

ビール及び発泡酒は、市販の国産品約 30 種（缶及びビン製品）及び輸入品約 30 種（全て缶製品）を試料として分析を行った。その結果、国産品では全製品から BPA は検出されなかった。また、BADGE 類は 2 試料のみから、BADGE.2H₂O または BADGE、BADGE.H₂O を定量限界付近の微量検出した。なお、各缶製品の内面塗装について調査した結果、殆どの製品で缶胴及び缶蓋部分にエポキシ樹脂系塗料を使用していることが明らかとなった。

一方、輸入品(缶)では、約半数の製品から 1.2 ppb 以下の BPA を検出した。また BADGE 類は、大部分の製品で BADGE.H₂O、BADGE.H₂O.HCl、BADGE.HCl の何れかまたは各々が検出され、これらの BADGE 類の合計は、最高で約 45 ppb であった。別途行った塗料の材質判別では、多くの製品で缶蓋部分にビニル樹脂系の塗料が使用されていることが明らかとなった。

国内と海外でビールの原料及び製造設備が大きく異なることはないこと、また既に報告した様に BPA 溶出量と塗料の品質には関連が認められることから、これらの結果は、主に輸入品にて使用された缶内面塗料の種類及び品質に起因するものと考えられた。Table 2 及び 3 に結果を示した。

C.2.2 リキュール類

国産のリキュール類（チューハイなど）約 30 種を選択して調査した。その結果、BPA は殆どの製品から検出されなかった。一方、過半数の製品で BADGE.H₂O 及び BADGE.H₂O.HCl、BADGE.2HCl の何れかまたは各々が微量検出され、その合計値は最大で約 25 ppb であった。これらの結果を

Table 4 に示した。

次に各缶製品について、塗膜の IR スペクトルを測定して缶内面塗装の判別を行った。その結果、これらの製品では殆どが缶胴部分はエポキシ樹脂系塗料であったが、缶蓋内面にはビニル樹脂系の塗料を使用していることが明らかとなった。

ビニル樹脂系塗料は、加工性、耐食性などの点で優位性があるため、これらの各製品では果汁などを含有する製品の特性から本塗料を採用したと考えられる。一方、塩化ビニル樹脂は、遊離する塩素捕捉の目的等で BADGE などの添加剤が使用されることがある¹⁾。従って、BADGE 類を検出した各製品では、缶蓋に使用されたビニル樹脂系塗料から BADGE が溶出し、分解した可能性が高いものと推定された。

C.2.3 果実酒、焼酎及びウイスキー

果実酒は 12 種（国産品 8 種）、焼酎及びウイスキーは 16 種の市販主要製品について調査を行った。果実酒は大部分がガラス瓶、焼酎及びウイスキーではガラス瓶、ペットボトル、アルミ缶などの容器を用いた製品を試料とした。ガラス瓶及びペットボトル入り製品では、一部の試料で微量の BPA、BADGE.2H₂O などが検出される製品があった。また、缶入り製品でも同様に BPA、BADGE.2H₂O などが検出される製品があった。これらの製品中の BPA 含量は最大で約 3 ppb であった。また BADGE 類の合計は最大で約 16 ppb であった。これらの結果を Table 5 に示した。次に、これらの製品に含有する原因について調査を行ったが、缶体以外の明確な要因を見出すことは出来なかった。

D. 結論

ビール中の BPA 及び BADGE 類を簡便かつ高精度に測定する LC/MS/MS 法を開発した。本法は感度並びに選択性が高く、簡便な前処理で分析を行うことが可能であり、信頼性の高い試験結果が得られることが明らかとなった。

本法により各種のアルコール飲料について BPA 及び BADGE 類の含有量を調査した。その結果、国産ビールでは缶及びビン製品とも BPA 及び BADGE 類は殆ど検出されなかった。一方、輸入缶ビールでは一部の製品で BPA 及び BADGE 類を微量検出した。また、国産の缶入りリキュール類でも一部の製品から BADGE 類が微量検出されることが明らかとなった。これらは主に、缶胴または缶蓋内面塗装として使用された塗料の種類及び品質などの要因によるものと考えられた。

また、果実酒、焼酎及びウイスキーなどでも約半数の製品から、微量の BPA 及び BADGE 類を検出したが、製品毎にそれぞれ異なる原材料、製造工程などの複数の要因が存在することから、各々について明確な原因を明らかにすることは出来なかった。

E. 研究発表

液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による缶入アルコール飲料中のビスフェノール A の分析：奈良部 雄、表 雅之、望月 直樹、山下 博、中澤 裕之、日本内分泌攪乱化学物質学会第 4 回研究発表会、2001 年 12 月、筑波

F. 知的所有権の所得状況

なし

G. 健康危険情報

なし

H. 参考文献

- I) 河村 葉子：「缶コーティングからのビスフェノール A 及び関連化合物の溶出に関する研究」平成 11 年度厚生科学研究費補助金研究成果報告書

Table 1 MS/MS 測定条件

化合物	イオン化法	parent ion (m/z)	product ion (m/z)	C. V. (V)	C. E. (eV)
BPA	ESI-negative	227	212	60	20
BPA-d ₁₆	"	241	142	60	30
BADGE	ESI-positive	358	191	40	15
BADGE. 2H ₂ O	"	394	135	40	20
BADGE. H ₂ O	"	376	209	40	15
BADGE. H ₂ O. HCl	"	412	227	40	15
BADGE. HCl	"	394	227	40	15
BADGE. 2HCl	"	430	227	40	15

※ C.V.: cone voltage, C.E.: collision energy

Fig.1 MRM クロマトグラム例

[上より BADGE.2HCl (m/z 430→227), BADGE.HCl (394→227), BADGE (358→191), BADGE.H₂O.HCl (412→227), BADGE.H₂O (376→209), BPA-d₁₆ (241→142), BPA (227→212), BADGE.2H₂O (394→135)]

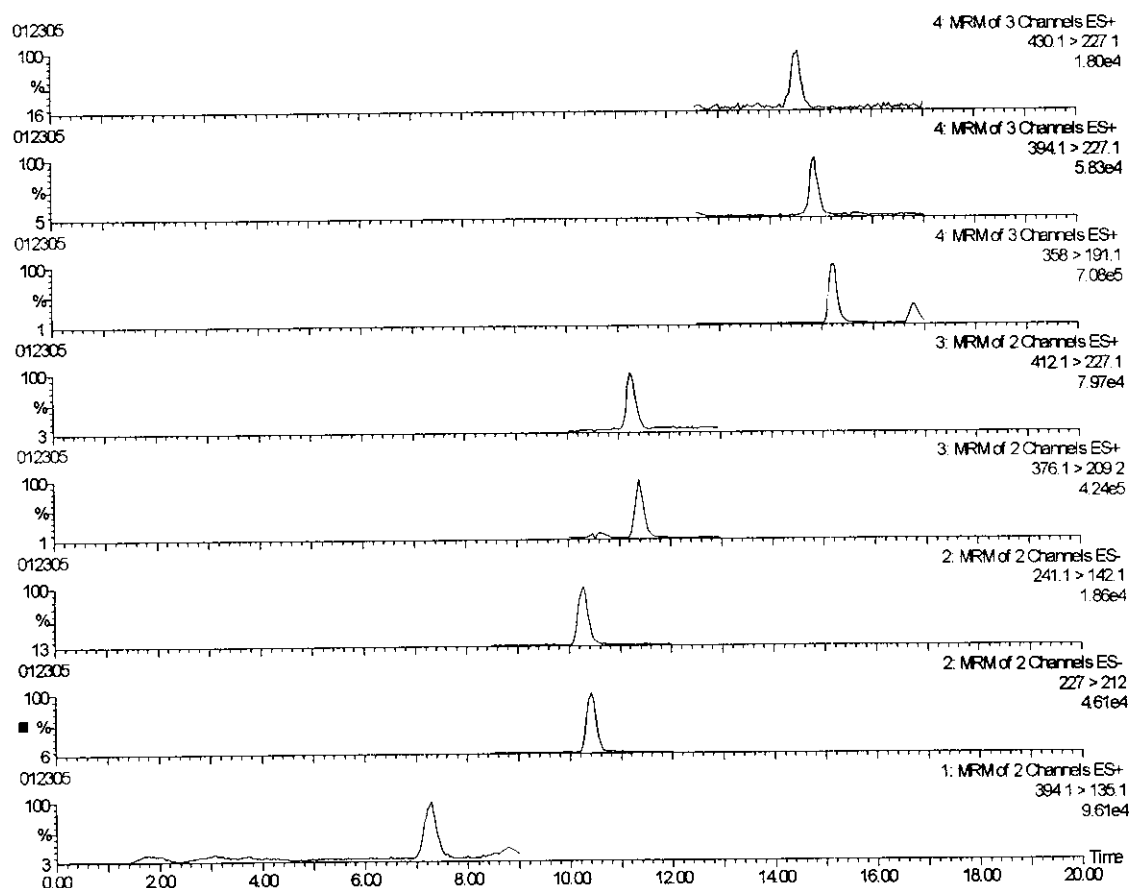


Table 2 ビール及び発泡酒(国産品)の試験結果

試料	容器	BPA	BADGE	BADGE . 2H ₂ O	BADGE . H ₂ O	BADGE . H ₂ O, HCl	BADGE . HCl	BADGE . 2HCl
B1	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B2	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B3	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B4	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B5	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B6	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B7	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B8	アルミ缶	ND	ND	0. 5	ND	ND	ND	ND
B9	スチール缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B10	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B11	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B12	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B13	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B14	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B15	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B16	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B17	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B18	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B19	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B20	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B21	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B22	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B23	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B24	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B25	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B26	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B27	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B28	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H1	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H2	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H3	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H4	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
H5	アルミボトル缶	ND	0. 6	ND	0. 6	ND	ND	ND

※単位: $\mu\text{g/L}$ ND: $< 0.2 \mu\text{g/L}$ (BPA) $< 0.5 \mu\text{g/L}$ (BADGE, BADGE.2H₂O, BADGE.H₂O, BADGE.H₂O.HCl, BADGE.HCl) $< 2 \mu\text{g/L}$ (BADGE.2HCl)

Table 3 ビール(輸入品)の試験結果

試料	容器	BPA	BADGE	BADGE . 2H ₂ O	BADGE . H ₂ O	BADGE . H ₂ O. HCl	BADGE . HCl	BADGE . 2HCl
IB1	アルミ缶	ND	ND	4.0	ND	2.8	ND	ND
IB2	アルミ缶	ND	ND	0.6	ND	0.7	ND	ND
IB3	アルミ缶	ND	ND	0.6	ND	0.7	ND	ND
IB4	アルミ缶	ND	ND	4.8	ND	0.7	ND	ND
IB5	アルミ缶	0.3	ND	1.4	ND	ND	ND	ND
IB6	アルミ缶	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IB7	アルミ缶	ND	ND	6.5	ND	0.6	ND	ND
IB8	アルミ缶	ND	ND	3.2	ND	2.9	ND	ND
IB9	アルミ缶	0.4	ND	2.9	ND	2.1	ND	ND
IB10	アルミ缶	1.2	ND	2.3	ND	ND	ND	ND
IB11	アルミ缶	ND	ND	0.7	ND	ND	ND	ND
IB12	アルミ缶	0.4	ND	0.8	ND	ND	ND	ND
IB13	アルミ缶	ND	ND	1.9	ND	ND	ND	ND
IB14	アルミ缶	ND	ND	9.1	ND	0.9	ND	ND
IB15	アルミ缶	0.6	ND	18.0	ND	1.5	ND	ND
IB16	アルミ缶	ND	ND	0.6	ND	ND	ND	ND
IB17	アルミ缶	ND	ND	0.7	ND	ND	ND	ND
IB18	アルミ缶	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IB19	アルミ缶	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IB20	アルミ缶	0.2	ND	1.8	ND	0.5	ND	ND
IB21	アルミ缶	0.2	ND	17.0	ND	1.1	ND	ND
IB22	アルミ缶	ND	ND	10.3	ND	1.0	ND	ND
IB23	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.5
IB24	アルミ缶	0.4	ND	0.6	ND	ND	ND	ND
IB25	アルミ缶	0.3	ND	2.4	ND	ND	ND	ND
IB26	アルミ缶	0.3	ND	1.0	ND	ND	ND	ND
IB27	アルミ缶	ND	ND	1.2	ND	ND	ND	ND
IB28	アルミ缶	0.2	ND	1.3	ND	ND	ND	ND
IB29	アルミ缶	0.4	ND	43.0	ND	2.4	ND	ND
IB30	アルミ缶	ND	ND	1.6	ND	ND	ND	ND
IB31	アルミ缶	ND	ND	2.6	ND	2.8	ND	ND
IH1	アルミ缶	0.9	ND	1.1	ND	ND	ND	ND
IH2	アルミ缶	0.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND

※単位: μ g/LND: < 0.2 μ g/L (BPA)< 0.5 μ g/L (BADGE, BADGE.2H₂O, BADGE.H₂O, BADGE.H₂O.HCl, BADGE.HCl)< 2 μ g/L (BADGE.2HCl)

Table 4 リキュール類の試験結果

試料	容器	BPA	BADGE	BADGE . 2H ₂ O	BADGE . H ₂ O	BADGE . H ₂ O. HCl	BADGE . HCl	BADGE . 2HCl
L1	アルミ缶	ND	ND	10.0	ND	6.1	ND	3.2
L2	アルミ缶	ND	ND	6.6	ND	4.1	ND	2.1
L3	アルミ缶	ND	0.7	5.6	0.8	11.5	1.4	4.5
L4	アルミ缶	ND	ND	4.1	0.9	8.8	0.8	3.3
L5	アルミ缶	ND	ND	0.6	ND	ND	ND	ND
L6	アルミ缶	ND	ND	1.3	ND	ND	ND	ND
L7	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L8	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L9	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L10	アルミ缶	ND	ND	0.7	ND	ND	ND	ND
L11	アルミ缶	0.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L12	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L13	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L14	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L15	アルミ缶	ND	ND	0.7	ND	ND	ND	ND
L16	アルミ缶	ND	ND	0.5	ND	ND	ND	ND
L17	アルミ缶	ND	ND	0.8	ND	ND	ND	ND
L18	アルミ缶	ND	ND	5.3	ND	ND	ND	ND
L19	アルミ缶	ND	ND	0.5	ND	ND	ND	ND
L20	アルミ缶	ND	ND	2.1	ND	3.4	ND	ND
L21	アルミホトル缶	ND	ND	10.1	ND	ND	ND	ND
L22	アルミ缶	ND	ND	1.9	ND	0.9	ND	ND
L23	アルミ缶	ND	ND	2.2	ND	1.4	ND	ND
L24	アルミホトル缶	ND	ND	2.2	ND	ND	ND	ND
L25	アルミホトル缶	ND	ND	2.5	ND	ND	ND	ND
L26	アルミ缶	ND	ND	1.0	ND	ND	ND	ND
L27	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L28	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
L29	アルミ缶	ND	ND	1.6	ND	0.5	ND	ND
L30	アルミ缶	ND	ND	1.7	ND	0.6	ND	ND
L31	アルミ缶	ND	ND	0.9	ND	0.8	ND	ND
L32	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

※単位: $\mu\text{g/L}$ ND: $< 0.2 \mu\text{g/L}$ (BPA) $< 0.5 \mu\text{g/L}$ (BADGE, BADGE.2H₂O, BADGE.H₂O, BADGE.H₂O.HCl, BADGE.HCl) $< 2 \mu\text{g/L}$ (BADGE.2HCl)

Table 5 果実酒、焼酎、ウイスキーの試験結果

試料	容器	BPA	BADGE	BADGE . 2H ₂ O	BADGE . H ₂ O	BADGE . H ₂ O. HCl	BADGE . HCl	BADGE . 2HCl
K1	アルミ缶	0.3	ND	0.7	ND	ND	ND	ND
K2	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
K3	ガラス瓶	0.3	ND	1.3	ND	ND	ND	ND
K4	ガラス瓶	1.6	ND	5.0	ND	0.5	ND	ND
K5	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
K6	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
K7	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
K8	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IK1	ガラス瓶	2.5	ND	3.3	ND	ND	ND	ND
IK2	ガラス瓶	1.3	ND	1.1	ND	ND	ND	ND
IK3	ガラス瓶	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
IK4	アルミ缶	ND	ND	9.9	ND	3.2	ND	ND
S1	ペットボトル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S2	ペットボトル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S3	ペットボトル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S4	ガラス瓶	0.7	ND	2.0	ND	ND	ND	ND
S5	ガラス瓶	1.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S6	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S7	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W1	ガラス瓶	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W2	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W3	ガラス瓶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W4	ガラス瓶	3.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W5	ガラス瓶	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W6	ペットボトル	1.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W7	アルミ缶	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
W8	アルミ缶	ND	ND	5.4	ND	3.3	0.6	ND
W9	アルミ缶	0.7	ND	7.9	0.6	3.7	1.1	2.7

※単位: $\mu\text{g/L}$ ND: $< 0.2 \mu\text{g/L}$ (BPA) $< 0.5 \mu\text{g/L}$ (BADGE, BADGE.2H₂O, BADGE.H₂O, BADGE.H₂O.HCl, BADGE.HCl) $< 2 \mu\text{g/L}$ (BADGE.2HCl)

ラミネートフィルム包装食品中のビスフェノール A および
ビスフェノール A ジグリシジルエーテル関連物質の分析

主任研究者	星薬科大学	中澤 裕之
分担研究者	愛知県衛生研究所	宮崎 豊
協力研究者	埼玉県衛生研究所	丹野瑛喜子
		堀江 正一
		吉田 栄充

【研究要旨】

ラミネートフィルム包装食品中のビスフェノール A (BPA) およびビスフェノール A ジグリシジルエーテル (BADGE) 関連物質の一斉分析法を検討し、構築した分析法を基にこれら化学物質の食品中濃度を測定した。

51 検体中、23 検体から BADGE 関連物質が検出されたが、BPA はすべての検体から検出されなかった ($<0.01\text{mg/kg}$)。

BADGE 関連物質は、特に PET (ポリエステル) /Al (アルミ箔) /PP (ポリプロピレン) 型のラミネートフィルム包装食品から検出された (30 検体中 17 検体: $0.01\sim 1.11\text{mg/kg}$)。

また溶出試験の結果から、BADGE 関連物質の食品への移行は、主に Al-PP 間に使用されたエポキシ樹脂系接着剤によるものと推察された。

【A. 研究目的】

ビスフェノール A (以下 BPA) は、内分泌かく乱物質として疑われている化学物質の 1 つである。BPA は、ポリカーボネートやエポキシ樹脂等のプラスチックの原料として広く使用されているため、これらプラスチック製品からのヒトへの暴露およびヒトに対する影響について懸念されている。

エポキシ樹脂の基本骨格となるビスフェノール A ジグリシジルエーテル (以下 BADGE) は、BPA およびエピクロロヒドリンの重合反応によって合成されることから、

平成 12 年度の当研究において、缶詰の内面コーティング剤として主に使用されるエポキシ樹脂由来の BPA および BADGE モノマー関連物質 (BADGE 加水分解体、塩化水素付加体) の一斉分析法について検討を行い、缶詰食品中の濃度調査を行った。

一方、エポキシ樹脂の用途は広く、缶詰の内面コーティング剤に使用される他、レトルトパウチといった複合ラミネートフィルムの接着剤として使用されている可能性があり、これらエポキシ樹脂成分の食品への移行が危惧される。しかし、これら包装

材料からの BPA および BADGE 関連物質の食品移行に関する情報はほとんど皆無である。

そこで、今年度はこれら包装材料からの BPA および BADGE 関連物質のヒトに対する暴露量を把握するために、高速液体クロマトグラフ/蛍光検出器 (HPLC/FL) を用いた一斉分析法 (高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) による確認) について検討し、包装食品への移行量を調査した。

【B. 研究方法】

B-1. BPA および BADGE 関連物質の一斉分析法

B-1-1. 対象とした化学物質

今年度一斉分析の対象とした化学物質は以下の 7 種類である。

- ・ BPA
- ・ BADGE モノマー
- ・ BADGE モノマー加水分解体 (BADGE・H₂O, BADGE・2H₂O)
- ・ BADGE モノマー塩化水素付加体 (BADGE・HCl, BADGE・2HCl)
- ・ BADGE モノマー加水分解体・塩素付加体混合体 (BADGE・H₂O・HCl)

BADGE 関連物質の構造式については、図 1 に示した。

B-1-2. 試料

市販のレトルト食品・ラミネート包装食品を対象とした。レトルト食品は各々の調理法 (熱湯で 5 分温める等) に従った後、試料の調製を行った。

B-1-3. 試薬

BPA 標準品 : 4,4'-isopropylidene-di-phenol

(環境分析用, 関東化学社製)

BADGE : Bisphenol A diglycidyl ether (Fluka 社製)

BADGE・2HCl (以下 2HCl 体) : Bisphenol A bis (3-chloro-2-hydroxypropyl) ether (Fluka 社製)

BADGE・2H₂O (以下 2OH 体) : Bisphenol A bis (2,3-dihydroxypropyl) ether (Fluka 社製)

BADGE・H₂O (以下 OH 体), BADGE・HCl (以下 HCl 体), BADGE・H₂O・HCl (以下 OHC 1 体) については、昨年度と同様、BADGE メタノール溶液に 1% 塩化ナトリウム溶液を加え、遮光下で室温放置し、5 日目に固相抽出カートリッジ OASIS HLB を用いて、脱塩・濃縮を行って調製した。各化合物については、LC/MS/SCAN 法で MS スペクトルを確認した。

その他、試薬類は残留農薬分析用あるいは HPLC 用を使用した。

OASIS HLB カートリッジ (60mg, Waters 社製) は、予めメタノール 20ml, アセトニトリル/精製水 (9:1, v/v) 5ml および精製水 5ml で前洗浄を行った。また、Romer Mycosep 226 カラム (Romer 社製) は、アセトニトリル/精製水 (9:1, v/v) 5ml で予め前洗浄を行った。

B-1-4. 試験溶液の調製

レトルト・ラミネート包装食品 (固形物を含むもの) は、各々の調理法 (熱湯 5 分, 電子レンジ 2 分 (500W) 等) に従った後、内容物をユニカルビーカー等に入れ、ホモジナイザーで均一化した。この均一化した試料は、後述の試験溶液調製法 I で行った。また液体食品 (飲料) は、そのまま試験溶

液調製法Ⅱで行った。

B-1-4-1. 試験調製法Ⅰ

均一化した試料は、速やかにその 5 g (湿重量) を秤り採り、アセトニトリル 50ml および無水硫酸ナトリウム 10 g でホモジナイズ抽出後、残さはアセトニトリル 30ml で洗浄した。合わせたアセトニトリル抽出液は、ろ過後、ヘキサン 50ml と 10 分間振とうし、アセトニトリル層を分取した (油を多く含んでいる食品はこのアセトニトリル層を新たなヘキサン 50ml と再度 10 分間振とうした後、アセトニトリル層を分取し、以下の操作を行った)。アセトニトリル層は、40℃以下で減圧濃縮乾固した。残留物はアセトニトリル 2ml で溶解し、さらに精製水 10ml を加えた。溶解液は OASIS HLB カートリッジに 3ml/min の速度で負荷し、アセトニトリル/精製水 (2 : 8, v/v) 3ml で洗浄した後、アセトニトリル/精製水 (9 : 1, v/v) 5ml で BPA および BADGE 関連物質を溶出した。溶出液は、そのまま Romer Mycosep226 カラムに通し (5ml/10sec)、さらにアセトニトリル/精製水 (9 : 1, v/v) 10ml をカラムに通した。カラム通過液は、40℃以下で約 0.2ml まで減圧濃縮し、窒素気流下で乾固した。最終的にメタノール 1ml に溶解し、その 10 μ l を HPLC/FL に注入した。

また LC/MS で確認する際は、試料溶液に同量の精製水を加えて希釈した後、その 10 μ l を LC/MS に注入した。

B.1-4-2. 試験溶液調製法Ⅱ

液体試料は、試料 10ml (g) に必要に応じて精製水を約 10ml 加え混和した後、OASIS HLB カートリッジに 3ml/min の速度

で負荷した。アセトニトリル/精製水 (2 : 8, v/v) 3ml で洗浄した後、アセトニトリル/精製水 (9 : 1, v/v) 5ml で BPA および BADGE 関連物質を溶出した。以下試験溶液調製法Ⅰと同様に行った。

B-1-5. HPLC/FL 条件

機器 : JASCO Gulliver System (日本分光)

カラム : Discovery RP-amide C16 (4.6 $\times$ 150mm, 5 μ m)

移動相 : A 液 ; アセトニトリル/精製水 (25 : 75, v/v), B 液 ; アセトニトリル/精製水 (75 : 25, v/v)

0min, A/B=80/20→17min, A/B=45/55→25min, A/B=40/60→26min, A/B=0/100

流速 : 1.0ml/min

カラム温度 : 40℃

注入量 : 10 μ l

検出器 : 蛍光検出器 (Ex/Em = 275nm/300nm)

代表的なクロマトグラムを図 2 に示した。

B-1-6. LC/MS 条件

B-1-6-1. MS 条件

機器 : HP1100 Series LC/MSD (Hewlett Packard)

イオン化モード : エレクトロスプレーイオン化法 (AP-ESI)

Positive Mode: BADGE 関連物質 6 種類

Negative Mode: BPA

フラグメンター電圧 : 80V

ネブライザーガス : N₂ (30psi)

ドライガス : N₂ (10L, 325℃)

V-Cap : 4500V

モニタリングイオン : m/z 358 (BADGE),

376(OH 体), 394(2OH, HCl 体), 412(OHCl 体), 430(2HCl 体), 227 (BPA)

B-1-6-2. LC 条件

カラム : Zorbax C18 (2.1×150mm, 5 μm)

移動相 : A 液, 20%アセトニトリル
(0.005%酢酸, 1mM 酢酸アンモニウム含有)

B 液, 100%アセトニトリル

0min, A/B=100/0 → 25min, A/B=70/30 → 30min, A/B=70/30

流速 : 0.2ml/min

カラム温度 : 40℃

注入量 : 10 μl

【C. 結果および考察】

C-1. BPA および BADGE 関連物質の一斉分析法

昨年度検討した缶詰食品の一斉分析法を用いて、レトルトカレーやコーヒー飲料等を HPLC/FL で分析したところ、特に 2OH 体のピーク近辺において、ベースラインが高く、また多くの夾雑物ピークが認められ、前処理法の改善が必要であった。

そこで、まず固相抽出カラムの種類や溶出条件等の検討を行った。前年度使用した OASIS HLB カートリッジによるクリーンアップ法に加え、アフラトキシン等の分析に汎用されている Romer Mycosep 226 カラムによるクリーンアップ効果を検討したところ、OASIS HLB カートリッジの負荷・溶出液をメタノール/水系からアセトニトリル/水系に変更し、さらにカラム溶出液をそのまま Romer カラムに通すことで夾雑物ピークの大部分を除去することができた。

またレトルト食品は、缶詰食品に比べ塩

分濃度が高いため、OASIS HLB カートリッジの負荷速度、溶出速度を 3ml/min と速めることで操作中の BADGE の分解等による減少を抑えることが可能であることが分かった。添加回収実験の結果を表 1 に示した。

OH 体、OHCl 体の定量は、2OH 体の検量線を用いて、HCl 体については 2HCl 体の検量線を用いて定量を行った。

さらに HPLC/FL で検出されたピークの確認には LC/MS を使用した。BPA に関しては、報告例の多い AP-ES イオン化法 (negative mode) を用いて確認した。BADGE 関連物質については、BPA と同様の negative mode では十分な感度が取れなかった (特に 2HCl 体) ので、positive mode を選択した。すべての BADGE 関連物質は、移動相に微量の酢酸アンモニウムを添加することで、アンモニウムイオン付加体 $[M+NH_4]^+$ として感度良く検出されたため、それぞれ M+18 を SIM のモニターイオンとして設定した。

C-2. ラミネートフィルムの材質構成

C-2-1. ラミネートフィルムの材質確認

食品の包装材料として使用されるプラスチックフィルムは、ほとんどが複数のフィルムを重ね合わせたラミネートフィルムである。単一のフィルムでは難しい食品の包装もそれぞれの欠点を補うフィルムを重ね合わせることで可能としている。多くの場合、フィルムは 2~4 層構造であり、そのラミネート方法の 1 つに、有機溶剤系接着剤を用いるドライラミネーション法が知られている。

このような多層構造を有するフィルムの材質を確認するためには、フィルムを単一

化する必要がある。そこで剥離あるいは溶解剤として、温モルホリン、2%水酸化ナトリウムエタノール、1mol/l 塩酸等を用いた。単一フィルムとした後、FT-IR（透過法）を用い付属ライブラリーを参考に材質同定した。

C-2-2. ラミネートフィルムの構成

今年度、分析調査した食品の包装材質の構成を表2に示した。

C-3. 食品中濃度

分析調査した食品 51 検体中、BADGE 関連物質は、23 検体から検出されたが、BPA は検出されなかった（検出限界 0.01mg/kg）。BADGE 関連物質が検出された食品中の濃度を表3に示した。

アルミ箔を有するラミネートフィルムの構成のほとんどは、最外層から PET（ポリエステル）/Al（アルミ箔）/PP（ポリプロピレン）であり、一部ナイロン（ON）がアルミ箔の外側もしくは内側に使用されていた。これらラミネートフィルムからの BADGE 関連物質は、30 検体中 17 検体から検出された。その濃度は、2OH 体 0.03～0.48mg/kg、OHCl 体 0.02～0.57mg/kg、BADGE 0.01～0.34mg/kg、HCl 体 0.04～0.45mg/kg、2HCl 体 0.01～1.11mg/kg であった。缶詰食品と傾向が異なり、缶詰ではほとんど検出されなかった BADGE（12 検体）や HCl 体（9 検体）が確認された。

また、塩分の比較的多いカレー・シチュー類、スパゲッティソース類では、OHCl 体、HCl 体および 2HCl 体といった塩素付加体が多い傾向がみられ、デザート、ご飯類では 2OH 体等の加水分解体の濃度が高

い傾向がみられた。

EUにおいては、BADGE 関連物質の食品中濃度を暫定的規制（1mg/kg）しているが、今年度の調査でこの基準値を超えた検体は 6 検体であった。

その他ラミネートフィルムの構成は多様であったが、ハンバーグ等の食肉調理品（ON/PP および ON/PE（ポリエチレン）フィルム包装）から 0.03～0.04mg/kg の 2OH 体と OHCl 体が検出された。さらにポリ塩化ビニリデン（PVDC）をバリアー剤として使用していた惣菜（レトルトコーン）から 0.03～0.07mg/kg の BADGE 関連物質（2OH 体、OHCl 体、2HCl 体）が検出された。

C-4. ラミネートフィルムからの BADGE 関連物質の移行

ラミネートフィルムからの BADGE 関連物質の食品への移行を調べるために、有機溶媒等を使用せずに最外層の PET が剥がれたラミネートフィルムを用いて溶出試験を行った（図3）。

I) PET/Al/PP が接着した断片（1cm×1cm）

II) Al/PP が接着した断片（1cm×1cm）

III) II) を手で引き延ばし Al-PP 間層を露出させた断片（最終的に 1cm×2cm）

それぞれの断片をメタノール 2ml で 5 分間超音波抽出し、その溶出液を HPLC/FL で定量したところ、断片 III) において、他の断片 I), II) の約 50 倍高い濃度の BADGE、および微量の HCl 体および 2HCl 体が検出された。この結果から Al および PP フィルムとの間に接着剤としてエポキシ樹脂が使用されている可能性が示唆され、これらエポキシ樹脂成分が食品と接する PP フィルムを通過することで食品へ移行したと推察

された。

【D. 結論】

ラミネートフィルム包装食品中のビスフェノール A (BPA) およびビスフェノール A ジグリシジルエーテル (BADGE) 関連物質の一斉分析法を検討し、構築した分析法を基にこれら化学物質の食品中濃度を測定した。

51 検体中、23 検体から BADGE 関連物質が検出されたが、BPA はすべての検体から検出されなかった ($<0.01\text{mg/kg}$)。

BADGE 関連物質は、特に PET (ポリエステル) /Al (アルミ箔) /PP (ポリプロピレン) 型のラミネートフィルム包装食品から検出された (30 検体中 17 検体: $0.01\sim 1.11\text{mg/kg}$)。

また溶出試験の結果から、BADGE 関連物質の食品への移行は、主に Al-PP 間に使用されたエポキシ樹脂系接着剤によるものと推察された。

【E. 研究業績】

1. 論文発表 (準備中) : Determination of Bisphenol A and Bisphenol A Diglycidyl ether derivatives in plastic-laminated foods.

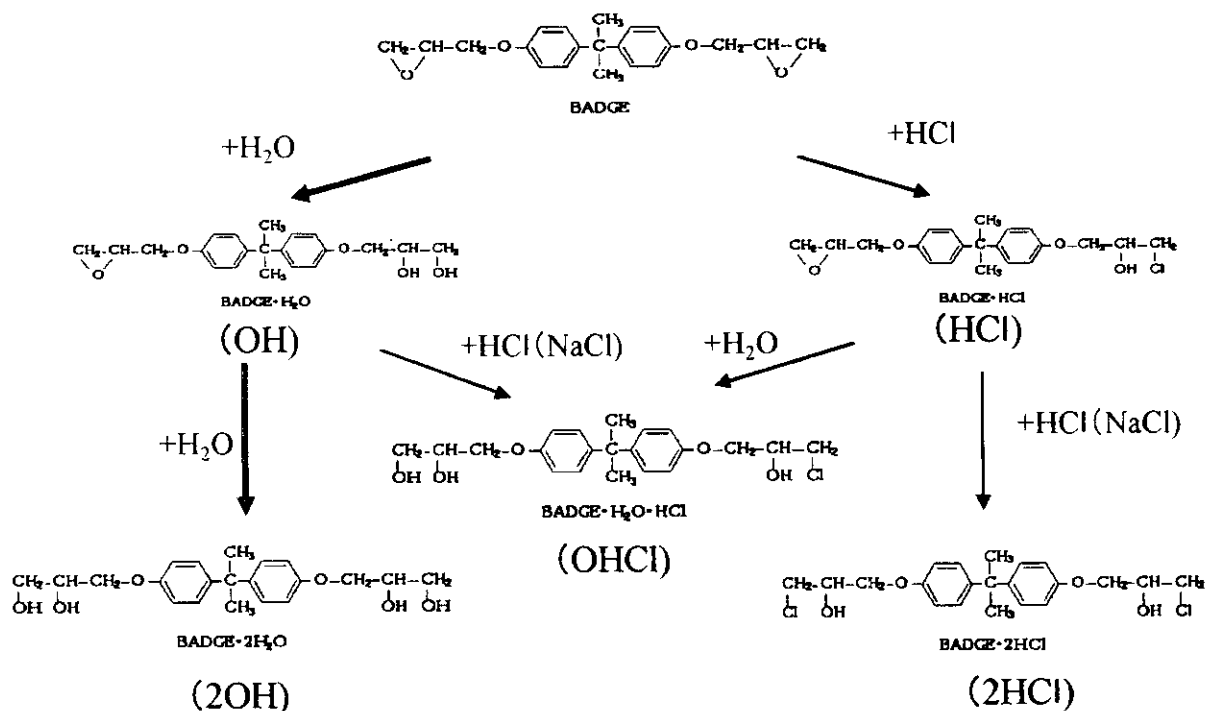


図1. BADGEおよびBADGE関連物質(加水分解体・塩素付加体)の構造式

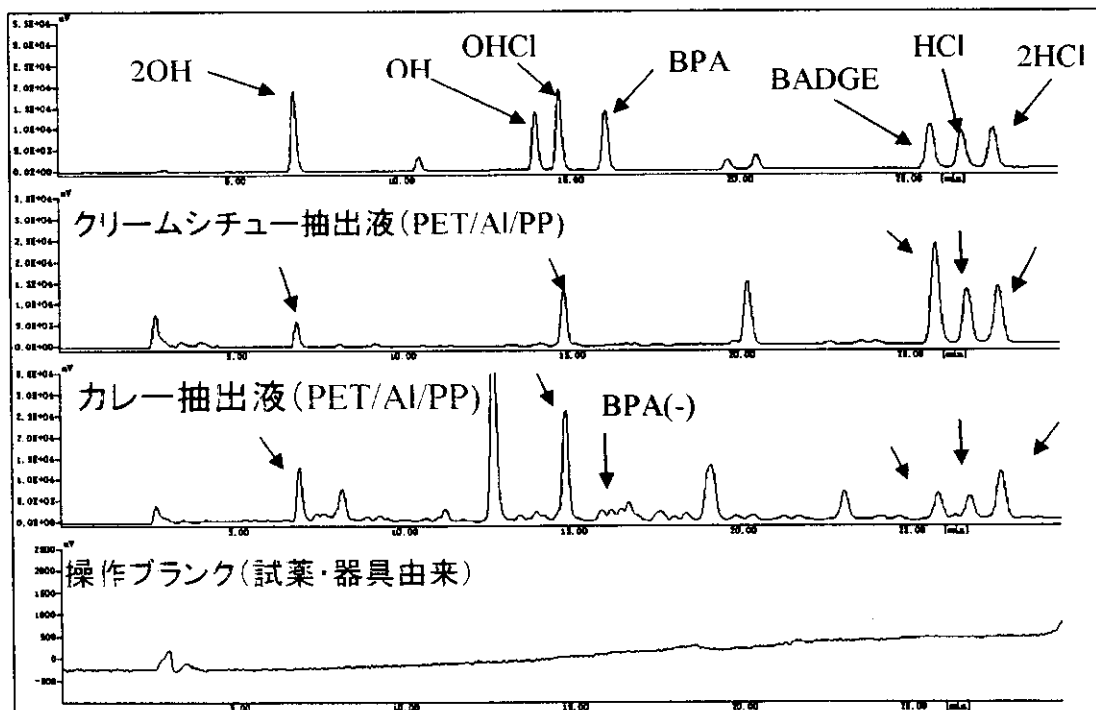


図2. 代表的なクロマトグラム(HPLC/FL)

機器: JASCO Gulliver System (日本分光)

カラム: Discovery RP-amide C16 (4.6 × 150mm, 5 μm)

移動相: A液: アセトニトリル/精製水 (25:75, v/v), B液: アセトニトリル/精製水 (75:25, v/v)

0min, A/B=80/20 → 17min, A/B=45/55 → 25min, A/B=40/60 → 26min, A/B=0/100

流速: 1.0ml/min

カラム温度: 40°C

注入量: 10 μl

検出器: 蛍光検出器 (Ex/Em=275nm/300nm)

表1.添加回収実験

種類A	種類B	添加濃度	Blank	回収率%						
				2OH	OH	OHCl	BPA	BADGE	HCl	2HCl
デザート	りんごシロップ	A	有	82.2	93.0	103.9	98.6	87.7	90.1	99.2
カレー	カレー	A	無	82.4	82.4	91.9	95.5	79.5	93.5	93.5
飯	赤飯	A	無	83.8	86.8	98.9	99.2	84.7	92.2	98.9
飯	雑炊の素	A	無	92.9	82.9	102.4	99.3	83.1	100.2	100.1
スパゲッティ	スープ	A	無	89.6	92.5	99.7	94.3	86.7	97.8	98.9
スパゲッティ	ミートソース	A	無	83.8	87.8	97.3	95.5	83.1	90.2	97.5
	コーン	A	無	85.8	96.1	94.9	99.1	85.1	90.9	95.0
	ハム	A	無	89.6	82.2	96.7	93.1	83.7	93.9	95.4
	ミートボール	A	有	99.7	94.6	98.6	98.4	87.0	93.8	94.6
	ウーロン茶 (PET)	B	無	96.5	97.1	99.6	97.0	95.6	97.2	96.6
	ミルクコーヒー (PET)	B	無	96.5	92.1	99.2	96.4	93.5	96.5	97.1
	イオン飲料 (PET)	B	無	94.5	94.5	96.0	96.8	93.3	94.5	94.4

添加濃度 A BPAおよびBADGE関連物質 (0.3~0.55 μ g) 混合品を試料5gに添加。
添加濃度 B BPAおよびBADGE関連物質 (0.3~0.55 μ g) 混合品を試料10mlに添加。
SD: 3.8~8.4 (n=3)

表2. 包装材料別検体数および検出率

包装材質	検体数 (検出数)	食品の種類								
		カレー・シチュー	スパゲッティ	スープ	飯(丼具、炊込)	飯(粥・雑炊)	デザート	清涼飲料水	食肉調理品	惣菜
ON/PE	3(2)				1(1)			1(1)	1	
ON/PP	7(2)							5(2)	2	
PET/Al/PP	24(15)	8(7)	6(3)	2(1)	3	2(2)	3(2)			
PET/Al/PE	2(1)			1(1)						
PET/ON/Al/PP	3(1)			1		1(1)	1			
PET/Al/ON/PP	1		1							
PET/ON/PP	6(1)		1(1)			1				4
PET/PE	1							1		
PET/PP	2							2		
PET/PVDC/PP	1(1)									1(1)
PVA/ON/PE	1							1		
計	51(23)	8(7)	8(4)	4(2)	4(1)	4(3)	4(2)	2	9(3)	8(1)

ON(ナイロン), PE(ポリエチレン), PP(ポリプロピレン), PET(ポリエステル), Al(アルミ箔), PVDC(ポリ塩化ビニリデン), PVA(ポリビニルアルコール)

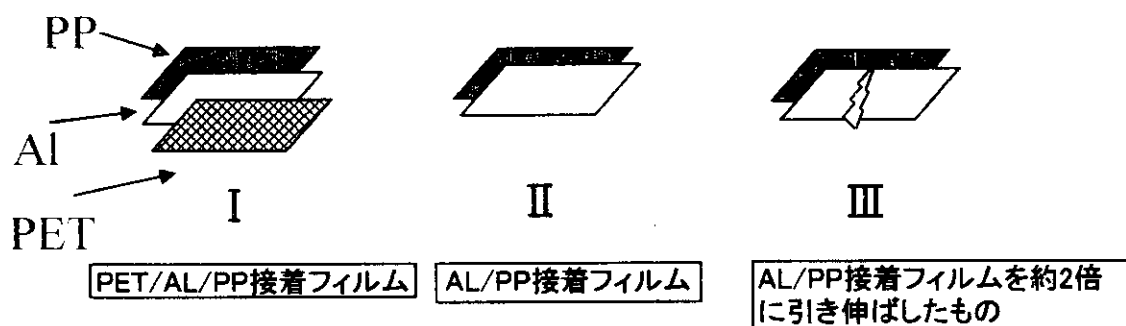
表3. ラミネートフィルム包装食品中のBPAおよびBADGE関連物質濃度

材質	食品の種類	食品中の濃度(mg/kg)						
		BPA	2OH	OH	OHCl	BADGE	HCl	2HCl
ON/PE	飯(具-炊込)		0.02					
ON/PE	食肉調理品		0.03					
ON/PP	食肉調理品		0.03		0.03			
ON/PP	食肉調理品		0.04		0.03			
PET/Al/PP	カレー		0.08		0.43	0.28	0.45	0.81
PET/Al/PP	カレー		0.08		0.35	0.03	0.04	0.41
PET/Al/PP	カレー		0.10		0.49	0.16	0.23	0.68
PET/Al/PP	カレー		0.13		0.35	0.01	0.05	0.24
PET/Al/PP	カレー		0.17		0.40	0.12	0.12	0.28
PET/Al/PP	シチュー		0.05		0.13	0.34	0.21	0.23
PET/Al/PP	シチュー		0.03		0.13	0.25	0.16	0.21
PET/Al/PP	スパゲッティー		0.03					
PET/Al/PP	スパゲッティー		0.14		0.47			0.58
PET/Al/PP	スパゲッティー		0.19		0.57	0.02	0.10	1.11
PET/Al/PP	スープ		0.14		0.15	0.23	0.21	0.66
PET/Al/PP	飯(粥)		0.32					
PET/Al/PP	飯(粥)		0.48		0.40	0.01		0.01
PET/Al/PP	デザート		0.04		0.02	0.03		0.02
PET/Al/PP	デザート		0.21		0.07			0.09
PET/Al/PE	スープ				0.04	0.01		0.24
PET/ON/Al/PP	飯(雑炊)		0.04		0.07			
PET/ON/PP	スパゲッティー		0.01		0.02			0.02
PET/PVDC/PP	惣菜		0.07		0.04			0.03

空欄: 不検出(検出限界 0.01mg/kg)

OPET/Al/PP型ラミネートフィルム

有機溶剤等を使用せずに最外のPETフィルムが剥がれたラミネートフィルムの溶出試験を行った(メタノール2ml/cm², 超音波5min)。



	BADGE	HCl	2HCl
I	23	-	-
II	27	-	-
III	1003	86	112

単位: ng/cm²

図3. PET/Al/PPフィルムの溶出試験

平成 13 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および動態解析

容器包装素材等からの内分泌かく乱化学物質の動態

文具、化粧品、家庭用品等に含まれる内分泌かく乱化学物質の分析

主任研究者 中澤裕之

星薬科大学

担研究者 宮崎 豊

愛知県衛生研究所

研究協力者 伊藤裕子

後藤智美

岡 尚男

猪飼誉友

近藤文雄

松本 浩

愛知県衛生研究所

研究要旨

市販の文具、化粧品、家庭用品の計 64 検体に含まれる 14 種類の可塑剤（フタル酸エステル：12 種類、アジピン酸エステル：2 種類）を分析した結果、30 検体（消しゴム：20 検体、サインペンの透明ケース等：4 検体、クッションフロア：5 検体、ビータイル：1 検体）からフタル酸ジブチル、フタル酸 2-エチルヘキシル、フタル酸ジヘプチル、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸 2-エチルヘキシルが検出された。うち 15 検体からは同時に 2 種類の可塑剤が、3 検体からは 3 種類の可塑剤が検出された。消しゴム中には高頻度（95%、20/21）、高濃度（20～40%）に可塑剤が含有されていることが判明した。透明ケース類からも高頻度（80%、4/5）に 15%前後の濃度で可塑剤が検出された。また、クッションフロアは全検体（5/5）から 25%前後の高濃度の可塑剤が検出された。

A. 研究目的

フタル酸エステル及びアジピン酸エ

ステル類はプラスチック製消しゴムの

可塑剤として、あるいは化粧品、イン

ク、接着剤、塗料等の成分保留剤として使用され、我々の生活環境中に氾濫している。一方、これらの可塑剤は消化管、肺及び皮膚から速やかに吸収され、特に側鎖の短いものは皮膚吸収性が高いとされていることから、我々は文具、化粧品、家庭用品等からこれら可塑剤の暴露を日常的に受けているものと考えられる。したがって、これら文具、化粧品、家庭用品等からの可塑剤の暴露量を早急に把握する必要がある。しかし、現在までのところ、文具等をはじめとしたこれらのものに含まれる可塑剤の質的及び量的な調査は実施されていないので、早急な実施が必要と考えられる。そこで、平成13年度は文具、化粧品、家庭用品等中に含まれるフタル酸エステル及びアジピン酸エステル類を分析し、これら可塑剤の含有実態を調査することとした。

B. 研究方法

1. 試薬および標準溶液

n-ヘキサンは残留農薬測定用 2000 (和光純薬製) を、アセトンはフタル酸エステル測定用 (関東化学製) を用いた。フタル酸ジエチル (DEP)、フタル酸ジブチル (DBP)、フタル酸ジペンチル (DPeP)、フタル酸ジヘキシル (DHxP)、フタル酸ジシクロヘキシル (DcHP)、フタル酸ジヘプチル (DHpP)、フタル酸ジオクチル (DOcP)、フタル酸ジイソノニル (DINP)、アジピン酸 2-エチルヘキシル (DEHA)、アジピン酸ジイソノニル (DINA) については、すべて環境分析用 (関東化学製) を用いた。フタル酸エステル類及びアジピン酸エステル類の標準溶液は、それぞれの濃度が 1 μ g/mL になるように n-ヘキサンで調製し、それを適宜 n-ヘキサンで希釈して用いた。

フタル酸ジヘキシル (DHxP)、フタル酸 2-エチルヘキシル (DEHP)、フタル酸ジシクロヘキシル (DcHP)、フタル酸ジヘプチル (DHpP)、フタル酸ジオクチル (DOcP)、フタル酸ジイソノニル (DINP)、アジピン酸 2-エチルヘキシル (DEHA)、アジピン酸ジイソノニル (DINA) については、すべて環境分析用 (関東化学製) を用いた。フタル酸エステル類及びアジピン酸エステル類の標準溶液は、それぞれの濃度が 1 μ g/mL になるように n-ヘキサンで調製し、それを適宜 n-ヘキサンで希釈して用いた。

2. 試料

平成13年7月から8月の間に名古屋市内の小売店で購入した文具49検体、化粧品9検体、家庭用品6検体を用いた。

3. 試験溶液の調製

クッションフロアはその表面をはぎ取ったのち 5 mm 角に細切し、消しゴム等その他の固形試料はそのまま 5 mm 角に細切し、いずれもその 2.5 g をあらかじめアセトン及び n-ヘキサンで洗浄した 50 mL メスフラスコに秤量した。n-ヘキサン 40 mL を加え、一昼夜放置し、メスアップした。

インク、マニキュア等の液状試料は、あらかじめアセトン及び n-ヘキサンで

洗浄した直径 125 mm のガラス製シャーレに直径 55 mm の濾紙を置き、その上に 0.5 g の試料を薄くのばした。その後、シャーレに 20 mL の n-ヘキサンを加え、一昼夜放置し、あらかじめアセトン及び n-ヘキサンで洗浄した 20 mL メスフラスコに n-ヘキサン溶液を移し、メスアップした。

4. 分析条件

GC 条件

装置：GC-14B (FID 検出器付、島津製作所製)

カラム：DB-5 (0.53 mm x 30 m、1.5 μ m、J&W 製)

カラム温度：200℃から 280℃まで毎分 5℃で昇温後、280℃で 4 分間保持した。

注入口及び検出器温度：280℃

キャリアガス：窒素、40 mL/min

GC/MS 条件

装置：AUTO MASS SYSTEM II (日本電子製) カラム：HP-5MS (0.25 mm x 30 m、0.25 μ m、ヒューレットパッカード製)

カラム温度：150℃で 1 分間保持後、280℃まで毎分 10℃で昇温し、280℃で 5 分間保持した。

イオン源温度：210℃ イオン化：EI
イオン化電圧：70 eV 検出方法：スキヤン法 (m/z 50-500) 試料注入方式：

スプリットレス (1 分間)

C. 結果と考察

1. GC による定量及び GC/MS による同定

表 1 に示す 14 種の可塑剤 (フタル酸エステル：12 種類、アジピン酸エステル：2 種類) の標準品を、研究方法に示す GC 条件下で分析した。それらの保持時間は表 1 に、また検出頻度の高いフタル酸エステルとアジピン酸エステルのクロマトグラムを図 1A に示した。検量線は 50ppm から 2000ppm の間で良好な直線性を示し、文具等の分析を行なために十分な定量性が得られたので、以下の研究では研究方法に示す GC 条件を用いて可塑剤を定量することとした。

また、検出された可塑剤を同定するために研究方法に示す GC/MS 条件下で 14 種の可塑剤の標準品を分析したところ、すべてのマススペクトルからモノエステル体に由来するイオン (DHpP：m/z 265、DBP：m/z 223、DEHP：m/z 279、DINP：m/z 293、DEHA：m/z 241) と、無水体に由来するイオン (DHpP、DBP、DEHP、DINP：m/z 149、DEHA：m/z 129) が観察され、良好に同定できることが判明した。したがって、以下の研究ではこの GC/MS 条件を用いて可塑

剤を同定することとした。

2. 文具、化粧品、家庭用品等の分析

市販の消しゴム等文具 49 検体、マニキュア等化粧品 9 検体、クッションフロア等家庭用品 6 検体について、研究方法に示す方法で、14 種類の可塑剤（フタル酸エステル：12 種類、アジピン酸エステル：2 種類）を分析した。代表的な検体のクロマトグラムを図 1B～E に、それらのマススペクトルを図 2 に示した。GC クロマトグラム上のピークは、対応する可塑剤の保持時間に完全一致し、マススペクトルはそれぞれの可塑剤に由来するモノエステル体及び無水体のイオンが出現していたことから、それぞれのピークは図 1 のクロマトグラム上に表記した可塑剤であると同定された。

定量結果は表 2 にまとめたが、64 検体中 30 検体からフタル酸エステル及びアジピン酸エステルが検出された。その内訳は、消しゴムは 21 検体中 20 検体から、サインペンの透明ケース等 5 検体中 4 検体から、また、クッションフロア（5 検体）及びビータイル（1 検体）からは全検体から検出された。全 64 検体中 15 検体（消しゴム：12 検体、透明ケース：3 検体、ビータイル：1 検体）からは同時に 2 種類の、3 検体（消しゴムのみ）からは 3 種類の可塑剤が

検出された。

検出された可塑剤の種類としては DEHP が最も高頻度に、64 検体中 28 検体（消しゴム：18 検体、透明ケース：4 検体、クッションフロア：5 検体、ビータイル：1 検体）、かつ高濃度（3.6～33.6%；平均値：22.7%、中央値：23.9%）に検出された。次いで高頻度に検出されたのは DBP（14 検体；消しゴムのみ）で、その濃度は 5.1～19.1%（平均値：12.4%、中央値：12.5%）、DHpP が 7 検体（消しゴム：6 検体、ビータイル：1 検体）から 2.0～35.2%（平均値：15.5%、中央値：11.7%）の濃度で検出された。また、DEHA と DINP が共に 1 検体から（DEHA：透明ケース、DINP：消しゴム）、それぞれ 4.4%、6.9%の濃度で検出された。

また、品目別の検出状況から、消しゴムには高頻度（95%、20/21）かつ高濃度に（50%前後）にこれらの可塑材が含有されていることが判明した。透明ケース類では 80%の頻度（4/5）で濃度 15%前後の可塑剤が、クッションフロアでは全検体（5/5）から濃度 25%前後の可塑剤が検出された。

D. 結論

1. 研究方法に示す GC 条件により、14 種の可塑剤（フタル酸エステル：12 種