

平成 13 年度厚生科学研究費補助金生活安全総合研究事業

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 14 (2002) 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 鎌田 国広 東京都立衛生研究所

分担研究者 外海 泰秀 国立医薬品食品衛生研究所

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、回収率や再現性に問題があり精度管理に適合困難なもの、規制されている有害試薬を使用しているもの、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クレゾールリン酸エステル（TCP）の材質試験法、合成樹脂一般規格のカドミウム及び鉛試験法及び合成樹脂一般規格の重金属試験について検討を行った。

クレゾールリン酸エステル（TCP）は、ポリ塩化ビニル（PVC）の可塑剤として食品以外の用途には使用されているが、毒性が強いことから食品衛生法では PVC 材質中に 1,000 ppm 以下と定めている。その規格試験法は TCP を加水分解してクレゾールとして測定しているが、有害試薬である四塩化炭素を使用しており、しかも操作が煩雑で回収率や再現性に問題がある。そこで TCP を分解せず直接分析する方法を検討した。TCP 標準品を GC/MS で測定したところ、*m* 及び *p*-クレゾールからなる 4 種類の異性体混合物であったが、個別の標準品は入手できない。そこで各異性体の検出感度がほぼ等しい HPLC-UV を用いる測定条件を検討したところ、Inertsil Ph-3 により異性体混合物を 1 本のピークとして検出できた。さらに試料中の他の可塑剤を除去するため、固相抽出カラムによる TCP の精製についても検討し、Sep-Pak Plus C18 により良好な分離が得られた。これらの結果から以下の試験法を確立した。細切または粉碎した試料をアセトニトリルで 37℃一晩抽出後濃縮し、アセトニトリル-水（1：1）溶液として固相抽出カラムに負荷し、アセトニトリル-水（2：1）で溶離し、HPLC-UV で測定した。本法について添加回収試験を行ったところ、ラップフィルム、手袋、容器等において 80%以上の良好な回収率が得られた。

次に、合成樹脂製の器具又は容器包装一般規格材質試験のカドミウムおよび鉛の規格において、塩酸処理した試料では高濃度の鉛が検出されるのに、公定法ではその 1/10 の測定値しか得られない事例が生じた。食品衛生法では、材質中のカドミウム及び鉛を 100 ppm 以上含有してはならないとし、その規格試験法は試料に硫酸を加え 450℃で乾式灰化後、灰化物を 0.1mol/L 硝酸に溶解し試験溶液とし、原子吸光法またはポーラログラフ法により測定すると定められている。しかし、合成樹脂には着色剤、安定剤、充填剤として無機物を多量に含有するものがあり、灰化時に硫酸を加えることにより無機成分が酸不溶の硫酸塩を生成し、カドミウム及び鉛の測定を妨害したことが推察される。

そこで、合成樹脂に添加される可能性のある無機物質が規格試験法によるカドミウム及び鉛の回収率に及ぼす影響について検討した。カドミウム及び鉛100 μ g に対し各種金属 1,000 μ g を添加し回収率を求めた結果、バリウム添加で鉛の回収率が著しく影響を受け、13%と大幅に回収率が低下することが認められた。また、アルミニウム、バリウム添加でカドミウムの回収率が97%、90%、チタン、アルミニウム、ケイ素添加で鉛の回収率が95%、94%、77%と若干低下した。そこで種々検討したところ、簡便な塩酸処理を追加することにより、回収率をカドミウムでは100%、鉛では80%以上に改善することができた。これらの結果から、規格試験法と同様の操作で灰化後、沈殿物の影響を除去するために塩酸15~20mlを加えかき混ぜて、水浴上で蒸発乾固し、冷後0.1mol/Lの硝酸に溶解し試験溶液を調製する方法を確立した。そこで、規格試験法と本法について、バリウム含有の市販ストローを用いてカドミウム及び鉛の添加回収試験を行ったところ、規格試験法では鉛の回収率が9~18%と極めて低かったが、本法では80~89%と良好な回収率が得られ、共存する無機物質の影響を受けない精度のよい分析法を確立することができた。また、規格試験法にはポーラログラフ法が併記されているが、有害試薬である水銀を用いることから削除することが望ましい。

一方、合成樹脂製及びゴム製器具及び容器包装の一般規格の溶出試験として、重金属試験が設定されているが、この試験は「添加物の規格基準」に準拠するように指示されている。ところが「添加物の規格基準」の重金属試験法を実施するためには、操作法の種類、鉛標準溶液の使用量及び試験溶液の採取量等を規定しておく必要があるが、それらが「器具・容器包装の規格基準」では示されておらず、現状では試験が困難である。そこで、現行及びこれまでの「食品、添加物等の規格基準」について調査を行い、「器具及び容器包装の規格基準」における重金属試験の変遷及び問題の経緯を明らかにした。その結果、不足事項を追加するだけでなく、重金属試験法を器具・容器包装の規格基準の中に記載するといった抜本的な改正が必要であると考えられる。

研究協力者

金子 令子	東京都立衛生研究所	川井 信子	大阪市立環境科学研究所
船山 恵市	東京都立衛生研究所	山口 之彦	大阪市立環境科学研究所
羽石奈穂子	東京都立衛生研究所	尾崎 麻子	大阪市立環境科学研究所
河村 葉子	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
六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所	鈴木 昌子	名古屋市衛生研究所
渡辺 悠二	財)化学技術戦略推進機構		
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		

<その1>ポリ塩化ビニルにおけるクレゾールリン酸エステル試験法の改良

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 渡辺悠二 財)化学技術戦略推進機構

A. 研究目的

クレゾールリン酸エステル(TCP)は、リン酸トリクレジル、トリクレジールフォスフェートとも呼ばれ、3個のクレゾールとリン酸とのエステル体である(CAS No. 1330-78-5)。クレゾールにオルト(*o*)、メタ(*m*)、パラ(*p*)体が存在するため、工業品は異性体の混合物として流通している。不燃性、柔軟性、耐水性、耐熱性があり、ポリ塩化ビニルの耐候性、難燃性に優れた可塑剤として電線被覆、農業用ビニル、建材などに用いられている。

しかし、TCPは毒性があり、大量摂取した場合、悪心、嘔吐、腹痛、下痢などがみられ、その後遅延性の末梢及び中枢神経症状が発症する。特に*o*-クレゾール体は毒性が強いことで知られる。ヒトの場合1~2 g程度の経口摂取で自覚症状がみられ、マウスLD₅₀は*o*-体の含有量により、2.4 g/kg体重(37%含有)及び7.5 g/kg体重(1.1%含有)と報告されている。

そのため、食品衛生法ではTCPをポリ塩化ビニルの材質中に1,000 ppm以下と定めている。この規格値は有効使用量の数百分の1程度で可塑剤としての効果が期待できない量である。測定の簡便性のために設定された数値であり、実質的には使用禁止を意味する。

食品衛生法で定める規格試験は、TCPを加水分解してクレゾールとし、ガスクロマトグラフィーで測定している。この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上に、抽出に4時間、アルカリ分解に2時間の還流を行い、その後液液分配を行

うなど、操作が煩雑で長時間を要する。また、定性、定量に用いるクレゾール標準溶液の異性体混合比が実際の製品とは一致していない。また、この試験法の回収率や再現性等が必ずしもよくない。

そこで、TCPを加水分解することなく直接分析することにより、四塩化炭素を使用せず、しかも簡便で精度の高い試験法を確立することを目的とした。

B. 研究方法

1. 試料

ポリ塩化ビニル無添加パウダー

ポリ塩化ビニル製手袋、ラップフィルム、ソフトトイ、容器、パイプ

ポリ塩化ビニル製クレゾールリン酸エステル含有シート(厚さ 3 mm) : TCP添加量が3.1、6.1及び8.8%の3種類、特注品、

2. 試薬

クレゾールリン酸エステル(リン酸トリクレジル、TCP)(異性体混合物) : 東京化成工業(株)製、アルドリッチ社製(純度90%以上)、和光純薬工業(株)製(TLCにより純度98%以上)

リン酸-*o*-トリクレジル(*o, o, o*-TCP) : GCにより純度96%以上、東京化成工業(株)製

リン酸-*m*-トリクレジル(*m, m, m*-TCP) : 純度97%以上、ACROS ORGANICS社製

リン酸-*p*-トリクレジル(*p, p, p*-TCP) : 純度98%以上、ACROS ORGANICS社製

リン酸ジフェニル2-エチルヘキシル : 東京化成工業(株)製

リン酸ジフェニルクレジル(異性体混合

物)：東京化成工業(株)製

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

アセトニトリル：HPLC用、シグマアルドリッチジャパン(株)製

水：MILLI-Q SP (Millipore社製)により精製した超純水

固相抽出カートリッジ：Sep-Pak Plus C18 (360 mg)、OASIS HLB (60 mg) 以上 Waters社製、GL-Pak PLS-2 (270 mg) ジーエルサイエンス製

フィルター：サンプレッPLCR 13-LH (孔径 0.5 mm、直径13 mm) Millipore社製

3. 装置

高速液体クロマトグラフ(HPLC)：ポンプ LC-10AD、紫外可視検出器 SPD-10AVvp、カラムオープン CTO-10A、コントローラー SCL-10A、データ処理装置 C-R7A plus 以上 島津製作所製

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 6890、質量分析計 5973 N 以上Agilent社製、コンピューター Vectra VL、Hewlett Packard社製

減圧遠心濃縮器：CVE-100 東京理化工機(株)製

4. GC/MS測定条件

カラム：キャピラリーカラム DB-1 (内径 0.25 mm、長さ15 m、膜厚 0.1 mm) J&W Scientific社製

カラム温度：50°C-20°C/min-300°C (10 min)

注入口温度：250°C

インレット温度：280°C

キャリアガス：He、3 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

イオン加速電圧：1.8 kV

測定モード：スキャン

スキャンレンジ： m/z 40~700

5. HPLC測定条件

カラム：Inertsil Ph-3 (4.6 mm i.d. \times 250 mm) ジーエルサイエンス製

ガードカラム：ステンレスカラム(1.0 mm i.d. \times 45 mm) にWhatman社製ODSゲルを充てんしたもの

移動相：65%アセトニトリル/水

カラム温度：50°C

注入量：20 μ L

検出器：UV (264 nm)

6. 試験溶液の調製

試料0.5 gを細切または粉碎後にアセトニトリル15 mLを加え、37°Cで一晩放置した。ろ過及び濃縮後、アセトニトリルを加え10 mLとした。その2 mLに水2 mLを加えたものを、固相抽出カートリッジ Sep-Pak Plus C18 (アセトニトリル5 mL及びアセトニトリル-水(1:1) 5 mLでコンディショニング後)に負荷した。アセトニトリル-水(1:1) 5 mLで洗浄した後、アセトニトリル-水(2:1)で溶出し、溶出液を10 mLに定容して試験溶液とした。

7. 添加回収試験

細切または粉碎した試料 0.5 gを精秤し、TCPアセトン溶液を1,000 ppmとなるように添加し、30分放置後、本法に従い試験操作を行った。

C. 研究結果及び考察

1. クレゾールリン酸エステル標準品

TCP標準品のアセトン溶液をGC/MSで測定したところ、図1に示すように、9.07分にメインピーク、8.96及び9.17分にその1/2程度のピーク、9.26分に1/8程度のピークの4本のピークが検出された。

一方、単一のクレゾールからなる *o,o,o*-

TCP、*m, m, m*-TCP及び *p, p, p*-TCPをGC/MSで測定したところ、いずれも単一ピークを示し、図2に示すようなマススペクトル及び保持時間であった。

保持時間及びマススペクトルから、TCP標準品の4本のピークのうち、8.96分は *m, m, m*-TCP、9.26分は *p, p, p*-TCPと同定された。残りの9.07分及び9.17分のピークも類似したマススペクトルを示すことから、*m*-及び *p*-クレゾールからなるTCPと考えられ、保持時間から前者は *m, m, p*-TCP、後者は *m, p, p*-TCPと推定された。

入手した3社の標準品のクロマトグラムはよく一致したパターンを示した。このことから、一般に流通しているTCPは、*m*-体含有量が高い *m*-及び *p*-クレゾール混合物とリン酸との反応生成物であり、*o*-クレゾールを含む異性体は含有していないと推定される。

GC/MSではTCPのピークが4本に分離し、また *m, m, p*-TCP及び *m, p, p*-TCPの標準品が市販されていないことから、HPLCにより1本のピークとしてより簡便に定量する方法を検討した。

2. HPLCによる測定

TCP標準品、*o, o, o*-TCP、*m, m, m*-TCP及び *p, p, p*-TCPのUV吸収のスペクトルを測定したところ、これらはほぼ一致し、214 nm、264 nm及び 271 nmに極大吸収波長を示した(図3)。264 nmよりも214 nmの方が約10倍感度が高いが、フタル酸エステルも強い吸収を示すことから妨害を受けやすいと考えられた。また、264 nmでも十分な検出感度が得られたことからこれを検出波長とした。

HPLCで定量する場合には、すべてのTCP異性体を1本のピークにできれば、定量が簡便でしかも異性体比が異なった場合にも定量が可能となる。そこで、Inertsil Ph-3、

TSKgel Octyl-80Ts及び TSKgel ODS-80Tsの3種類のカラムを用いて、保持時間10分前後にピークが出現するように移動相のアセトニトリル含有量を設定して検討した。表1に示すように、いずれのカラムにおいてもTCP標準品は1本のピークを示した。しかし、TSKgel Octyl-80Ts及びTSKgel ODS-80Tsでは、*o, o, o*-TCPの保持時間が遅く、これが混在する場合には1本のピークとならなかった。一方、Inertsil Ph-3においては各異性体間の保持時間の差が最も少なく、*o, o, o*-体が中間にくることから、*o*-クレゾールを含む異性体が存在しても1本のピークとして出現すると考えられた。そこで、Inertsil Ph-3カラムを使用することとした。

上記の測定条件により、主な異性体の感度をピークの面積又は高さから比較したところ各異性体の感度は標準品に対し *o, o, o*-体、*m, m, m*-体がやや低く、*p, p, p*-体がやや高いことが分かった(表2)。しかし、TCPの主成分である *m*-及び *p*-を含む異性体では検出感度は1.0に近いと推定された。

以上のことから、Inertsil Ph-3カラムを用い、TCPを1本のピークとして定量することとした。

3. 検量線及び定量限界

本測定条件におけるTCP標準品のHPLCクロマトグラムを図4に示した。保持時間は9.3分で、検量線は0.5 ppmから100 ppmの範囲で直線性があり、定量限界0.5 ppm、検出限界0.1 ppmであった(図5)。

4. 他の添加剤の影響

既報¹⁾より本測定条件でTCPと保持時間が近い可能性のある可塑剤6種類について測定したところ、リン酸ジフェニル-2-エチルヘキシル(DPOF)、及びリン酸ジフェニル

レジル(DPCF)の一部がTCPのピークと重なった。これらの化合物をGC/MSで測定したところ、DPOFは保持時間が8.20分、ベースイオンピーク m/z 251でマススペクトルもTCPと大きく異なり、TCPと容易に識別可能であった。一方、DPCFは混合物であるが、GC/MSによりその一部としてTCPを含むことが確認された。すなわち、HPLCで一致したのはTCPそのものであり、DPCFに含まれるTCPについても、もし含有量が高ければ規制の対象となると考えられた。

5. 試験溶液調製法の検討

ポリ塩化ビニルに含有される化合物の調製法としては、抽出法と溶解法があるが、ポリ塩化ビニル中のフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)及びフタル酸ジイソノニル(DINP)の試験法の検討において²⁾、抽出法は軟質ポリ塩化ビニルの可塑剤に対して抽出率が高く、しかも簡便であった。

そこで、PVC製の手袋及びラップフィルムにTCPを添加し抽出率を検討した。抽出溶媒としてアセトン-ヘキサン(3:7)混液とHPLCへの移行が簡便であるアセトニトリルを選択し、比較を行った。各溶媒を加え、37°C一晩放置して抽出を行ったところ、両者とも80%以上の抽出率が得られたが、アセトニトリルでは、ほぼ全量のTCPを抽出することができた。また、TCPを含有するポリ塩化ビニル製シートを用いた場合にもアセトニトリルによりほぼ90%近く抽出できた(表3)。そこで、アセトニトリルによる抽出法を用いることとした。

6. 固相抽出カートリッジによる精製

本法により抽出操作を行うと、抽出液に大量の可塑剤が混入するため、このままHPLCに注入すると、HPLCクロマト上に巨大ピー

クが出現し、これら可塑剤のカラム内への残留による圧力の上昇、保持時間の変化などの問題が生じた。また、TCP測定後、溶媒グラジエントによりこれらの可塑剤を溶出させなければならいため、分析時間も長かかった。

そこで、固相抽出カートリッジによる試験溶液の精製を検討した。Sep-Pak Plus C18, OASIS HLB, GL-Pak PLS-2の3種のカートリッジを用い、アセトニトリル-水によりTCP及び可塑剤を溶出させた。その結果、Sep-Pak Plus C18に負荷してアセトニトリル-水(2:1)10 mLで溶出させると、TCPの回収率は97.6%と良好であり、しかもDEHPやDINPの混入もほとんどみられなかった(表4)。

また、アセトニトリル-水(1:1)5 mLではTCPの溶出が見られなかったことから、抽出液をアセトニトリル-水(1:1)溶液として負荷後、同濃度の混液5 mLで洗浄を行うこととした。

図6に示すように、固相抽出カートリッジ処理により、13分以降にみられた巨大な可塑剤のピークはほぼ消滅し、カラムの圧力上昇や保持時間の変化も解消された。さらに、これまでグラジエントによりアセトニトリル100%で巨大なピーク群を溶出していたが、精製後は65%アセトニトリル/水のコンスタントフローのみで測定可能となり、分析時間が短縮でき、ベースラインもより安定した。

7. 添加回収試験

PVCパウダー、PVC製手袋、ラップフィルム、玩具、容器、パイプについて添加回収試験を行った結果、84.7%~92.6%の良好な回収率が得られた(表5)。また、TCP含有PVCシートについて本法を適用したところ、

3 試料のいずれの試行においてもTCP添加量の80%以上の良好な回収が得られ(表6)、本法がPVC中のTCPの分析法として優れていることが示された。

図7に示すように、各試料のHPLCクロマトグラムにおけるTCP保持時間のベースラインは概ね良好であるが、一部の試料で若干のピークが見られることから、定量限界は試料あたり100 ppmとした。

D. 結論

現在のクレゾールリン酸エステルの公定法は、抽出時に有害試薬である四塩化炭素を使用するという問題を抱えており、しかも還流抽出4時間、還流アルカリ分解2時間、その後の液液分配の工程など試験操作が極めて煩雑で、さらに回収率が十分でない、ばらつきが大きいなどの分析精度の問題も指摘されてきた。

今回開発した直接分析法は、極めて簡便であり、しかも回収率や再現性にも優れ、有用性の高い試験法であると考えられる。

E. 文献

- 1) 河村葉子、互井千恵子、前原玉枝、山田 隆：食品衛生学雑誌、40、189-197 (1999)
- 2) 河村葉子、六鹿元雄、米谷民雄：平成13年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査—容器包装規格基準等作成報告書(2002)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
 2. 学会発表
- 1) 六鹿元雄ら：日本食品衛生学会第83回学術講演会 (2002.5)

表1. 各種カラムによるTCP異性体の保持時間の比較

カラムの種類	移動相	保持時間 (min)			
		標準品	<i>o, o, o</i> -TCP	<i>m, m, m</i> -TCP	<i>p, p, p</i> -TCP
Inertsil Ph-3	65% CH ₃ CN/水	9.3	9.3	9.4	9.2
TSKgel Octyl-80Ts	55% CH ₃ CN/水	11.0	11.3	11.1	10.9
TSKgel ODS-80Ts	80% CH ₃ CN/水	10.7	11.5	10.5	10.7

カラムサイズ: 4.6 mm×250 mm, 流速: 1.0 mL/min, カラム温度: 50°C, 注入量: 20 μL

表2. 主な異性体の検出感度の比較

	標準品	<i>o, o, o</i> -TCP	<i>m, m, m</i> -TCP	<i>p, p, p</i> -TCP
ピーク面積	20,400 (1.00)	17,800 (0.87)	17,200 (0.85)	24,900 (1.22)
ピーク高さ	1,010 (1.00)	930 (0.91)	890 (0.88)	1,290 (1.27)

TCP: 10 ppm

表3. ポリ塩化ビニル製品からの抽出率

	含有量 (ppm)	抽出率 (%)	
		アセトン-ヘキサン (3:7)	アセトニトリル
手袋	(1,000)	91.9	100.2
ラップフィルム	(1,000)	82.3	97.3
シート1	31,000	81.9	89.3
シート2	61,000	82.5	88.7
シート3	88,000	82.6	89.8

手袋、ラップフィルム: 細切後、TCP アセトン溶液を添加

表4. 各種固相抽出カートリッジによるTCP、DEHP及びDINPの溶出率

カートリッジの種類	溶出溶媒 (CH ₂ CN : 水)	溶出率 (%)		
		TCP	DEHP	DINP
Sep Pak C18	1 : 1	5.5	0.0	0.0
	2 : 1	97.6	0.4	0.4
	7 : 3	94.3	4.4	0.5
OASIS HLB	1 : 1	64.7	6.6	0.0
	3 : 2	81.5	24.7	0.4
	2 : 1	95.3	61.2	31.6
GL-Pak PLS-2	7 : 3	79.4	3.3	1.4
	3 : 1	81.2	13.9	5.6
	4 : 1	90.7	40.0	16.7

表5. ポリ塩化ビニル製品を用いた添加試験でのTCPの回収率

	PVC パウダー	手袋	ラップ フィルム	玩具	容器	パイプ
回収率 (%)	84.7	90.6	89.6	92.5	92.6	86.7
S.D.	3.9	0.1	3.7	5.0	1.3	7.9

表6. TCP含有ポリ塩化ビニル製品でのTCPの回収率

	シート1	シート2	シート3
含有量 (ppm)	31,000	61,000	88,000
回収率 (%)	82.0	84.8	82.0
S.D.	0.8	0.5	1.7

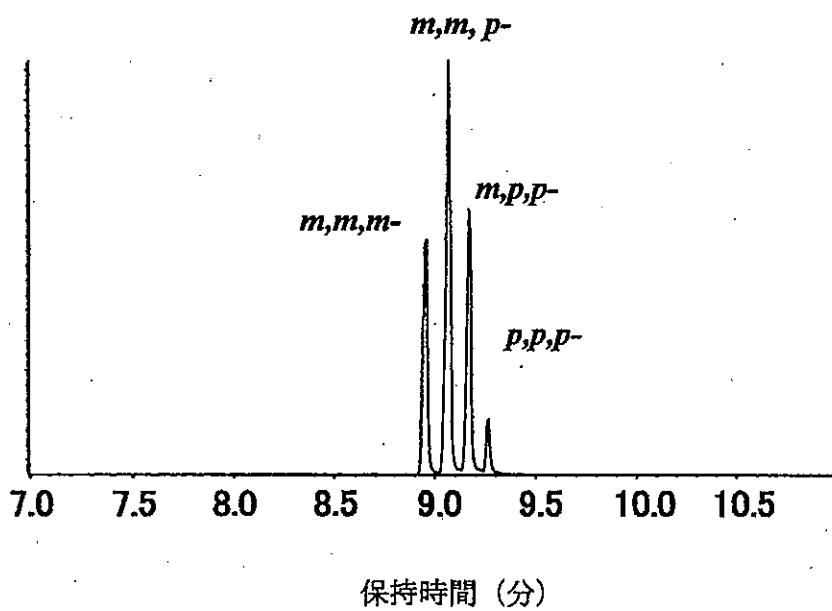


図1 クレゾールリン酸エステル (標準品) のGC/MS/トータルイオンクロマトグラム

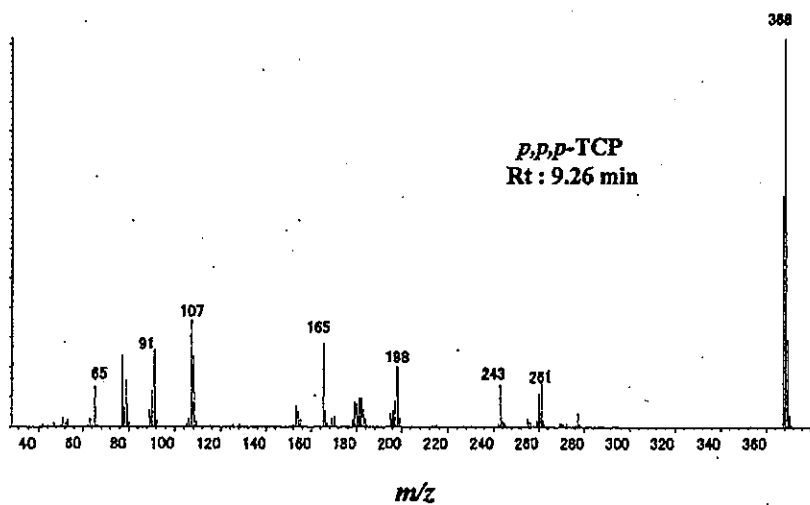
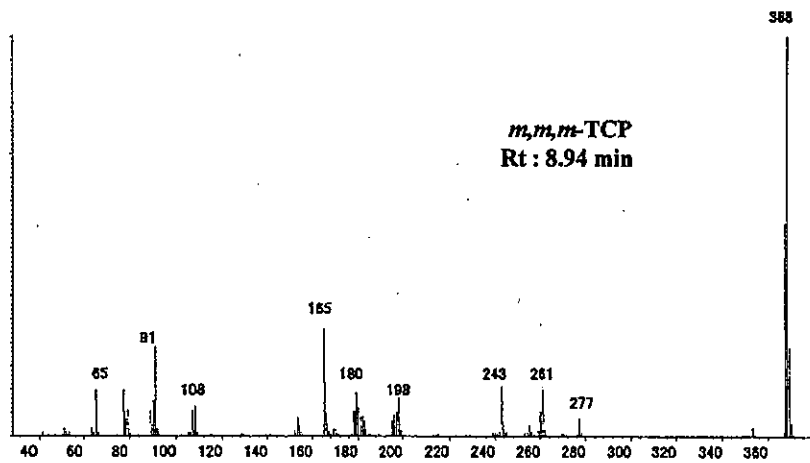
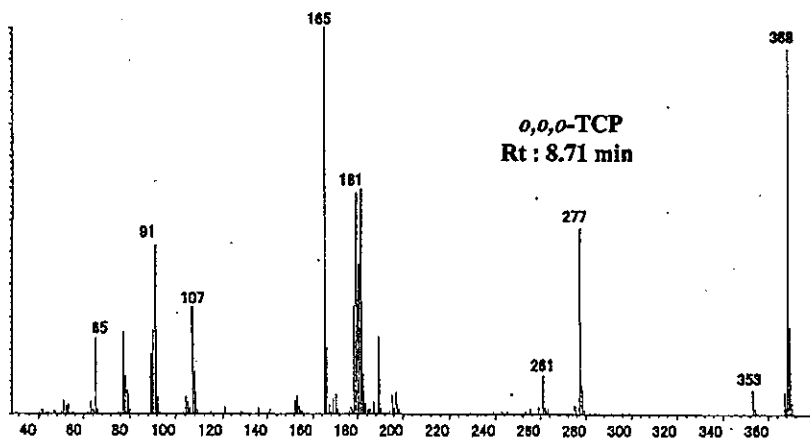


図 2. *o,o,o*、*m,m,m*、*p,p,p*-クレゾールリン酸エステル
の保持時間及びマススペクトル

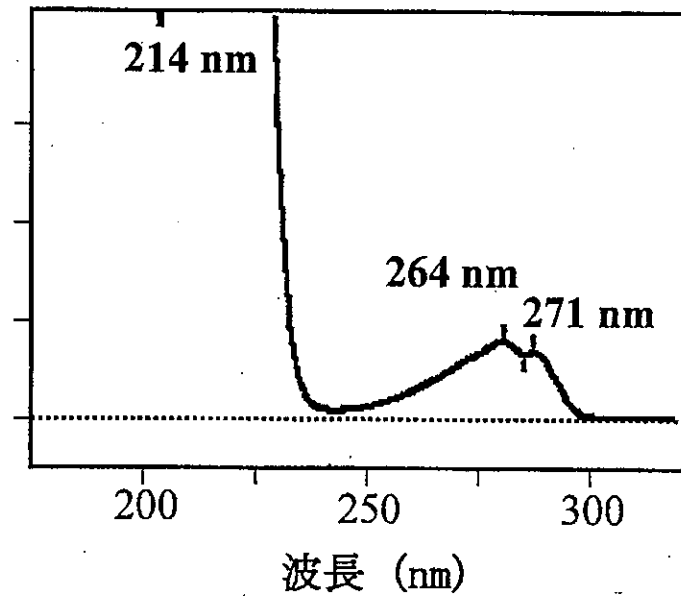


図3 クレゾールリン酸エステル標準品のUVスペクトル

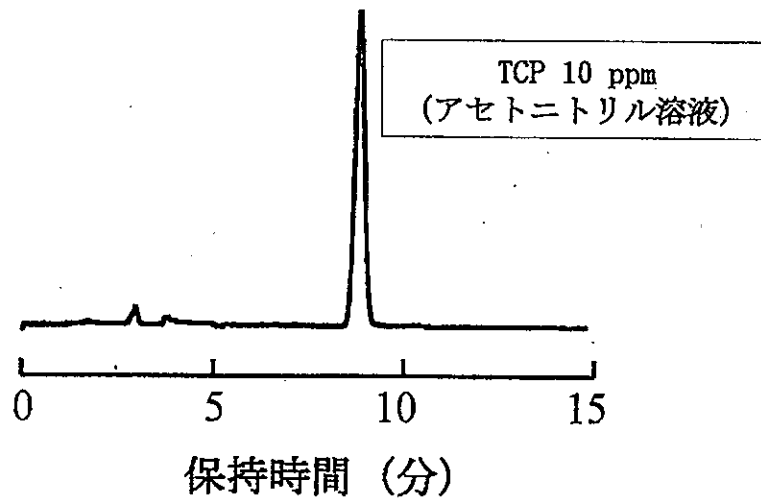


図4 Inertsil Ph-3カラムによるクレゾールリン酸エステル標準品のクロマトグラム

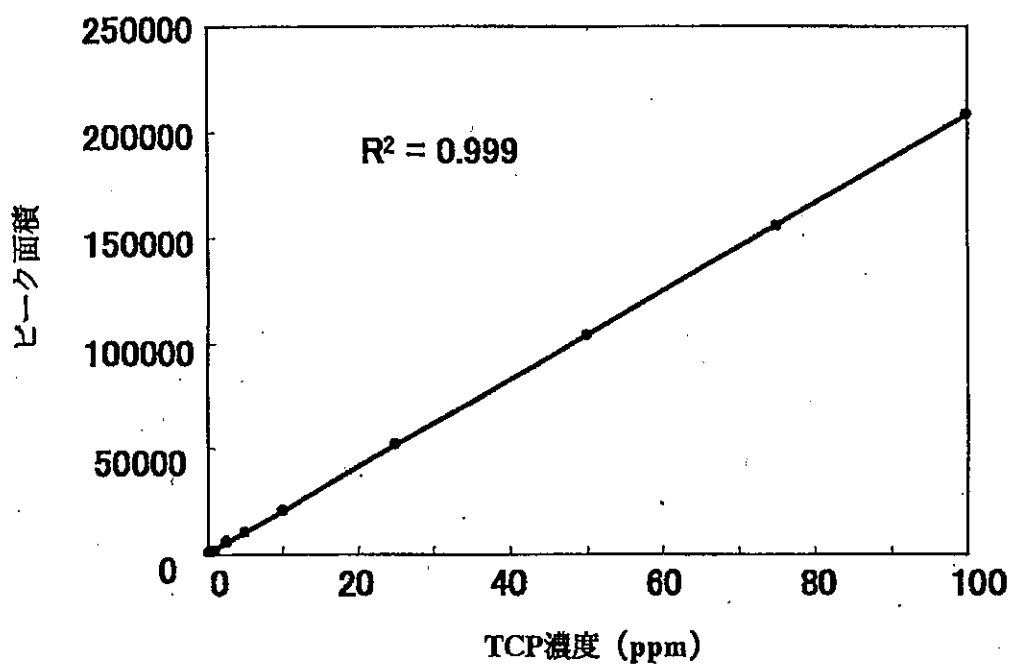


図5 クレゾールリン酸エステル標準品の検量線

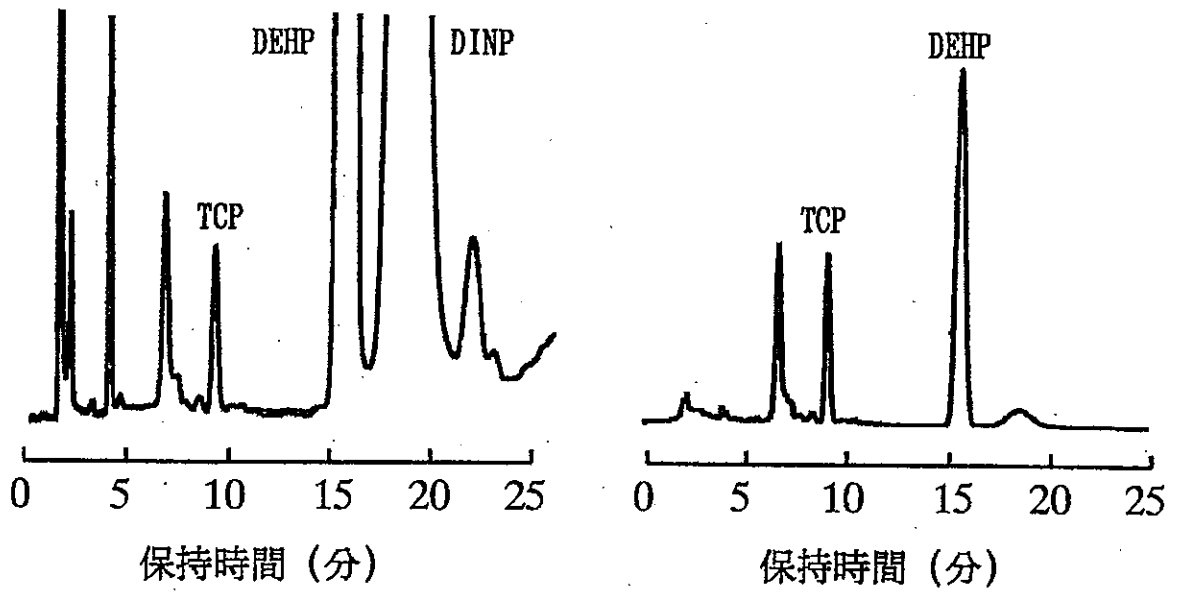


図6 固相抽出カートリッジによる可塑剤の除去効果

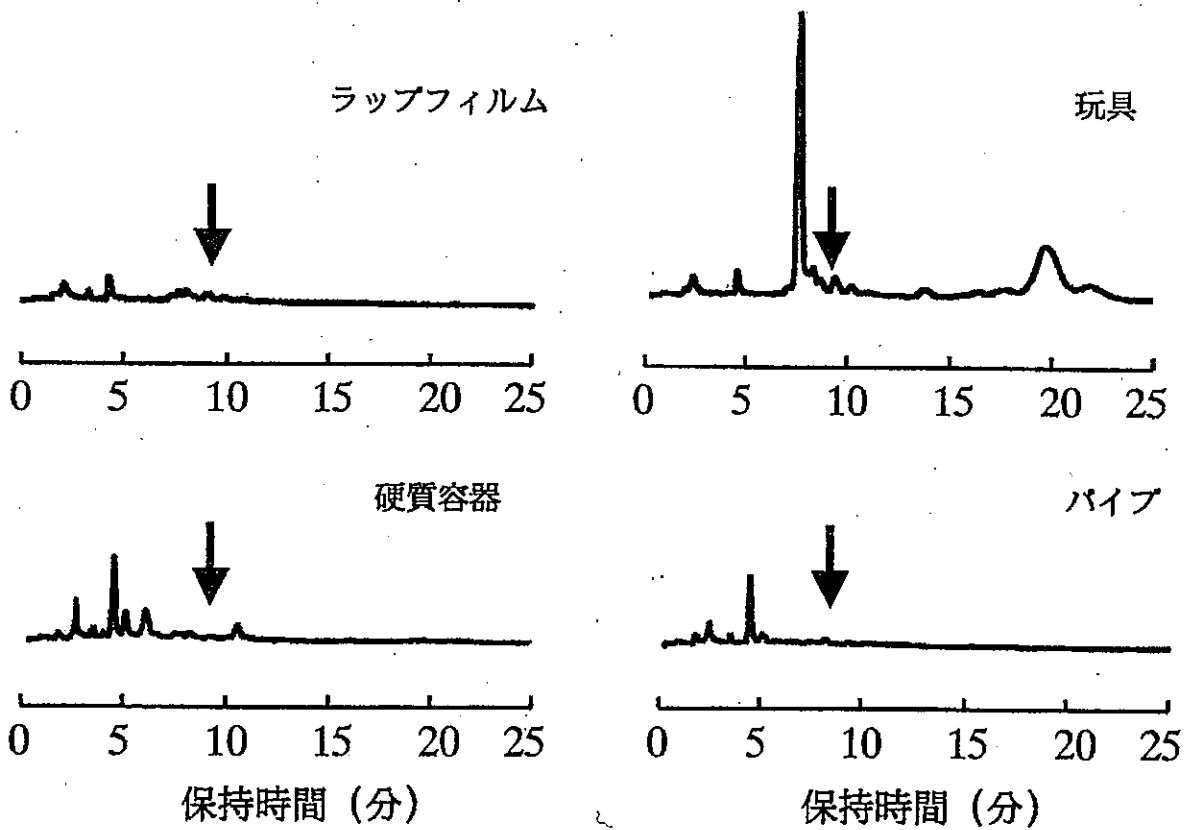


図7 各試料におけるHPLCクロマトグラム

<その2>合成樹脂カドミウムおよび鉛試験法の問題点とその改良

分担研究者 鎌田国広 東京都立衛生研究所

研究協力者 金子令子、船山恵市、羽石奈穂子 東京都立衛生研究所

A. 研究目的

食品衛生法では合成樹脂製の器具又は容器包装の一般規格材質試験（以下公定法と略す）において、材質中にカドミウムおよび鉛を100ppm以上含有してはならないとしている。当研究所の製品検査標準操作手順書（SOP）に従い市販のポリプロピレン製ストローを検査したところ、鉛200ppmを検出したが、公定法による検査では20ppmにすぎず違反とはならなかった。

公定法では灰化時硫酸を加えるため、試料材質中の金属が硫酸塩となり酸不溶の沈殿を生成する場合がある。硫酸鉛は難溶性塩のため沈殿物に吸着されやすい¹⁾ことから、当研究所のSOPでは多くの金属が水溶性の塩化物となり沈殿物が少なくなるような塩酸処理を加えている。今回このように試験法によって測定値に大きな差異が認められたのは、試料中に存在する金属が公定法における測定を妨害したためと推定された。そこでこの原因を解明し、さらに試験法を改良することを目的として本研究を実施した。

B. 研究方法

1. 試料

市販のポリプロピレン製ストロー4試料（白地に縞模様の着色があるものは各色毎に1検体とした）

試料1：中国製3色（赤、青、緑）の3検体

試料2：タイ製4色（赤、青、緑、黄）の4

検体

試料3：日本製3色（赤、青、黄）の3検体

試料4：日本製着色が無く半透明の1検体
なお、試料2赤は違反品であって、市場から回収の措置がとられたものである。

2. 試薬

カドミウム、鉛、リチウム、ナトリウム、マグネシウム、アルミニウム、ケイ素、カリウム、カルシウム、チタン、鉄、コバルト、銅、亜鉛、バリウム：各1000ppm標準液、和光純薬工業（株）

イオウ：1000ppm標準液、Spex製（USA）
硫酸、塩酸、硝酸：精密分析用、和光純薬工業（株）

カドミウムおよび鉛標準溶液：カドミウムおよび鉛標準液を0.1mol/L硝酸を用い、1ppm、10ppmおよび100ppmになるように希釈した。

3. 装置

原子吸光光度計：日立製作所（株）偏光ゼーマンZ-5300型

蛍光X線分析装置：理学電機工業（株）RIX3000型

ICP（誘導結合プラズマ）発光分光分析計：日本ジャーレルアッシュ（株）IRISアドバンテージ

4. 試験溶液の調製法

公定法と塩酸処理を加えたSOP法による測定値の比較を行うため、それぞれの試験法に従い試験溶液を調製した。

1) 公定法

一般規格材質試験に記載の試験法に準じたが、操作の便宜上および市販試料が少ないことから、以下のように変更して試験を行った。

試料0.5gを耐熱性ガラスビーカーに採り、硫酸2ml（硫酸添加量は充填剤の多い試料では1g当たり3~5ml必要であるという報告²⁾がある）を加えて徐々に加熱し、大部分の硫酸分を蒸発させた後、ホットプレート上で乾固した。その後電気炉に入れ450℃で灰化した。ビーカーの内容物を硫酸で潤して再び加熱し、ほとんど白色の灰分が得られるまでこの操作を繰り返し行った。この残留物に0.1mol/L硝酸10mlを加えて溶解し、鉛の試験溶液とした。更にこの試験溶液1mlを採り、0.1mol/L硝酸を加えて10mlとし、カドミウムの試験溶液とした。

2) 塩酸処理法

上記の公定法と同様の操作で灰化した後、塩酸（1→2）5mlを加えかき混ぜて、水浴上で蒸発乾固した。冷後0.1mol/L硝酸10mlを加えて溶解し、カドミウムおよび鉛の試験溶液とした後、公定法と同様に操作した。

5. 原子吸光分析

公定法および塩酸処理法により調製した試験溶液および標準溶液を原子吸光光度計を用いて測定し、定量を行った。

測定条件

波長：カドミウム228.8nm、鉛283.3nm、
バリウム233.5nm

検出限度：カドミウム1ppm、鉛10ppm

バリウム1ppm

6. 蛍光X線定性分析

径30mmの試料ホルダーにストローを切断して装着し、試料材質中に含まれる金属元素を蛍光X線定性分析法により測定した。

測定条件

X線管球：ロジウム

管電圧、管電流：50kv, 50mA

ピーク角度(2θ Scan)：

Pb-Lα 33.9°、Cr-Kα 69.3°

Ba-Kα 11.0°、Ca-Kα 113.1°

K-Kα 136.7°、Ti-Kα 86.1°

Zn-Kα 41.8°、S-Kα 110.8°

Cu-Kα 45.0°

7. ICP発光分光分析

原子吸光分析に供した試験溶液の一部及び標準溶液をICP発光分光分析計を用いて測定した。

測定条件

分析線波長：カドミウム228.802nm、

鉛220.353nm

検出限度：カドミウム0.1ppm、鉛1ppm

8. 各種金属類共存下の鉛およびカドミウム添加回収試験

各種金属標準液1mlに鉛およびカドミウム標準溶液(100ppm)を各1ml添加して、公定法および塩酸処理法により試験を行った。

9. 試料を用いた鉛およびカドミウムの添加回収試験

試料0.5gを採り鉛およびカドミウム標準溶液(100ppm)を各1ml添加して、公定法および塩酸処理法により試験を行った。

10. 試料材質中バリウム量の測定

試料0.5gを採り硫酸を加えず灰化した後、塩酸処理法と同様に操作した。

C. 研究結果および考察

食品衛生法では合成樹脂製の器具又は容器包装一般規格材質試験カドミウム及び鉛において、以下のように定めている。

「試料1gを白金製又は石英製の蒸発皿に採り、硫酸10滴を加えて徐々に加熱し、大部

分の硫酸分を蒸発させた後、直火上で乾固する。引き続き火力を強めながら、これを450℃で加熱して灰化する。蒸発皿の内容物を硫酸で潤して再び加熱し、ほとんど白色の灰分が得られるまでこの操作を繰り返し行う。ポーラログラフ法を用いる場合にあっては、この残留物に電解液10mlを加え、時々かき混ぜて3時間放置し、試験溶液とする。原子吸光光度法を用いる場合にあっては、この残留物に0.1mol/L硝酸10mlを加えて溶解し、鉛の試験溶液とする。更にこの試験溶液1mlを採り、これに0.1mol/L硝酸を加えて10mlとし、カドミウムの試験溶液とする。これらの試験溶液について、ポーラログラフ法又は原子吸光光度法により、カドミウム及び鉛の試験を行うとき、これに適合しなければならない。」³⁾

1. 試料測定結果

市販のストロー4試料11検体について公定法および塩酸処理法により試験溶液を調製した後、鉛およびカドミウムを測定し、結果を表1に示した。鉛が検出されたのは試料1緑、試料2赤、試料3赤であった。そのうち試料2赤および試料3赤は公定法と塩酸処理法の測定値が一致し、それぞれ140および70ppmであった。しかし試料1緑は塩酸処理法では200ppmであったが、公定法では20ppmであり、測定値に10倍の開きがあった。その他の試料8検体からは検出されなかった。またカドミウムは4試料11検体全てで検出されなかった。

2. 元素分析結果

試験法による大きな測定値の差異は、試料材質中に含まれる無機物質が公定法の測定を妨害することが原因であると考えられた。合成樹脂には着色剤の他、安定剤、充填剤などの無機物質を多量に含有するものがある。そこで蛍光X線定性分析により試

料中の金属元素を測定し、結果を表2に示した。1. 試料測定結果において鉛が検出された試料1緑、試料2赤および試料3赤に鉛が認められた。イオウ、カリウム、カルシウムは全ての試料、チタンは試料4を除く試料1~3の10検体に認められた。クロムは試料1緑、試料2赤および試料3赤に銅は青および緑の4検体、バリウムおよび亜鉛は試料1の3検体に認められた。

鉛とクロムの検出試料が一致することから鉛はクロム酸鉛として添加されたことが推定された。クロム酸鉛は黄色の顔料であり、試料1緑は青の顔料と共に緑色を出すため、試料2赤および試料3赤は赤色の色調を変えるために黄色顔料が用いられていると考えられた。

イオウ、カリウム、カルシウム化合物は安定剤や充填剤であり、チタン化合物は顔料や充填剤として添加される。銅は青色の顔料であり、青と緑の試料から検出された。

バリウム化合物は顔料や充填剤、亜鉛化合物は安定剤、充填剤、顔料として用いられる。バリウムと亜鉛は公定法の測定値が低かった試料1緑を含む試料1の3検体のみに認められたことから、これらの金属が鉛の測定に影響を及ぼしている可能性の高いことが推測された。

3. バリウムまたは亜鉛の影響

そこでバリウムと亜鉛の試験溶液調製に及ぼす影響を標準液を用いて検討した。バリウムおよび亜鉛標準液1ml (1000 μg) に、鉛およびカドミウム100ppm標準溶液を各1ml (100 μg) 添加し、公定法および塩酸処理法により試験溶液を調製し回収率を求めた (表3)。

いずれの方法でも亜鉛添加では鉛、カドミウムの回収率は良好であった。しかしバリウム添加では公定法で鉛13%、カドミウ

ム90%、塩酸処理法で鉛65%、カドミウム100%であり、公定法において著しい鉛回収率の低下が認められた。

そこでバリウムの回収率に与える影響を検討するために、バリウム標準液を100~1000ppmの間で0.1mol/L硝酸溶液の5段階に希釈し各1ml (100~1000 μ g) を採り、鉛およびカドミウム100ppm0.1mol/L硝酸溶液を各1ml (100 μ g) 添加し、公定法および塩酸処理法により試験溶液を調製し、回収率を表4に示した。

公定法の回収率はバリウム100 μ g添加で鉛は78%であったが、添加量が増加するに従い低下し、バリウム1000 μ g添加ではわずか13%であった。また、カドミウムはバリウム添加量300 μ g以下では100%であり、500 μ g、1000 μ gで97%、90%と若干低下したが大きな影響はみられなかった。

一方、塩酸処理法における鉛の回収率はバリウム300 μ g以下では90%以上であり、500 μ g、1000 μ g添加で82%、65%と公定法よりはるかに良い回収率が得られた。しかし、バリウム1000 μ g共存下での65%は、回収率としては十分とはいえなかった。一方、カドミウムは1000 μ g添加まで100%回収された。

4. 他の金属類の影響

合成樹脂には着色剤の他、安定剤、充てん剤など無機物質を多量に含有するものがあるため、添加される可能性のある15種類の金属標準液各1ml (1000 μ g) を添加し、鉛、カドミウムの回収率への影響を検討した。

結果は表5に示したように、リチウム、ナトリウム、マグネシウム、イオウ、カリウム、カルシウム、マンガン、鉄、コバルト、銅添加では公定法、塩酸処理法とも鉛、カドミウム回収率に影響しなかった。またチタン、アルミニウム添加では公定法で鉛

回収率95%、94%と若干低かったが塩酸処理法で100%に改善された。カドミウム回収率はアルミニウム添加で97%と若干低かったが塩酸処理法で改善された。ケイ素添加では公定法で鉛回収率77%、塩酸処理法で97%と、多少の影響が示唆されたが、カドミウム回収率には影響しなかった。また回収率低下のみられたチタン、アルミニウム、ケイ素、バリウムでは、試験溶液に白色沈殿が認められ (表5)、これが回収率に影響を与えていると考えられた。また試料2赤および試料3赤に含有されていたイオウ、カリウム、カルシウム、チタンは、いずれの回収率にもほとんど影響のないものであった。

5. 市販ストローを用いた鉛、カドミウムの添加回収試験

市販のストロー4試料10検体に鉛、カドミウムを各100 μ g添加したときの、公定法および塩酸処理法による回収率を表6に示した。

バリウムが含有されている試料1の3検体は公定法では鉛の回収率は9~18%と全て低かったが、塩酸処理法では80~89%と大きく改善された。一方、カドミウム回収率は両試験法ともほぼ100%であり、影響を受けなかった。バリウムが含有されていない試料2、3および4の7検体の鉛およびカドミウム回収率もすべてほぼ100%であり両試験法とも影響はなかった。

また試料4にバリウム1000 μ g添加したときの回収率は、公定法では鉛9%、カドミウム94%、塩酸処理法では鉛50%、カドミウム100%であり、鉛の回収率は標準溶液のみの添加試験より若干低かった。

6. 市販ストロー材質中バリウム量の測定

バリウムの含有が確認された試料1の3検

体のバリウム量測定を試みた。バリウムは硫酸を加えて灰化すると酸不溶性の硫酸バリウムとなるため⁹⁾、硫酸を加えずに灰化して測定を行った。しかし試験溶液に白色沈殿物が多量に存在し測定値は3検体とも30ppm前後と低かった。そこで白色沈殿物を蛍光X線定性分析により測定した結果、バリウム、イオウ、およびチタンが検出された。このことから、沈殿物は硫酸バリウムと酸化チタンと推測された。硫酸バリウムは難溶性のため、酸溶液に一部しか溶解せず測定値が低かったと考えられる。

以上より、バリウムは硫酸バリウムとして試料1に添加されていたと推定されるが、硫酸バリウムは極めて難溶解性で湿式法など他の灰化法によっても測定することはできず、試料1材質中のバリウム含有量を求めることはできなかった。しかし表6における試料1の鉛およびカドミウム添加回収率と表4におけるバリウム共存下の添加回収率の比較により、試料1のバリウム量は500 μ g/0.5gすなわち1000ppm程度であると推定される。硫酸バリウムは業界自主基準で使用できる添加剤として収載されており、合成樹脂にはしばしば充てん剤や色材として添加される⁹⁾。

7. 塩酸処理法における塩酸添加量の検討

表4に示すように塩酸処理法において鉛の回収率は、バリウムの共存量が500 μ g以下では80%以上と良好であるが1000 μ gでは65%と若干低く、大幅に改善されているが必ずしも良好とはいえなかった。そこでバリウム1000 μ g共存下の塩酸添加量が鉛回収率に及ぼす影響の検討を行い、結果を表7に示した。塩酸処理法では塩酸を2倍に希釈して加えていたが、希釈せずに添加量を増加させたところ、10ml以上の添加で80%

以上の良好な回収率が得られた。

8. バリウム共存下の鉛回収率低下の原因

試験法により鉛の測定値に大きな差異あった市販ストローはバリウムが含有されていた。また、試験溶液中に沈殿物が認められるものに鉛およびカドミウム回収率の低下が認められ、特にバリウム共存下で大きな影響が認められた。このことから硫酸バリウム沈殿物への鉛の吸着が測定値を大幅に低下させたものと推察された。

硫酸バリウムと硫酸鉛は結晶構造が同形であり、バリウムと鉛のイオン半径はほぼ同程度であるため、硫酸鉛は硫酸バリウムの結晶格子の内部に入りイオン交換が起こる。このため硫酸バリウムの結晶中に鉛が分散された固溶体が生成され、不溶化することが知られている¹⁰⁾。

一方、塩酸処理法では良好な回収率が得られたが、これは塩酸が結晶中に入り、吸着された鉛が塩化鉛になることにより、溶解性が上がるとともに、結晶構造が変化するため硫酸バリウムから遊離すると考えられる。以上より、公定法は、試料中に金属元素が共存していても、ほとんどの金属元素はカドミウムおよび鉛回収率に影響を及ぼさないが、バリウムが共存している場合には、著しく鉛回収率が低下するが、簡便な塩酸処理を追加することにより、大幅に回収率が上がることが判明した。

9. ICP発光分光分析法と原子吸光光度法による測定値の比較

ICP発光分光分析法は鉛とカドミウムを同時に測定できる利点があり、近年、試験機関への普及は著しい。そこで、本試験法による試験溶液について、ICP発光分光分析法と原子吸光光度法による鉛とカドミウムの測定値を比較し、表8に示した。試料は表6の塩酸処理を行ったものを使用した。

その結果、ICP発光分光分析法では、分析線波長鉛220.353nm、カドミウム228.802nmにおける測定値が、原子吸光光度法によるものといずれの試料においてもよく一致していた。

D. 考察

食品衛生法の鉛の材質試験の解説によると、この試験は、安価な鉛化合物が添加剤として使用されることが多い一般製品用の材料が食品用へ誤用されることを防ぐ見地から設定されている^{7,9)}。100ppm以下では着色剤や安定剤としての効果が認められないことから、監視効率を考慮して100ppmという有害物質にしては高い限度を設けてあり、100ppm以下であれば入れてもよいということではなく本質的に食品用途のプラスチックには鉛化合物を使用してはならないことが趣旨であるとされている^{9~12)}。

製品中に規格値の100ppmを超える鉛を含有しているにもかかわらず、公定法ではバリウムの共存により測定が妨害され検出値が低くであるということは適当ではない。そのため、試験法を改良し、いつも正しい含有量が検出できるようにする必要がある。

また、公定法には試料の灰化時に「ほとんど白色の灰分が得られるまで」硫酸を加えて加熱する操作を繰り返すように記載されているが、これまでの経験から有色の金属化合物が含まれている場合には十分に灰化しても白色とはならない場合がある。そこで、この部分については「十分に灰化するまで」と記載するのが適当と考えられる。

さらに、この合成樹脂の一般規格におけるカドミウム及び鉛試験法では金属の測定を原子吸光法またはポーラログラフ法により測定することとなっている。しかしポーラログラフ法は有害物質である水銀を多量

に使用することから、現在ほとんどの試験検査機関で使用しておらず、また指定機関の設置要件からも削除された。原子吸光光度計は広く普及しており、ポーラログラフ法と同等またはそれ以上の感度を有している。また、器具又は容器包装の陶磁器、ゴム、金属缶のカドミウム、鉛の公定試験法は原子吸光のみで測定することとなっている。そこで、本試験法のポーラログラフ法の併記を削除するべきである。

一方、ICP発光分光分析法は、多元素を同時測定できる有用さから、近年導入する試験検査機関が増えており、本試験法においても、鉛とカドミウムを同時に測定できる利点がある。そこで、ICP発光分光分析法と原子吸光光度法による鉛とカドミウムの測定値を比較したところ、両者はよく一致し、ICP発光分光分析法は原子吸光光度法と同等の測定精度を有することが確認できた。そのため、合成樹脂一般規格のカドミウムおよび鉛試験法にICP発光分光分析法による測定を併記することが望まれる。

E. 結論

食品添加物等の規格基準・合成樹脂一般規格のカドミウムおよび鉛の材質試験において、試料中にバリウムが存在していると、鉛は試験溶液調製時に生成した硫酸バリウムに吸着され、著しく測定値が低下することが判明した。しかし灰化後塩酸を加えて処理を行うことにより、鉛回収率の大幅な改善が認められた。このことから鉛含有量を正確に測定するため、現在の試験法に塩酸処理法を加える必要がある。

また試料の灰化時、有色の金属化合物が含まれている場合は十分に灰化しても白色とはならない場合があるため、「ほとんど白色の灰分が得られるまで」よりも「十分

に灰化するまで」という記載が適当である。

また、測定装置については、有害金属である水銀を使用するポーログラフ法を削除し、原子吸光光度法とともに、鉛とカドミウムを同時に測定できるICP発光分光分析法を併記することが望まれる。

以上の結果から、以下に試験法の改正案を示す。

「試料1gを白金製又は石英製の蒸発皿に採り、硫酸4mlを加えて徐々に加熱し、大部分の硫酸分を蒸発させた後、直火上で乾固する。引き続き火力を強めながらこれを450℃で加熱して灰化する。蒸発皿の内容物を硫酸で潤して再び加熱し、十分に灰化するまでこの操作を繰り返し行う。この残留物に塩酸10mlを加えかき混ぜて、水浴上で蒸発乾固する。冷後0.1mol/L硝酸10mlを加えて溶解し、鉛の試験溶液とする。更にこの試験溶液1mlを採り、これに0.1mol/L硝酸を加えて10mlとし、カドミウムの試験溶液とする。これらの試験溶液について、原子吸光光度法またはICP発光分光分析法により、カドミウム及び鉛の試験を行うとき、各100ppm以下でなければならない。」

F. 文献

- 1) 日本化学会編：実験化学講座（続）
2 分離と精製，175～177（1967）
- 2) 辰濃隆：食品衛生研究，28，75～82（1978）

- 3) 厚生省生活衛生局監修：平成14年版食品衛生小六法，1190（2001）
- 4) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2000，587（2000）
- 5) ポリオレフィン等衛生協議会：ポリオレフィン等合成樹脂製食品容器包装に関する自主基準第3版改訂版，43（1997）
- 6) 鎌田仁：分析化学-1，254～255（1968）
- 7) 辰濃隆：食品衛生研究，23，951～971（1973）
- 8) 厚生省環境衛生局食品化学課：食用プラスチック衛生学，88～90（1980）
- 9) 入村和子：食品衛生研究，29，647～669（1978）
- 10) 日本薬学会：衛生試験法・注解2000，378（2000）
- 11) 厚生省生活衛生局：食品衛生検査指針，577～578（1994）
- 12) 食品包装法規研究会：食品包装と衛生規格，262（1989）

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

なし

表1 市販ストローにおける鉛測定値

試料	公定法	塩酸処理法 (ppm)
試料1緑	20	200
試料1赤	nd	nd
試料1青	nd	nd
試料2赤	140	140
試料2青	nd	nd
試料2黄	nd	nd
試料2緑	nd	nd
試料3赤	70	70
試料3青	nd	nd
試料3黄	nd	nd
試料4	nd	nd

試料量:0.5g, n=3

表2 蛍光X線分析法による材質中の金属元素のスペクトル強度

試料	Pb	S	K	Ca	Ti	Cr	Cu	Zn	Ba
試料1緑	2.5	3.3	1.3	16.0	18.0	0.1	nd	12.0	0.9
試料1赤	nd	4.1	0.4	24.0	21.0	nd	nd	12.0	1.0
試料1青	nd	4.2	0.5	23.0	25.0	nd	1.2	13.0	1.3
試料2赤	2.0	2.5	0.4	27.0	35.0	0.1	nd	nd	nd
試料2青	nd	1.1	2.0	9.9	24.0	nd	1.5	nd	nd
試料2黄	nd	1.0	2.0	16.0	28.0	nd	nd	nd	nd
試料2緑	nd	1.1	2.2	8.1	19.0	nd	1.2	nd	nd
試料3赤	1.1	1.0	0.4	24.0	34.0	0.1	nd	nd	nd
試料3青	nd	1.0	1.8	10.0	23.0	nd	2.0	nd	nd
試料3黄	nd	1.0	1.9	6.1	15.0	nd	nd	nd	nd
試料4	nd	1.0	1.8	1.1	nd	nd	nd	nd	nd

表3 亜鉛、バリウム共存下の鉛、カドミウム回収率

添加金属元素	公定法		塩酸処理法	
	Pb	Cd	Pb	Cd
Ba	13	90	65	102
Zn	101	103	102	103

Ba,Zn添加量:各1000 μ g, Pb,Cd添加量:各100 μ g, n=2

表4 各添加量のバリウム共存下における鉛、カドミウム回収率

Ba添加量	公定法		塩酸処理法	
	Pb	Cd	Pb	Cd
100 μ g	78	103	96	101
200 μ g	46	103	97	104
300 μ g	39	100	91	102
500 μ g	16	97	82	101
1000 μ g	13	90	65	102

Pb,Cd添加量:各100 μ g, n=2

表5 各種金属元素共存下の鉛、カドミウム回収率と試験溶液の状態

添加金属元素	公定法		塩酸処理法		試験溶液の状態	
	Pb	Cd	Pb	Cd	公定法	塩酸処理法
Li	103	104	103	103	溶解	溶解
Na	101	100	102	103	溶解	溶解
Mg	102	103	101	103	溶解	溶解
S	100	100	100	100	溶解	溶解
K	102	101	102	105	溶解	溶解
Ca	100	103	100	102	白色沈殿極少量	溶解
Mn	102	103	102	104	溶解	溶解
Fe	101	103	102	103	褐色沈殿少量	溶解
Co	101	103	101	105	溶解	溶解
Cu	101	102	102	104	溶解	溶解
Zn	101	103	102	103	溶解	溶解
Ti	95	100	100	100	白色沈殿少量	白色沈殿少量
Al	94	96	101	104	白色沈殿多量	溶解
Si	77	103	97	105	白色沈殿少量	白色沈殿少量
Ba	13	90	65	102	白色沈殿多量	白色沈殿多量

各金属元素添加量:各1000 μ g, Pb,Cd添加量:各100 μ g, n=2

表6 市販ストローにおける鉛、カドミウム添加回収試験

試料	Ba含有の有無	公定法		塩酸処理法	
		Pb	Cd	Pb	Cd
試料1緑	有り	18	102	89	103
試料1赤	有り	9	102	87	104
試料1青	有り	13	101	80	103
試料2青	無し	101	107	101	103
試料2黄	無し	101	102	103	104
試料2緑	無し	101	103	103	103
試料3赤	無し	97	102	101	103
試料3青	無し	100	102	102	103
試料3黄	無し	98	101	103	103
試料4	無し	100	101	102	100
試料4	1000 μ g添加	9	94	50	100

試料量:0.5g, Pb,Cd添加量:各100 μ g, n=2

表7 バリウム共存下の鉛回収率に及ぼす塩酸量の影響

塩酸添加量(ml)	Pb回収率(%)
5	63
10	80
15	84
20	91
30	91

Ba添加量:1000 μ g
Pb添加量:100 μ g

n=2

表8 原子吸光度法とICP発光分光分析法による測定値の比較

試料	Pb		Cd	
	原子吸光	ICP	原子吸光	ICP
C-緑	100	100	103	100
C-赤	87	83	104	101
C-青	88	89	103	100
T-青	101	103	103	100
T-黄	103	106	104	101
T-緑	103	103	103	100
N-赤	101	101	103	100
N-青	102	103	103	100
N-黄	103	103	103	100

平成14年度厚生労働科学研究費補助金

食品・化学物質安全総合研究事業

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15(2003)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 鎌田 国広 東京都立衛生研究所

分担研究者 外海 泰秀 国立医薬品食品衛生研究所

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、検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した後、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。

エピクロロヒドリンは、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、現行のエピクロロ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・容器包装にはジオク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 グリニャール反応によるプロピル化

n-プロピルマグネシウムブロミド：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) グリニャ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

薄層板上に、試験溶液及びジブチルスズ標準溶液 5 μ l をそれぞれスポットし、展開溶媒を加えた展開槽に入れた。約 10 cm 展開させた後薄層板を取り出し、十分風乾させた後、発色試薬を噴霧した。試料、DBT 標準溶液及び DOT 標準溶液のスポットの R_f 値を比較し判定した。

7. 試験溶液の調製法

(1) 抽出液

①アセトン-*n*-ヘキサン抽出法

細切又は粉碎した試料 0.5 g、1 g 又は 2 g を共栓フラスコにとり、アセトン-*n*-ヘキサン (3:7) 混液 20 ml (1 g の場合は 40 ml、2 g の場合は 50 ml) 及び塩酸 1~2 滴を加え、密栓して約 40 °C で一晩浸漬した後ろ過し、ろ液と洗液をあわせて抽出液とした。

②テトラヒドロフランによる溶解法

試料 1 g を精ひょうして三角フラスコに入れ、テトラヒドロフラン 30 ml 及び塩酸 1~2 滴を加え溶解した後、*n*-ヘキサン 100 ml を徐々に滴下して樹脂を析出させた。ろ過後、ろ液を抽出液とした。

(2) 試験溶液

① TLC 法

試料 2 g から得られた抽出液を 1 ml 弱まで減圧濃縮 (40 °C 以下) した後、アセトンを加えて 1.0 ml としたものを試験溶液とし、TLC で測定した。

②グリニャール試薬によるプロピル化法

試料 1 g から得られた抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後約 1 ml に減圧濃縮 (40 °C 以下) し、スクリュウキャップ付試験管に移して、エーテルを加え 20 ml とした。グリニャール試薬によるプロピル化を行った後、*n*-ヘキサンで 100 ml に定容した。その一部をフィルターろ過して亜硫酸ナトリウム約 0.05 g を加え試験溶液とし、GC/AED で測定した。

③テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化法

試料 0.5 g から得られた抽出液をナス型フラスコに採り、約 1 ml になるまで減圧濃縮 (40 °C 以下) した。目盛り付き遠沈管に移し、*n*-ヘキサンを加えて 20 ml とした後、遠心分離 (約 900 \times g、10 分) を行った。得られた上清 2 ml を用いてテトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化を行った後、*n*-ヘキサン層を採った。これを試験溶液とし、GC/MS 及び GC-FPD で測定した。有機スズ化合物を高濃度含有する場合は、上清を適宜 *n*-ヘキサンで希釈し、再度エチル化を行い試験溶液を調製した。

8. 添加回収試験

(1) TLC 法

ポリ塩化ビニルパウダー及び細切したポリ塩化ビニル製手袋、ラップフィルムそれぞれ 2 g を精ひょうし、DBT 及び DOT 標準溶液を 25 μ g/g 及び 50 μ g/g となるように添加し、30 分放置後、本法に従い試験操作を行った。

(2) ガスクロマトグラフィー法

グリニャール試薬によるプロピル化法ではポリ塩化ビニルパウダー、テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化法ではポリ塩化ビニルパウダー及び細切したポリ塩化ビニル製手袋、ラップフィルムを 0.5 g 精ひょうし、有機スズ化合物を 10 μ g/g 及び 100 μ g/g となるように添加して、30 分放置後、各方法に従い試験操作を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 抽出法の検討

ポリ塩化ビニル中の有機スズ化合物の抽出法として、食品衛生法では四塩化炭素を含む溶媒で 4 時間の還流抽出を行っているが、有害試薬を使用しており、また操作が極めて煩

雑で回収率にも問題がある。一方、衛生試験法⁴⁾及び塩ビ食品衛生協議会自主基準⁵⁾等では、テトラヒドロフランによりポリ塩化ビニルを溶解した後 *n*-ヘキサンを滴下してポリマーを析出させて除去する溶解法が用いられている。また、我々はポリマーから溶媒抽出により目的成分を抽出する方法を用いて、ポリ塩化ビニル中の各種添加剤の分析を行ってきた。そこで、テトラヒドロフランによる溶解法⁶⁾とアセトン-*n*-ヘキサン (3:7) 混液による抽出法について、有機スズ化合物を含有する試料を用いて抽出量及び操作法を比較検討した。

抽出を行うに際し、プラスチックに添加される有機スズ化合物は、ジアルキルスズの各種誘導体であるが、酸性下では結合が切れて遊離のアルキルスズになること及び遊離のアルキルスズはガラス等に極めて吸着されやすいが酸性下では吸着が抑制されることから、塩酸酸性下で抽出を行うこととした。抽出時に 4 mol/l 塩酸 2 ml または塩酸 2 滴を添加したところ、水分の混入が少ない後の方が抽出液の脱水が容易であり、また抽出率も良好であったことから抽出時には塩酸を数滴添加することとした。

表 2 に示すように、DBT の抽出量は溶解法と抽出法ではほぼ同程度で、やや抽出法の方が高かった。その他の化合物も抽出法の方が高いものが多く、特に分子量の大きい DOT や TOT では抽出法の方が 1.5 倍程度高かった。これは溶解法において分子量の大きい化合物が *n*-ヘキサン添加により析出したポリマーに取り込まれて沈殿し、抽出量が低下したものと推定された。また、抽出法の方が操作もはるかに簡便であることから、アセトン-*n*-ヘキサン (3:7) 混液による抽出法を用いることとした。

次に抽出法における抽出回数と抽出効率について比較検討した³⁾。試料にはポリ塩化ビ

ニル製の食品用容器 3 検体、急須の注ぎ口及びホース各 1 検体、これらに比べて材質が極めて硬い水道用及び給湯用の硬質パイプ 3 検体を用いた。このうち、容器は急須の注ぎ口は DBT の含有が確認されたものであり、また、容器は MMT、DMT、MOT、DOT 及び TOT、硬質パイプは MBT、MOT、DOT 及び TOT の含有が確認されたものを使用した。DBT は 1 回目で 94%以上が抽出され、1 回の抽出操作で十分抽出できた。また、MMT、DMT、DOT 及び TOT も 1 回目ではほぼ全量が抽出されたが、MBT と MOT については、硬質の食品用容器及びパイプにおける抽出率が 70.8 ~ 80.9%と若干低い値を示し、材質の硬さが抽出率低下の原因と考えられた。そこで硬質で厚手の製品については粉末状に粉碎することとした。

また、抽出液を減圧濃縮後 *n*-ヘキサンに溶解すると、溶存していたポリマーの析出や懸濁が観察された。この簡易な除去方法として遠心分離を行ったところ、GC/MS 分析における注入口及びカラムの汚染を著しく軽減することができた。

2. TLC 法による測定

展開溶媒は文献^{2,5,7)}等から *n*-ヘキサン-酢酸 (8:1) (A 液)、*n*-ヘキサン-2-プロパノール-酢酸 (7:3:0.1) (B 液)、アセトン-酢酸 (100:1) (C 液) の 3 種類を用い、DBT 及び DOT 標準溶液と添加回収試験溶液について、感度及び分離を比較検討した (表 3)。その結果、標準溶液においては B 液で展開したものが発色強度が強く、DBT (*R_f* : 0.44) と DOT (*R_f* : 0.72) の *R_f* 値の差も大きかった。しかし、試料によっては含有される大量の可塑剤の影響を受け、*R_f* 値が変動して標準溶液と一致しなかった。これは C 液でさらに顕著であった。一方、A 液で展開したものはスポットのまとまりが極めてよく、

しかも可塑剤の影響を全く受けなかった。DBT (R_f : 0.29) と DOT (R_f : 0.34) の R_f 値の差が小さかったが、スポットのまとまりがよいため DBT と DOT の判別は十分可能であった (図 1)。

発色試薬については 0.5%ヘマトキシリン-エタノール溶液と 0.1%ピロカテコールバイオレット-エタノール溶液を比較検討した。前者により有機スズ化合物は薄い青色の背景の中に赤みがかかった青色のスポットを呈し、後者ではややまだらな黄褐色の背景の中に空色のスポットを呈した。背景とスポットの色彩の関係からヘマトキシリンで発色させた方がスポットを確認しやすかったが、両者の検出感度はほぼ同等であった。

一方、発色試薬噴霧の際、薄層板に酢酸が残っていると発色が不安定になるため、ドライヤー等で十分に揮散させる必要があった。

以上の結果から、展開溶媒として n -ヘキササン-酢酸 (8:1)、発色試薬には 0.5%ヘマトキシリン-エタノール溶液の組み合わせが最適と考えられた。この条件で標準溶液及び添加回収溶液を展開したところ、検出限界は試験溶液として 50 $\mu\text{g/ml}$ 、試料の材質あたり 25 $\mu\text{g/g}$ であり、食品衛生法で定める規格値の 50 $\mu\text{g/g}$ を超えているか否かは十分に判別可能であった。

しかし、TLC 法では定量や確認が不十分であることから、スクリーニング法としては適当であるが、規格試験法としては、ガスクロマトグラフィー法の方が優れていると考えられた。

3. ガスクロマトグラフィー法による測定

誘導体化してできたテトラアルキルスズのガスクロマトグラフィーによる測定法として、GC/AED、GC/MS、GC-FPD の 3 種類を比較検討した (図 2~5、表 4)。

(1) GC/AED による測定

GC/AED はマイクロ波で誘導したプラズマ発光を各元素固有の波長で測定する方法で、有機スズ化合物の分析については特に選択性が高く、極めて高分解能で高感度である。鈴木らの方法⁹⁾に準じて GC/AED の測定条件を設定し、9 種類の有機スズのグリニャール反応によるプロピル化標準溶液を測定した。図 2 に示すように、9 種類いずれもプロピル化体のピーク形状は極めてシャープで、良好な分離を示した。標準溶液による検出感度は、トリ体でやや低いが、すべての化合物で 1 ng/ml まで定量可能であり、極めて高感度であった。また、いずれの検量線も、1 ~ 1,000 ng/ml と広範囲にわたり良好な直線性を示した。

GC/AED は有機スズ化合物に対して極めて高感度であることから、材質試験では希釈をして最終液量を 100 ml とした。この場合の試料当たりの定量限界は、9 種類の有機スズすべてで 1.0 $\mu\text{g/g}$ であった。測定に際しては試験溶液を必要に応じてさらに希釈して測定した。

(2) GC/MS による測定

表 1 に示した定量イオンを用いて、9 種類の有機スズ化合物のテトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化標準溶液を測定した。GC/MS 測定の定量イオンは、夾雑成分の妨害を軽減するため、できる限り高質量域のイオンを用い、同時に 2 個のイオンを確認用として測定した。内部標準物質には規制対象物質の DBT や、検出頻度の高い MOT 及び DOT のピークに比較的近い位置に出現し、また環境中にほとんど存在しない TeBT を選んだ。

図 3 に示したように、9 種のエチル誘導体及び TeBT はすべて良好に分離し、標準溶液における DBT の定量限界は 10 ng/ml であり GC/AED に次いで高感度であった。最終の試験溶液量が少ないため、試料中の定量限界は

いずれの化合物とも塩化物換算で 1.0 $\mu\text{g/g}$ であり GC/AED と同様であった。メチルスズ化合物のピークが若干テーリングしたが、定量に支障はなかった。各誘導体の検量線は試料中の含有濃度として 10 ~ 5,000 ng/ml の広い範囲で良好な直線性を示した。ただし、5,000 ng/ml を超えると直線性が得られないので、高濃度検出された場合は上清を適宜希釈して再度アルキル化を行い定量する必要がある。食品用容器中の DOT では数十倍の希釈が必要な場合も見られた。また、GC/MS では SCAN モード測定により得られたマススペクトル (図 4) により化合物の確認も可能である。

(3) GC-FPD による測定

GC-FPD にスズフィルターを装着したものはアルキル化した有機リンの測定法として最もよく使われている。GC/MS と同じ 9 種のエチル誘導体及び TeBT を GC-FPD により測定したところ、すべて良好に分離したが (図 5)、GC/MS に比べ感度が悪く、5 μl と 5 倍量を注入しても DBT の標準溶液における定量限界は 100 ng/ml であった。そのため、試料中の定量限界は塩化物換算で 10 $\mu\text{g/g}$ であった。検量線は測定溶液中の含有濃度として 100 ~ 500 ng/ml の範囲で直線性が確認できたが、GC/AED や GC/MS と比べて直線範囲は狭く、定量時にはこの範囲内に試験溶液を調製する必要があり煩雑であった。

(4) ガスクロマトグラフィー法の比較

表 4 に示すように定量限界はそれぞれ GC/AED が 1.0 ng/ml、GC/MS が 10 ng/ml、GC-FPD が 100 ng/ml であり、3 種類の検出器のいずれも DBT の規格値である 50 $\mu\text{g/g}$ を定量するには十分な感度であった。標準溶液において最も定量感度が良く、かつ選択性が良かったのは GC/AED であるが、測定機器としてあまり普及していない。また、GC-FPD は検量線の直線範囲が狭い。そこで

普及率が高く、SCAN モードにより検出されたピークの確認も可能である GC/MS が測定方法として最も適当と考えられた。

4. アルキル化反応

モノ、ジ及びトリアルキルスズ化合物は、ガスクロマトグラフィー測定時にカラムに吸着しやすいことから、テトラアルキルスズとした後定量する方法が一般的である。そこでアルキル化反応として最も一般的なグリニャール試薬によるプロピル化と最近用いられるようになったテトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化について比較検討した。

(1) グリニャール試薬によるプロピル化

グリニャール試薬による誘導体化は最も一般的なアルキル化反応であり、試薬も安価で入手しやすい。グリニャール反応によるアルキル化としては、一般にメチル化からペンチル化が行われるが、メチル化及びブチル化では安定剤として使用されるメチルスズ化合物やブチルスズ化合物のアルキル基と識別できないことから、エチル化、プロピル化又はペンチル化が適当である。しかし、エチル化は反応が速いが暴走が起りやすく、ペンチル化は反応が極めて緩やかだが加熱等により反応を促進させる必要がある。そこで反応が緩やかでしかも室温程度で反応が進むプロピル化を行うこととした。

(2) テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化

テトラエチルホウ酸ナトリウムを用いたエチル化法は、近年、水質、底質及び生物試料中の有機スズのアルキル化法として用いられるようになった方法である。そこでポリ塩化ビニル中の有機スズのエチル化反応条件の検討を行った。

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液の pH、テトラエチルホウ酸ナトリウムの添加量及び反応時間を種々変化させて検討した。緩衝液の

pH を 3.6 ~ 5.6 に調整して反応させたところ、各有機スズ化合物のテトラブチルスズに対するピーク面積比はいずれも同じような傾向を示し pH4.0 以下では低く、pH4.6 ~ 5.6 でほぼ一定となった。そこで pH5.0 の緩衝液を用いることとした。

次に 2%テトラエチルホウ酸ナトリウムの添加量を 0.2 ~ 2 ml に変化して反応させたところ、0.2 ml では TOT のピーク面積比が小さくなる傾向を示したが、0.5 ml 以上ではすべてのピーク面積比が平衡に達した。また、反応時間も 5 ~ 60 分間で変化させたところ、10 分以上ですべての化合物が一定となり、特に大きな差は認められなかった。そこで、2%テトラエチルホウ酸ナトリウムの添加量を 1 ml、反応時間を 20 分とした。

また、得られた誘導体は冷蔵庫内保存で 5 日目まですべて安定であったが、それ以降、メチルスズ化合物は減少傾向を示した。

(3) アルキル化反応の比較

グリニャール試薬によるプロピル化とテトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化をポリ塩化ビニル粉末を用いた 7 種類のアルキルスズ化合物の添加回収試験により比較検討した (表 5)。

グリニャール試薬によるアルキル化では DBT の回収率は 10 μ g/g 添加で 77.1%、100 μ g/g 添加で 90.3% とほぼ良好であった。また、TBT、DOT 及び TOT も 62.0 ~ 92.3% とほぼ良好な結果であった。しかし、分子量の小さい DMT、TMT 及び MBT では 46.0 ~ 66.8% と低かった。一方、テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化では、7 種類のアルキルスズ化合物すべてで 85.1 ~ 107.7% と極めて良好な回収率が得られた。

このようにグリニャール法で低分子アルキルスズ化合物の回収率が低いのは、アルキル化の工程が長いことガラス器具等に吸着が起こりやすく、また、加温時や試薬除去時のバ

ブリング等により揮散が生じるためと考えられる。また、反応操作もテトラエチルホウ酸ナトリウムの方がはるかに簡便であった。

以上のことから、アルキル化法としてはテトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化が適当と考えられた。

5. 添加回収試験

以上の結果からポリ塩化ビニル中の DBT 及びその他のアルキルスズ化合物の分析法として、アセトン-*n*-ヘキサン (3:7) 混液により抽出を行い、テトラエチルホウ酸ナトリウムによりエチル化した後 GC/MS を用いて測定を行うという分析法を構築した。

そこでこの分析法を機関 A 及び B の 2ヶ所において添加回収試験を行った。機関 A では 9 化合物、機関 B では 5 化合物を対象とした。その結果、表 6 に示すように機関 A では DBT は 96.6 ~ 99.4% と極めて良好な回収率が得られ、MMT を除く 7 化合物についても 75.8 ~ 118.1% と良好な回収率であった。ただし、MMT についてはきょう雑物が多量に含まれるラップフィルム及び手袋で 49.1 ~ 63.3% とやや低かった。一方機関 B では 72.0 ~ 112.5% と機関 A より低いもののほぼ良好な回収率であった。機関 A ではこの方法の開発を行い分析に熟知していたのに対し、機関 B ではこの分析法をはじめに行ったがほぼ良好な結果が得られたことから、本法は多くの人が行う規格試験法として適当であることが示された。

また、以上の試験法検討に際しては内部標準を用いて定量を行ったが、DBT については GC/MS による測定値の変動が小さく、規格値の濃度も高いことから、絶対検量線でも十分に定量可能であった。

D. 結 論

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、抽出溶媒を酸性にしていなかったため回収率が十分でなく、測定は分離能が低い紙クロマトグラフィーを用いる等問題が多い。そこで四塩化炭素を用いず、しかも分析精度の優れた方法を検討した。

その結果、ポリ塩化ビニルを塩酸酸性下、アセトン-*n*-ヘキサン(3:7)混液で抽出を行い、テトラエチルホウ酸ナトリウムでエチル化し、GC/MSで測定する試験法を確立した。本法はDBTの回収率が84.0~99.4%と極めて良好であり、その他に8種類のアルキルスズ化合物も同時に測定可能である。また定量限界も1.0 µg/gと高感度であり、検出された化合物をGC/MSのスペクトルにより確認することができる。しかも、操作が簡便で安全性が高い等の利点がある。

そこで、本法を用いた食品衛生法の「食品、添加物等の規格基準 第3 器具及び容器包装」におけるポリ塩化ビニル材質試験のジブチルスズ化合物試験法の改正案を以下に示す。

ジブチルスズ化合物改正案

「B 器具又は容器包装一般の試験法」を以下のように改正する。

5 添加剤試験法

ジブチルスズ化合物

(1) 定性試験

試験溶液及びジブチルスズ標準溶液をそれぞれ2.0 mlを採り、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液5.0 ml及び2%テトラエチルホウ酸ナトリウム溶液1 mlを加えて直ちに密栓し、20分間激しく振り混ぜる。これを室温で約1時間静置した後、*n*-ヘキサン層を分取する。これらを1 µlずつ用いて、次の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行い、試験溶液のガスクロマトグラムと標準溶液のガスクロマトグラムのピークの検出時間

を比較する。

操作条件

カラム 内径0.25 mm、長さ30 mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフ用0~5%ジフェニルポリシロキサン含有ジメチルポリシロキサンを0.25 µmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 45℃で4分間保持した後、毎分15℃で昇温し、300℃に到達後10分間保持する。

試験溶液注入口温度 250℃

検出器 ジブチルスズ誘導体は質量数263で検出する。

キャリアーガス ヘリウムを用い、ジブチルスズ誘導体が約13分で流出する流速に調節する。

(2) 定量試験

(1)定性試験において試験溶液のガスクロマトグラムのピークの検出時間とジブチルスズ標準溶液のガスクロマトグラムのピークの検出時間が一致するときは、次の試験を行う。

(1)定性試験の操作条件の下で得られた試験結果を基とし、試験溶液中のジブチルスズ誘導体についてピーク高さまたはピーク面積により定量を行い、ジブチルスズ化合物の含量を求める。

「C 試薬、試液等」の各項を以下のように追加もしくは改正する。

(追加)

1 試薬

テトラエチルホウ酸ナトリウム(C₂H₅)₄BNa 本品はテトラエチルホウ酸ナトリウム98%以上を含む

2 試液

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 0.4 g を水に溶かして20 ml とする。調製後

は直ちに使用する。

酢酸－酢酸ナトリウム緩衝液 第1液：酢酸 11.4 ml を採り、水を加えて 100 ml とする。

第2液：酢酸ナトリウム 16.4 g を水に溶かして 100 ml とする。

第1液 3 容量と第2液 7 容量とを混和する。

(改正)

4 標準溶液、標準原液

ジブチルスズ標準溶液：二塩化ジブチルスズ 12.5 mg を採り、アセトンに溶かし塩酸を 2～3 滴加えて 100 ml とする。この液 1 ml を採り、*n*-ヘキサン及び塩酸 2～3 滴を加えて 100 ml とする。

「D 器具若しくは容器包装又はこれらの原材料の材質別規格」を以下のように改正する。

2 合成樹脂製の器具又は容器包装

(2) 個別規格

2. ポリ塩化ビニルを主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装

a. 材質試験

① ジブチルスズ化合物

試料を細切又は粉碎し、その 0.5 g を正確に量り、50 ml の共栓付フラスコに入れる。アセトン及び *n*-ヘキサンの混液 (3 : 7) 20 ml 及び塩酸 1 滴を加え、密栓をして約 40 °C に保ちながら時々振り混ぜて一晩放置する。冷後、この液をろ過し、ろ液及び洗液を合わせ、減圧濃縮器を用いて

40 °C 以下で約 1 ml まで濃縮する。次いで、*n*-ヘキサンを用いて 20 ml のメスフラスコに移し、*n*-ヘキサンを加えて 20.0 ml とする。毎分 2,500 回転で、約 10 分間遠心分離を行い、上澄液を試験溶液として添加剤試験法中のジブチルスズ化合物の試験を行うとき、その量は 50 ppm 以下でなければならない。

E. 文献

- 1) 河村葉子、前原玉枝、鈴木隆、山田隆：食品衛生学雑誌、41、246-253 (2000)
- 2) 大野浩之、鈴木昌子、岩間雅彦、中島重人、青山大器、山本勝彦：名古屋市衛生研究所報、42、17-20 (1996)
- 3) 大野浩之、鈴木昌子、中島重人、青山大器、三谷一憲：食品衛生学雑誌、43、208-214 (2002)
- 4) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2000、587 (2000)
- 5) 塩ビ食品衛生協議会編：“塩化ビニル樹脂製品などの食品衛生に係る自主規格第 12 版” (1999)
- 6) 塩ビ食品衛生協議会 会報、112、1-11 (1995)
- 7) 馬場二夫、佐々木清司：食品衛生学雑誌、30、321-323 (1989)
- 8) Suzuki, T., Matsuda, R., Saito, Y., Yamada, H., J. Agric. Food Chem., 42, 216-220 (1994)

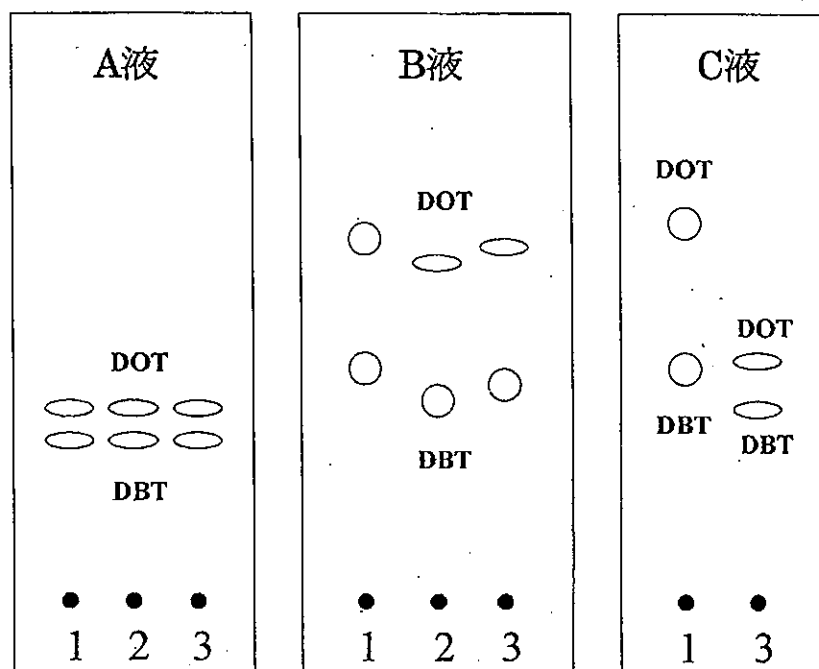


図1 各展開溶媒における添加回収試験 (50 µg/g) 溶液のTLC

展開溶媒; A液: *n*-ヘキサン-酢酸 (8 : 1)

B液: *n*-ヘキサン-2-プロパノール-酢酸 (7 : 3 : 0.1)

C液: アセトン-酢酸 (100 : 1)

試料; 1: 標準品 (絶対量 50 µg/g相当)、2: ラップフィルム, 3: 手袋

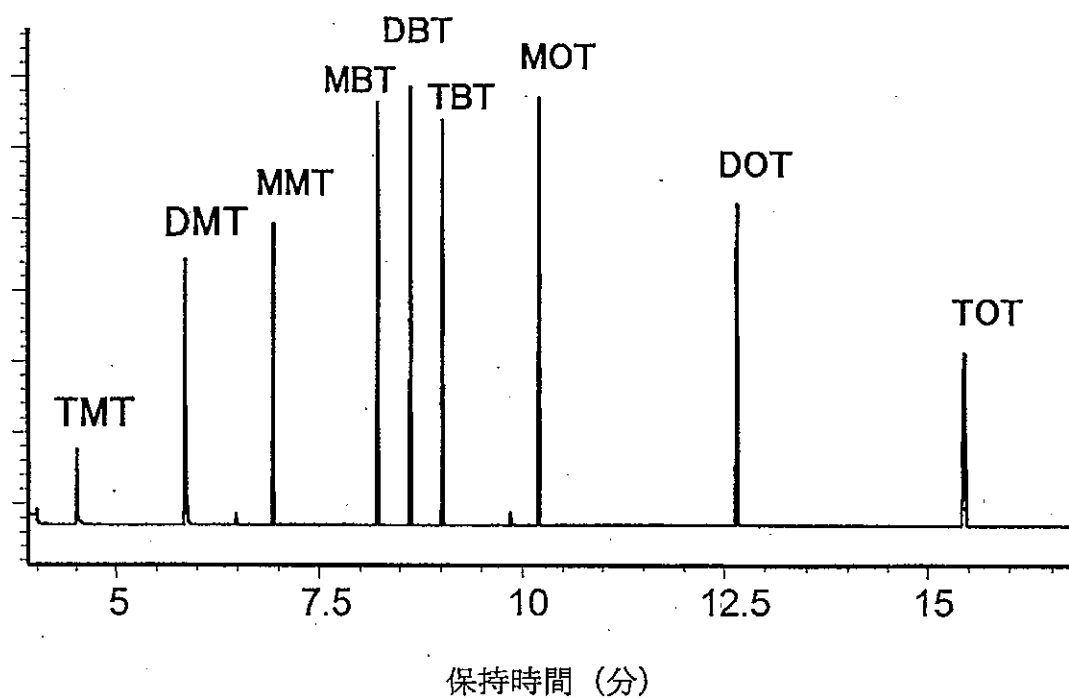


図2 GC/AEDによる有機スズ化合物標準溶液
(絶対量 50 µg/g 相当) のクロマトグラム

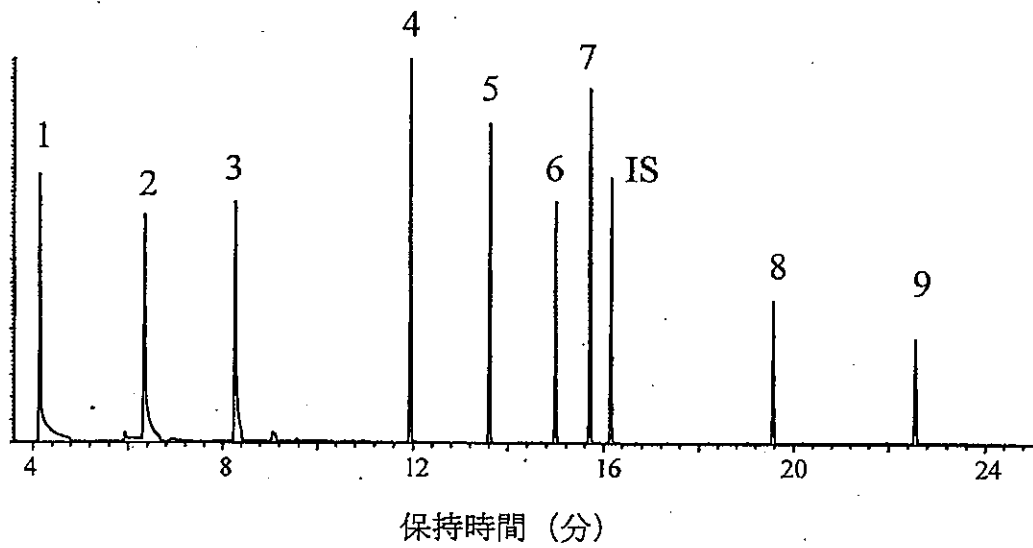


図3 GC/MSによる有機スズ化合物標準溶液

(絶対量 100 $\mu\text{g/g}$ 相当) のSIMクロマトグラム

1:TMT, 2:DMT, 3:MMT, 4:MBT, 5:DBT, 6:TBT, 7:MOT, 8:DOT, 9:TOT

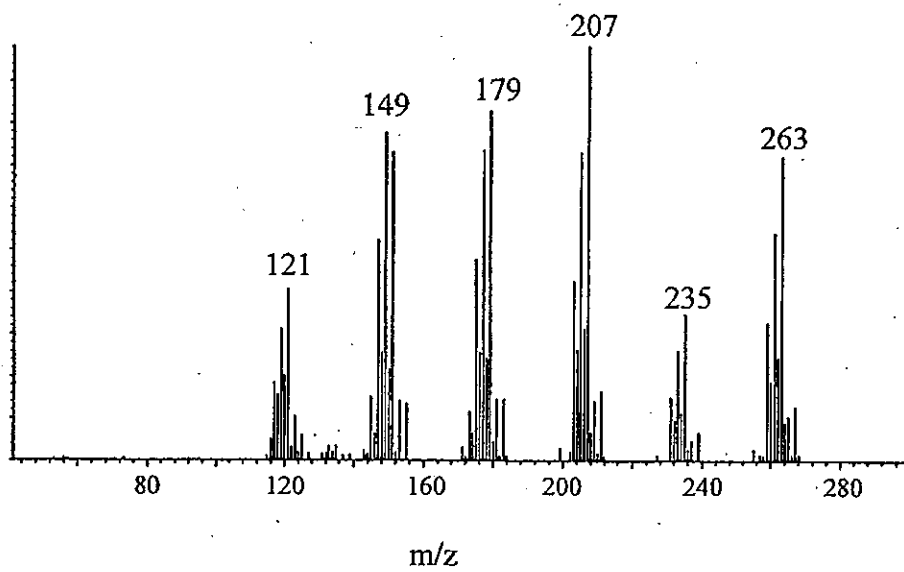


図4 ジブチルスズ化合物 (DBT) のエチル誘導体のマススペクトル

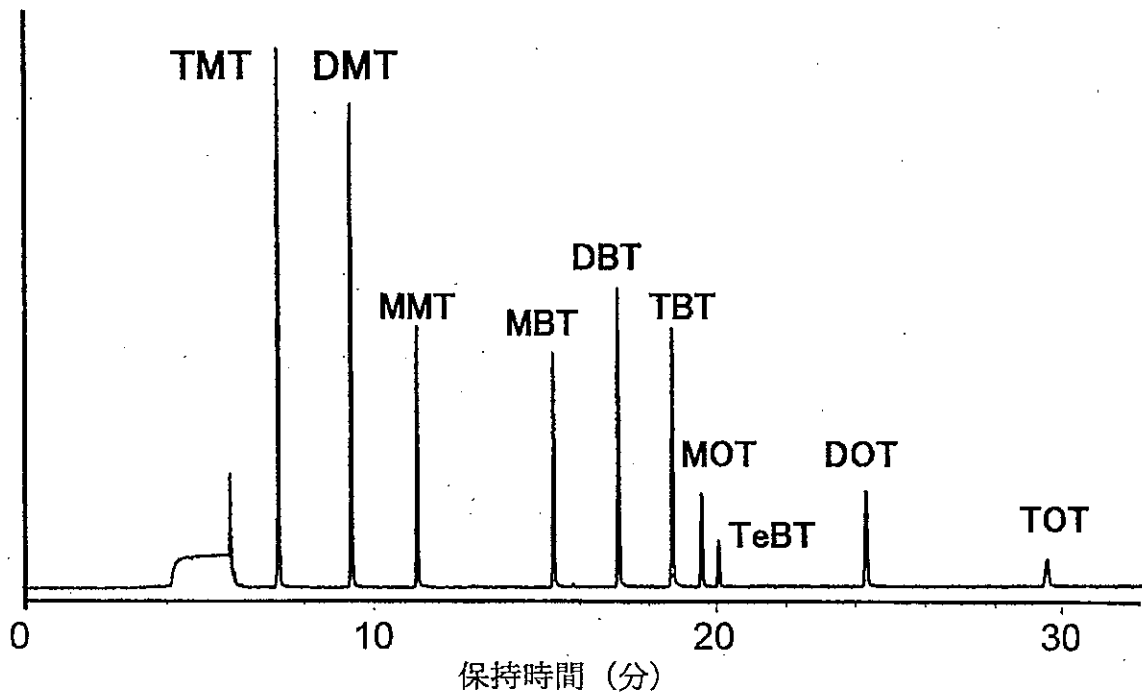


図5 GC-FPDによる有機スズ化合物標準溶液
(絶対量 50 $\mu\text{g/g}$ 相当) のクロマトグラム

表1 GC/MS測定における有機スズ化合物の定量イオン

化合物	定量イオン	確認イオン
Monomethyltin (MMT)	193	191, 189
Dimethyltin (DMT)	179	177, 175
Trimethyltin (TMT)	165	163, 161
Mono- <i>n</i> -butyltin (MBT)	235	233, 231
Di- <i>n</i> -butyltin (DBT)	263	261, 259
Tri- <i>n</i> -butyltin (TBT)	291	289, 263
Mono- <i>n</i> -octyltin (MOT)	291	289, 287
Di- <i>n</i> -octyltin (DOT)	375	373, 371
Tri- <i>n</i> -octyltin (TOT)	375	373, 459
Tetra- <i>n</i> -butyltin (TeBT)	291	289, 287

表2 ポリ塩化ビニル中の有機スズ化合物に対する抽出方法の比較

化合物	抽出量(μg/g)	
	溶解法	抽出法
MMT	81.4	85.0
DMT	305	280
DBT	18.6	20.5
MOT	162	182
DOT	6300	9750
TOT	67.0	91.2

溶解法:テトラヒドロフランによる溶解 n=2 or 3

抽出法:アセトン-*n*-ヘキサン (3:7) による抽出

表3 TLC法における展開溶媒とR_f値の比較

展開溶媒	R _f 値			
	標準溶液		添加試料(手袋)	
	DBT	DOT	DBT	DOT
<i>n</i> -ヘキサン-酢酸(8:1)	0.29(O)	0.34(O)	0.29(O)	0.34(O)
<i>n</i> -ヘキサン-2-プロパノール-酢酸(7:3:0.1)	0.44(O)	0.72(O)	0.41(O)	0.63(Δ)
アセトン-酢酸(100:1)	0.42(O)	0.61(O)	0.33(Δ)	0.44(Δ)

DBT, DOT:25 μg/g相当, スポット量:5 μl, 展開距離:約10 cm

():検出感度の評価、O:はっきり確認可能、Δ:かろうじて確認可能

表4. 検出器によるDBTの定量限界の比較

検出方法	注入量 (μl)	標準溶液 (ng/ml)	材質濃度 (μg/g)	アルキル化法
GC/AED	1	1	1.0	グリニャール試薬によるプロピル化
GC/MS	1	10	1.0	テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化
GC-FPD	5	100	10	テトラエチルホウ酸ナトリウムによるエチル化
TLC法	5	5,000	25	アルキル化なし

表5 グリニキヤール試薬によるプロピル化とテトラエチルホルホウ酸ナトリウムによるエチル化の添加回収率の比較

試薬	誘導体	添加量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)								
			DMT	TMT	MBT	DBT	TBT	MOT	DOT	TOT	
グリニキヤール試薬	プロピル化	10	66.8 ± 4.3	46.0 ± 7.0	47.6 ± 2.8	77.1 ± 5.1	62.0 ± 7.8	89.2 ± 2.2	92.2 ± 4.6		
		100	46.5 ± 5.8	58.0 ± 8.8	50.7 ± 4.3	90.3 ± 10.3	92.3 ± 8.8	85.8 ± 13.2	87.5 ± 15.7		
テトラエチルホルホウ酸ナトリウム	エチル化	10	107.7 ± 2.8	94.0 ± 2.3	90.4 ± 4.7	96.6 ± 1.2	99.9 ± 0.7	100.7 ± 3.8	95.5 ± 1.1		
		100	102.2 ± 2.2	105.0 ± 3.7	85.1 ± 2.7	99.4 ± 0.9	101.2 ± 1.1	97.6 ± 1.8	95.9 ± 3.4		

回収率:アルキルスズは塩ビパウダーに添加し, 4~5試行の平均値±S.D.で示した。

表6 テトラエチルホルホウ酸ナトリウムによりエチル化したアルキルスズの添加回収率

測定機関	試料	添加量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)								
			MMT	DMT	TMT	MBT	DBT	TBT	MOT	DOT	TOT
機関A	ポリ塩化ビニルパウダー	10	90.4 ± 8.6	107.7 ± 2.8	94.0 ± 2.3	90.4 ± 4.7	96.6 ± 1.2	99.9 ± 0.7	95.4 ± 5.0	100.7 ± 3.8	95.5 ± 1.1
		100	83.2 ± 4.7	102.2 ± 2.2	105.0 ± 3.7	85.1 ± 2.7	99.4 ± 0.9	101.2 ± 1.1	88.0 ± 3.4	97.6 ± 1.8	95.9 ± 3.4
機関A	ラップフィルム 手袋	10	49.1 ± 5.2	99.8 ± 2.3	95.9 ± 4.3	75.8 ± 4.7	97.3 ± 0.9	98.4 ± 1.2	118.1 ± 5.2	102.0 ± 1.5	108.3 ± 4.0
		100	51.2 ± 3.5	94.7 ± 2.6	96.1 ± 2.0	82.7 ± 3.1	96.6 ± 1.2	100.9 ± 1.3	115.0 ± 4.6	98.3 ± 5.9	101.2 ± 2.1
機関B	ラップフィルム 手袋	10	61.7 ± 5.7	91.1 ± 2.8	92.3 ± 2.8	76.6 ± 3.8	99.0 ± 2.9	98.3 ± 1.9	96.7 ± 4.3	105.5 ± 5.2	116.3 ± 4.2
		100	63.3 ± 4.7	86.1 ± 3.1	91.3 ± 1.7	78.4 ± 5.4	98.1 ± 1.6	100.1 ± 1.4	104.0 ± 3.9	113.0 ± 4.6	108.0 ± 4.5
機関B	ポリ塩化ビニルパウダー	10	112.5 ± 9.7	72.0 ± 11.4			90.5 ± 5.0	105.0 ± 2.0		84.5 ± 1.9	
		100	75.6 ± 4.3	76.7 ± 5.3			91.4 ± 0.2	88.9 ± 0.6		96.5 ± 2.3	
機関B	ラップフィルム 手袋	10	106.0 ± 3.7	83.5 ± 3.4			84.0 ± 2.8	104.5 ± 1.9		85.5 ± 1.0	
		100	81.3 ± 3.8	72.3 ± 2.3			89.2 ± 3.1	92.8 ± 3.4		89.3 ± 4.0	
機関B	手袋	10	107.5 ± 4.1	86.0 ± 4.3			88.5 ± 1.0	105.0 ± 1.2		89.0 ± 2.6	
		100	83.5 ± 4.0	72.7 ± 1.8			86.7 ± 1.8	89.7 ± 0.9		97.9 ± 3.0	

回収率:アルキルスズは塩ビパウダーに添加し, 3~4試行の平均値±S.D.で示した。

＜その2＞ポリエチレンテレフタレート (PET) におけるアンチモン、 ゲルマニウムの溶出試験法の改良

研究協力者 柿本幸子 池辺克彦 大阪府立公衆衛生研究所

A. 研究目的

ポリエチレンテレフタレート (Polyethylene terephthalate, PET) は、熱可塑性ポリエステルの一つであり、テレフタル酸またはそのジメチルエステルとエチレングリコールの縮重合物である。PET は強靱性、耐薬品性、透明性に優れており、繊維、フィルム、食品用途では中空成形容器、トレーなどに、ガラス繊維を加えた強化 PET は電子部品、自動車などに使用されている。また、我が国の PET の生産量は約 70 万トン (2000 年) で年々需要が増える傾向にある^{1,2)}。

透明度の高い製品を製造する場合には、触媒としてアンチモン、ゲルマニウムが使用されるが、製品中にごく微量であるが残留する。アンチモンの経口中毒として、激しい嘔吐、粘膜壊死、下痢、ゲルマニウムの毒性として、著しい体温低下、下痢、チアノーゼなどが観察される。そのため、食品衛生法では溶出試験でアンチモン 0.05 ppm 以下、ゲルマニウムでは 0.10 ppm 以下と定められている。食品衛生法で定める規格試験³⁻⁶⁾ではゲルマニウムは回収率、相対標準偏差ともに優れているが、アンチモンの回収率は決して良好とはいえない。また、溶出液の灰化時間に約 4 時間、更にゲルマニウムでは抽出操作に約 2 時間と長時間を必要とし、さらにゲルマニウムでは人体に有害で規制の対象となっている四塩化炭素を使用している。そこで、広く試験研究機関で汎用されているフレームレス原子吸光度計、また高感度、高精度に多元素を同時に分析できる高周波誘導結合プラズマ発光分析

装置、高周波誘導結合プラズマ質量分析装置を使用して、簡単、迅速に精度よく、しかも四塩化炭素を使用しない安全な方法でアンチモン及びゲルマニウム試験法を確立することを目的として本研究を実施した。

B. 研究方法

1. 試料

市販の PET 製無色透明のボトル 10 試料: A 社 (果実・野菜ミックスジュース 930 g、清涼飲料水 500 mL)、B 社 (炭酸飲料 500 mL、30% 混合果汁入り飲料 500 mL)、C、F、G 社 (清涼飲料水 500 mL)、D 社 (炭酸飲料 500 mL)、E 社 (ウーロン茶飲料 500 mL)、H 社 (30% 混合果汁入り飲料 500 mL)、PET 原材料のペレット 3 試料、PET の原材料ペレットパウダー 1 試料、PET 繊維からできたネット 1 試料

2. 試薬及び試液

アンチモン、ゲルマニウム、ケイ素はいずれも和光純薬工業 (株) 製 1000 ppm 原子吸光分析用標準液を使用した。硝酸、硫酸、塩酸は和光純薬工業 (株) 製 有害金属測定用、酢酸は和光純薬工業 (株) 製 試薬特級を、水素化ホウ素ナトリウムは和光純薬工業 (株) 製原子吸光分析用を使用した。酸化マグネシウム、硝酸マグネシウム・6 水和物は和光純薬工業 (株) 製 試薬特級を使用した。水は使用用途によってイオン交換水、または超純水を使用した。水素化物発生装置には、1 mol/L 塩酸、1% 水素化ホウ素ナトリウム (1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液) を使用した。

3. 装置

フレームレス原子吸光光度計：日本ジャーレル・アッシュ（株）製 AA-855 フレームレスアトマイザ FLA-100 型

高周波誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP）：セイコーインスツルメンツ（株）製 SPS-1200A

高周波誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）：島津製作所（株）製 ICPM-8500

水素化物発生装置：セイコーインスツルメンツ（株）製 HYDRIDE GENERATOR MODEL THG-1200

分光光度計：日立製作所（株）製 U-3210 形自記分光光度計

蛍光 X 線分析装置：日本電子（株）製 ELEMENT ANALYZER JSX-3201

電気炉：ヤマト科学（株）製 Muffle Furnace FP41

フーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）：日本分光（株）製 FT/IR-350

純水製造装置：ヤマト科学（株）Autostill WA53/73

超純水製造装置：Millipore（株）製 MILLI-QLabo

4. フレームレス原子吸光光度計測定条件

アンチモン 測定波長：217.6 nm、感度：0.25；乾燥電流値：20 A、時間：30 s；灰化電流値：50 A、時間：30 s；原子化電流値：220 A、時間：5 s

ゲルマニウム 測定波長：265.2 nm、感度：0.3；乾燥電流値：20 A、時間：30 s；灰化電流値：50 A、時間：30 s；原子化電流値：300 A、時間：5 s

アンチモン、ゲルマニウム共にランプ電流値：12 mA、アルゴン流量：2.0 L/min、サンプル量：10 μ L

5. 高周波誘導結合プラズマ発光分析装置測定条件

高周波出力：1.2 kW、アンチモン測定波長：231.147 nm、ゲルマニウム測定波長：265.118 nm、キャリアガス：Ar 1 L/min、プラズマガス：Ar 16 L/min、補助ガス：Ar 0.5 L/min

6. 高周波誘導結合プラズマ質量分析装置測定条件

高周波出力：1.2 kW、サンプリング深さ：5.0 mm、クーラントガス：Ar 7.0 L/min、プラズマガス：Ar 1.5 L/min、キャリアガス：Ar 0.56 L/min、測定質量数：アンチモン（121、123）、ゲルマニウム（72、73、74）

7. 試験溶液の調製

PET 容器は 4%酢酸溶液を充填し、60°C、30 分間溶出を行い、その溶出液を試験溶液とした。合成樹脂などでは、表面積 1 cm^2 当たり 2 mL の割合で調製した試験溶液の濃度で示しているが、液体を満たせる試料については、下記に示す換算溶出量として求めた。

$$\text{換算溶出量} = \text{試験溶液の濃度} \times \text{溶出溶媒量/表面積} \times 2$$

PET 製品の原材料となるペレットの表面積は測れないので、1 g を 1 cm^2 と考え、1 g あたり 2 mL の溶媒で溶出することとした。ネットは、ゴム芯の周りを PET 繊維で覆ってある製品のため、繊維とゴムそれぞれの重量を測定し、繊維 1 g に溶出溶媒 2 mL の割合になるように溶出量を換算して算出した。

PET 原材料のペレット、ペレットパウダー、ネットは溶出液に浮遊物が見られたので、溶出液を濾過し試験溶液とした。

8. 添加回収実験

PET 容器にアンチモン、ゲルマニウムの標準溶液を含んだ 4%酢酸溶液を充填し、60°C、30 分間溶出試験（n=5）を行い、本法に従い試験操作を行った。

C. 研究結果及び考察

1. 測定用試験溶液に使用する酸の種類 の検討

試験溶液の酸の種類を検討するために、水溶液、4%酢酸溶液、0.5 mol/L 硝酸溶液、10%硫酸溶液でそれぞれ調製したアンチモン、ゲルマニウム標準溶液をフレイムレス原子吸光光度計、ICP-MS で測定した。その結果、10%硫酸溶液ではゲルマニウムがフレイムレス原子吸光光度計測定時に GeS、GeO になって昇華するため測定できなかった。また、ICP-MS では硫酸の粘性による噴霧効率が低下することにより、アンチモン、ゲルマニウムは最も強度の高かった水溶液に比べて約 20-30% の強度しか検出されなかった。以上のことより 10%硫酸溶液は試験溶液として使用することは不適と考えた。一方、アンチモン、ゲルマニウムの 0.5 mol/L 硝酸溶液、4%酢酸溶液、水溶液は、フレイムレス原子吸光光度計、ICP-MS で図 1-4 に示すように良好な直線性が得られた。そのため、どの溶液を選択しても十分なピーク強度を得られると考え、公定法で PET の溶出試験に用いている 4%酢酸溶出液を直接測定溶液として分析に供する簡便な方法を検討した。

2. 溶出液中の共存元素による干渉作用

4%酢酸溶出液を直接測定した場合、溶出液中の共存元素により測定対象物質が干渉を受ける可能性があるため、まず PET 溶出液について ICP-MS で定性分析を行い共存元素を調べた。その結果、質量数 28 の大きなピークが検出された。これは、酢酸溶液中の炭素、酸素、窒素原子等による多原子イオンの干渉を受けている可能性も考えられたが、ケイ素のマススペクトルと重なったため、ケイ素に由来するピークであることが分かった。

そこで、ケイ素によるアンチモン、ゲルマ

ニウムに与える影響を検討するために、標準溶液にケイ素を添加してフレイムレス原子吸光光度計、ICP-MS で分析を行った。フレイムレス原子吸光光度計では、アンチモン 0.2 ppm、ゲルマニウム 0.4 ppm 標準溶液 (0.5 mol/L 硝酸溶液) の 10、100、1000 倍の濃度になるようにケイ素を添加し、強度の変化を見た。その結果、アンチモンについては、ケイ素の濃度が増加してもほとんど変化はなかったが、ゲルマニウムについては若干増感作用を認めた。一方 ICP-MS では、アンチモン 25 ppb の 40-200 倍、ゲルマニウム 50 ppb の 20-100 倍になるようにケイ素を添加し測定したが、ケイ素の濃度が増加してもアンチモン、ゲルマニウムの強度の変化はほとんどなかったため、ICP-MS での 4%酢酸溶出液中のケイ素による干渉はないと考えられた。

また、ICP-MS では、酢酸溶液中の他の共存元素によるインターフェース部の汚れからイオン透過率が変化し、測定元素の強度が変化することが考えられるため、4%酢酸標準溶液を 10 回連続測定して、アンチモン、ゲルマニウムの強度の変化を検討した。測定は干渉作用の影響をみるため、ゲルマニウムは 72、73、74 の質量数を、アンチモンは 121、123 の質量数で測定した。その結果、図 5 に示すようにアンチモン、ゲルマニウムは、共存元素の干渉作用を受けることなく、ほとんど強度の変化なしに測定することができた。定量は最も同位体比率の大きい質量数であるアンチモン : 121、ゲルマニウム : 74 をそれぞれ選択した。

以上のことから、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-MS に供することは問題ないと考えられた。

3. 公定法での添加回収実験

公定法に従い、PET 容器を使用して溶出試験の添加回収実験（アンチモン 0.05 ppm、ゲルマニウム 0.10 ppm）を行った。PET 容器にアンチモン、ゲルマニウムの 4%酢酸溶液を充填し、溶出液を試験溶液として以下分析を行った。その結果、ゲルマニウムの回収率は 102%、相対標準偏差は 2.3%と良好であった。一方、アンチモンの回収率は 73%、相対標準偏差は 5.2%であり、良好な回収率は得られなかった。そこで、ヨード・L-アスコルビン酸試液と反応後のアンチモン標準溶液（濃度：blank、0.1 ppm、0.2 ppm、0.3 ppm）を冷暗所で保存し、10 日間連続で吸光度の測定を行い、その経時変化を調べた。その結果、図 6 に示すように 3 日まではほぼ安定した数値と検量線が得られたが、それ以上の日が経つにつれて一定の吸光度を示さなくなった。すなわち、反応後のアンチモン標準物質が不安定であることが、回収率が低下した一因であると考えられた。

4. 本試験法による添加回収実験

フレイムレス原子吸光光度計、ICP、ICP-MS を用いて、PET 溶出試験の添加回収実験を行った（フレイムレス原子吸光光度計で測定する場合の添加濃度：アンチモン 0.05 ppm、ゲルマニウム 0.10 ppm；ICP、ICP-MS で測定する場合の添加濃度：アンチモン 0.025 ppm、ゲルマニウム 0.050 ppm）。

その結果、フレイムレス原子吸光光度計では、アンチモン、ゲルマニウムの回収率はそれぞれ 96、99%、相対標準偏差は 1.8、1.9%と良好な値を示し、また ICP-MS ではアンチモン、ゲルマニウムの回収率は、それぞれ 101%、100%と、相対標準偏差も 2.3、1.7%と良好な結果が得られた。同じ試験溶液を ICP を用いて（アンチモンについては必要に

応じて水素化物発生装置を接続して）分析した結果、アンチモン、ゲルマニウムの回収率は 104、98%、相対標準偏差は、それぞれ 9.5、17.8%であった（表 1）。ICP でそれぞれの標準溶液の検量線を作成すると、水素化したアンチモン（blank、10 ppb、25 ppb、50 ppb、75 ppb）もゲルマニウム（blank、20 ppb、50 ppb、100 ppb、150 ppb）も良好な直線性が得られた。アンチモンの規格値 0.05 ppmは、還元せずに ICP で測定することも十分可能であったが、本研究では ICP に水素化物発生装置を用いて強度を上げて測定を行った。

5. PET 材質中のアンチモン、ゲルマニウムの含有量

PET 試料 0.5 g を石英るつぼにとり、バーナーの間接火でゆっくりと炭化させた試料を電気炉で乾式灰化を行った。アンチモンを分析する場合は、試料に酸化マグネシウム少量を加えアルカリ性にし、50%硝酸マグネシウム・6 水和物溶液 0.5 mL で浸潤させた後、試料を乾燥させてから乾式灰化した。試料は白くなるまで灰化させ、0.5 mol/L 硝酸溶液で溶解しそれぞれ希釈して分析を行った⁷⁾。その結果、アンチモンの回収率は 97%、相対標準偏差は 1.0%で、ゲルマニウムの回収率は 104%、相対標準偏差は 0.2%と良好であった。

フーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）で PET であると確認した（図 7）市販の 10 試料の PET 製品と原材料のペレット 3 試料、ペレットを粉砕したパウダー 1 試料、PET 製のネット 1 試料の材質中のアンチモン、ゲルマニウムの含有量の分析を試みた。

まず、蛍光 X 線分析装置で材質成分中にアンチモン、ゲルマニウムのいずれの元素が含有されているか定性分析を行った。PET ペレット 1、3、ネット、PET 容器 2、4、7、9 でアンチモンが認められ、PET ペレット 2、PET

パウダー 1、PET 容器 1、3、5、6、8、10 でゲルマニウムが認められた。

これらの試料で上記の方法により灰化操作を行い、フレームレス原子吸光光度計、ICP-MS で PET 材質中のアンチモン、ゲルマニウム含有量の定量分析を行った。その結果、アンチモンで 169-260 ppm、ゲルマニウムで 28-57 ppm であり、異なる PET 製品でもアンチモン、ゲルマニウムのそれぞれの含有量に大きな差はないことがわかった (表 2)。また、蛍光 X 線の分析では、試料中元素の含有量が ppm オーダーで微量のため定量結果との相関性は認められなかったが、定性試験には有用であった。

6. 公定法及び本試験法による PET 容器の溶出試験

アンチモンまたはゲルマニウムを含有していることを確認した PET 容器 10 試料に 4% 酢酸溶液を充填し、60°C、30 分間溶出試験を行い、公定法及び本試験法に従ってフレームレス原子吸光光度計、ICP-MS で分析を行った。その結果、アンチモン、ゲルマニウム共に検出されなかったため、さらに厳しい条件である 95°C、30 分間の溶出試験を行い、ICP-MS で測定を行ったが、アンチモン、ゲルマニウムはいずれの試料からも検出されなかった (表 3)。

7. PET 容器の原材料となるペレット等の溶出試験

PET ペレット 3 試料、PET パウダー 1 試料、ネット 1 試料に 4% 酢酸溶液を充填し、60°C、30 分間溶出試験を行い、ICP-MS で測定した。PET 容器とほぼ同濃度のアンチモンが検出されたペレット 1、3 では、それぞれ 11.6 ppb、21.6 ppb のアンチモンが溶出された。60°C、30 分間の溶出試験で用いたペレット 1、3 を使って更に 95°C、30 分間溶出試験を行ったと

ころ、それぞれ 17.9 ppb、29.3 ppb とやや多くアンチモンが溶出され、溶出条件が厳しいほど溶出されやすい傾向にあった。一方、ペレットを粉砕した PET パウダー 1 では、ペレット 2 に比べ材質中のゲルマニウムの濃度比が 1.7 倍であるのに対し、60°C 30 分間の溶出試験では、ゲルマニウムの溶出量がペレット 2 で 2.5 ppb、パウダー 1 で 43.6 ppb であり、パウダーにするとペレットより約 10 倍溶出されやすい結果となった。また、ネット材質中でのアンチモンは 214 ppm とペレット 1 とほぼ同濃度であったが、60°C、30 分間の溶出試験で溶出されたアンチモンは 1,273.2 ppb とペレット 1 と比べると約 134 倍溶出されやすかったことになる。

このように PET 材質中のアンチモン、ゲルマニウムは含有量よりも、PET 製品の形体、特にその表面積によって溶出の度合いに大きな差が見られることがわかった。

なお、ネットは 60°C、30 分間のアンチモン溶出量よりも 95°C、30 分間での溶出量が 537.4 ppb と低濃度になっている。これは PET 繊維が、ペレットと違って柔らかい繊維のため一回目の溶出試験で表層のゲルマニウムが溶出されてしまったためと考えられる (表 4)。

このように、容器からペレット、パウダーへと、溶出溶媒に接触する面積が大きく、またネットのように柔らかい繊維になると、材質中から溶出する量も増える傾向にあることがわかった。

D. 結論

公定法による PET 容器を用いたアンチモン溶出試験の添加回収実験では、回収率は 73%、相対標準偏差は 5.2% と必ずしも良好な回収率とはいえなかった。一方、ゲルマニウムの添加回収率は 102%、相対標準偏差は

2.3%と良好であったが、アンチモンと同様に溶出液を濃縮・灰化するのに長時間を必要とし、また人体に有害で規制されている四塩化炭素を使用している。よって、広く試験研究機関で汎用されているフレイムレス原子吸光度計と、高感度、高精度に多元素を同時に分析できるICPまたはICP-MSを使った簡単、迅速・安全でしかも高精度な試験法への改正が必要である。

そこで、1 cm²あたり2 mLの割合で満たした4%酢酸溶液を直接試験溶液とし、フレイムレス原子吸光度計、ICP または ICP-MSのいずれかで測定する分析法を検討した。アンチモン、ゲルマニウムの添加回収実験を行った結果、回収率も相対標準偏差も良好な結果が得られた。また溶出液を直接測定することから、長時間を要する灰化处理を必要とせず、煩雑な抽出操作をしないことから時間を大幅に短縮することができた。従って、本法は、簡単、迅速で安全な分析法で、しかも高精度なPET容器中のアンチモン、ゲルマニウムの溶出試験法として有用性が高い分析法であると考える。

E. 文献

- 1) 中央法規編：食品安全性セミナー7 器具・容器包装, 87-92 (2002)
- 2) 厚生省生活衛生局監修：総説 食品用プラスチック, 190-192 (1988)
- 3) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2000, 610-611 (2000)
- 4) 食品衛生研究会編：平成14年版食品衛生小六法, 1176-1177 (2001)
- 5) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 理化学編, 622 (1991)
- 6) 厚生省生活衛生局監修：食品衛生検査指針 理化学編, 625 (1991)
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2000, 378-379 (2000)

表1. ポリエチレンテレフタレート (PET) 容器のアンチモン、ゲルマニウム溶出試験添加回収実験

Sb			
	フレームレス原子吸光度計	ICP-MS	ICP (+水素化物発生装置)
平均回収率(%)	96	101	104
相対標準偏差(%)	1.8	2.3	9.5

Ge			
	フレームレス原子吸光度計	ICP-MS	ICP
平均回収率(%)	99	100	98
相対標準偏差(%) (n=5)	1.9	1.7	17.8

表2. ポリエチレンテレフタレート (PET) 製品の材質試験

	定性試験		定量試験	
	蛍光X線分析装置		フレームレス原子吸光度計	
	Sb(積分強度)	Ge(積分強度)	Sb(ppm)	Ge(ppm)
ポリエチレンテレフタレートペレット1	804	ND	260	ND
" ペレット2	ND	1901	ND	30
" ペレット3	939	ND	180	ND
"パウダー1	ND	3419	ND	51
" ネット	1595	ND	214	ND
容器1 (A社: 果実・野菜ミックスジュース)	ND	2196	ND	28
容器2 (B社: 炭酸飲料)	966	ND	169	ND
容器3 (C社: 清涼飲料水)	ND	1813	ND	47
容器4 (D社: 炭酸飲料)	1859	ND	249	ND
容器5 (B社: 30%混合果汁入り飲料)	ND	2073	ND	57
容器6 (E社: ウーロン茶飲料)	ND	1929	ND	51
容器7 (F社: 清涼飲料水)	1725	ND	214	ND
容器8 (G社: 清涼飲料水)	ND	1798	ND	53
容器9 (A社: 麦茶(清涼飲料水))	1317	ND	237	ND
容器10 (H社: 30%混合果汁入り飲料)	ND	1817	ND	35

定量試験でのアンチモン検出限界: 16 ppm以下 ゲルマニウム検出限界: 3 ppm以下

表3. ポリエチレンテレフタレート (PET) 製品の溶出試験法

	公定法		フレームレス原子吸光		ICP-MS	
	60°C、30分間		60°C、30分間		60°C、30分間	
	Sb	Ge	Sb	Ge	Sb	Ge
容器1 (A社: 果実・野菜ミックスジュース)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器2 (B社: 炭酸飲料)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器3 (C社: 清涼飲料水)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器4 (D社: 炭酸飲料)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器5 (B社: 30%混合果汁入り飲料)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器6 (E社: ウーロン茶飲料)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器7 (F社: 清涼飲料水)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器8 (G社: 清涼飲料水)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器9 (A社: 麦茶(清涼飲料水))	ND	ND	ND	ND	ND	ND
容器10 (H社: 30%混合果汁入り飲料)	ND	ND	ND	ND	ND	ND

公定法 アンチモン検出限界: 25 ppb以下、ゲルマニウム検出限界: 25 ppb以下
 フレームレス原子吸光度計 アンチモン検出限界: 0.2ppb以下、ゲルマニウム検出限界: 0.4 ppb以下
 ICP-MS アンチモン検出限界: 0.1 ppb以下、ゲルマニウム検出限界: 0.2 ppb以下

表4. ポリエチレンテレフタレート (PET) ペレット、パウダーとネットの材質試験と溶出試験

	材質試験		溶出試験: ICP-MS			
	フレームレス原子吸光		60°C30分間		95°C30分間*	
	Sb(ppm)	Ge(ppm)	Sb(ppb)	Ge(ppb)	Sb(ppb)	Ge(ppb)
ポリエチレンテレフタレートペレット1	260	ND	11.6	ND	17.9	ND
# ペレット2	ND	30	ND	2.5	ND	6.0
# ペレット3	180	ND	21.6	ND	29.3	ND
# パウダー1	ND	51	ND	43.6	ND	89.6
# ネット	214	ND	1273.2	ND	537.4	ND

*60°C30分間の溶出試験と同じ試料を使用した
 定量試験でのアンチモン検出限界: 16 ppm以下 ゲルマニウム検出限界: 3 ppm以下
 溶出試験でのアンチモン検出限界: 0.1 ppb以下、ゲルマニウム検出限界: 0.2 ppb以下

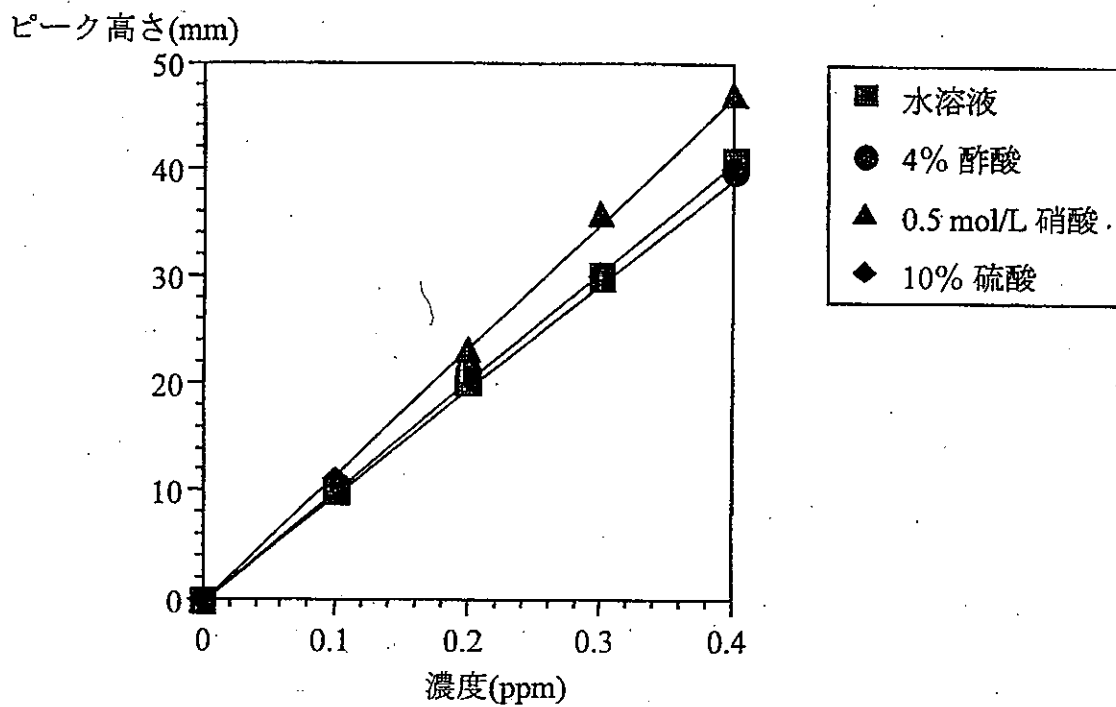


図 1. 酸の種類によるアンチモン標準溶液の検量線
(フレイムレス原子吸光光度計での強度の比較)

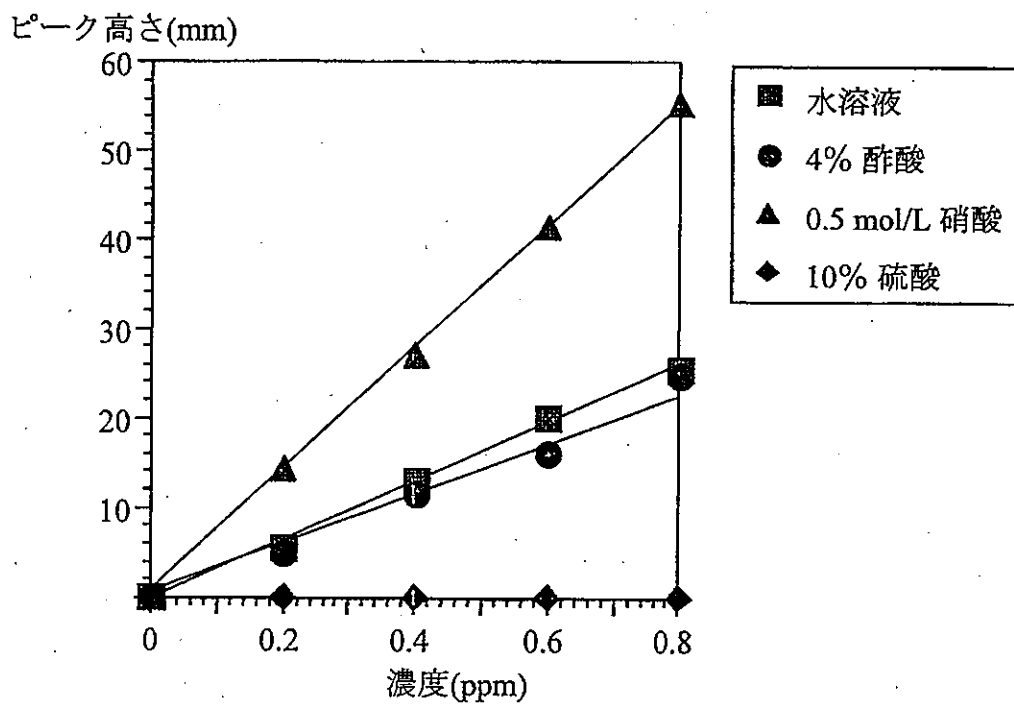


図 2. 酸の種類によるゲルマニウム標準溶液の検量線
(フレイムレス原子吸光光度計での強度の比較)

イオン強度

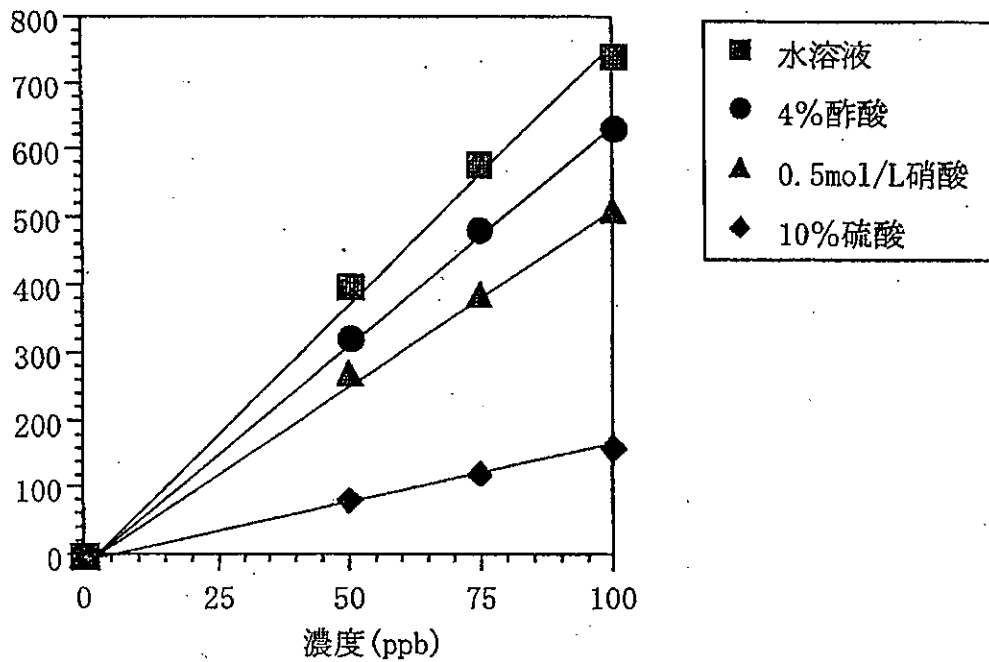


図 3. 酸の種類によるアンチモン (質量数: 121) 標準溶液の検量線 (ICP-MSでの強度の比較)

イオン強度

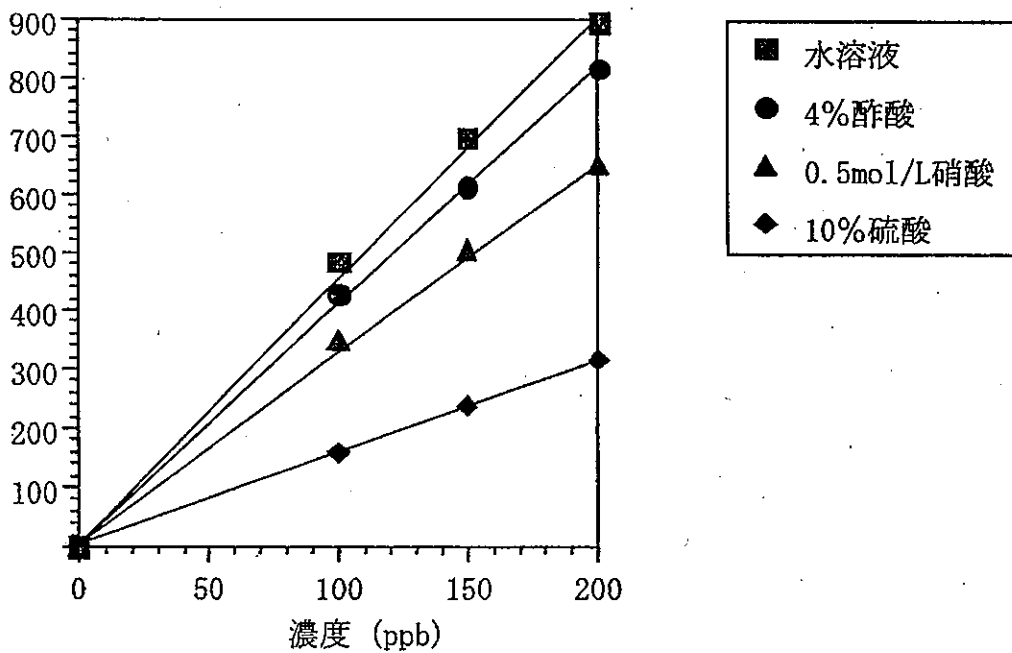


図 4. 酸の種類によるゲルマニウム (質量数: 74) 標準溶液の検量線 (ICP-MSでの強度の比較)

イオン強度

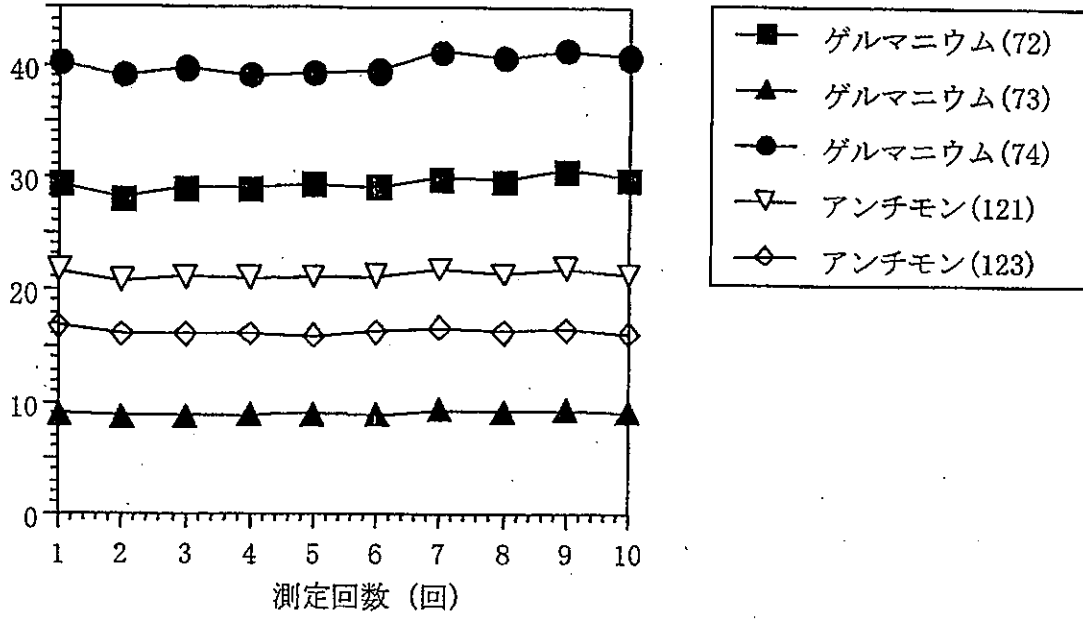


図5. アンチモン25 ppb、ゲルマニウム50 ppb標準溶液（4%酢酸溶液）の共存元素による干渉作用の影響

吸光度

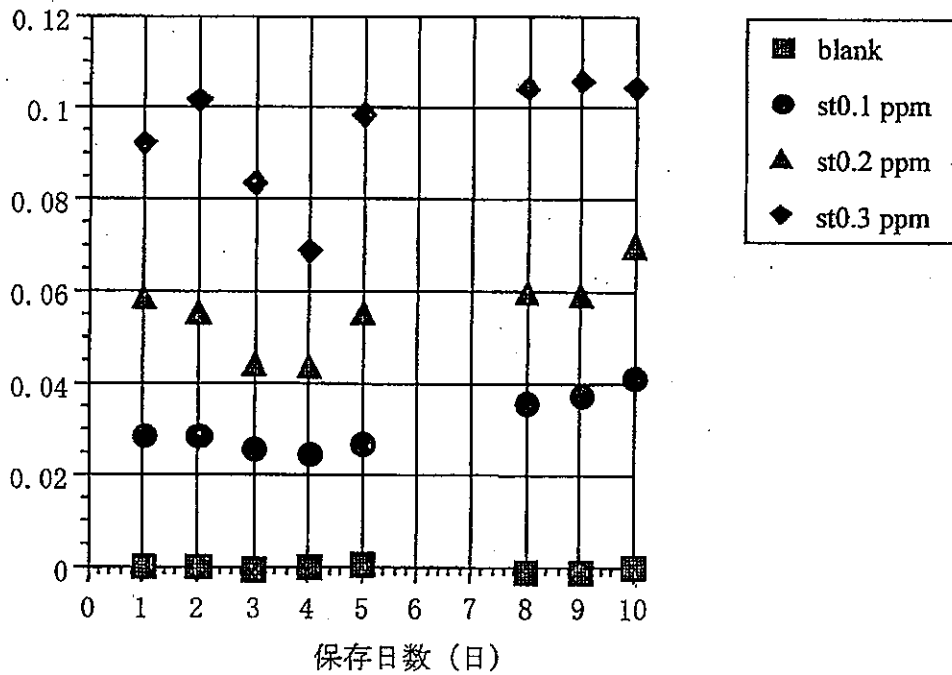


図6. アンチモン標準溶液（冷暗所保存）吸光度（330 nm）の経時変化

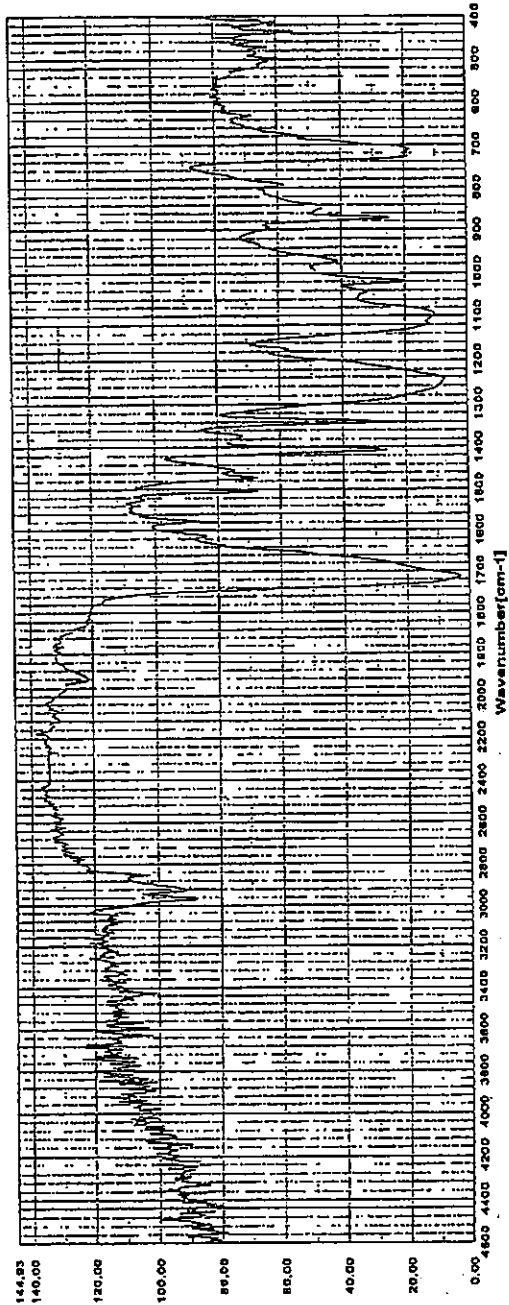


図7 ポリエチレンテレフタレート (PET) のFT-IRスペクトル

＜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(株)製

フェリシアン化カリウム：半井化学薬品(株)製

フェノール標準溶液：フェノールを水に溶解し、1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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

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preneゴム、エチレンプロピレンゴム、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 トリプロモ法による試験法の感度

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

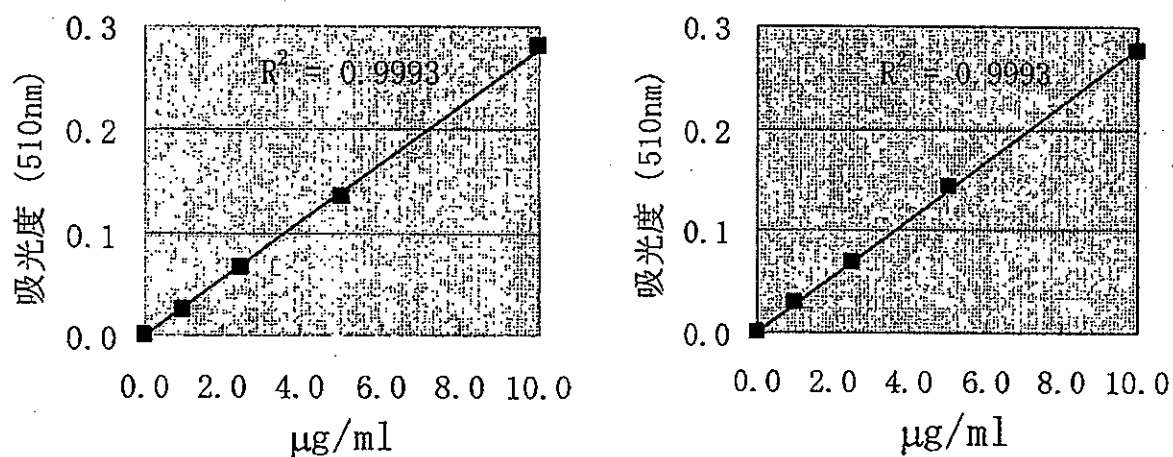


図1 緩衝液 - 2 (左) 及び3 (右) を用いた時の4-アミノアンチピリン法による検量線

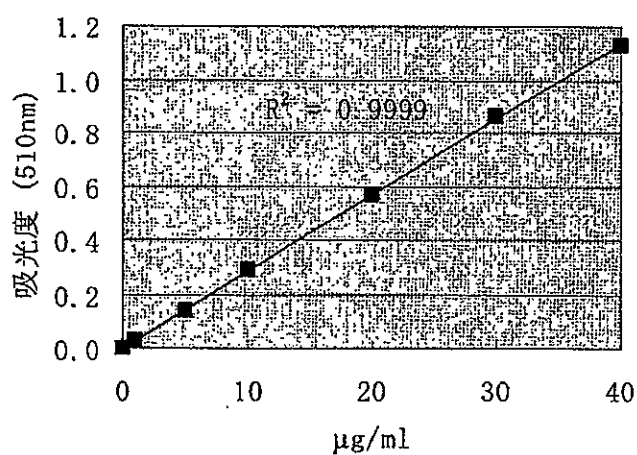


図2 緩衝液 - 3を用いた時の4-アミノアンチピリン法による検量線

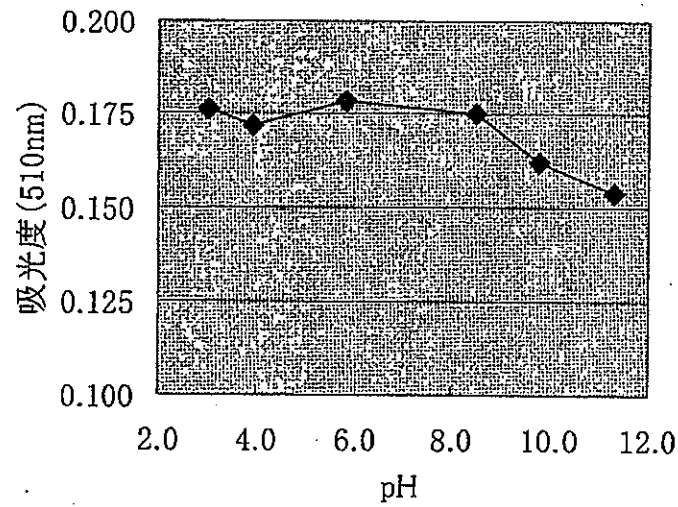


図3 異なるpHの水溶液を用いた時の4-アミノアンチピリン法における発色強度

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、*o*-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

法と同様に試料を DMF に溶解し、キャピラリーカラムに直接注入した場合、ピークの形状は保持時間が長い化合物ほどブロードになった。そこで、DMFより沸点が低く、注入口で気化しやすいテトラヒドロフラン (THF) を用いて試料を溶解したところ、ピーク形状が良好なガスクロマトグラムが得られた。また THF は粘性が低く、オートサンプラーの使用も可能であることから、キャピラリーカラムを用いた直接注入法での試料の溶媒として適していると考えられた。直接注入法での定量限界はパックドカラムが 40ppm、キャピラリーカラムは 20ppm で、キャピラリーカラムがやや優れていた。添加回収率は絶対検量線法の場合、直接注入法で 83~94%、ヘッドスペース法で 96~112%、また *p*-ジエチルベンゼン (DEB) を内標準物質とした内標準法の場合、直接注入法で 96~102%、ヘッドスペース法で 95~100%と、いずれの場合もほぼ同等の精度であった。再現性については直接注入法がヘッドスペース法を上回っていた。市販のポリスチレン製品をそれぞれの方法で測定したところ、パックドカラムを用いた直接注入法では、きょう雑ピークとの分離が不十分なためにエチルベンゼン、イソプロピルベンゼン及びスチレンの定量値が他法に比較して高い製品が認められ、キャピラリーカラムによる分離が必要であることが確認された。以上の結果と操作が簡便なことから代替法としてはキャピラリーカラムを用いた直接注入法が適していると考えられた。

食品衛生法ではナイロンを主成分とする合成樹脂ではカプロラクタムを、また、ポリメタクリル酸メチルを主成分とする合成樹脂ではメタクリル酸メチルをそれぞれ 20%エタノール溶出液中に 15ppm を超えて検出してはならないと規定している。これらの試験法にもパックドカラムを用いた GC 法が採用されていることから、キャピラリーカラムへの転換について検討した。強極性の HP-WAX (0.25 mm i.d. × 30m, 膜厚 0.5 μm) と無極性で膜厚の DB-1 (0.32 mm i.d. × 30m, 膜厚 5 μm) の 2 種類のキャピラリーカラムを用いてカプロラクタムとメタクリル酸メチルを測定し、比較検討した。両カラムともピーク形状及び検出感度に差は無かったが、カプロラクタムを HP-WAX で測定したガスクロマトグラムではベースラインの上昇が認められた。DB-1 を用いて得られる検量線はいずれも原点をとる直線性を示し、再現性も良好であったことから、キャピラリーカラムには膜厚 5 μm の DB-1 カラムが適していると考えられた。

研究協力者

六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所	大嶋 智子	大阪市立環境科学研究所
大野 浩之	名古屋市衛生研究所	尾崎 麻子	大阪市立環境科学研究所
鈴木 昌子	名古屋市衛生研究所	金子 令子	東京都健康安全研究センター
池辺 克彦	大阪府立公衆衛生研究所	船山 恵市	東京都健康安全研究センター
柿本 幸子	大阪府立公衆衛生研究所	羽石菜穂子	東京都健康安全研究センター
藤田 忠雄	大阪市立環境科学研究所		

<その1>ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデン材質試験における

塩化ビニル及び塩化ビニリデン試験法の代替法の検討

研究協力者 大野浩之、鈴木昌子 名古屋市衛生研究所
研究協力者 六鹿元雄 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

ポリ塩化ビニルは可塑剤との相溶性に優れ、可塑剤の種類や量により軟質から硬質まで多種多様な製品が製造されており、食品関連分野ではラップフィルム、キャップシーリング、手袋、パイプ等に幅広く使用されている。また、ポリ塩化ビニリデンは透明性、耐熱性及びガスバリア性に優れた特性を有し、ソーセージ、チーズ等のケーシングフィルムや家庭用ラップフィルムに用いられている。

これらの合成樹脂は、ポリ塩化ビニルでは塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデンでは塩化ビニリデンを各々原料モノマーとして用い、重合反応により製造されるが、この製造過程において未反応のモノマーが材質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あり、IARC (International Agency for Research on Cancer) において、塩化ビニルはグループ1 (ヒトに対して発がん性がある)、塩化ビニリデンはグループ3 (動物に対する発がん性は限定的であり、ヒトに対する発がん性は不明) に分類されている。このため、我が国では食品衛生法により個別に材質規格が設定され、ポリ塩化ビニル中の塩化ビニルが1 ppm以下¹⁾、ポリ塩化ビニリデン中の塩化ビニリデンが6 ppm以下²⁾に規制されている。

食品衛生法で定める規格試験はいずれもガスクロマトグラフ法が採用されているが、試料の前処理には塩化ビニル¹⁾ではテトラヒドロフランによる溶解法、塩化ビニリデン^{2),3)}では四塩化炭素・テトラヒドロフラン混液に

よる抽出法が規定されている。

前者は溶解した樹脂自体が直接ガスクロマトグラフに注入されるため、カラムの汚染や劣化が起りやすく、溶媒ピークをカラムから追い出すのに長時間を要する等の欠点が見られる。このため、樹脂成分の除去に通気法^{4),5)}が組み合わせて行われることもあるが、特別な器具が必要となり分析操作も煩雑となる。後者では抽出溶媒として使用する四塩化炭素が有害物質であると同時にオゾン層破壊物質にも指定され、1995年末で生産が全廃されたため、入手が困難となっており、試験法を早急に改訂する必要がある。

また、これらの試験法は共に分析カラムにパックドカラムを使用しているため、測定感度が低く、きょう雑成分由来のピークによる誤認等の問題点があり、分離性能が高いキャピラリーカラムへの切り替えも課題の一つである。さらに、ポリ塩化ビニリデンは単一の加工が困難であり、通常、塩化ビニル等との共重合体として使用されるため、これら重合体の試験検査を行う上では、両モノマーを同時に分析可能な方法が有用である。

そこで、本研究ではこれらの規格試験法の代替法としてヘッドスペース法を適用し、塩化ビニル及び塩化ビニリデンの高感度同時分析法を検討したので報告する。

B. 研究方法

1. 試料

ポリ塩化ビニル製品：しょうゆ、ウスター

ソース、菓子、のり等の容器及び食品用として販売されていた空容器 16 検体、家庭用ラップフィルム 3 検体、パイプ（水道用硬質管） 2 検体

ポリ塩化ビニリデン製品：魚肉ソーセージ、プロセスチーズ等の包装済みのケーシングフィルム 8 検体、家庭用ラップフィルム 2 検体

塩化ビニリデン含有フィルム：塩化ビニリデンが残留するように特別に調製されたポリ塩化ビニリデン製のフィルム 2 検体

2. 試薬及び標準溶液

N,N-ジメチルアセトアミド (DMA)：特級又は有機合成用、和光純薬工業(株)製、関東化学(株)製又は東京化成工業(株)製

塩化ビニル標準溶液：10 µg/ml (エタノール溶液)、関東化学(株)製

塩化ビニリデン標準品：純度 99 %、Sigma-Aldrich 社製

塩化ビニリデン標準溶液：100 ml のメスフラスコに約 98 ml の DMA を入れてシリコーンゴム栓をした後、シリコーンゴム栓を通して塩化ビニリデン標準品を正確に 250 µL 注入し、さらにシリコーンゴム栓を通して DMA を注入して 100 ml とした。この液 1 ml を採り、DMA を加えて 50 ml とした (60 µg/ml)。

3. 装置及び器具

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 HP6890 Series PLUS、質量分析計 HP5973、以上 Hewlett Packard 社製

ヘッドスペースサンプラー (HS)：HP7694、Hewlett Packard 社製

水素炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフ (GC-FID)：GC-14B、(株)島津製作所製

ヘッドスペース用バイアル：容積 20 ml のアルミキャップ式バイアル、Agilent Technologies 社製

バイアル用セプタム：PTFE/シリコーンラバーセプタム、ジーエルサイエンス(株)製

ガスタイトシリンジ：プレッシャーロックシリンジ (1 ml) に横穴針を装着したもの、Precision Sampling 社製

恒温槽：ガスクロマトグラフ用オープン、GC-14A 又は GC-14B のオープン、(株)島津製作所製

4. 測定条件

(1) GC/MS

カラム：CP-PoraBOND Q (0.25 mm i.d.×25 m、膜厚 3 µm)、Varian 社製

カラム温度：80 °C (1 min) -10 °C/min - 250 °C (10 min)

注入口温度：200 °C

インレット温度：250 °C

イオン源温度：230 °C

キャリアーガス：He、57 kPa

スプリット比：1:10

イオン化電圧：70 eV (EI モード)

測定モード：SIM

モニターイオン (*m/z*)：

塩化ビニル：62*、64、27

塩化ビニリデン：61*、96、98

(* 定量用イオン)

(2) GC-FID

カラム、カラム温度、注入口温度、スプリット比は GC/MS と同じ

検出器温度：250 °C

キャリアーガス：N₂、75 kPa

メイクアップガス：N₂、40 ml/min

(3) 公定法 (GC-FID)

① 塩化ビニル

カラム：ガラス製、3.2 mm i.d.×2 m

カラム充てん剤：15 % Ucon LB 550X / Chromosorb W/AW、DMCS (80~100 mesh)、信和化工(株)製

カラム温度：50 °C (5 min) -10 °C/min -

150 °C (15 min)

注入口温度、検出器温度：150 °C

キャリアーガス：N₂、80 kPa

② 塩化ビニリデン

カラム：ガラス製、3.2 mm i.d.×2 m

カラム充てん剤：10% Silicone DC 550 /

Chromosorb W/AW、DMCS (60~80 mesh)、

信和化工(株)製

カラム温度：50 °C

注入口温度、検出器温度：150 °C

キャリアーガス：N₂、70 kPa

5. ヘッドスペース法

試料を約 5 mm 角に細切し、ヘッドスペース用バイアルにその 0.5 g を精密にはかり、DMA 2.5 ml を加えた後、直ちにセブタムで密栓した。このバイアルを常温で時々振り混ぜながら一晩放置し、試料を十分に膨潤させた後、90 °C の恒温槽中で適宜振り混ぜながら 1 時間加熱し、ガスタイトシリンジを用いてヘッドスペースガス 0.5 ml を抜きとり、GC/MS 又は GC-FID に手動注入した。また、HS/GC/MS では試料を膨潤させた後、バイアルを HS にセットし下記の操作条件に従い GC/MS に自動注入した。

HS 操作条件：

オープン温度：90 °C

サンプルループ温度：100 °C

トランスファーライン温度：100 °C

バイアル平衡時間：60 分

サンプルループ充填時間：0.1 分

サンプルループ平衡時間：0.1 分

注入時間：0.5 分

注入量：1 ml

6. 検量線の作成

ヘッドスペース用バイアルに DMA 2.5 ml を加え、塩化ビニル又は塩化ビニリデン標準

溶液 5~250 μL をすばやく添加し直ちに密栓した。各々の濃度について上記のように GC/MS、HS/GC/MS、GC-FID により分析を行い、得られた定量用イオンピーク面積又はピーク面積により検量線を作成した。

7. 添加回収試験

ヘッドスペース用バイアルに試料 0.5 g を精密にはかり、DMA 2.5 ml を加えた後、塩化ビニル又は塩化ビニリデン標準溶液 5 又は 50 μL をすばやく添加し直ちに密栓して GC/MS 及び HS/GC/MS により分析を行った。

8. 公定法

食品衛生法に従い、塩化ビニル¹⁾では試料 1.0 g をテトラヒドロフラン 20 ml に溶解し、また、塩化ビニリデン²⁾では試料 1.0 g を四塩化炭素・テトラヒドロフラン (7:3) 20ml を用い 50 °C で 30 分間抽出した後、各々の 10 μL を GC-FID により分析した。

C. 研究結果及び考察

1. ガスクロマトグラフィーによる測定

(1) キャピラリーカラム

食品衛生法の塩化ビニル及び塩化ビニリデンの規格試験では分析用カラムとしてパックドカラムの使用が規定されており、前者では Ucon oil LB 550X や Chromosorb 104、後者では Silicone DC 550 が使用されている。しかし、いずれも分離性能が低いため、材質中のきょう雑成分による妨害やピーク誤認等の問題点があり、測定感度も十分とは言えない。

このため、一般に広く使用される WCOT (wall coated open tubular) 型キャピラリーカラム DB-1 及び DB-1301 (共に 0.25 mm i.d.×60 m、膜厚 1 μm) を用いて検討したところ、これらは共にカラム温度を 40 °C 以下に設定しても塩化ビニルときょう雑成分の分離が十分ではなく、ピーク形状もブロードとなるため、

塩化ビニル等の測定には適していなかった。

一方、カラム内壁にポーラスポリマーが固定された PLOT (porous layer open tubular) 型キャピラリーカラムは比較的高いカラム温度を設定することが可能であり、揮発性化合物の分離に適している。PLOT カラムは振動等によってポリマー粒子が剥離しやすく検出器を汚染する欠点があったが、最近では粒子が剥離しない化学結合型が市販され GC/MS にも使用できるようになった。そこで、化学結合型 PLOT カラム CP-PoraBOND Q (0.25 mm i.d.×25 m、膜厚 3 μm) を用い、カラム初期温度を 80 °C とし昇温分析を試みたところ、両モノマーは良好に分離し GC/MS、GC-FID のいずれにおいても同時分析が可能となった。従って、本研究ではこの PLOT カラムを使用して以下の分析法の検討を行った。

このカラム 2 本を GC/MS 及び GC-FID に各々装着し、GC/MS で 350 回以上、GC-FID で 200 回以上測定を繰り返し行ったが、どちらもピーク形状等に特に変化は見られず、カラムの耐久性にも問題はなかった。

(2) GC/MS

定量用イオンとして塩化ビニルでは m/z 62、塩化ビニリデンでは m/z 61 を用い、SIM モードにより測定した。また、確認用イオンとして塩化ビニルでは m/z 64 及び 27、塩化ビニリデンでは m/z 96 及び 98 を同時にモニターした。図 1 に示したように両モノマーは共に良好に分離し、きょう雑成分の影響も受けなかった。定量限界は塩化ビニルが 0.01 μg/g、塩化ビニリデンが 0.06 μg/g と高感度であり、検量線は塩化ビニルが 0.05~5.0 μg/g、塩化ビニリデンが 0.3~30.0 μg/g の広い範囲で良好な直線性を示した。これらの結果は HS/GC/MS においてもほぼ同様であり、手動及び自動注入による差はほとんどなかった。さらに、SCAN モード (m/z 20~100) による定性分析を検討したところ、塩化ビニルが 0.1 μg/g、

塩化ビニリデンが 0.6 μg/g と共に基準値の 1/10 量以上の濃度域において、標準品の保持時間及びスペクトルとの比較により同定・確認が可能であった。

(3) GC-FID

GC-FID においても両モノマーは良好に分離し、きょう雑成分の妨害を受けることなく測定することができた (図 2)。6.0~7.5 分に巨大ピークが出現したが、分析に支障はなかった。このピークは塩化ビニル標準溶液の溶媒として使用されているエタノールのピークであり、標準溶液を添加した場合のみに見られ、試料の測定では観察されない。一例として、図 3 に塩化ビニルが検出されたパイプ 1 のガスクロマトグラムを示した。また、GC/MS においてもエタノールのピークはモニターイオンの m/z 27 を有するため検出されるが、両モノマーとは十分に分離しており、測定を妨害することは全くなかった。GC-FID の定量限界は塩化ビニルが 0.1 μg/g、塩化ビニリデンが 0.6 μg/g、検量線は塩化ビニルが 0.1~5.0 μg/g、塩化ビニリデンが 0.6~30.0 μg/g の範囲で良好な直線性を示した。

(4) 検出器の比較

上記の検討結果より検出器別の定量限界は GC/MS が基準値の 1/100、GC-FID が基準値の 1/10 であり、共に規格試験法としては十分な測定感度であった。ただし、質量分析計の方が 10 倍高感度であったうえ、選択性に優れており、きょう雑成分の影響を受けにくかった。しかも、SCAN モードによってピークの確認も可能であったため、GC/MS の方が本試験法には適していると考えられた。

(5) 注入口ライナー

容積の異なるスプリット注入用注入口ライナーを用い GC/MS により測定を行ったところ、容積 0.25 ml のライナーは 1.0 ml と比べてピーク面積が著しく減少し 1/10 以下となった。これはガス注入量よりライナーの容積

が小さいため、注入時にライナー内部の圧力が上昇し、過剰なガスがセブタムパーシ流路から流出したためと考えられた。また、容積が1.0 mlであってもガラスウールが充填されたライナーを使用した場合にはピーク面積の減少が見られ、測定値が大きくばらついた。従って、ライナーはガス注入量以上の容積を有しガラスウールが充填されていないものを用いる必要があった。本研究ではGC/MS及びHS/GC/MSでは約1.0 ml、GC-FIDでは約0.7 mlのものを使用した。

(6) *N,N*-ジメチルアセトアミド (DMA) 中の妨害ピーク

国内試薬メーカー3社から特級又は有機合成用として市販されていた5種類のDMAを用い、GC/MS及びGC-FIDにおける妨害ピークの有無について調べた。各試薬は若干不純物ピークの出現パターンが異なっていたが、両モノマーを妨害するものは全く認められず、いずれの試薬を使用しても測定に影響はなかった。

2. ヘッドスペース法の検討

(1) 溶解溶媒

試料の溶解溶媒にテトラヒドロフラン、DMA及び*N,N*-ジメチルホルムアミドの3種類を用いて検討した。テトラヒドロフランは沸点が約66℃と低いため、加熱を行うとバイアル内部の圧力が上昇し、また、引火点も低いことから不適当と判断した。DMA及び*N,N*-ジメチルホルムアミドについては加熱しても安全性が高く、ヘッドスペース法での実績もある。そこで、様々な試料を用いて溶解性を観察したところ、DMAの方が硬質のポリ塩化ビニル製容器やポリ塩化ビニリデン製フィルムに対して若干溶解性が高かったため、DMAを選択した。

最適なDMAの添加量を求めるため、試料0.5 gに対してDMAを1、2.5及び5 ml添加

してピーク面積を比較した。各ピーク面積比は添加量5 mlに対して2.5 mlでは塩化ビニルが1.9倍、塩化ビニリデンが2.5倍、1 mlでは塩化ビニルが3.0倍、塩化ビニリデンが4.9倍といずれもDMA量が少量であるほど大きくなった。ただし、DMAを1 mlとすると試料の体積に比べて溶媒量が不足して溶解しにくい場合が見られたため、添加量は5 mlと比べても溶解性に遜色がなく、しかも高感度であった2.5 mlとした。

(2) 平衡温度及び時間

基準値相当の標準溶液を添加したバイアルを用い、各平衡温度におけるピーク面積比の挙動を調べたところ、両モノマーの面積比は共に100℃まで温度の上昇に伴って増加した(図4)。この傾向は塩化ビニルが検出されたポリ塩化ビニル製パイプ1及び塩化ビニリデン含有フィルムAを用いた場合でもほぼ同様であった。

今回検討したヘッドスペース法では後述するように試料を完全に溶解する必要があることから、平衡温度はできる限り高く設定するのが望ましく、また、測定感度の向上及び分析時間の短縮に有効である。ただし、100℃以上では手動注入による誤差等により測定値がばらつく傾向が見られたため、比較的測定値が安定して得られた90℃で行うことにした。平衡温度90℃での平衡時間とピーク面積の関係を調べたところ(図5)、0.5~3時間の範囲で両モノマーは共に一定したピーク面積値が得られた。従って、平衡時間はGCの分析サイクルやポリ塩化ビニル製硬質試料の溶解性等を考慮して1時間とした。

(3) ポリ塩化ビニル製硬質試料の溶解性

上記で設定した平衡条件の妥当性を調べるため、90℃で加熱し10~15分間おきに振り混ぜながら各種試料の溶解性について検討した。その結果、ポリ塩化ビニル製硬質試料の多くが1時間では溶解せず、樹脂の一部がバ

バイアル底部に溶け残り、これらを完全に溶解するには、しょうゆ、ソース、のり用容器では2~2.5時間、パイプでは約4時間を要した。このため、塩化ビニルが検出されたパイプ1を用い、各平衡時間における塩化ビニルのピーク面積比の変動を調べたところ(図6)、1時間後の比率は4時間後の約76%と低く、溶け残りがある状態ではモノマーは十分に遊離せず、正確な測定が困難であることが判明した。

そこで、硬質試料を短時間に溶解されるため、ヘッドスペース法を行う前にあらかじめバイアルを常温で一晩放置して試料を十分に膨潤させる方法を試みた。この方法によりパイプ1は30分程度で完全に溶解し、ピーク面積は1時間以内に平衡に達した。また、その他の硬質試料も15分程度で容易に溶解することが分かった。ただし、ラップフィルムやケーシングフィルム等の軟質試料に関しては一晩放置しなくても30分以内に溶解したため、この操作は省略できる。

また、パイプ1を5mm角、2mm角及び1mm角に各々細切して溶解性の違いについて調べたが、いずれも試料の形状による差は認められなかった。

(4) 標準溶液の添加方法

検量線用標準溶液の添加方法として、マイクロシリンジを用いてDMAの液中に直接添加し直ちに密栓する方法と、密栓した後のバイアルに標準溶液をマイクロシリンジでセプタムを通してスパイクする方法について比較した。前者の方法では一つのバイアルに両標準溶液を同時に添加すると密閉に若干の時間を要するため揮散による損失が多くなり、ピーク面積が4~8%減少する場合は認められた。このため、各標準溶液を個別のバイアルに添加するか、もしくは揮散を防ぐためバイアルを氷冷しながら行うことによって再現性よく測定することが可能となり、後者の方法

ともよく一致する結果が得られた。一方、後者の方法をHS/GC/MSで行った場合、標準溶液のスパイクによってできたバイアル用セプタムの穴から溶媒が漏れたため、定量性に問題が生じ、また、ヘッドスペースサンプラーのオープン内に揮散し、パッキンが溶解したため適用できなかった。

(5) ガスタイトシリンジ

手動注入に使用したガスタイトシリンジは採取したガスを密閉することができ、ガスの損失がほとんどないプレッシャーロック型を用いた。このシリンジに横穴針を装着することによって、ガスクロマトグラフの注入口セプタムやバイアル用セプタムによる針のつまりを防止することができた。通常、ヘッドスペース法ではガス採取時の凝縮を避けるためシリンジを加熱して使用することが多い。そこで、シリンジを90℃で5分間加熱して手動注入を行い、常温のシリンジを用いた場合と比較したが、両者のピーク面積にはほとんど差が認められず、特にシリンジを加熱して用いる必要はなかった。

3. 添加回収試験

ポリ塩化ビニル製の食品用容器、ラップフィルム、パイプ及びポリ塩化ビニリデン製のケーシングフィルム、ラップフィルムを用い、GC/MS及びHS/GC/MSにより添加回収試験を行った(表1)。GC/MSは機関A、HS/GC/MSは機関Bで行い、添加量はいずれも基準値相当とその1/10量とした。その結果、GC/MSでは塩化ビニルが98.4~112.3%、塩化ビニリデンが101.2~107.0%、HS/GC/MSでは塩化ビニルが90.0~106.7%、塩化ビニリデンが85.2~108.3%といずれも良好な回収率が得られた。機関Aはこの代替法の開発を行い分析に熟知していたのに対し、機関Bは初めての測定であったにもかかわらず良好な結果が得られたことから、本法はバリデーシ

観点からも規格試験法として適当であると考えられた。

4. 公定法との比較

塩化ビニルが検出されたパイプ1及び塩化ビニリデン含有フィルムA、Bを用い、GC/MSと公定法との測定値を比較した(表2)。パイプ1の塩化ビニルはGC/MSが0.61 µg/g、公定法が0.59 µg/g、含有フィルムA及びBの塩化ビニリデンはGC/MSが6.26及び4.36 µg/g、公定法が6.2及び4.6 µg/gといずれもほぼ一致した。しかし、公定法の定量限界は塩化ビニルが0.3~0.4 µg/g、塩化ビニリデンが1.0~1.2 µg/gと本法に比べて測定感度が低く、しかも、パックドカラムを使用するため、近接するきょう雑成分由来のピークとの分離が不十分となり、測定値のばらつきも大きかった。図7及び8に示したように、パイプ1では塩化ビニルピークの直後に不純物ピークが出現して分離が不十分となり、また、含有フィルムBでは塩化ビニリデンピークの直前に出現した不純物ピークが重なり、分離することができなかった。一方、本法は分離性能が高いキャピラリーカラムCP-PoraBOND Qを使用することによりきょう雑成分による妨害が全く見られず、再現性も良好であり、試験法として有用であると考えられた。

5. 試料の測定

GC/MSによりポリ塩化ビニル製品21検体及びポリ塩化ビニリデン製品10検体の測定を行った(表3)。その結果、パイプ1及びパイプ2から塩化ビニルが0.61及び0.01 µg/g検出されたが、その他の容器包装はいずれも定量限界未満であった。なお、パイプに関しては食品衛生法の規制対象外である。

D. 結論

現行の塩化ビニル及び塩化ビニリデンの規

格試験法は、有害試薬である四塩化炭素の使用、パックドカラムによるきょう雑成分由来のピークの誤認、カラムの汚染や劣化等の問題点が指摘されている。そこで、これらの試験法としてヘッドスペース法を適用し、有害試薬を用いず、両モノマーを同時に高感度分析する方法を検討した。

その結果、溶解溶媒にDMAを用い試料を膨潤させた後、90℃で1時間加熱してヘッドスペース法を行い、GC/MS又はGC-FIDにより測定する方法を確立した。GC-FIDの定量限界は塩化ビニルが0.1 µg/g、塩化ビニリデンが0.6 µg/gと共に基準値の1/10であり、規格試験法として十分な測定感度であった。また、GC/MSではさらにGC-FIDより10倍高感度であり、しかも、検出されたピークの同定・確認も可能であった。本法の添加回収率は手動注入では塩化ビニルが98.4~112.3%、塩化ビニリデンが101.2~107.0%、自動注入では塩化ビニルが90.0~106.7%、塩化ビニリデンが85.2~108.3%といずれも良好であった。本法はきょう雑成分の影響を受けることがなく、操作も比較的簡便であり、再現性の高い試験法であった。

E. 文献

- 1) 厚生省告示第17号(1977年): 昭和52年2月18日
- 2) 厚生省告示第109号(1980年): 昭和55年6月20日
- 3) 茂木幸夫、上田和男、田中溥美、大田実: 日本水産学会誌、42、1387-1394(1976)
- 4) 加藤クニ、中岡正吉、福井昭三: 神奈川県衛生研究所研究報告、6、69-72(1976)
- 5) Dennison, J. L., Breder, C. V., McNeal, T., Snyder, R. C., Roach, J. A., Sphon, J. A., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61, 813-819(1978)
- 6) 日本薬学会: 衛生試験法・注解 2000、593(2002)

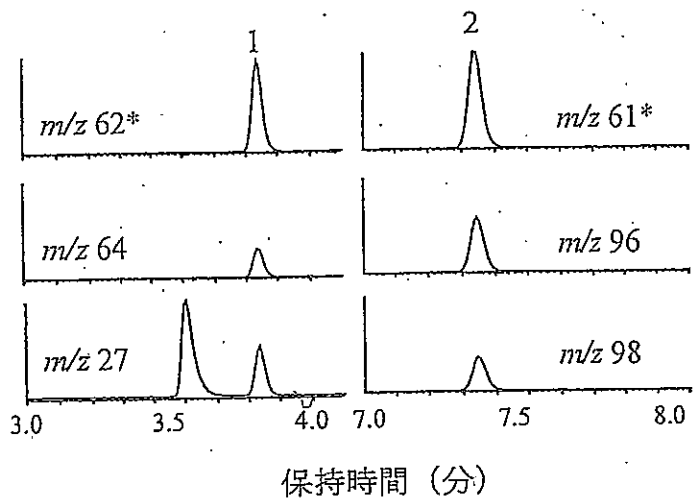


図1 GC/MSによる標準溶液のイオンクロマトグラム

1 : 塩化ビニル、2 : 塩化ビニリデン

添加量 : 塩化ビニル 1.0 $\mu\text{g/g}$ 、塩化ビニリデン 6.0 $\mu\text{g/g}$ 相当

* 定量用イオン

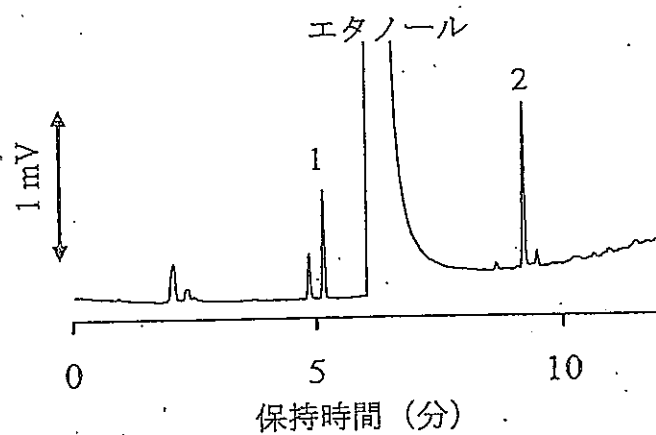


図2 GC-FIDによる標準溶液のガスクロマトグラム

1 : 塩化ビニル、2 : 塩化ビニリデン

添加量 : 塩化ビニル 1.0 $\mu\text{g/g}$ 、塩化ビニリデン 6.0 $\mu\text{g/g}$ 相当

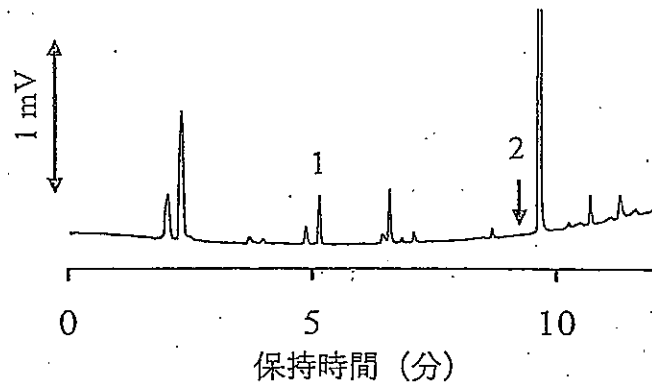
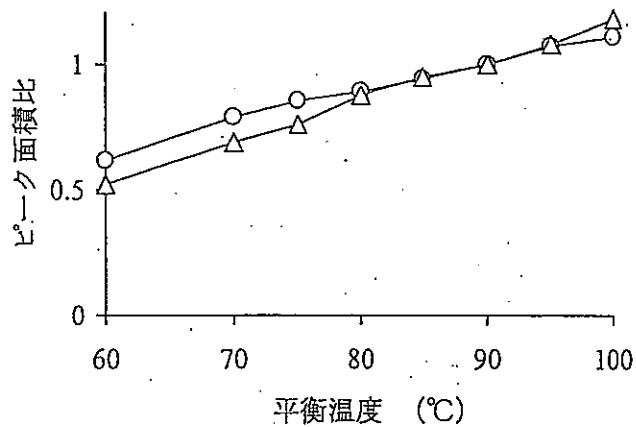


図3 GC-FIDによるパイプ1のガスクロマトグラム

1: 塩化ビニル、2: 塩化ビニリデン



—○—: 塩化ビニル (1.0 µg/g)

—△—: 塩化ビニリデン (6.0 µg/g)

図4 ヘッドスペース法における平衡温度とピーク面積比の関係

平衡時間を1時間とし、GC/MSにより測定した。

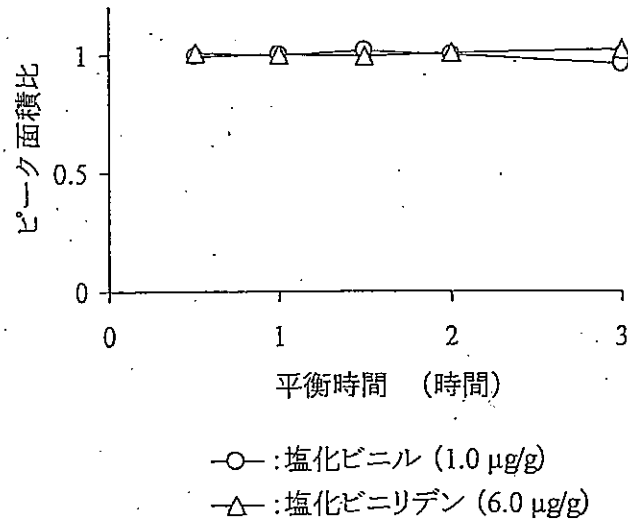


図5 ヘッドスペース法における平衡時間とピーク面積比の関係

平衡温度を90°Cとし、GC/MSにより測定した。

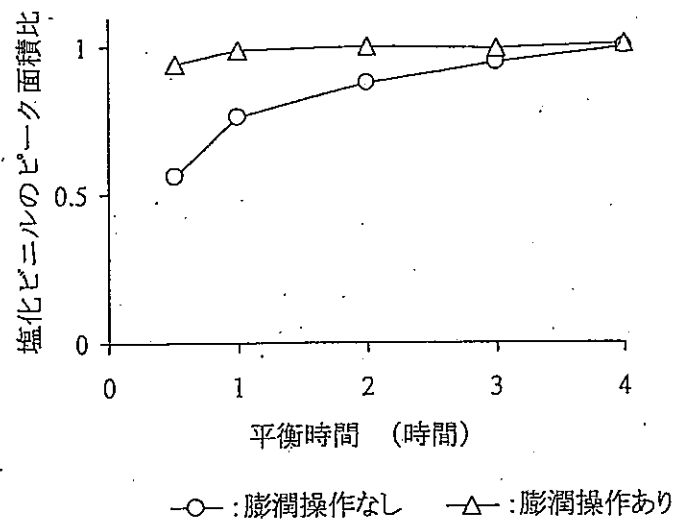


図6 パイプ1における一晩放置による膨潤操作の効果

90°Cで1時間加熱後、GC/MSにより測定した。

表1 GC/MS及びHS/GC/MSによる塩化ビニル及び塩化ビニリデンの添加回収試験

試料	材質	添加量 (µg/g)		回収率 (%)		分析方法
		塩化ビニル	塩化ビニリデン	塩化ビニル	塩化ビニリデン	
食品用容器 4	PVC	0.1	—	112.3 ± 0.9	—	GC/MS
		1.0	—	101.6 ± 1.1	—	
食品用容器 16	PVC	0.1	0.6	106.7 ± 5.8	107.8 ± 6.9	HS/GC/MS
		1.0	6.0	95.0 ± 7.0	91.1 ± 8.9	
ラップ フィルム 1	PVC	0.1	—	98.4 ± 2.9	—	GC/MS
		1.0	—	103.6 ± 3.4	—	
		0.1	0.6	103.3 ± 5.8	105.6 ± 12.5	HS/GC/MS
		1.0	6.0	90.0 ± 4.4	85.2 ± 5.6	
パイプ 2	PVC	0.1	—	108.7 ± 2.3	—	GC/MS
		1.0	—	106.1 ± 2.1	—	
ケーシング フィルム 1	PVDC	0.1	0.6	107.6 ± 4.2	107.0 ± 0.8	GC/MS
		1.0	6.0	101.4 ± 1.0	101.2 ± 1.2	
ラップ フィルム 4	PVDC	0.1	0.6	100.4 ± 4.5	106.5 ± 4.2	GC/MS
		1.0	6.0	102.2 ± 3.9	106.2 ± 4.0	
		0.1	0.6	105.0 ± 7.1	108.3 ± 7.1	HS/GC/MS
		1.0	6.0	97.0 ± 6.2	93.2 ± 7.3	
ラップ フィルム 5	PVDC	0.1	0.6	100.0 ± 0.0	102.8 ± 6.7	HS/GC/MS
		1.0	6.0	94.3 ± 2.5	91.7 ± 2.6	

PVC：ポリ塩化ビニル、PVDC：ポリ塩化ビニリデン

回収率：各試料に塩化ビニル又は塩化ビニリデンを添加し、3～4試行の平均値 ± S.D.で示した。

表2 モノマー含有試料におけるGC/MS及び公定法の測定値の比較

試料	測定対象モノマー	測定値 (µg/g)	
		GC/MS	公定法
パイプ 1	塩化ビニル	0.61 ± 0.01	0.59 ± 0.04
塩化ビニリデン含有フィルム	A 塩化ビニリデン	6.26 ± 0.32	6.2 ± 0.4
	B 塩化ビニリデン	4.36 ± 0.07	4.6 ± 0.2

測定値：3～4試行の平均値 ± S.D.で示した。

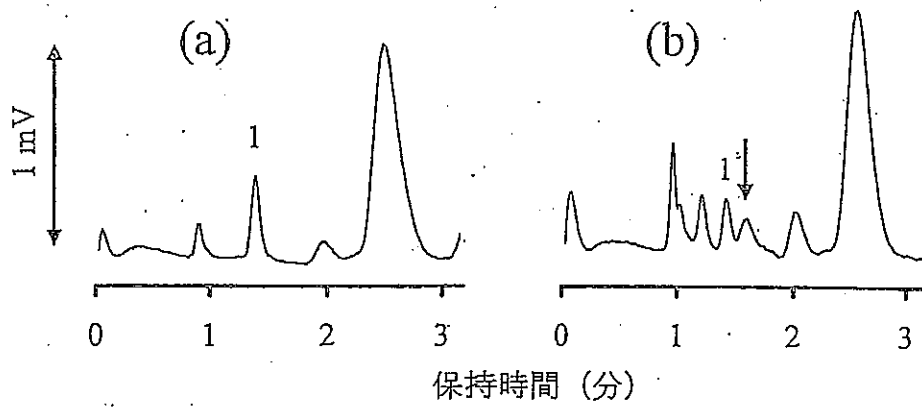


図7 公定法によるパイプ1のガスクロマトグラム

(a): 標準溶液 (1.0 $\mu\text{g/g}$ 相当)、(b): パイプ1
 1: 塩化ビニル

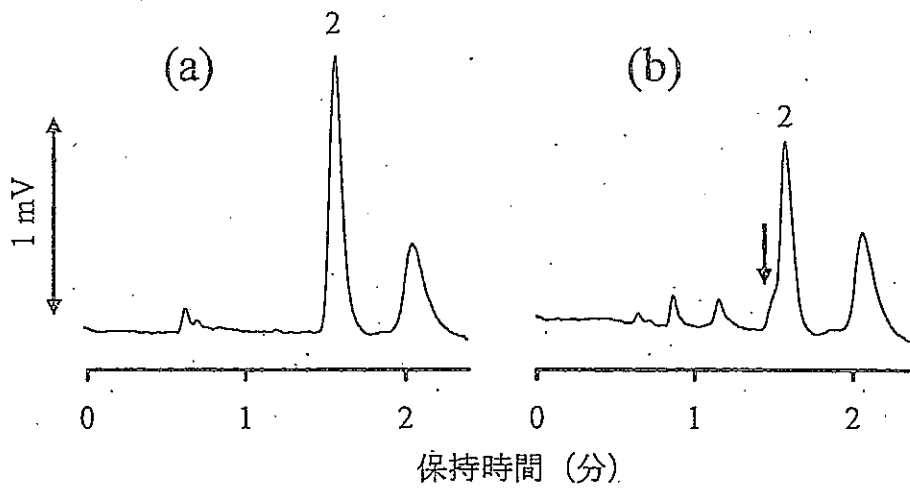


図8 公定法による塩化ビニリデン含有フィルムのガスクロマトグラム

(a): 標準溶液 (6.0 $\mu\text{g/g}$ 相当)、(b): 塩化ビニリデン含有フィルムB
 2: 塩化ビニリデン

表3 GC/MSによる試料の測定結果

試料		含有量 (µg/g)		材質	用途
		塩化ビニル	塩化ビニリデン		
食品用容器	1	<0.01	<0.06	PVC	しょうゆ
	2	<0.01	<0.06	PVC	ウスターソース
	3	<0.01	<0.06	PVC	ウスターソース
	4	<0.01	<0.06	PVC	梅干し
	5	<0.01	<0.06	PVC	サラダ
	6	<0.01	<0.06	PVC	タルタルソース
	7	<0.01	<0.06	PVC	ごま
	8	<0.01	<0.06	PVC	タルト
	9	<0.01	<0.06	PVC	菓子
	10	<0.01	<0.06	PVC	菓子
	11	<0.01	<0.06	PVC	菓子
	12	<0.01	<0.06	PVC	菓子
	13	<0.01	<0.06	PVC	のり
	14	<0.01	<0.06	PVC	のり
	15	<0.01	<0.06	PVC	のり
	16	<0.01	<0.06	PVC	ところてん
ラップフィルム	1	<0.01	<0.06	PVC	家庭用
	2	<0.01	<0.06	PVC	家庭用
	3	<0.01	<0.06	PVC	家庭用
パイプ	1	0.61	<0.06	PVC	水道用硬質管
	2	0.01	<0.06	PVC	水道用硬質管
ケーシングフィルム	1	<0.01	<0.06	PDVC	ウィンナーソーセージ
	2	<0.01	<0.06	PDVC	魚肉ソーセージ
	3	<0.01	<0.06	PDVC	魚肉ソーセージ
	4	<0.01	<0.06	PDVC	魚肉ソーセージ
	5	<0.01	<0.06	PDVC	魚肉ソーセージ
	6	<0.01	<0.06	PDVC	プロセスチーズ
	7	<0.01	<0.06	PDVC	プロセスチーズ
	8	<0.01	<0.06	PDVC	ういろう
ラップフィルム	4	<0.01	<0.06	PDVC	家庭用
	5	<0.01	<0.06	PDVC	家庭用

PVC：ポリ塩化ビニル、PVDC：ポリ塩化ビニリデン

＜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 (株) 製、和光純薬 (株) 製、キシダ化学 (株) 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 (株) 製

DMF : 試薬特級、米山薬品工業 (株) 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熱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に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 分までは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°C であり、バイアル加熱温度 (90°C) や各揮発性物質の沸点 (111°C～145°C) よりも高く本ヘッドスペース法に適當であった。一方、THF の沸点は 66°C 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適當と判断した。

(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)

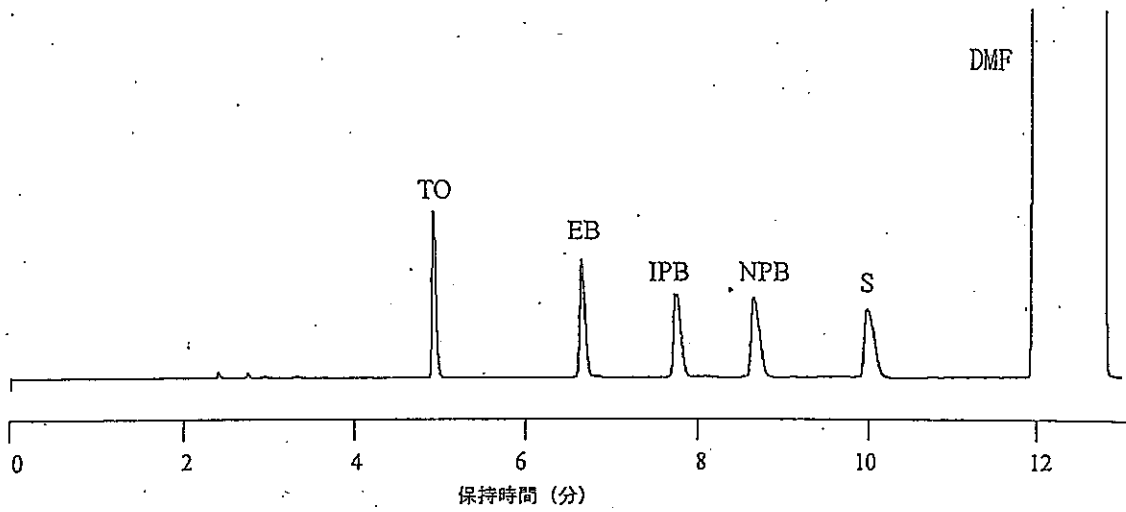


図1 溶媒にDMFを用いた直接注入法（キャピラリーカラム）による揮発性物質のガスクロマトグラム（ $100 \mu\text{g/mL}$ 標準溶液）

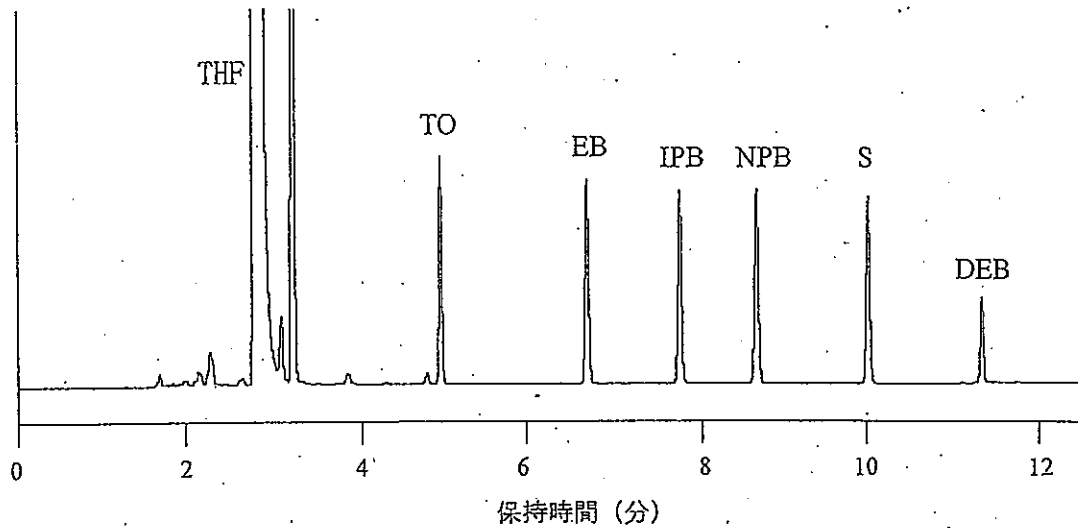


図2 溶媒にTHFを用いた直接注入法（キャピラリーカラム）による揮発性物質のガスクロマトグラム（ $100 \mu\text{g/mL}$ 標準溶液）

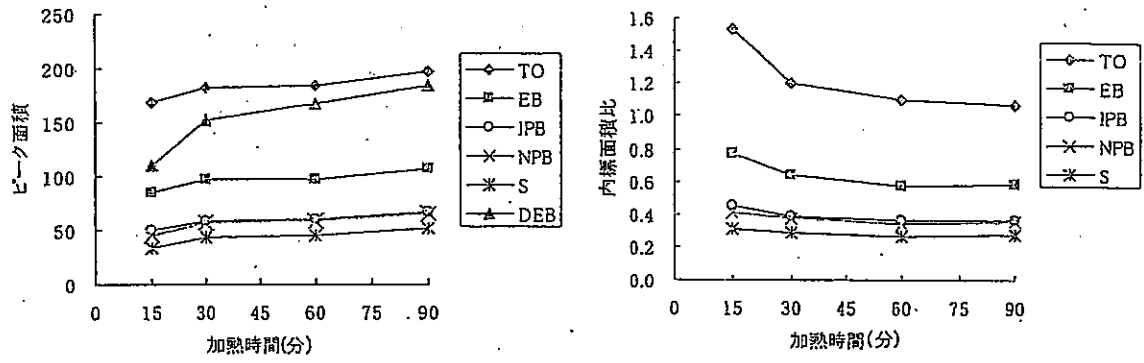


図3 ヘッドスペース法における加熱時間とピーク面積及び内部標準物質面積比の関係

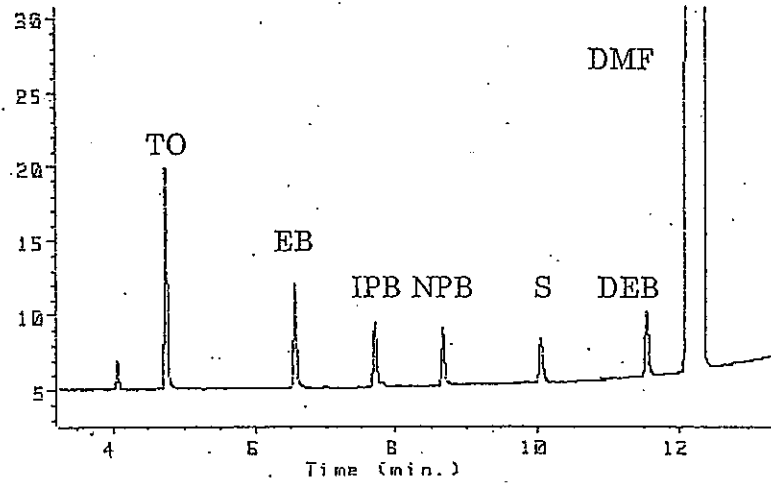


図4 ヘッドスペース法による各揮発性物質およびDEBのガスクロマトグラム (100 μ g/mL標準溶液)

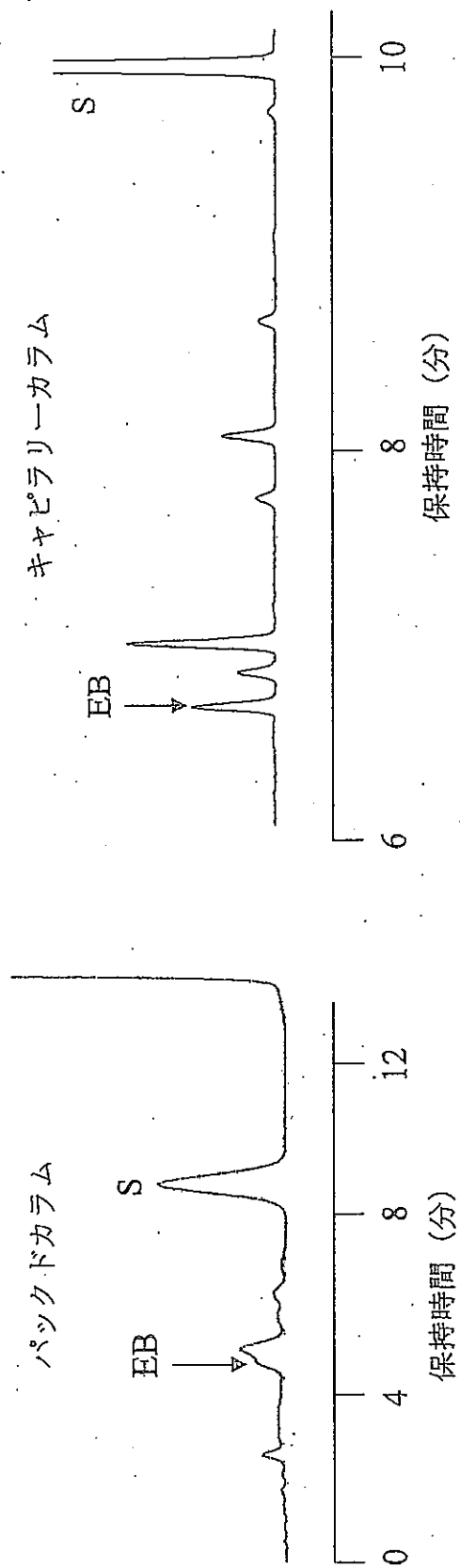


図5 直接注入法におけるバックドカラムとキャピラリーカラムによるクロマトグラム (NO.9) の比較
 (バックドカラム：DMF溶液、キャピラリーカラム：THF溶液)

表1 公定法による添加回収試験結果

	試料(No.10)		1800 $\mu\text{g/g}$ 添加試料(No.10)	
	$\mu\text{g/g}$		$\mu\text{g/g}$	回収率(%)
TO	ND		1720 \pm 43	96 \pm 2
EB	257 \pm 54		1860 \pm 24	89 \pm 1
IPB	ND		1780 \pm 16	99 \pm 1
NPB	ND		1790 \pm 41	99 \pm 2
S	977 \pm 74		2590 \pm 75	89 \pm 4

n=3, 平均値 \pm SD, ND < 20 $\mu\text{g/g}$, 絶対検量線法

表2 直接注入法(キャピラリーカラム)による連続測定結果

	平均値($\mu\text{g/g}$)	SD	CV(%)
TO	1960	24	1.2
EB	2050	14	0.7
IPB	2010	10	0.5
NPB	1990	6	0.3
S	3660	22	0.6

2000 $\mu\text{g/g}$ 添加試料(No.4)について実施

n=11

表3 直接注入法(キャピラリーカラム)による添加回収試験結果

	試料(No.10)		2000 $\mu\text{g/g}$ 添加試料(No.10)			
	絶対検量線法	内部標準法	絶対検量線法		内部標準法	
	$\mu\text{g/g}$	$\mu\text{g/g}$	$\mu\text{g/g}$	回収率(%)	$\mu\text{g/g}$	回収率(%)
TO	ND	ND	1880 \pm 78	94 \pm 5	2050 \pm 0	102 \pm 0
EB	39 \pm 1	38 \pm 0	1870 \pm 98	91 \pm 6	2030 \pm 22	100 \pm 1
IPB	ND	ND	1850 \pm 87	92 \pm 5	2010 \pm 11	101 \pm 1
NPB	ND	ND	1850 \pm 80	92 \pm 5	2010 \pm 0	101 \pm 0
S	867 \pm 7	857 \pm 8	2530 \pm 95	83 \pm 6	2770 \pm 13	96 \pm 1

n=3, 平均値 \pm SD, ND < 20 $\mu\text{g/g}$

表4 ヘッドスペース法による連続測定結果

	ピーク面積			内標面積比		
	平均値 (カウント)	SD	CV (%)	平均値	SD	CV(%)
TO	191	18	9	1.2	0.15	13
EB	102	12	12	0.6	0.07	10
IPB	63	9	15	0.4	0.03	8
NPB	62	9	15	0.4	0.03	7
S	48	8	18	0.3	0.01	5

混合標準溶液 50 $\mu\text{g/mL}$ について実施

表5 ヘッドスペース法による添加回収試験結果

	試料(No.2)		250 $\mu\text{g/g}$ 添加試料(No.2)			
	絶対検量線法	内部標準法	絶対検量線法		内部標準法	
	測定値 ($\mu\text{g/g}$)	測定値 ($\mu\text{g/g}$)	測定値 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)	測定値 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)
TO	ND	ND	261 \pm 16	104 \pm 6	246 \pm 15	98 \pm 6
EB	46 \pm 3	28 \pm 1	286 \pm 17	96 \pm 7	275 \pm 15	99 \pm 6
IPB	ND	ND	244 \pm 10	98 \pm 4	237 \pm 10	95 \pm 4
NPB	ND	ND	259 \pm 12	104 \pm 5	249 \pm 11	100 \pm 4
S	220 \pm 18	271 \pm 7	499 \pm 25	112 \pm 10	507 \pm 17	95 \pm 7

n=3, 平均値 \pm SD, ND<20 $\mu\text{g/g}$

表6 直接注入法及び直接注入法によるポリスチレン製品の揮発性物質測定結果

No.	品名				T0	EB	IPB	NPB	S	計
1	使い捨て総菜容器	直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		66			440	506
			キャピラリーカラム	絶対検査線法		66±0			400±3	466±3
		ヘッドスペース法		絶対検査線法		74±0			443±3	517±3
			ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		97±5			450±15
キャピラリーカラム	絶対検査線法				82±3			500±11	582±12	
	2	使い捨て小皿	直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		40			300
キャピラリーカラム				絶対検査線法		28±0			272±9	300±9
			ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		29±1			265±8
キャピラリーカラム					絶対検査線法		46±3			220±18
	ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		28±1			270±7	298±8	
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		48			580	628
	ヘッドスペース法	キャピラリーカラム		絶対検査線法		24±0			579±4	603±4
ヘッドスペース法			バックドカラム	絶対検査線法		23±1			587±2	610±3
	ヘッドスペース法	キャピラリーカラム		絶対検査線法					550±42	550±42
ヘッドスペース法			バックドカラム	絶対検査線法					640±40	640±40
	4	使い捨てスプーン		直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		120	58	34
キャピラリーカラム			絶対検査線法			116±2	49±1	29±1	1670±43	1864±46
			ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		117±3	51±1	30±0	1685±13
キャピラリーカラム					絶対検査線法		130±5	78±0	55±3	1500±86
	ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		130±7	65±2	36±3	1800±77	2031±85	
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		161±15	49±5		1700±324	1910±334
	ヘッドスペース法	バックドカラム		絶対検査線法		70±2	21±1		1590±46	1681±49
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		74±0	22±0		1646±0	1742±0
	ヘッドスペース法	バックドカラム		絶対検査線法		80±3	60±1		1300±14	1440±18
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		62±4	44±2		1500±50	1606±56
	6	菓子容器(赤色)		直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		300	30	
キャピラリーカラム			絶対検査線法			248±1	34±0		642±1	924±2
			ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		263±1	37±1		672±4
キャピラリーカラム					絶対検査線法		210±16	65±4	45±5	510±56
	ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		210±20	49±3	23±6	560±34	842±58	
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		100			520	620
	ヘッドスペース法	バックドカラム		絶対検査線法		96±2			418±4	514±6
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		96±0			418±2	514±11
	ヘッドスペース法	バックドカラム		絶対検査線法		92±5	50±1	45±3	350±35	537±41
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		81±5	33±2	25±4	400±10	539±19
	8	菓子容器(黄色)		直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		280	44	
キャピラリーカラム			絶対検査線法			197±5	31±1	22±1	931±27	1181±34
			ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		219±4	34±0	24±0	936±19
キャピラリーカラム					絶対検査線法		210±3	65±3	48±3	770±21
	ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		210±11	50±2	28±5	900±5	1188±19	
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		355±20			993±28	1348±8
	ヘッドスペース法	バックドカラム		絶対検査線法		75±2			838±19	913±21
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		77±2			847±15	924±17
	ヘッドスペース法	バックドカラム		絶対検査線法		93±3	53±1	40±7	720±63	906±59
ヘッドスペース法			キャピラリーカラム	絶対検査線法		88±7	38±4	20±11	910±29	1056±46
	10	菓子容器(黒色)		直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		257±54		
キャピラリーカラム			絶対検査線法			39±1			867±7	906±7
			ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		38±0			857±8
キャピラリーカラム					絶対検査線法		67±10	54±0		870±69
	ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		48±12	37±1		1000±79	1185±91	

バックドカラム : n=1 (但し, no.5, 9, 10はmean±SD (n=3))

その他 : mean±SD (n=3)

空網: ND: 20 µg/g未満

単位: µg/g