

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)

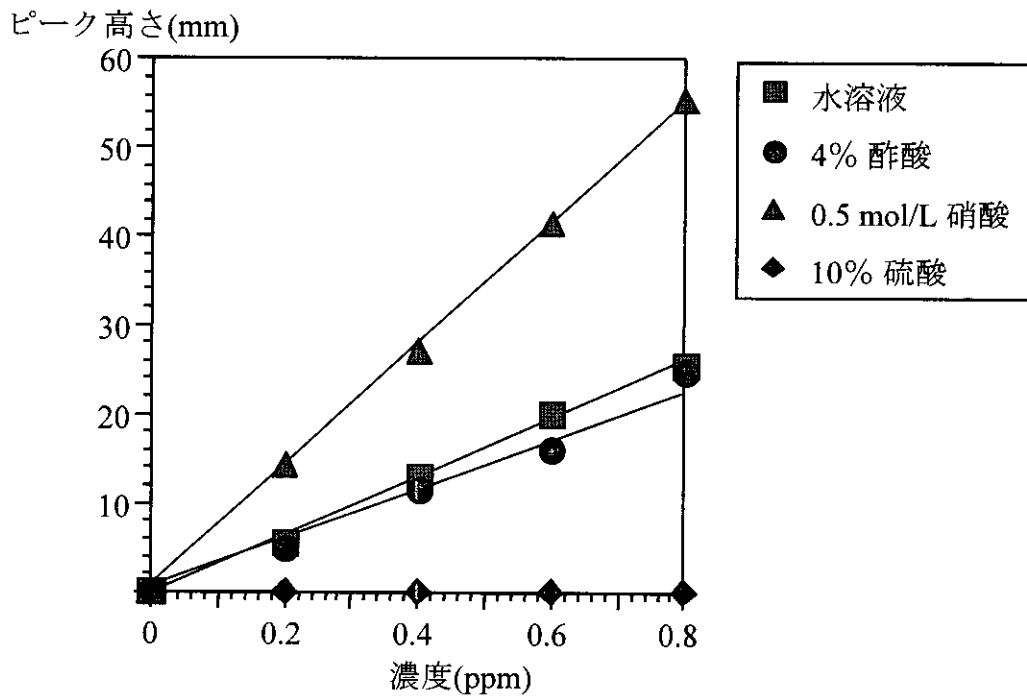


図2. 酸の種類によるゲルマニウム標準溶液の検量線
(フレイムレス原子吸光光度計での強度の比較)

イオン強度

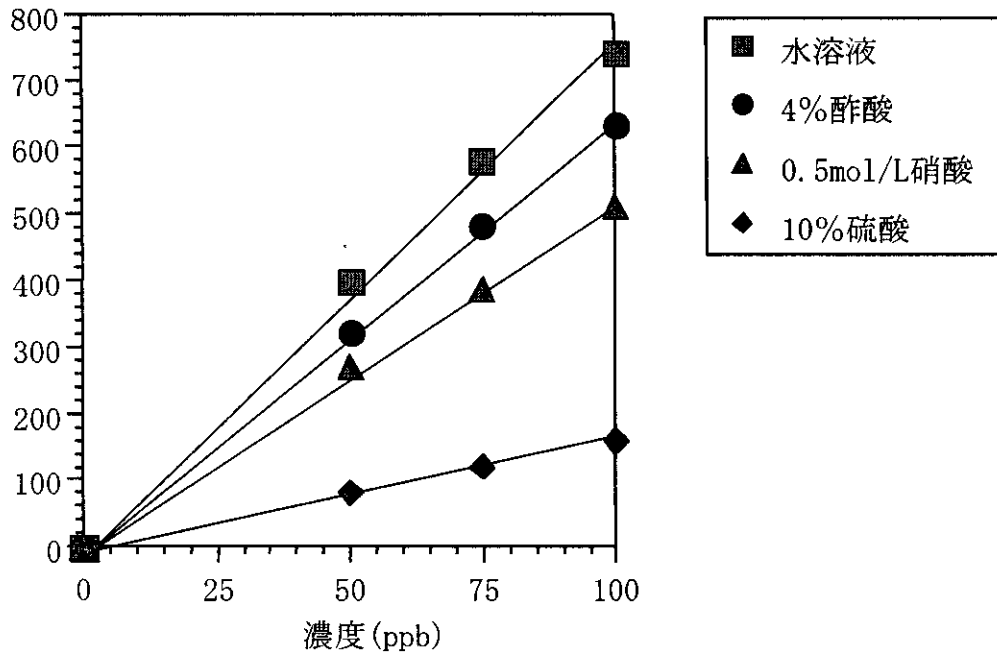


図 3. 酸の種類によるアンチモン（質量数：121）標準溶液の検量線（ICP-MSでの強度の比較）

イオン強度

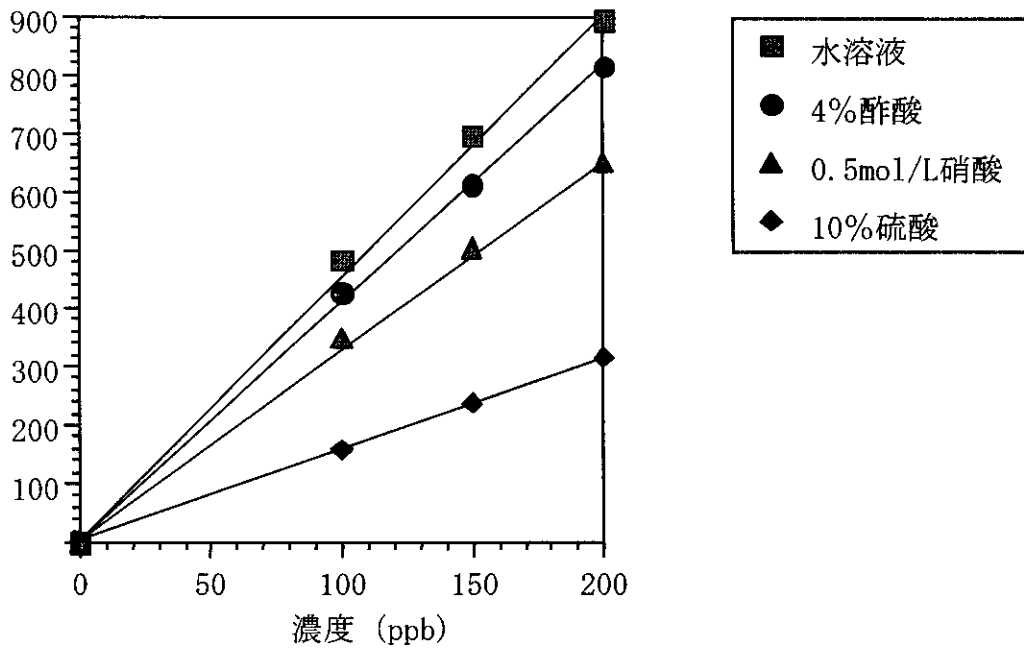


図 4. 酸の種類によるゲルマニウム（質量数：74）標準溶液の検量線（ICP-MSでの強度の比較）

イオン強度

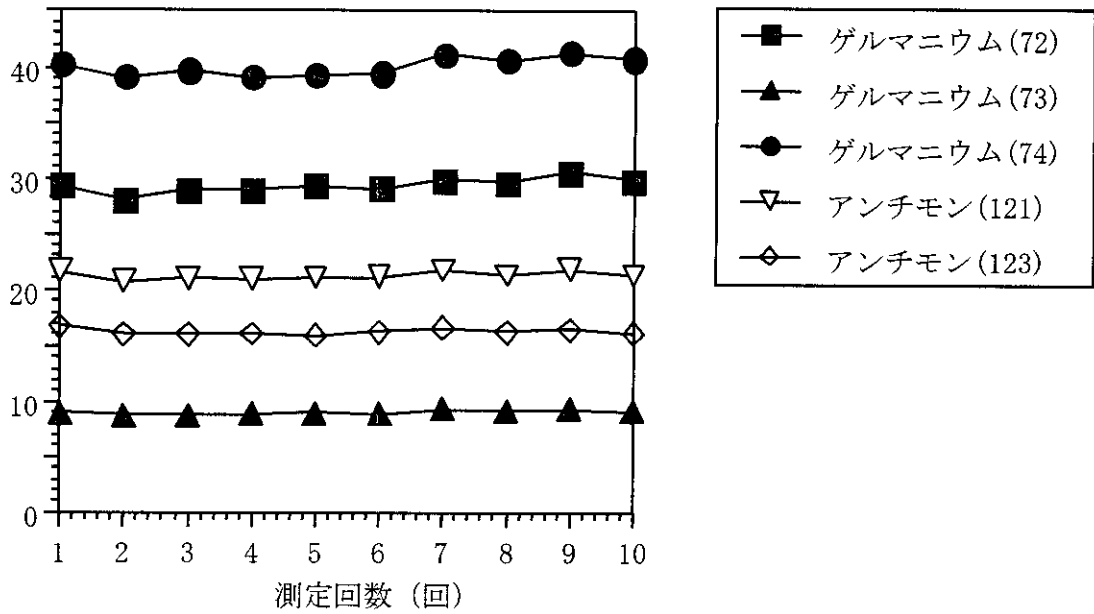


図 5. アンチモン25 ppb、ゲルマニウム50 ppb標準溶液 (4%酢酸溶液) の共存元素による干渉作用の影響

吸光度

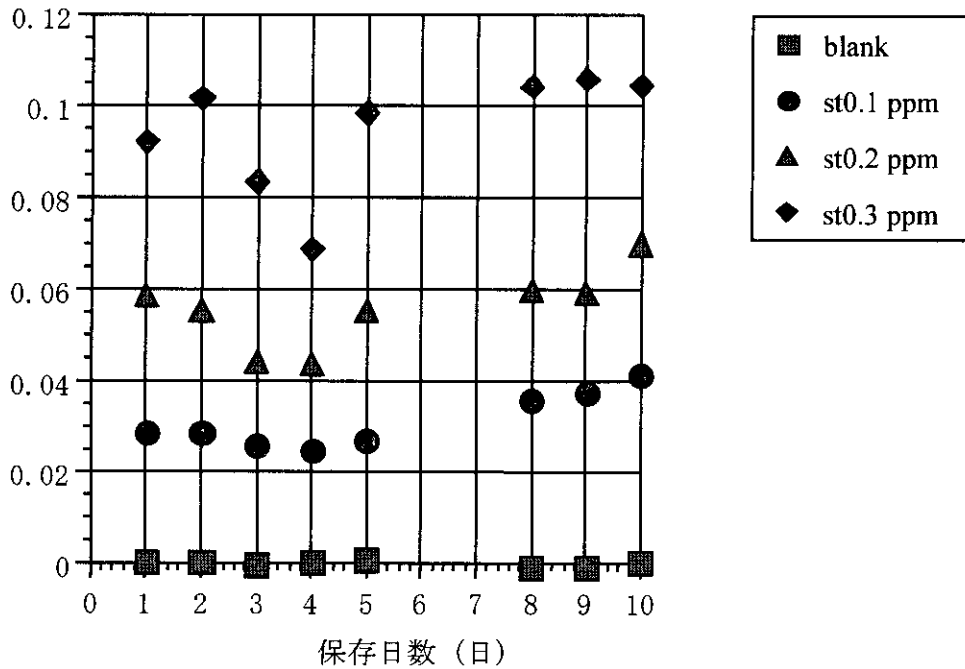


図 6. アンチモン標準溶液 (冷暗所保存) 吸光度 (330 nm) の経時変化

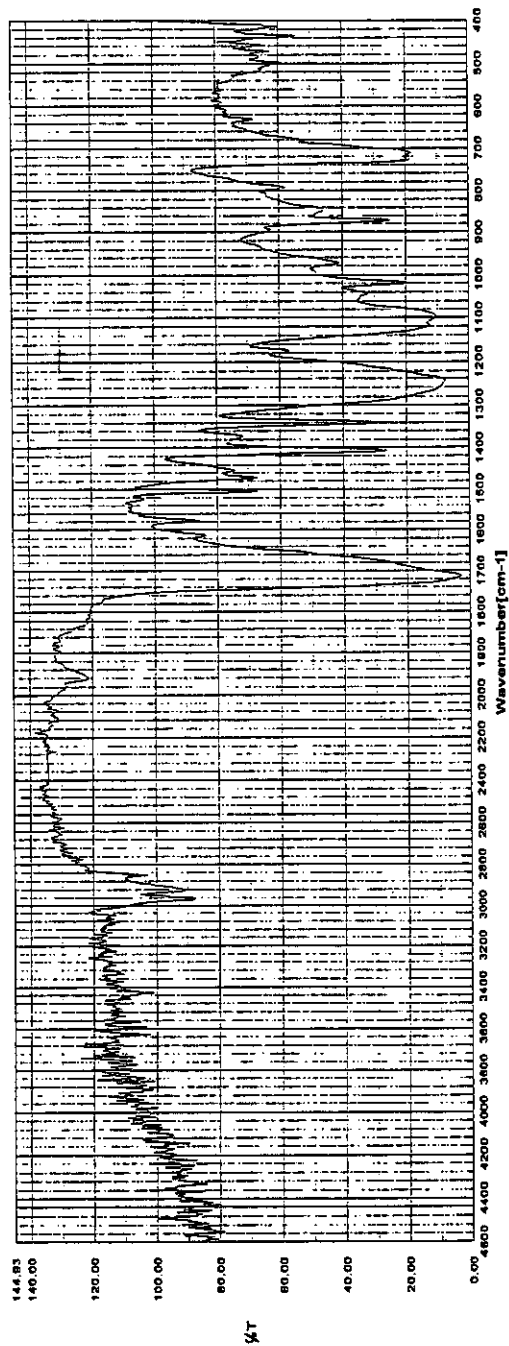


図7 ポリエチレンテレフタレート (PET) のFT-IRスペクトル

<その3>内面塗装缶のエピクロロヒドリン試験法の改良

研究協力者 大野浩之、鈴木昌子 名古屋市衛生研究所

A. 研究目的

一般に金属缶の試験法における試験溶液の調製法では「液体を満たすことができる試料にあつては、浸出用液を満たし、液体を満たすことができない試料にあつては、表面積 1 cm²につき 2 mL の割合の浸出用液を用いる」とされている。しかし、内面塗装缶のエピクロロヒドリン試験法にかぎっては「液体を満たすことができる試料にあつては、内容量の 20%の *n*-ペンタンを入れて密栓し、25℃に保ちながら時々振り混ぜて 2 時間放置する。液体を満たすことができない試料にあつては、表面積 1 cm²につき 0.4 mL の割合の *n*-ペンタンを用い、密栓した容器中で 25℃に保ちながら時々振り混ぜて 2 時間放置する」と規定され、前者の 1/5 量の浸出用液を用いることになっている¹⁾。

この理由としては、パックドカラムを用いるガスクロマトグラフィーによるエピクロロヒドリンの検出感度が 2~3 μg/mL と悪く²⁾、一般的な調製法で溶出を行った場合、基準値の 0.5 μg/mL 以下を測定できないためである。従つて、上記のように *n*-ペンタンに対する金属缶の接触比を 5 倍にして振とう抽出を行い、結果的に浸出用液を 5 倍濃縮したのと同じとなることを利用し、試験溶液中の濃度が 2.5 μg/mL 以下であることを確認することになっている^{2), 3)}。

しかし、この調製法では金属缶を溶出時間内に時々振とうさせなければならず、恒温器の温度管理や *n*-ペンタンの揮散などの実務上の問題点がみられ、他の金属缶の試験法と同様の調製法が望ましいものと考えられる。

このためにはエピクロロヒドリンの定量下限を 0.5 μg/mL 以下とする必要があるが、現行のパックドカラムによる方法では困難である。

そこで、試験溶液の調製法の整合性を図るため、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/質量分析について検討し、基準値以下の濃度域を容易に精度良く測定する試験法を確立することを目的とした。

B. 研究方法

1. 試料

内面塗装缶 A~H (表 2): 2 ピース缶 (A、B、E、F、G) は缶と天蓋が分離した状態で、3 ピース缶 (C、D、H) は胴と底蓋が接合され、天蓋のみが分離した状態で搬入された。いずれも東洋製罐(株)より入手した。

2. 試薬及び標準溶液

エピクロロヒドリン: 純度 99%以上、和光純薬工業(株)製

n-ペンタン: 特級、和光純薬工業(株)製

3. 装置

ガスクロマトグラフ (GC-FID): 島津 GC-14B、水素炎イオン化検出器付き、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 HP6890、質量分析計 HP5973、Hewlett Packard 社製

フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR): FT/IR-5300、日本分光(株)製

多重全反射測定装置: ATR-500/M、日本分光(株)製

恒温器: SHR-100M、三洋電機(株)製

4. GC-FID測定条件

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

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

注入口及び検出器温度：220°C、

キャリアーガス：N₂、14 mL/min

メイクアップガス：N₂、40 mL/min

注入量：5 μL

5. GC/MS測定条件

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

カラム温度¹⁾：40°C (2 min) -20°C/min -200°C (5 min)

注入口温度：200°C

インレット温度：220°C

キャリアーガス：He、0.6 mL/min

注入量：1 μL

注入モード：スプリットレス

イオン化電圧：70 eV (EI モード)

測定モード：SIM 及び SCAN

SIM 条件

定量用イオン： m/z 49

確認用イオン： m/z 57、62

SCAN 条件

スキャンレンジ： m/z 25~100

6. FT-IR測定条件

プリズム：KRS-5

反射回数：5 回

入射角：45°

分解能：4 cm⁻¹

積算回数：16 回

波数領域：400~4600 cm⁻¹

7. 缶コーティングの材質判別

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

より判別した。

8. 試験溶液の調製

缶に *n*-ペンタンを満たし、切口にアルミホイルをかぶせ、さらにポリ塩化ビニル製ラップフィルムを重ねてかぶせ、外側から輪ゴムでとめて密閉⁴⁾した後、恒温器中 25°C で 2 時間溶出した。

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

C. 研究結果及び考察

1. GC-FIDによる測定

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

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

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

ロルヒドリンの保持時間は6.8分であった。

2. GC/MSによる測定

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

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

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

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

3. エピクロルヒドリンの安定性

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

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

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

4. *n*-ペンタン

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

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

5. 試料の測定

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

D. 結論

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

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

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

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

E. 文献

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

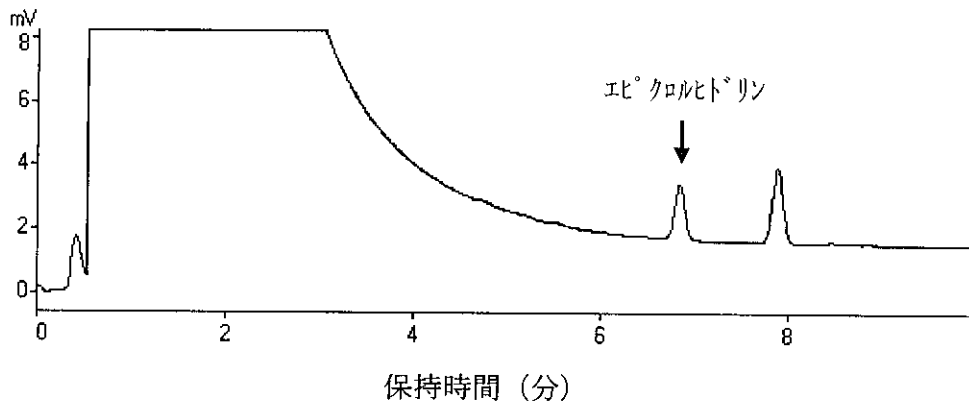


図1 0.5 μ g/mL 標準溶液の GC-FID クロマトグラム

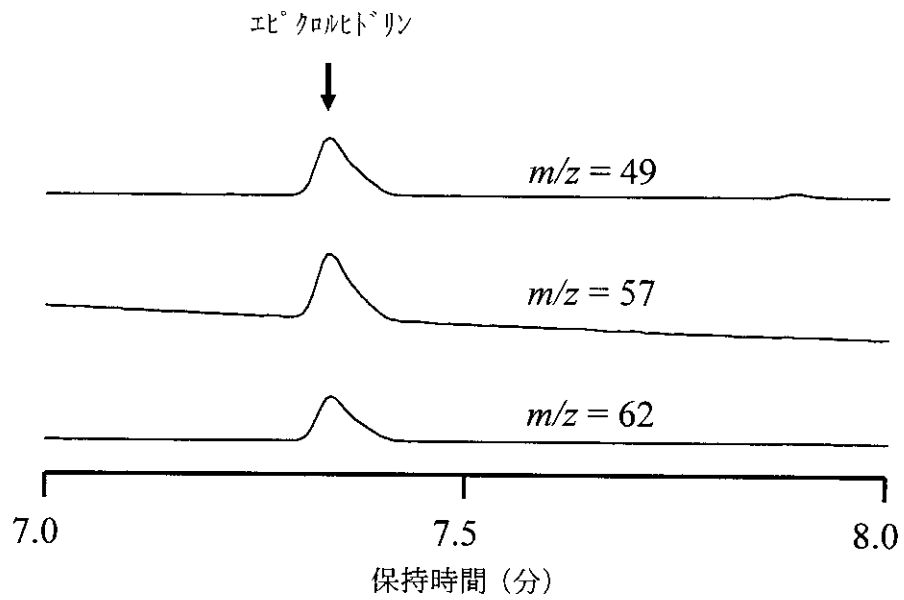


図2 0.5 μ g/mL 標準溶液の GC/MS (SIM) クロマトグラム

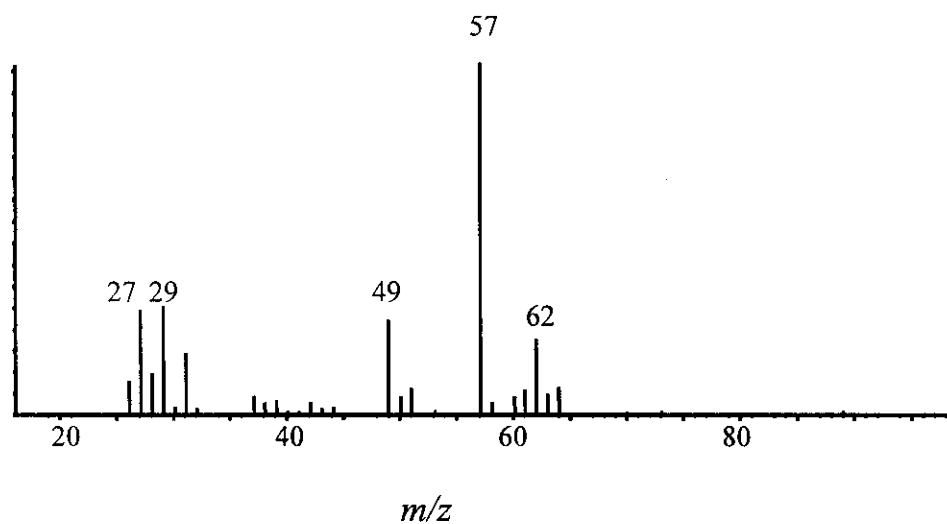


図3 エピクロロヒドリンのマスペクトル

表1. エピクロロヒドリンの安定性

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

$n = 4$

1) : 缶 (試料D) に標準溶液を満たし、25°Cで2時間放置した。

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

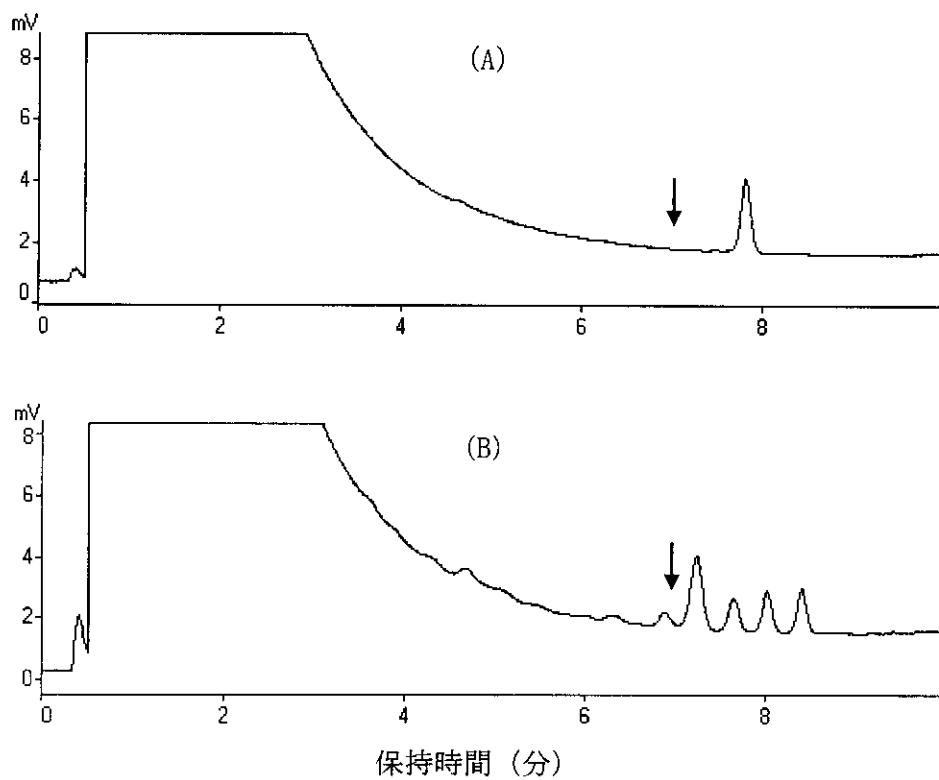


図4 *n*-ペンタンのGC-FIDクロマトグラム

(A)：和光純薬工業(株)製、(B)：東京化成工業(株)製

表2. 試料の測定結果

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

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

1): 缶にコーティングを満たして浸出した。

2): コーティング面1cm²につき2mLの割合のn-ペンタンを用いて浸出した。

＜その4＞フェノール試験法の精度向上に関する検討

協力研究者 尾崎麻子、山口之彦、藤田忠雄 大阪市立環境科学研究所

A. 研究目的

食品衛生法のフェノール試験法は、対象とする試料によって 4-アミノアンチピリン法と臭素溶液による方法（トリブロモ法）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ブ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ブロモ法は、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℃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℃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 µg/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℃で 3.65 g/100 ml、20℃で 4.88 g/100 ml、60℃で 14.9 g/100 ml、80℃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℃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

µg/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 µg/ml 前後と概算された。4-アミノアンチピリン法で 1~40 µg/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 µg/ml となるようにフェノールを添加し、発色強度を比較した。その結果、図 3 に示したように、pH 3.0~8.5 では発色強度は一定であったが、pH 8.5 を超えると強度が低下する傾向が見られた。よって、酸性の場合は問題ないが、溶出液が強いアルカリ性を示した場合は注意が必要である。

そこで、4-アミノアンチピリン法が適用されているゴム製品 (シリコンゴム製 2 試料、イソプレンゴム、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 µg/ml 未満) であった。それぞれ 5 及び 25 µg/ml となるよ

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

D. 結論

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

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

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

必要と考えられる。

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

E. 参考文献

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

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) 六鹿元雄、河村葉子、渡辺悠二、米谷民雄、食品衛生学雑誌、44、26-31 (2003)
2. 学会発表
 - 1) 金子令子、船山恵市、羽石奈穂子、鎌田国広：日本食品衛生学会第84回学術講演会 (2002.11)
 - 2) 柿本幸子、池辺克彦、堀伸二郎：日本食品衛生学会第85回学術講演会 (2003.5)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1 トリブロモ法による試験法の感度

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

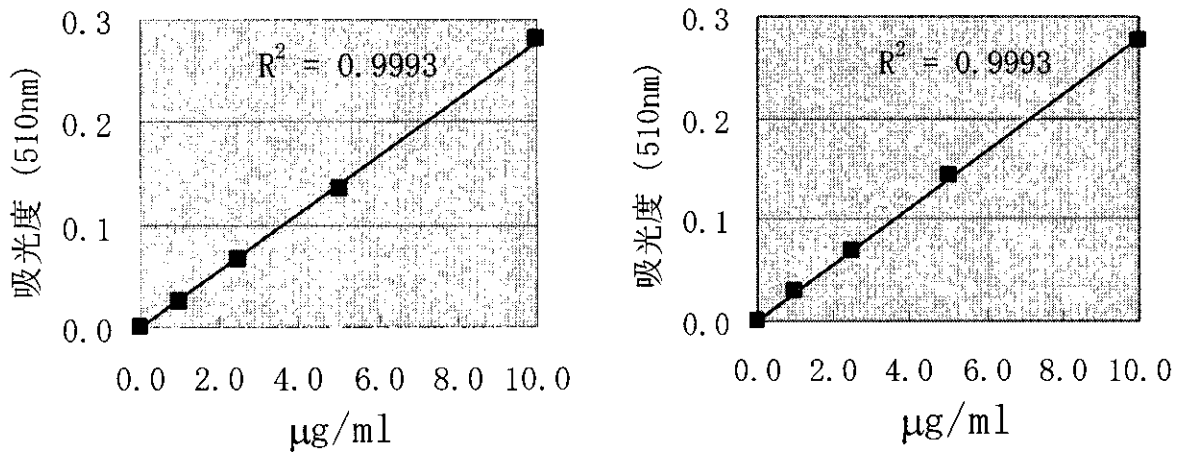


図1 緩衝液 - 2 (左) 及び3 (右) を用いた時の4 - アミノアンチピリン法による検量線

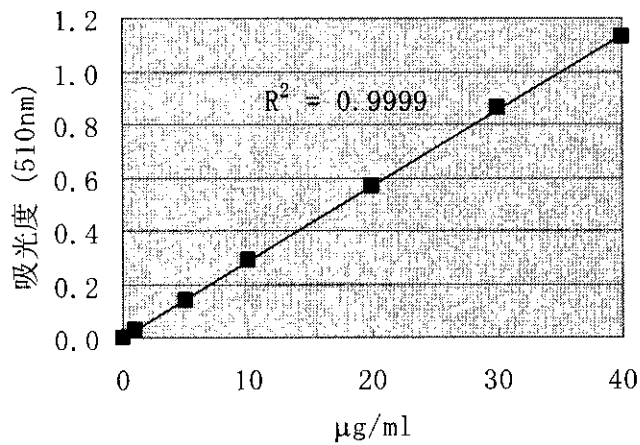


図2 緩衝液 - 3を用いた時の4 - アミノアンチピリン法による検量線

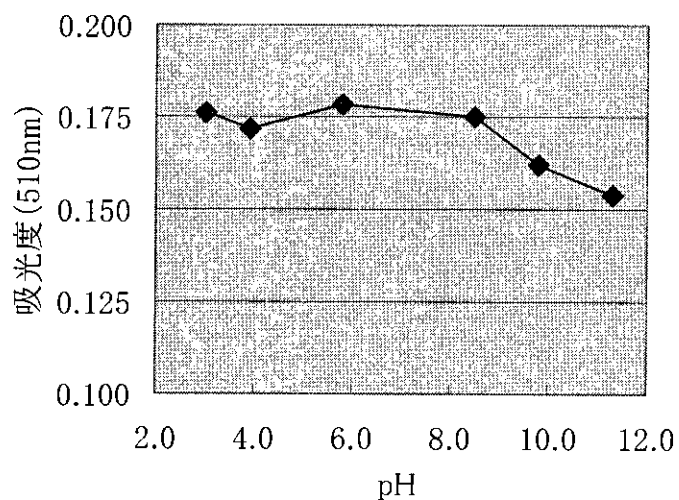


図3 異なるpHの水溶液を用いた時の4 - アミノアンチピリン法における発色強度

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 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	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

器具・容器包装に由来する食品汚染物に関する研究
—病院給食中の可塑剤 DEHA、DINA 及び ATBC に関する調査—

分担研究者 外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 食品試験部

研究要旨

新潟・愛知・大阪の3病院の給食（各一週間分）を試料として、器具・容器包装に由来すると考えられる3種類の可塑剤、すなわちアジピン酸ジ（2-エチルヘキシル）（DEHA）、アジピン酸ジイソノニル（DINA）及び *O*-アセチルクエン酸トリブチル（ATBC）による汚染実態を調査した。3病院における検出濃度の平均値は、DEHAは4.7～12.7 ng/gの範囲内であって大差が無かったが、DINAは2病院で10及び18 ng/gであったのに対し1病院で895 ng/g、ATBCは2病院で2.2及び3.8 ng/gであったのに対し1病院で956 ng/gであり、調理施設による大きな差が見られた。DINAが高濃度で検出された給食の調理施設においてはポリ塩化ビニル製ラップフィルムが、ATBCが高濃度で検出された給食の調理施設においてはポリ塩化ビニリデン製ラップフィルムがそれぞれ使用されており、各々の調理過程で食材がこれらと接触することによる汚染の可能性が考えられた。各可塑剤の一日当たりの摂取量を3病院の平均を用いて算出した場合、DEHA 12.4 µg、DINA 459 µg、ATBC 414 µgとなり、高濃度の混入が見られた病院の結果を除外して算出した場合は、DINA 20 µg、ATBC 5.6 µgとなった。いずれの摂取量もEUの暫定的な基準に照らして問題となる量ではなかった。

研究協力者

酒井 洋 新潟県保健環境科学研究所
土田由里子 新潟県保健環境科学研究所
斎藤 勲 愛知県衛生研究所
石光 進 国立医薬品食品衛生研究所
大阪支所
津村ゆかり 国立医薬品食品衛生研究所
大阪支所
吉井公彦 国立医薬品食品衛生研究所
大阪支所

A. 研究目的

著者らは、我が国における食品中のフタル酸エステル類による汚染実態及び摂取量調査を行い、市販弁当及び病院給食の調理に用いられたPVC製手袋中のフタル酸ジ（2-エチルヘキシル）（DEHP）が食品中へ大量に移行することを見出した^{1,2)}。これを受けて平成12年6月に、厚生省（当時）はDEHPを含むPVC製手袋を調理に用いることを自粛するよう各機関・事業者へ通知した。また、著者らはレトルト食品の製造工程でPVC製

ホースから DEHP が食品に移行することも明らかにし¹⁾、食品製造業界への注意を促した。これらの結果は、食品用器具・容器包装の法的な規制強化へと発展した³⁾。

当研究班において、著者らは平成 13 年度に、幅広い市販食品についてフタル酸エステル以外の可塑剤濃度を調査した。本年度は、昨年度検出頻度が高かったアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHA)、アジピン酸ジイソノニル (DINA) 及び *O*-アセチルクエン酸トリブチル (ATBC) の 3 種を対象とし、病院給食における汚染実態の調査を行うこととした。試料としたのは、新潟・愛知・大阪の 3 病院の給食 (各一週間分) であり、A、B、C の 3 機関 (順不同) でそれぞれ分析を行った。

B. 研究方法

用いた試薬や機器の銘柄は各機関で若干異なるが、機関 C の場合について示す。

1. 試料

病院給食：2001 年 7～9 月に新潟・愛知・大阪の 3 病院で提供された給食各 1 週間分、計 63 検体 献立は表 1 (1～3) に示した。各病院とも調理はほとんど自施設で行っており、基本的に V 病院及び W 病院は毎食米飯が主食であり、X 病院は朝食のみパンが主食である。

2. 可塑剤標準品

DEHA (東京化成)、DINA (和光純薬)、ATBC (和光純薬)：このうち DINA は各種異性体の混合物である。標準溶液はヘキサン溶液とした。

3. 内部標準

DEHA-*d*₈ (関東化学)、DNA-*d*₈ (林純薬)：内部標準はヘキサン溶液とし、サロゲートとして 1 試料につき 2,000 ng/mL 溶液を 1

mL 添加した。

4. その他の試薬

アセトン、ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、水：フタル酸エステル試験用 (関東化学及び和光純薬製)；アセトニトリル、塩化ナトリウム：残留農薬試験用 (和光純薬製)；フロリジル：フロリジン社製フロリジル PR；弱塩基性イオン交換樹脂 PSA：バリアン社製 BONDESIL PSA 40 μm

5. 器具・試薬の前処理

ガラス器具は 200 °C で 2 時間加熱して放冷後、使用直前にヘキサンで洗浄した。塩化ナトリウム、フロリジルは 200 °C で 2 時間加熱して放冷後使用した。

6. フロリジル+PSAカラム

内径 15 mm、長さ 110 mm のガラス製注射筒に脱脂綿で栓をし、フロリジル 2 g、その上に PSA 0.5 g、無水硫酸ナトリウム 1 g をヘキサンを用いて充填した。使用前にアセトン 10 mL、次いでヘキサン 10 mL を注入して洗浄した。

7. 試験溶液調製法

ホモジナイズした試料 50 g を 200 mL 容の遠沈管に採り、サロゲートを加えた。ホモジナイズが困難な試料の場合は水を加えた。これをアセトニトリル 100 mL で 2 回抽出し、3,000 rpm で 5 分間遠心沈降した。上澄みを合わせ、食塩 7 g を加え 5 分間機械振とうした。水層を分取して除き、アセトニトリル層にアセトニトリル飽和ヘキサン 20 mL を加え、5 分間機械振とうした。再び水層を除き、アセトニトリル層を分取して濃縮乾固した。これをヘキサン 5 mL に溶解して 10 mL 容の共栓付き遠沈管に移した。ただし、濃縮後に水層が残った場合はその水層を共栓付きに移し、ヘキサン 5 mL で洗い込んだ。

遠沈管を 30 秒間振とうして、上層をフロリジル+ PSA カラムに負荷した。遠沈管内に残った水層に再びヘキサン 5 mL を加えて振り混ぜ、上層を同カラムに負荷した。5%アセトン/ヘキサン 20 mL を同カラムに注入して流出液を採取し、これを濃縮してヘキササンで 2 mL に定容し、GC/MS に注入した。

8. GC/MS測定条件

機種：島津 QP-5050 + GC-17A + AOC-20i；カラム：J&W DB-5（膜厚 0.25 μm 、内径 0.25 mm、長さ 30 m）；気化室温度：260 $^{\circ}\text{C}$ ；カラム槽温度：50 $^{\circ}\text{C}$ （1 min） \rightarrow （10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ） \rightarrow 270 $^{\circ}\text{C}$ （27 min）；キャリアガス：高純度ヘリウム 圧力 100 kPa；全流量：20 mL/min；注入方法：スプリットレス（サンプリング時間：3 min）；インターフェース温度：260 $^{\circ}\text{C}$ ；注入量：1 μL ；検出器電圧：1.30 kV（通常）、1.00 kV（通常の電圧でスケールオーバーした場合）；定量イオン (m/z)：DEHA 129、DINA 129、ATBC 185；確認イオン (m/z)：DEHA 147、DINA 255、ATBC 129

9. 定量法

試験溶液を GC/MS に注入し、DEHA についてはピーク面積を内部標準のピーク面積で割った数値を標準溶液のそれと比較して定量した。DINA はすべてのピーク面積を合計して定量対象とし、内部標準は DNA- d_8 とした。ATBC は絶対検量線法で定量した。

測定日ごとに水 50 mL を試料と同様に、かつ同時に操作して空試験値を求めた。一連の実験期間中の空試験値の平均を試料の測定値から差し引いて試料中検出量とした。空試験で検出される可塑剤についてはその検出値の標準偏差の 3 倍を、検出されない可塑剤については GC/MS で S/N 比が 3 となる濃度を

それぞれの検出下限値とし、検出下限値の 2 倍を定量下限値とした。すべての試料は 2 試行分析を行い、各試行の測定値の平均値を検出値とした。

10. 確認法

検出下限値付近の濃度で明瞭でないピークについては、確認イオンによる定量も行い、測定イオンによる定量値との差が 20%以内の場合に検出と判定した。

C. 研究結果及び考察

1. 試験法

1) 試料への添加回収率

今回用いた試験法をコロッケに適用した場合の添加回収率は、DEHA 98.2 \pm 2.5%（DEHA- d_8 で補正）、DINA 120.2 \pm 3.5%（DNA- d_8 で補正）、ATBC 120.2 \pm 10.7%（補正なし）であった。DINA の回収率は 100% を超えたが、これは多数の異性体の混合物であるため d -体の標準品が市販されておらず、 n -化合物の d -体をサロゲートとしたためと考えられる。また、 d -体による補正を行わない ATBC の回収率も 100% を超えたが、これは試料成分の影響によってピーク面積が大きくなったためと考えられる。同じ試験法をレトルトベビーフードに適用した場合、ATBC の回収率は 106.3 % であった。検出結果に対しては、これらの回収率による補正は行わなかった。

2) 操作ブランク値

病院給食の分析は 3 機関において行ったが、その期間中の操作ブランク値、検出下限値及び定量下限値は表 2 に示した通りであった。機関 A が V 病院の試料を、機関 B が W 病院の試料を、機関 C が X 病院の試料をそれぞれ分析した。