

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こりやすく、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)

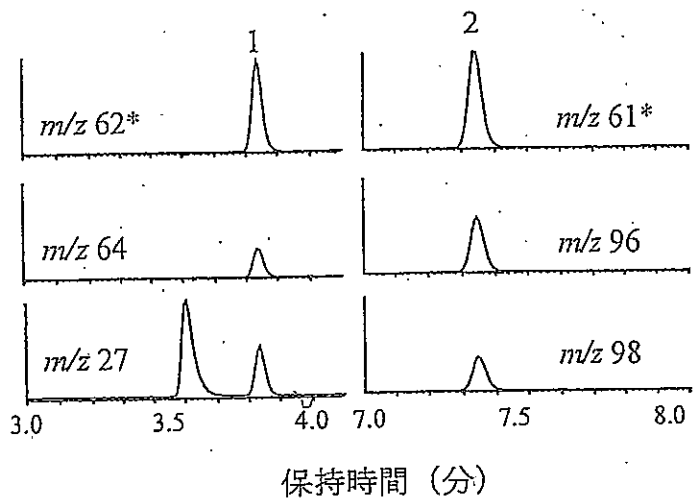


図1 GC/MSによる標準溶液のイオンクロマトグラム

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

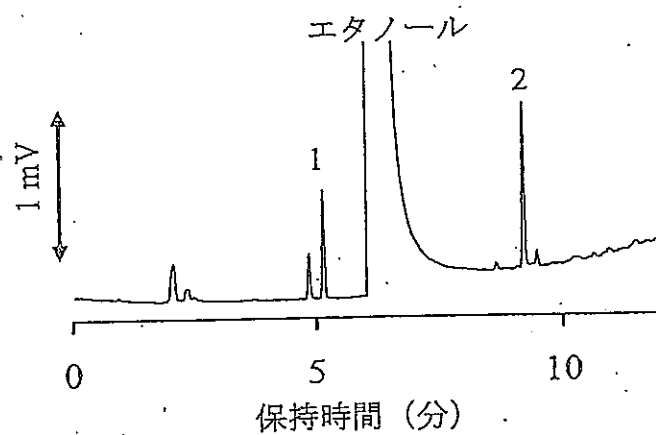


図2 GC-FIDによる標準溶液のガスクロマトグラム

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

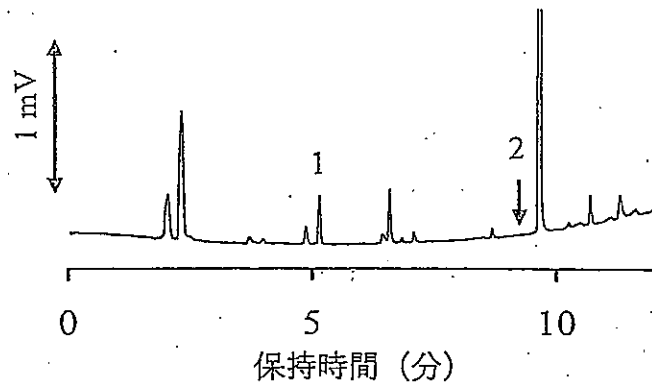
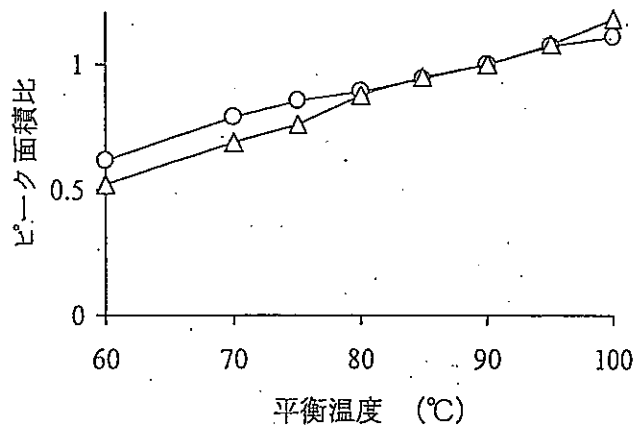


図3 GC-FIDによるパイプ1のガスクロマトグラム

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。

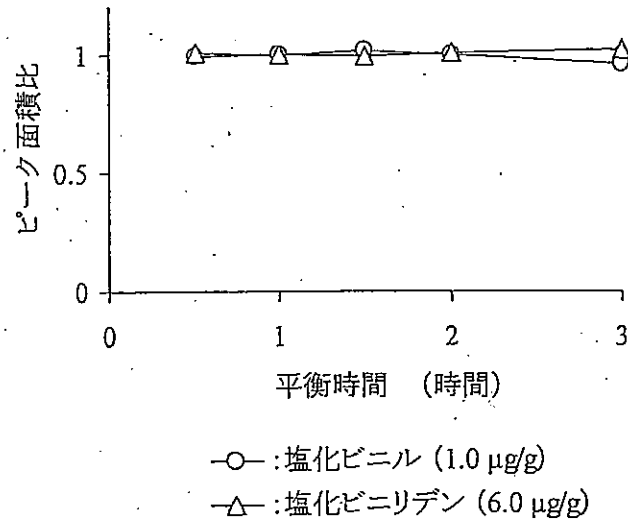


図5 ヘッドスペース法における平衡時間とピーク面積比の関係

平衡温度を90°Cとし、GC/MSにより測定した。

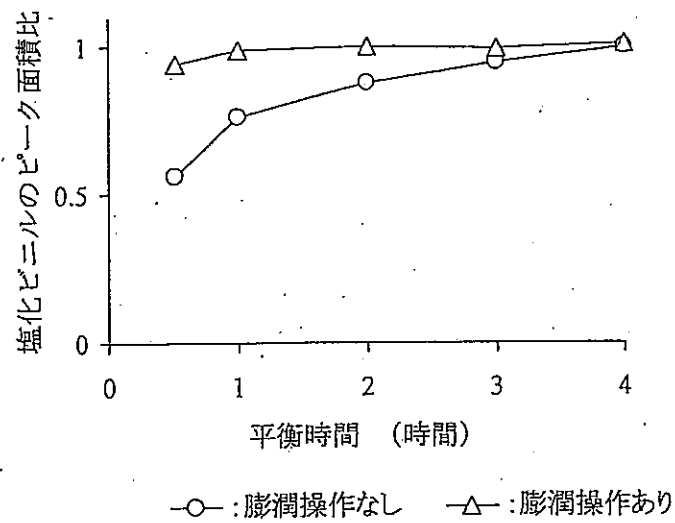


図6 パイプ1における一晩放置による膨潤操作の効果

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。

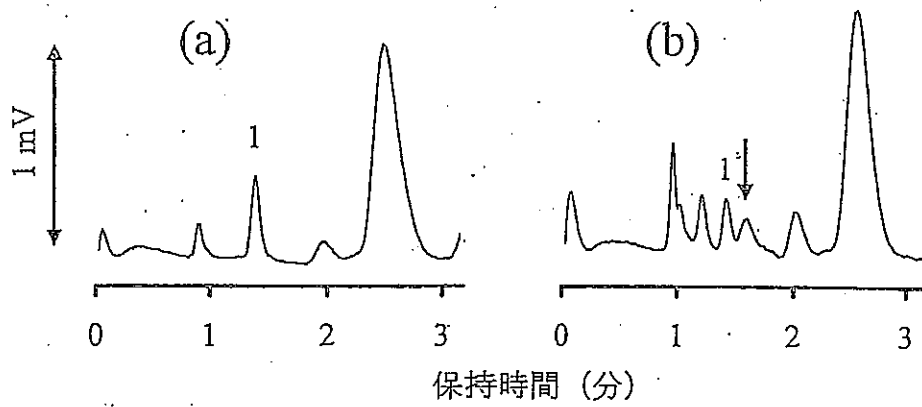


図7 公定法によるパイプ1のガスクロマトグラム

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

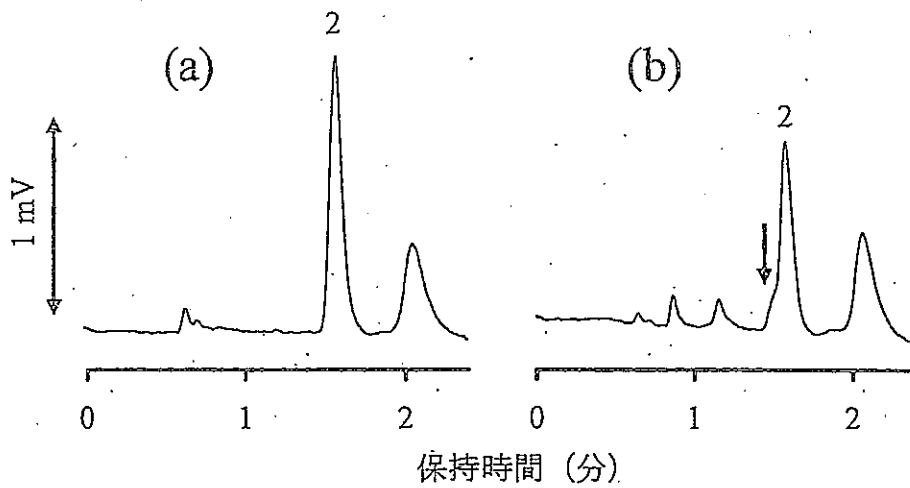


図8 公定法による塩化ビニリデン含有フィルムのガスクロマトグラム

(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)

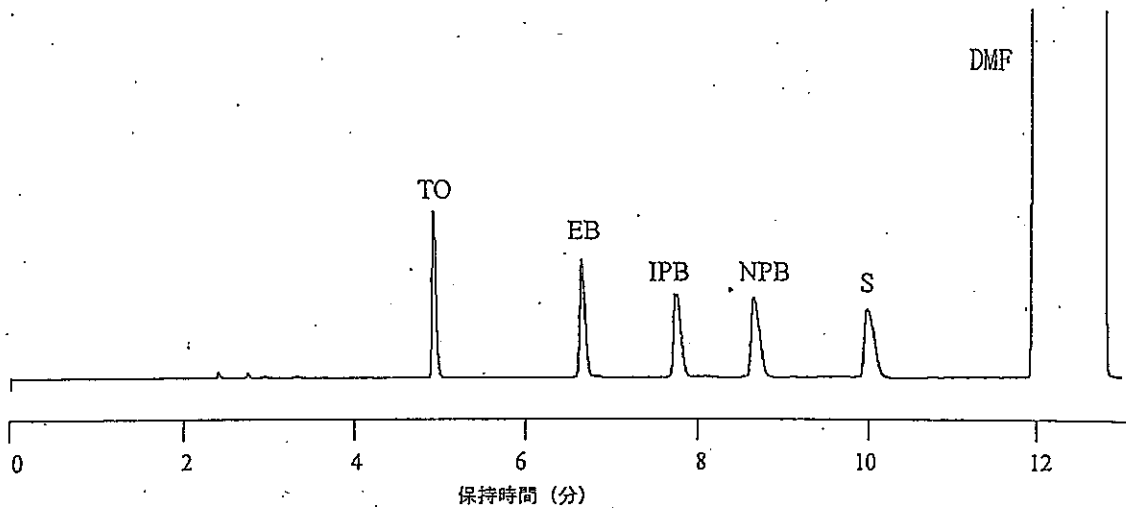


図1 溶媒にDMFを用いた直接注入法（キャピラリーカラム）による揮発性物質のガスクロマトグラム（100 μ g/mL標準溶液）

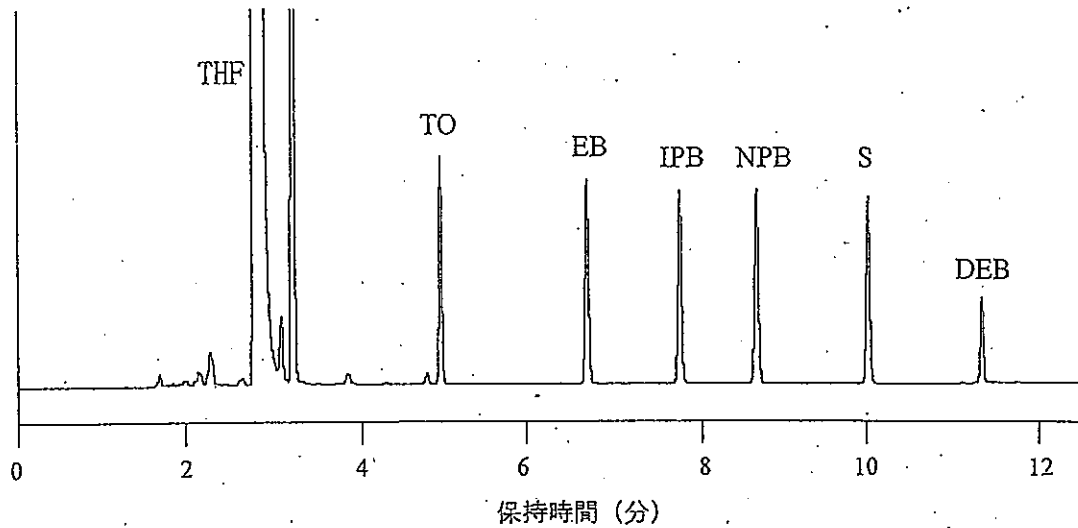


図2 溶媒にTHFを用いた直接注入法（キャピラリーカラム）による揮発性物質のガスクロマトグラム（100 μ g/mL標準溶液）

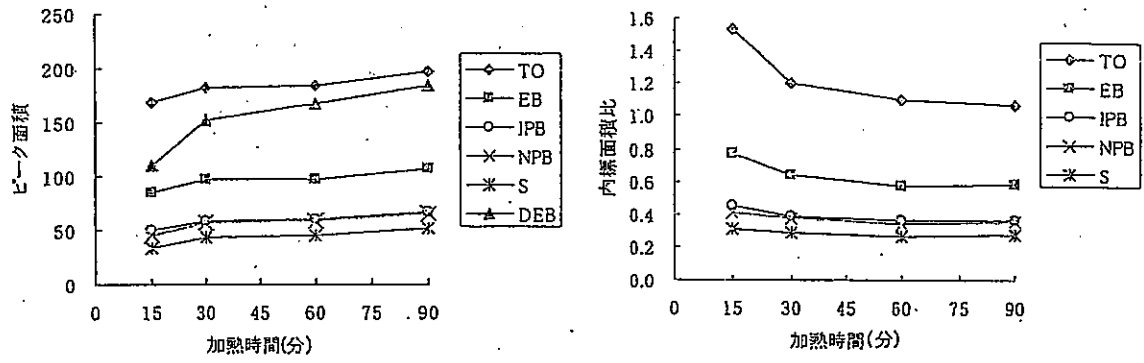


図3 ヘッドスペース法における加熱時間とピーク面積及び内部標準物質面積比の関係

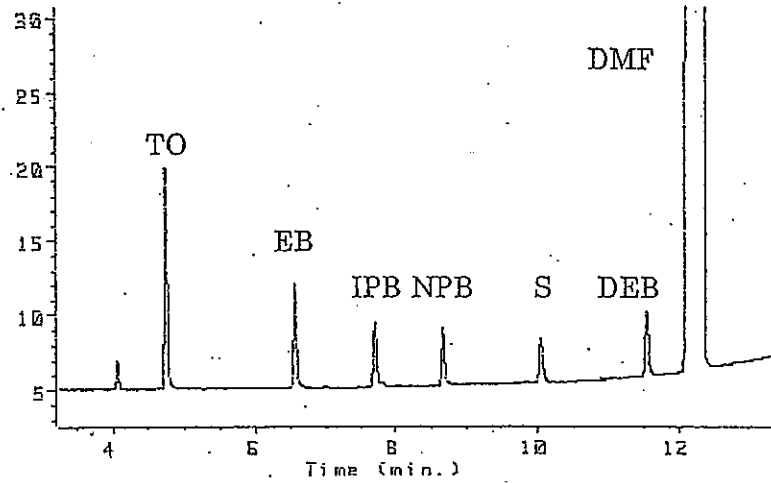


図4 ヘッドスペース法による各揮発性物質およびDEBのガスクロマトグラム (100 μ g/mL標準溶液)

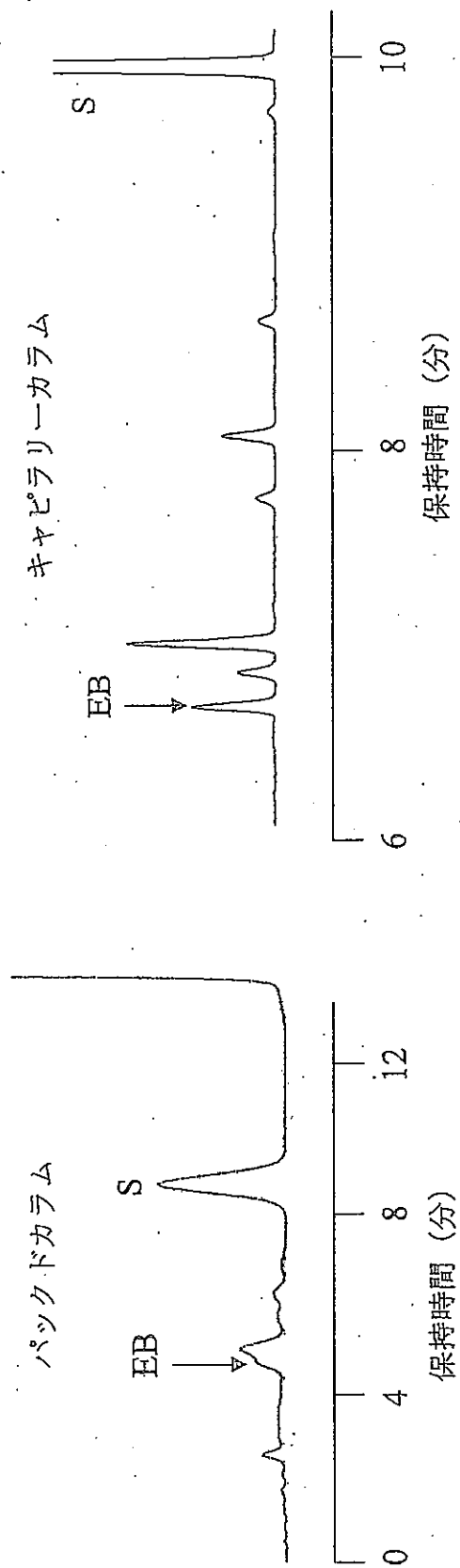


図5 直接注入法におけるバックドカラムとキャピラリーカラムによるクロマトグラム (NO.9) の比較
 (バックドカラム：DMF溶液、キャピラリーカラム：THF溶液)

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		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	バックドカラム	絶対検査線法		74±0			443±3	517±3
				内標準法						
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	340
			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	294±8
				内標準法						
3	菓子用カップ	直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法	48				580	628
			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
				内標準法						
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	1700	1912
			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	1883±18
				内標準法						
5	菓子容器(緑色)	直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		161±15	49±5		1700±324	1910±334
			キャピラリーカラム	絶対検査線法		70±2	21±1		1590±46	1681±49
		ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		74±0	22±0		1646±0	1742±0
				内標準法						
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		620	950
			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	972±7
				内標準法						
7	菓子容器(白色)	直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		100			520	620
			キャピラリーカラム	絶対検査線法		96±2			418±4	514±6
		ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		96±0			418±2	514±11
				内標準法						
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		1000	1324
			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	1213±23
				内標準法						
9	菓子容器(レモン色)	直接注入法	バックドカラム	絶対検査線法		355±20			993±28	1348±8
			キャピラリーカラム	絶対検査線法		75±2			838±19	913±21
		ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		77±2			847±15	924±17
				内標準法						
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			977±74	1234±90
			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	895±8
				内標準法						
ヘッドスペース法	バックドカラム	絶対検査線法		67±10	54±0		870±69	991±79		
		内標準法		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