

平成11年度 厚生科学研究費補助金  
(生活安全総合研究事業)

フタル酸エステル類及びフェノール類の  
食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究

報 告 書

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所大阪支所  
食品試験部 外海泰秀

分担研究者

岡山県環境保健センター  
衛生化学科 今中雅章

平成11年度 厚生科学研究費補助金  
(生活安全総合研究事業)

フタル酸エステル類及びフェノール類の  
食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究

研究報告書

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所大阪支所  
食品試験部 外海泰秀

分担研究者

岡山県環境保健センター  
衛生化学科 今中雅章

# — 目 次 —

## 総括研究報告書

フタル酸エステル類及びフェノール類の食品 汚染実態及び摂取量に関する調査研究	..... 1
---	---------

## 分担研究報告書 1

フタル酸エステル類の食品汚染実態及び摂取 量に関する調査研究	..... 5
-----------------------------------	---------

## 分担研究報告書 2

フェノール類の食品汚染実態及び摂取量に関 する調査研究	..... 51
--------------------------------	----------

## 総括研究報告書

フタル酸エステル類及びフェノール類の  
食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究

主任研究者 外海泰秀

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

総括研究報告書

フタル酸エステル類及びフェノール類の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究

主任研究者 外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 食品試験部長

研究要旨

内分泌かく乱作用を有すると疑われているフタル酸エステル類及びビスフェノール A 等フェノール類の日本人における食物経路摂取量の推定を目的として、高感度分析法を作成し、食品汚染実態調査を行った。

フタル酸エステル類は広汎に存在する汚染物質であり、実験環境にも存在することから、試験液調製操作中の混入をいかに低減するかを当初の課題として分析法の開発に取り組んだ。その結果、最も汚染度の高いものについてもおおむね 5～20 ng/g の検出下限を達成することに成功した。この分析法を用いて食品の汚染実態調査及び病院給食を試料とした摂取量調査を行った結果、いわゆるコンビニ弁当及びレトルトパウチ食品から EU の耐容 1 日摂取量 (TDI: 37  $\mu$ g/kg 体重/day) を超えるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) が検出された。また、大阪、愛知及び新潟の 3 府県内各 1 ヶ所の病院で提供された給食、各 1 週間分 (21 食) 中のフタル酸エステル類濃度を測定した。その結果、1 病院の 2 日分が DEHP 摂取量において EU の TDI を越えていた。

フェノール系化合物のうちビスフェノール A は他のアルキルフェノール類との同時分析が困難であったため、別個にビスフェノール A の GC/MS による高感度微量分析法を開発するとともに、ブランク値及び検出限界値の低減化と分析値再現性の向上を検討した。本法を用いて加工食品から生鮮食品にわたる各種食品、計 222 検体についてビスフェノール A 含有量を調査した。缶詰食品についてはその内容を問わず、調査した全ての検体から痕跡量～602 ng/g を検出した。その他の加工食品では、レトルトパウチ食品 1 検体から 86 ng/g、フリーズドライスープ 1 検体から 11 ng/g 検出した。生鮮食品のビスフェノール A 汚染濃度は低かった。

分担研究者

大阪支所食品試験部

外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所

今中雅章 岡山県環境保健センター

## A. 研究目的

近年、いわゆる内分泌かく乱化学物質には社会的に大きな関心が寄せられ、平成10年度からは内分泌かく乱作用が疑われている67物質について環境調査が始められている。人体への摂取は主に食物経路であると考えられるため、食品中に存在する微量の化学物質を効率的に検出できる技術の開発及び実態調査が求められている。

フタル酸エステル類はポリ塩化ビニル(PVC)の可塑剤として広く使用されて来たため、自然環境を汚染しその結果として各種食品をも汚染していることが知られている。しかし、我が国の食品が実際にどの程度の汚染レベルにあるのか、現在の摂取量がどの程度なのかは全く把握されていない。

また、ビスフェノールA、ノニルフェノール等のフェノール系化合物は界面活性剤、高分子素材の原料、農薬等多方面に使用され、食品を直接的・間接的に汚染している可能性が心配される。しかし、今までビスフェノールAをポリカーボネート樹脂からの溶出物として分析した例は報告されているが、フェノール系化合物を総合的に分析した例はほとんど見られない。本年度は、ビスフェノールAのGC/MSによる高感度分析法を確立しながら併せて各種食品

中の残留レベルを明らかにし、さらに進めて1日摂取量の推定を試みる。

## B. 研究方法

フタル酸エステル類：アセトニトリル抽出、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂、フロリジル+PSAカラムによるクリーンアップ、GC/MS測定する高感度一斉分析法の設定を行った。また、ブランク値及び検出限界値の低減化と分析値再現性の向上を検討した。本法を用いて一部の食品の汚染実態調査及び病院給食を試料とした摂取量調査を行った。

ビスフェノールA：アセトンまたはメタノール抽出、有機溶媒再抽出、PSAまたはC<sub>18</sub>カラムクリーンアップ、ヘptaフルオロ酪酸誘導体化、GC/MS測定する高感度分析法の設定を行った。また、ブランク値及び検出限界値の低減化と分析値再現性の向上を検討した。本法を用いて各種食品計222検体を分析し、ビスフェノールAの実態調査を行った。

## C. 研究結果

フタル酸エステル類は広汎に存在する汚染物質であり、実験環境にも存在することから、試験液調製操作中の混入をいかに低減するかを当初の課題として分析法の開発に取り組んだ。その結果、最も汚染度の高いものについて

も概ね 5 ~ 20 ng/g の検出下限を達成することに成功した。

この分析法を用いて、いわゆるコンビニ弁当及びレトルトパウチベビーフードから EU の耐容一日摂取量 (TDI: 37  $\mu$ g/kg 体重/day) を超えるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) が検出された。(弁当は体重 50kg のヒトの場合、ベビーフードは体重 8kg のヒトの場合。) また、大阪、愛知及び新潟の 3 府県内各 1 ヶ所の病院で提供された、のべ 21 日分の給食試料の中で、1 病院の 2 日分が DEHP 摂取量において EU の TDI を超えていた。(体重 50kg のヒトの場合。)

フェノール系化合物のうちニルフェノール等のアルキルフェノール類については、平成 10 年度厚生科学研究において GC/MS による一斉分析法を確立し、各種の食品を分析して食品中濃度を明らかにした。しかし、ビスフェノール A は他のアルキルフェノール類との同時分析が困難であったため、調査対象としなかった。

本年度はビスフェノール A の GC/MS による高感度微量分析法を開発するとともに、加工食品から生鮮食品にわたる各種食品中のビスフェノール A 含有量を調査した。その結果、缶詰についてはその内容を問わず、調査した全ての検体から痕跡量 ~ 602 ng/g のビスフェノール A を検出した。その他の加工食

品では、レトルトパウチ食品(トマトペースト)1 検体から 86 ng/g、フリーズドライスープ(豚汁)1 検体から 11 ng/g のビスフェノール A を検出した。生鮮食品の汚染濃度は低かった。

#### D. 考察

フタル酸エステル類についての高濃度汚染食品の原因は、調理加工時に使われるポリ塩化ビニル製手袋や配管が汚染の主原因である可能性が高い。また、フェノール類については、食用缶の内面塗装に使用されるエポキシ樹脂、塩化ビニル樹脂由来のビスフェノール A が、加熱殺菌や保存時に溶出した可能性が高い。

従って、次年度では高濃度汚染食品についてその原因の究明をさらに詳細に行い、早急に汚染防止対策を検討する必要がある。また、両化合物について日常食からの一日摂取量調査を行う必要がある。さらに、器具・容器包装からの汚染が予想以上に大きい実態が判明したため、新たな課題として器具・容器包装からの溶出試験を行うこととした。

#### E. 結論

フタル酸エステル類については一部の食品に DEHP の高濃度汚染を見いだした。フェノール類についてはビスフェノール A の汚染実態を広範囲の食品

について調査した。今後は、その汚染経路の解明や汚染防止対策などについても検討が必要である。また、両化合物の日常食からの一日摂取量調査をおこなう予定である。

斎藤勲：日本人の日常的な食事に含まれる食品中フタル酸エステル類濃度、日本食品衛生学会第79回学術講演会（東京、2000.5）

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

(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、食品衛生学雑誌、**40**, 460-472(1999)

(2) 津村ゆかり、石光 進、中村優美子、吉井公彦、岡田 舞、外海泰秀：GC/MS(SIM)による食品中11種フタル酸エステル類及びアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)の同時分析、食品衛生学雑誌、投稿中

### 2. 学会発表

(1) 石光進、津村ゆかり、岡田舞、吉井公彦、外海泰秀：食品中フタル酸エステル類の試験法の検討、日本食品衛生学会第77回学術講演会（東京、1999.5）

(2) 石光進、津村ゆかり、外海泰秀、斎藤勲、酒井洋、小林ゆかり：食品中フタル酸エステル類の試験法及び分析値の機関間変動、日本食品衛生学会第78回学術講演会（長野、1999.10）

(3) 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、

分担研究報告書

フタル酸エステル類の食品汚染実態及び  
摂取量に関する調査研究

分担研究者 外海泰秀

## 分担研究報告書

### フタル酸エステル類の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究

分担研究者 外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 食品試験部長

#### 研究要旨

内分泌かく乱作用が疑われているフタル酸エステル類について、日本国内で喫食されている食品の汚染実態及び摂取量を把握するための研究を行った。フタル酸エステル類 11 種及びアジピン酸ジ (2-エチルヘキシル) (DEHA) を調査対象とし、実験操作過程で生じるバックグラウンドの低減化を図った。試料をアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配及びフロリジルと PSA を組み合わせたカラムで精製し、GC/MS で測定する分析法を開発した。この方法を用いて 3 機関で同一の試料を分析した結果、標準偏差の幅は平均値の 10%未満または検出下限値 (LOD) 以下で、分析値はよく一致した。実態調査として市販弁当・定食及び病院給食を分析した結果、いずれにおいても DEHP の検出量が最も高かった。弁当 10 検体からは一食中の摂取量として平均 1768  $\mu$ g の DEHP が検出され、3 検体が EU における体重 50kg のヒトの耐容一日摂取量 (TDI) 1850  $\mu$ g を上回っていた。定食 10 検体中 DEHP は一食当たり平均 40  $\mu$ g であり TDI を越えたものは無かった。3 地域の 3 病院において提供された給食各 1 週間分 (計 63 検体) においては、一日当たり (3 食分合計) の摂取量は DEHP が平均 519  $\mu$ g であり、2 日分が TDI を上回っていた。DEHA は平均 86  $\mu$ g, DiNP は 62  $\mu$ g, BBP は 4.7  $\mu$ g の一日摂取量であった。DEHP 以外のフタル酸エステル類の摂取量は、弁当・定食・病院給食のいずれの検体においても TDI の 2%未満であった。

研究協力者	石光 進	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所	
酒井 洋	新潟県保健環境科学研究所	津村ゆかり	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所
小林ゆかり	新潟県保健環境科学研究所	開原亜樹子	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所
斎藤 勲	愛知県衛生研究所		

## A. 研究目的

フタル酸エステル類(PhE)は主にポリ塩化ビニル(PVC)製品の可塑剤として広く用いられている。一部のPhEは齧歯類の生殖器に作用を及ぼしたり発癌性を示すことが以前から知られている<sup>1)</sup>。また、環境庁はフタル酸ジエチル(DEP)、フタル酸ジプロピル、フタル酸ジ-n-ブチル(DBP)、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジシクロヘキシル(DcHP)、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)の8種類のPhEを内分泌かく乱作用を有する疑いがある化合物としてリストに記載している<sup>2)</sup>。現在PhEの内分泌かく乱作用については確たる判断を下せる情報が得られていないが<sup>3)</sup>、生産量が非常に多い(我が国における生産量は平成10年で約40万トン<sup>4)</sup>)ことから、その健康影響に対する消費者の関心が高い。PhEは主に食品から人体に摂取されると考えられるため、食品の汚染実態調査、一日摂取量の把握、及びそのための分析法の確立が急務である。

しかし既存の報告は単一の食品ごとの分析が主であり、一日摂取量の把握に欠かせない食品混合物での報告がほとんど無い。また、環境庁のリストに記載されているような多種類のPhEを同時に分析した例は少ない。さらに、

PhEは実験室環境にも広汎に検出されるため、分析に当たっては、試験操作中の汚染(バックグラウンド)をいかに低減するかが重要な課題である。

本研究班の協力研究者は、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(主任研究者 斎藤行生)」に参加し、各機関で分析法を検討して各種市販食品中のPhE濃度の調査を行った。今年度本研究班においては、各機関の試験法を統一し、市販弁当、定食、病院食中のPhEの残留実態調査を行った。分析対象PhEとしては、環境庁リストに記載された8種に加え、標準品の入手が容易なフタル酸ジ-n-オクタール(DOP)、フタル酸ジイソオクタール(DiOP)、フタル酸ジイソノニル(DiNP)、及び環境庁リストに記載されており同じく可塑剤として汎用されているアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHA)も取り上げ、合計12化合物を同時分析した。

## B. 研究方法

用いた試薬や機器の銘柄は各機関で若干異なるが、機関Cの場合について示す。

### 1. 試料

#### (1) 試験法検討用試料

市販弁当：大阪市内のコンビニエンス

ストアで購入した幕の内弁当。中身をすべて混合して試料とした；模擬朝食：食パン，マーガリン，牛乳，バナナを混合して試料とした；模擬夕食：レトルトのドリアとトマト煮を混合したものの。

### (2) クロスチェック用試料

レトルトチキンライス：米，野菜，肉，油脂等を原料としたもの。同一ロットの製品 30 箱を購入し，各機関においてパウチ 5 袋の内容物（計 400g）を混合して試料とした。

### (3) 実態調査用試料

市販弁当：99 年 8～9 月に大阪市内のコンビニエンスストア 10 チェーンで購入した幕の内弁当 10 検体；定食：99 年 9～11 月に大阪市内のレストラン 10 店舗で購入した定食 10 検体；病院給食：99 年 10～12 月に大阪・愛知・新潟の 3 病院で提供された給食各 1 週間分，計 63 検体。

## 2. フタル酸エステル類標準品

DEP, DBP, DcHP, DEHP, DOP, DiOP, DiNP; フタル酸ジプロピル, フタル酸ジペンチル, フタル酸ジヘキシル, フタル酸ブチルベンジルについては直鎖の異性体 (DPrP, DPeP, DHexP, BBP) を用いた。(以上和光純薬, 関東化学, 東京化成, Riedel-de-Haën 製)。

これらのうち DiOP と DiNP は各種異性体の混合物である。DiOP のピー

クの一部は DcHP 及び DEHP と重なるため，標準溶液は DiOP と DiNP の混合溶液及びそれら以外の PhE と DEHA の混合溶液の 2 つに分けて調製した。標準溶液はヘキサン溶液とした。

## 3. 内部標準

DEP-d4, DPrP-d4, DBP-d4, DPeP-d4, BBP-d4, DHexP-d4, DEHA-d8, DcHP-d4, DEHP-d4, DOP-d4, DNP-d4 (林純薬製, 関東化学製)。内部標準溶液はヘキサン溶液とした。サロゲートとして 1 試料につき 2000ng/mL 溶液 1mL を添加した。

## 4. その他の試薬

アセトン, ヘキサン, 無水硫酸ナトリウム, 水: 以上フタル酸エステル試験用 (関東化学及び和光純薬製); アセトニトリル, 塩化ナトリウム: 残留農薬試験用 (和光純薬製); フロリジル: フロリジン社製フロリジル PR; PSA: バリアン社製 BONDESIL PSA 40  $\mu$  m.

## 5. 器具・試薬の前処理

ガラス器具は 200℃で 2 時間加熱し, 使用直前にヘキサンで洗浄した。塩化ナトリウム, フロリジルは 200℃で 2 時間加熱した。

## 6. フロリジル+PSAカラム

内径 15mm, 長さ 110mm のガラス製注射筒に脱脂綿で栓をし, フロリジル 1 g, その上に PSA 0.5g, 無水硫酸ナトリウム 1 g をヘキサンを用いて充填

した。使用前にアセトン 10mL, 次いでヘキサン 10mL を注入して洗浄した。

## 7. 試験溶液調製法

試験法の概要を Scheme 1 に示した。

ホモジナイズした試料 50g を 200mL 容の遠沈管に採り, サロゲートを加える。(試料によりホモジナイズし難い場合は水を加える。弁当は水分が少ないため, 試料と同量の水を加える。) これをアセトニトリル 100mL で 2 回抽出し, 3000rpm で 5 分間遠心沈降する。上澄みを合わせ, 食塩 7g を加え, 5 分間機械振とうする。水層を分取して捨てる。アセトニトリル層にアセトニトリル飽和 n-ヘキサン 40mL を加え, 5 分間機械振とうする。再び水層を捨て, アセトニトリル層を分取して濃縮乾固する。(濃縮後に水層が残る場合がある。) これをヘキサン 5mL に溶解して 10mL 容の共栓付きスピッツに移し, 30 秒間振とうして上層をフロリジル + PSA カラムに負荷し, 流出液は捨てる。スピッツ内に残った水層に再びヘキサン 5mL を加えて振り混ぜ, 上層を同カラムに負荷して流出液は捨てる。5%アセトン/ヘキサン 10 mL を同カラムに注入して流出液を採る。これを濃縮してヘキサンで 2mL に定容し, GC/MS に注入する。

## 8. GC/MS条件

機種：島津 QP-5050 + GC-17A + AOC-20i；カラム：J&W DB-5 (膜厚

0.25  $\mu$  m, 内径 0.25mm, 長さ 30m)；  
氮化室温度：260  $^{\circ}$ C；カラム槽温度：  
50  $^{\circ}$ C (1 min)  $\rightarrow$  (10  $^{\circ}$ C/min)  $\rightarrow$  270  $^{\circ}$ C  
(27min)；キャリアガス：高純度ヘリウム  
圧力 100kPa；全流量：20mL/min  
；注入方法：スプリットレス (サンプリング時間：3 min)；インターフェース温度：260  $^{\circ}$ C；注入量：1  $\mu$  l；  
検出器電圧：1.30kV (通常), 1.00kV  
(通常の電圧でスケールオーバーした場合)。

## 9. 定量法

試料液を GC/MS に注入し, 各 PhE のピーク面積を内部標準のピーク面積で割った数値を標準溶液のそれと比較して定量した。DiOP は主要な 2 本のピークを, DiNP は主要な 5 本のピークを, それぞれ面積を合計して定量対象とした (Fig.1)。

測定日ごとに水 50mL を試料と同様に, かつ同時に操作して空試験値を求めた。一連の実験期間中の空試験値の平均を試料の測定値から差し引いて試料中検出量とした。空試験で検出される PhE についてはその検出値の標準偏差の 3 倍を, 検出されない PhE については GC/MS で S/N 比が 3 となる濃度を検出下限値とした。

V 病院の試料は 1 検体について 3 試行分析し, 3 試行の平均値と標準偏差を求め, 標準偏差が平均値の 20%以上となった場合は平均値との差が最も大

きい1試行の値を除外して2試行の平均値を採用した。その他の試料は2試行分析を行い、各試行の測定値の平均値を検出値とした。

## 10. 確認法

検出下限値付近の濃度で明瞭でないピークについては、確認イオンによる定量も行い、測定イオンによる定量値との差が20%以内の場合に検出と判定した。

## C. 研究結果

### 1. 試験法の検討

#### (1) GC/MS条件

11種のPhE及びDEHAは実験方法に示した条件で良好に定量できた。定量イオン・確認イオンと内部標準の組み合わせをTable 1に示した。標準溶液のクロマトグラムをFig.1に示した。

#### (2) 空試験における回収率

空試験におけるサロゲートの添加回収率をTable 2に示した。分子量の小さいDEP, DPrP, 分子量の大きいDEHA, DEHP, DOP, DNPでは50%未満であり、中程度の分子量のPhEは50%以上の回収率であった。

空試験におけるPhEの添加回収率をTable 3に示した。サロゲートの回収率によって補正した結果、66.6～142.8%の回収率が得られた。

#### (3) 試料への添加回収

模擬朝食、市販弁当、模擬夕食に

PhE 10～320ng/gを添加して回収試験を行った。各食品試料におけるサロゲートの添加回収率をTable 4に示した。31.3～101.4%の回収率が得られた。各食品試料におけるフタル酸エステル類の添加回収率をTable 5に示した。サロゲートの回収率によって補正した結果、62.5～132.2%の回収率が得られた。食品試料溶液のクロマトグラム例をFig.2に示した。

## 2. 試験法のクロスチェック

### (1) d-体の回収率

3機関において、同一のレトルト食品試料を用いて試験法のクロスチェックを行った。試験操作としては、空試験3試行、無添加3試行、添加3試行を行った。それぞれのd-体の回収率をTable 6～8に示した。3機関の平均で、空試験では26.5～73.5%、無添加試料では39.8～92.1%、添加試料では37.1～88.1%の回収率が得られた。

### (2) 操作ブランク値

各機関における空試験でのPhE検出量（操作ブランク値）をTable 9に、その標準偏差をTable 10に示した。DEP, DBP, DEHPは3機関のいずれにおいても検出された。DPrP, DPeP, BBP, DEHA, DcHPは一部の機関において検出された。

Table 11に各機関における検出下限値(LOD)を示した。空試験で検出されるPhEについては、その標準偏差の3

倍を LOD1 とした。また GC/MS のクロマトグラムにおいて S/N=3 となる濃度を LOD2 とした。LOD1 及び LOD2 を比較して大きい方を LOD3 とした。LOD3 が各機関の当該期間内の検出下限値である。

### (3) 添加回収率

PhE の同一試料に対する添加回収率を Table 12 に示した。3 機関の平均で 77.7 ~ 127.7% の結果が得られた。

### (4) 検出値

各機関における同一試料からの PhE 検出量を Table 13 に示した。共通して検出されたのは 4 種類であった。このうち BBP, DEHA, DEHP の検出量は変動係数 10% 以下であり、3 機関の検出値はよく一致した。DOP 検出量は 3 機関間に差があったが、この化合物の検出量は小さく、標準偏差は機関 B の検出下限値 (0.5ng/g) と同程度であった。

DEP と DBP は空試験において検出される化合物であり、機関 A と C においては空試験値のばらつきの範囲内であるため不検出になった。機関 C では空試験値が低いために検出された。

## 3. 弁当・定食調査結果

### (1) 調査対象試料

調査対象とした弁当及び定食の内容物や容器に関して Table 14 及び 15 に示した。弁当は幕の内弁当またはそれに類する内容のものを調査した。定食は、米飯・肉または魚・野菜・汁物を

含む献立のものを調査した。

### (2) 操作ブランク値及び検出下限値

弁当及び定食の分析は機関 C において行った。その期間中の 16 試行の操作ブランク値の平均は、Table 16 に示した通り、定食中濃度に換算して DEHP が 2.7ng/g 相当、DBP が 3.8ng/g 相当であった。他に DEP, BBP, DEHA, DOP が 0.1 ~ 0.2ng/g 相当検出された。(弁当ではブランク値も LOD も定食の 2 倍になる)。

### (3) 弁当及び定食からの検出量

Table 17 及び 18 に示したとおり、市販弁当においても定食においても DEHP が他の化合物より高い濃度で検出された。市販弁当からは 803 ~ 8930 ng/g、平均 4420ng/g の DEHP が検出されたのに対し、定食中の検出量は 12 ~ 304ng/g、平均 68ng/g であった。市販弁当はその他のフタル酸エステル類及び DEHA も検出量が高かった。

### (4) 一食当たりの PhE 摂取量

Table 19 及び 20 に、市販弁当及び定食を食べた場合の PhE 摂取量 (計算値) を示した。不検出とした PhE については、検出下限値の 20% を含有しているものと仮定して計算した。

## 4. 病院給食調査結果

### (1) 調査対象試料

今回調査対象とした病院食の献立を Table 21 (1-3) に示した。各病院とも調理はほとんど自施設で行っている。V

病院及びW病院は毎食米飯が主食であるが、X病院は朝食のみ基本的にパンが主食である。

### (2) 操作ブランク値及び検出限界

病院給食の分析は3機関において行った。その期間中の操作ブランク値及び検出下限値は、Table 22に示した通りであった。機関AがV病院の試料を、機関BがW病院の試料を、機関CがX病院の試料を、それぞれ分析した。

### (3) 病院給食からの検出量

Table 23(1-3)に示したとおり、病院食63検体すべてから10～4400 ng/gのDEHPが検出された。平均値ではV病院384ng/g、X病院478ng/gに対し、W病院は46ng/gとW病院の検出量が低かった。W病院試料はその他のフタル酸エステル類及びDEHAも検出量が低かった。

### (4) 一食当たりのPhE摂取量

Table 24(1-3)に、各病院の1食ごとの給食を食べた場合のPhE摂取量を示した。X病院の10月15日の夕食及び10月18日の夕食からのDEHP摂取量が特に大きかった。Table 25に、1日ごとの摂取量を示した。

## D. 考察

### 1. 試験法の検討

#### (1) GC/MS条件

これまでに報告されている食品中のPhEの分析法としては、紫外部吸光光

度検出器付きHPLC<sup>5)</sup>、水素炎イオン化検出器付きGC<sup>6-8)</sup>、電子捕獲型検出器付きGC<sup>9)</sup>を用いるものがあるが、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)を用いて選択イオン検出(SIM)により検出する方法<sup>10-15)</sup>が最も感度及び選択性が高い。このことから、本研究においてはGC/MS(SIM)を用いて定量した。

カラムはDB-5を用いた。その理由は、本研究班参加機関の実験室においては日常的にGC/MSを用いて農薬が分析されており、農薬に汎用されるカラムを使用することでカラム交換やエージングの手間を省くことができるからである。DB-5によって、対象としたPhE類は良好に分離できた。

#### (2) 脂質除去法

脂肪を含む食品の試験溶液調製には脂肪除去操作が必要である。この場合、最初の抽出をアセトンでなくアセトニトリルを用いて行い、抽出液をヘキサンで分配して脱脂することで濃縮回数を減らし、バックグラウンド(BG)の低減を図った。

脂質の除去方法としては、分析操作の自動化が可能である等の理由により近年ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)が一般化しつつある。しかし本研究班参加機関においてはいずれもGPCをPhE分析専用として確保することが難しかった。そのためGPCライ

ンの汚染が懸念され、また分取した画分が開放状態で置かれる時間も長いため、BGの管理が困難である。さらに試料の全量を注入できず（通常は半量程度）検出限界が高くなる点が不利である。このような理由から、あえてGPCは用いず分液ろうとによるn-ヘキサン/アセトニトリル分配を脂質除去法とした。

### (3) サロゲート回収率

サロゲートの中で、DEHA-d8、DEHP-d4、DOP-d4、DNP-d4の回収率が低かったが、アセトニトリル/ヘキサン分配においてヘキサン層へ移行するためと考えられる。空試験ではDEP及びDPrPの回収率も低かった。食品試料では脂質がPhEのキーパーとなるのに対し、空試験ではそのような物質が存在しないため、分子量の低いDEP・DPrPの回収率が低くなるのではないかと考えられる。空試験にもサロゲートを添加してPhE検出量を補正する必要があった。

サロゲートによる補正の結果、食品試料からの回収率は62.5～132.2%が得られた。DiOPとDiNPの回収率が100%を越えたが、これらは多数の異性体の混合物であるためd体の標準品が市販されておらず、それぞれn-化合物のd体をサロゲートとした。このために100%を越える値になったものと考えられる

### (4) 操作ブランク

空試験で検出されるPhE類の濃度、すなわち操作ブランク値は各実験室の室内環境や試薬、器具類の汚染状況を反映するものである。DBP及びDEHPによる汚染は各機関共通して見られたが、クロスチェック試験においても病院食分析においても機関Aの汚染度がかなり高いことが特徴的であった。用いた試薬類には大差が無いため、溶媒を減圧濃縮する際に実験室内の空気から混入する汚染が機関による差をもたらすのではないかと考えられる。特にDBPは溶剤に多用されるPhEであるから、実験室の内装に由来する可能性がある。DEP、BBP、DEHAは空試験で検出された機関もされない機関もあったが、いずれも低い値であった。

同一試料を用いたクロスチェックの結果、本試験法は、実験室由来のバックグラウンドによって検出下限値に差はあるものの、検出されるフタル酸エステル類に関しては再現性の高い測定値が得られる方法と考えられた。

### 2. LODとPhE摂取量の計算

通常、微量分析の検出下限値(LOD)は測定機器のS/N比から決まるが、PhE類のように実験室環境に広く存在する物質の場合は、実験操作中の汚染によってLODが制約される。本報告においては、空試験で検出される化合物に関して、検出値の標準偏差の3倍

を LOD とした。本研究で対象とした 83 検体について、DEHP の検出量はすべて LOD を上回っていたが、他の化合物では検出量が LOD 以下で不検出と判定したものがあつた。すなわち DEHP 以外の化合物に関しては、LOD 未満を含有しているにもかかわらず不検出とした可能性がある。従つて摂取量計算を行うに当たつて、不検出の項目は LOD の 20% を含有するものと仮定して合計した。

### 3. 弁当及び定食からの検出量及び摂取量と TDI 比

弁当 10 検体の DEHP 濃度はすべて 803ng/g 以上であり、同時期に調査した定食 10 検体のそれはすべて 304ng/g 以下であつた。内容食品に大差はないことから、市販弁当の製造工程に特有の DEHP 汚染源があると考えられる。一食当たりの摂取量の平均値は、弁当が 1768  $\mu$ g, 定食が 40  $\mu$ g であつた。

我が国及び米国においては、DEHP その他の PhE 及び DEHA の耐容一日摂取量 (TDI) は示されていないが、欧州における TDI を Table 27 に示した。

DEHP の TDI は英国 MAFF<sup>13)</sup>によれば 0.05mg/kg 体重/day, EU で 37  $\mu$ g/kg 体重/day<sup>16)</sup>, デンマークは 5  $\mu$ g/kg 体重/day<sup>17)</sup>としている。本報告書においては、これらの中で最新の EU の値を用いて摂取量を評価した。ただし DEP 及び DcHP については 1998 年の

EU の報告に示されていないため、英国の値を採用した。一食当たりの DEHP 摂取量を体重 50kg のヒトの TDI と比較した平均値は Table 19 及び 20 に示したとおり弁当が 95.5%, 定食が 2.2%であつた。弁当 3 検体において 100%を越えていた。いわゆるコンビニ弁当は小中学生の利用も増えており、体重当たりの摂取量はさらに高い場合があり得る。ただし TDI は最大無作用量 (NOAEL) に安全係数 (1/100 とする場合が多い) を乗じて求めるものであり、またヒトが毎日一生摂取しても健康影響の現れない量として設定されている。従つて、TDI を越えた製品を摂取してもただちに健康影響が現れることはないと考えられる。

DEHP 以外の化合物については、TDI 比は全ての試料で 2%未満であつた。

### 4. 病院食からの検出量及び摂取量と TDI 比

3 府県内の各 1ヶ所の病院で提供された給食各 1 週間分 (合計 63 食) 中のフタル酸エステル類濃度は、3 病院で異なる傾向が見られた。最も検出量の大きかつた DEHP 濃度は、V 病院試料は 42 ~ 1820ng/g, 平均 384ng/g であり、W 病院試料は 10 ~ 271ng/g, 平均 46ng/g と、V 病院試料は W 病院試料の約 8 倍であつた。一方 X 病院では、19 食分は 25 ~ 497ng/g, 平均 77ng/g と W

病院に近い数値であったが、2食分は4400及び4190ng/gと高濃度のDEHPが検出された。X病院21検体の平均は478ng/gであった。Table 25に示したとおり、3病院のべ21日分の給食試料の中で、X病院の2日分（10月15日及び18日の3食分合計）がDEHP摂取量2549,2082  $\mu$ gとなり、EUにおける体重50kgのヒトのTDIを越えていた。なお、弁当の場合と同じく、一部の食事でTDIを越えていてもただちに健康影響が現れるものではない。

Table 25及び26は、不検出の試料について各分析機関におけるLODの20%を含むものとして算出した値である。病院相互を公平な条件で比較するためには、統一したLODで計算する必要がある。その結果を参考値としてTable 28, 29に示した。Table 25, 26と大差ない結果が得られた。

## 5. 日本人のPhE類一日摂取量

### (1) 病院給食の調査結果から推定される一日摂取量

3病院の給食からの各PhE類一日摂取量を求め、平均値をTable 25の最下段に示した。朝・昼・晩の3食が提供される病院給食は、今回調査した中では日本人の食事の代表例として最も適切と考えられる。DEHPの一日摂取量は519  $\mu$ gであり、TDI比は28.0% (Table 26)であった。その他のPhE類は、DEHAは平均86  $\mu$ g、DiNPは62

$\mu$ g、BBPは4.7  $\mu$ gの摂取量であった。DEHP以外のフタル酸エステル類の摂取量は、各試料ともTDIの1%未満であった。3病院の数値には大きな差があるため、平均値をもって即座に日本人の摂取量とすることはできないが、おおよその傾向は表しているものと考えられる。

### (2) 市販弁当及び定食の調査結果から推定される一日摂取量

弁当及び定食は昼食または夕食として摂取される場合が多いが、今回の調査において、両者のPhE類濃度には大きな差があることが判明した。例えば弁当一食分からのDEHPの摂取量（平均値）は、定食のその44倍にもなった。従って、これらからのPhE類摂取量は、個人の食生活の形態によってかなり異なることが推定され、一日摂取量の算出に用いることは不適當である。一般的に摂取量への寄与が最も大きいのは家庭で調理される食事であるが、これは市販弁当よりむしろ食堂の定食に近い環境で調理されており、PhE類の濃度も定食に近いのではないかと推定される。

### (3) 諸外国の調査例との比較

諸外国において、バター等の脂肪性食品では比較的高いPhE検出値が報告されているものがある。しかしながら、トータルダイエットスタディ的な研究報告は少ない。英国MAFFが行った摂

取量調査<sup>13)</sup>では、DEHPの推定一日摂取量を平均150  $\mu$ g、ハイレベル摂取者では300  $\mu$ gとしている。今回調査した病院食からのDEHP一日摂取量は519  $\mu$ gであり、英国の調査より高かった。弁当1食あたりのDEHP含有量平均1768  $\mu$ gは非常に高かった。これに対して定食では1食平均40  $\mu$ gであり、3食分としても英国よりやや低い水準であった。

## 6. 汚染源の推定

### (1) 各PhE類の検出量の相関

最も検出量の大きかったDEHPと他のPhE類との検出量相関関係をFig.3～5に示した。DEHPとBBPの検出量の間には明瞭な相関関係は見られず、定食試料で $R^2=0.802$  ( $R$ は相関係数)の正の相関関係が見られたのみであった(Fig.3)。DEHPとDEHAの検出量の間には、V病院及びX病院の試料で強い正の相関関係が見られた( $R^2=0.9581$ ,  $0.9916$ , Fig.4)。DEHPとDiNPの検出量の間には、V病院試料で強い正の相関関係( $R^2=0.9433$ )が見られた(Fig.5)。X病院試料中のDiNPについては、検出例が2例しかないため解析はしなかった。しかしこれらの検出例はDEHPが特に高い濃度で検出された2検体と一致しており、X病院試料においてもDEHPとDiNPの検出量の間には相関があると考えられる。

以上の結果から、V病院及びX病院

の給食においては、DEHPとDEHA及びDiNPの汚染源が共通している可能性が高い。これら3種の可塑剤を含むプラスチック製品と食材が接触している可能性がある。弁当に関しては、DEHPと他のPhE類との関連が掴めなかった。

なお、DEP及びDBPは環境中から頻繁に検出される化合物であり、分析操作におけるバックグラウンドが高かったにもかかわらず、食品試料からの検出頻度は低かった。DEPとDBPは、食品と接する汚染源は少ないものと考えられる。

### (2) 市販弁当の汚染源

市販弁当には何らかの汚染原因があると考えられる。今回調査した各社弁当の容器の材質は、外観からほとんどがポリスチレン(PS)と見られた。PSと材質名が明記されているものもあった。一般的にPSにはフタル酸エステル類は含まれない。外装のラップにはPVC製と見られるものがあった。しかしラップは内容食品に直接接しないため、汚染源となりうるか否か判断するにはさらなる検証が必要である。

一方、炊事用と表示されて市販されているPVC製手袋には高濃度のDEHPが含有されるとの報告がある<sup>13)</sup>。長時間陳列後に喫食される弁当は食中毒予防のため格別な衛生上の配慮がなされており、食材を詰める工程でPVC製