

は 85.8~120.3 %、変動係数は 0.8~9.2 %とい
ずれも良好な結果が得られ、本法が 1-クロロ
ブタンの分析法として優れていることが示さ
れた。

5. 試料の測定

PVDC 製包装フィルム及び被包装食品各 13
検体の測定を行った (表 3)。1-クロロブタン
は全ての試料から検出され、残存量は包装フ
ィルムでは 0.27~9.19 µg/g、被包装食品では
0.004~0.040 µg/g であった。また、PVDC 製
ラップフィルム 2 検体についても測定を行っ
たところ、1-クロロブタンが 2.41 及び 6.83
µg/g 検出された。一方、対照食品及び対照ラ
ップフィルムからは検出されなかった。

D. 結論

PVDC 製包装フィルムや家庭用ラップフ
ィルム及び被包装食品に残存する 1-クロロブ
タンの試験法を検討した結果、内標準法を用い
、ヘッドスペース-GC/MS により定量する方
法を確立した。本法の回収率は、包装フ
ィルム及びラップフィルムでは 96.5~108.6 %、被
包装食品では 85.8~120.3 %と良好であり、定
量限界は包装フィルム及びラップフィルムで
は 0.05 µg/g、被包装食品では 0.002 µg/g であ
った。本法はいずれの試料においてもきょう
雑成分の妨害を受けることなく、操作も簡便

であり、再現性の高い試験法であった。

本法により PVDC 製包装フィルム及び被包
装食品の測定を行ったところ、1-クロロブタ
ンは測定した全ての試料から検出され、同時
に PVDC 製ラップフィルムからも検出された。
一方、対照食品及び対照ラップフィルムから
は検出されなかった。このことから PVDC 製
包装フィルム及びラップフィルムに残存する
1-クロロブタンは樹脂製造過程における不純
物又は混入物と考えられ、被包装食品中の 1-
クロロブタンは PVDC 製包装フィルムから移
行した可能性が高いと推察された。

E. 文献

- 1) 「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」(p.88)
- 2) 大野浩之、六鹿元雄、河村葉子、鈴木昌
子、青山大器:食品衛生学雑誌、46、8-12 (2005)
- 3) Food Survey Information Sheet 43/03,
“Chemicals used in plastic materials and articles
in contact with food: compliance with statutory
limits on composition and migration”, Food
Standards Agency, UK.

表1 PVDC製フィルムに包装された食品及び対照食品

	試料	名称	フィルム材質
PVDC製 フィルム に包装さ れた食品	ソーセージ	1 ウィンナーソーセージ	PVDC
		2 ボロニアソーセージ	PVDC
		3 ウィンナーソーセージ	PVDC
	魚肉ソーセージ	1 フィッシュソーセージ	PVDC
		2 フィッシュソーセージ	PVDC
		3 フィッシュソーセージ	PVDC
		4 フィッシュソーセージ	PVDC
		5 フィッシュソーセージ	PVDC
		6 特種フィッシュソーセージ	PVDC
	かまぼこ	1 ケーシング詰特種かまぼこ	PVDC
		2 ケーシング詰魚肉ねり製品	PVDC
	チーズ	1 プロセスチーズ	PVDC
2 プロセスチーズ		PVDC	
対照食品	ソーセージ	A ボロニアソーセージ	PE、PA
		B ウィンナーソーセージ	PE、PP
	魚肉ソーセージ	A フィッシュソーセージ	PP、PA
		B フィッシュソーセージ	PP、PA
	チーズ	A プロセスチーズ	セロファン
		B プロセスチーズ	PP、PA

PVDC：ポリ塩化ビニリデン、PE：ポリエチレン、PA：ナイロン、PP：ポリプロピレン

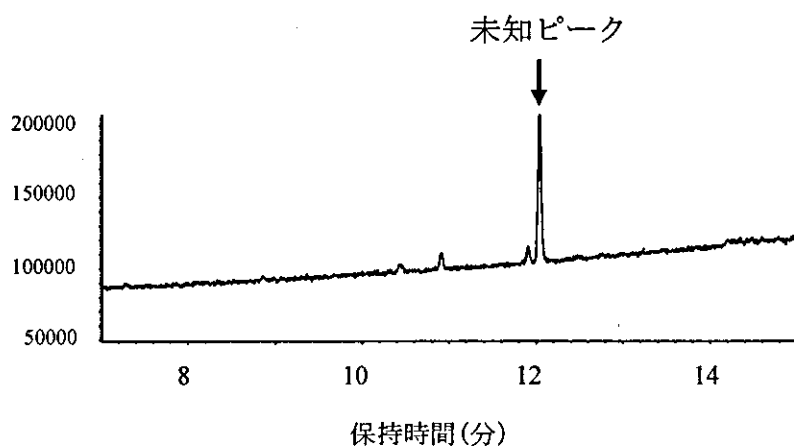


図1 ソーセージ1のPVDC製包装フィルムのSCANクロマトグラム

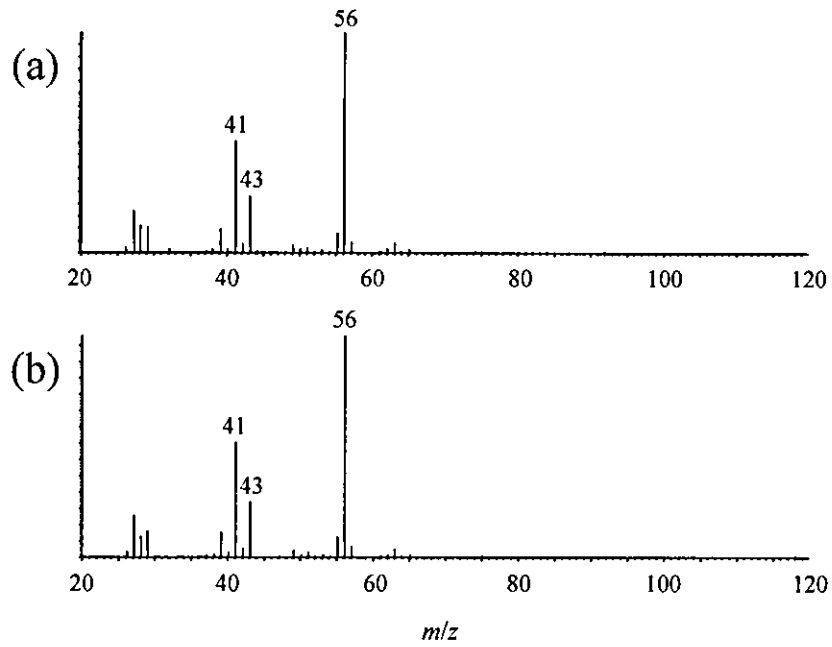


図2 未知ピーク(a)及び1-クロロブタン標準品(b)のマスペクトル

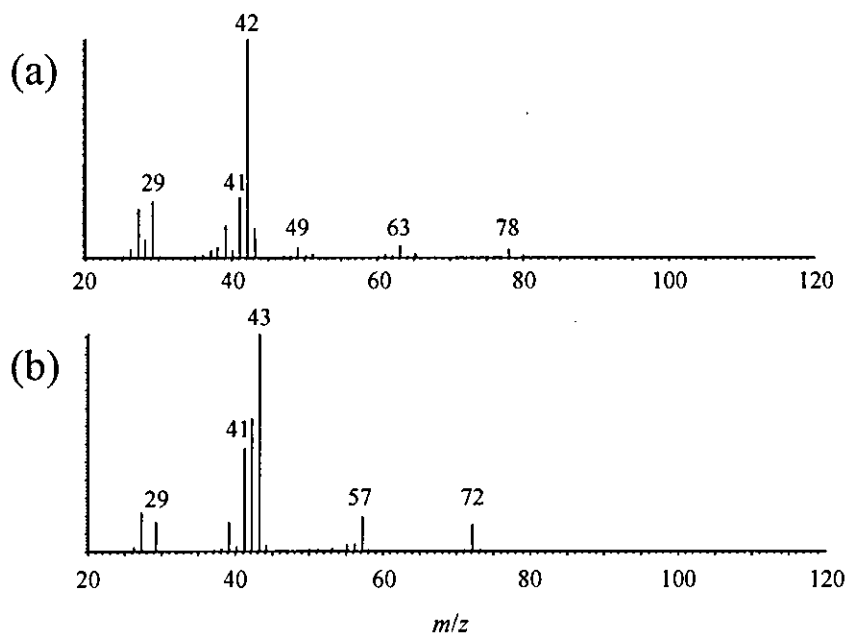


図3 1-クロロプロパン(a)及びペンタン(b)のマスペクトル

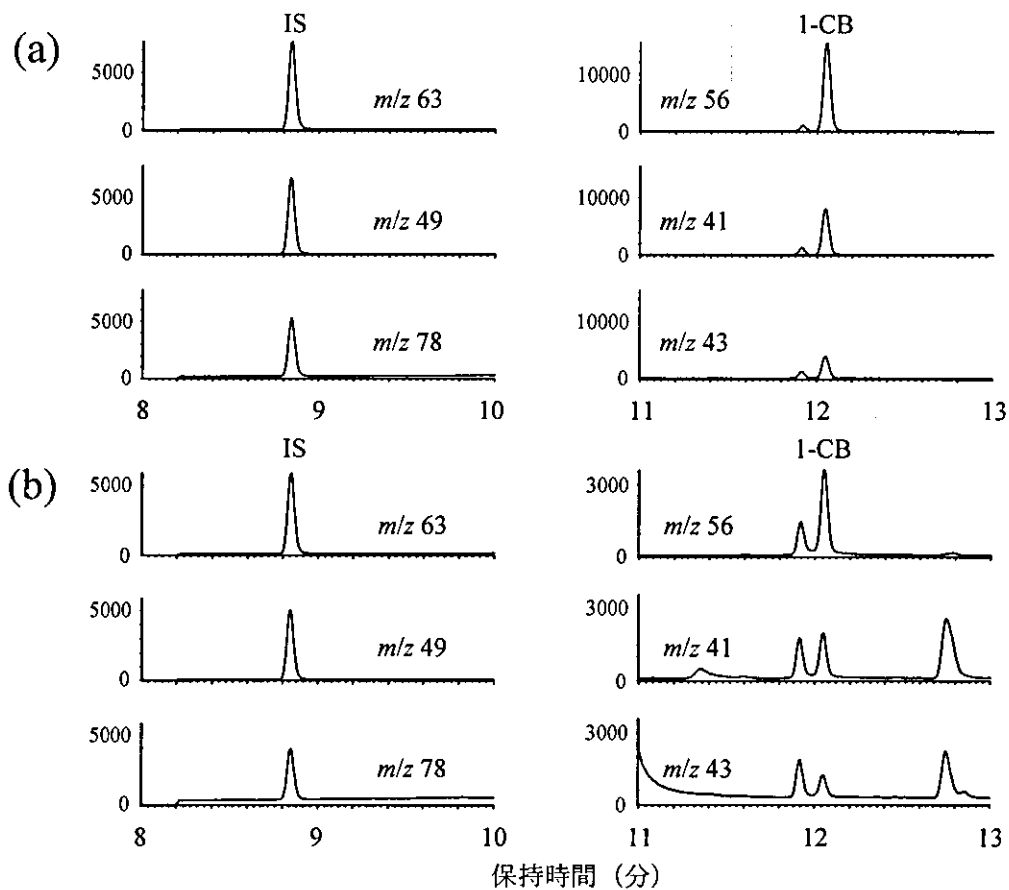


図4 ソーセージ1における包装フィルム(a)及び被包装食品(b)のSIMイオンクロマトグラム

1-CB: 1-クロロブタン、IS: 内標準

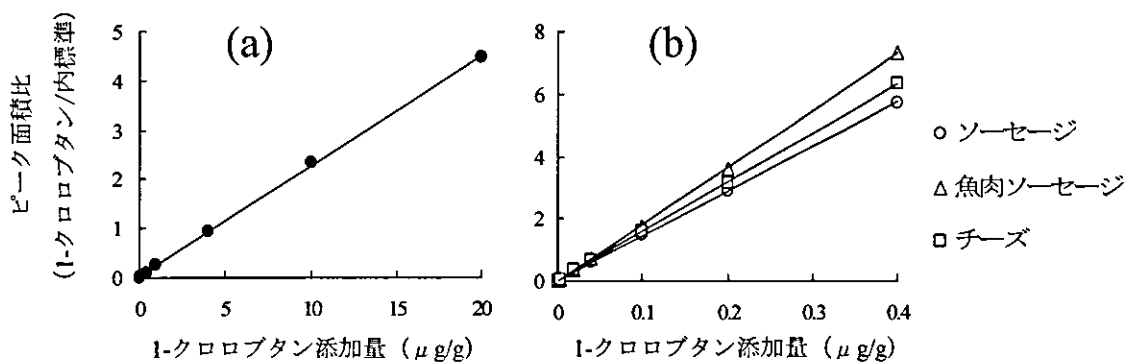


図5 包装フィルム及びラップフィルム用(a)、被包装食品用(b)の検量線

表2 添加回収試験

試料		添加量 (μg/g)	回収率 (%)	変動係数 (%)	
包装フィルム 及びラップ フィルム	魚肉ソーセージ	3	1	97.0	6.5
			10	101.8	2.0
	ラップフィルム	6	1	96.5	8.0
		1	1	108.6	2.8
被包装食品	ソーセージ	1	0.02	120.3	2.7
			0.1	112.5	0.8
	2	0.02	102.2	4.6	
	魚肉ソーセージ	1	0.02	89.4	4.8
			0.1	90.3	4.9
		2	0.02	93.7	1.6
		3	0.02	98.4	1.3
		4	0.02	85.8	5.6
		5	0.02	95.3	2.6
	6	0.1	97.3	2.9	
	かまぼこ	1	0.02	101.3	2.1
			0.1	103.5	1.7
	チーズ	1	0.02	97.3	5.9
			0.1	102.9	9.2

回収率：3試行の平均値で示した。

表3 試料の測定結果

試料		残存量 (μg/g)	
		包装フィルム	被包装食品
ソーセージ	1	9.19	0.040
	2	8.56	0.013
	3	6.27	0.022
魚肉ソーセージ	1	2.87	0.022
	2	0.30	0.008
	3	1.10	0.011
	4	0.27	0.005
	5	1.54	0.024
	6	1.50	0.005
かまぼこ	1	0.42	0.004
	2	1.70	0.018
チーズ	1	7.00	0.030
	2	8.30	0.031

残存量：3試行の平均値で示した。

＜その4＞紙製容器包装に含まれる未知遺伝毒性物質の同定

研究協力者 尾崎麻子、大嶋智子、藤田忠雄 大阪市立環境科学研究所

A. 研究目的

紙製容器包装は、コップ、皿、ファーストフード容器等、食品と接して広く用いられているが、主な原料が天然物（木材）であることから、食品衛生法に基づく規格基準は一部にすぎない。一方、米国医薬品局（FDA）では、紙製品にはプラスチック製器具・容器包装と同様にポジティブリストが採用されており¹⁾、数多くの物質が規制・監視されている。また、欧州共同体（EU）でもプラスチック製器具・容器包装と同様の規制が予定されている²⁾。

紙は、木材（チップ）から作られるバージンパルプ紙と古紙を加えて作られるリサイクル紙の二種類に分類される。キッチンペーパーやコーヒーフィルター等には主にバージンパルプ紙、菓子箱やファーストフード容器等の板紙製品には主にリサイクル紙が使われている。

リサイクル紙の原料となる新聞紙、雑誌、ダンボール紙、コピー紙等には、印刷や接着剤など多様な処理が施されている。リサイクル紙製造工程においてこれらを除く処理が施されるものの、様々な化学物質がリサイクル紙製品に残留することが報告されている³⁻⁷⁾。さらに、紙製品の抽出物の毒性を試験すると、リサイクル紙製品はバージンパルプ紙製品に比べ遺伝毒性及び細胞毒性が高いことが報告されている⁷⁻⁹⁾。著者らは、主に食品用途のバージンパルプ及びリサイクル紙製品計 28 試料を対象にし

て、これらのエタノール還流抽出液の遺伝毒性を *in vitro* の遺伝毒性試験であるレックアッセイを用いて評価し、さらに材質中の 20 化学物質の含有量を測定した¹⁰⁾。その結果、多くのリサイクル紙製品が遺伝毒性を示し、さらにビスフェノール A、ベンゾフェノン、アルキルアミノベンゾフェノン、ペンタクロロフェノール等が検出された。しかし、遺伝毒性物質は同定できなかった。

そこで、本研究では化学分析とレックアッセイを併用してリサイクル紙製品中の未知遺伝毒性物質の同定を試みた。すなわち、リサイクル紙製品のエタノール抽出液を液々抽出やゲルろ過クロマトグラフィー（GPC）等を用いて分画し、レックアッセイを指標として遺伝毒性を示すフラクションを絞り込んだのち、ガスクロマトグラフィー/質量分析計（GC/MS）及び液体クロマトグラフィー/質量分析計（LC/MS）を用いて遺伝毒性物質の同定及び定量を行った。

B. 研究方法

1. 試料

分画用の試料としてリサイクル板紙（リサイクル紙配合率 95%以上）を用いた。デヒドロアビエチン酸及びアビエチン酸の含有量と遺伝毒性との関連を検討するための試料として、バージンパルプ紙製品 5 試料及びリサイクル紙製品 7 試料（分画用板紙を含む）の計 12 試料を用いた。

2. 試薬

デヒドロアビエチン酸 (DHA)、アビエチン酸 (AA) : 東京化成工業(株)製、和光純薬(株)製

ジメチルスルホキシド (DMSO)、酢酸アンモニウム : 和光純薬(株)製

エタノール、酢酸エチル等の有機溶媒 : 高速液体クロマトグラフ用または残留農薬試験用、和光純薬(株)製または関東化学(株)製

ポリスチレン標準品 : 分子量校正用、Shodex standard SL-105、昭和電工製

ENVI-carb カートリッジ : SUPELCO 製

3. 装置

紫外可視分光光度計 : U-2000、日立製作所製

ゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) : システムコントローラー Waters 600E、オートサンプラー Waters 717、紫外部検出器 Waters 486、フラクションコレクター、以上 Millipore 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 Agilent Technologies 製

液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) : 液体クロマトグラフ HP 1100、Agilent Technologies 製、質量分析計 API 2000、アプライドバイオシステムズ製

4. 測定条件

(1) GPC

カラム : ガードカラム、KF-G (10×4.6 mm i.d., 粒径 6 μm)、分析カラム、KF-801 (300×4.6 mm i.d., 粒径 8 μm)、以上昭和電工製

カラム温度 : 室温

移動相 : テトラヒドロフラン

流速 : 1 ml/min

注入量 : 50 μl

測定波長 : 254 nm

(2) GC/MS

カラム : HP-1MS (0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 μm)、Agilent Technologies 製

カラム温度 : 50°C (2 min) — 10°C/min — 280°C (5 min)

注入口温度 : 280°C

キャリアーガス : He、1 ml/min

注入量 : 1 μl

測定モード : SCAN

(3) LC/MS

カラム : ZORBAX Eclipse XDB-C18 (150 × 2.1 mm i.d., 粒径 5 μm)、Agilent Technologies 社製

カラム温度 : 30°C

移動相 : 50 mM 酢酸アンモニウム水/アセトニトリル (2 : 8) 混液

流速 : 0.2 ml/min

注入量 : 10 μl

イオン化法 : エレクトロスプレー法 (ネガティブイオンモード)

イオンスプレー電圧 : -3800 V

イオン源温度 : 550°C

デクラスター電圧 : -66 V

測定モード : SIM (DHA: m/z 301.2, AA: m/z 299.1)

5. レックアッセイ

(1) 使用培地及び菌株

培地 : B-2 寒天培地 (肉エキス 1 g、ポリペプトン 1 g、塩化ナトリウム 0.5 g、寒天 0.8 g、蒸留水 100 ml)

菌株：*Bacillus subtilis* の野生株 H17 *Rec*⁺ 及び DNA 組み換え修復欠損株 M45 *Rec*⁻ の孢子懸濁液を用いた。

(2) 試験方法

H17 株及び M45 株それぞれについて孢子一定量 (2×10^5) を混和した寒天培地 10 ml をシャーレ (直径 90 mm) に採り、培地が固まったのち直径 8 mm のペーパーディスクを培地上にのせ、試験溶液 40 μ l をディスクに染み込ませた。37°C で 24 時間培養したのち、生育阻止円の大きさを測定した。H17 株及び M45 株いずれかに生育阻止円がみられた試料を、細胞毒性があると判定した。さらに、M45 株の生育阻止円が H17 株のものよりも大きい場合は、DNA 損傷性があると判定した。

抽出物、分画物、DHA 及び AA はそれぞれ DMSO に溶解して試験に供した。

6. 分画用リサイクル板紙の試験溶液の調製

(1) リサイクル板紙の抽出液の調製

リサイクル板紙を約 1 cm 角に細切したのち、10 g をフラスコに採り、エタノール 200 ml を加え 2 時間還流抽出した。抽出液をろ過したのち、そのろ液を濃縮・乾固し、酢酸エチルで 2 ml に定容した。

(2) 液々抽出及びカラム精製操作

図 1 に示す手順に従って分画を行った。リサイクル板紙抽出液 1 ml を分液ロートに移し酢酸エチル 19 ml 及び 0.01M 塩酸 (HCl) 20 ml を加え、10 分間振とう抽出した。水層を廃棄したのち、有機層に炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3) 飽和水溶液を 20 ml 加え、再度 10 分間振とう抽出を行った。再び水層を廃棄したのち、有機層にアルカリ緩衝液

(0.1M Na_2HPO_4 50.0 ml, 0.1M NaOH 43.2 ml, 蒸留水 6.8 ml, pH 12) を 20 ml 加え、再度 10 分間振とう抽出を行った。有機層をとり、無水硫酸ナトリウムで脱水後濃縮・乾固を行い、メタノールで 1 ml に定容した。これをあらかじめメタノールでコンディショニングした ENVI-carb カートリッジに負荷し、メタノール 9 ml で溶出させた。溶出液の濃縮・乾固を行いテトラヒドロフラン 1 ml に定容したものを紫外可視吸光スペクトル及び GPC 用の試験溶液とした。また、図 1 に示したリサイクル板紙抽出液及びフラクション①～⑤について、DMSO に転溶したのちレックアッセイにより評価した。

(3) 紫外可視吸光スペクトル

(2) で得た試験溶液について、紫外可視分光光度計により 190-800 nm の波長範囲でスペクトルを測定した。

(4) GPC

(2) で得た試験溶液について、GPC を用いて 30 秒ごと 0.5 ml ずつのフラクションを採取し (図 1, ⑥)、各フラクションを DMSO に転溶したのちレックアッセイにより評価した。また、分子量校正用標準にポリスチレン標準品、ベンゼン及び *n*-プロピルベンゼンを用いた。

7. DHA 及び AA の含有量と遺伝毒性検討用の紙製品の試験溶液の調製

印刷面のインクの影響を除くために、印刷面があるものはあらかじめ剥離した。それぞれ約 1 cm 角に細切したのち、5 g をフラスコに採り、エタノール 100 ml を加え 2 時間還流抽出した。抽出液をろ過したのち、そのろ液を濃縮・乾固し、メタノールで 5 ml に定容し、試料溶液とした。このうち 1 ml

に LC/MS の移動相を加えて 10 ml に定容し、さらにこのうち 1 ml に移動相を加えて 10 ml に定容した。一部をとり、フィルターろ過したものを LC/MS 用の試験溶液とした。また、試料溶液 2 ml を濃縮・乾固し、DMSO を 0.2 ml 加えて溶解したものをレックアッセイ用の試験溶液とした。

8. LC/MS における DHA 及び AA 用検量線の作成

DHA 及び AA は 1,000 $\mu\text{g/ml}$ のメタノール溶液を個別に調製し、0.01~10 $\mu\text{g/ml}$ となるように混合して 50 mM 酢酸アンモニウム水/アセトニトリル (2:8) 混液で希釈して標準混合溶液を調製した。

C. 研究結果及び考察

1. 液々抽出及びカラム精製後の各フラクションのレックアッセイ

リサイクル板紙抽出液、液々抽出後及びカラム精製後に得られた各フラクション (図 1、①~⑤) についてレックアッセイを行った。リサイクル板紙抽出液 (①) は、H17 株に 11.5 mm、M45 株に 14.5 mm の阻止円を示し、遺伝毒性が認められた。このリサイクル板紙抽出液に 0.01 M HCl を加え水層と有機層 (②) に分画したところ、有機層に分画前とほぼ同等の遺伝毒性が認められた。さらにこの有機層に NaHCO_3 飽和水溶液を加え水層と有機層 (③) に分画したところ、再び有機層にほぼ同等の遺伝毒性が認められた。さらにこの有機層をアルカリ緩衝液を加え水層と有機層 (④) に分画したところ、再び有機層にほぼ同等の遺伝毒性が認められた。これらより、遺伝毒性物質は、中性物質であることが示唆された。

さらに、グラファイトカーボンブラックを充填した ENVI-carb カートリッジに負荷して得られた溶出液 (⑤) にも、ほぼ同等の遺伝毒性が認められた。なお、分画前のリサイクル板紙抽出液は赤褐色であったが、カラム精製後には溶出液はほぼ無色となった。

2. 紫外可視吸光スペクトル

液々抽出及びカラム精製後に得られた試験溶液について紫外可視吸光スペクトルを測定したところ、最大吸収波長は 210-250 nm であった。

3. GPC

液々抽出及びカラム精製後に得られた試験溶液について GPC 測定及び分画を行った。得られたクロマトグラムを図 2 に示す。大きなピークが 1 本見られた。また、得られたフラクションについてレックアッセイを行ったところ、ピーク付近のフラクションに遺伝毒性がみられた。分子量校正用標準より、遺伝毒性物質の分子量は約 150-350 であることが示唆された。

4. GC/MS

GPC で遺伝毒性がみられたフラクションについて GC/MS 測定を行った。得られたトータルイオンクロマトグラムを図 3 に示す。比較的大きなピークが 2 本、中程度のピークが 2 本、そして小さなピークが数本検出された。NIST ライブラリーで検索を行ったところ、最も大きいピークはデヒドロアビエチン酸 (DHA) と同定され、この近辺に見られた数本の小さなピークは DHA と似た構造を持つことがわかった。その他の 3 本の

ピークはそれぞれフタル酸ジブチル、オレイン酸及びフタル酸ジ-2-エチルヘキシルと同定された。DHA と同定されたピークについては、DHA の標準品を入手しマススペクトル及び保持時間を比較し確認を行ったところ、両者で一致が見られた (図 4)。また、DHA の周辺に見られた m/z 302 を持つ比較的大きなピークは、NIST ライブラリーで同定することはできなかったが、DHA の類縁物質であるアビエチン酸 (AA) であることを AA の標準品と比較して確認した (図 4)。

5. 各種紙製品中の DHA 及び AA 含有量

DHA 及び AA は、極性が高すぎて GC 分析には不向きであるため、測定には LC/MS を用いた。測定結果を表 1 に示した。バージンパルプ紙製品では 5 試料中 2 試料から DHA 及び AA が検出された。一方、リサイクル紙製品は 7 試料全てから検出された。DHA の検出値はバージンパルプ紙製品及びリサイクル紙製品でそれぞれ 38, 77 $\mu\text{g/g}$ 、53-370 $\mu\text{g/g}$ 、AA の検出値はそれぞれ 200, 910 $\mu\text{g/g}$ 、150-840 $\mu\text{g/g}$ であり、バージンパルプ紙製品及びリサイクル紙製品の検出値に大きな違いは見られず、いずれの試料においても DHA に比べ AA が高い値を示した。リサイクル紙製品試料 No. 5 及び標準溶液のマスキロマトグラムを図 5 に示した。

6. 各種紙製品中の DHA 及び AA 含有量と遺伝毒性との関連

DHA 及び AA のレックアッセイ結果を図 6 に示した。DHA 及び AA は、H17 及び M45 株の両方に生育阻止円を示し、濃度依存性がみられた。また、M45 株の生育阻止円が H17

株よりも大きかったことから、DHA 及び AA には DNA 損傷性があると結論付けられた。化学物質は組み合わせることによって、毒性が増強もしくは減弱することがあるため、等量の DHA 及び AA を混合しレックアッセイを行った。図 7 に示したように、混合した場合と DHA 単独及び AA 単独時の生育阻止円に大きな違いが見られなかったことより、DHA 及び AA を混合すると、相加作用を示すことが示された。

バージンパルプ紙製品 5 試料及びリサイクル紙製品 7 試料のレックアッセイ結果を表 1 に示した。バージンパルプ紙製品 5 試料中 3 試料が DNA 損傷性を示し、リサイクル紙製品は 7 試料全てが DNA 損傷性を示した。レックアッセイで両株に生育阻止円がみられた試料についてのみ、阻止円の大きさと DHA 及び AA のディスクへの合計負荷量の関係を図 8 に示した。H17 及び M45 株において相関係数はそれぞれ、0.7613 及び 0.7808 であり、良い相関が得られた。M45 株において傾きがやや大きかったのは、試験溶液を液々抽出や GPC により精製していないため、遺伝毒性物質により感度の高い M45 株に他の夾雑成分が影響を及ぼしたのではないかと推測される。試料が示した生育阻止円の大きさは、それらが含有する DHA 及び AA のトータル含有量が示した生育阻止円の大きさとよく一致していた。以上のことから、これらの紙試料に含まれている未知遺伝毒性物質は、DHA 及び AA であることが判明した。

7. DHA 及び AA の安全性について

DHA 及び AA は、針葉樹に含まれるロジン (樹脂酸を精製して得られる天然樹脂) の

成分で、pKa はそれぞれ 5.7 及び 6.4 であり¹¹⁾、紙パルプ製造工場の廃水中の主要毒性物質であると報告されている¹²⁻¹⁴⁾。AA は微生物等により酸化分解し、DHA を生じる¹⁴⁻¹⁶⁾。DHA 及び AA は、水生生物に対して毒性を示すことが報告されている¹¹⁾。また、アレルギー作用を示すことも報告されている¹⁷⁾。しかし、それらに関する哺乳動物・細胞を用いた毒性試験はあまり行われていない。本研究では、DHA 及び AA はレックアッセイにおいて遺伝毒性を示したが、さらに他の *in vitro* 及び *in vivo* の毒性試験で評価する必要がある。

DHA 及び AA は全てのリサイクル紙製品から、そして一部のバージンパルプ紙製品から検出された。パルプの原料に用いられるのは主に松などの針葉樹、ブナなどの広葉樹である。DHA や AA は針葉樹特有の成分であるため、バージンパルプ紙製品の原料木材の種類が DHA 及び AA 含有量に関連している可能性がある。また、ロジンは FDA のポジティブリストに掲載されており¹⁾、インキのにじみを防ぎ撥水性を付加するサイズ剤として紙に使用されていることから、サイズ剤の添加も関係している可能性がある。また、試験したリサイクル紙製品全てから DHA 及び AA が検出されたのは、原料として様々な使用済み紙が混合されているため、様々な要因が付加したと推定される。しかしながら、由来を明確にするためにはさらなる調査が必要であろう。

本研究では、紙製品をエタノールを用い還流抽出を行った。未知遺伝毒性物質を特定するためにこのような過酷な抽出を行ったが、実際に人への暴露を考える上では、今後、食品擬似溶媒を用いた溶出試験を行

う必要があると考えている。

D. 結論

紙製品に含まれる未知遺伝毒性物質を同定するために、リサイクル板紙製品のエタノール抽出液を液々抽出や GPC 等を用いて分画し、レックアッセイを指標として遺伝毒性を示すフラクションを絞り込み、GC/MS を用いて遺伝毒性物質を同定した。その結果、リサイクル板紙製品中の遺伝毒性物質は DHA 及び AA と同定された。バージンパルプ紙製品 5 試料、リサイクル紙製品 7 試料の DHA 及び AA 含有量を LC/MS を用いて測定したところ、トータル含有量はバージンパルプ紙製品で 240-990 $\mu\text{g/g}$ 、リサイクル紙製品で 200-990 $\mu\text{g/g}$ であった。これらの紙製品の DHA 及び AA 含有量と紙製品が示した DNA 損傷性との間には良い相関が得られた。また、紙製品が示した DNA 損傷性が、それらのトータル含有量に相当する DHA 及び AA が示した DNA 損傷性の程度とよく一致していたことから、これらの紙製品に含まれていた未知遺伝毒性物質は、DHA 及び AA であることが判明した。

E. 参考文献

- 1) Part 176, Indirect food additives: Paper and paperboard components
- 2) 2002/72/EC
- 3) Castle, L., Damant, A. P., Honeybone, C. A., Johns, S. M., Jickells, S. M., Sharman, M., Gilbert, J., Food Add. Contam., 14(1), 45-52 (1997)
- 4) Vinggaard, A. M., Korner, W., Lund, K. H., Bolz, U., Petersen, J. H., Chem. Res. Toxicol., 13, 1214-1222 (2000)

- 5) Sturaro, A., Parvoli, G., Rella, R., Bardati, S., Doretta, L., *Int. J. Food Sci. Tech.*, 29, 593-603 (1994)
- 6) Sipiläinen-Malm, T., Kala-Latva, K., Tikkanen, L., Suihko, M. J., Skyttä, E., *Food Add. Contam.*, 14(6-7), 695-703 (1997)
- 7) Binderup, M. L., Pedersen, G. A., Vinggaard, A. M., Rasmussen, E. S., Rosenquist, H., Cederberg, T., *Food Add. Contam.*, 19 Supplement, 13-28 (2002)
- 8) 馬場二夫、北野雅昭、黒田孝一：大阪
市立環科研報告、60、18-23 (1998)
- 9) Fauris, C., Lundstrom, H., Vilagines, R., *Food Add. Contam.*, 15(6), 716-728 (1998)
- 10) Ozaki, A., Yamaguchi, Y., Fujita, T., Kuroda, K., Endo, G., *Food Chem. Toxicol.*, 42, 1323-1337 (2004)
- 11) Liss, S. N., Bicho, P. A., Saddler, J. N., *Can. J. Microbiol.*, 75, 599-611 (1997).
- 12) Zanella, E., *Bulletin of Environ. Toxicol. Chem.*, 30, 133-140 (1983)
- 13) Volkman, J. K., Holdsworth, D. G., Richardson, D. E., *J. Chromatogr.*, 643, 209-219 (1993)
- 14) Wang, Z., Chen, T., Gao, Y., Breuil, C., Hiratsuka, Y., *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(1), 222-225 (1995)
- 15) Berg, v. d. K. J., Horst, v. d. J., Boon, J. J., Shibayama, N., de la Rie, E. R., *Proceedings of the International Mass Spectrometry Conference (Finland), Advances in Mass Spectrometry, Vol. 14, pp. 563-573 (1998)*
- 16) Martin, V. J. J., Mohn, W. W., *J. Bacteriol.*, 182(13), 3784-3793 (2000)
- 17) Eriksson, K., Wiklund, L., Larsson, C., *Ann. Occup. Hyg.*, 48(3), 267-275 (2004)

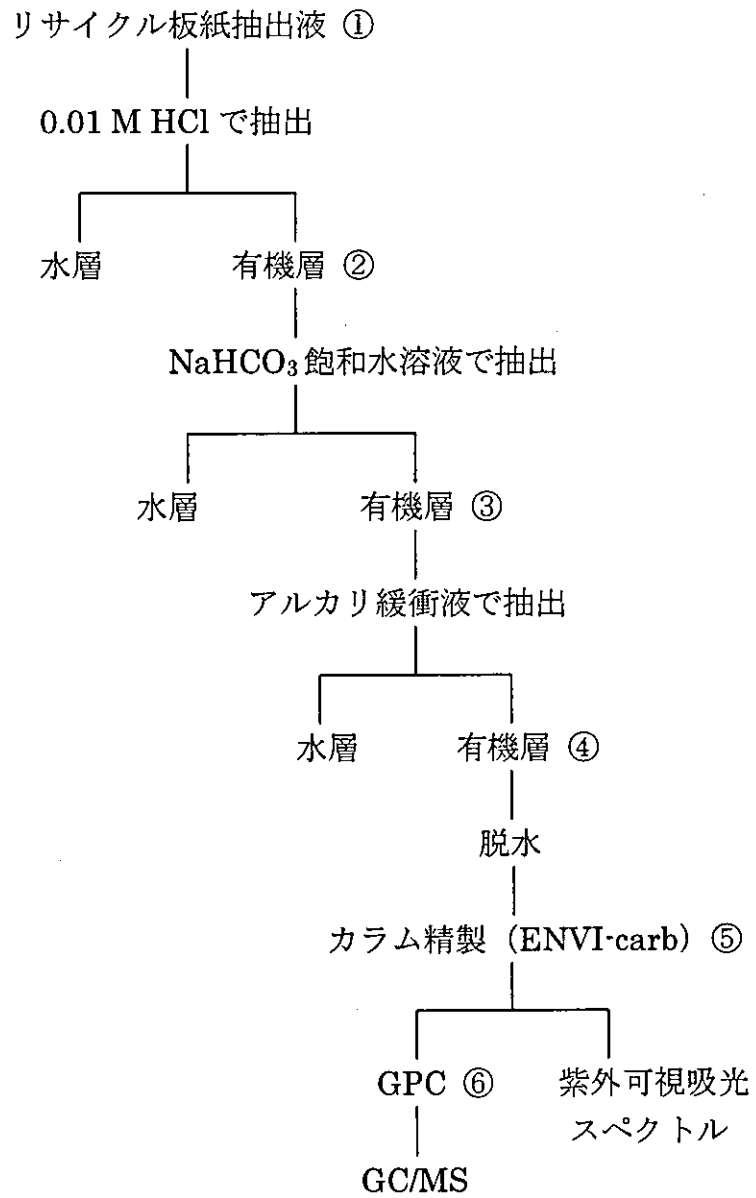


図1 リサイクル板紙抽出液の分画操作の流れ

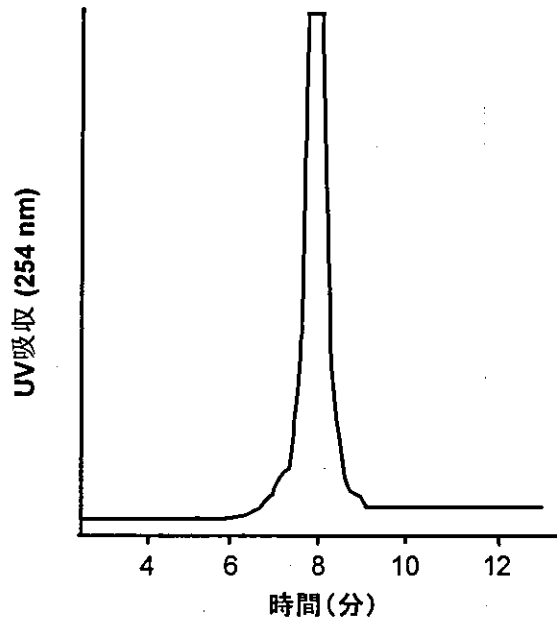


図2 リサイクル板紙抽出液（液々抽出及びカラム精製後）の GPCクロマトグラム

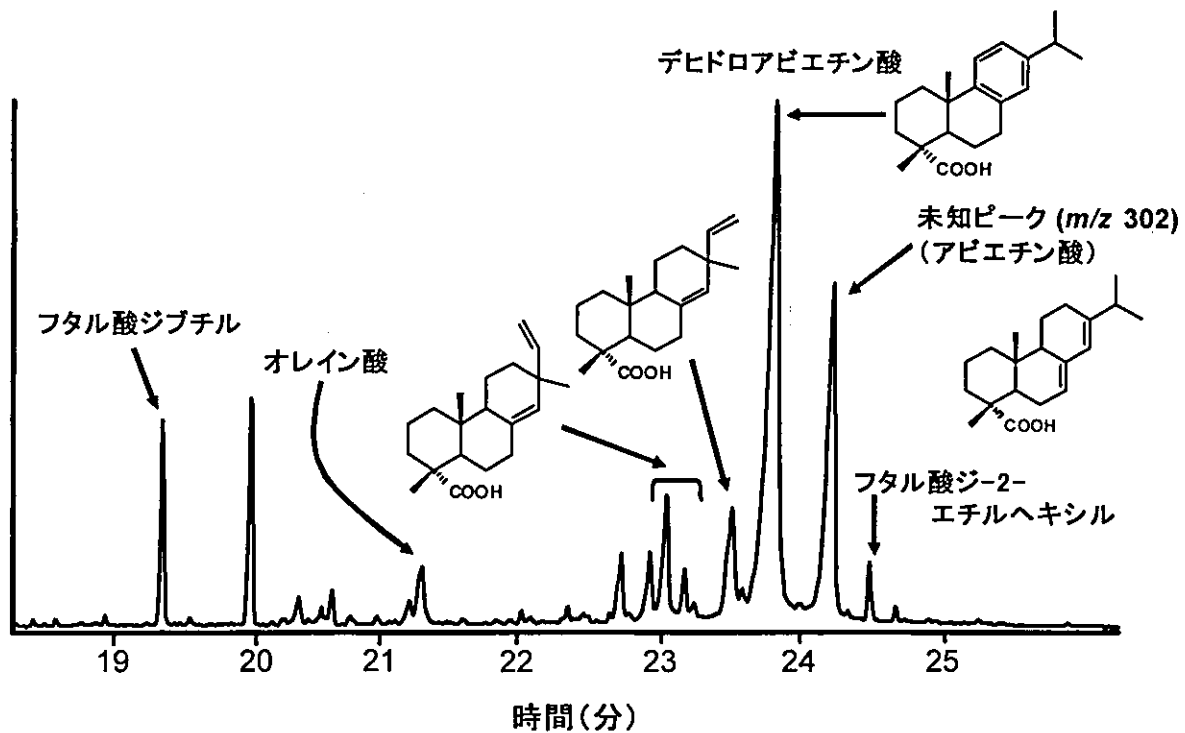


図3 リサイクル板紙抽出液（GPC精製後）のGC/MSトータルイオンクロマトグラム
ピークはNISTライブラリーを用いて同定した

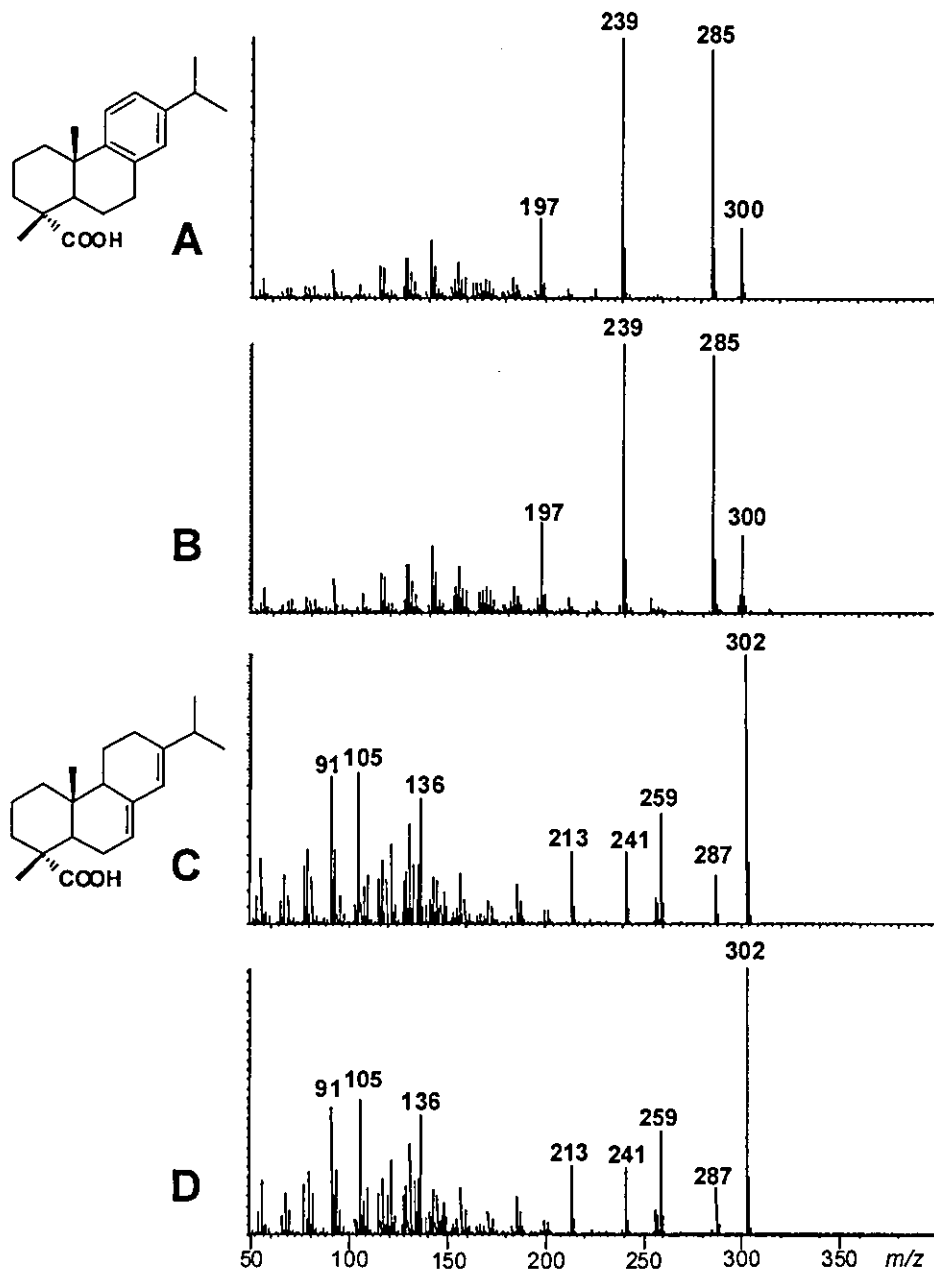


図4 GC/MSによるDHA及びAAのマスペクトル
 (A) 標準溶液のDHA、(B) リサイクル板紙抽出液中のDHA
 (C) 標準溶液のAA、(D) リサイクル板紙抽出液中のAA

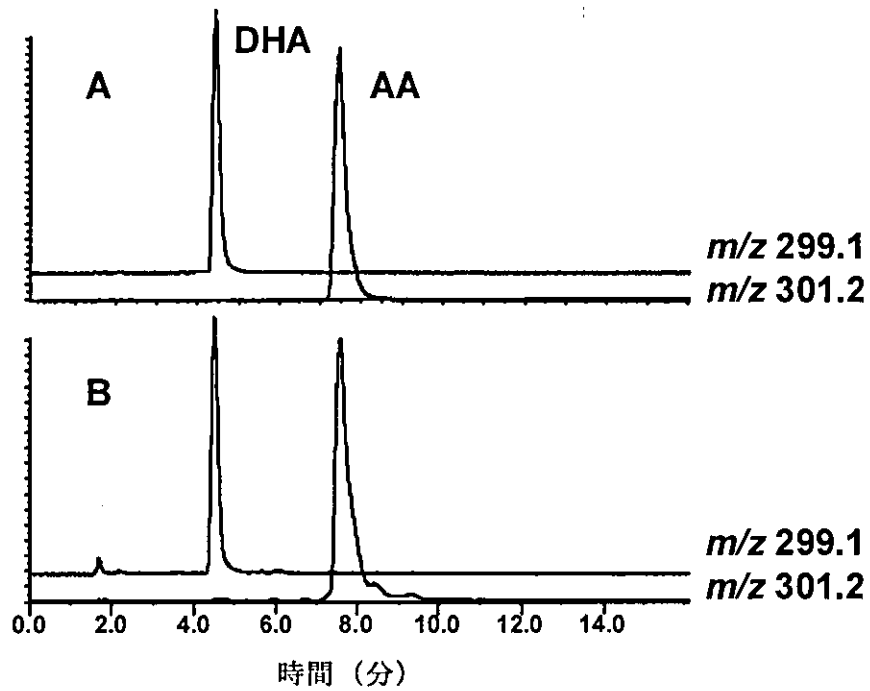


図5 LC/MSによるDHA及びAAのマスキロマトグラム
 (A)標準溶液、(B)リサイクル紙製品試料No. 5 (食品用板紙箱)

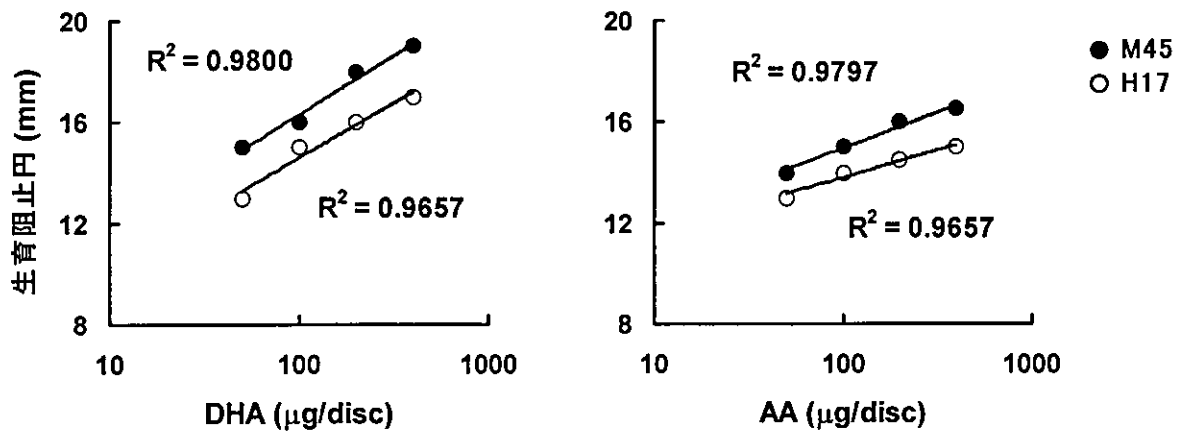


図6 DHA及びAAのレックアッセイ

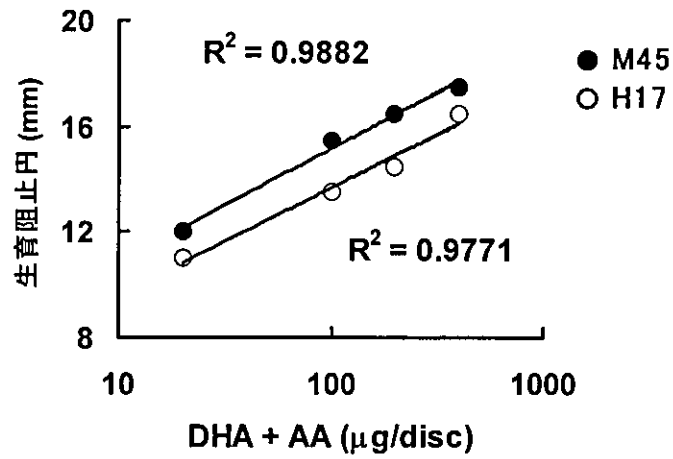


図7 DHA及びAAを等量混合したときのレックアッセイ

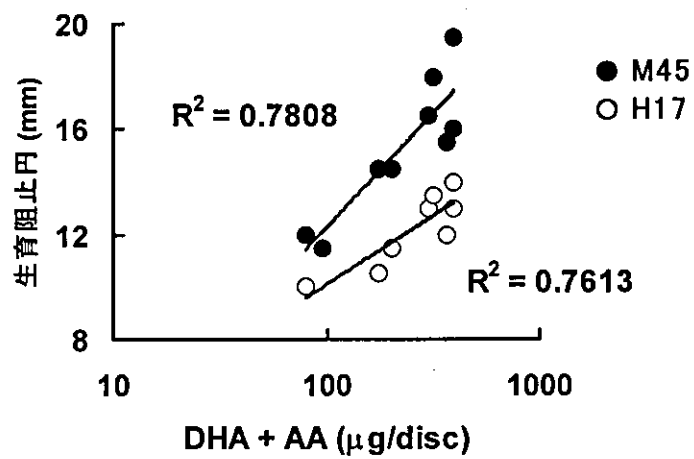


図8 各種紙製品中のDHA及びAA含有量とレックアッセイで示した生育阻止円との関係

表1 各種紙製品中のDHA及びAA含有量とレックアッセイの結果

試料区分	試料 No.	品名	含有量 ($\mu\text{g/g}$)			レックアッセイ 生育阻止円の直径 (mm)		
			DHA	AA	total	M45	H17	M45-H17
バージンパルプ 紙製品	1	コーヒーフィルター-1	ND	ND	-	— ¹⁾	— ¹⁾	-
	2	コーヒーフィルター-2	ND	ND	-	12.5	— ¹⁾	4.5
	3	紙皿-1	77	910	990	19.5	14.0	5.5
	4	紙皿-2	38	200	240	11.5	— ¹⁾	3.5
	5	ティッシュペーパー	ND	ND	-	— ¹⁾	— ¹⁾	-
リサイクル紙製品	1	食品用ダンボール	170	580	750	16.5	13.0	3.5
	2	食品用板紙箱-1	59	380	440	14.5	10.5	4.0
	3	食品用板紙箱-2	53	150	200	12.0	10.0	2.0
	4	食品用板紙箱-3	370	620	990	16.0	13.0	3.0
	5	食品用板紙箱-4	67	840	910	15.5	12.0	3.5
	6	新聞紙	210	590	800	18.0	13.5	4.5
	7	板紙	140	370	510	14.5	11.5	3.0

DHA: デヒドロアビエチン酸、AA: アビエチン酸

ND: 検出限界値未満、 $<1.0 \mu\text{g/g}$

1) 生育阻止円を認めなかった

抗菌表示された合成樹脂製器具における含有金属の分析

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 和久井千世子 国立医薬品食品衛生研究所

A. 目的

近年、病原性大腸菌 O-157 やサルモネラ菌による集団食中毒事件の発生などにより、「抗菌」と表示した製品が急激に増え、現在では密閉容器、まな板、マグカップ等多くの合成樹脂製器具で、抗菌剤が添加され市販されている。

抗菌剤には大きく分けて有機系抗菌剤と無機系抗菌剤の 2 種類が存在する。有機系抗菌剤としては、食品添加物であるチアベンダゾールの他に 2,3,5,6-テトラクロロ(メチルスルホニル)ピリジン、塩化ベンザルコニウム、硫黄系化合物、芳香族エステル系化合物等がある。一方、無機系抗菌剤としては銀、亜鉛、銅等を抗菌成分とし、ゼオライト、セラミックスなどを担体とした、抗菌性ゼオライト、抗菌性セラミックスなどがある。

食品用合成樹脂製品に使用されているのは主に後者の無機系抗菌剤で、特に銀系抗菌剤が多く、その他に亜鉛や銅も抗菌効果を付与する金属として使用されていると言われている。無機系抗菌剤は有機系抗菌剤に比べ、殺菌力は弱く、主に菌の増殖を食い止める程度の静菌作用であるが、接触しても皮膚への影響は少なく、安全性は比較的高いと言われている。

抗菌剤の抗菌効果評価法については、日

本工業規格 (JIS) において抗菌加工製品—抗菌性試験法 (Z2801) が定められている。また、抗菌剤および抗菌加工された製品については、抗菌製品技術協議会 (SIAA) において自主基準が設定されており、日本プラスチック日用品工業組合でも自主基準の設定を検討している。一方、ポリオレフィン等衛生協議会では、食品用途の合成樹脂製品の添加剤として抗菌剤を認めていない。

また、欧州共同体 (EU) では最近、食品と接触して使用される製品の抗菌加工について、Regulation (EC) No 1934/2004 で、Active food contact materials and articles の一つとして新たに定義が設定された¹⁾。

国内の抗菌製品の調査としては、平成 7 年に東京都消費生活総合センター生活文化局により、抗菌・防かび等の加工をした台所用、浴室用合成樹脂製品についてのアンケート、およびその結果から抗菌・防かび剤として使用される可能性が高いと考えられる銀およびチアベンダゾールの溶出試験が行われた。その結果、台所用製品 1 検体から 4%酢酸 95 °C 30 分の溶出条件において銀 3 ppb が検出されたが、他の台所用製品では溶出は認められなかった。また、チアベンダゾールは、浴室用製品からは検出されたが台所用製品からは検出されなかった²⁾。しかし、抗菌剤として使用される

可能性がある金属としては銀のみが対象であり、またすでに10年が経過している。

そこで、現在市販されている「抗菌」と表示された食品用の合成樹脂製器具について、抗菌作用をもつ銀、亜鉛、銅、チタン、および食品衛生上問題となる鉛、カドミウムの材質中の含有量を調査し、それらの4%酢酸による溶出試験を行った。また、電子レンジ使用可能と表示されたの製品については、電子レンジ加熱による溶出量も測定した。

B. 実験方法

1. 試料

食品用器具のうち、「抗菌」と表示された14試料を供試した。そのうちマグカップと保存容器の各1試料はふた付きであったため、本体とふたを別の検体とした。そのため、マグカップ4試料5検体、まな板3検体、保存容器2試料3検体、しゃもじ1検体、ボール2検体、はし1検体、ラップフィルム1検体の16検体を試料とした。ただし、溶出試験においては、ふた付きマグカップはそのふたで覆い、試験を行った。

試料のうち、マグカップ No. 3 およびラップフィルムは1998年に入手し、それ以外は2004年に東京都内で購入した。

2. 試薬

硝酸：含量61%、有害金属測定用 シグマアルドリッチジャパン(株)製

鉛 (Pb)、カドミウム (Cd)、銀 (Ag)、亜鉛 (Zn)、チタン (Ti) 標準液：各1000 mg/L；銅 (Cu) 標準液：100 mg/L 以上 和光純薬工業(株)製

水：Milli-Q SP (Millipore 社製) により精製

した超純水

3. 装置および器具

マイクロウェーブ加熱処理装置：ETHOS900、高圧分解容器：テトラフルオロメタキシール製100 mL容密封容器 以上 マイルストーンゼネラル社製

プラズマ発光分光分析装置 (ICP)：SPS7800、超音波ネブライザー：U-5000AT+ 以上 セイコーインスツルメンツ(株)社製

電子レンジ：RE E3 シャープ製

4. ICP 測定条件

試料の導入には超音波ネブライザーを使用し、ICPの測定条件は下記のとおりである。

高周波出力：1.2 kW

プラズマガス流量：Ar 16 L/min、補助ガス流量：Ar 0.6 L/min、キャリアガス流量：Ar 0.35 L/min

測定波長 Pb：220.353 nm、Cd：214.438 nm、Ag：328.068 nm、Zn：202.548 nm、Cu：324.754 nm、Ti：334.941 nm

5. 材質試験

器具類は7-8 mm角に細切し、はしは表面の塗装をナイフでそぎ落としたものを試料とした。試料0.2 gに硝酸7 mLを加え、マイクロウェーブ加熱処理装置により灰化した。灰化処理後の試料液を15 mL容ポリプロピレン製チューブに移し、分解容器内部を水で洗浄した。洗浄液を加えて、水で10 mLとしたものを試験溶液としてICPで測定した。

6. 溶出試験

マグカップ、保存容器：試料内部に60℃に加温した4%酢酸を入れ、ガラス板または共ふたで覆い、60℃で30分間静置した。