

②誘導結合プラズマ発光強度 (ICP) 法

高周波出力：1.2 kW、プラズマガス流量：アルゴンガス 16 L/min、補助ガス流量：アルゴンガス 0.6 L/min、キャリアガス流量：アルゴンガス 0.35 L/min、測定波長：ヒ素 193.7 及び 197.2 nm、鉛 220.4 nm

3. 研究結果

1) 現行試験法の問題点

現行の食品衛生法におけるヒ素及び重金属試験法では、高級脂肪酸塩及び高級脂肪酸エステル系界面活性剤以外の界面活性剤を含まないもの(以下「脂肪酸系洗浄剤」という。)にあつては試料を水で 30 倍に希釈し、脂肪酸系洗浄剤以外の洗浄剤にあつては試料を水で 150 倍に希釈した溶液を試料溶液とし、この試料溶液を加熱して大部分の水分を蒸発させた後、硝酸及び硫酸により灰化を行うこととしている。

灰化後、ヒ素試験法では第 3 器具及び容器包装の部 B 器具又は容器包装一般の試験法の項の 7 ヒ素試験法により、三酸化二ヒ素 (As_2O_3) 0.05 $\mu\text{g/ml}$ の標準液との比較で判定している。重金属試験ではアンモニア水で中和後、酢酸及び硫化ナトリウム試液を添加した溶液を用い、鉛 1 $\mu\text{g/ml}$ の標準液との比較により判定する。

しかし、これらの試験法にはいくつかの問題点が指摘されている。いずれも目視により呈色を判定するため、GLP に対応が困難である。さらに、一旦水で希釈して調製した試料溶液の水分を蒸発させたり、試料によっては大量に共存する界面活性剤を完全に灰化するなど、操作が非常に煩雑であり長時間を要する。その他、ヒ素試験法ではアンモニア水やピリジンといった悪臭物質を使用しており、重金属試験法では標準溶液の呈色が分かりにくく微妙は判断がつきにくい。

また、重金属試験については本研究で鉛規格に変更することを提案する。

そこで今回、ヒ素及び鉛について、汎用機器である原子吸光光度計または誘導結合プラズマ発光強度計を用い、灰化操作を必要としない簡便で精度の高い試験法を検討した。

2) 試料

現行法では、もっぱら飲食器の洗浄の用に供されることが目的とされる洗浄剤は、ヒ素及び重金属の規格の対象となっていない。しかし、脂肪酸系洗浄剤については食品用のものが入手できなかったため、飲食器洗浄用のものを用いて検討した。また、自動食器洗浄機用洗浄剤も適用対象外であるが自主基準等において必要となる可能性があり、同様に試験法の検討を行った。

3) 試料溶液の調製

現行法では脂肪酸系洗浄剤は試料を水で 30 倍、脂肪酸系洗浄剤以外の洗浄剤 (以下、非脂肪酸系洗浄剤) は試料を水で 150 倍希釈した溶液を試料溶液としている。これは当時の一般的な洗浄剤の界面活性剤濃度が 15%程度であり、また B 洗浄剤の使用基準における使用時の洗浄剤の濃度が脂肪酸系洗浄剤では界面活性剤として 0.5%以下、非脂肪酸系洗浄剤では界面活性剤として 0.1%以下とされており、この基準に合わせたものである。

今回、試験法の検討に用いた製品の界面活性剤濃度は脂肪酸系洗浄剤では 28~61%、非脂肪酸系洗浄剤では 5~60%であった。そのため使用基準に示された 0.5%または 0.1%の溶液とする

には、脂肪酸系洗浄剤では56～122倍、非脂肪酸系洗浄剤では50～600倍に希釈する必要がある(表1)。すなわち、現行の試料溶液の調製法の方が希釈率が低く、実際の使用濃度より濃く、より厳しい試験が行われることになる。また、消費者は必ずしも使用基準の通りに希釈するとは限らず、特に食器洗浄時には洗浄剤の原液をスポンジに直接付けて使用する場合が多い。そこで、試料溶液は現行通り脂肪酸系洗浄剤では30倍、非脂肪酸系洗浄剤では150倍に希釈したものをを用いることとした。

一方、自動食器洗浄機用洗浄剤はアルカリによって汚れを分解して落とし、洗浄中に多量の泡が発生しないことが必須であることから、界面活性剤は含有していないか含有していても少量である。主な製品の使用時の洗浄剤濃度が約0.2%であることから²⁾、500倍に希釈した溶液を試料溶液として検討することとした。

また、現行法では試料の採取量や試料溶液の最終液量は明記されていない。そのため、重量あたりで希釈するのか容積あたりで希釈するのか明確でない。そのため、規格値の単位もあいまいとなっている。しかし、洗浄剤は液状、粉状、顆粒状のものなどが存在し、また液状のものも粘度が高く容量採取では誤差を生じやすいことから、試料採取量は重量とするのが適当である。

そこで、各洗浄剤における試料採取量は、脂肪酸系洗浄剤では5g、非脂肪酸系洗浄剤では1g、自動食器洗浄機用洗浄剤では0.3gを採取し、いずれも150mlに定容したものを試料溶液とすることとした。ただし、自動食器洗浄機用などの顆粒状または粉状の洗浄剤では、複数の異なる種類の顆粒や粉末からなり均一でない場合も多い。そのような場合は試料をブレンダーミキサー、乳鉢などで粉碎して均一化した後試料を採取する必要がある。

表1 洗浄剤試料と試料溶液調製のための希釈倍率

試料	形状	野菜・果実への使用	界面活性剤濃度 (%)	使用基準濃度に合わせるための希釈倍率	現行法での試料溶液
脂肪酸系	1 家庭用 液体	×	28	56倍希釈	30倍希釈
	2 家庭用 液体	×	28	56倍希釈	30倍希釈
	3 家庭用 粉体	×	61	122倍希釈	30倍希釈
非脂肪酸系	4 家庭用 液体	○	45	450倍希釈	150倍希釈
	5 家庭用 液体	○	17	170倍希釈	150倍希釈
	6 家庭用 液体	○	5	50倍希釈	150倍希釈
	7 業務用 液体	○	60	600倍希釈	150倍希釈
食器洗浄機用	8 家庭用 顆粒	×	1	-	-
	9 家庭用 液体	×	2	-	-
	10 業務用 液体	×	0	-	-

4) ヒ素試験法

①測定方法の検討

現行のヒ素試験法は試料溶液を加熱して大部分の水分を蒸発させた後、硝酸及び硫酸により灰化した後、ヒ素試験 B 法によりヒ素を水素化して *N,N*-ジエチルジチオカルバミド酸銀と反応させた溶液を試験溶液として、三酸化二ヒ素 (As_2O_3) 0.05 $\mu\text{g/ml}$ の標準液との比較により判定する。しかし、操作が煩雑な上にアンモニア水及びピリジンといった悪臭物質を使用し、また目視による判定であるため試験法のバリデーションが困難であるなどの問題がある。

そこで、ヒ素の測定法として、汎用性が高く、定量も可能である原子吸光光度 (AAS) 法または誘導結合プラズマ発光強度 (ICP) 法による測定を検討することとした。しかし、いずれの方法においても標準溶液や試料溶液をそのまま導入したのでは感度が十分でない。食品添加物公定書の一般試験法に記載されたヒ素試験法では、装置 C として水素化物発生装置を原子吸光光度計に連結させ、水素化ヒ素 (アルシン: AsH_3) に変換して測定している。この装置は ICP 法にも適用可能であり、ヒ素の他にゲルマニウム、鉛、セレン、アンチモン、スズなどの高感度測定にも用いられるなど汎用性が高く³⁾、多くの試験機関が所有している。そこで、今回は水素化物発生装置を用いた AAS 法または ICP 法を検討した。

②界面活性剤成分の除去

試料溶液をそのまま水素化物発生装置に導入すると、界面活性剤成分により装置内の流路が泡で満たされて測定できなかった。そこで、界面活性剤成分を除去する方法を検討した。

界面活性剤成分は脂肪酸系、非脂肪酸系で多くの種類があるがいずれも構造内に長鎖炭化水素を有することから、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムにより保持されると考えられた。そこで、あらかじめメタノール及び水でコンディショニングした Sep-Pak Plus C18 (360 mg) に各試料溶液を注入しその溶出液を激しく振とうしたところ、ほとんどの試料で全く泡立たず界面活性剤成分はほぼ完全に除去されていた。ただし、界面活性剤濃度の高い試料 3 では除去が不十分であったことから、ミニカラムを 2 個連結して行うか担体容量の多いカラムを使用する必要があった。

以上のことから、大部分の試料では、あらかじめメタノール並びに水を 5 ml 注入して流したオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに試料溶液 5 ml を注入し、さらに水 2 ml で溶出し、これらを合わせ水を加えて 10 ml とする。この試験溶液と 2 倍に希釈したヒ素標準溶液を AAS 法または ICP 法で測定し、それぞれの吸光度または発光強度を比較することにより判定を行うこととした。ただし、界面活性剤濃度が高い試料についてはミニカラムを 2 個連結または担体容量の多いカラムを用いる。なお、本操作により試験溶液が 2 倍に希釈されるため、ヒ素標準溶液も同様に 2 倍に希釈する必要がある。

本操作により不溶物や界面活性剤以外の有機成分の除去も見込まれる。そのため、界面活性剤をほとんど含まない自動食器洗浄機用洗浄剤についても、分析装置の汚染防止のため本操作を行うことが望ましいと考えられた。

③三価ヒ素の還元

ヒ素には 3 価 (As(III)) と 5 価 (As(V)) が存在し、アルカリ溶液中では主に As(V) の形態をとる。 As(V) と As(III) では AAS 法や ICP 法では測定感度に違いがみられ、 As(V) の感度は As(III) に比べて 3~5 割程度と低いとされている。そのため、ヒ素試験法の装置 C 法では溶液 4 mL に対し塩酸 1 ml とヨウ化カリウム溶液 (1→5) 1 ml を加え水浴上 70°C で 4 分間加温することに

より As(V)を As(III)へ還元した後に測定を行っている。

脂肪酸系洗浄剤及び自動食器洗浄機用洗浄剤においては大部分の試料の試料溶液及びミニカラムからの溶出液はアルカリ性であるため、ヒ素は As(V)の形態をとり感度が低下している。そのため、ヒ素の還元操作は必須である。一方、大部分の非脂肪酸系洗浄剤は中性であるが、一部でアルカリ性の製品も存在することから、これらについても塩酸とヨウ化カリウムによる還元処理を行う必要がある。

④測定波長の検討

上記の検討結果から図1に示す試験法を作成し、標準溶液及び3試料の試験溶液についてAAS法及びICP法で測定を行った。

その結果、ICP法ではヒ素の感度が最も良い193.7 nmでは標準溶液のピーク形状は良好であったが、試料3では他の元素の干渉によりベースラインが高くなった(図2)。

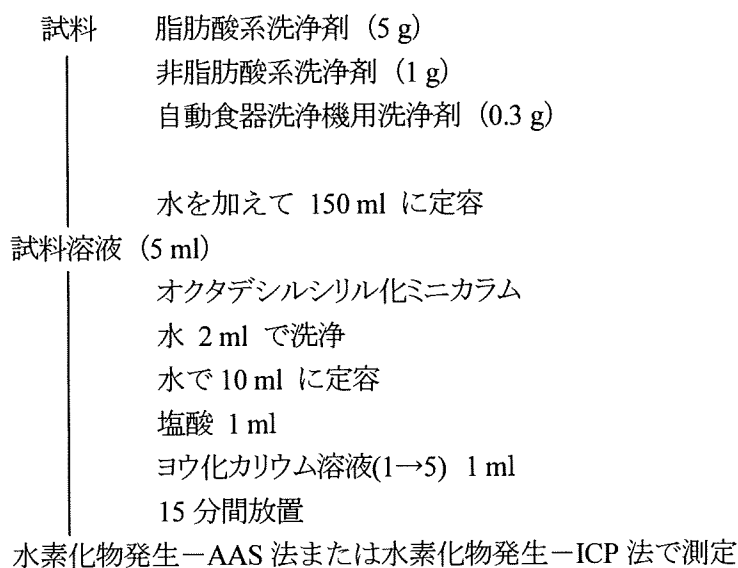


図1 ヒ素試験法案

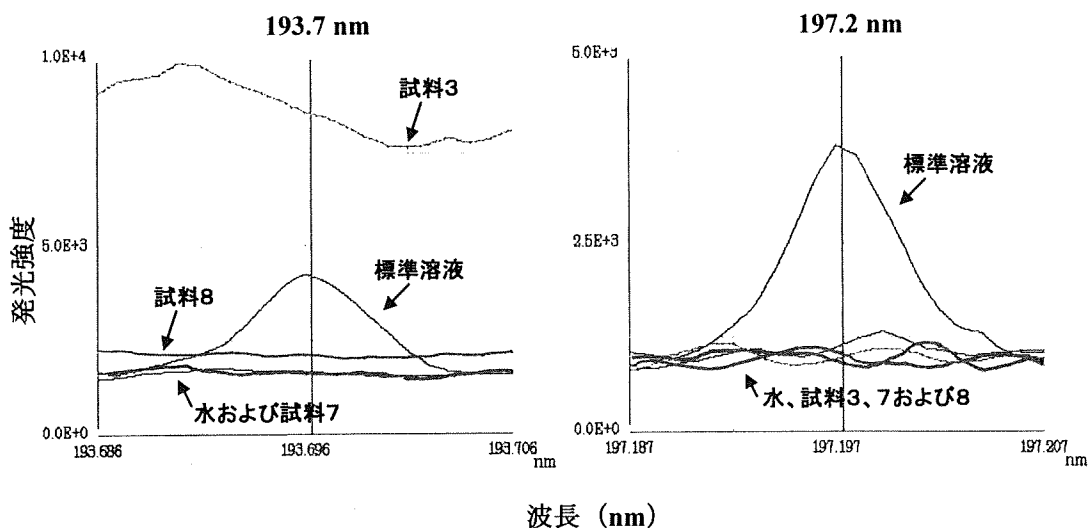


図2 ICP法におけるヒ素標準溶液及び各試料溶液のスペクトル

そのため、希釈倍率の低い脂肪酸系洗浄剤などでバックグラウンド補正を行わずに試験した場合、誤判定の原因となりうるものが危惧された。同様に AAS 法でも試料 3 は他の試料や水と比べて高い吸光度を示した。そのため、AAS 法でも同様に干渉を受けると考えられた。

そこで、2 番目に感度が良い 197.2 nm を使用して ICP 法で測定したところ、いずれの試料においてもベースラインは低く安定していた。また、標準溶液のピーク形状は良好であり、ピーク高さも 193.7 nm とほとんど変わらなかった。AAS 法でも他の試料や水とほぼ同じ吸光度を示した。以上のことから、AAS 法、ICP 法ともに 197.2 nm をヒ素の測定波長とすることにした。AAS 法、ICP 法ともに 197.2 nm における検量線は 0.0025~0.1 µg/mL の範囲で直線性がみられた。

⑤ 添加回収試験及び定量限界

試料 3、7 及び 8 の試験溶液に、規格値である 0.05 µg/ml (As₂O₃ として) となるようにヒ素標準原液を添加し、図 1 に示す方法で操作し添加回収試験を行った。その結果、AAS 法、ICP 法ともに 80%以上の回収率が得られ、変動係数も 10%以下と良好であった(表 2)。また、定量限界は試験溶液あたり 0.0025 µg/ml、2 倍希釈する前の試料溶液あたりでは 0.005 µg/ml と現行の規格値の 1/10 まで定量可能であった。

表 2 ヒ素添加回収試験

試料	回収率 (%)	
	AAS 法	ICP 法
試料 3	97 ± 4	87 ± 1
試料 7	91 ± 10	101 ± 4
試料 8	102 ± 7	85 ± 1

添加量：0.05 µg/ml (As₂O₃ として)

数値は 3 回試行の平均値 ± SD

5) 鉛試験法

① 測定法の選択

鉛の測定法としては、食品衛生法の食品添加物や器具・容器包装では AAS 法及び ICP 法の他に低濃度まで測定可能な電気加熱(フレイムレス)方式 AAS 法も記載されている。AAS 法及び ICP 法ともに鉛標準溶液の定量限界は 100 ng/ml 程度であるため、現行の規格値である 1 µg/ml の合否判定は十分可能である。そこで、今回は AAS 法または ICP 法による測定を検討した。

② 中和操作による回収率の変化

前項で示した試料溶液に鉛標準原液を 0.5 µg/ml となるように添加し、そのまま ICP 法で測定したところ、非脂肪酸系洗浄剤では回収率が 83~91%と良好であったが、脂肪酸系洗浄剤の試料 3、自動食器洗浄機用洗浄剤の試料 8 及び 9 では回収率が 66~77%とあまり良くなかった(表 3)。試料 3 では試料溶液の粘性が高いため装置への導入効率が悪かったことも一因と推測された。また、脂肪酸系洗浄剤及び自動食器洗浄機用洗浄剤の試料溶液の液性はいずれもアルカリ性であった。

表3 試験溶液の液性と中和操作による鉛回収率の変化

試料	試料溶液の液性		回収率 (%)		中和に要した 2 mol/L 硝酸の量(ml)
			中和前	中和後	
脂肪酸系	1	アルカリ性	91	105	3
	2	アルカリ性	91	104	3
	3	アルカリ性	69	86	15
非脂肪酸系	4	中性	86	-	-
	5	中性	91	-	-
	6	中性	83	-	-
	7	中性	91	-	-
食器洗浄機用	8	アルカリ性	66	98	1
	9	アルカリ性	77	88	1
	10	アルカリ性	86	111	1

一般的に AAS 法または ICP 法で測定を行う際の試験溶液は中性または酸性が好ましい。そこで、各試料溶液を中和した後、測定することとした。中和に要する硝酸の量が試料により異なるので、まず試料に水 120ml を加えて溶解させたのち、pH 試験紙で液性を確認し、アルカリ性の場合は 2mol/L 硝酸を加えて中和した後、水を加えて 150ml に定容し試料溶液とした。また、アルカリ性でない場合はそのまま水を加えて 150ml に定容し試料溶液とすることとした。

中和により脂肪酸系洗浄剤の試料 1～3 では溶液が白濁し乳液状となった。これは中和によりけん化されていた脂肪酸が析出したためと推測される。この粒子は細かいため、ろ紙やフィルターによるろ過は不可能であったが、試料溶液の粘性は低下しており、そのまま測定可能であった。一方、さらに硝酸を追加して酸性にすると油分の固まりが析出し、分析装置への導入が困難となったことから、pH 試験紙で液性を確認し中性の状態とどめる必要があった。

自動食器洗浄機用洗浄剤についても 2 mol/L 硝酸を添加して中和したが、いずれの試料溶液でも特に変化は見られなかった。非脂肪酸系洗浄剤ではすべての試料溶液が中性であったことから中和操作を行う必要はなかった。

中和操作を行った脂肪酸系及び自動食器洗浄機用洗浄剤について試験操作及び回収率を確認した。その結果、脂肪酸系洗浄剤の試料溶液は乳液状であったが、そのまま装置に導入でき、問題なく測定でき、回収率は 86%以上と良好であった。また、食器洗浄機用洗浄剤についても回収率が 88%以上と改善された。

③標準溶液の調製

一般的に金属の標準原液及び溶液は硝酸や塩酸などを含む酸性の溶液とすることで、金属の溶解性や安定性などを確保している。しかし、前項で記載したように脂肪酸系洗浄剤では試料溶液を酸性の状態にすることができない。そのため、標準溶液を水で調製する必要がある。

鉛標準原液を水で希釈して調製した鉛標準溶液と 0.1 mol/L 硝酸で希釈して調製した鉛標準溶液のピーク強度を比較したところ、AAS 法及び ICP 法ともにほぼ同等であり、同様に調製した検量線を比較しても違いは見られなかった (図 3)。しかし、保存すると低濃度の鉛溶液では鉛が容器の壁などに吸着して濃度が低下するおそれがある。そのため、鉛標準溶液は用時鉛標

準原液を水で希釈して調製することとした。

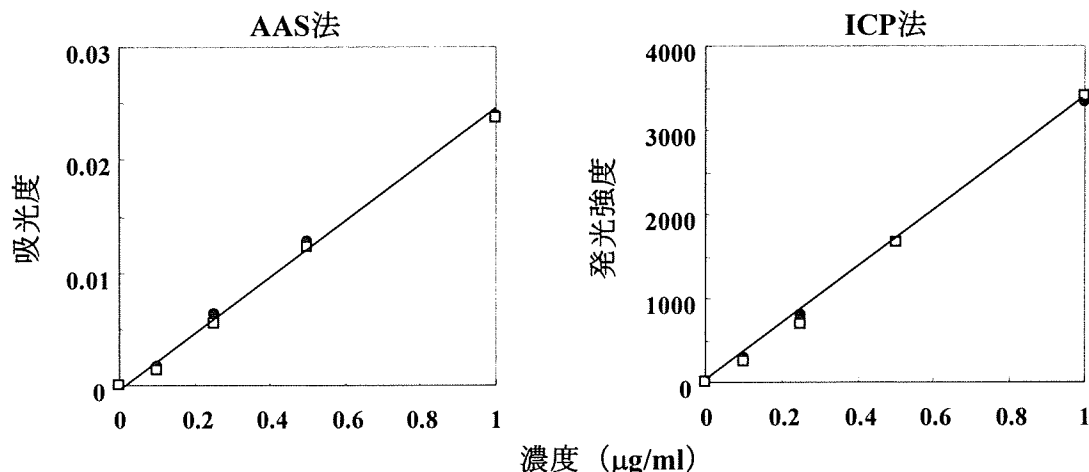


図3 AAS法及びICP法における鉛検量線の比較

● : 0.1 mol/L 硝酸、□ : 水

④添加回収試験及び定量限界

試料3、7及び8の試料溶液に0.5 µg/mlとなるように鉛標準原液を添加し、図4に示す方法で添加回収試験を行った。その結果、いずれの試料においてもAAS法、ICP法ともに80%以上の回収率が得られ、変動係数も10%以下と良好であった(表4)。

現行の重金属試験では鉛1 µg/mLの標準溶液の呈色が分かりにくく、微妙な判断がつけにくい。本法の定量限界は0.1 µg/mlであり、現行の規格値の1/10まで定量可能である。さらに灰化などの煩雑な操作は必要なく、非常に簡便であった。

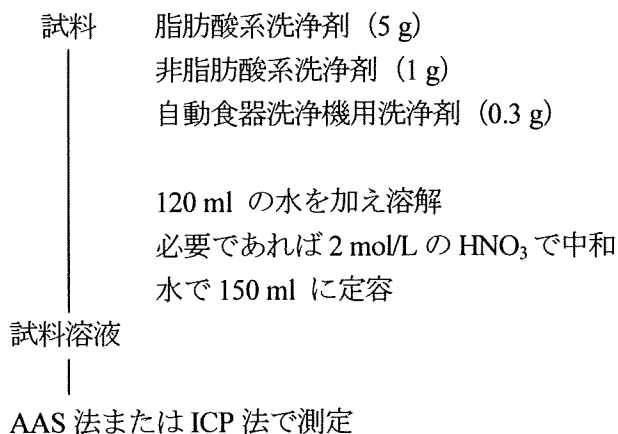


図4 鉛試験法案

表4 鉛添加回収試験

試料	回収率 (%)	
	AAS 法	ICP 法
試料3	97 ± 4	80 ± 6
試料7	93 ± 2	91 ± 6
試料8	94 ± 6	91 ± 3

添加量：0.5 mg/ml

数値は3回試行の平均値±SD

4. 結論

今回、原子吸光光度法及び誘導結合プラズマ発光強度測定法を用いたヒ素試験法及び鉛試験法を確立した。これらは現行法と比べて非常に簡便であり、回収率や再現性など分析精度にも優れる。また、規格値の1/10までの定量も可能な有用性の高い試験法である。

5. 文献

- 1) 河村葉子、石井茂雄, 平成20年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品用器具・容器包装、乳幼児用玩具及び洗浄剤の安全性確保に関する研究 総括・分担研究報告書, 洗浄剤の規格基準に関する研究, 103-127 (2009)
- 2) 日本食品洗浄剤衛生協会、食洗協シリーズ7 食品衛生に活躍する食器洗浄機用洗浄剤, p.61-74 (1994)
- 3) 原口紘丞、ICP 発光分析の基礎と応用, (ISBN 4-06-139677-3), p.133-135 (1986)

洗浄剤のメタノール試験法の検討

国立医薬品食品衛生研究所 六鹿元雄

1. 研究目的

現行の食品衛生法ではメタノールの規格が設定されているが、その試験法は単位の整合性がとれておらず、また内部標準溶液の濃度が高すぎるため正しく試験できない。また、現行法ではガスクロマトグラフィーで旧式のパックドカラムを用いているため、試験に対応できない試験機関がある。また洗浄液を希釈せずに注入するため装置を汚染する。このような様々な問題が指摘されていることから、揮発性物質の測定に汎用されるヘッドスペースガスクロマトグラフィー (HS-GC) を用いた簡便で精度の高い試験法を開発した。

2. 研究方法

1) 試料

脂肪酸系洗浄剤 2 検体 (家庭用)、非脂肪酸系洗浄剤 9 検体 (家庭用 7 検体、業務用 2 検体)、自動食器洗浄機用洗浄剤 3 検体 (家庭用 1 検体、業務用 2 検体)。試料はいずれも液状のもの。

2) 試薬等

水 : Milli-Q SP (Millipore 社製) により精製した超純水

メタノール : HPLC 分析用 メルク社製

2-プロパノール : HPLC 用 シグマアルドリッチ ジャパン (株) 製

内部標準原液 : 2-プロパノール 1 g を採り、水を加えて 100 ml としたもの (100 µg/ml)。

内部標準溶液 : 内部標準原液 2 ml に水を加えて 50 ml としたもの (40 µg/ml)。

メタノール標準溶液 : メタノール 1g を採り、水を加えて 1000 ml としたもの (1000 µg/ml)。

検量線用メタノール標準溶液 : メタノール標準溶液 0.05~2 ml (50~2000 µg/ml 相当) を採り、それぞれに内部標準溶液 1 ml を加えて混和し、水を加えて 20 ml としたもの。

3) 装置および器具

ガスクロマトグラフ (GC) : HP 5890 Hewlett Packard 社製

ヘッドスペースサンプラー(HS) : HP 7694 Hewlett Packard 社製

ヘッドスペース用バイアル : 容量 10 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

4) HS-GC 条件

HS 条件

バイアル温度 : 60°C、サンプルループ温度 : 110°C、トランスファーライン温度 : 130°C、バイアル加温時間 : 30 分、サンプルループ充填時間 : 0.1 分、注入時間 : 0.5 分、サンプルループ平衡時間 : 0.1 分、注入量 (サンプルループ容量) : 1 ml スプリットレス注入

GC 条件

カラム：Aquatic-2（内径 0.25 mm、長さ 60 m、膜厚 1.4 μm ）ジーエルサイエンス(株)製、カラム温度：50°C、注入口温度：200°C、検出器温度：250°C、検出器：水素炎イオン化検出器、キャリアーガス：He、1.5 ml/min

5) 試験溶液の調製

試料 1 g に内部標準溶液 1 ml を加え、さらに水を加えて 20 ml としたものを試験溶液とした。

3. 研究結果

1) 現行試験法の問題点

現行のメタノールの規格値 1 $\mu\text{l/g}$ は試験法をそのまま反映させたものであるが、規格値としては奇妙な単位である。試験法においては、試料と内部標準の 2-プロパノール（現行法ではイソプロピルアルコールとなっているが IUPAC 命名法に従うと 2-プロパノール）は重量で採取するのに対して、標準溶液となるメタノール溶液は容量で採取しており統一がとれていない。また、メタノール 100 μl に対して内部標準物質の 2-プロパノールが 10 g と規格値のメタノール量の 100 倍以上が添加されており試験法として適当ではない。

さらに洗浄剤の原液をほとんど希釈せずに試験溶液として GC へ注入しているため、装置を汚染する可能性もあり、注入量は 1 μl と微量であるため粘性の高い試料では正確に注入することが困難である。また、測定においては現在あまり使用されていないパックドカラムを用いており、試験機関によっては対応できない。

このように現行のメタノール試験法には様々な問題点が指摘されている。そこで、揮発性物質の測定に汎用されるヘッドスペースーガスクロマトグラフィー（HS-GC）を用い、簡便で精度の高い試験法を検討した。ただし、今回は食品用の脂肪酸系洗浄剤が入手できなかったため、本規格の対象とされていない飲食器洗浄用洗浄剤を用いて検討した。さらに、自動食器洗浄機用洗浄剤は成分規格から除外されておりこの規格は適用されないが、自主基準等での使用を考慮し、適用できるか検討した。

2) 規格値の単位

現行のメタノール試験法では、試料は 100 g と重量で採取するのに対して、標準溶液の調製法として「水でメタノール (1 \rightarrow 1000) 100 ml にイソプロピルアルコール 10 g を加えて混和し、これを標準溶液とする。」としているが、「メタノール (1 \rightarrow 1000)」はメタノール 1 ml を水で希釈して 1000 ml とすることを意味しており、さらに採取量も 100 ml と容量で採取するため、規格値は 1 $\mu\text{l/g}$ となる。

一方、JIS K3370 台所用合成洗剤では規格値を 1 g 中 1 mg 以下としており、JIS K3362 家庭用合成洗剤試験方法ではメタノール標準溶液として「メタノール 10 g を採り水で 1000 ml とし、この液 10 ml に 2-プロパノール 10 g を加え水で 100 ml としたもの」としている。この違いは食品衛生法を設定した際の容量と重量の混乱により生じた誤記載によるものと推測される。すなわち、すべてを重量で測定した 1 mg/g が正しい規格値と考えられ、これを正しく試験できるよう標準溶液および試験溶液の調製法を修正する必要がある。

そこで、メタノール、試料及び内部標準をそれぞれ重量で採取して試験法を作成した。

3) 測定方法の検討

現行法ではパックドカラムを装着した GC に試験溶液を直接注入することにより測定を行っているが、現在ではパックドカラムはあまり使用されておらず、新しい GC では装着できないため試験機関によっては対応できない場合がある。そのため、メタノール等の検出は現行法と同じ水素炎イオン検出器 (FID) を用いるが、カラムは汎用性の高いキャピラリーカラムを用いることとした。

ただし、洗浄剤の主成分である界面活性剤は構造内に長鎖炭化水素を有することから揮発性が低く、洗浄剤をほとんど希釈しないで注入すると装置に残留しやすい。キャピラリーカラムはパックドカラムに比べて汚染に弱く、カラムが劣化しやすい。そこで、導入法として食品添加物中のメタノールを含む残留溶媒の測定に汎用される HS-GC 法^{1,2)}を用いることとした。

①GC 条件

測定対象としてはメタノールのほかに、現行法で内部標準として用いている 2-プロパノールを検討した。また、試料中には安定化剤等として添加されたエタノールが大量に含まれることがある。そのため、これらのピークが十分に分離し、できるだけ短時間で測定可能な条件を検討した。

また、FID による検出では 2-プロパノールのピーク面積はメタノールと比べて 2.5 倍程高いにもかかわらず、現行法での 2-プロパノールの添加量は規格値のメタノール量の 100 倍以上と非常に多量である。そのため、2-プロパノールの添加量は規格値のメタノールのピーク面積とほぼ同じになるように試料 1 g あたり 0.4 mg とした。

エタノールを大量に含む試料 3 にメタノール標準原液を 1 ml を添加して試験溶液を調製後、5 ml をヘッドスペースバイアルに採り密封し、60°C で 30 分間加温した時のヘッドスペースガスを GC に導入した。カラムは水道水中の有害揮発性有機化合物分析用の Aquatic-2 を使い、カラム温度を 50°C に設定して測定した。そのクロマトグラムを図 1 に示す。メタノールは保持時間 5 分で検出され、近傍に検出されたピークとの分離も良好であった。2-プロパノールは 7 分に検出され、大量に検出されたエタノールとも十分に分離できた。

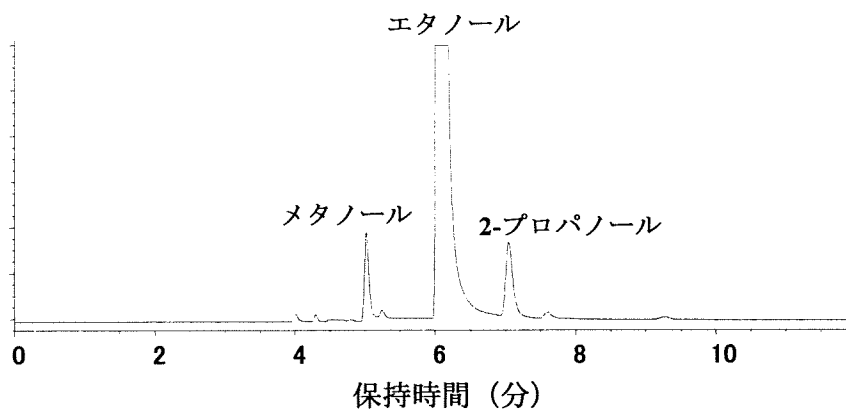


図1 メタノールを添加した試料 3 の試験溶液のクロマトグラム

また、GC への導入はヘッドスペース法で行うため、揮発性物質以外は装置にほとんど導入されず、カラム温度を 240℃まで上昇させても大きなピークは検出されなかった。そのため、カラム温度は 50℃で一定とした。しかし、試験溶液を 10 回程度測定するとブロードなピークが検出されることがあるため、10 回程度測定したら、1 回 240℃程度までカラムを加熱して残留物を排除することが望ましい。

②ヘッドスペース条件

ヘッドスペースを採取するためのバイアル加熱温度については、メタノールおよび2-プロパノールの沸点から 60℃が適当と考えられた。バイアル加熱時間については 50 µg/ml の標準溶液および粘性が高くメタノールを含有する試料 10 の試験溶液を用いて検討した。各溶液を 60℃で 10~40 分間加熱したときのピーク面積を表 1 に示した。その結果、標準溶液、試験溶液ともに 2-プロパノールとの面積比は加熱時間にかかわらずほぼ一定であったが、ピークの絶対面積は 10 分ではやや低く、20 分以降ではほぼ一定となった。そのため、バイアル加熱時間は 30 分間とした。

表 1 バイアル加熱時間による各ピーク面積の変化

加熱 時間 (分)	標準溶液			試料 10		
	MeOH	2-ProOH	面積比	MeOH	2-ProOH	面積比
10	4110	5390	0.76	1090	5730	0.19
20	4690	6130	0.77	1170	5950	0.20
30	4790	6342	0.76	1160	5930	0.20
40	4610	6040	0.76	1140	6020	0.19

③検量線および定量限界

上記の条件で 2.5~100 µg/ml の標準溶液を測定し、各ピーク面積を用いて内部標準法および絶対検量線法により検量線を作成した。その結果、定量限界は 5 µg/ml であり、いずれの検量線も 5~100 µg/ml で良好な直線性を示した (図 2)。

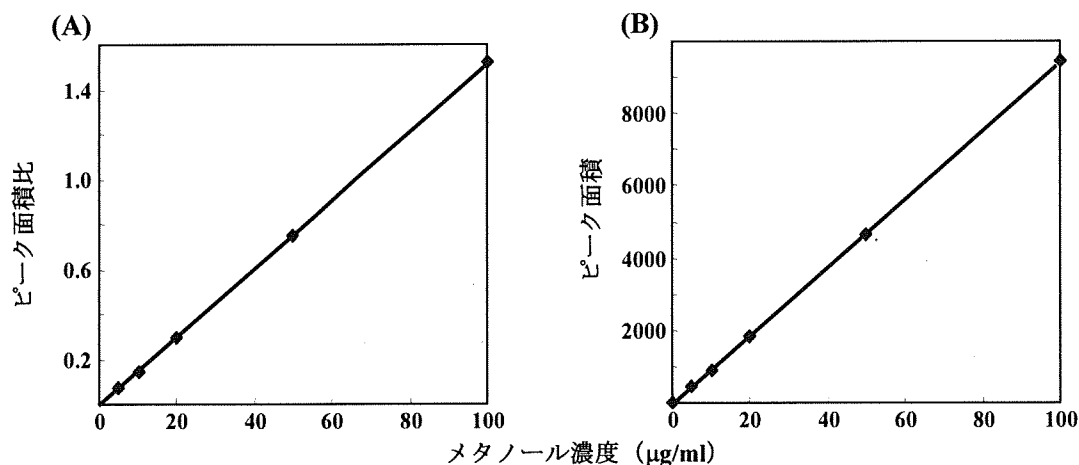


図 2 メタノールの検量線 (A) : 内部標準法、(B) : 絶対検量線法

4) 試験溶液の調製

現行法では標準溶液は水で希釈して調製しているのに対し、試験溶液は試料をほとんど希釈していない。しかし、粘性の高い試料は正確に装置に注入することが困難であり、装置への導入量に大きな差が生じる場合がある。ヘッドスペース法による導入でも試験溶液の粘性が高いとメタノールが揮発せずヘッドスペースガスに移行しない可能性もある。そこで、標準溶液と同程度の粘性となるように試験溶液の調製法を検討した。

試料の中で最も粘性の高い試料 10 を 1 g 採り、水で 10 ml に希釈したところ、まだ粘性が高く、ヘッドスペースバイアルに一定量を採取するのが困難であった。そこで、さらに水を添加し 20 ml としたところ、やや粘性は残ったが溶液の採取に問題はなく、測定にもほとんど影響しなかった。試料 1 g を 20 ml に希釈して試験溶液を調製すると、試料の含有量が規格値 1 mg/g の場合は試験溶液は 50 µg/ml に相当する。HS-GC における定量限界は 5 µg/ml であり、規格値の 1/10 まで定量可能で試験法として十分適用可能である。

5) 添加回収試験

試料 1、3、11 および 12 に 1 mg/g となるようにメタノール標準原液を添加し、添加回収試験を行った。それぞれの回収率は絶対検量線法と内標準法により算出した。その結果を表 2 に示した。

その結果、両法ともに 95~101%の回収率が得られ、変動係数も 5%以下と良好であった。このため、絶対検量線法でも定量が可能と考えられた。しかし、洗浄剤には様々な性状の製品が存在するため、試料によってはメタノールが十分に揮発しない可能性もある。そのため、試験の確実性や定量精度の観点から、測定は内部標準法で行うことが望ましいと考えられた。

また、今回の試料ではいずれも内部標準のピーク面積は標準溶液とほぼ同じであり、試料による違いは見られなかった。そのため、大部分の製品の試験溶液の定量限界は標準溶液と同じ 5 µg/ml であり、試料あたりの定量限界は 0.1 mg/g と現行の規格値の 1/10 まで定量可能であると考えられた。

表 2 添加回収率

	内部標準法	絶対検量線法
試料 1	97.5 ± 0.0	99.5 ± 4.4
試料 3	100.6 ± 1.7	99.8 ± 2.1
試料 11	99.7 ± 0.4	99.1 ± 0.9
試料 12	99.5 ± 3.3	95.6 ± 2.6

数値は 3 試行の平均値 (%) ±SD

6) 製品中のメタノール含有量の調査

脂肪酸系洗浄剤 2 検体、非脂肪酸系洗浄剤 9 検体、自動食器洗浄機用洗浄剤 3 検体の合計 14 検体について、本法を用いメタノール含有量を内部標準法で測定した。その結果を表 3、代表的な試料のクロマトグラムを図 3 に示した。

表 3 に示すように業務用の製品 2 検体から 0.27 および 0.13 mg/g のメタノールが検出されたが、その含有量は規格値の 1/3 以下であった。一方、それ以外の検体からは検出されなかった。

また、エタノールはすべての試料から検出されたが、その量は試料により大きく異なっていた。メタノールは主に安定剤等として添加されるエタノールの不純物として混入する。今回調査した試料のうち、8検体がエタノールを大量に含有していたが、試料10以外の7検体からはメタノールは検出されなかった。一方、試料13はエタノールを少量しか含有しないにも関わらずメタノールが検出された。そのため、このメタノールはエタノールの不純物として混入したのではなく、他の添加剤の溶剤または不純物として混入したものと考えられた。

表3 製品中のメタノール含有量

試料		野菜・果実への使用	界面活性剤濃度(%)	メタノール含有量 (mg/g)	エタノールのピーク	
脂肪酸系	1	家庭用	×	28	ND	++
	2	家庭用	×	28	ND	+
非脂肪酸系	3	家庭用	○	45	ND	++
	4	家庭用	○	40	ND	++
	5	家庭用	×	39	ND	++
	6	家庭用	×	42	ND	++
	7	家庭用	○	17	ND	+
	8	家庭用	○	5	ND	++
	9	家庭用	○	16	ND	+
	10	業務用	○	60	0.27	++
	11	業務用	○	18	ND	++
食器洗浄機用	12	家庭用	×	2	ND	+
	13	業務用	×	0	0.13	±
	14	業務用	×	<1	ND	±

数値は3試行の平均値、ND<0.1

++：ピーク面積が内部標準よりもかなり大きい

＋：ピーク面積が内部標準と同程度

±：ピーク面積が内部標準よりもかなり小さい

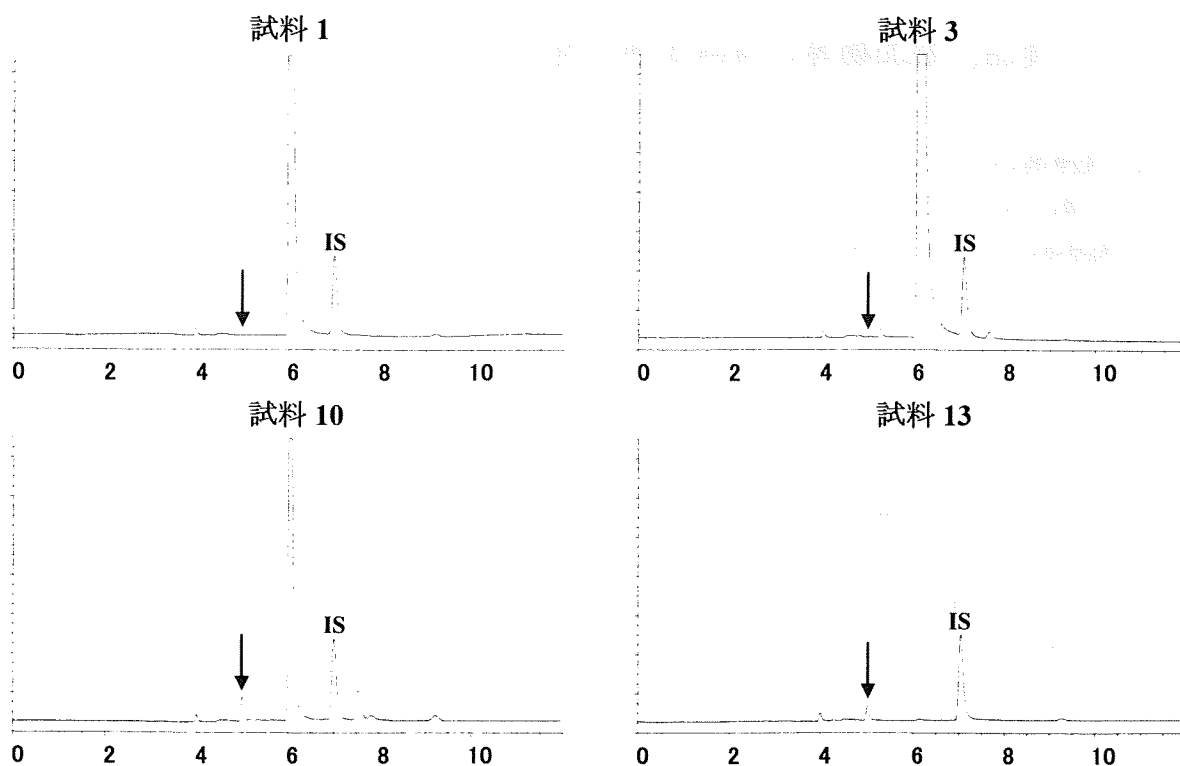


図3 代表的な製品のクロマトグラム

4. 結論

今回、HS-GC法を用いた洗浄剤のメタノール試験法を作成した。本法は現行法と比べて回収率や再現性など分析精度にも優れ、試験溶液を直接装置に導入しないため、装置の汚染も少ない。また、規格値の1/10までの定量も可能な有用性の高い試験法である。さらに、本法は食品衛生法でメタノール試験が課せられていない飲食器専用洗浄剤や自動食器洗浄機用洗浄剤にも適用可能である。また、本法を用いて14検体の製品中のメタノール含有量の調査を測定したところ、2検体からメタノールが検出されたが、その量は規格値の1/3以下であった。

5. 文献

- 1) 佐藤恭子ら, 標準添加法を用いたヘッドスペース GC による天然香料中残留溶媒分析, 食衛誌, **45**, 302-306 (2004)
- 2) Tatebe, C. *et al*, Analysis of residual solvent in thickeners by headspace gas chromatography using a standard addition method, *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **16**, 78-83 (2009)

食品、添加物等の規格基準 第5 洗浄剤 の改正原案

A 洗浄剤(もっぱら飲食器の洗浄の用に供されることが目的とされているものを除く。以下この項において同じ。)の成分規格

1 洗浄剤はつぎの試験法による試験(洗浄剤であつて液状以外のものについては、(3)メタノールを除く)に適合しなければならない。この場合において、試験に用いる水は精製水とする。

1) ヒ素

1. 試料溶液の調製

洗浄剤であつて高級脂肪酸塩及び高級脂肪酸エステル系界面活性剤以外の界面活性剤を含まないもの(以下「脂肪酸系洗浄剤」という。)にあつては試料 5g、脂肪酸系洗浄剤以外の洗浄剤にあつては 1g の試料を採り、水を加えて 150ml とし試料溶液とする。ただし、試料が均一でない場合には粉碎等により均一化したのち採取する。

2. 試験

あらかじめメタノール並びに水を 5ml 注入して調整したオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに試料溶液 5ml を注入し、その後水 2ml を注入してすべての溶出液を合わせ、水を加えて 10ml とし試験溶液とする。また、ヒ素標準溶液 5ml は水を加えて 10ml とする。これらに塩酸 1ml 及びヨウ化カリウム溶液(1→5) 1ml を加え、15 分間放置する。これらを第2 添加物の部B 一般試験法 36 ヒ素試験法の装置 C を用い、発生させた水素化ヒ素を第3 器具及び容器包装の部B 器具または容器包装一般の試験法 3 原子吸光光度法又は 9 誘導結合プラズマ発光強度測定法により本項のヒ素標準溶液を用いてヒ素の試験を行うとき、これに適合しなければならない。ただし、ヒ素の測定においては原子吸光光度法及び誘導結合プラズマ発光強度測定法ともに 197.2nm の波長を用いる。これに適合するとき、試料溶液中のヒ素の量は三酸化ニヒ素として 0.05 μ g/ml 以下となる。

試薬

メタノール CH_3OH [K8891]

硝酸 HNO_3 [K8541]

塩酸 HCl [K8180]

ヨウ化カリウム KI [よう化カリウム, K8913]

ヒ素標準原液 第3 器具及び容器包装の部C 試薬・試液等の項 4 標準溶液, 標準原液に規定するヒ素標準原液を用いる。

ヒ素標準溶液 ヒ素標準原液 1ml を採り、水を加えて 100ml とする。この溶液 5ml を採り、水を加えて 100ml とする。本液 1ml は三酸化ニヒ素 0.05 μ g を含む。

(2) 鉛

1. 試料溶液の調製

脂肪酸系洗浄剤にあつては試料 5g、脂肪酸系洗浄剤以外の洗浄剤にあつては 1g の試料を採り、水 120ml を加えて溶解させる。溶液の液性を pH 試験紙で調べ、アルカリ性の場合には 2mol/l

硝酸を加えて中和後、アルカリ性以外の場合そのまま水を加えて150mlとし試料溶液とする。ただし、試料が均一でない場合には粉碎等により均一化したのち採取する。

2. 試験

試料溶液を試験溶液とし、本項の鉛標準溶液を用いて第3 器具及び容器包装の部B 器具または容器包装一般の試験法3 原子吸光光度法又は9 誘導結合プラズマ発光強度測定法により鉛の試験を行うとき、これに適合しなければならない。これに適合するとき、試料溶液中の鉛の量は $1\mu\text{g/ml}$ 以下となる。

試薬

硝酸 HNO_3 [K8541]

2mol/l 硝酸 硝酸128mlに水を加えて1,000mlとする。

鉛標準原液 第3 器具及び容器包装の部C 試薬・試液等の項4 標準溶液、標準原液に規定する鉛標準原液を用いる。

鉛標準溶液 鉛標準原液1mlを採り、水を加えて100mlとする。この溶液5mlを採り、水を加えて50mlとする。本液1mlは鉛 $1\mu\text{g}$ を含む。

3) メタノール

試料1gに内部標準溶液1mlを加え、水を加えて混和し20mlとしたものを試験溶液とする。メタノール標準溶液1mlも内部標準溶液1mlを加え、水を加えて混和し20mlとする。それぞれ5mlを別々の容量10mlのセプタム付きガラス瓶に入れて密封し、 60°C に保ちながら30分間加熱する。その後、それぞれの気相0.5mlを用いて次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行うとき、試験溶液のメタノールのピーク面積Aと内部標準物質のピーク面積 A_s との比 A/A_s は、標準溶液のメタノールのピーク面積 A' と内部標準物質のピーク面積 A'_s との比 A'/A'_s よりも大きくてはならない。これに適合するとき、試料中のメタノールの量は 1mg/g 以下となる。

操作条件

カラム 内径0.25mm、長さ60mのケイ酸ガラス製細管に、25%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 $1.4\mu\text{m}$ の厚さでコーティングしたものをを用いる。

カラム温度 50°C で保持する。

試験溶液注入口温度 200°C

検出器 水素炎イオン化検出器を用いる。 250°C 付近で操作し、水素及び空気量は検出感度が最高となるように調節する。

キャリアーガス 窒素又はヘリウムを用いる。メタノールが約5分で流出する流速に調節する。

試薬

2-プロパノール $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ [K8839, 特級]

メタノール CH_3OH [K8891, 特級]

内部標準原液 2-プロパノール1gを採り、水を加えて100mlとする。

内部標準溶液 内部標準原液2mlを採り、水を加えて50mlとする。本液1mlは内部標準物質である2-プロパノール0.4mgを含む。

メタノール標準溶液 メタノール1gを採り、水を加えて1,000mlとする。本液1mlはメタノール1mgを含む。

4) 液性

新たに煮沸し冷却した水を用いて(1)と同様に操作して得た試料溶液の pH は、ガラス電極 pH 計で測定するとき、脂肪酸系洗浄剤にあつては 6.0~10.5、脂肪酸系洗浄剤以外の洗浄剤にあつては 6.0~8.0 でなければならない。

2 洗浄剤は、酵素または漂白剤を有する成分を含むものであつてはならない。

3 洗浄剤は、食品衛生法施行規則別表第 1 に掲げる香料以外の化学的合成品たる香料を含むものであつてはならない。

4 洗浄剤は、食品衛生法施行規則別表第 1 に掲げる着色料ならびにつぎに掲げる着色料以外の化学的合成品たる着色料を含むものであつてはならない。

キノリンイエロー (2・[2・キノリル]・1・3・インダンジオン・ジスルホン酸二ナトリウム)
パテントブルーV (m・ヒドロキシ・テトラエチル・ジアミノトリフェニル・カルビノール・ジスルホン酸カルシウム)

B 洗浄剤の使用基準

1 野菜または果実を洗浄する際は、脂肪酸系洗浄剤にあつては界面活性剤の濃度が 0.5%以下、脂肪酸系洗浄剤以外の洗浄剤にあつては界面活性剤の濃度が 0.1%以下となるようにして使用しなければならない。

2 洗浄剤の使用に際しては、野菜または果実が 5 分間以上洗浄剤の溶液に浸せきされないようにしなければならない。

3 野菜もしくは果実または飲食器は、洗浄剤を使用して洗浄した後飲用適の水ですすがなければならない。この場合において、流水を用いる場合にあつては、野菜または果実については 30 秒間以上、飲食器については 5 秒間以上流水ですすぎ、ため水を用いる場合にあつてはため水をかえて 2 回以上すすがなければならない。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
大野浩之, 鈴木昌子 六鹿元雄, 河村葉子	合成樹脂製器具・容器包装および玩具 における過マンガン酸カリウム消費量 および全有機炭素の検討	食品衛生学 雑誌	50	230-236	2009
六鹿元雄, 李 演揆 河村葉子, 棚元憲一	紙製品中の芳香族第一級アミン類の分 析	食品衛生学 雑誌	50	160-166	2009
Ohno, H., Kawamura, Y.	Residual analysis of acrylonitrile, 1,3-butadiene and related compounds in acrylonitrile-butadiene-styrene copolymers for kitchen utensils and children's toys by headspace gas chromatography/mass spectrometry	J.AOAC International		投稿中	
尾崎麻子, 大嶋智子 大垣寿美子, 河村葉子	ポリ乳酸製器具・容器包装の規格試験 及びその他溶出物質の検討	食品衛生学 雑誌		投稿中	
六鹿元雄, 山口未来 大野浩之, 河村葉子	ナイロン製品からのモノマーおよび芳 香族第一級アミン類の溶出	食品衛生学 雑誌		投稿中	

