①MOUTHING時間の推定

母親による観察記録から、観察時間内におけるMOUTHING時間を対象別に計算した。MOUTHING時間は、対象物を口に入れていただけの場合は開始から中止までの時間とし、対象物を口に入れたり手で遊んだりしていた場合のMOUTHING実質時間は、ビデオ記録の解析結果を考慮し、開始から中止までの時間の2分の1とした。口に少し入れてすぐに出した場合はMOUTHING時間に加算しなかった。

表2に、各被験児の観察時間中のMOUTHING時間の比率を示す。被験児毎に、活動時間(起きていた時間から食事時間(授乳、おやつを含む)を除いた時間)を求め、観察時間中のMOUTHING時間比率から、活動時間におけるMOUTHING時間を推計した(表3)。以下、この推定値を用いた計算結果を示す。

3-12カ月児50名の1日の活動時間は平均 566.6 ± 98.7 分で(図1)、Grootらの報告 501.0 ± 71.0 分と同様であった。1日当りのMOUTHING時間は平均 179.8 ± 86.9 分(図2)、活動時間の31.5%で、Grootらの報告 57.6 ± 62.0 分より長かった。MOUTHINGの分布型は今回の調査対象の年齢幅が狭いためか、Grootらの報告に比して正規性に近い形を示した。

②月齢別、対象別 MOUTHING 時間

3-12カ月児における1日のMOUTHING時間の月齢別の平均値を図3に示す。MOUTHING行動の時間や対象は月齢と共に変化していた。3カ月児では児の指とおしゃぶりと衣服の袖やガーゼに限られていたが、これらを対象と

したMOUTHING時間は徐々に減少し、MOUTHING総計時間も5カ月児まで減少していた。6カ月児からはMOUTHING対象がおしゃぶり以外の玩具や室内の種々のものに変わり、MOUTHING総計時間は6-10カ月児が最も長く、11-12カ月児では減少していた。

表4に、3-5カ月および6-12カ月児の1日あたりの対象物の種類別MOUTHING時間の平均値、中央値、最低・最長時間を、図4にMOUTHING平均時間を示す。3-5カ月では玩具ではおしゃぶり、玩具以外では指が主で、MOUTHING時間は平均155.0分であった。おしゃぶりが合成樹脂製でなければ、この時期に合成樹脂製のものは殆ど口にいられていないと推察される。一方、6-12カ月では、玩具はおしゃぶり以外のものが多く、玩具以外では家庭内雑貨が多く、その半数は合成樹脂製であった。MOUTHING時間は平均190.4分で3-5カ月より少し長い程度であるが、玩具か合成樹脂製のものを口にいられていた時間は平均106.4分で、1日のMOUTHING時間の半分以上を占めていた。

D. 考察

本調査の母親による観察記録はGrootらと同じ方法で行い、児の1日の食事以外の活動時間は同様であったが、MOUTHING時間は大きく異なっていた。しかし、月齢進行に伴う変化については同様の傾向が示された。

1. MOUTHING行動と月齢

Grootらの報告で指摘されたように、MOUTHING行動は月齢と関係しており、いずれの調査においても3-5カ月では指とおしゃぶりが主であり、6-12カ月ではおしゃぶり以外の玩具と玩具以外のものが主であった。

自分で移動が出来ない3-5カ月児においては手が届く範囲のもののみがMOUTHING対象となりうるので、おしゃぶりにPVCが使われていなければ、MOUTHING時間が長くても、MOUTHING行動による3-5カ月児へのPVCの影響は殆どないと考えられる。一方、生後6-12カ月は行動範囲が広がり、玩具以外のものへの興味も広がる探索期である。しかも、手の運動発達はものを掴んだり振る程度であ

るので、まだ手で遊ぶことはせず、ものに対する動作の殆どは自分の近くに引き寄せたり掴んだりして、口に入れることである。従って、6-12カ月児においては、行動範囲内のPVC製品の量やMOUTHING時間によってPVCからのフタル酸エステル摂取の影響を受ける可能性がある。Grootらの報告でMOUTHING時間は13カ月以降で顕著に減少していたが、本調査結果の図3にみられるように11-12カ月から減少し始めるようである。MOUTHINGを介しての影響を検討するためには、6ヶ月-10カ月児におけるMOUTHING対象と時間を把握する必要がある。

2. MOUTHING 時間

Grootらの調査に比して本調査のMOUTHING時間は長いが、月齢を限定して比較すると3-5カ月児ではGrootの方が長く、6-12カ月では日本の方が長い。

3-5カ月児のおしゃぶりを含むMOUTHING時間の中央値は本調査では121分でGrootの方が135分で長い。おしゃぶりを除くと逆に本調査では116分でGrootらの37分より顕著に長い。6-12カ月児においても、本調査ではおしゃぶり時間は0分であるが、Grootらの報告では15分と読み取れる。オランダの方がおしゃぶりを使用する家庭が多いものと推察される。また、6-12カ月児のMOUTHING時間の平均値はGrootらの報告では、おしゃぶり以外の玩具が27分、指が7分、玩具以外のものが9分で、玩具以外のものが玩具の3分の1に留まっている。わが国の本調査では、それぞれ、52分、33分、99分で、玩具以外のものが玩具の約2倍を占めている。

両国のMOUTHING対象の違いは、MOUTHING時間の差が調査方法によるのではなく、多分、育児環境や生活習慣、文化などの違いに起因することを示唆しているものと考えられる。わが国ではベビーサークルなどで行動範囲を

制限している家庭が少なく、部屋も狭いので、自分で移動できるようになった子どもは、オランダの子どもより、自由にむ動き回り室内の種々のものを口に入れ易い条件にあると推察される。さらに、室内の雑貨にはひもや紙などのように玩具よりも噛みやすく味のあるものが多い。表1のように、6-12カ月児が口に長く入れるものには噛み甲斐のあるものが多いようであり、家の中を自由に移動できる環境下では児は関心のあるものに囲まれて、MOUTHING時間が長くなり易い。その他、MOUTHING行動を減少させる要因としては、好ましくないものを口に入れたときに親が止める、きょうだいの存在、家族の児への語り掛け、テレビへの集中などが考えられる。

プレイルームでの6-12カ月児数名の行動のビデオ記録を現在、解析中であるが、MOUTHING時間はやはり観察時間の約30%を占めており、母親による観察記録と同様であった。

以上より、MOUTHING時間におけるオランダのGrootらの報告との差は調査方法に因るのではなく、わが国の6-12カ月児のMOUTHING時間が事実長いためと考えられる。しかし、MOUTHING時間を正確に把握するためには、家庭でのビデオ記録による、自然状態での客観的で、より詳細な観察調査が必要である。

E. 結論

3-12カ月児50名を対象とした、母親による15分ずつ10回の家庭での観察記録から、1日あたりのMOUTHING時間は平均180分±87分(活動時間の32%)、中央値161分、最小28分、最大389分と推計され、数名のビデオ記録からも妥当な数値と考えられた。しかし、オランダのGrootらの報告と大きく異なるため、おしゃぶり以外の玩具や玩具以外のもののMOUTHING時間が最も長いと考えられる6-10カ月児を対象とした、客観的な詳細な調査が必要である。

表1. MOUTHING を伴う行動中の実際の MOUTHING 時間
 (8カ月男児のビデオ記録より、一寸のみ口に入れた場合を除く)

MOUTHING 対象	MOUTHING を伴う行動時間 (秒)	実際の MOUTHING 時間 (秒)	(%)
皿B	21	18	85.7
バッグのストラップ (皮)	114	93	81.6
スプーンA	41	31	75.6
ウルトラマンの腕時計	186	131	70.4
ガラスの容器 (食物入り)	48	33	68.8
カップ	55	32	58.2
ふりかけの袋A	492	252	51.2
ミニカー	15	7	46.7
ふりかけの袋B	30	14	46.7
毬	29	13	44.8
時刻表	170	71	41.8
ビデオデッキ	36	15	41.7
洗濯挟み	24	9	37.5
パスタの袋	101	26	25.7
お母さんのズボン	154	31	20.1
にんにくの皮	12	2	16.7
計	1528	778	50.9

一寸口に入れ、すぐに出して、他のものに関心が移ったもの

皿A	6秒
ストロー	7
コートの袖A	5
コートの袖B	14
皿C	1
スプーンB	5
ガイドブック	4