

器具・容器包装の規格試験法の精度向上に関する研究

分担研究者 鎌田 国広 東京都立衛生研究所

研究要旨

食品衛生法の器具・容器包装に関する規格試験法の中には、労働安全衛生法や化審法で規制されている有害試薬を使用しているもの、再現性や回収率等に問題があり精度管理に適合困難なもの、また、現在の科学水準に対応が不十分なものなどがあり、これらの規格試験法の整備が求められている。そこで、今年度はポリ塩化ビニル中のジブチルスズ化合物の材質試験、ポリエチレンテレフタレートのアнтиモン・ゲルマニウムの溶出試験、金属缶のエピクロルヒドリン試験法及びフェノール試験法の精度向上に関する検討を行った。

ジブチルスズ化合物は、ポリ塩化ビニルの安定剤として使用されているが、毒性が高いため食品衛生法ではポリ塩化ビニル中のジブチルスズ化合物は塩化物として 50ppm 以下と定められている。しかし、現在のジブチルスズ化合物試験法は抽出に有害試薬である四塩化炭素を用いているほか、操作が煩雑であり、回収率も悪い。また、抽出には分離能が低い紙クロマトグラフィーを用いるなど問題が多い。そこで有害試薬を用いず、簡便で分析精度の優れた試験法の検討を行った。その結果、塩酸を含むアセトン及び *n*-ヘキサンの混液で溶媒抽出し、テトラエチルホウ酸ナトリウムによりエチル化を行った後、GC/MS により定量する代替法を確立した。本法は定量限界 1.0 $\mu\text{g/g}$ 、回収率 90.5~96.6%と極めて良好であり、ばらつきも少なく優れた試験法である。

アンチモン、ゲルマニウムは、ポリエチレンテレフタレート（PET）の縮合触媒として使用されていて、最終製品中にごく微量であるが残留する。それらの毒性のため、食品衛生法では、溶出試験でアンチモン 0.05ppm 以下、ゲルマニウムでは 0.1ppm 以下と定められている。現行の規格試験は吸光度法が用いられているが、アンチモンの回収率が悪く、また、アンチモンでは灰化時間、更にゲルマニウムでは抽出操作に長時間を必要とし、有害試薬である四塩化炭素を使用する等の問題がある。そこで、溶出試験溶液である 4%酢酸溶出液を直接試験溶液としてフレイムレス原子吸光光度計、ICP 及び ICP-MS に供する、煩雑な操作を必要としない、高感度、高精度の試験法を検討した。その結果、試料溶液及びアンチモン、ゲルマニウム標準溶液は、フレイムレス原子吸光光度計、ICP、ICP-MS で干渉作用の影響を受けず、精度良く分析することができた。また、市販の PET 容器を使用してアンチモン、ゲルマニウムの溶出試験の添加回収実験を行った結果、回収率、相対標準偏差も良好な結果が得られた。本法は、簡便、迅速で有害試薬を用いない安全な分析法で、且つ高精度に試料溶液中のアンチモン、ゲルマニウムを分析する有用な試験法である。

エピクロルヒドリンは、金属缶の内面塗装剤として用いられるエポキシ樹脂の原料で樹脂中に残存する可能性がある。毒性が高いため食品衛生法では、溶出試験で 0.5ppm 以下と定められている。しかし、現行のエピクロルヒドリン試験法はパックドカラムによるガスクロマトグラフィー法が規定されており、検出感度が 2~3ppm と悪く、通常の試験溶液を満たす調製法では基準値付近の測定を行うことが不可能である。これを補うために公定法では変則的な浸出条件が採用されているが、恒温器の温度管理や *n*-ペンタンの揮散などの実務分析上の問題点を抱えている。そこで、高感度分析法の確立を目的としてキャピラリーカラムによるガスクロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィー/質量分析を用いる試験法について検討した。その結果、変則的な試験溶液の調製法を行うことなく、基準値の 1/10 以下 (0.05ppm) を容易に精度良く測定することが可能となった。

器具及び容器包装の規格基準におけるフェノール試験法は、対象とする試料によって 4-アミノアンチピリン法と臭素溶液による方法 (トリブロモ法) が規定されている。しかし、トリブロモ法は感度が悪く、劇物である臭素を用いる等の問題がある。そこで、トリブロモ法が適用されているものについて 4-アミノアンチピリン法が適用できるか検討を行った。4-アミノアンチピリン法による添加回収試験 (5 及び 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を行った結果、平均回収率は 101~109% と良好であった。このことよりトリブロモ法を 4-アミノアンチピリン法に代替して問題ないと考えられる。また、4-アミノアンチピリン法に記載されているホウ酸緩衝液が溶解しにくいことから、適切な緩衝液の濃度について検討した。その結果、第 1 液、2 液とも 0.1M にし、等量混合した緩衝液を用いて良好に測定することができた。

研究協力者

河村 葉子 国立医薬品食品衛生研究所
六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所
大野 浩之 名古屋市衛生研究所
鈴木 昌子 名古屋市衛生研究所
池辺 克彦 大阪府立公衆衛生研究所
柿本 幸子 大阪府立公衆衛生研究所

藤田 忠雄 大阪市立環境科学研究所
山口 之彦 大阪市立環境科学研究所
尾崎 麻子 大阪市立環境科学研究所
金子 令子 東京都立衛生研究所
船山 恵市 東京都立衛生研究所
羽石奈穂子 東京都立衛生研究所

＜その1＞ポリ塩化ビニル材質試験におけるジブチルスズ化合物試験法の代替法の開発

主任研究者 河村葉子 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 六鹿元雄 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 大野浩之 名古屋市衛生研究所
研究協力者 鈴木昌子 名古屋市衛生研究所

A. 研究目的

有機スズ化合物は、器具・容器包装の分野ではポリ塩化ビニルの安定剤やシリコーン樹脂の縮合触媒等に使用されている。安定剤の中では特に透明性に優れていることから、主として加工温度の高い透明な硬質ポリ塩化ビニルに使用される。そのうち、ジブチルスズ化合物は農業用ビニル等の食品用途以外のポリ塩化ビニルに使用されているが、哺乳類に対して中枢神経障害、代謝障害、胸腺萎縮等を生じ、毒性が高い。そのため、食品用器具・容器包装に使用することは望ましくないことから、食品衛生法ではポリ塩化ビニル中のジブチルスズ化合物を塩化物として 50 ppm 以下と定めている。このため、食品用器具・容器包装にはジブチルスズ化合物が使用され、一方、水道管には主にジメチルスズ化合物が使用されるようになった。

現行の食品衛生法の「食品、添加物等の規格基準」における試験法では、ジブチルスズ化合物をメタノール・四塩化炭素を用いて抽出し、蒸発乾固した後、メタノールに再溶解し、ろ紙クロマトグラフィーにより検出を行うとされている。

しかし、この方法にはいくつかの問題点が指摘されている。抽出に用いる四塩化炭素は「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」の中で第二種特定化学物質に指定されている有害試験薬であり、しかも今後は入手が困難になる可能性があり、試験検査から排除する必要があるとされている。食

品添加物等の試験では大部分が改正され、使用されなくなっている。さらに、抽出操作が煩雑であるため回収率や再現性に問題がある。また、ろ紙クロマトグラフィーは分離能が十分ではなく、他の試験法ではガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィー等に切り替えられている。そのため、ジブチルスズ化合物試験法において、四塩化炭素を使用せず、しかも精度の高い試験法の開発が緊急の課題となっていた。

ポリ塩化ビニル中のジブチルスズ化合物試験法について、著者らは塩酸酸性下で溶媒抽出を行い、グリニャール試薬によりプロピル化し GC-AED で測定する方法¹⁾、TLC による分析法²⁾ 及びテトラエチルホウ酸ナトリウムによりエチル化し GC/MS で測定する方法³⁾ を報告してきた。そこで、それらの報告に新たな実験を加え、ジブチルスズ化合物試験法の比較検討を行い、現行の規格試験法の代替法として確立したので報告する。また、同時に他のアルキルスズ化合物についても検討したのであわせて報告する。

B. 研究方法

1. 試料

ポリ塩化ビニルパウダー（無添加）

ポリ塩化ビニル製品：ラップフィルム 2 検体、手袋 2 検体、容器（包装済み食品の容器及び食品用として販売されていた空容器）3 検体、急須注ぎ口 1 検体、ホース（家庭用）1 検体、パイプ 3 検体（耐衝撃

性水道用硬質管 2 検体及び給湯用耐熱性硬質管 1 検体)

2. 試薬

(1) 溶媒等

n-ヘキサン、アセトン：残留農薬分析用 シグマアルドリッチジャパン(株)製等、塩酸及び酢酸：精密分析用 片山化学工業(株)製等、2-プロパノール：HPLC 用 片山化学工業(株)製等、テトラヒドロフラン (THF)：HPLC 用 和光純薬工業(株)製等、エーテル及び無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用 和光純薬工業(株)製等、水：MILLI-Q SP (Millipore 社製) により精製した超純水または同等品

(2) 標準品

塩化モノメチルスズ (MMT)：Aldrich 社製、塩化ジメチルスズ (DMT)：東京化成工業(株)製又は Aldrich 社製、塩化トリメチルスズ (TMT)：東京化成工業(株)製又は Aldrich 社製、塩化モノブチルスズ (MBT)：関東化学製又は Aldrich 社製、塩化ジブチルスズ (DBT)：東京化成工業(株)製、塩化トリブチルスズ (TBT)：東京化成工業(株)製又は Aldrich 社製、塩化ジオクチルスズ (DOT)：東京ファインケミカル製又は Lancaster 社製、塩化トリオクチルスズ (TOT)：日東化成(株)製又は Fluka Chemie 社製

(3) 標準溶液

有機スズ標準原液：標準品各 40 mg にアセトン及び塩酸 2～3 滴を加えて溶解した後アセトンで 20 ml とした (塩化物として 2,000 µg/ml)。

モノオクチルスズ (MOT) 標準原液：モノオクチルスズオキサイド (和光純薬工業(株)製) 31.3 mg をアセトン約 15 ml 及び塩酸 1 滴を加えて溶解させた後、アセトンで 20 ml とした (塩化物として 2,000 µg/ml)。

有機スズ混合標準溶液：各標準原液を一定量ずつ採り、塩酸 2～3 滴を加え、アセトン

で適宜希釈混合して 2～100 µg/ml の標準溶液を調製した。TLC 用には DBT と DOT を混合して 50 µg/ml 及び 100 µg/ml の標準溶液を調製した。

内部標準液：テトラブチルスズ (TeBT) (東京化成(株)製) 100 mg を *n*-ヘキサンに溶解し 100 ml とした後、この溶液 1 ml を取り *n*-ヘキサンで希釈して 100 ml とした (10 µg/ml)。

(4) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

薄層板：シリカゲル 60 (Merck 社製)

展開溶媒：*n*-ヘキサン-酢酸 (8:1)、*n*-ヘキサン-2-プロパノール-酢酸 (7:3:0.1)、アセトン-酢酸 (100:1)

発色試薬 ① 0.5%ヘマトキシリン-エタノール溶液：ヘマトキシリン (SIGMA 社製) 500 mg をエタノールで溶解し 100 ml とした。② 0.1%ピロカテコールバイオレット-エタノール溶液：ピロカテコールバイオレット (Aldrich 社製) 100 mg をエタノールで溶解し 100 ml とした。

(5) ガスクロマトグラフィー

① グリニヤール反応によるプロピル化

n-プロピルマグネシウムプロミド：東京化成工業(株)製

亜硫酸ナトリウム、塩酸：試薬特級、和光純薬工業(株)製

② テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化

2%テトラエチルホウ酸ナトリウム溶液：テトラエチルホウ酸ナトリウム (Strem Chemicals 社製又は和光純薬工業(株)製) 0.4 g を精製水 20 ml に溶かして 2%水溶液とし、調製後直ちに使用した。

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 約 5.0)：2 mol/l 酢酸と 2 mol/l 酢酸ナトリウムを 3:7 の割合で混合して調製した。

3. 装置

原子発光検出器付ガスクロマトグラフ (GC/AED) : ガスクロマトグラフ HP-5890 SERIES II、原子発光検出器 HP-5291A 以上 Hewlett Packard 社製

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) : ガスクロマトグラフ HP-6890、質量分析計 HP-5973 以上 Hewlett Packard 社製

炎光光度検出器付ガスクロマトグラフ (GC-FPD) : ガスクロマトグラフ GC-9A、データ処理装置 C-R7A plus 以上 島津製作所製

4. ガスクロマトグラフ測定条件

(1) GC/AED

カラム : キャピラリーカラム DB-5 (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m) J&W 社製

カラム温度 : 35 $^{\circ}$ C (2 min) - 30 $^{\circ}$ C/min - 200 $^{\circ}$ C - 15 $^{\circ}$ C/min - 280 $^{\circ}$ C (4 min)

注入口温度 : 250 $^{\circ}$ C

キャビティ温度 : 280 $^{\circ}$ C

キャビティ圧 : 1.5 psi

キャリアガス : He、173 kPa (定圧)

測定波長 : 303.3 nm、注入量 : 1 μ l

(2) GC/MS

カラム : キャピラリーカラム DB-5 (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m) J&W Scientific 社製又は HP-5 ms (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m) Hewlett Packard 社製

カラム温度 : 45 $^{\circ}$ C (4 min) - 15 $^{\circ}$ C/min - 300 $^{\circ}$ C (10 min)

注入口温度 : 290 $^{\circ}$ C

インレット温度 : 280 $^{\circ}$ C

イオン源温度 : 230 $^{\circ}$ C

キャリアガス : He、0.5 ml/min

注入量 : 1 μ l

注入モード : スプリットレス

イオン化電圧 : 70 eV

測定モード : SIM

定量イオン : 表 1 に示す定量イオンにより定量した。

(3) GC-FPD 測定条件

カラム : キャピラリーカラム DB-5 (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m) J&W Scientific 社製

カラム温度 : 45 $^{\circ}$ C (4 min) - 15 $^{\circ}$ C/min - 300 $^{\circ}$ C (15 min)

注入口温度 : 280 $^{\circ}$ C

キャリアガス : He、0.5 ml/min

スプリット比 : 3 : 2

検出器温度 : 280 $^{\circ}$ C

フィルター : スズ (610 nm)

Air : 100 ml/min、H₂ : 100 ml/min

注入量 : 5 μ l

5. アルキル化法

(1) グリニヤール試薬によるプロピル化

有機スズを含有する 20 ml のエーテル溶液に *n*-プロピルマグネシウムブロミド 2 ml を徐々に加えた後、密栓して 37 $^{\circ}$ C で 1 時間加温した。氷冷下で冷水 10 ml を少しずつ加えた後に緩やかに振り混ぜ、亜硫酸ナトリウム 0.2 g、飽和塩化アンモニウム溶液 6 ml を加えて密栓し、激しく振とうした。*n*-ヘキサン 6 ml で 2 回抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水した。

(2) テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) 5 ml と内部標準液 0.25 ml を入れた試験管に、有機スズを含有するヘキサン溶液 2 ml 及び 2% テトラエチルホウ酸ナトリウム 1 ml を加え、直ちに密栓し 20 分間激しく振とうした後、室温で約 1 時間静置した。

6. TLC 法