

液が 2 ml になるように 60°C で 30 分間溶出させた。ゴム製のほ乳器具は、重量 1 g あたり浸出液が 20 ml になるように 40°C で 24 時間溶出させた。

5. トリブロモ法

試験溶液 5 ml をとり、臭素溶液 5 滴を加えて、一時間放置し、帯黄白色の沈殿が生じたものを陽性とした。

6. 4-アミノアンチピリン法

試験溶液 20 ml をとり、ホウ酸緩衝液 3 ml を加えてよく振り混ぜた後、4-アミノアンチピリン試液 5 ml 及びフェリシアン化カリウム試液 2.5 ml を加え、更に水を加えて 100 ml とし、よく振り混ぜて室温で 10 分間放置した後、波長 510 nm の吸光度を測定した。

C. 研究結果および考察

1. トリブロモ法

フェノール標準溶液を用いて、本法の検出感度を調べた(表 1)。検出感度はおよそ 25 $\mu\text{g/ml}$ であった。

2. 4-アミノアンチピリン法

ホウ酸の溶解度は温度に大きく依存し、10°C で 3.65 g/100 ml、20°C で 4.88 g/100 ml、60°C で 14.9 g/100 ml、80°C で 23.5 g/100 ml である。公定法に記載されている第 2 液(ホウ酸: 18.5 g/100 ml; 3M)を溶解するためには 80°C 近くに温度をあげ、保たなければならないが、これは試験操作上、不可能である。そこで、第 2 液が溶解し、かつ緩衝作用を保つことのできるホウ酸緩衝液の濃度を検討した。第 2 液の濃度を 3M から 1M に変更したものを緩衝液-2、第 1 液及び 2 液ともに 0.1M に変更し、さらに混合割合を等量にしたものを緩衝液-3 とした。

フェノール標準溶液を用いて試験したところ、図 1 に示すように、緩衝液-2 及び 3 を用いた際に発色強度に違いはなく、良好な直線性を示す検量線が得られた。どちらも検出感度は 1

$\mu\text{g/ml}$ であった。また、どちらも試験一日後、色素は安定であった。よって、試薬使用量が低く、混和割合のわかりやすい緩衝液-3 がより望ましいと考えられる。そこで、以後の検討は緩衝液-3 を用いた。

トリブロモ法の規格基準値は、表 1 よりおよそ 25 $\mu\text{g/ml}$ 前後と概算された。4-アミノアンチピリン法で 1~40 $\mu\text{g/ml}$ のフェノール標準溶液について試験を行ったところ、良好な直線性が得られた(図 2)。

ゴムの試験溶液は、シリコンゴムを除いて水と同じか弱アルカリ性²⁾、そしてシリコンゴムは酸性を示すものがあると報告されている³⁾。そこで、試験溶液の液性が 4-アミノアンチピリン法の発色強度に及ぼす影響について検討した。蒸留水に 0.01 M 塩酸水溶液もしくは 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液を適宜加え、pH 3.0~11.3 に調整した水溶液にそれぞれ 5 $\mu\text{g/ml}$ となるようにフェノールを添加し、発色強度を比較した。その結果、図 3 に示したように、pH 3.0~8.5 では発色強度は一定であったが、pH 8.5 を超えると強度が低下する傾向が見られた。よって、酸性の場合は問題ないが、溶出液が強いアルカリ性を示した場合は注意が必要である。

そこで、4-アミノアンチピリン法が適用されているゴム製品(シリコンゴム製 2 試料、イソプレングム、エチレンプロピレングム、ニトリルゴム)と、トリブロモ法が適用されているメラミン樹脂(2 試料)、フェノール樹脂(2 試料)及び乳飲料の金属缶(2 試料)の溶出液の pH を測定した。その結果、ゴム製品の pH は 6.2~7.0、その他の試料は pH 5.9~7.9 と全てがほぼ中性であり、強い酸性及びアルカリ性を示す試料はなかった。

この内、4 試料について 4-アミノアンチピリン法で添加回収試験を行った(表 2)。4 試料とも、無添加時は検出限界未満(1 $\mu\text{g/ml}$ 未満)であった。それぞれ 5 及び 25 $\mu\text{g/ml}$ となるよ

うに添加したときの回収率は、99~109%及び95~102%と良好であった。

D. 結論

トリブロモ法は検出感度が悪く、反応終結に時間がかかる。その上劇物に指定されている臭素を使用するので、クリーンアナリシスの観点からも好ましくない。今回我々は、トリブロモ法を感度の良い4-アミノアンチピリン法に代替可能か検討を行った。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が溶解しないことから、適切な緩衝液の濃度について検討した。

- ① トリブロモ法及び4-アミノアンチピリン法の検出感度はそれぞれ25及び1 µg/mlであった。また、4-アミノアンチピリン法では1~40 µg/mlの範囲で検量線に直線性が得られた。
- ② 4-アミノアンチピリン法が適用されているゴム製品、トリブロモ法が適用されているホルムアルデヒドを製造原料とする合成樹脂及び発酵乳用等の合成樹脂塗装した金属缶について、4-アミノアンチピリン法で添加回収試験を行ったところ、回収率は、95~109%と良好であった。
- ③ 4-アミノアンチピリン法に適切なホウ酸緩衝液濃度を検討したところ、ともに0.1Mの第1液、2液を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。

以上より、トリブロモ法をそのまま4-アミノアンチピリン法に代替することは問題ないと考えられる。但し、ホルムアルデヒドを製造原料とする器具・容器包装におけるフェノールの規格基準は帯黄白色の沈殿を生じてはならないとしているが、これはほぼフェノール25 ppmに相当する。そこで、基準値を「検出してはならない」から、25 ppm以下またはゴム製器具・容器包装と同様に5 ppm以下に変更することが

必要と考えられる。

さらに、フェリシアン化カリウム試液の調製に用いる強アンモニア試液は、アンモニアを約28%含むアンモニア水を指している。しかし、強アンモニア試液という名称は、器具・容器包装や添加物の規格基準の試液の項には記載されておらず、添加物等の他の試験法ではアンモニア水と記載されている。よって、本試験法においても、記載をアンモニア水に変える必要がある。

E. 参考文献

- 1) 厚生省告示第370号、食品・添加物等の規格基準、昭和34年12月28日
- 2) 馬場二夫、楠本一枝、水谷泰久：食品衛生学雑誌、20 (5)、396-401 (1979)
- 3) 馬場二夫、楠本一枝、水谷泰久：食品衛生学雑誌、20 (5)、332-337 (1979)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 六鹿元雄、河村葉子、渡辺悠二、米谷民雄、食品衛生学雑誌、44、26-31 (2003)

2. 学会発表

- 1) 金子令子、船山恵市、羽石奈穂子、鎌田国広：日本食品衛生学会第84回学術講演会 (2002. 11)
- 2) 柿本幸子、池辺克彦、堀伸二郎：日本食品衛生学会第85回学術講演会 (2003. 5)

H. 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

表1 トリブロモ法による試験法の感度

		フェノール (μg/ml)						
		20	25	30	35	40	45	50
判定		陰性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性

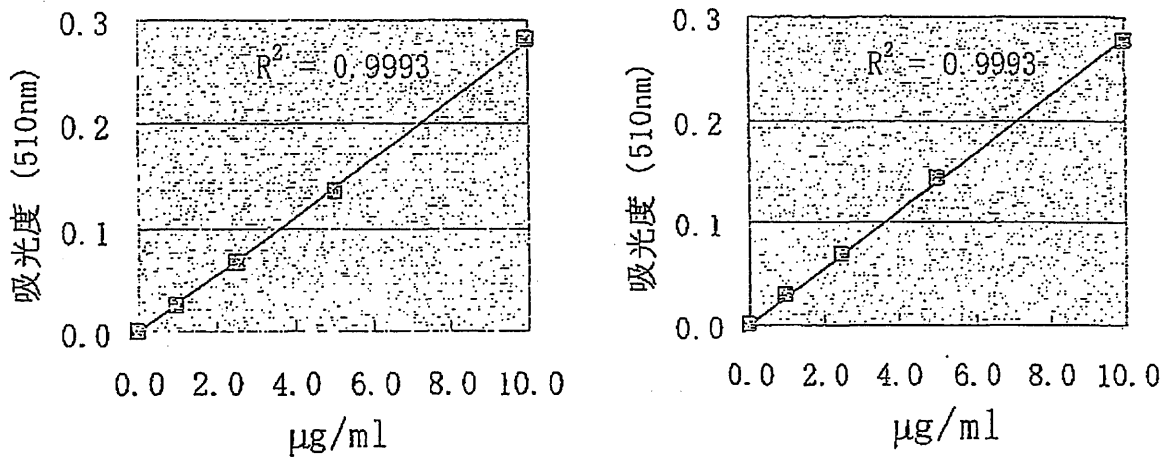


図1 緩衝液-2 (左) 及び3 (右) を用いた時の4-アミノアンチピリン法による検量線

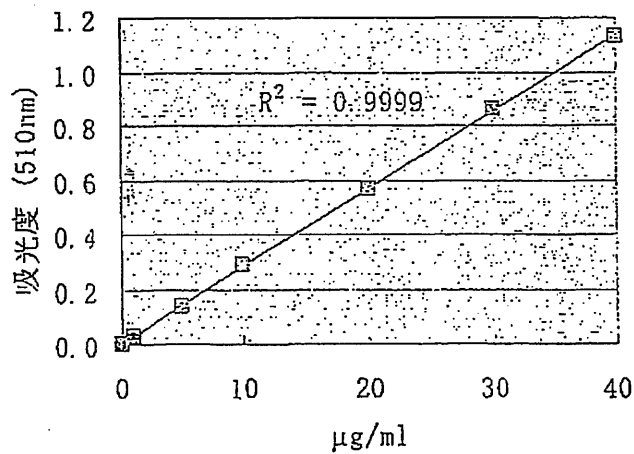


図2 緩衝液-3を用いた時の4-アミノアンチピリン法による検量線

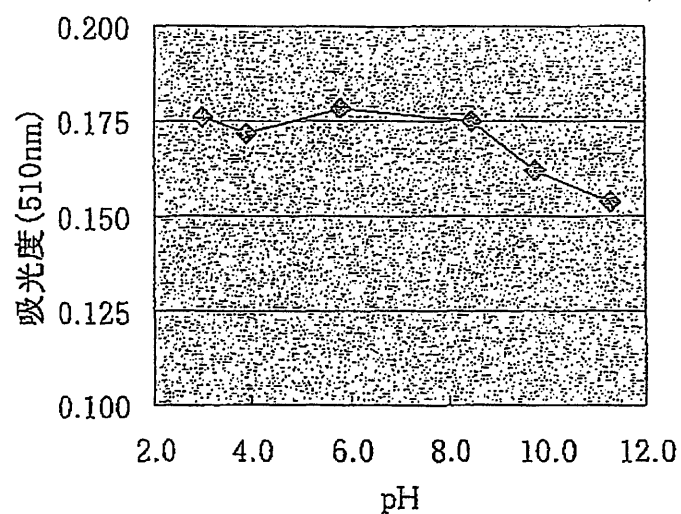


図3 異なるpHの水溶液を用いた時の4-アミノアンチピリン法における発色強度

表2 4-アミノアンチピリン法によるフェノールの添加回収率

試料	添加量 ($\mu\text{g/ml}$)	添加回収率 (%)
シリコンゴム 乳首	5	99 \pm 1.6
	25	95 \pm 1.5
メラミン樹脂 飯椀	5	101 \pm 8.0
	25	101 \pm 4.9
フェノール樹脂 汁椀	5	109 \pm 2.0
	25	102 \pm 1.7
乳飲料金属缶	5	109 \pm 3.1
	25	101 \pm 5.8

n=3, 平均値 \pm SD

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

器具・容器包装の規格試験の精度向上に関する研究

分担研究者 荻野 周三 東京都健康安全研究センター

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、化審法等の規制対象の有害試験薬を使用するもの、検出感度や回収率など分析精度に問題があるものなどがあり、現在の科学水準に基づいた、高精度で安全性に優れしかも簡便な代替法や改良法の開発が求められている。そこで合成樹脂製器具・容器包装の個別規格のうち、ポリ塩化ビニル材質中の塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン材質中の塩化ビニリデン及びポリスチレン材質中の揮発性物質の各材質試験とナイロンからのカプロラクタム、ポリメタクリル酸メチルからのメタクリル酸メチルの各溶出試験について代替法及び改良法の検討を行った。

ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデンはそれぞれ塩化ビニルと塩化ビニリデンを原料モノマーとし、それらを重合させて製造されるが、その過程で未反応のモノマーが製品中に残存することがある。これらのモノマーは発がん性が認められ、もしくは疑われていることから、食品衛生法ではポリ塩化ビニル中の塩化ビニルの残存量を 1ppm 以下、ポリ塩化ビニリデン中の塩化ビニリデンを 6ppm 以下に規制している。いずれの規格試験法もパックドカラムを用いたガスクロマトグラフ(GC)法を採用しており、現在普及しているキャピラリーカラムを用いた GC 法に比較して測定感度やピークの分離性能が劣っている。また、溶解した樹脂を直接 GC に注入することから、カラムの汚染や劣化の可能性があり、さらに塩化ビニリデンにおいては、オゾン層破壊物質に指定され、生産が全廃されたために入手が困難な四塩化炭素を溶媒に用いている。そこで、これらの規格試験法の代替法として樹脂を *N,N*-ジメチルアセトアミド(DMA)に溶解し、キャピラリーカラムを用いたヘッドスペース法で分析したところ、両化合物が同じ条件で、しかもきょう雑成分の影響を受けずに良好な添加回収率で再現性良く測定することができた。検出器に水素炎イオン化検出器を用いた場合の定量限界は塩化ビニルが 0.1ppm、塩化ビニリデンが 0.6ppm といずれも基準値の 1/10 まで測定可能であった。なお、質量分析計を検出器に用いた場合は測定感度がさらに 10 倍向上し、しかもピークの確認が可能であった。

ポリスチレンには未反応のスチレンや原料由来の不純物が含まれることが知られており、食品衛生法ではスチレンを含む揮発性物質(スチレン、トルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン、*n*-プロピルベンゼン)の残存量を規制している。規格試験法はパックドカラムを用いた GC 直接注入法を採用しているが、パックドカラムは現在多くの試験研究機関で使用されているキャピラリーカラムに比べて分離性能が劣り、きょう雑成分の妨害を受けやすい。そこで、パックドカラムとキャピラリーカラムの両者を用い、定量限界、絶対検量線法及び内標準法による添加回収率について比較検討した。また、規格試験法では *N,N*-ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解した樹脂を GC に直接注入する方法を採用している。本法は簡便であるが、注入口やカラムへのポリマーの残存などが問題になる可能性があることから、代替法としてのヘッドスペース法と直接注入法間での検出感度、回収率及び繰り返し測定精度についても比較検討した。規格試験