

4. GC-FID測定条件

カラム：DB-WAX (0.53 mm i.d. × 30 m、膜厚 1 μm)、Agilent Technologies 社製

カラム温度：50°C (5 min) -10°C/min -100°C -30°C/min -220°C (6 min)

注入口及び検出器温度：220°C、

キャリアーガス：N₂、14 mL/min

メイクアップガス：N₂、40 mL/min

注入量：5 μL

5. GC/MS測定条件

カラム：DB-WAX (0.25 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.5 μm)、Agilent Technologies 社製

カラム温度：40°C (2 min) -20°C/min -200°C (5 min)

注入口温度：200°C

インレット温度：220°C

キャリアーガス：He、0.6 mL/min

注入量：1 μL

注入モード：スプリットレス

イオン化電圧：70 eV (EI モード)

測定モード：SIM 及び SCAN

SIM 条件

定量用イオン： m/z 49

確認用イオン： m/z 57、62

SCAN 条件

スキャンレンジ： m/z 25~100

6. FT-IR測定条件

プリズム：KRS-5

反射回数：5回

入射角：45°

分解能：4 cm⁻¹

積算回数：16回

波数領域：400~4600 cm⁻¹

7. 缶コーティングの材質判別

天蓋部、胴部及び底蓋部から試験片を切り取り、多重全反射測定装置を取り付けた FT-IR に装着して内表面の赤外吸収スペクトルを測定し、標準品のスペクトルとの比較に

より判別した。

8. 試験溶液の調製

缶に *n*-ペンタンを満たし、切口にアルミホイルをかぶせ、さらにポリ塩化ビニル製ラップフィルムを重ねてかぶせ、外側から輪ゴムでとめて密閉³⁾した後、恒温器中 25°C で 2 時間溶出した。

天蓋は 300 mL ビーカーを用い、コーティング面 1 cm² につき 2 mL の割合の *n*-ペンタンを加え、缶と同様に密閉した後、25°C で 2 時間溶出した。

C. 研究結果及び考察

1. GC-FIDによる測定

内径の異なるポリエチレングリコール系キャピラリーカラム DB-WAX の 3 種類 [(0.25 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μm)、(0.32 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μm) 及び (0.53 mm i.d. × 30 m、膜厚 1 μm)] を用いて検討した。内径 0.25 及び 0.32 mm のカラムは注入量 2 μL でスプリット比を 1 : 10 とし、内径 0.53 mm のカラムでは注入量 5 μL を全量注入した。

内径 0.25 及び 0.32 mm のカラムの定量下限は両者ともに 0.3 μg/mL、検量線の直線範囲は 0.3~1.0 μg/mL であった。一方、内径 0.53 mm のカラムでは、感度が向上し、定量下限は 0.05 μg/mL、直線範囲は 0.05~2.5 μg/mL と良好な結果が得られた。また、0.5 μg/mL の標準溶液を用いた 5 回繰り返し測定による変動係数の比較でも、他のカラムが 7.0% 以上であったのに対し、0.53 mm のカラムは 1.8% と高い再現性を示した。

以上のことから、内径 0.25 及び 0.32 mm のカラムでも基準値を測定することは可能ではあったが、より精度良く、基準値の 1/10 まで測定できた内径 0.53 mm のカラムを採用することとした。この測定条件による標準溶液のクロマトグラムを図 1 に示した。エピク

ロルヒドリンの保持時間は6.8分であった。

2. GC/MSによる測定

膜厚の異なるポリエチレングリコール系キャピラリーカラム DB-WAX の2種類{(0.25 mm i. d. ×30 m、膜厚 0.25 μm) 及び(0.25 mm i. d. ×30 m、膜厚 0.5 μm)} を用いて検討した。膜厚 0.25 μm のカラムでは、エピクロルヒドリンピークはテーリングによりピーク形状が悪く、低濃度域の定量には不向きであったが、膜厚 0.5 μm のカラムを用いると十分に改善したため、後者のカラムを用いることとした。

SIM モードのモニターイオンは上水試験方法⁵⁾に準じて m/z 49、57 及び 62 とした。これらのマススペクトルの強度は m/z 57、49、62 の順序であったが、最も強度が大きかった m/z 57 は n -ペンタン由来のフラグメントイオンの影響を若干受けることが分かった。このため、定量用イオンには n -ペンタンの影響をほとんど受けず、ベースラインが比較的安定していた m/z 49 を用いた。本法の定量下限は 0.02 μg/mL、検量線の直線範囲は 0.02~1.0 μg/mL といずれも良好であった。この測定条件による標準溶液のクロマトグラムを図2に示した。エピクロルヒドリンの保持時間は7.4分であった。

SCAN モードによるエピクロルヒドリンの定性について検討したところ、0.1 μg/mL 以上の濃度域であればライブラリサーチによって確認することが可能であった。図3にエピクロルヒドリンのマススペクトルを示した。

SCAN モードによる定量では m/z 49、57、62 及びトータルイオンの定量下限はいずれも 0.1 μg/mL であった。

3. エピクロルヒドリンの安定性

試験溶液の調製法の溶出条件は25℃で2時間と定められている。この操作中での揮散や

分解による濃度変化をみるため、試料Dを用いてエピクロルヒドリンの残存率について調べた(表1)。すなわち、缶に標準溶液 0.05 及び 0.5 μg/mL を満たして密閉し、25℃で2時間放置した後のエピクロルヒドリン濃度を測定して比較した。2時間後の残存率はいずれも 99.9~103.9%の範囲でほとんど濃度変化は認められなかった。また、天蓋についても同様に 103.3~104.9%と良好な結果が得られ、いずれも溶出時間内では安定であることが分かった。

ただし、密閉が不十分な状態で溶出を行った場合、 n -ペンタンの蒸発によって相対的にエピクロルヒドリン濃度が高くなるため、密閉には十分な注意が必要であった。

4. n -ペンタン

和光純薬工業(株)、関東化学(株)及び東京化成工業(株)製の3種類の n -ペンタン(全て特級)を用い、GC-FID 及び GC/MS (SIM) 測定における妨害ピークの有無について調べた。GC/MS 法ではいずれの試薬とも妨害なく測定できたが、GC-FID 法では東京化成工業(株)製 n -ペンタンからエピクロルヒドリンのピーク付近に妨害ピークが認められ、浸出用液として適さないことが分かった。一方、和光純薬工業(株)及び関東化学(株)製はほぼ同様のクロマトグラムを示し、保持時間7.9分に試薬に混在する不純物由来のピークが出現したがエピクロルヒドリンの測定に影響はみられなかった。図4に和光純薬工業(株)及び東京化成工業(株)製 n -ペンタンの GC-FID クロマトグラムを示した。

このことから、GC-FID 法ではあらかじめクロマトグラム上に n -ペンタン由来の妨害ピークがないことを確認する必要がある。今回試料の測定においては、全て和光純薬工業(株)製の特級 n -ペンタンを使用した。

5. 試料の測定

試料A～Hの缶及び天蓋について本法を適用したところ、エピクロルヒドリンはGC-FID及びGC/MS (SIM) のいずれにおいても定量下限以下であった(表2)。

D. 結論

現在のエピクロルヒドリンの公定法は約20年前に制定されたため、パックドカラムによるGC-FID法が規定されている。しかし、この方法は検出感度が悪く、通常の試験溶液の調製では基準値付近の測定を行うことは不可能である。従って、これを補うために変則的な溶出条件が採用されているが、実務分析上、いくつかの問題点を抱えている。

そこで、現在広く使用されるようになってきたキャピラリーカラムやGC/MSを用いる試験法について検討したところ、特別な試験溶液の調製法を行わなくても基準値の1/10以下を容易に精度良く測定することが可能であった。

以上のことから、今回確立したキャピラリーカラムを用いるGC-FID法及びGC/MS法を導入し、エピクロルヒドリン試験法の試験溶液の調製法を以下のように改正することを提案する。

「液体を満たすことができる試料にあつては、*n*-ペンタンを満たして密栓し、25℃に保ちながら2時間放置する。液体を満たすことができない試料にあつては、表面積1 cm²につき2mLの割合の*n*-ペンタンを用い、密栓した容器中で25℃に保ちながら2時間放置する。」

E. 文献

- 1) 食品衛生研究会：平成13年版食品衛生六法、1108～1110 (2000)
- 2) 厚生省生活衛生局：食品衛生検査指針 理化学編、631～633 (1991)
- 3) 村上貴久：食品衛生研究、32、358 (1982)
- 4) 日本薬学会：衛生試験法・注解 2000、618～619 (2002)
- 5) 日本水道協会：上水試験方法 2001年版、538 (2001)

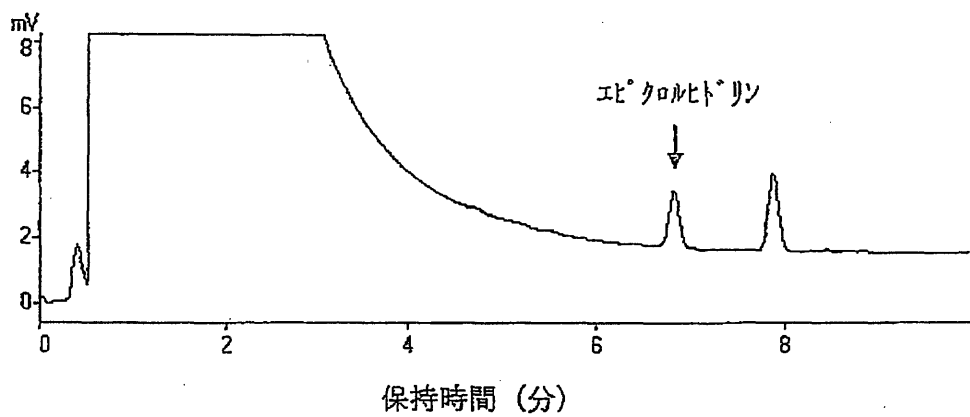


図1 0.5 μ g/mL 標準溶液の GC-FID クロマトグラム

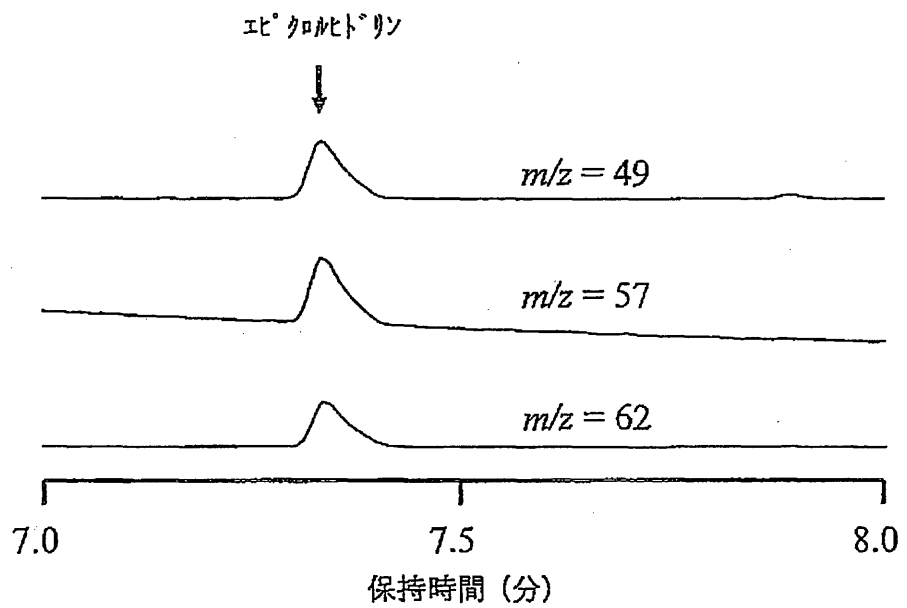


図2 0.5 μ g/mL 標準溶液の GC/MS (SIM) クロマトグラム

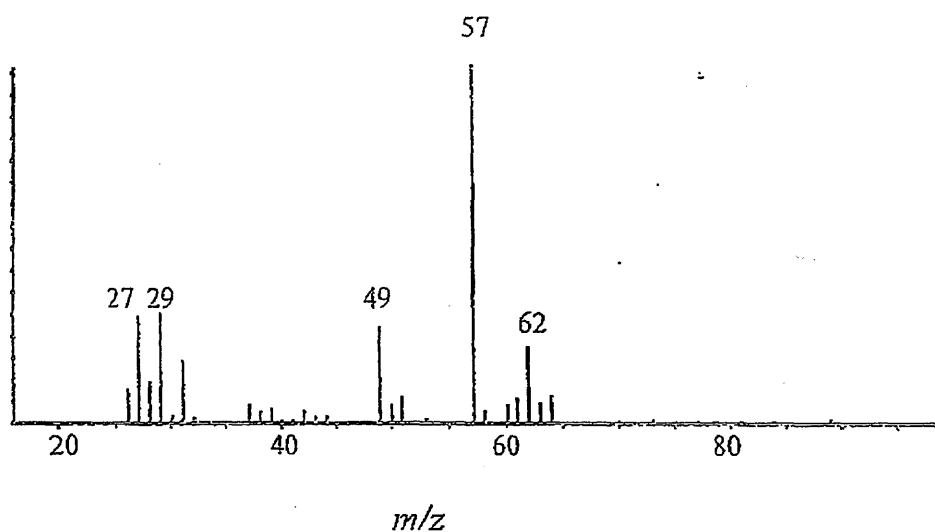


図3 エピクオールヒドリンのマススペクトル

表1. エピクオールヒドリンの安定性

標準溶液 ($\mu\text{g/mL}$)	測定方法	残存率 (%)	
		缶 ¹⁾	天蓋 ²⁾
0.05	GC/MS(SIM)	103.9 \pm 3.6	104.9 \pm 6.1
0.5	GC-FID	99.9 \pm 1.5	103.3 \pm 1.3
	GC/MS(SIM)	102.0 \pm 2.5	104.5 \pm 1.5

$n = 4$

- 1) : 缶 (試料D) に標準溶液を満たし、25°Cで2時間放置した。
- 2) : 天蓋 (試料D) のコーティング面1cm²につき2mLの標準溶液を用い、25°Cで2時間放置した。

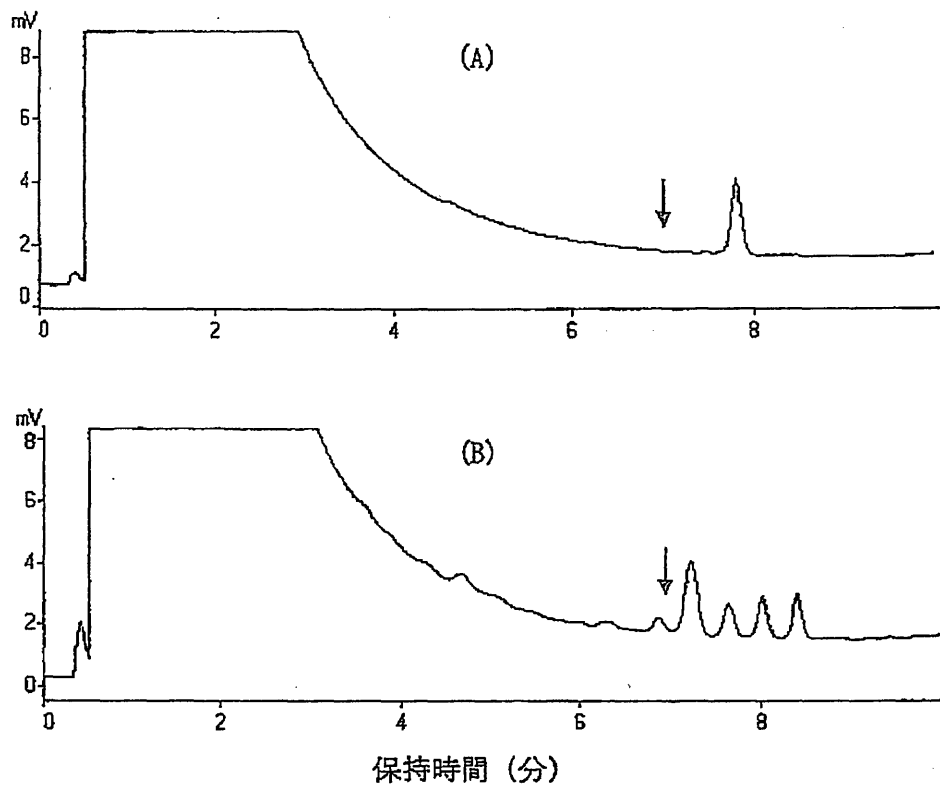


図4 n-ペンタンのGC-FIDクロマトグラム

(A) : 和光純薬工業(株)製、(B) : 東京化成工業(株)製

表2. 試料の測定結果

試料	用途	タイプ	内容量 (mL)	材質		内面コーティング			測定結果($\mu\text{g/mL}$)				
				缶		缶			缶 ¹⁾		天蓋 ²⁾		
				胴	底蓋	胴	底蓋	天蓋	GC-FID	GC/MS(SIM)	GC-FID	GC/MS(SIM)	
A	ビール	2ピース缶	360	AL	AL	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	
B	炭酸飲料	2ピース缶	360	AL	AL	EP	PVC		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	
C	レモンティー	3ピース缶	360	ST	ST	AL	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
D	コーヒー飲料	3ピース缶	200	ST	AL	ST	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
E	コーヒー飲料	2ピース缶	200	ST	AL	PET	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	
F	調理食品 (ゆであずき)	2ピース缶	210	ST	AL	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	
G	調理食品 (牛肉味付け)	2ピース缶	180	ST	AL	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02	
H	調理食品 (さば味付け)	3ピース缶	210	ST	AL	ST	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02

AL: アルミニウム, ST: スチール, EP: エポキシ系樹脂, PET: ポリエチレンテレフタレート, PVC: ポリ塩化ビニル

1): 缶に*n*-ペンタンを満たして浸出した。

2): コーティング面 1cm^2 につき2mLの割合の*n*-ペンタンを用いて浸出した。

＜その4＞フェノール試験法の精度向上に関する検討

協力研究者 尾崎麻子、山口之彦、藤田忠雄 大阪市立環境科学研究所

A. 研究目的

食品衛生法の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（トリプロモ法）が規定されている。前者は一般の金属缶及びゴム製品のフェノールの溶出試験に採用されている方法で、フェノールと4-アミノアンチピリンをアルカリ性でフェリシアン化カリウム $[K_3Fe(CN)_6]$ の存在下で反応させ、アンチピリン色素を生成させて比色定量する方法である。また、後者はフェノールに臭素を反応させてトリプロモフェノールの黄白色の沈殿の生成を観察する試験法で、ホルムアルデヒドを製造原料とする合成樹脂、発酵乳用等の合成樹脂塗装した金属缶、発酵乳用等の合成樹脂加工したアルミニウム箔のフェノール溶出試験に適用される。

先に規格が制定されたトリプロモ法は、4-アミノアンチピリン法に比べ感度が著しく劣る。また、用いる臭素が劇物であるという問題点を持つ。

そこで我々は、両試験法を比較し、トリプ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に代替して問題がないか検討を行った。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¹⁾が溶解しないことから、適切な緩衝液の濃度を摸索した。

B. 研究方法

1. 試料

ゴム製品、メラミン樹脂、フェノール樹脂を材質として塗装したもの及び乳飲料の金属缶を用いた。

2. 試薬

フェノール、臭素、ホウ酸、水酸化ナトリウ

ム、塩酸、アンモニア水、4-アミノアンチピリン：試薬特級、和光純薬工業㈱製

フェリシアン化カリウム：半井化学薬品㈱製
フェノール標準溶液：フェノールを水に溶解し、1000 $\mu\text{g/ml}$ となるように調製し、必要に応じ希釈して用いた。

臭素溶液：栓にワセリンを塗布した共栓瓶に臭素 2~3 ml を入れ、冷水 100 ml を加え、密栓して振り混ぜその水層を用いた。

4-アミノアンチピリン試液：4-アミノアンチピリン 1.36 g を水に溶かして 1000 ml とした。

フェリシアン化カリウム試液：フェリシアン化カリウム 8.6 g を水に溶かし、強アンモニア試液（アンモニア水）1.8 ml 及び水を加えて 1000 ml とした。

ホウ酸緩衝液¹⁾：第1液；水酸化ナトリウム 4.0 g を水に溶かして 100 ml とした。第2液；ホウ酸 18.5 g を水に溶かして 100 ml とした。第1液9容量と第2液10容量とを混和した。

ホウ酸緩衝液-2：第1液；水酸化ナトリウム 4.0 g を水に溶かして 100ml とした。第2液；ホウ酸 6.18 g を水に溶かして 100 ml とした。第1液9容量と第2液10容量とを混和した。

ホウ酸緩衝液-3：第1液；水酸化ナトリウム 0.4 g を水に溶かして 100 ml とした。第2液；ホウ酸 0.618 g を水に溶かして 100 ml とした。第1液1容量と第2液1容量とを混和した。

3. 装置

pHメーター：株式会社堀場製作所製 M-12

分光光度計：株式会社日立サイエンスシステムズ製 U-2000

4. 試験溶液の調製

それぞれ水を用い、表面積 1 cm^2 あたり溶出