

＜その2＞ポリスチレン材質試験における揮発性物質試験法の検討

協力研究者 尾崎麻子、大嶋智子、藤田忠雄 大阪市立環境科学研究所

金子令子、船山恵市、羽石奈穂子 東京都健康安全研究センター

A. 研究目的

ポリスチレン (PS) は、食品トレーやカップ等をはじめとして食品用器具・容器包装に広く使用されている。ポリスチレンの材質中には未反応のスチレンや原料中の不純物が含まれてい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) の試験法と材質中の濃度を規定している。

この試験法は、試料を溶解したのち、パックドカラムを装着したガスクロマトグラフ (GC) に直接導入するものである。しかし、キャピラリーカラムの方が分解能が高く、どの GC にでも装着でき汎用性が高いことから、現在では多くの試験研究機関でパックドカラムにかわりキャピラリーカラムが用いられている。

また、公定法は試料を *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) で溶解し、内部標準物質としてシクロペンタノール溶液を加えたものを試験溶液とし、GC に導入する (直接注入法)。本法は簡便だが、注入口やカラムへのポリマーの残存や、シクロペンタノールのピークがブロードになることなどが分析上の問題となっている。そこで、今回直接注入法及びヘッドスペース法によるキャピラリーカラムを用いた試験法を検討したので報告する。

B. 研究方法

1. 試料

PS 製の食品用器具・容器 10 試料を用いた。

2. 試薬

トルエン (TO)、スチレン (S)、*n*-プロピルベンゼン (NPB)、エチルベンゼン (EB)、イソプロピルベンゼン (IPB)、DEB : 東京化成工業㈱製、和光純薬㈱製、キシダ化学㈱製

テトラヒドロフラン (THF) : 高速液体クロマトグラフ用、関東化学㈱製

DMF : 試薬特級、米山薬品工業㈱製

3. 標準溶液

(1) 公定法

標準溶液 : TO、S、NPB、EB 及び IPB はそれぞれ 2,000 $\mu\text{g/mL}$ の DMF 溶液を個別に調製し、それぞれ 1~125 $\mu\text{g/mL}$ となるように DMF で混合、希釈して標準混合溶液を調製した。また添加回収試験用に各 1,800 $\mu\text{g/mL}$ の DMF 標準混合溶液を調製した。

(2) 直接注入法 (キャピラリーカラム)

標準溶液 : TO、S、NPB、EB 及び IPB はそれぞれ 2,000 $\mu\text{g/mL}$ の THF 溶液を個別に調製して標準原液とし、それぞれ 1~125 $\mu\text{g/mL}$ となるように THF で混合、希釈して標準混合溶液を調製した。

内部標準溶液 : DEB は 1 $\mu\text{L/mL}$ の THF 溶液を調製した。

但し、DMF 溶液との比較時は、THF をすべて DMF でおきかえた標準溶液および内部標準溶液を調製した。

(3) ヘッドスペース法

標準溶液：TO、S、NPB、EB 及び IPB はそれぞれ 1,000 $\mu\text{g/mL}$ の DMF 溶液を個別に調製し、それぞれ 4~100 $\mu\text{g/mL}$ となるように DMF で混合、希釈して標準混合溶液を調製した。

内部標準溶液：DEB は 250 $\mu\text{g/mL}$ の DMF 溶液を調製した。

4. 装置

(1) 公定法

ガスクロマトグラフ：島津製作所製 GC-9A (FID 付き)

(2) 直接注入法 (キャピラリーカラム)

ガスクロマトグラフ：Hewlett Packard 社製 HP-6890 (FID、ケミステーション付き)

(3) ヘッドスペース法

ガスクロマトグラフ：Hewlett Packard 社製 HP-5890A (FID、ケミステーション付き)

ホットブロックバス：ADVANTEC 社製 TPB-32

5. GC 測定条件

(1) 公定法

カラム：25%ポリエチレングリコール 20M/ユニポート HP60-80 メッシュ (3 mm i.d. \times 2.1 m、ガラスカラム)

カラム温度：110 $^{\circ}\text{C}$ (12 min) \rightarrow 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 150 $^{\circ}\text{C}$ (8 min)

注入口温度：230 $^{\circ}\text{C}$

検出器温度：230 $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：He (43 mL/min)

注入量：3 μL

(2) 直接注入法 (キャピラリーカラム)

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

カラム温度：60 $^{\circ}\text{C}$ \rightarrow 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 100 $^{\circ}\text{C}$ \rightarrow 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 150 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)

注入口温度：220 $^{\circ}\text{C}$

検出器温度：220 $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：He (1.2 mL/min)

注入モード：スプリット (スプリット比 30 : 1)

注入量：1 μL

(3) ヘッドスペース法

下記以外は(2)直接注入法(キャピラリーカラム)と同じ。

キャリアーガス：He (1.5 mL/min)

注入モード：スプリット (スプリット比 33 : 1)

注入量：0.5 mL

6. 試験溶液の調製

(1) 公定法

20 mL のメスフラスコに細切した試料 1.0 g を正確にはかり取り、DMF を加え 20 mL としたものを試験溶液とした。

(2) 直接注入法 (キャピラリーカラム)

20 mL のメスフラスコに細切した試料 1.0 g を正確にはかり取り、内部標準溶液 1 mL を加え、DMF または THF を加え 20 mL としたものを試験溶液とした。

(3) ヘッドスペース法

細切した試料 0.20 g をバイアル瓶に正確にはかり取り、DMF 1.0 mL 及び内部標準溶液 0.5 mL を加えて密栓した。試料が完全に溶解した後に、90 $^{\circ}\text{C}$ のホットブロックバス中で 60 分間加熱した。バイアル瓶を軽く揺り混ぜた後、ホットブロックバス中で加温したプレッシャーロックシリンジを用いて気相 0.5 mL を抜き取り、ガスクロマトグラフに注入した。

C. 研究結果

1. 公定法

(1) 検量線の作成

絶対検量線法で検量線を作成した。その結果、5化合物全て2~125 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で原点を通る直線性のよい検量線が得られた。検量線の相関係数は、全ての化合物において0.999以上と良好であった。また、材質中の各揮発性物質の定量下限は40 $\mu\text{g/g}$ であった。

(2) 添加回収試験

20 mLのメスフラスコにPS試料1.0 gを正確にはかり取り、1800 $\mu\text{g/mL}$ の標準混合溶液1.0 mLを加え、DMFで定容とした試験溶液をGCに直接注入したときの回収率は89~99%と良好であった(表1)。

2. 直接注入法(キャピラリーカラム)

(1) 試験溶液の溶媒の検討

公定法はPSをDMFに溶解したものを試験溶液として、パックドカラムに直接注入して測定を行っている。そこで公定法に準じてDMFに溶解した100 $\mu\text{g/mL}$ 標準溶液をキャピラリーカラムに注入したところ、図1のガスクロマトグラムが得られた。ピークの形状は保持時間が長いものほどブロードとなり、5回繰り返したときの標準溶液のピーク面積の変動係数(CV%)は5化合物で1.5~2.7%であった。これはDMFの沸点が153°Cと高く、注入口において短時間で気化しにくく、溶媒中の揮発性物質も短時間で気化できないためと考えられた。

そこでPSに対して溶解能があり、沸点が66°Cと低いTHFを溶媒とした標準溶液を注入し、得られたガスクロマトグラムを図2に示した。その結果、5化合物の面積値がほぼ同じであり、ピーク形状が良好な再現

性のよい(CV% 0.1~0.6(n=5))ガスクロマトグラムが得られた。また、公定法で内部標準物質として採用されているシクロペンタノールは、ピーク高さが低くブロードになることや、形状が変化することが報告されている^{1,2)}が、DEBはピークがシャープで、揮発性物質及び溶媒との分離も良好であった。試料に標準物質を添加して11回連続測定を行った場合でも、5化合物のCV%は0.3~1.2%と良好であった(表2)。なお、試料を溶媒に溶解したときの粘性がDMFよりTHFの方が低いことから、オートサンプラーの使用も可能であった。

以上のことから直接注入法では試験溶液の溶媒としてDMFではなくTHFを、内部標準物質としてDEBを用いることにより、再現性のよい良好な測定を行うことができた。

(2) 検量線の作成

ピーク面積による絶対検量線法と、内部標準物質に対する面積比による内部標準法の検量線を作成した。その結果、いずれの方法でも5化合物全て1~125 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で原点を通る直線性のよい検量線が得られ、相関係数は0.998以上と良好であった。また、材質中の各揮発性物質の定量下限は20 $\mu\text{g/g}$ であった。

(3) 添加回収試験

20 mLのメスフラスコにPS試料1.0 gを正確にはかり取り、2,000 $\mu\text{g/mL}$ の標準原液各1.0 mLを加え、THFで定容とした試験溶液をGCに直接注入したときの回収率は、絶対検量線法で83~94%、内部標準法では96~102%といずれも方法も良好な回収率が得られたが、バラつき等も含めて、内部標準法の方がやや優れていた(表3)。

3. ヘッドスペース法

(1) 加熱時間の検討

試料をヘッドスペース法で測定する際には、試料に DMF を加え溶解した後に加熱を行う。そこでその加熱時間を検討するために、標準溶液を 15 分～90 分加熱したのちガスクロマトグラフで測定した。そのときの各揮発性物質のピーク面積および内部標準物質 (DEB) に対する面積比を図 3 に示す。その結果、全ての化合物において、加熱後 15 分から 30 分までピーク面積は急激に増加し、その後 30 分以降 90 分までほぼ同じ傾向でゆるやかに増加した。杉田ら¹⁾は、加熱時間を 60 分間としているが、今回の検討においても、加熱後 60 分間で揮発性物質がほぼ平衡に達したと考えられることから、加熱時間を 60 分とした。

次に、9 回の連続測定を行い変動をみた (表 4)。ピーク面積の CV% は、T0 が最も小さく、ガスクロマトグラムの保持時間が長いほど大きくなる傾向が見られた。

また、内部標準物質に対する面積比の CV% は、内部標準物質に保持時間が近い S で最も小さく、保持時間が離れるにつれて変動係数が大きくなる傾向が見られた。T0 を除く 4 化合物においては、内部標準物質に対する面積比の CV% が、ピーク面積の CV% よりも小さかった。

なお、PS を溶解するのに用いた DMF の沸点は 153℃であり、バイアル加熱温度 (90℃) や各揮発性物質の沸点 (111℃～145℃) よりも高く本ヘッドスペース法に相当であった。一方、THF の沸点は 66℃と低い。THF を溶媒に用いるとバイアル内部の圧力が過度に上昇し、揮発性物質が充分気化しない可能性があるため、本ヘッドスペース法の溶媒としては不相当と判断した。

(2) 検量線の作成

絶対検量線法及び内部標準法の検量線を作成した結果、両方法ともに 4～100 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性のある検量線が得られた。両方法における検量線の相関係数は、全ての化合物において 0.996 以上と良好であった。ガスクロマトグラムを図 4 に示した。

(3) 添加回収試験

PS 試料 0.20 g をバイアル瓶に正確にはかり取り、50 $\mu\text{g/mL}$ の標準混合溶液 1.0 mL 及び DEB 溶液 0.5 mL を加えて、ヘッドスペース法により操作したときの回収率は、絶対検量線法で 96～112%、内部標準法では 95～100% といずれも良好であった (表 5)。また、材質中の各揮発性物質の定量下限は 20 $\mu\text{g/g}$ であった。

4. 公定法、直接注入法 (キャピラリーカラム) 及びヘッドスペース法の試料への適用とその比較

パックドカラムへの直接注入を行う公定法および今回検討した直接注入法 (キャピラリーカラム) とヘッドスペース法 (キャピラリーカラム) を用いて、PS 製の小皿、コップ、菓子容器等 10 試料の揮発性物質の残存量を測定した (表 6)。S は全ての試料から 220～1,800 $\mu\text{g/g}$ 、EB は No. 3 を除く全ての試料から 28～360 $\mu\text{g/g}$ 検出された。T0、IPB 及び NPB はそれぞれ 1 試料、7 試料及び 5 試料から検出されたが、いずれも 100 $\mu\text{g/g}$ 以下であった。食品衛生法では、PS 製品に残存する揮発性物質の合計を 5,000 $\mu\text{g/g}$ 以下と定め、さらに熱湯を用いる発泡 PS 製品については、合計 2,000 $\mu\text{g/g}$ 以下で、かつ S 及び EB がそれぞれ 1,000 $\mu\text{g/g}$ 以下と定めている。今回測定した PS 試料は、全て基準を満たしていた。

また、各揮発性物質の測定値は、直接注入法（キャピラリーカラム）とヘッドスペース法においてほぼ同等であり、いずれにおいても絶対検量線法と内部標準法にも差がみられなかった。

しかし、これらの試験法と公定法を比較すると、大半の試料ではほぼ同等の結果が得られたが、No. 5、9、10 では大きな相違が見られた。これらの試料で、パックドカラム法の測定値が他の2法より大幅に高かったことから、3 試行として再度測定したが、やはり高い測定値が得られた。検出された化合物はEB、IPB およびSであり、いずれもパックドカラムで高かったが、特にEBは2~6倍と著しく高い値を示した。そこでそれらのクロマトグラムのピークを詳細に検討したところ（図5）、キャピラリーカラムではEBのすぐ後ろに2本のきょう雑ピークが存在し、Sの近くにも見られた。一方、パックドカラムでは分離能が悪いためピークがブロードとなり、EBは隣接するきょう雑成分ピークの肩部分として認められ、これらを含めて測定されたために数倍という高い測定値が得られたと考えられる。また、Sもきょう雑ピークを含んでいる可能性が高い。

このようにパックドカラムでは分離が悪いためきょう雑ピークの面積値が合算されるために大きい値となることが推測された。キャピラリーカラムでは、図5に示したようにEBのピークは明確に分離しており、No. 5 および 10 のクロマトグラムにおいても同様であった。このように揮発性物質の正確な測定値を得るためにはキャピラリーカラムによる分離が必要不可欠であることが明らかとなった。

一方、キャピラリーカラムを用いた直接

注入法とヘッドスペース法を比較すると、いずれの化合物もほぼ一致した測定値が得られた。ヘッドスペース法は試料を溶解した後に加熱する必要があるのに対し、直接注入法は溶解後GCへ導入するため簡便性が高い。そのため、技術の習熟も必要がない。また関与するファクターが少ないことからまた、直接注入法における変動係数がヘッドスペース法よりも優れていた。

一方、これらの方法において絶対検量線法および内部標準法を比較するとどちらでも良好に測定することができるが、公定法で内部標準法を採用していることや、内部標準法の方が、直接注入法ではバラつきが、ヘッドスペース法では回収率が若干優れていた。なお、内部標準物質としては、ピーク形状が良好で再現性のよいDEBを用いることが望ましい。

以上のことから、揮発性物質を正確に測定するためには現在のパックドカラムを用いた公定法をキャピラリーカラム法に代替する必要がある。キャピラリーカラムを用いた場合、直接注入法、ヘッドスペース法のどちらでも同等に測定できるが、簡便性、再現性等から、公定法としては直接注入法（キャピラリーカラム）の内部標準法が適当と考えられる。よって、代替試験法としては直接注入法が適当であると考えられるが、直接注入法は注入口部分のポリマー付着による汚染を避けることができない。そのためこまめに注入口のインサートを交換することが必要である。特にGC/MSで測定を行う場合には検出器も汚染する可能性があり、ヘッドスペース法の方が望ましい。

D. 結論

公定法ではきょう雑ピークとの分離が不十分なため測定値を高く誤認する可能性があったが、キャピラリーカラムを用いた場合、直接注入法およびヘッドスペース法のどちらでも正確に測定できることが確認された。しかし、直接注入法が簡便性と再現性の点でより優れていたことより、代替試験法としては直接注入法が適当であると考えられた。

- ① 直接注入法 (キャピラリーカラム) は試料溶解溶媒に THF を用いることにより、より良好なピーク形状及び変動係数が得られた。標準溶液を用いた検量線では 1~125 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で原点を通るよい直線性が得られ、各揮発性物質の定量下限は 20 $\mu\text{g/g}$ であった。また、THF の粘性が少なかったことから、オートサンプラーの使用も可能であった。
- ② PS 製品 10 試料をパックドカラム法およびキャピラリーカラム法で測定したところ、パックドカラム法では、3 試料において EB が隣接するきょう雑成分ピー

クの肩部分として認められ、これらを含めて定量されたためにキャピラリーカラム法の数倍という高い測定値を示した。

- ③ 内部標準物質に DEB を用いることにより、良好な検量線および添加回収率 [直接注入法 (キャピラリーカラム) : 96~102%] が得られた。

以上のことから、ポリスチレン材質試験における揮発性物質試験法は、現行のパックドカラムからキャピラリーカラムを用いる測定法に、試料を溶解する溶媒はジメチルホルムアミドからテトラヒドロフランに、内部標準物質はシクロペンタノールから *p*-ジエチルベンゼンに変更することが必要である。

E. 参考文献

- 1) 杉田たき子、石綿肇、河村葉子、馬場二夫、梅原龍海、森田茂、山田隆：食品衛生学雑誌、36 (2)、263-268 (1995)
- 2) 日高公雄：食品衛生学雑誌、22 (6)、536-538 (1981)