

平成15年度厚生労働科学研究費補助金

食品安全確保研究事業

食品用器具・容器包装等の 安全性確保に関する研究

総括・分担研究報告書

平成16(2004)年4月

主任研究者 河村 葉子 国立医薬品食品衛生研究所
分担研究者 荻野 周三 東京都健康安全研究センター
分担研究者 田口 信夫 東京都健康安全研究センター
分担研究者 高野 忠夫 (財)化学技術戦略推進機構

木及び竹製品中の防かび剤及び漂白剤に関する研究

分担研究者 田口 信夫 東京都健康安全研究センター

研究要旨

平成5年に竹製の割りばしから防かび剤のオルトフェニルフェノール（OPP）が検出され問題となった。これは、中国などで製造された竹製の割りばしが船便で日本に輸出される際、カビの発生を抑える目的で使用されたものであった。その後OPPが使用された割りばしは姿を消し、代わって食品の漂白殺菌剤として使用される二酸化硫黄又は亜硫酸塩類（亜硫酸類）を使用した割りばしが流通するようになり、平成14年には一部のマスコミ報道を発端に亜硫酸類で処理された割りばしの安全性が社会問題となった。

食品衛生法では、食品に接触する器具・容器包装について様々な規格が定められている。これらには、合成樹脂、陶磁器などの原材料の材質別に定められた材質別規格、原材料一般の規格などがあるが、太古の昔から使用されてきた天然素材である木や竹製品については、着色料の溶出に関する原材料一般の規格があるだけであり、防かび剤や漂白殺菌剤については定められていない。

厚生労働省は、広くマスコミ報道された割りばしに使用されている化学物質の問題を受け、防かび剤のOPP、ジフェニル（DP）、チアベンダゾール（TBZ）、イマザリル（IMZ）及び漂白殺菌剤の亜硫酸類について、割りばしなどへの使用実態を把握するとともに、これら化学物質による危害を未然に防止する目的で、平成15年1月に「割りばしに係わる監視指導について」という通知を出した。その中で、割りばしにおける防かび剤や漂白殺菌剤の試験法を示すと共に、暫定基準値を設定し、各地方公共団体に対して検査結果を厚生労働省に報告するよう通知した。しかし、これらの試験法（通知法）は、防かび剤については、材質試験の予備試験と本試験及び4種類の疑似溶媒による溶出試験が示されているが、実際に試験を行う上で実施しなければいけない試験法がどれであるのか明確でなく、定量法の定量限界も示されていなかった。また、亜硫酸類については、電気伝導度検出器（CD検出器）を用いたイオンクロマトグラフ法（IC法）と滴定法が示されているが、一般的な紫外吸収検出器（UV検出器）を用いた高速液体クロマトグラフ法（HPLC法）は示されておらず、定量限界も示されていなかったため混乱が生じた。そこで、これらの防かび剤及び亜硫酸類の溶出試験法を改めて検討することとした。

防かび剤については、通知法で示された溶出試験法で、食品衛生法に規定された食品疑似溶媒（水、20%エタノール、4%酢酸及びn-ヘプタン）を用い、規定された温度及び時間で溶出することとなっているが、それぞれの化合物の溶出傾向が明らかではなく、4種類全ての溶媒で試験を行う必要があるのか、最大の溶出量を示すいずれかの溶媒で代表することができるのか明らかではなかった。そこで、まず各防かび剤を含む割りばしを調製し、それらに各食品疑似溶媒を加えて浸漬し、規定された各溶出条件若しくは室温で24時間放置し、得られた溶出液中の各防かび剤の濃度を測定した。なお、食品疑似溶媒としては、器具・容器包装の溶出試験に指定されたものの他にEUにおいて油脂食品疑似溶媒として使用されている95%エタノールも用いた。その結果、全ての防かび剤において95%

エタノールの溶出率が高く、食品衛生法における食品疑似溶媒の中では20%エタノールの溶出率が高かった。したがって、溶出試験に用いる溶媒としては、全ての防かび剤に共通して比較的高い溶出率の得られた20%エタノールを用い、60℃30分間の溶出条件が適当であると結論された。また、防かび剤の測定方法は、HPLC法が適当であった。ただし、移動相のpHは2.7に調整することが不可欠であり、防かび剤のHPLC用標準原液の希釈には移動相を用いる必要があることも明らかとなった。なお、本法における溶液中の定量限界は、IMZ 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、OPP 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、TBZ 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 及びDP 1 $\mu\text{g/mL}$ であった。

亜硫酸類については、溶出試験法の測定方法及び溶出液の調製方法について検討した。測定方法はCD検出器を使用するIC法、UV検出器を使用するIC法及びHPLC法、アルカリ滴定法及び比色法について検討した。その結果、IC法及びHPLC法は妨害物質の影響を受けることなく、高感度の測定（定量限界：CD検出器=0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、UV検出器=0.6 $\mu\text{g/mL}$ ）が可能であった。特に、HPLC法は、一般的な分析機器であるHPLCを使用することにより、溶出液を直接測定できることから、測定法として適していると考えられる。なお、比色法は妨害物質の影響を受ける場合があり、測定法としては適さなかった。また、滴定法は、通気蒸留操作が必要であり、微量分析には適さなかった（定量限界：2 $\mu\text{g/mL}$ ）が、通気蒸留装置以外に特別な機器は必要としないことから、簡易法として適していた。但し、浸出用液を4%酢酸とした場合は、滴定法では測定出来ず、IC法及びHPLC法では、溶出液を通気蒸留したものを測定する必要があった。また、亜硫酸類の溶出試験に用いる浸出用液として、上記の疑似溶媒について溶出傾向を検討した。その結果、*n*-ヘプタンは割りばしへの浸透性が低く、浸出用液としては不適切であったが、水、4%酢酸及び20%エタノールを用いた溶出試験では、竹製割りばしからの二酸化硫黄溶出量に大きな差は無かった。また、溶出温度が高くなるほど二酸化硫黄溶出量が増し、95℃の水における溶出量は60℃の約2倍であった。しかし、20%エタノールは95℃では激しく沸騰するため使用できなかった。したがって、割りばしは高温の水に触れる場合もあることから、溶出試験は95℃の水を用いるのが適当と考える。

本法により市販竹製割りばしの実態調査を行った結果、4種の防かび剤は全く検出されなかったが、亜硫酸類は12試料中9試料から1.2 $\mu\text{g/cm}^2$ 以上検出され、最高値は25.8 $\mu\text{g/cm}^2$ （何れも二酸化硫黄としての値）であった。また、最近「無漂白」と表示された割りばしも目につくようになり、これらから二酸化硫黄は検出されなかった。

通知法では、溶出試験における割りばし一膳当たりの溶出量の値によって、自主的規制等必要な措置を指導するとしている。しかし木及び竹製品は様々な形態があることから、検査方法については溶出試験を行い、試料表面積当たりの濃度で判断するのが適当と考える。また、現在の暫定指導基準値は、ADIに成人の平均体重や食事回数などの因子を掛け、割りばしのみから摂取される量として設定しているが、食事で摂取される防かび剤や亜硫酸類の量は、割りばし由来と食品由来のものが合算された値であること、また、割りばしからは、これらの化合物が小児も成人とほぼ同量摂取されると考えられることなどから、指導基準値を見直し、現在の1/2程度に抑える必要があると考える。

研究協力者

金子 令子 東京都健康安全研究センター
船山 恵市 東京都健康安全研究センター
羽石奈穂子 東京都健康安全研究センター
山嶋裕季子 東京都健康安全研究センター

＜その1＞割りばし中防かび剤の溶出傾向の検討

研究協力者 船山恵市、金子令子、羽石奈穂子 東京都健康安全研究センター

A. 研究目的

食品衛生法では、天然素材である木や竹製の器具・容器包装については材質別規格が設定されていない。

しかし、割りばしからホルムアルデヒドが検出され、さらに平成6年には山嶋¹⁾らが割りばしから防かび剤であるオルトフェニルフェノールを検出して社会的関心が高まった。そのため平成6年度及び7年度の厚生科学研究「器具・容器包装の健康影響に関する研究」において、食品用木製器具中の残存化学物質に関する検討を行った。

その中で防かび剤等の試験法の検討、残存量や溶出量の調査を行い、オルトフェニルフェノールが割りばしに使用されなくなったことを確認し、またホルムアルデヒドや過酸化水素が木材の乾燥時に木材中の成分から生成することを明らかにした。

平成14年、竹製割りばしに防かび剤使用の疑いが報道され、その後東京都立衛生研究所や厚生労働省検疫所において二酸化イオウの残存が確認された。

そこで平成15年1月には厚生労働省より「割りばしに係る監視指導について」という通知²⁾がなされ、その中で防かび剤及び漂白剤に関する試験法が示された。しかし防かび剤の溶出試験では、溶出に用いる食品疑似溶媒が4種類規定されているが、割りばしは使用対象が食品全般にわたり、しかも防かび剤の溶出傾向が明らかではなく、その選択が困難であった。

そこで本研究では、イマザリル、オルトフェニルフェノール、チアベンダゾール及びジフェニルの4種類の防かび剤について、それらを含有する割りばしを調製して、それらの測定法及び溶出試験の各試験条件における溶出傾向について検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. 試料

防かび剤の検出されない市販竹製割りばしを試料とした。

2. 試薬及び標準溶液

イマザリル(IMZ)：残留農薬試験用標準品(純度98.0%)、オルトフェニルフェノール(OPP)：食品添加物試験用標準品(純度99.5%)、チアベンダゾール(TBZ)：食品添加物試験用標準品(純度100.0%)、ジフェニル(DP)：特級試薬 以上和光純薬工業(株)製、2-フェニルフェノールナトリウム(OPP-Na)：東京化成工業(株)製、ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)：イオンペークロマト用試薬 和光純薬工業(株)製、アセトニトリル、メタノール：高速液体クロマトグラフ用試薬 ナカライテスク(株)製、リン酸：特級試薬 和光純薬工業(株)製

IMZ、OPP、OPP-Na、TBZ、DP標準溶液：各試薬10 mgを精秤し、メタノールでそれぞれ100 mLに定容した液をそれぞれの標準原液とした。本液1 mLはそれぞれ防かび剤を100 μ g/mL含む。これらの一定量を取り、必要に応じてメタノールあるいは移動相で希釈し、標準溶液とした。

3. 装置及び器具

液体クロマトグラフ(HPLC)：(株)島津製作所製 [送液ポンプLC-10AT、オープンCTO-10A、デガッサーDGU-12A、UV検出器SPD-10A、蛍光検出器RF-535]、オートサンプラー：システムインスツルメンツ(株)製 Model 33
ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)：サーモクエスト社製ボイジャー
手振り振とう機：旭テクノグラス(株)製 SHK-COCK2

マイクロフィルター：日本ミリポア(株)製 親水性PTFEメンブレン、0.45 μ m

4. HPLC測定条件

(1) OPP、OPP-Na、TBZ及びDP測定条件

カラム：ジエールサイエンス製
Inertsil ODS-3 (4.6 mm i. d. × 250 mm、粒
径5 μm)

移動相：アセトニトリル・メタノール・
水(5:60:35)に最終濃度が0.01Mとなるよう
にSDSを添加し、リン酸でpHを2.3または2.7
に調整した。

流速：1 mL/min

カラム温度：40℃

蛍光検出器：励起波長285 nm

蛍光波長325 nm

(2) IMZ測定条件

下記以外は(1)と同じ

移動相：メタノール・水(75:25)

UV検出器：230 nm

5. GC/MS測定条件

(1) OPP、OPP-Na、TBZ及びIMZ測定条件

カラム：HP1701(0.25 mm i. d. × 30 m、
膜厚0.25 μm)、HP社製

カラム温度：40℃(1 min)→(20℃/min)
→200℃(10 min)→(10℃/min)→280℃ (2
min)

注入方法：スプリットレスモード

注入口温度：220℃

キャリアーガス及び流量：He、1 mL/min

インターフェイス温度：250℃

イオン源温度：200℃

検出方法：SIMモード

定量用イオン(m/z)：OPP 170、TBZ 201、
IMZ 215

(2) DP測定条件

下記以外は(1)と同じ

検出方法：SCANモード

6. 防かび剤含有割りばしの調製

(1) 各防かび剤を単品で含有する割りばし

IMZ、OPP、OPP-Na、TBZの各200 μg/mLメ
タノール溶液、及びOPP-Naの200 μg/mL水
溶液 [OPP-Na(水)]、またDPの2,000 μg/
mLメタノール溶液を共栓付きメスシリンダ
ーに調製した。その中に防かび剤の検出さ
れない割りばしを数日間浸漬し、十分浸透

させた後ドラフト内で24時間乾燥を行い調
製した。OPP-Na水溶液のみ48時間乾燥を行
った。なお、浸漬及び乾燥は室温で行った。

(2) 防かび剤4種を混合で含有する割りばし

IMZ、OPP、TBZを各200 μg/mL及びDPを
2,000 μg/mL含有する混合メタノール溶液
を調製し、上記と同様に操作した。

7. 試験溶液の調製

(1) 材質試験

割りばしを金づちでつぶして竹の繊維を
縦方向にばらばらにし、さらに2~4 mm程度
に細断したもの1gを精秤し、25 mL共栓付
き試験管に入れメタノール20 mLを加えて密
栓し、15分間超音波抽出した。ろ過後、残
さにメタノール20 mLを加えて再度15分間超
音波抽出し、ろ液を合わせてメタノールで5
0 mLとした。この液をマイクロフィルターで
ろ過しHPLC用試験溶液とした。

(2) 溶出試験

割りばし1本を2つに切断し25 mL共栓付き
試験管に入れ、浸出用液20 mLを加えて密栓
し、時々振り混ぜながら各浸出条件で溶出
した。この溶出液をマイクロフィルターでろ
過しHPLC用試験溶液とした。n-ヘプタン溶
液のみGC/MS用試験溶液とした。

8. 検量線の作成

(1) HPLC

IMZ、OPP、OPP-Na、TBZ、DPの各メタノー
ル標準溶液(0.05、0.1、0.2、0.5、1、10、
100 μg/mL)を用いて測定を行い、得られた
ピーク高によりそれぞれ検量線を作成した。
TBZのみ移動相でさらに2倍に希釈し検量線
を作成した。

(2) GC/MS

OPP、OPP-Naのメタノール標準溶液(0.1、
1、10 μg/mL)、DPのメタノール標準溶液(
0.5、5、10、20 μg/mL)、TBZ及びIMZのメ
タノール標準溶液(1、5、10 μg/mL)を用い
測定を行い、得られたピーク面積によりそ
れぞれ検量線を作成した。

9. 材質試験における添加回収試験

あらかじめ金づちでつぶして細断した防

かび剤不検出割りばし1 gに対し、各防かび剤100 $\mu\text{g/mL}$ あるいは1,000 $\mu\text{g/mL}$ を含む4種混合メタノール溶液を1 mL添加し、共栓付き試験管内で1時間浸透させた。抽出は7. 試験溶液の調製 (1)材質試験に従ってメタノール20 mLを加える操作以降を行い、試験溶液についてHPLCにより定量分析を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 測定法の検討

(1)HPLC法及びGC/MS法

HPLCによる検量線はピーク高による絶対検量線法を用い、OPP及びOPP-Naでは0.05~100 $\mu\text{g/mL}$ 、DPでは0.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 、IMZでは0.2~100 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性のある良好な検量線が得られ、定量限界はOPP及びOPP-Na 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、DP 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、IMZ 0.2 $\mu\text{g/mL}$ であった。

各ピークの保持時間は、OPP (OPP-Na) 10.3 min、TBZ 13.4 min、DP 31.0 min及びIMZ 11.3 minであった。

ただし、TBZのメタノール標準溶液をHPLCで測定すると、TBZのピークが2つに分離する現象が見られた。そのため次項で検討を行った。

GC/MSによる検量線はピーク面積による絶対検量線法を用い、OPP及びOPP-Naでは0.1~10 $\mu\text{g/mL}$ 、TBZ及びIMZでは1~10 $\mu\text{g/mL}$ 、DPでは0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性のある良好な検量線が得られ、定量限界はOPP及びOPP-Na 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、TBZ及びIMZ 1 $\mu\text{g/mL}$ 、DP 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であった。

各ピークの保持時間は、DP 8.5 min、OPP (OPP-Na) 10.0 min、TBZ 22.6 min、IMZ 23.6 minであった。

なお、測定は各試験溶液を前処理なしで測定でき、しかも3種の防かび剤を同時かつ高感度で測定できるHPLCを使用することとした。

GC/MSによる各試験溶液の測定は、IMZ及びTBZの感度が悪く、また6種の浸出用液中4種が水系であり、GC/MSよりHPLCに適していることから、HPLCに直接注入できない*n*-ヘプタン溶液のみの測定とした。

またDPIはOPPやTBZと比べ HPLCの感度が約

10倍低いとため、防かび剤含有割りばしを調製する際に10倍の濃度で添加した。そのためGC/MSによる*n*-ヘプタン溶出液実測値で8.2~180 $\mu\text{g/mL}$ と多量に溶出し、SCANモードで十分測定が可能であった。

(2)TBZのメタノール溶液測定上の問題点

メタノール溶液をそのままHPLCで測定した場合、TBZのピークが2つに分離する現象が認められた。そこでこの原因を明らかにするために以下の検討を行った。

注入量を10 μL 、移動相のpHを2.3及び2.7にしてTBZの分析を行った結果、図1に示すクロマトグラムが得られた。pH2.3ではピークトップが2つに分離したが、pH2.7ではピークの形状は悪いものの1つのピークとして検出された。そこで注入量10 μL 及び移動相のpH2.7の条件でTBZメタノール溶液を移動相で2倍に希釈して分析をしたところ、良好な形状のピークが得られた。なお、浸出用液として95%エタノール溶液を用いた場合でも同様に1つのピークとして検出された。

TBZのピーク高による絶対検量線は0.05~50 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性のある良好な検量線が得られ、定量限界は0.05 $\mu\text{g/mL}$ であった。

以上より、厚生労働省より通知された「割りばしに係る防かび剤等の残留等に係る試験法」において移動相のpHは2.3~2.7ではなく2.7に限定する必要がある、また防かび剤のHPLC用標準原液の希釈には移動相を用いる旨を明記する必要がある。

2. 材質試験における添加回収試験

表1に示したように、抽出溶媒にメタノールを使用した場合、4種の防かび剤の回収率は97~105%と良好であった。

3. 防かび剤含有割りばし

(1)防かび剤含有割りばしの調製

溶出試験における防かび剤の溶出傾向を検討するため、防かび剤含有割りばしを調製した。防かび剤間の相互作用が生じないように、4種の防かび剤をそれぞれ単品で含有する割りばしを調製した。それとともに、

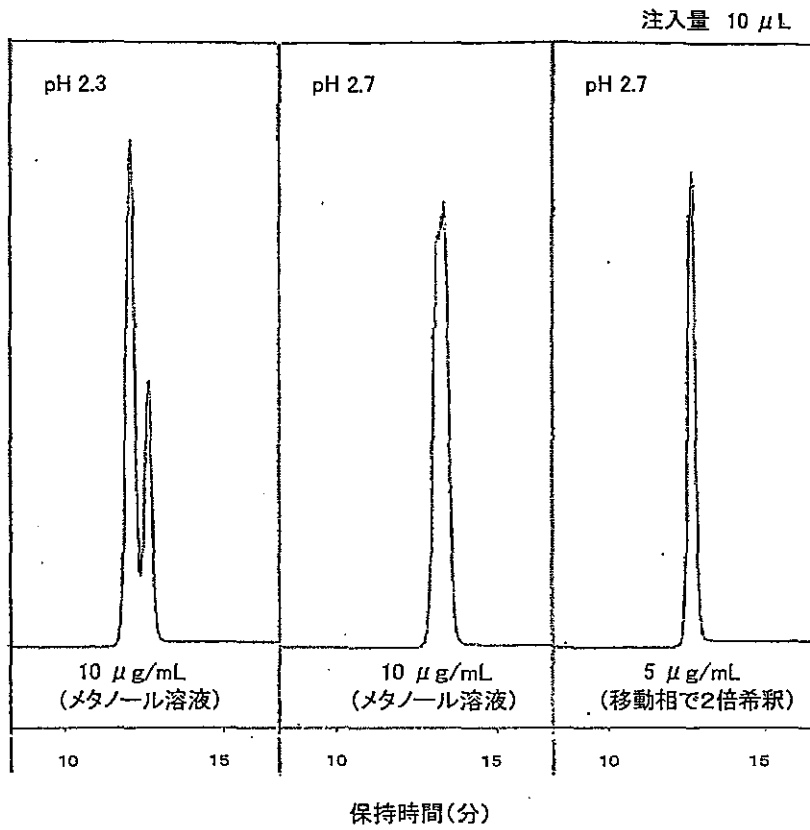


図 1. 移動相のpHの違いによるチアベンダゾール標準液のピーク形状の変化

割りばしによる溶媒の浸透性の違いを排除するために、防かび剤を4種混合で含有する割りばしも調製した。

(2) 調製した割りばしの防かび剤含有量及び吸着率

上記により調製した割りばしの防かび剤含有量及び吸着率を表2に示した。吸着率は、防かび剤含有割りばし作成時にメスシリンダー内部の溶液量を浸漬前後で記録し、割りばしに吸収された溶液量から、それに含有される防かび剤量を求め、材質試験で得られた実際の含有量を割ったものである。

防かび剤を単品で調製した割りばしの方が、混合品よりも含有量のばらつきが大きかったが、これは含有させた割りばしの材質の違いによるものと考えられる。すなわち前者の方が材質が軟らかくメタノールの吸収量が多かったが、それとともに割りばし毎の吸収量の差も大きく、一方後者は材質がほぼ均一でメタノールの吸収量もほぼ一定であった。

しかし、いずれの割りばしにおいてもメタノール溶液で防かび剤を吸収させた場合には、吸着率は73~123%であり、防かび剤による顕著な相違は見られず、ほぼ予定した含有量の割りばしを調製することができた。

(3) OPP-Na水溶液による割りばしの調製

当初OPP-Naについては溶解しやすい水溶液を用いて含有割りばしを調製した。ところが、吸着率は100%から大きく離れて400%近くの値を示し、吸収した水分量よりもはるかに多量の水溶液中のOPP-Naを吸着していた。

そこで同じ条件でOPP-Naメタノール溶液とOPP-Na水溶液中に割りばしを浸漬し、2日間放置後割りばしを引き上げて残留浸漬液の濃度を測定した。その結果、浸漬液がメタノールの場合は浸漬前後でOPP-Na濃度が変わらなかったのに対し、水の場合には浸漬後の濃度が1/5に減少していた。すなわち、水溶液中ではOPP-Naは割りばしに選択的に吸着され、吸着率が400%以上となったことが確認された。

このことから、食品衛生法で食品添加物

として指定されている防かび剤のうち、唯一の水溶性の塩であるOPP-Naは、割りばしを水に浸漬する際に使用される可能性が最も高いが、その場合には浸漬した溶液中の濃度よりもはるかに高濃度で割りばし中に残留することが判明した。

4. 溶出試験における防かび剤の溶出傾向

前項で調製した防かび剤含有割りばしを用いて、各種浸出条件における防かび剤の溶出量を測定し、それらの溶出傾向を調べた。

(1) 防かび剤単品を含有する割りばしによる溶出試験（室温、24時間）

各浸出用液が割りばしに浸透する十分な時間を考慮し、室温、24時間における溶出試験を行った。浸出用液は食品衛生法の器具・容器包装の合成樹脂の規格で用いられている食品疑似溶媒の水、4%酢酸、20%エタノール、*n*-ヘプタン及びEUの油性食品の代用疑似溶媒である95%エタノールを用いた³⁾。結果を表3に示した。

IMZ、OPP、OPP-Na、OPP-Na(水)、TBZでは95%エタノールが最も高い溶出値を示したが、DPでは*n*-ヘプタンが最高値を示した。次に高い溶出値を示したのはIMZ、OPP-Na(水)、TBZでは20%エタノール、OPP、OPP-Naでは*n*-ヘプタン、またDPでは95%エタノールであった。しかし、OPP、OPP-Naでは*n*-ヘプタンと20%エタノールの溶出値が近いこと、またDPでは*n*-ヘプタンと95%エタノールの溶出値が近いことから、これら5種の防かび剤はエタノールに溶出しやすいたことが確認された。

OPP-Na(水)は材質中含有量ではOPP-Naの約4倍であったが、溶出量では7~12倍程度であった。これはOPP-Na(水)を調製する際に表面に多く吸着されたため、溶出量が増加したものと推察された。山嶋ら⁴⁾もOPPを検出した市販割りばしの表面部分にOPPが多く含有されていたことを報告している。

n-ヘプタン溶液では溶出量に大きなばらつきが認められた。これは竹材質への*n*-ヘプタンの浸透性が悪く、また本実験に用いた割りばしの浸透性に対するばらつきが大

きかったことによるものと推察された。

(2) 防かび剤4種含有割りばしによる溶出試験

各浸出条件による溶出結果を表4.に示した。

EUの油性食品の高温または長時間使用時の代替条件である95%エタノール(60℃、2.5及び3.5時間)を浸出用液としたものが、いずれの防かび剤においても最も高い溶出値を示した。

しかし、食品衛生法における合成樹脂の溶出試験条件である水(60℃、30分)、4%酢酸(60℃、30分)、20%エタノール(60℃、30分)、*n*-ヘプタン(25℃、1時間)を比較すると、いずれの防かび剤においても20%エタノールが最も高い溶出値を示した。各浸出用液の溶出傾向は、表3に示した室温、24時間溶出試験結果とは異なっていた。これは各浸出用液の割りばしに対する浸透性の違いによるものと考えられた。

特に*n*-ヘプタンは30分では浸透性が悪く、IMZ、OPP、OPP-Naでは溶出が見られず、脂溶性の高いDPでも20%エタノールより低い値を示した。このことから、木製品の溶出試験における油性食品の代替溶媒には適さないと考えられた。

(3) 各防かび剤の溶出傾向

①IMZ

IMZは他の防かび剤に比べて溶出しにくい傾向が見られた。水、4%酢酸、*n*-ヘプタンを浸出用液とした場合には60℃、30分(*n*-ヘプタンは25℃、60分)、室温24時間ともに溶出量は極めて低いかあるいは見られなかった。また20%エタノールにおいても溶出率は低かった。

②OPP及びOPP-Na

OPP及びOPP-Naはいずれの浸出用液にも溶出したが、特にアルコールへの溶出量が多かった。*n*-ヘプタンでは室温24時間では20%エタノールと同程度の溶出が見られたが、25℃、60分では検出されなかった。

③TBZ

TBZは*n*-ヘプタンを除く各浸出用液に溶出したが、特にアルコールへの溶出量が多かった。その溶出傾向はOPPと類似していた。

④DP

DPは水、4%酢酸に対する溶出量は低く、一方*n*-ヘプタンや95%エタノールには溶出しやすかった。ただし*n*-ヘプタン、25℃、60分では*n*-ヘプタンが割りばしに浸透しないので、その溶出率は4.4%に過ぎなかった。

(4) 最適な溶出試験条件

上記結果と、割りばしの使用実態である食品との接触時間が短い、加熱されたものとも接触するが100℃を超える場合はまれであることを考慮すると、浸出条件は60℃、30分が適当である。また浸出用液は食品衛生法で規定されている食品疑似溶媒全てが対象となるが、いずれの防かび剤においても20%エタノールの溶出量が最も高いことから、20%エタノール、60℃、30分で溶出試験を行うのが適当であると考えられた。

5. 推奨される測定法

測定法としては、20%エタノールの溶出液をそのまま測定することが可能であり、しかも5種の防かび剤とも感度の良いHPLC法が最適である。また検出された場合は、20%エタノール溶出液をGC/MSにより測定し、防かび剤の確認を行う。SCANモードの測定で得られたマススペクトルにより、OPP及びDPは0.5 µg/mL、TBZ及びIMZは5 µg/mL以上の濃度で、防かび剤の確認が可能である。

一方、「割りばしに係る防かび剤等の残留等に係る試験法」では予備試験を示していたが、操作性も同程度であることから、予備試験の必要はない。

また、同通知法では溶出試験の他に材質試験も示していたが、溶出試験の値で指導するため、材質試験は必要ないものと考えられる。

試験結果の記載については、通知では1膳当たりの溶出量で記載することになっている。しかし、木・竹製品では割りばしの他、菜箸や竹串等もあり、1膳当たりで記載するのは適当ではない。そこで試料の大きさにかかわらず材質からの溶出量を表すために、表面積1cm²当たりの溶出量とする方が適当である。なお、割りばしや竹ばしの表面積

表 1. 材質試験における添加回収試験

試料番号	回収率(%)			
	IMZ	OPP	TBZ	DP
100-1*	99	102	100	102
-2	99	103	100	102
-3	101	103	100	104
-4	101	105	99	104
-5	99	101	97	102
平均値	100	103	99	103
標準偏差	1	1	1	1
1000-1**	102	103	104	103
-2	103	103	104	103
-3	102	103	103	103
-4	102	103	104	103
-5	102	103	103	103
平均値	102	103	104	103
標準偏差	0	0	1	0

* : 1g当たり100 μ gの各防かび剤を添加した割り箸
 ** : 1g当たり1,000 μ gの各防かび剤を添加した割り箸

表2. 調製割りばし中防かび剤含有量及び吸着率

		IMZ	OPP	OPP-Na	OPP-Na(水)	TBZ	DP
単品含有割り箸							
含有量	平均値	449 \pm 25	560 \pm 108	503 \pm 29	2180 \pm 330	641 \pm 149	4510 \pm 820
	変動係数	5.6	19	5.8	15	23	18
吸着率(%)		85	100	98	405	123	84
4種含有割り箸							
含有量	平均値	361 \pm 11	450 \pm 9	—	—	455 \pm 16	4750 \pm 130
	変動係数	3.0	2.0	—	—	3.5	2.7
吸着率(%)		73	91	—	—	92	96

平均値 \pm 標準偏差 (μ g/本)、n=3
 変動係数(%)

表 3. 防かび剤単品含有割りばしの各種浸出用液への溶出試験

浸出用液	温度	時間		IMZ	OPP	OPP-Na	OPP-Na(水)	TBZ	DP
水	室温	24h	平均値	4.1 ± 2.1	28.2 ± 1.4	23.2 ± 2.5	273 ± 9	26.0 ± 3.4	24.9 ± 6.5
			溶出率	0.9	5.0	4.6	12.5	4.1	0.6
4%酢酸	室温	24h	平均値	n.d.	39.4 ± 3.9	35.3 ± 4.1	392 ± 4	44.6 ± 5.8	52.2 ± 5.2
			溶出率	-	7.0	7.0	17.9	7.0	1.2
20%エタノール	室温	24h	平均値	28.1 ± 2.2	79.0 ± 6.5	55.2 ± 3.3	593 ± 20	88.4 ± 2.3	162 ± 4
			溶出率	6.3	14.1	11.0	27.2	13.8	3.6
n-ヘプタン	室温	24h	平均値	n.d.	90.3 ± 45.9	64.7 ± 10.3	185 ± 113	n.d.	2850 ± 940
			溶出率	-	16.1	12.9	8.5	-	62.9
95%エタノール	室温	24h	平均値	144 ± 5	203 ± 16	198 ± 15	1380 ± 60	190 ± 16	2520 ± 230
			溶出率	32.2	36.1	39.3	63.2	29.7	55.8

平均値±標準偏差 (μg/本), n=6
溶出率 (%)

表 4. 防かび剤4種含有割りばしの各種浸出用液への溶出試験

浸出用液	温度	時間		IMZ	OPP	TBZ	DP
水	60°C	30min	平均値	n.d.	28.8 ± 1.2	33.8 ± 2.2	57.0 ± 2.7
			溶出率	-	6.4	7.4	1.2
4%酢酸	60°C	30min	平均値	n.d.	40.5 ± 1.3	39.7 ± 1.8	114 ± 3
			溶出率	-	9.0	8.7	2.4
20%エタノール	60°C	30min	平均値	18.0 ± 1.3	54.5 ± 1.0	69.7 ± 4.8	396 ± 47
			溶出率	5.0	12.1	15.3	8.3
n-ヘプタン	25°C	1h	平均値	n.d.	n.d.	n.d.	207 ± 29
			溶出率	-	-	-	4.4
95%エタノール	60°C	2.5h	平均値	145 ± 15	209 ± 17	200 ± 12	2760 ± 250
			溶出率	40.1	46.4	44.1	58.1
95%エタノール	60°C	3.5h	平均値	143 ± 7	217 ± 6	218 ± 10	2910 ± 80
			溶出率	39.6	48.2	48.1	61.2
メタノール	室温	30min 振とう	平均値	54.0 ± 5.2	74.3 ± 5.8	68.5 ± 5.3	822 ± 33
			溶出率	15.0	16.5	15.1	17.3
20%エタノール	室温	24h	平均値	20.0 ± 2.4	59.3 ± 2.2	73.6 ± 3.6	255 ± 10
			溶出率	5.6	13.2	16.2	5.4

平均値±標準偏差 (μg/本), n=6
溶出率 (%)

は「中央部の周囲×長さ」で計算する方法で簡易的に求められる。

6. 実態調査

東京都は平成14年12月に入手した竹製箸類37検体、木製箸類4検体及び竹串12検体の計53検体について、防かび剤の含有実態調査を行った⁵⁾。

試験法は「割りばしに係る防かび剤等の残留等に係る試験法」における材質試験の予備試験により行い、すべての検体で防かび剤は検出されなかった。(溶液中定量限界：IMZ 0.4 μg/mL、OPP 0.1 μg/mL、TBZ 0.1 μg/mL、DP 1 μg/mL)

平成6年にはOPPの残存が認められたが、現時点では防かび剤は使用されていないと考えられる。

7. 防かび剤の規格基準

各防かび剤のADI(1日摂取許容量)及び厚生労働省通知による割りばしの販売指導の目安値を以下に示す。指導目安値は体重50 kgの人の1日摂取許容量をもとに、1日3回の食事で使用することを想定して3で割った数字である。

物質名	ADI* mg/kg体重/日	ADI mg 体重50kg	指導 目安値 mg/膳
OPP	0.4 (JMPR)	20	6.7
TBZ	0.1 (JECFA)	5	1.7
DP	0.05 (JECFA)	2.5	0.8
IMZ	0.03 (JMPR)	1.5	0.5

*:ADIは、FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会(JECFA)又はFAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)の評価によるもの。

一方、我が国の食品衛生法では食品添加物の防かび剤として、米国では残留農薬として以下の使用基準が設定されている。

使用基準

物質名	対象食品	日本 基準値 mg/kg以下	米国CFR* 基準値 mg/kg以下
OPP	かんきつ類	10	10
TBZ	かんきつ類	10	10
	バナナ(全体)	3	
	バナナ(果肉)	0.4	
DP	グレープフルーツ、レモン、オレンジ類	70	
IMZ	かんきつ類 (みかんを除く)	5	10
	バナナ	2	

*: Code of Federal Regulations(2003)

その他に我が国の食品衛生法の残留農薬基準として、イマザリルに関して食品の種類により0.01~5 mg/kgの値が設定されている。

割りばしの指導目安値を上記使用基準値と比較すると、割りばしでは指導目安値のものを1回使用しただけで、OPPでは6.7 mg、TBZでは1.7 mg溶出して摂取されるのに対し、例えばかんきつ類を100 g摂取した場合でもOPPの摂取量は1 mg、バナナの果肉を100 g摂取した場合でもTBZの摂取量は0.04 mgとなり、割りばしの方がそれぞれ6.7倍及び42.5倍多く摂取することになる。

また指導目安値は体重50kg当たりのADI値の1/3に設定されており、3食とも基準値に近い溶出量の割りばしを使用した場合には、ADI値と同等の摂取量となる可能性がある。一方、食品の中にも前述のような基準値で含有されている可能性があることから、両方に含有されていればADIを超過することになる。また、体重50 kgの半分以下の、たとえば小児が指導目安値のはしを2回使用すれば、ADIを超過する。そこで、はし1膳当たりの溶出量は指導目安値の1/2程度にする必要がある。

現状の目安値ははし1膳当たりで表示されているが、前述のように表面積当たりで表示するのが望ましい。一般的な割りばし1膳の表面積が約80 cm²であることから、OPP

84 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、TBZ 21 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、DP 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、IMZ 6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ となる。

以上の点を考慮するならば、割りばしの指導目安値もしくは暫定基準値は、OPP 40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、TBZ 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、DP 5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、IMZ 3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 程度が適当と考えられる。

D. 結論

以上の研究結果より次のことが結論される。

1. HPLCの移動相はpH 2.7に調整する。また、オルトフェニルフェノール、チアベンダゾール、ジフェニル及びイマザリル各標準溶液は、各標準原液を移動相で希釈して調製する。
2. オルトフェニルフェノール、チアベンダゾール、ジフェニル及びイマザリルの溶出試験は20%エタノールを用い、60°C、30分間の条件で行う。
3. 溶出量の測定はHPLCを用い、検出された場合の化合物の確認はGC/MSで行う。

4. 「割りばしに係る防かび剤等の残留等に係る試験法」における予備試験は不要である。
5. 最近の実態調査において、割りばしからこれら4化合物は検出されなかった。
6. ADI値や使用基準値から判断すると「割りばしに係る監視指導について」に示された指導目安値は、見直しが必要である。

E. 文献

- 1) 山嶋裕季子、田口信夫、竹内正博、他：日本食品衛生学会第67回学術講演会講演要旨集、21、1994
- 2) 厚生労働省通知食監発第0121001号：平成15年1月21日
- 3) Commission Directive 97/48/EC of 29 July 1997
- 4) 山嶋裕季子、田口信夫、斉藤和夫、他：東京衛研年報 47、164-168、1996
- 5) 東京都健康局：「竹製わりばしの防かび剤等の検査結果について」、平成15年2月10日

<その2>竹製割りばしに使用された亜硫酸の分析法の検討

研究協力者 山嶋裕季子 東京都健康安全研究センター

A. 研究目的

平成14年11月に一部週刊誌で、中国産竹製割りばしに有害化学物質が使用されているという記事が掲載された。これまでの調査¹⁾で、漂白剤として様々な食品に使用される亜硫酸及びその塩類(亜硫酸類)が市販の割りばしから高頻度に検出されていたことから、平成14年12月に亜硫酸類の調査を行った。その結果、ほとんどの竹製割りばしから亜硫酸類が検出された。これらの結果を踏まえ、厚生労働省は平成15年1月に「割りばしに係わる監視指導について」²⁾を通知したが、その別紙2の「割りばしにおける亜硫酸試験法」は一部機関で実態調査を行いながら試験法を検討する予定で作成されたものであり、実際に試験を行っていくためには多くの検討の余地を残していた。

今回は、溶出試験における亜硫酸類の測定法と各種溶出条件での溶出傾向について検討を行い、通知された試験法を改良することを目的とした。

B. 研究方法

1. 試料

市販の竹製割りばし

2. 試薬および標準溶液

(1) 水

MILLI-Q グラジェントA10により精製した超純水に窒素ガスを5分間通気させたものを用いた。

(2) 1% トリエタノールアミン(以下TEAと略す) 溶液

TEA(試薬特級、和光純薬(株)製) 10 gを水に溶かして1,000 mLとした後、窒素ガスを5分間通気して脱気した。

(3) アルカリ滴定法用試薬

0.01 mol/L水酸化ナトリウム溶液(以下規定液と略す): 容量分析用、過酸化水素:

試薬特級、メチルレッド・メチレンブルー試液(以下、指示薬と略す): 滴定用、エタノール:HPLC用、リン酸:試薬特級、以上和光純薬工業(株)製、消泡用シリコン油:KM72F、信越化学工業(株)製

0.3%過酸化水素溶液:過酸化水素1 mLに水を加えて100 mLとした(用時調製)。

リン酸溶液(1→4):リン酸100 mLに水240 mLを加えた。

(4) 比色法用試薬

アジ化ナトリウム:試薬特級、塩酸パラロザニリン:試薬特級、ジメドン:和光特級、ホルムアルデヒド液:試薬特級、塩酸:試薬特級、以上和光純薬工業(株)製

エタノール、過酸化水素、消泡用シリコン油、0.3%過酸化水素溶液、リン酸及びリン酸溶液:アルカリ滴定法用試薬と同じ。

1%アジ化ナトリウム溶液:アジ化ナトリウム0.1 gを水に溶かして10 mLとした(用時調製)。

5%ジメドンエタノール溶液:ジメドン0.5 gを量り、エタノールを加えて溶かして10 mLとした(用時調製)。

パラロザニリン溶液:塩酸パラロザニリン40 mgに塩酸20 mLを加えて溶かし、水を加えて100 mLとした。

0.2%ホルムアルデヒド溶液:ホルムアルデヒド液3 gを量り、水を加えて500 mLとした(用時調製)。

パラロザニリン・ホルムアルデヒド混液(以下発色液と略す):パラロザニリン溶液と0.2%ホルムアルデヒド溶液の等量を混和した。

(5) 亜硫酸水素ナトリウムの標定及び二酸化硫黄標準溶液の調製

松本らの方法³⁾に従った。亜硫酸水素ナトリウム(NaHSO₃、特級、和光純薬工業(株)製)約0.5 gを精秤し(w g)、水に溶かして100 mLとした。その10 mLを採り0.05 mol/Lヨウ素

溶液(容量分析用、和光純薬工業(株)製) 15 mLを加え、次いで塩酸(試薬特級、和光純薬工業(株)製) 2 mLを加えて直ちに0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウム(容量分析用、和光純薬工業(株)製)で滴定した。滴定に用いた0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウムのファクターをf、滴定量をa mL、空試験の滴定量をb mLとしたとき、このNaHSO₃の二酸化硫黄としての力価は、

$$[3.2 \times f \times (b-a) \times 10 / w / 1,000]$$

である。すなわちこのNaHSO₃ 1 mgは(力価) mgの二酸化硫黄を含んでいる。次に、二酸化硫黄として100 mgに相当するこの亜硫酸水素ナトリウムを正確に量り、1%TEA溶液に溶解し100 mLに定容した。さらに1%TEA溶液で10倍希釈したものを二酸化硫黄標準原液とした。この溶液1 mLは100 μgの二酸化硫黄を含有する。この標準原液を用時1%TEA溶液で希釈して二酸化硫黄標準溶液とした。

(6) IC及びHPLC法用試薬

炭酸ナトリウム(無水)及び炭酸水素ナトリウム：試薬特級、和光純薬工業(株)製、マイクロフィルター：Millex-LH(膜材質PTFE、孔径0.45 μm、直径13 mm)、MILLIPORE製

3. 器具及び装置

通気蒸留装置：食品衛生検査指針³⁾の二重冷却管付通気蒸留装置を用いた。ただし加熱には一般的なガスバーナーを使用し、蒸留ガス吹き出し管の内径は1.0 mm以内のものを用いた(図1)。

IC：DIONEX社製DXc-500、電気伝導度検出器(CD検出器)は同社製ED50、紫外部吸収検出器(UV検出器)は日本分光(株)製UV2075 PLUSを用いた。

HPLC：日本分光(株)製ガリバーシリーズ

自記分光光度計：(株)島津製作所製UV-2000A

4. 亜硫酸類の測定

(1) アルカリ滴定法

アルカリ滴定法用試験溶液及び空試験溶液を規定液で液の色が紫色から灰色を経て緑色になるまで滴定し、次式により溶出液

中の二酸化硫黄濃度を求めた(図2)。

二酸化硫黄濃度(μg/mL)

$$= (a-b) \times F \times 320 \times 1/c$$

a：試験溶液の滴定量(mL)

b：空試験溶液の滴定量(mL)

F：規定液のファクター

320：規定液1 mLは二酸化硫黄320 μgに相当する。

c：蒸留に用いた溶出液量(mL)

(2) 比色法

①測定 比色法用試験溶液及び検量線用二酸化硫黄標準溶液(二酸化硫黄として0.05~2.0 μg/mL)を各々5 mLずつ試験管2本に正確に量り(a)、(b)とする。(a)には水0.1 mLを加え、(b)には0.3%過酸化水素溶液0.1 mLを加える。(a)及び(b)のそれぞれに、発色液1 mLずつを正確に加えて混和し、室温で35分間放置した後、波長580 nmにおける吸光度を測定した(図3)。

②定量 (a)の吸光度から(b)の吸光度をひき、検量線から二酸化硫黄濃度を求め、次式により溶出液中の二酸化硫黄濃度を計算した。

二酸化硫黄濃度(μg/mL)

$$= C / W \times 5 \times 25 / 5$$

C：溶出液中の二酸化硫黄濃度(μg/mL)

W：通気蒸留に用いた溶出液量(mL)

(3) IC法

IC条件 分析カラム：IonPac AS12 A 4 mm I. D. × 200 mm、ガードカラム：AG12 A 4 mm I. D. × 50 mm(以上DIONEX社製)、移動相：2.1 mmol/L炭酸ナトリウム-0.8 mmol/L炭酸水素ナトリウム水溶液、カラム温度：35℃、流速：1.5 mL/min、検出器：UV(210 nm)、オートサプレッサー電流：19 mA、注入量：25 μL、オートサンプラのラック温度：5℃、なお流路は、分析カラム→UV検出器→オートサプレッサー→CD検出器の順に接続した。

定量 二酸化硫黄標準溶液及びIC法用試験溶液25 μLをICに注入して、予め作成した二酸化硫黄として0.25~5 μg/mLの二酸化硫黄標準溶液の検量線から、試験溶液中の二酸化硫黄濃度を求めた。

(4) HPLC法

IC法に準じた。ただしオートサンプラのラック温度：4℃、サプレッサーは使用せず、検出器はUV検出器（210 nm）を使用した。

5. 試験溶液の調製

(1) 浸出用液

食品衛生法の器具・容器包装の溶出試験で用いられている食品疑似溶媒の水、4%酢酸及び20%エタノールを用いた。

(2) 溶出温度及び時間

40、60及び95℃、30分間

(3) 溶出液の調製

表面積1 cm²当たり2 mLの浸出用液を、予め試験条件の温度に加温してから、試料を加え、時々振り混ぜながら各条件で溶出し、濾過（No. 5A）したものを溶出液とした。

(4) アルカリ滴定法用及び比色法用試験溶液の調製

食品衛生検査指針³⁾に準じ、溶出液を通気蒸留した（図2及び3）。

①アルカリ滴定法用試験溶液 通気用丸底フラスコに溶出液25 mLを採り、エタノール2 mL、消泡用シリコン油2滴及びリン酸溶液（1→4）10 mLを加え、通気蒸留装置に取り付けた。捕集用フラスコには、0.3%過酸化水素溶液10 mLを採り、指示薬3滴を加えた後、1/10濃度の規定液1~2滴を加えて溶液の色調を緑色とし、通気蒸留装置に取り付けた。次に、窒素ガスを0.5~0.6 L/分の速度で通気しながら、通気用フラスコを20分間ガスバーナーで加熱し、亜硫酸類を二酸化硫黄として留出させ、捕集用フラスコに硫酸として捕集した溶液をアルカリ滴定法用試験溶液とした。なお、溶出液の代わりに、同量の水を用いて同様の操作を行って得た溶液を空試験溶液とした。

②比色法用試験溶液 通気用丸底フラスコに水20 mLを入れ、あらかじめ窒素ガスを5分間通気した後、1%TEA溶液10 mLを捕集用試験管に入れ、装置に取り付けた。次に、通気用フラスコをはずして水を捨て、溶出液25 mLを採り、5%ジメドンエタノール溶液1 mL、1%アジ化ナトリウム溶液1 mL、エタノール2 mL、消泡用シリコン油2滴及びリン酸溶液（1→4）10 mLを加え、通気蒸留装

置に取り付け、窒素ガスを0.5~0.6 L/分の速度で通気しながら、通気用フラスコを20分間ガスバーナーで加熱した。二酸化硫黄を捕集した溶液を1%TEA溶液で25 mLに定容した溶液を比色法用試験溶液とした。

(5) IC法用及びHPLC法用試験溶液の調製

溶出液をマイクロフィルターで濾過し、IC法用又はHPLC法用試験溶液とした。

C. 研究結果および考察

1. 二酸化硫黄測定法の検討

(1) アルカリ滴定法及び比色法の通気蒸留時間の検討

亜硫酸類を含有する竹製割りばしについて、水を浸出用液として95℃で30分間の溶出試験を行って得た溶出液を用い、毎分0.6 Lの窒素ガスを通気して5~30分間までの通気蒸留時間による二酸化硫黄の留出量を調べた。その結果、図4に示したように、二酸化硫黄含有量が多い場合も少ない場合も15~20分間の蒸留で二酸化硫黄留出量がほぼ一定となった。そこで通気蒸留時間は20分間とすることとした。

(2) アルカリ滴定法の検討

①測定可能な浸出用液 アルカリ滴定法では、二酸化硫黄を酸化して生じた硫酸をアルカリで中和滴定するため、被蒸留液に揮発性の酸が含まれると、通気蒸留により試験溶液中に捕集され、プラスの誤差が生じる。亜硫酸類を含まない水、4%酢酸及び20%エタノールの各25 mLを被蒸留液として空試験を行ったところ、水及び20%エタノールでは滴定量が0 mLであったのに対して、酢酸では3 mL程度消費され、終点付近での指示薬の変色も不明瞭であった。したがって、アルカリ滴定法では、4%酢酸を浸出用液としたものは測定できないことが判明した。

②定量限界 食品衛生検査指針³⁾では、食品中の二酸化硫黄を定量する場合、アルカリ滴定の滴定量が0.1 mL以下の場合には比色法で定量することと呈示され、アルカリ滴定法の定量限界を滴定量0.1 mLとしている。溶出液25 mLを蒸留して滴定量が0.1 mLの場合、規定液1 mLは二酸化硫黄320 μgに

相当することから、

規定液 0.1 mL

=二酸化硫黄 32 μg / 溶出液 25 mL

=二酸化硫黄 1.28 μg / 溶出液 1 mL

となる。そこで、溶出液中の二酸化硫黄濃度として2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ がアルカリ滴定法での定量限界となる。

(3) 比色法の検討

亜硫酸類を含有する竹製割りばしの溶出液を通気蒸留操作後比色法で測定すると、同時に測定したアルカリ滴定法及びIC法の値と比較して低い値となる場合があった。これは溶出液中に比色法の発色を妨害する物質が含まれ、この妨害物質が通気蒸留でも除去されず、捕集液に捕集されるためと思われた。したがって、竹製割りばしの亜硫酸類の測定には、比色法は適用できないと判断された。

(4) IC法の検討

溶出試験で得られた溶出液中の亜硫酸イオンを直接ICで測定する方法を検討した。

①検出器及び定量限界 二酸化硫黄標準溶液をICにより測定した場合の亜硫酸イオンのピーク部分のクロマトグラムを図5に示した。定量限界(S/N=5)は、CD検出器で二酸化硫黄として0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、UV検出器(210 nm)で0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。

次に、亜硫酸類を含有しない竹製割りばしを試料とし、水、95°C、30分間の溶出試験を行って得られた溶出液(以下、ブランク溶出液とする)をICにより測定した。その結果、図6に示したように、CD検出器では亜硫酸イオンのピーク付近には定量を妨害するピークは現れず、溶出液中の定量限界

(S/N=5)は標準溶液と同じ二酸化硫黄として0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。一方UV検出器(210 nm)では、亜硫酸イオンのピーク付近に小さな妨害物ピークが確認された。ブランク溶出液を5回測定し、亜硫酸イオンのピークに隣接する不純物ピークの平均面積値にその標準偏差の5倍を加えた面積値に相当する二酸化硫黄濃度は0.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。そこで、UV検出器を用いたIC法における溶出液中の定量限界を二酸化硫黄として0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。なお、二酸化硫黄標準溶液によ

る検量線は、CD検出器及びUV検出器(測定波長210 nm)の何れにおいても二酸化硫黄として0.25~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で原点を通る良好な直線が得られた。

②浸出用液の適合性 浸出用液に4%酢酸を使用して得られた溶出液を直接ICで測定すると、酢酸の巨大ピーク(UV検出器では負のピーク)が出現し、元のベースラインに戻るまで長時間を要したため、二酸化硫黄の測定は不可能であった。そこで、4%酢酸を浸出用液として得られた溶出液は、松本らの方法⁹⁾に従い通気蒸留(比色法の通気蒸留に準ずる。但し、5%ジメドンエタノール溶液及び1%アジ化ナトリウム溶液は添加しない)し、1%TEA溶液で捕集したものを試験溶液として、ICによる測定を行った。その結果、酢酸のピークの影響は無くなり、二酸化硫黄の測定が可能となった。なお、水又は20%エタノールを浸出用液とすれば、ICによる測定に問題は無かった。

(5) HPLC法の検討

亜硫酸イオンはUV検出器による測定が可能であり、その際サプレッサーを必要としないことから、IC法で用いたカラム及び溶離液を用いてHPLC法への適用を試みた。

①UV検出器の測定波長 UV検出器の測定波長について検討した。検出器としてフォトダイオードアレイ検出器を接続し、二酸化硫黄標準溶液及びブランク溶出液を分析した。

その結果、図7に示したように、亜硫酸イオンのピークトップの保持時間(10.4分)における紫外吸収スペクトル(UVスペクトル)を見ると、300~250 nmではほとんど吸収はないが、250 nmから短波長になるにしたがって吸光度が急上昇した。これに対して、ブランク溶出液では、亜硫酸イオンのピークと同じ保持時間の前後に小さな不純物ピークが現れるが、これら不純物のスペクトルでは長波長側(240 nm)と短波長側(210 nm)で吸光度の差は2倍程度であり、大きな差は認められなかった。二酸化硫黄標準溶液及びブランク溶出液を試験溶液とし、UV検出器の210 nm及び240 nmで測定したクロマトグラムを図8に示した。

なお、測定波長 240 nm のクロマトグラム (B) は亜硫酸イオンのピークの大きさをそろえて比較するために、210 nm のクロマトグラム (A) の 16 倍に拡大して記録したものである。このクロマトグラムから、亜硫酸イオンのピークの大きさに対する、妨害物質のピークの大きさは、測定波長 240 nm よりも 210 nm の方が小さいことが分かる。そこで HPLC 法及び IC 法における UV 検出器の測定波長は 210 nm とした。

②試験溶液の安定性 HPLC 又は IC による測定では、試験溶液調製後、分析に一定の時間がかかるため、測定試料数が多い場合は測定終了までに数時間を要することが予想される。二酸化硫黄は比較的不安定な化合物であり、長時間放置した場合は、溶出液中の二酸化硫黄が酸化、揮散及び吸着等により減少することが懸念された。一方、二酸化硫黄標準溶液は、1% TEA 溶液で希釈調製することにより長時間安定である⁹⁾。そこで亜硫酸類の使用が確認された竹製割りばしを試料とし、95℃の水で溶出試験を行って得た溶出液及びこの溶出液に1%となるよう TEA を添加した溶液を HPLC 法用試験溶液として経時的に分析を行い、二酸化硫黄の経時的安定性について検討した。その結果、図9に示したように、標準溶液及び濾過しただけの溶出液は、16時間経過後においてもクロマトグラム上における亜硫酸イオンのピークの大きさはほとんど変化しなかった。しかし、TEA を添加した溶出液では徐々に亜硫酸イオンのピークが小さくなり、約16時間後には面積比で15%程度の減少が見られた。したがって、溶出液には TEA を添加せず、濾過しただけのものを HPLC 法用及び IC 法用試験溶液とすることとした。

③定量限界 図5に示したように、二酸化硫黄標準溶液を HPLC 法 (UV210 nm) で測定した場合の定量限界 (S/N=5) は IC 法と同じ 0.1 $\mu\text{g/mL}$ であった。しかし、図8に示したように、ブランク溶出液の測定においても IC 法における UV 検出器 (210 nm) による測定と同様に、小さな不純物ピークが確認され、標準溶液の亜硫酸イオンのピークと比較したその大きさも IC 法と等しいものであ

った。そこで、HPLC 法における溶出液中の定量限界を IC 法 (UV210 nm) と同じ二酸化硫黄として 0.6 $\mu\text{g/mL}$ とした。なお、二酸化硫黄標準溶液による検量線は、IC 法と同様に二酸化硫黄として 0.25~100 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で原点を通る良好な直線が得られた。

(6)測定法の比較

上記の測定方法を比較すると、妨害物質の影響を受ける恐れのある比色法以外は、測定可能であることが分かった。但し、それぞれの測定方法には利点及び欠点がある。

アルカリ滴定法は、食品中の亜硫酸類の検査を行っている検査機関で常用している通気蒸留装置があれば、他に特殊な機器は必要とせず、操作が簡便であるという利点がある。しかし、浸出溶液として4%酢酸を使用した場合は、酢酸の影響を受けるため使用できない。また定量限界の値 (2 $\mu\text{g/mL}$) が大きく、微量定量が出来ない。

CD 検出器を使用する IC 法は、通気蒸留の操作を必要とせず、妨害物質の影響を受けることなく、最も高感度 (0.25 $\mu\text{g/mL}$ まで) の測定が可能であった。しかし、専用のカラム及び CD 検出器を装備した IC が必要であり、浸出溶液として4%酢酸を使用した場合は通気蒸留した後に測定する必要があった。

UV 検出器を使用する IC 法及び HPLC 法は、通気蒸留の操作を必要とせず、妨害物質の影響もほとんど無く、比較的高感度 (0.6 $\mu\text{g/mL}$ まで) の測定が可能であった。但し、分析機器としては、専用のカラム及び UV 検出器を装備した IC 又は HPLC が必要であり、浸出溶液として4%酢酸を使用した場合は、通気蒸留した後に測定する必要があった。しかし、HPLC は一般的な分析機器として広く普及しており、多くの検査機関で使用可能と思われる。

以上の結果から、竹製割りばしに使用された亜硫酸類の測定には、比較的高感度が高く、一般的な分析機器で溶出液を直接測定することが可能な (浸出溶液を4%酢酸とした場合は、通気蒸留操作を加える必要がある) HPLC 法が良いと考える。なお、浸出溶液に水又は20%エタノールを用い、微量定量を必要としない場合はアルカリ滴定法が

適していると考ええる。

2. 溶出試験

(1) 浸出用液による溶出傾向の検討

溶出試験に用いる浸出用液の溶出傾向を調べた。浸出用液として水、20%エタノール及び4%酢酸を用い、亜硫酸類を含む竹製割りばしの表面積1 cm²当たり2 mLの浸出用液を使用し、60°Cで30分間の溶出試験を行った。なお、*n*-ヘプタンは割りばしに浸透しにくく、水に溶けやすい亜硫酸類が溶出しにくいと考えられ、さらにHPLC法、IC法、アルカリ滴定法及び比色法では測定できないことから検討しなかった。また、4%酢酸は比色法による測定は可能であったが、上述したようにHPLC法による直接定量及びアルカリ滴定法による測定は適用できなかったことから、比色法により比較検討した。

結果は、表1に示したように何れの浸出用液においても溶出される二酸化硫黄の量に有意な差は認められなかった。

(2) 溶出温度の検討

浸出用液として水及び20%エタノールを使用し、亜硫酸類を含む竹製割りばしを試料として40°C、60°C及び95°Cで30分間の溶出操作を行い、溶出液中の二酸化硫黄量を測定した。

結果は、図10に示した通り、水及び20%エタノールでは溶出量に差は見られず、また溶出温度が高くなるほど二酸化硫黄溶出量は増加した。なお、20%エタノールは95°Cでは激しく沸騰するため、この温度での溶出試験は行えなかった。

以上の結果より、溶出条件としては、通知で示された水、95°C、30分が最大の溶出量を示し、試験条件として適当であった。

3. 実態調査

平成16年3月に東京都内で市販されていた竹製割りばし12試料について亜硫酸類の分析を行った。分析方法は、割りばし1膳を割って2本に分け、1本を95°C、残りの1本を60°Cの水を用いて30分間の溶出試験を行った。得られた溶出液中の二酸化硫黄濃度はHPLC法及びアルカリ滴定法で測定した。な

お、一つの試料からは無作為に3膳を採取し、それぞれ2つの温度条件で溶出試験を行った。なお、検出量は試料表面積1 cm²当たりの二酸化硫黄濃度として表した。

結果を表2に示した。95°Cの溶出条件では12試料中9試料から二酸化硫黄として1.2 µg/cm²以上が検出され、最大値は二酸化硫黄として25.8 µg/cm²であった。この25.8 µg/cm²を割りばし1膳当たりの値に換算すると約2 mgとなり、指導の目安値12 mg/膳の1/6であった。NDと記した試料のうち、試料番号11と12の2試料については、包装に「無漂白」の表示があり、二酸化硫黄は全く検出されなかったが、試料番号10では二酸化硫黄として1.2 µg/cm²未満を検出した。

平成14年12月に東京都が行った調査では、割りばし・竹串等計52試料について同条件（水、95°C、30分間）での溶出試験を行い、25試料から5 µg/cm²（平成14年調査時の定量限界）以上の二酸化硫黄を検出した。この中で、竹串及び木製割りばしの試料からは二酸化硫黄は全て検出されなかったが、竹製割りばしについては26試料中16試料（62%）から、最高で36 µg/cm²の二酸化硫黄を検出した。今回（平成16年3月）の調査で平成14年調査時の定量限界値5 µg/cm²以上の二酸化硫黄を検出した竹製割りばしは、12試料中8試料（67%）であり、最高は26 µg/cm²であった。竹製割りばしについて、前回と今回の調査結果を比較すると、二酸化硫黄検出量の最大値は、今回の方が少し減少していたが、検出率はほとんど変わっていないことが分かった。しかし、以前は漂白処理を行っていないことを明示した商品が皆無であったのに対して、今回は2試料に「無漂白」の表示があった。これは、割りばし類への漂白剤使用についての社会的関心に、業者の一部が対応した結果と思われる。

60°Cの溶出温度では、12試料中9試料から、二酸化硫黄として1.49~10.7 µg/cm²を検出した。

なお、今回は1試料につき3回の分析を行ったが、同一製品においても割りばし毎に含まれる二酸化硫黄量が異なり、標準偏差

は大きな値となった。この二酸化硫黄含有量のばらつきは、目視で相対的に白い割りばしほど二酸化硫黄検出量が高い値となったことから裏付けられた。したがって、分析操作は1試料につき3回以上行う必要があると考える。

二つの測定方法を比較すると、得られた値はほぼ一致し、アルカリ滴定法の値をX軸、HPLC法の値をY軸にとった場合の相関は、95℃の溶出試験では傾きが $Y=1.04X-0.05$ 、相関係数(R2乗)=0.993であり、60℃では傾きが $Y=1.01X-0.02$ 、相関係数(R2乗)=0.994であった。したがって、 $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上の測定値であれば、どちらの測定法を用いても、ほぼ同じ測定結果の得られることが確認された。

同一試料について95℃溶出及び60℃溶出の値を比較すると95℃では60℃のほぼ2倍の二酸化硫黄が溶出した。

4. 亜硫酸類の規格基準

亜硫酸類のJECFA評価に基づくWHO/FAOのランクはA1、ADIは体重1 kgにつき0.7 mg(二酸化硫黄として)である。我が国では表3に示したように、食品添加物として漂白、防腐、酸化防止の目的で広く、多くの食品に使用が許可されており、かんぴょう、乾燥果実などでは使用基準値は高いが、その他の一般食品では30 mg/kgである。また、EUもほぼ同様で、その他の一般食品に対する基準値は10 mg/kgとなっている。一方米国では、一般に安全と認識されている物質「GRAS」として認証されており使用基準は無い。

厚生労働省から提示された「割りばしに係る監視指導について」の通知では、溶出試験の結果、1膳当たりの二酸化硫黄としての値が12 mgを超える割りばしについては、自主規制等必要な措置を指導するとしている。この値は、体重50 kg換算のADI(35 mg)を一日の食事回数3で割ったものであるが、食事で摂取される亜硫酸類は、割りばしに由来するものと食品に由来するものの合計となることから、多量に摂取される可能性もある。そのため12mgという現在の目安値

を、食品からの摂取量を考慮して1/2以下に設定する必要がある。

また、通知においては1膳当たりの量に換算して示されているが、食事や調理時に割りばしから食品に移行、若しくは直接口に触れて人体に摂取される亜硫酸類の量は、接触するはしの表面積に比例するものと思われる。また、竹串などでも亜硫酸類が使用される可能性があるが、1膳当たりという表示はできない。そのため、亜硫酸類の規制値は1膳当たりでは無く、試料表面積当たりの濃度で規制する方が理にかなうものとする。事実、昨年度の実態調査において、溶出試験で1膳当たり10 mgの二酸化硫黄が検出された竹製菜ばし(1膳の表面積、258 cm^2)の溶出試験での値は78 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、1膳当たり3 mgの二酸化硫黄が検出された竹製割りばし(1膳の表面積84 cm^2)の溶出試験値72 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ とほぼ同じ値であった。さらに、通知では溶出試験の他に材質試験も示されたが、溶出試験の値で指導することにより、材質試験は必要ないものとする。

厚生労働省からの通知が出された後も、亜硫酸類を検出する割りばしは依然として多い一方で、「無漂白」と表示された割りばしも増えてきた。これらの中には、より安全なシリカゲルやわさび抽出物を直接割りばしに接触しないように包装内に封入することで亜硫酸類の使用を控えようとしている製品もある。反面、亜硫酸類の代替品として、今までに器具・容器包装に使われたことのない漂白、抗菌または防かび作用を有する物質が使用される懸念もある。竹・木製品に亜硫酸類の基準を設定する場合は、必要のない化学物質をむやみに使用すべきではないという考えを大前提に、なるべく少ない量で規制すべきであるとする。

D. 結論

平成15年1月に厚生労働省より通知された「割りばしに係る監視指導について」で示された「割りばしにおける亜硫酸試験法」について、亜硫酸類の測定方法及び溶出試験の条件等を検討した。

その結果、溶出試験は、浸出用液として

水を使用して95℃で30分間行う通知法をそのまま使用するのが適当であった。また、得られた溶出液中の二酸化硫黄濃度は、溶出液を直接HPLC法で測定するのが適当であった。また、微量定量を必要としない場合は、アルカリ滴定法も適当であった。なお、二酸化硫黄としての定量限界は、HPLC法では試料表面積1 cm²当たり1.2 μg(溶出液中の濃度として0.6 μg/mL)、アルカリ滴定法では4 μg/cm²(同 2 μg/mL)であった。

本法により、市販の竹製割りばし12試料を検査した結果、9試料より二酸化硫黄として3.98~25.8 μg/cm²の亜硫酸類が検出された。なお、同一製品であっても、亜硫酸類の含有量に大きな差があることから、一つの製品につき3回以上の検査を行うことが望ましい。

通知法では、溶出試験の他に材質試験も示されたが、溶出試験の値で指導することにより、材質試験は必要ないものとする。また、指導の基準値は割りばし1膳当たりの量ではなく、表面積当たりの値とすることが望ましく、その値も食品からの摂取量を加味して見直す必要がある。

以下に「割りばしにおける亜硫酸試験法」修正案を記載する。

溶出試験 (HPLC法)

1. 装置

紫外外部吸収検出器付HPLCを用いる。

2. 試薬・試液

水 超純水(比抵抗値: 18 MΩ·cm以上、0.22 μmの最終フィルターで濾過したもの)に窒素ガスを5分間通気させたものを用いる。

トリエタノールアミン(以後TEAと略す) 特級を用いる。

1%TEA溶液 TEA 10 gを水に溶かして1,000 mLとした後、窒素ガスを5分間通気して脱気したものを用いる。

マイクロフィルター 膜材質はPTFE製、孔径0.45 μm、直径13 mmを用いる。

3. 標準品・標準溶液

亜硫酸水素ナトリウム 特級を用いる。
亜硫酸水素ナトリウムは、亜硫酸水素ナト

リウム(NaHSO₃)とピロ亜硫酸ナトリウム(Na₂S₂O₅)の混合物であり、標定した試薬を使用する。なお、この標定によって得られた力価は1年間有効である。

標定 亜硫酸水素ナトリウム約0.5 gを精秤し(w g)、水に溶かして100 mLとする。その10 mLを採り0.05 mol/Lヨウ素溶液(容量分析用)15 mLを加え、次いで塩酸2 mLを加えて直ちに0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウム(容量分析用)で滴定する。滴定に用いた0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウムのファクターをf、滴定量をa mL、空試験の滴定量をb mLとしたとき、このNaHSO₃の二酸化硫黄としての力価は、

$$[3.2 \times f \times (b - a) \times 10 / w / 1,000]$$

である。すなわちこのNaHSO₃ 1 mgは〔力価〕mgの二酸化硫黄を含む。

二酸化硫黄標準原液 二酸化硫黄として100 mgに相当する標定した亜硫酸水素ナトリウムを正確に量り、1%TEA溶液に溶解し100 mLに定容する。さらに1%TEA溶液で10倍希釈したものを二酸化硫黄標準原液とする。この溶液1 mLは100 μgの二酸化硫黄を含有し、冷蔵遮光で3ヶ月間保存可能である。

4. 試験溶液の調製

試料表面積1 cm²当たり2 mLの水を浸出溶液として、95℃で30分間溶出試験を行い、得られた溶出液をマイクロフィルターで濾過したものを試験溶液とする。

5. 測定法

(1)測定

測定条件(一例を次に示すが、適宜変更する)

分離カラム ポリマー系陰イオン交換樹脂(内径4 mm、長さ200 mm、IonPac AS12A(日本ダイオネックス(株)製)または同等のもの)を用いる。

ガードカラム ポリマー系陰イオン交換樹脂(内径4 mm、長さ50 mm、IonPac AG12A(日本ダイオネックス(株)製)または同等のもの)を用いる。

カラム温度 35℃

測定波長 210 nm

溶離液 2.1 mmol/L 炭酸ナトリウム-0.8

mmol/L 炭酸水素ナトリウム

流速 1.5 mL/分

注入量 25 μ L

オートサンブラのラック温度 4~5°C

(2) 検量線

二酸化硫黄標準原液(100 μ g/mL)を1% TEA溶液で適宜希釈し、0.5~100 μ g/mLの二酸化硫黄標準溶液を作成する。この標準溶液25 μ LずつをHPLCに注入し、得られたピーク面積または高さから、二酸化硫黄の検量線を作成する。

(3) 定量

試験溶液25 μ LをHPLCに注入し、得られたピーク面積または高さを測定し、検量線から二酸化硫黄濃度を求め、試験溶液中の二酸化硫黄濃度を算出する。

溶出試験(アルカリ滴定法)

1. 装置

食品中の亜硫酸測定に用いる通気蒸留装置を用いる。

2. 試薬・試液

水 蒸留水に窒素ガスを5分間通気して脱気したものを用いる。

0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液(以下、規定液と略す) 容量分析用を用いる。

過酸化水素、リン酸 特級を用いる。

メチルレッド・メチレンブルー試薬(以下、指示薬と略す) 滴定用を用いる。

エタノール 99.5 v/v%高速液体クロマトグラフ用を用いる(遮光保存)。

消泡用シリコーン油 食品添加物規格品を用いる。

0.3%過酸化水素溶液 過酸化水素1 mLに水を加えて100 mLとしたものを用いる。

リン酸溶液 リン酸100 mLに水240 mLを加えたものを用いる。

3. 試験溶液の調製

(1) 溶出液の調製

試料表面積1 cm²当たり2 mLの水を浸出溶液として、95°Cで30分間溶出し、濾過(No. 5A)する。

(2) 試験溶液の調製

通気用丸底フラスコに溶出液25 mLを採り、エタノール2 mL、消泡用シリコーン2滴

及びリン酸溶液 10 mLを加え、通気蒸留装置に取り付ける。捕集用フラスコには、0.3%過酸化水素溶液10 mLを採り、指示薬3滴を加えた後、1/10濃度の規定液1~2滴を加えて溶液の色調を緑色とし、通気蒸留装置に取り付ける。次に、窒素ガスを0.5~0.6 L/分の速度で通気しながら、通気用フラスコを20分間ガスバーナーで加熱し、亜硫酸類を二酸化硫黄として留出させ、捕集用フラスコに硫酸として捕集した溶液をアルカリ滴定法用試験溶液とする。なお、溶出液の代わりに、同量の水を用いて同様の操作を行って得た溶液を空試験溶液とする。

4. 滴定

試験溶液及び空試験溶液を規定液で液の色が紫色から灰色を経て緑色になるまで滴定し、次式により溶出液中の二酸化硫黄濃度を求める。

二酸化硫黄濃度(μ g/mL)

$$= (a-b) \times F \times 320 \times 1/c$$

a: 試験溶液の滴定量(mL)

b: 空試験溶液の滴定量(mL)

F: 規定液のファクター

320: 規定液1 mLは二酸化硫黄320 μ gに相当する。

c: 蒸留に用いた溶出液量(mL)

F. 文献

- 1) 山嶋裕季子、田口信夫、斉藤和夫、他: 東京衛研年報、48、174-177、1997。
- 2) 厚生労働省通知食監発第0121001号: 平成15年1月21日。
- 3) 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針 食品添加物編 2003、100-109、2003、(社)日本食品衛生協会、東京。
- 4) 松本ひろこ、小川仁志、鈴木敬子、他: 食衛誌、329-334、2001。
- 5) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2000、304-308、2000、金原出版(株)、東京。
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2000、1054-1058、2000、金原出版(株)、東京。
- 7) 河村葉子、船越かやの、杉田たき子、他: 食衛誌、36、731-737、1995。

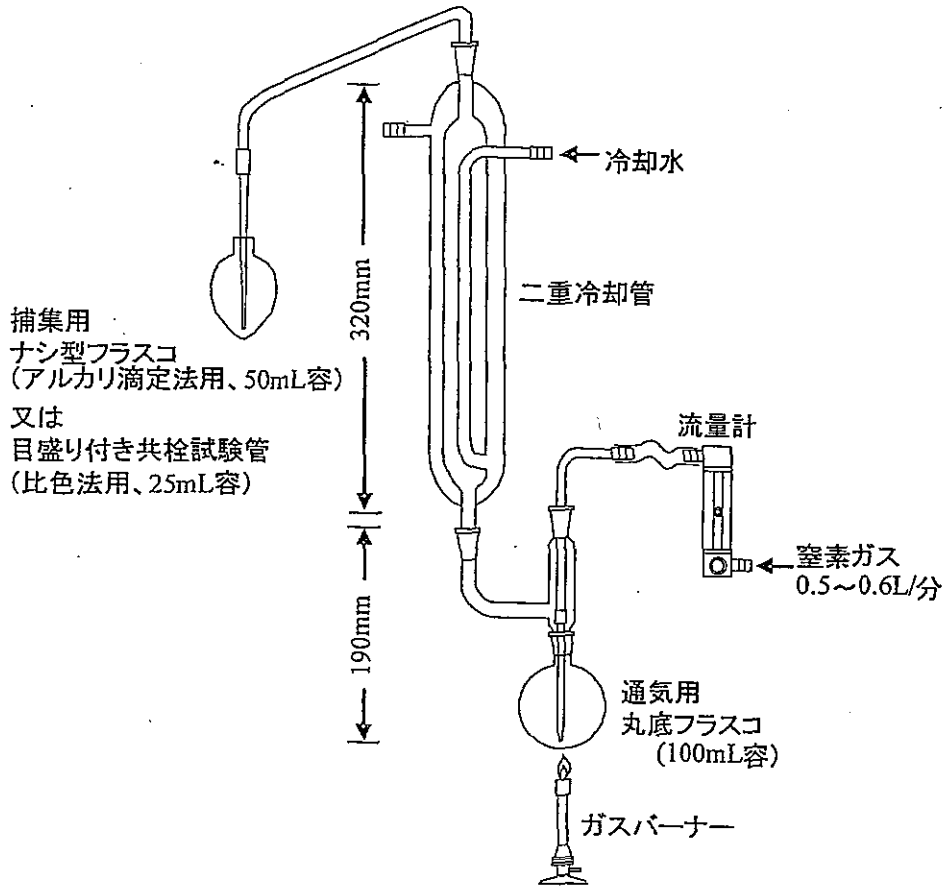


図1. 通気蒸留装置

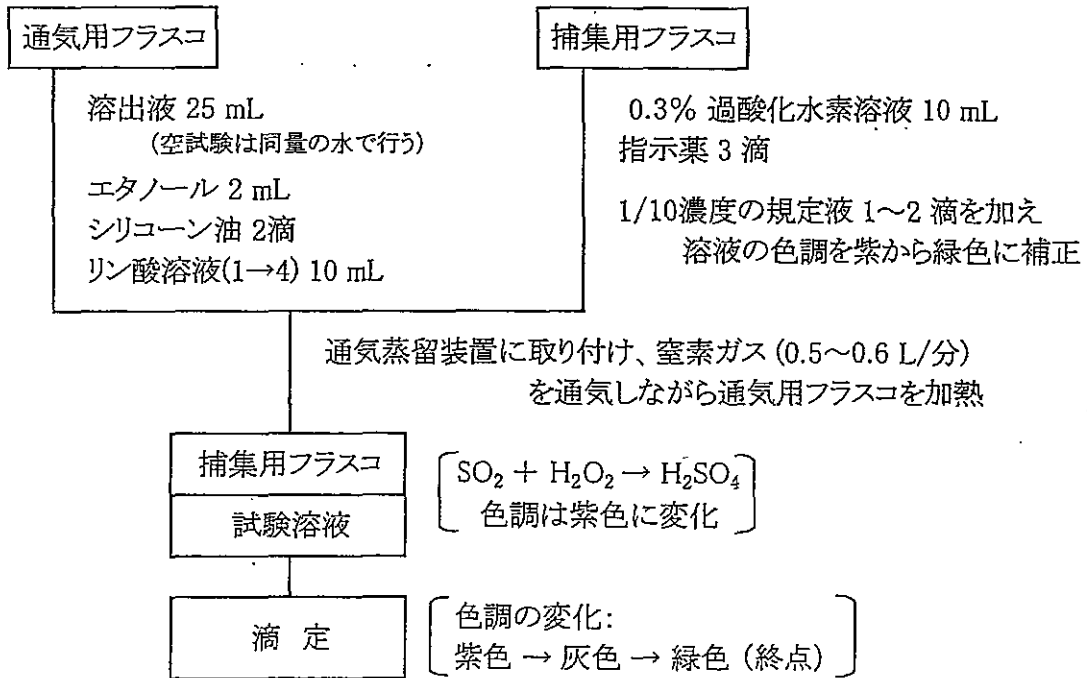


図2. アルカリ滴定法のフローチャート

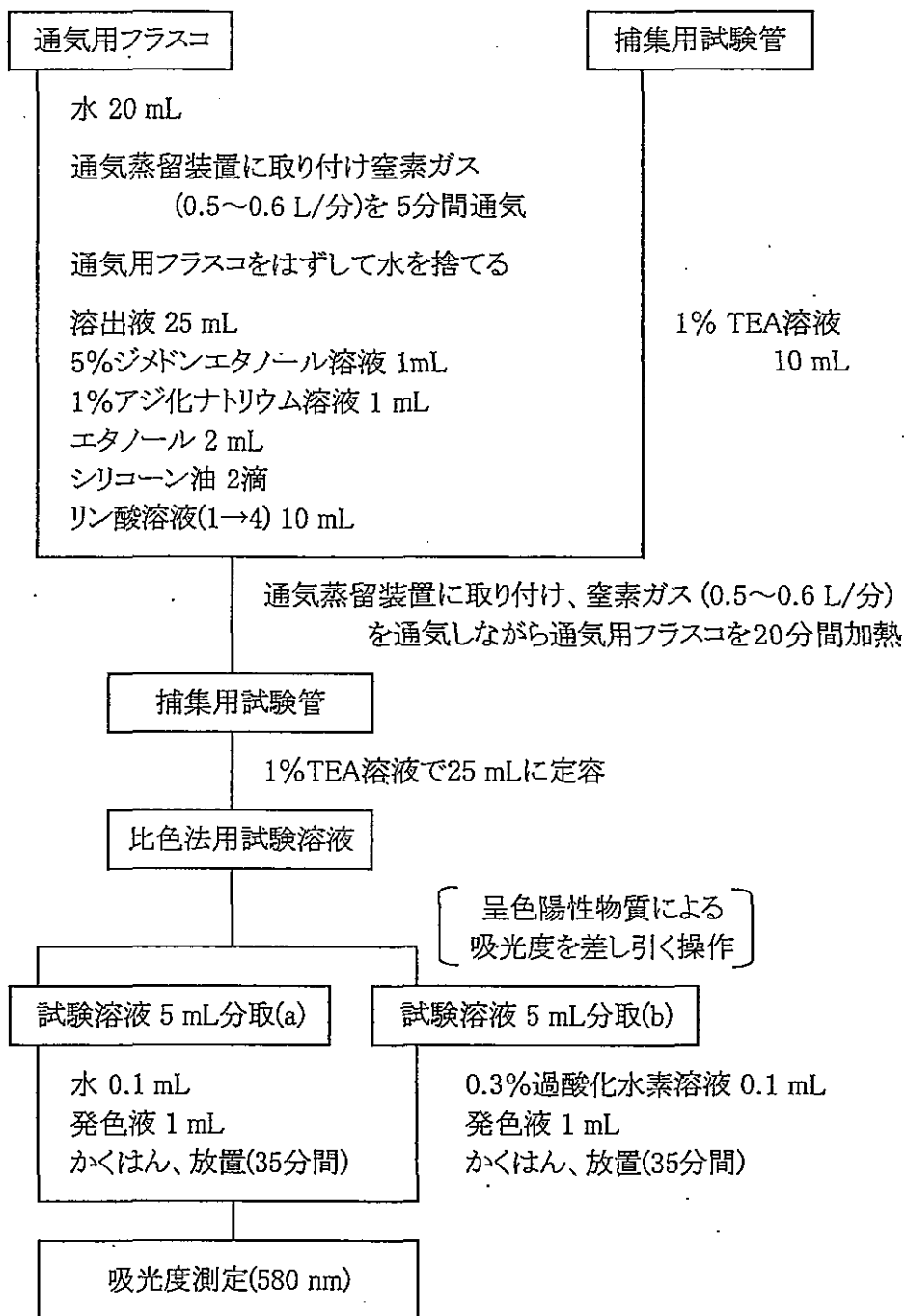


図3. 比色法のフローチャート

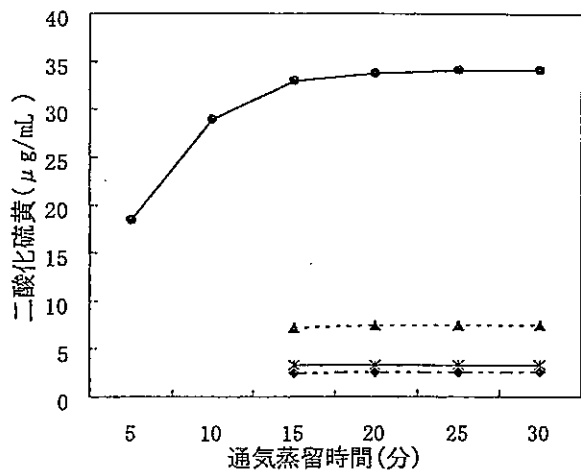


図4. 通気蒸留時間と二酸化硫黄留出量との関係

竹製割りばし4試料について、表面積1 cm² 当たり2 mLの水を用い、95°C、30分間の溶出試験で得られた溶出液を通気蒸留に付し、5分毎に捕集液中の二酸化硫黄濃度を測定した。

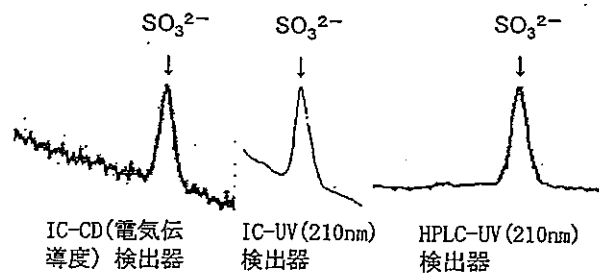


図5. IC-CD(電気伝導度) 検出器、IC-UV (210nm) 検出器及びHPLC-UV (210nm) 検出器による二酸化硫黄標準溶液 (0.25 μg/mL) のクロマトグラム

亜硫酸イオンのピーク部分のみを拡大表示した。

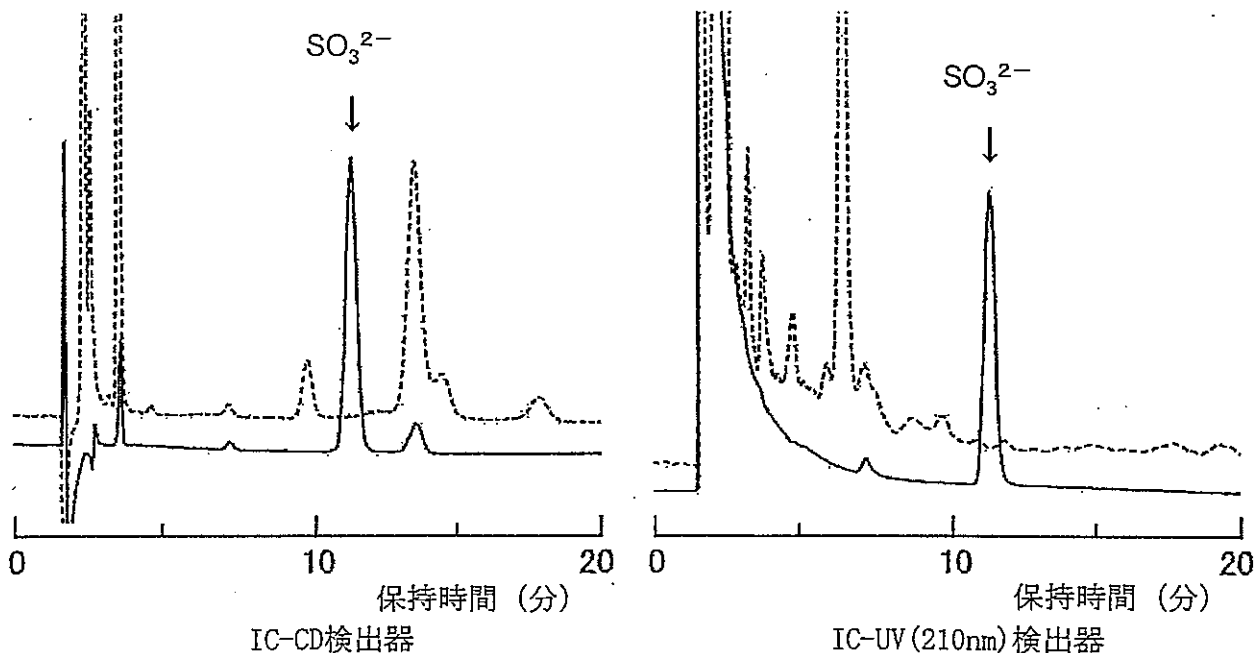


図6. ブランク溶出液及び二酸化硫黄標準溶液のイオンクロマトグラム
 ブランク溶出液、 ——— 二酸化硫黄標準溶液 (10 μg/mL)

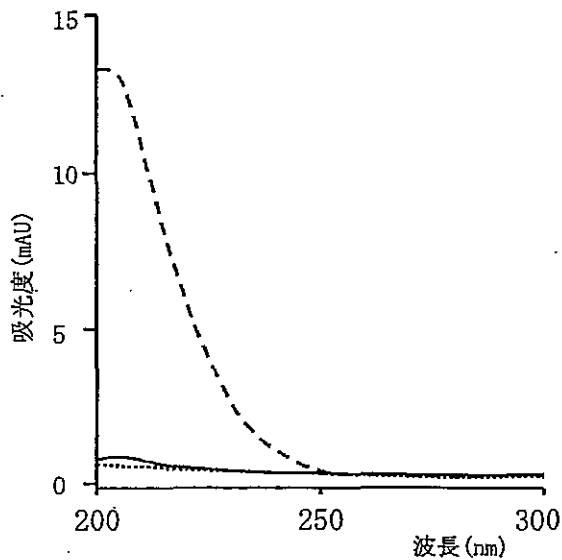


図7. HPLCにおける亜硫酸イオン及びブランク溶出液中不純物のUVスペクトル
 --- 亜硫酸イオン (二酸化硫黄として10 μ g/mL、保持時間10.4分)
 ——— ブランク溶出液中の不純物 (保持時間10.2分)
 ブランク溶出液中の不純物 (保持時間10.4分)

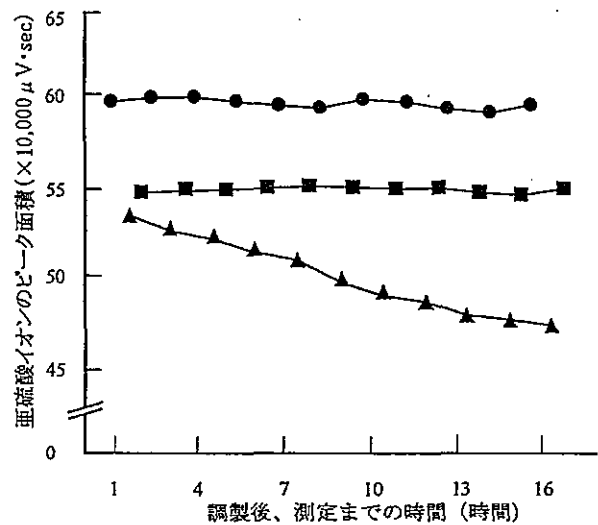


図9. 標準溶液及びHPLC用試験用液中亜硫酸の安定性

- 二酸化硫黄標準溶液 (10 μ g/mL、1%TEA含有)
- HPLC用試験溶液 (TEA無添加)
- ▲—▲ HPLC用試験溶液 (1%TEA含有)

HPLC用試験溶液は、竹製割りばしを95°Cの水で30分間溶出して得られた溶出液をろ過しただけのもの及び1%濃度となるようTEAを添加した後ろ過したものについて測定した。

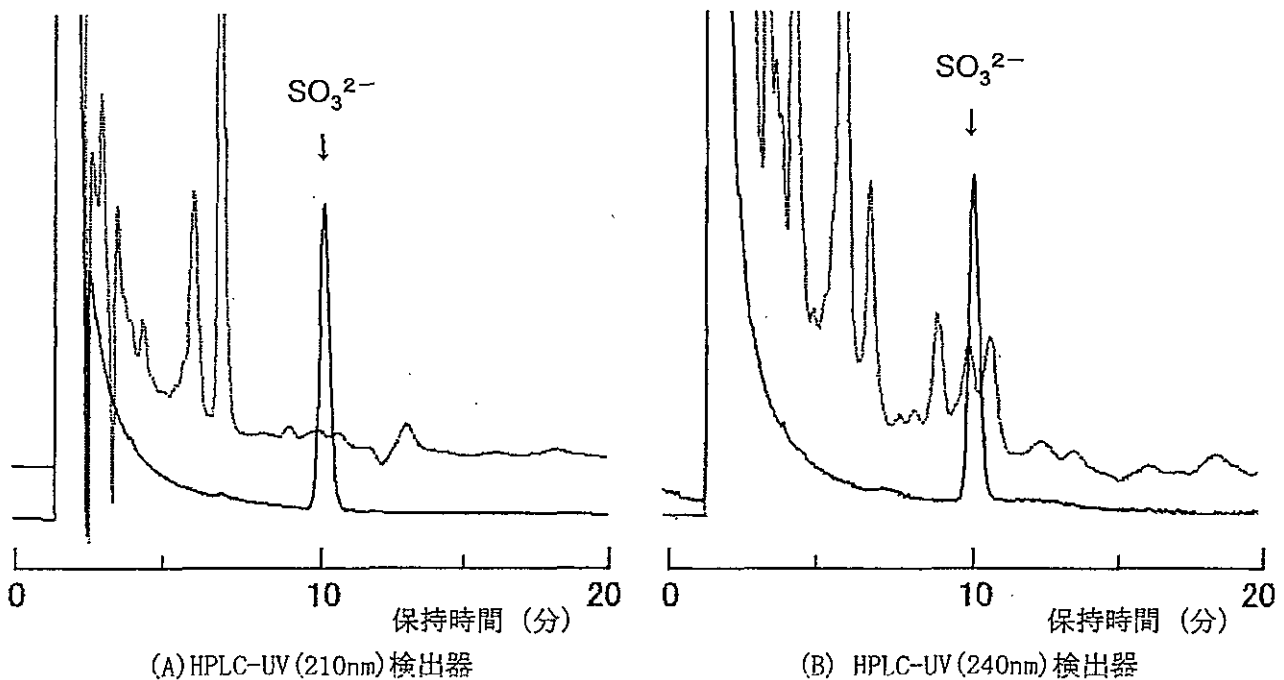


図8. ブランク溶出液及び二酸化硫黄標準溶液の高速液体クロマトグラム
 ブランク溶出液、 ——— 二酸化硫黄標準溶液 (10 μ g/mL)

表1. 浸出用液の違いによる二酸化硫黄溶出量の比較

浸出用液	二酸化硫黄溶出量
水	8.80 ± 0.45 *
20%エタノール	8.62 ± 0.82
4%酢酸	9.40 ± 0.38

* 平均値±標準偏差(μg/mL)、n=3

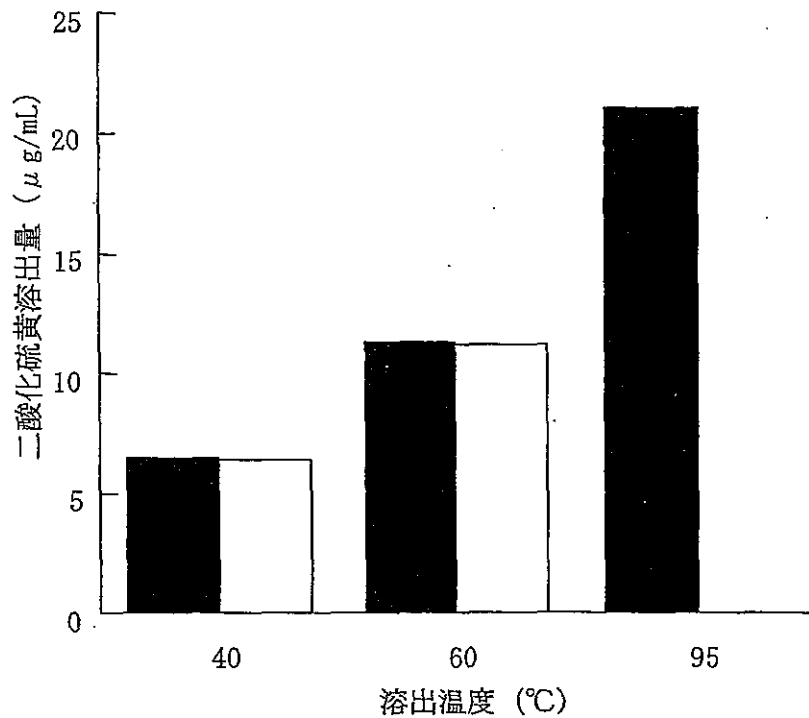


図10. 溶出温度と二酸化硫黄溶出量との関係

浸出用液: ■ 水、□ 20%エタノール

竹製割りばしの表面積1 cm²当たり2 mLの浸出用液を用い、95°Cで30分間の溶出試験を行い、溶出液中の二酸化硫黄量をIC (UV検出器) により測定した。95°C、20%エタノールは沸騰により溶出試験不能。

表2. 市販竹製割りばしの二酸化硫黄分析結果

試料番号	割りばしの形態	溶出温度(°C)	HPLC法	アルカリ滴定法
1.	利休	95	25.8 ± 6.26 *	23.5 ± 3.91
2	天削	95	24.0 ± 12.3	23.2 ± 13.4
3	双生	95	23.7 ± 4.20	24.6 ± 3.36
4	双生	95	16.6 ± 6.33	15.7 ± 6.15
5	元禄	95	15.5 ± 6.62	14.9 ± 7.31
6	双生	95	12.2 ± 2.98	11.0 ± 3.10
7	双生	95	8.61 ± 3.98	9.13 ± 2.21
8	双生	95	6.04 ± 4.46	6.74 ± 3.83
9	双生	95	3.98 ± 0.98	4.03 ± 2.02
10	双生	95	ND	ND **
11	双生	95	ND	ND
12	利休	95	ND	ND

1	利休	60	10.7 ± 2.96	11.2 ± 2.61
2	天削	60	10.5 ± 6.22	10.3 ± 6.68
3	双生	60	11.3 ± 4.11	10.4 ± 4.00
4	双生	60	9.85 ± 3.21	9.98 ± 3.15
5	元禄	60	6.71 ± 4.31	7.25 ± 4.81
6	双生	60	5.36 ± 1.51	5.21 ± 1.41
7	双生	60	4.12 ± 2.51	4.44 ± 2.08
8	双生	60	1.95 ± 1.05	ND
9	双生	60	1.49 ± 1.04	ND
10	双生	60	ND	ND
11	双生	60	ND	ND
12	利休	60	ND	ND

* 二酸化硫黄としての検出量、平均値±標準偏差 (μg/cm²)、n=3

** ND : HPLC法は 1.2 μg/cm²未満、アルカリ滴定法は 4 μg/cm²未満

表3. 亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、二酸化硫黄、
ピロ亜硫酸カリウム及びピロ亜硫酸ナトリウムの使用基準

対象食品	二酸化硫黄としての 残存量	対象食品	二酸化硫黄としての 残存量
ごま、豆類 及び 野菜	使用しては ならない	キャンデッドチェリー 及び 糖蜜	0.30g/kg未満
かんぴょう	5.0g/kg未満	糖化用タピオカでんぷん	0.25g/kg未満
乾燥果実(干しぶどうを除く)	2.0g/kg未満	水あめ	0.20g/kg未満
干しぶどう	1.5g/kg未満	天然果汁(5倍以上に希釈 して飲用に供するもの)	0.15g/kg未満
こんにやく粉	0.90g/kg未満	甘納豆 及び 煮豆	0.10g/kg未満
乾燥じゃがいも、ゼラチン 及び デイジヨンマスタード	0.50g/kg未満	えび 及び 冷凍生かに	0.10g/kg未満**
果実酒* 及び 雑酒	0.35g/kg未満	その他の食品	0.030g/kg未満***

* 果実酒の製造に用いる酒精分1容量パーセント以上を含有する果実搾汁およびこれを濃縮したものを除く

** むき身について

***キャンデッドチェリーの製造に用いるさくらんぼ、ビール製造に用いるホップ並びに果実酒に用いる果汁、
及び酒精分1容量パーセント以上を含有する果実搾汁およびこれを濃縮したものを除く

G. 健康危険情報

なし

2. 学会発表

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) 船山恵市、金子令子、羽石奈穂子、荻野周三、東京都健康安全研究センター年報、55、(2004) 投稿中

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし