

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ってはならない。インダントレンブルーRS、ウールグリーン BS、キノリンイエロー、パテントブルーVからFAO/WHOの添加物リストに記載されていないインダントレンブルーRS、ウールグリーン BS を削除する。また、生分解度については食品衛生上必要性は認められず削除する。一方、液性、酵素、漂白剤、香料については現行通りとする。

また使用基準については、「野菜・果実」の洗浄に洗浄剤を使用する人は少なくなっているとはいえ、使用する場合には現行の使用基準を守って使用することが望ましく、使用濃度（界面活性剤として）、浸漬時間、すすぎ水、すすぎ時間、すすぎ回数に関しては現行どおりとする。また、「飲食器」では、流水すすぎにおいては5秒以上、溜めすすぎにおいては2回以上と定められているが、原液をスポンジに付けての手洗いや機械洗いにおいても現行の使用基準を変更する必要性はない。

5) 飲食器専用洗浄剤の自主基準

現在市販されているもっぱら飲食器の洗浄の用に供される洗浄剤には、自動食器洗浄機専用の洗浄剤のほか、手洗い用の食器・調理用具用台所洗浄剤がある。食品衛生法に定める洗浄剤の成分規格は、もっぱら飲食器の洗浄の用に供されるものは対象外となっている。これらの洗浄剤のうち業務用食器洗浄機用洗浄剤については日本食品洗浄剤衛生協会において自主基準が定められているが、家庭用については自主基準が定められていない。そこで、本研究を契機に業界で自主基準を設定することとした。飲食器専用洗浄剤の自主基準は、国内及び海外の規格基準や今回の研究成果をもとにして検討を進める予定である。

D. 結論

合成樹脂製器具・容器包装及びゴム製器具・容器包装については、食品衛生法の蒸発残留物試験について検討を行い、製品の使用温度区分を現行の2段階から3段階にし、それにあつた試験条件を設定した。また、油脂及び脂肪性食品については、オリーブ油による溶出量に対応する代替溶媒を用いた試験条件案をまとめた。また、ゴム製器具については、容器包装と同様に使用する食品に対応した浸出用液を使用することとした。

玩具については規格改正に対応して塗膜中の鉛及びカドミウム試験法の検証やフタル酸エステル規制についてまとめるとともに、今後の改正に向けて木製玩具の揮発性物質の試験法の検討や欧州連合の改正玩具指令についても検討した。

また、洗浄剤については規制や製品の成分等について様々な調査や検討を行い、それらをもとに洗浄剤の規格基準を見直して改正原案を作成した。さらに、器具・容器包装や玩具中に残存する各種化学物質についても調査を行いその安全性を検討した。

これらの研究成果は、いずれも器具・容器包装、乳幼児用玩具及び洗浄剤の安全性確保に大きく貢献するものと考えられる。また、これらの研究成果が食品衛生行政に反映され、器具・容器包装及び乳幼児用玩具の安全性がさらに向上することを期待する。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 六鹿元雄, 河村葉子, 棚元憲一: 瓶詰食品キャップシーリング中のセミカルバジドの分析, 日本食品化学学会誌, 15, 23-27 (2008)
- 2) 六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子, 棚元憲一: 瓶詰食品中のセミカルバジドの分析 日本食品化学学会誌, 15, 67-72 (2009)
- 3) 河村葉子, 六鹿元雄, 山内朋子, 植田新二, 棚元憲一: 玩具塗膜からのカドミウムおよび鉛溶出試験, 食品衛生学雑誌, 50, 93-96 (2009)
- 4) Ohmori, K., Kawamura, Y.: Cell transformation activities of abietic acid and dehydroabietic acid: safety assessment of possible contaminants in paper and paperboard for food contact use, Food Additives and Contaminants Part A, 26, 568-573 (2009)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) Ohno, H. and 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
- 8) 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

- 9) 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

2. 学会発表

- 1) 六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子, 棚元憲一: ポリウレタン製品中のイソシアネートの分析, 日本食品衛生学会第96回学術講演会(2008.9)
- 2) 河村葉子, 山口未来, 六鹿元雄, 棚元憲一, 和田岳成, 古川由佳子: 合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物試験における食品擬似溶媒の検討, 日本食品衛生学会第96回学術講演会(2008.9)
- 3) 大野浩之, 六鹿元雄, 河村葉子: ポリメタクリル酸メチル製食品用器具および容器中の揮発性物質の分析, 日本食品衛生学会第96回学術講演会(2008.9)
- 4) 河村葉子, 六鹿元雄, 棚元憲一: 玩具塗膜からのカドミウム及び鉛溶出試験法の検討, 第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)
- 5) 六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子, 棚元憲一: ポリウレタン製品中のイソシアネートの分析, 第45回全国衛生化学技術協議会年会(2008.11)
- 6) Ohmori, K., Kawamura, Y.: Cell Transformation Activities of Abietic Acid and Dehydroabietic Acid: Safety Assessment of Possible Contaminants in Paper and Paperboard for Food Contact Use, 4th International Symposium on Food Packaging: Scientific Developments supporting Safety and Quality (2008.11)

- 7) 尾崎麻子, 大嶋智子, 大垣寿美子: 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, 日本食品衛生学会第98回学術講演会(2009.10)
- 8) 六鹿元雄, 山口未来, 河村葉子: ほ乳用乳首からのN-ニトロソアミン類の溶出, 日本食品衛生学会第98回学術講演会(2009.10)
- 9) 大野浩之, 鈴木昌子: 各種擬似溶媒における食品用器具の蒸発残留物量の調査, 第46回全国衛生化学技術協議会年会(2009.11)
- 10) 山田恵里奈, 井之上浩一, 日野知証, 岡尚男, 河村葉子: 食品用ラップフィルムに残留するノニルフェノール分析とその評価, 日本薬学会第130年会(2010.3)
- 11) 六鹿元雄, 山口未来, 平原 嘉親, 河村葉子: ポリウレタン製品中のアミン類の分析, 日本食品化学学会第16回学術大会(2010.6)
- 12) 大野浩之, 鈴木昌子, 河村葉子: 4種擬似溶媒による食品用器具の蒸発残留物量の検討, 日本食品化学学会第16回学術大会(2010.6)

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許出願中: ポリオレフィン等衛生協議会、(株)三菱化学アナリテック共同出願

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
六鹿元雄, 河村葉子 棚元憲一	瓶詰食品キャップシーリング中のセミカルバジドの分析	日本食品 化学学会誌	15	23-27	2008
六鹿元雄, 山口未来 河村葉子, 棚元憲一	瓶詰食品中のセミカルバジドの分析	日本食品 化学学会誌	15	67-72	2008
河村葉子, 六鹿元雄 山内朋子, 植田新二 棚元憲一	玩具塗膜からのカドミウムおよび鉛溶出試験	食品衛生学 雑誌	50	93-96	2009
Ohmori, K., Kawamura, Y.	Cell trans-formation activities of abietic acid and dehydroabietic acid: safety assessment of possible contaminants in paper and paperboard for food contact use	Food Additives and Contaminants Part A	26	568-573	2009
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	

瓶詰食品キャップシーリング中の セミカルバジドの分析

六鹿元雄、河村葉子、棚元憲一

日本食品化学学会誌 15巻1号 別刷 (2008)

瓶詰食品キャップシーリング中のセミカルバジドの分析

(2008年3月4日受付)

(2008年3月19日受理)

六鹿元雄、河村葉子、棚元憲一

国立医薬品食品衛生研究所

Semicarbazide in the sealing gasket of bottled food

(Received March 4, 2008)

(Accepted March 19, 2008)

Motoh Mutsuga, Yoko Kawamura, Kenichi Tanamoto

National Institute of Health Sciences

Abstract

In Europe, semicarbazide (SEM) was determined in bottled foods including baby foods. SEM is a thermal degradation products of azodicarbonamide (ADC) which is a foaming agent for plastic gaskets on metal lids. In this paper, an analytical method of SEM and hydrazodicarbonamide (HDC) which is also an intermediate degradation product of ADC was established in gaskets. Then SEM and HDC in 92 gaskets of bottled foods were surveyed on Japanese market. SEM was detected 0.1-2.3 $\mu\text{g/g}$ (ave. 0.9 $\mu\text{g/g}$) in 55 samples and HDC was detected 5.6-269 $\mu\text{g/g}$ (ave. 113 $\mu\text{g/g}$) in 58 samples. Neither SEM nor HDC was detected in 32 samples. All of foamed gaskets contained SEM and/or HDC. Most of gaskets on press-on twist-off (PT) caps and screw caps contained SEM and/or HDC, while that on 2/3 of lug caps contained no SEM nor HDC. These results indicate that ADC is used widely as a foaming agent of the seal gasket in Japan.

Keywords : 瓶詰食品、キャップシーリング、セミカルバジド、アゾジカルボンアミド、ヒドラゾジカルボンアミド
bottled food, sealing gasket, semicarbazide, azodicarbonamide, hydrazodicarbonamide

I 緒言

欧州においてベビーフードを中心とした瓶詰食品中のセミカルバジド (SEM) 含有量の調査が行われた結果、385検体のベビーフードから平均13 $\mu\text{g/kg}$ (ND~140 $\mu\text{g/kg}$)、121検体のその他の食品から平均1.0 $\mu\text{g/kg}$ のSEMが検出された¹⁾。これは金属蓋に装着されているシーリング材に添加された発泡剤アゾジカルボンアミド (ADC) の分解物であった¹⁾。ADCは加熱されると N_2 や CO_2 ガスを発生しながら熱分解

し、ヒドラゾジカルボンアミド (HDC) を経てSEMを生成する (Fig. 1)。

SEMは雌マウスで弱い発がん性が認められたという報告がある²⁾。遺伝毒性については*in vitro*のいくつかの試験で弱い陽性結果が見られるものの³⁻⁵⁾、複数の*in vivo*試験で陰性であり、現時点では*in vivo*において遺伝毒性を有することを示唆する報告はない⁶⁾。SEMの親化合物であるADCは、げっ歯類への経口投与において速やかにHDCへと代謝され、尿中へと排泄される。ADCおよびHDCともに経口投与で急性毒

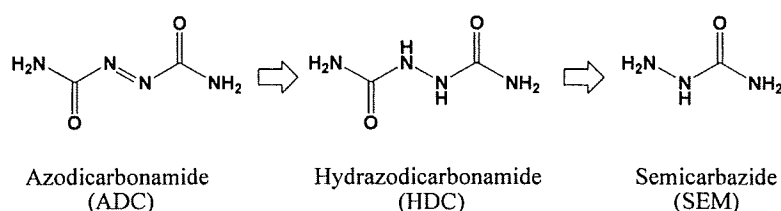


Fig. 1. Chemical structure of azodicarbonamide, hydrazodicarbonamide and semicarbazide

連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1 国立医薬品食品衛生研究所 六鹿元雄

Corresponding author: Motoh Mutsuga, National Institute of Health Sciences
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

性は低いことが報告されている⁷⁾。

欧州連合 (EU) では瓶詰の乳児用ミルクやベビーフードを日常的に摂取する乳児で暴露量が最も高いと考えられることや科学的に不確かな部分があることを考慮し、予防的措置として指令2004/1/ECにより食品と接触する物質へのADCの使用を禁止した⁸⁾。その後、2005年7月 欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority, EFSA) の食品添加物・香料・加工助剤および食品と接触する物質に関する科学 (AFC) パネルは、SEMが動物で発がんを誘発する用量と乳児を含むヒトでの暴露量との間には少なくとも5桁以上の差があるので、食品中に検出されるSEMによるヒトの健康影響は小さいと発表した⁶⁾。しかし、詳細な毒性データが不足していることから、現在のところEC指令2004/1/ECの修正は出されていない。我が国では、2007年に食品安全委員会においてEFSAのデータを基にSEMの健康影響評価を行い、食品中の含有量、暴露量がEFSAで検討されているものと同程度であれば、リスクは小さいと結論した⁹⁾。

しかし、我が国で市販されている瓶詰食品のSEM含有量を測定した報告はほとんどない。また、キャップシーリング中のSEMの分析法やその含有量に関する報告も少ない。キャップシーリング中の分析法についてはStadlerらによりSEMを誘導体化することなく抽出液を直接液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) に導入して、測定する方法が報告されており¹⁰⁾、また、含有量についてはBounaらおよびStadlerらにより、未使用のキャップシーリングからSEMが検出されたことが報告されている^{1,10)}のみでまだ十分な検討がなされていない。また、キャップシーリング中に残存するADC量や、SEMと同じくADCの分解物であるHDCの含有量についての報告はない。

本研究では、キャップシーリング中のSEM、HDCおよびADCの測定方法の検討を行い、国内で流通する瓶詰食品のキャップシーリング中のこれらの含有量を測定した。

II 実験方法

1. 試料

主に2004年に東京都内で購入した各種瓶詰食品の金属キャップのシーリング部分92検体

2. 試薬

SEM塩酸塩:98.5%以上、HDC:ピウレア 98%以上、ADC:95%以上 東京化成工業(株)製

メタノール:HPLC用 Merck社製

水:Milli-Q SP (ミリポア社製) により精製した超純水

SEM標準溶液:SEM塩酸塩 147 mgを水に溶解し100 mLとしたSEM標準原液 (1000 $\mu\text{g/mL}$) を水で0.01~0.5 $\mu\text{g/mL}$ に希釈した。

HDC標準溶液、ADC標準溶液:HDCまたはADC 100 mgに水を約190 mL加え、熱湯中で加温し完全に溶解させ、冷後、

水を加えて200 mLとした標準原液 (500 $\mu\text{g/mL}$) を水で0.1~2.0 $\mu\text{g/mL}$ に希釈した。

3. 装置

LC/MS:Series 1100、Agilent社製

4. LC/MS測定条件

カラム:Discovery HS F5 (150 mm \times 2.1 mm, 3 μm) SUPELCO社製、カラム温度:40 $^{\circ}\text{C}$ 、移動相: CH_3CN -0.02%酢酸 (1:1)、流速:0.25 mL/min、注入量:20 μL 、フラグメンター電圧:ESI (+) 30 V、測定モード:SIM、定量用イオン: m/z 76 (SEM) m/z 119 (HDC) m/z 139 (ADC)

5. 試験溶液の調製

細切した試料50 mgを遠沈管にとり、これに水1 mLを加えて遮光下で40 $^{\circ}\text{C}$ および80 $^{\circ}\text{C}$ で一晩静置し、冷後、抽出液を採取して試験溶液とした。40 $^{\circ}\text{C}$ で抽出した試験溶液を用いてSEM、80 $^{\circ}\text{C}$ で抽出した試験溶液を用いてHDCをLC/MSで測定した。ただし、試験溶液の調製法の検討時は各種温度で抽出した。定量はSEM標準溶液およびHDC標準溶液を用いた絶対検量線法により行った。

III 結果および考察

1. SEMおよびHDC分析法の検討

1) LC/MS測定条件の検討

一般的な食品中のSEMの測定は、2-ニトロベンズアルデヒドによって誘導体化を行ったのち、固相抽出カラムで精製し、LC/MS/MSで分析する方法¹¹⁾である。欧州における瓶詰食品中のSEM含有量の調査でも使用されており、Bounaら¹⁾はこの方法を用いてキャップシーリングも分析している。しかし、この方法ではSEMの親化合物であるHDCやADCは誘導体化されず測定できない。そこで、キャップシーリングに含有されるHDCやADCも同時に測定できるStadlerらのLC/MSによる分析法¹⁰⁾を検討した。

Stadlerらと同様のLC/MS条件で分析を行ったところ、Fig. 2に示すようにSEMは4.1分に $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ 76のピーク、HDCは1.7分に $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ 119および m/z 76のピークを示した。しかし、ADCは1.8分に $[\text{M}+\text{Na}]^+ m/z$ 139のピークが見られたが、 m/z 76において1.7分にピークがみられたことから、ADC標準溶液は分解生成物であるHDCを含有しており、 m/z 119ではADCとHDCのピークが重なってブロードなピークを示したと判断された。また、 m/z 76では2.7分と3.2分に分解物と思われるピークも見られた。ADCは水溶液の状態では非常に不安定であり、標準溶液でも分解により生成したHDCが混在しているためであった。そのためADCを精度よく定量することは困難と考えられた。本測定条件において、検量線はHDCは0.1~5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、SEMは0.005~0.5 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性があり、定量下限はHDC 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、SEM 0.005 $\mu\text{g/mL}$ であった。

2) 抽出条件の検討

抽出溶媒の検討のため、SEMおよびHDC含有試料50 mgに水、メタノールまたはその混液1 mLを加え40℃で一晩放置し、抽出量を比較したところSEMは水、HDCは水-メタノール(3:1)混液、次いで水で最も多かった(Fig. 3)。また、きょう雑物も少なかったことから、抽出溶媒として水を用いることとした。

また、抽出時の安定性を確認するため、SEM、HDCおよびADC水溶液(各0.067、4.6および0.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を40、60、80および95℃で16時間静置したのち測定した(Fig. 4)。SEMは40℃ではほとんど分解は起こらなかったが、温度の上昇とともに分解が進み、95℃では残存率は18%であった。一方、HDCは60℃までは全量が残存しており安定であったが、80℃で94%、95℃で73%と減少が見られた。またHDCの減少に伴いSEMが検出されたが、SEM自身の分解のため実際に生成したSEM量よりも少なかった。ADCは最も不安定で40℃ではほぼ全量が残存していたが、それより高温では分解が進み、80℃ではほぼ分解していた。その減少に伴いHDCが増加したが、95℃では分解が上回り、SEMも検出された。このようにADCは極めて不安定であるが、SEMは40~60℃程度、HDCは80℃までかなり安定であることが判明した。

次にSEMおよびHDC含有の2種類のキャップシーリング

を用いて、抽出温度による各化合物の抽出量を比較した(Fig. 5)。その結果、HDCは80℃で最も高かった。HDCは低温では水に溶解しにくいいため、温度とともに溶解性および抽出率が上昇し、95℃では分解のため減少すると推定された。一方、SEMは常温でも容易に溶解することから、40℃で試料中の大部分のSEMが抽出されたと考えられる。しかし、温度が上昇すると分解が進み60℃では減少した。さらに80℃および95℃ではHDCの抽出量が極めて高くその一部が分解するため、SEMは増加を示したと推定される。そのため、SEMはもともと試料に残留していた量に相当すると考えられる40℃、HDCは溶解性の増加により抽出量が最も高くなる80℃で抽出することとした。

ADCを高濃度含有する試料が見いだせず同様の検討は行えなかったが、ADCは40℃の水には溶解せず、80℃では分解してしまうことから、シーリング中のADCを分析することは困難であると判断した。ただし、80℃の抽出条件ではADCは分解してHDCを生成することから、ADCがシーリング中に大量に残存していた場合はHDCとして測定できるものと考えられた。

SEMおよびHDCを含有しないシーリング50 mgにSEM 1.0 $\mu\text{g}/\text{g}$ またはHDC 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ を添加し、添加回収試験を行ったところ、回収率はSEM 91.0 \pm 3.6%、HDC 91.2 \pm 2.9% (n=4) と良好で、定量下限はSEM 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、HDC 2.0 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

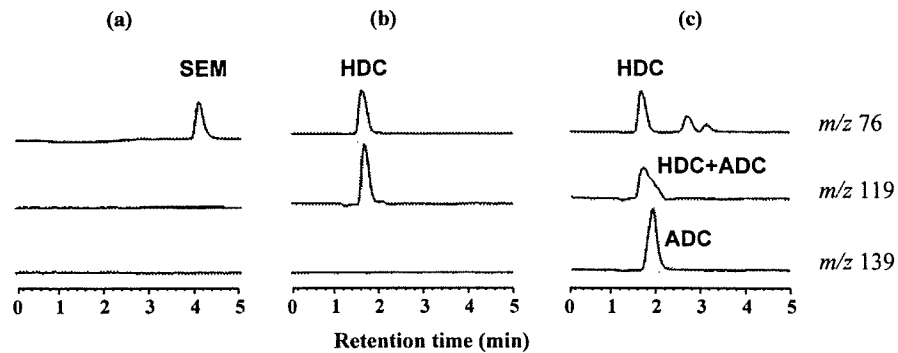


Fig. 2. LC/MS chromatograms of each standard solution

(a): SEM 0.067 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (b): HDC 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (c): ADC 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$

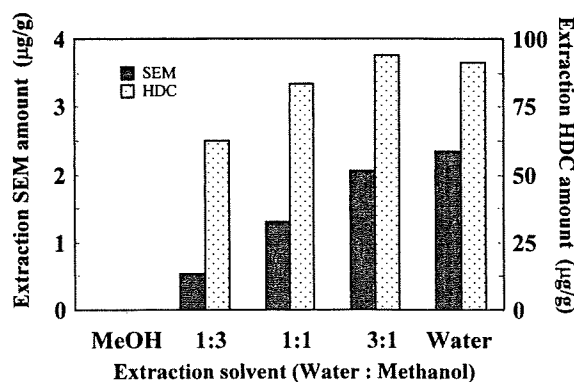


Fig. 3. Extraction amount of SEM and HDC with water-methanol solvent

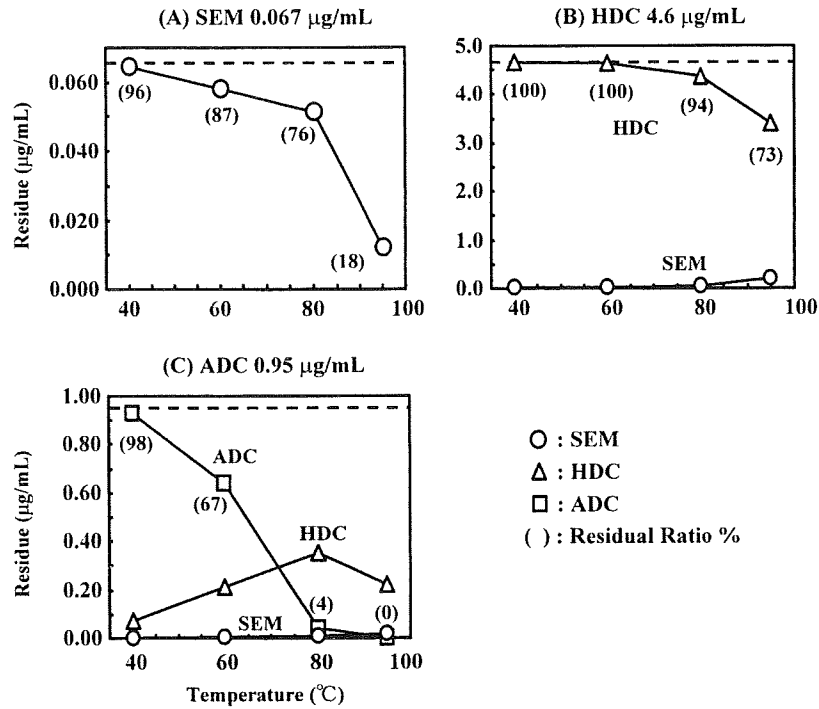


Fig. 4. Stabilities of SEM, HDC and ADC at each temperature

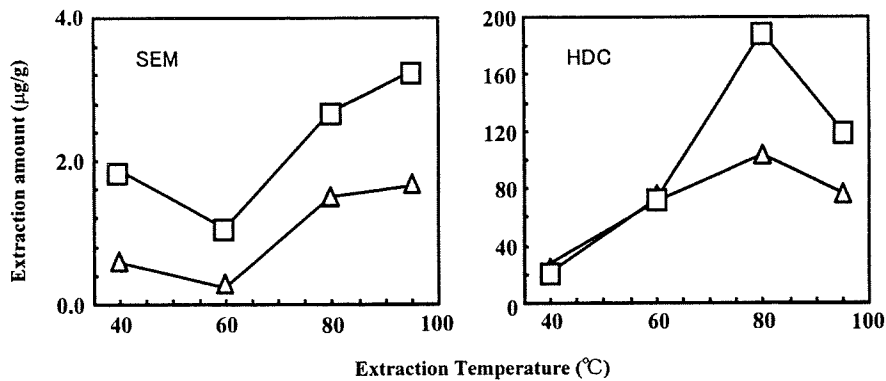


Fig. 5. Extraction amount of SEM and HDC from gasket at each temperature

□:sample 1, △:sample 2

2. 市販瓶詰食品のキャップシーリング中のSEMおよびHDC含有量

市販瓶詰食品のキャップシーリング92検体についてSEMおよびHDCを測定したところ、SEMは55検体から0.1~2.3 µg/g (0.9 ± 0.6 µg/g)、HDCは58検体から5.6~269 µg/g (113 ± 73 µg/g) 検出された。このうち53検体は両方が検出されている。また、32検体からはいずれも検出されなかった (Table 1)。

キャップの種類とシーリング断面の気泡の有無によって分類したところ、プレスオンツイスト (PT) キャップのシーリングは全検体に発泡がみられ、そのすべてからSEMおよびHDCの両方が検出された。スクリーキャップは気泡が見られなかった1検体を除き、すべてからHDCが検出され、SEMも22検体中20検体から検出された。一方、ラグキャップでは46検体中、気泡が見られたのは12検体のみであったが、気泡が見られたすべての検体からSEMおよびHDCの両方

たはいずれかが検出された。スクリーキャップのシーリングは気泡が大きく、PTキャップやラグキャップのシーリングは気泡が細かった。

気泡が確認できなかった35検体のうち34検体はラグキャップであり、ラグキャップ全体の2/3に相当する。32検体でSEM、HDCともに検出されなかったが、SEMまたはHDCが検出されたものが3検体存在した。

SEMおよびHDCの含有量は製品毎にばらつきが大きかったが、平均値ではスクリーキャップが0.8および143.5 µg/gと高く、次いでPTキャップで1.0および103.9 µg/g、ラグキャップでは気泡の形状はPTキャップと同様であったが0.4および58.6 µg/gと1/2程度であった。

このように気泡が確認されたシーリングでは、そのすべてからSEMまたはHDCのいずれかが検出され、HDCやSEMが発泡剤ADCに由来することが強く示唆された。

Table 1. Contents of SEM and HDC in sealing gaskets

	Foamed	Detected	Content ($\mu\text{g/g}$)	
			Range	Ave \pm SD
PT cap (23)	+	SEM 23	0.3-2.2	1.0 \pm 0.5
		HDC 23	36.4-231.3	103.9 \pm 61.3
	-	0		
Screw cap (23)	+	SEM 20	0.1-2.3	0.8 \pm 0.7
		HDC 22	14.4-268.8	143.5 \pm 86.7
	-	1	SEM 0 HDC 0	
Lug cap (46)	+	SEM 11	0.1-1.0	0.4 \pm 0.3
		HDC 10	5.6-198.1	58.6 \pm 71.9
	-	34	SEM 1 HDC 3	0.5 50.0-61.6

Foamed : Existence of the air bubbles of the surface or cut surface

Detected : number of samples detected SEM or HDC

PT : press-on twist-off

IV 結論

キャップシーリング中のSEMおよびHDCの分析法を検討し、本法を用いて我が国で流通する瓶詰食品のシーリング中の含有量を測定した。ADCは抽出時に分解することから直接測定することは不可能であったが、大量に存在した場合には分解物のHDCとして測定される。

我が国で流通する瓶詰食品のキャップシーリングを分析したところ、SEM含有量はND~2.3 $\mu\text{g/g}$ 、HDC含有量はND~268.8 $\mu\text{g/g}$ であった。シーリングの約2/3からSEMまたはHDCが検出された。それらの検出はシーリングの発泡とほぼ一致し、国内で流通している瓶詰食品のキャップシーリングには発泡剤としてADCが汎用されていることが確認された。

今回検出されたSEM量はBounaら (1-7 $\mu\text{g/g}$)、Stadlerら (0.002-8.7 $\mu\text{g/g}$) の報告と比べてやや少ない量であったが、これは本報では実際に瓶詰食品に使用されていたキャップシーリングを測定したためと考えられた。

一方、SEMの親化合物であるADCやHDCについての報告はこれまでになく、今回の結果から、キャップシーリング中にはSEMの約100倍量ものHDCが存在していることが示された。HDCは容易に分解してSEMになることから、シーリングからの食品への移行を検討する際には、シーリング中のSEM量だけでなく、HDC量についても考慮する必要がある。

V 参考文献

- 1) Bouna, K., Vries, J., :Report nr. ND03V003/03 (2003).
- 2) Toth, B., Shimizu, H., and Erickson, J., :Carbamylhydrazine hydrochloride as a lung and blood vessel tumour inducer in Swiss mice. *Eur. J. Cancer*, 11, 17-22 (1975).
- 3) Parodi, S., Flora, S., D., Cavanna, M., Pino, A., Robbiano, L., Bennicelli, C., Brambilla, G., :DNA-damaging activity

in vivo and bacterial mutagenicity of sixteen hydrazine derivatives as related quantitatively to their carcinogenicity. *Cancer Research*, 41, 1469-1481 (1981).

- 4) Hayatsu, H., Yakeishi, K.I., Ukita, T., :Modification of nucleosides and nucleotide. III. A selective modification of cytidine with semicarbazide. *Biochemica Biophysica Acta* 123, 445-457 (1966).
- 5) Hayatsu, H., Ukita, T., :Modification of nucleosides and nucleotide. IV. Reaction of semicarbazide with nucleic acids. *Biochemica Biophysica Acta*, 123, 458-470 (1966).
- 6) EFSA, Opinion of the AFC Panel related to Semicarbazide in food, (2005).
- 7) WHO, Concise International Chemical Assessment Document 16, Azodicarbonamide, (1999).
- 8) COMMISSION DIRECTIVE 2004/1/EC, :amending Directive 2002/72/EC as regards the suspension of the use of azodicarbonamide as blowing agent (2004).
- 9) 食品安全委員会“ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン)の食品健康影響評価について”動物用医薬品評価書 (2007).
- 10) Stadler, R. H., Mottier, P., Guy, P., Lalljie, S., Whitaker, R., Kintsher, J., Dudler, V., Read, W. A., Castle, L., :Semicarbazide is a minor thermal decomposition product of azodicarbonamide used in the gaskets of certain food jars. *Analyst*, 129, 276-281 (2004).
- 11) Souza, V.C., S., Junqueira, R.G., Ginn, R., :Analysis of semicarbazide in baby food by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS-MS)-In-house method validation. *J. Chromatogr. A*, 1077, 151-158 (2005).

瓶詰食品中のセミカルバジドの分析

六鹿元雄、山口未来、河村葉子、棚元憲一

日本食品化学学会誌 15巻2号 別刷 (2008)

瓶詰食品中のセミカルバジドの分析

(2008年4月4日受付)

(2008年5月16日受理)

六鹿元雄、山口未来、河村葉子、棚元憲一

国立医薬品食品衛生研究所

Study on semicarbazide in the glass bottled foods

(Received April 4, 2008)

(Accepted May 16, 2008)

Motoh Mutsuga, Miku Yamaguchi, Yoko Kawamura, Kenichi Tanamoto

National Institute of Health Sciences

Abstract

In Europe, semicarbazide (SEM) was detected from bottled baby foods. SEM is a thermal degradation product of azodicarbonamide which is a foaming agent for plastic gaskets on metal lids. In this paper, a determination method of SEM by the incremental standard addition technique was established. And SEM in 64 of bottled foods marketed in Japan were surveyed. In the bottled baby food, SEM was detected 5.7-46.7 $\mu\text{g/g}$ in 9 samples, and not detected in 2 samples. This contamination level is almost the same as that of the investigation in EU. In the general bottled food, SEM was detected 0.6-45.2 $\mu\text{g/g}$ in 23 samples, and not detected in 30 samples. This level was slightly higher compared with that of EU. In all the bottled foods containing SEM, SEM or hydrazodicarbonamide was detected also from their sealing gasket. These results indicate that SEM detected from bottled food is degradation product of ADC added to the sealing gasket.

Keywords : 瓶詰食品、キャップシーリング、セミカルバジド、アゾジカルボンアミド、ヒドラゾジカルボンアミド bottled food, sealing gasket, semicarbazide, azodicarbonamide, hydrazodicarbonamide

I 緒言

欧州において、動物用医薬品ニトロフラゾンの指標としてその分解物であるセミカルバジド(SEM)の食品中における存在について測定を行ったところ、ベビーフードから検出されたため問題となった。その後、ベビーフード中のSEMはニトロフラゾン由来ではなく、瓶詰キャップのシーリングに添加された発泡剤アゾジカルボンアミド(ADC)が分解して生成したものであることが判明した¹⁾。ADCは加熱されると窒素や二酸化炭素を発生しながら熱分解し、ヒドラゾジカルボンアミド(HDC)を経てSEMを生成する。

しかし、SEM自体の安全性が疑われたことから、欧州においてベビーフードを中心とした瓶詰食品中のSEM含有量の調査が行われた。その結果、ベビーフード385検体中のSEM量はND~87 $\mu\text{g/kg}$ (平均13 $\mu\text{g/kg}$)、その他の一般の瓶詰食品121検体では平均1.0 $\mu\text{g/kg}$ のSEMが検出されている²⁾。欧州委員会では、SEMの暴露源としてキャップシーリングに使用されたADCに由来するものが飛び抜けて大きく、瓶

詰の乳児用ミルクやベビーフードを日常的に摂取する乳児で暴露量が最も高いと考えられることを考慮し、予防的措置として指令2004/1/ECにより食品と接触する物質へのADCの使用を禁止した³⁾。その後、2005年7月EFSAのAFC(食品添加物・香料・加工助剤および食品と接触する物質に関する科学)パネルは、SEMが動物で発がんを誘発する用量と乳児を含むヒトでの暴露量との間には少なくとも5桁以上の差があるので、食品中のSEMによるリスクは小さいと発表した²⁾。しかし、詳細な毒性データが不足していることから、現在のところ指令2004/1/ECの修正は出されていない。また、我が国では、2007年に食品安全委員会においてEFSAのデータを基にSEMの健康影響評価を行い、食品中の含有量、暴露量がEFSAで検討されているものと同程度であれば、リスクは小さいと結論した⁴⁾。

我々は前報⁵⁾において、我が国で流通する瓶詰食品キャップシーリング中のSEM及びHDCの含有量を調査し、2/3の検体からSEMとHDCの両方またはいずれかが検出されることを報告した。すなわち、国内で流通しているシーリングに発

連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1 国立医薬品食品衛生研究所 六鹿元雄

Corresponding author: Motoh Mutsuga, National Institute of Health Sciences
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

泡剤としてADCが汎用されていることが明らかとなり、SEMの食品への移行が懸念された。しかし、これまで我が国で市販されている瓶詰食品のSEM含有量を測定した報告はほとんどない。本研究では、我が国で流通する瓶詰食品中のSEM含有量およびそれらのキャップシーリング中のSEM及びHDC含有量について検討した。

II 実験方法

1. 試料

2005～2006年に都内で購入した瓶詰食品64検体(ベビーフード 11検体、一般食品 53検体)

レトルトベビーフード2検体:分析法検討用のSEMを含まないもの

2. 試薬

SEM 塩酸塩:98.5%以上、HDC:ビウレア 98%以上、2-ニトロベンズアルデヒド(2-NBA):99%以上 以上は東京化成工業(株)製

塩酸:精密分析用、リン酸水素二カリウム、酢酸エチル:残留農薬分析用 以上はシグマアルドリッチジャパン社製

水酸化ナトリウム:東京応化工業(株)製

メタノール:HPLC用 Merck社製

水:Milli-Q SP(ミリポア社製)により精製した超純水

OASIS HLB:6cc(200 mg) Waters社製

SEM標準溶液:SEM塩酸塩 147 mgを水に溶解し100 mLとしたSEM標準原液(1000 µg/mL)を水で0.01～0.5 µg/mLに希釈した。

HDC標準溶液、ADC標準溶液:HDCまたはADC 100 mgに水を約190 mL加え、熱湯中で加温し完全に溶解させ、冷後、水を加えて200 mLとした標準原液(500 µg/mL)を水で0.1～2.0 µg/mLに希釈した。

3. 装置

ホモジナイザー:POLYTRON Kinematica AG社製

液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC/MS/MS):Alliance 2695, micromass Quattro micro Waters社製

液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS):Series 1100 Agilent社製

4. 測定条件

1) LC/MS/MS条件

カラム:Symmetry C18(150 mm×2.1 mm, 3 µm) Waters社製

カラム温度:40℃、流速:0.2 mL/min、注入量:50 µL

移動相:5 mM ギ酸アンモニウム-メタノール 80:20から5:95まで7分間の直線グラジェント、その後2分間保持

キャピラリー電圧:3 kV、コーン電圧:20 V

コリジョンエネルギー:8 eV、イオン化法:ESI(+)

測定モード:MRM、定量イオン: m/z 209→166、確認イオ

ン: m/z 209→192

2) LC/MS条件

カラム:Discovery HS F5(150 mm×2.1 mm, 3 µm SUPELCO社製)

カラム温度:40℃、流速:0.25 mL/min、注入量:20 µL

移動相:アセトニトリル-0.02% 酢酸(1:1)

フラグメンター電圧:ESI(+) 30 V、測定モード:SIM

定量用イオン: m/z 76(SEM)、119(HDC)

5. 試験方法

1) 食品

ホモジナイズした試料 各2 gを精秤して50 mL容遠沈管3本にとり、そのうちの2本にそれぞれ0.01 µg/mLのSEM標準溶液を60または120 µL(30および60 µg/kg食品相当)加えた。これら3本に0.2 mol/L塩酸10 mLと10 mg/mL 2-NBA/メタノールを240 µL加えた後、40℃で一晩振とうした。0.2 mol/Lリン酸水素二カリウム 10 mLを加えてかくはん後、2 mol/L水酸化ナトリウム 800 µLを加えて30秒間かくはんし、3,900×gで15分間遠心分離を行い、上清を減圧下でろ紙ろ過した。このろ液をあらかじめ酢酸エチル、メタノール、水各5 mLでコンディショニングしたOASIS HLBに負荷し、水5 mLで洗浄して2分間通風乾燥した後、酢酸エチル 3 mLで溶出した。溶出液を減圧遠心濃縮器で約100 µL以下まで濃縮後、水-メタノール(1:1)を加えて1 mLとした。フィルターろ過した後試験溶液としLC/MS/MSで測定し、ピーク面積による標準添加法でSEM含有量を定量した。

2) キャップシーリング

細切した試料50 mgを10 mL容遠沈管にとり、これに水1 mLを加え、遮光下でSEM測定用は40℃、HDC測定用は80℃で一晩静置した。冷後、抽出液を採取して試験溶液とし、SEMおよびHDCをLC/MSで測定した。SEM標準溶液0.01～0.50 µg/mLおよびHDC標準溶液0.1～2.0 µg/mLを用い、ピーク面積による絶対検量線法で定量を行った。

III 実験結果および考察

1. 食品中のSEM測定法の検討

SEMはLCカラムに保持されにくいいため、SEMのまま食品成分と分離して測定することは困難である。そこで、欧州の調査で用いられたSEMを2-NBAで誘導体化した後、誘導体を固相抽出カラムで精製し、LC/MS/MSで測定するSouzらの方法⁶⁾を検討した。LC/MS/MS測定条件、誘導体化条件および固相抽出カラムでの精製方法はSouzらと同様とした。この時のSEM誘導体の保持時間は8.2分、標準溶液における定量下限は0.01 µg/mLであった(Fig. 1)。

しかし、この方法で添加回収試験を試みたところ回収率が極めて低く、食品成分共存下ではSEM誘導体化が阻害されることが示唆された。そこで、SEMを含まない2種のレトルトベビーフードと水にSEMを0、13.5、27.0、40.5 µg/kg添加

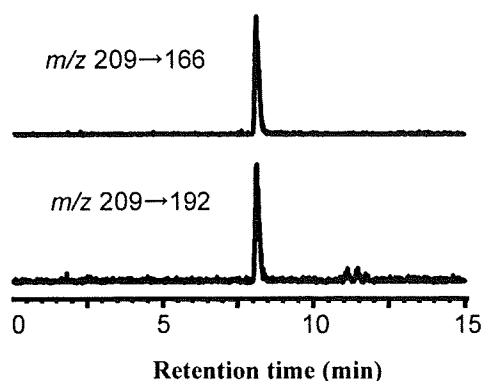


Fig. 1. LC/MS/MS chromatograms of SEM derivative

して誘導体化を行ったところ、Fig. 2に示すように水と比べてレトルトベビーフード1(和風あんかけ)では約17%、レトルトベビーフード2(チキンソテー)では約12%のピーク強度しか得られず、食品成分共存下では誘導体化が阻害されることが確認された。しかし、添加量とピーク面積値に直線性があり、再現性も良好であったことから標準添加法により測定することとした。

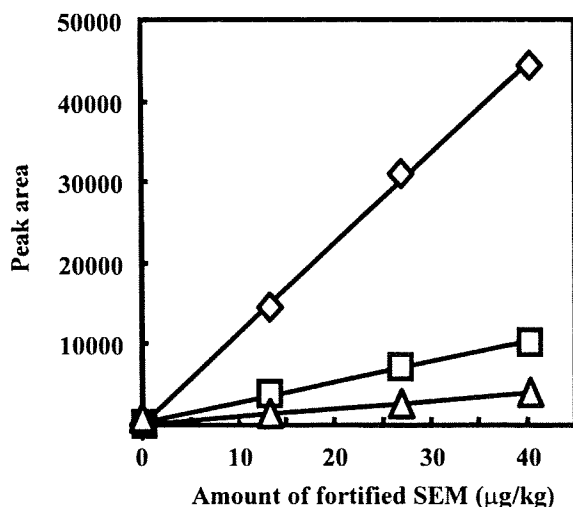


Fig. 2. Standard addition curve of SEM

◇: Water, □: Retort baby food 1, △: Retort baby food 2

水およびレトルトベビーフード2検体に13.5 μg/kgのSEM標準品を添加し、添加回収試験を行ったところ、Table 1に示すように回収率は92.3~95.3%と良好であった。また、本法における定量下限は試料kgあたり0.5 μgであった。

Table 1. Recoveries of SEM spiked in water or retort foods

	Recovery (%)
Water	92.3±3.0
Retort baby food 1	93.7±0.2
Retort baby food 2	95.3±1.8

Each value is the mean ± SD of 3 trials.
SEM (27 ng) were spiked in 2 g of water or retort foods.

2. 瓶詰食品中のSEMおよびシーリング中のSEMおよびHDC含有量

1) ベビーフード

まず、欧州で問題となったベビーフードについて、我が国で市販されている11検体の食品中のSEM含有量並びにシーリング中のSEMおよびHDC含有量を調査した(Table 2)。

その結果、ベビーフード9検体からSEMが検出され、その含有量は5.7~46.7 μg/kgであった。また、ベビーフード11検体の平均含有量は20.4 μg/kgであった。今回、我が国の市販ベビーフードから検出されたSEM含有量は、欧州の調査結果とほぼ同程度であることが示された。

SEMが食品から検出された9検体は、いずれもシーリングからSEMおよびHDCが検出され、シーリングへのADCの使用が確認された。一方、SEMが食品から検出されなかった2検体では、シーリングにおいてもSEM、HDCともに検出されずADC不使用であった。前者はいずれもプレスオンツイストオフ(PT)キャップであり、後者はラグキャップであった。前報⁵⁾のキャップシーリングの調査において、PTキャップは23検体すべてからSEMまたはHDCが検出されたが、ラグキャップでは46検体中15検体のみでADCの使用頻度が低かった。今回の結果はそれとよく合致していた。

2) 低脂肪食品

ベビーフード以外の一般食品のうち、脂肪含有量が低いきの加工品(なめ茸3検体)、のり加工品(のり佃煮4検体)、野菜類加工品(メンマ3検体、ピクルス3検体、ニンニク2検体、福神漬2検体、もみじおろし2検体、とうがらし、アスパラガス、野菜ディップ、ケーパーズ各1検体)、果実類加工品(ジャム5検体、栗甘露煮2検体、梅肉2検体、柚子1検体)、魚加工品(鮭フレーク2検体)について食品中のSEM量を測定した。

Table 3に示すように、35検体中13検体の食品から1.4~21.3 μg/kg(平均6.6 μg/kg)のSEMが検出された。検出されなかったものを含めると、低脂肪食品全体の平均値は2.5 μg/kgとなった。欧州での調査結果と比べるとやや高かったが、これは我が国の製品が海外のものに比べて小容量の瓶が多く、容量に対するシーリングの比率が大きいため移行濃度が高くなることも一因と考えられた。

さらに、食品中からSEMが検出された13検体の瓶詰では、いずれもシーリングからSEMまたはHDCが検出され、ADCの使用が確認された。一方、食品からSEMが検出されなかった10検体中6検体では、シーリングにおいてもSEM、HDCともに検出されずADC不使用であった。しかし、残りの4検体ではシーリングからSEMまたはHDCが検出されており、食品への移行量が少なかったか、移行後にSEMが分解したために検出されなかったものと考えられた。

3) 高脂肪食品

瓶詰食品のうち、脂肪含有量が高い調味料(調味味噌類9検体、ラー油、パスタソース、ピザソース、マスタード各1検体)およびブレッドスプレッド(黒ごまクリーム2検体、レバーペースト、ピーナッツバター、バター各1検体)のSEM量

Table 2. SEM contents in bottled baby food and their sealing gasket

Sample Number	Content	Manufacture	Cap type	Food	Sealing gasket	
				SEM ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ^{*1}	SEM ($\mu\text{g}/\text{g}$) ^{*2}	HDC ($\mu\text{g}/\text{g}$) ^{*2}
1	Cheese-gratin	A	PT	29.7	2.2	47
2	Boiled vegetable and liver		PT	29.3	1.5	46
3	Kentin-udon		PT	26.2	1.6	177
4	Strained apple		PT	16.9	1.7	27
5	Boiled potato and fish		PT	5.7	0.8	65
Average \pm SD				21.6 \pm 10.3	1.6 \pm 0.5	72 \pm 60
6	Simmered meat and potatoes	B	PT	46.7	0.5	101
7	Doria with flatfish		PT	35.9	0.5	94
8	Strained squash		PT	27.2	1.7	72
9	Strained apple		PT	6.4	0.3	51
Average \pm SD				29.1 \pm 17.1	0.8 \pm 0.6	80 \pm 23
10	Mixed vegetables	C	Lug	ND	ND	ND
11	Gruel with vegetable		Lug	ND	ND	ND
Total	Average \pm SD			20.4 \pm 15.6	1.0 \pm 0.8	62 \pm 50

*1 : ND<0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *2 : SEM:ND<0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$, HDC:ND<2 $\mu\text{g}/\text{g}$

Table 3. SEM contents in bottled low fat food and their sealing gasket

Sample Number	Content	Cap type	Food	Sealing gasket		
			SEM ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ^{*1}	SEM ($\mu\text{g}/\text{g}$) ^{*2}	HDC ($\mu\text{g}/\text{g}$) ^{*2}	
Mushrooms	1 Seasoned mushroom	Screw	21.3	2.3	41	
	2 Seasoned mushroom	Screw	13.0	1.6	ND	
	3 Seasoned mushroom	Screw	7.6	0.7	56	
Seaweeds	1 Boiled seaweed in soy sauce	Screw	9.5	1.3	60	
	2 Boiled seaweed in soy sauce	PT	4.7	0.5	31	
	3 Boiled seaweed in soy sauce	PT	1.8	ND	30	
	4 Boiled seaweed in soy sauce	Screw	ND	1.7	33	
Vegetables	1 Pickled garlic in soy sauce	Screw	8.1	1.2	47	
	2 Chili pepper powder	Lug	6.5	0.2	32	
	3 Pickled vegetables (Fukujin-duke)	PT	2.4	0.9	154	
	4 Pickled shallot	PT	1.7	0.5	19	
	5 Pickled vegetables (Fukujin-duke)	PT	1.4	0.2	10	
	6 Pickled cucumber	Lug	ND	ND	21	
	7 Pickled cucumber	Lug	ND	ND	3	
	8-10 Miscellaneous	PT	ND	ND	ND	
	11-16 Miscellaneous	Lug	ND	ND	ND	
	Fruits	1 Sweet-boiled chestnut	Screw	5.7	2.0	20
2 Pickled plum		Screw	2.1	0.4	47	
3 Yuzu pepper		Screw	ND	4.6	73	
4-8 Miscellaneous		PT	ND	ND	ND	
9-10 Miscellaneous		Lug	ND	ND	ND	
Fish	1 Salmon flake	PT	ND	ND	ND	
	2 Salmon flake	Lug	ND	ND	ND	
Total				2.5 \pm 4.7	0.5 \pm 1.0	19 \pm 32

*1 : ND<0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *2 : SEM:ND<0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$, HDC:ND<2 $\mu\text{g}/\text{g}$

を測定した。

Table 4に示すように、18検体中10検体から0.6~45.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (平均14.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$)のSEMが検出された。検出されなかったものを含めると高脂肪食品全体の平均値は7.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であり、高脂肪食品では低脂肪食品と比べ、食品中のSEM含有量が高いものが多かった。

食品からSEMが検出された10検体では、いずれもシーリングからSEMまたはHDCが検出されADCの使用が確認された。シーリング中のSEMおよびHDC平均含有量は低脂肪食品のもの比べて高く、ベビーフードと同程度であった。高脂肪食品やベビーフードでは、食品が劣化しやすいため密封性を上げる必要があり、ADCを添加して発泡させた

Table 4. SEM contents in bottled high fat food and their sealing gasket

Sample Number	Content	Cap type	Food			
			SEM ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* ¹	SEM ($\mu\text{g}/\text{g}$)* ²	HDC ($\mu\text{g}/\text{g}$)* ²	
Seasonings	1	Bibimbap source	Screw	45.2	1.3	400
	2	Hot sesame oil	PT	15.1	ND	2
	3	XO-jan	Screw	11.2	1.3	122
	4	Touban-jan	Lug	6.2	2.0	24
	5	Kochi-jan	Screw	0.6	ND	46
	6	Touban-jan	Screw	ND	0.8	92
	7-10	Miscellaneous	PT	ND	ND	ND
11-13	Miscellaneous	Lug	ND	ND	ND	
Bread spreads	1	Chicken lever paste	PT	40.5	2.4	49
	2	Black sesame cream	Screw	19.2	ND	25
	3	Peanut butter	Screw	2.2	0.3	169
	4	Butter	Screw	1.4	1.7	131
	5	Black sesame cream	Screw	1.0	4.6	309
Total				7.9 \pm 14.0	0.8 \pm 1.3	76 \pm 115

*1 : ND<0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *2 : SEM:ND<0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$, HDC:ND<2 $\mu\text{g}/\text{g}$

シーリングの使用頻度が高く、しかも添加量も高いと考えられた。

高脂肪食品の方が低脂肪食品より高濃度のSEMを含有していたが、この原因としては、シーリング中のHDCやSEM含有量が高いこと、高脂肪食品は小容量の瓶が多いことや、SEMは水溶液中では加熱により容易に分解するが脂肪性食品では分解しにくいことなどが考えられる。

3. 瓶詰食品中のSEMとキャップシーリングの関連

瓶詰食品中のSEM含有量とキャップシーリング中のSEMおよびHDCの含有量の関連をまとめた (Table 5)。シーリングからSEMまたはHDCが検出されたADC使用の37検体では、そのうち32検体、86%で食品からSEMが検出された。一方、シーリングでSEM、HDCともに不検出、すなわちADC不使用の27検体では、食品からSEMは検出されなかった。このことから、瓶詰食品中のSEMは、シーリングに発泡剤として添加されたADCの分解物であるSEMが食品に移行したものであることが確認された。

一方、SEMが検出されなかった検体を含む全検体を対象として、食品中のSEM量とシーリング中のSEM及びHDCの含有量の相関を調べたところ、それぞれ相関係数0.35および0.47とある程度の相関は見られたが、シーリング中の含有量から食品含有量が推定できるほど良好な相関はみられなかった (Fig. 3)。シーリングに添加されたADCは容易にHDCに分解するが、SEMまで分解するのは一部に過ぎず、シーリング中のSEMとHDCの存在量は15~500倍も異なる。一方、ADCやHDCからSEMへの分解は、キャップにシーリングを成形するときと食品充填後の滅菌の2度の加熱時に引き起こされると推定される。しかも、これらの加熱によってSEM自体もさらに分解する。そのため、それぞれの加熱時の温度や時間などの条件により、ADCやHDCからのSEMの生成量、およびSEMの分解量が異なる。さらに食品充填後のキャップの気密性や食品の種類によっても食品への移行量

Table 5. Sample number of SEM/HDC detected in food and sealing gasket

		SEM in food	
		+	-
SEM/HDC in sealing	+	32	5
	-	0	27

Each values are the number of samples.

+ : detected, - : not detected

は異なってくるものと考えられる。食品中のSEM含有量は、このように複雑な条件にコントロールされるため、必ずしもシーリング中のHDCやSEMの含有量に相関しないものと推測される。

IV 結論

我が国の市販瓶詰ベビーフードを調査したところ、11検体中9検体からSEMが検出され、平均含有量は20.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。ベビーフード中のSEM含有量は一般の食品と比べて、検出頻度も高く、含有量も高かったが、ヨーロッパの調査結果とほぼ同程度であった。食品安全委員会は我が国のベビーフードのSEM含有量がヨーロッパと同程度であるならば、リスクは小さいと結論している⁴⁾。今回得られた結果から、我が国のベビーフード中のSEM含有量はヨーロッパとほぼ同程度であることが確認され、我が国においても乳幼児のSEMによる曝露量は十分に低く、リスクはないと結論される。

ベビーフード以外の一般食品については、欧州の調査結

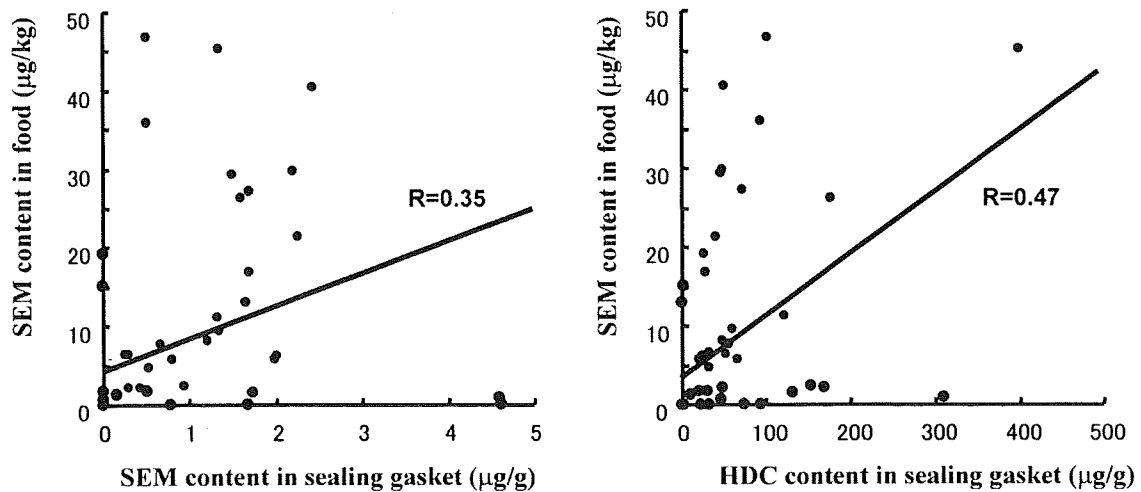


Fig. 3. Correlation of food SEM content with sealing gasket SEM or HDC content

果と比べてやや高かったが、我が国における瓶詰食品の消費量がそれほど高くないことを考えると欧州よりリスクが高いとは考えられない。一方、瓶詰食品からSEMが検出されたすべての検体ではシーリング中にSEMまたはHDCが検出され、シーリングにこれらを含みしないすべての瓶詰食品ではSEMが検出されなかったことから、瓶詰食品から検出されるSEMはシーリングの発泡剤であるADCに由来するものであることが結論された。

V 文献

- 1) Leitner, A., Zoellner, P., Lindner, W., :Determination of the metabolites of nitrofurant antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 939, 49-58 (2001).
- 2) EFSA, Opinion of the AFC Panel related to Semicarbazide in food, (2005).
- 3) COMMISSION DIRECTIVE 2004/1/EC, :amending Directive 2002/72/EC as regards the suspension of the use of azodicarbonamide as blowing agent (2004).
- 4) 食品安全委員会“ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン)の食品健康影響評価について”動物用医薬品評価書(2007).
- 5) Mutsuga, M., Kawamura, Y., Tanamoto, K., :Semicarbazide in the sealing gasket of bottled food. *Nippon Shokuhin Kagaku Gakkaishi (Jpn. J. Food Chem.)*, 15, 23-27 (2008).
- 6) Souza, V.C., S., Junqueira, R.G., Ginn R., :Analysis of semicarbazide in baby food by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS-MS)-In-house method validation. *J. Chromatogr. A*, 1077, 151-158 (2005).

玩具塗膜からのカドミウムおよび鉛の溶出試験

河村葉子 六鹿元雄 山内朋子 植田新二 棚元憲一

Migration Tests of Cadmium and Lead from Paint Film of Baby Toys

Yoko KAWAMURA^{1,*}, Motoh MUTSUGA¹, Tomoko YAMAUCHI²,
Shinji UEDA² and Kenichi TANAMOTO¹

¹National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; ²Tokyo Laboratory, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan: 1600 Shimotakano, Sugito-machi, Kitakatsushika-gun, Saitama 345-0043, Japan; * Corresponding author

(ノ - ト)

食品衛生学雑誌 第50巻 第2号 別刷

Reprinted from the Journal of Food Hygienic Society of Japan

Vol. 50, No. 2, April 2009

J. Food Hyg. Soc. Jpn.
(SHOKUHIN EISEIGAKU ZASSHI)

食 衛 誌

玩具塗膜からのカドミウムおよび鉛の溶出試験

(平成20年11月12日受理)

河村葉子^{1,*} 六鹿元雄¹ 山内朋子² 植田新二² 棚元憲一¹

Migration Tests of Cadmium and Lead from Paint Film of Baby Toys

Yoko KAWAMURA^{1,*}, Motoh MUTSUGA¹, Tomoko YAMAUCHI²,
Shinji UEDA² and Kenichi TANAMOTO¹¹National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; ²Tokyo Laboratory, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan: 1600 Shimotakano, Sugito-machi, Kitakatsushika-gun, Saitama 345-0043, Japan; * Corresponding author

The migration tests of cadmium (Cd) and lead (Pb) from paint film on baby toys set out in the Japanese Food Sanitation Law (official standard) and International Standard 8124-3 (ISO) were compared. Vinyl chloride resin enamel and acrylic resin enamel containing 1,000 mg/kg Cd and Pb on a dried basis were painted on glass plates and then dried. According to the official standard, the paint films on the glass plates were soaked in water at 40°C for 30 min and the solutions were analyzed by ICP-AES. Cd and Pb were below the limit of determination (<0.1 µg/mL) and were less than 1/5-1/10 of the official standard limits. When the solvent was changed to 4% acetic acid or 0.07 mol/L HCl, we found that 0.3-2.3 µg/mL Cd and Pb migrated from the acrylic resin enamel, but no migration was observed from the vinyl chloride resin enamel. Meanwhile, according to the ISO method, paint was scratched from the glass plates and the powder was soaked in 0.07 mol/L HCl at 37°C for 1 hr either with shaking and without shaking. The migration of Cd and Pb reached 310 to 910 mg/kg, *i.e.*, 3.5-12 times more than the migration limits. Cd migrated more extensively than Pb, and they both migrated more readily from the acrylic resin enamel than from the vinyl chloride enamel. In conclusion, the migration test of Cd and Pb from paint films on toys based on the ISO standards is stricter than that based on the Japanese Food Sanitation Law.

(Received November 12, 2008)

Key words: 玩具 baby toy; 塗膜 paint film; 溶出試験 migration test; カドミウム cadmium; 鉛 lead; 塩化ビニル樹脂塗料 vinyl chloride resin enamel; アクリル樹脂塗料 acrylic resin enamel

緒言

乳幼児用玩具はカラフルに塗装されたものが多い。これらの塗装には着色料として金属化合物が使用されることが多く、カドミウム (Cd)、鉛 (Pb) などの有害金属も使用される¹⁾。一方、乳幼児は玩具をなめたり口に入れたり、時にはかじってその剥離片を飲み込むことがある。そのため、乳幼児は玩具の塗膜からカドミウムおよび鉛の暴露を受ける可能性がある。

2007年には、玩具の塗膜から自主基準を超えてPbが溶出したとして米国で自主回収が相次ぎ、我が国でも多く

の玩具が自主回収された。しかし、これらの玩具は当時の食品衛生法では必ずしも不合格にならなかったことから検討が行われた。主な問題点としては、食品衛生法の指定玩具が材質により限定され木製乗物玩具などが指定外であったこと、玩具塗料のうち規格が設定されていたのは塩化ビニル樹脂塗料のみで他の塗料には規格がなかったことなどのほか、規格が米国標準規格 ASTM F963-95、欧州標準規格 EN 71-3、日本玩具協会の自主基準、およびそれらが準拠している国際標準規格 ISO 8124-3^{*1} と比べて緩い可能性が挙げられた。

ISO 8124-3では玩具全般についてCd、Pbを含む有害8元素の溶出規格を設定しているが、その内容は食品衛生

* 連絡先

¹ 国立医薬品食品衛生研究所; 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1² 財団法人化学物質評価研究機構; 〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600*¹ ISO, ISO 8124 Safety toys Part 3: Migration of certain elements, International Organization for Standardization (1997).

法の規格と大きく異なる。塗膜については、削り取って粉碎し 0.07 mol/L 塩酸を用いて 37°C で 1 時間振とう後 1 時間放置して測定する。また、規格値は塗膜重量当たりで表記し、Cd は 75 mg/kg 以下、Pb は 90 mg/kg 以下と定めている。一方、当時の食品衛生法では、玩具の塩化ビニル樹脂塗料について、塗膜のまま 40°C の水に 30 分間浸漬したのち測定し、規格値は Cd で 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下、Pb は重金属試験で 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下であった。

従前の食品衛生法では乳幼児が玩具を口に入れてなめることによる溶出を想定し、塗膜のまま唾液の代替である水に浸漬する溶出試験を行ってきた。一方、ISO 規格ではかじって塗膜片を飲み込み胃液で溶出することを想定し、塗膜を粉碎して希塩酸で試験を行うというより厳しい試験条件が設定されているが、規格値も高く定められている。

このように両者は試験法や規格値が全く異なるため、数値のみで単純に比較することはできない。前報¹⁾において市販玩具で比較的高濃度の Cd や Pb を含有する試料を用いて両者の比較を試みたが、溶出量は ISO 規格の方が高かったもののいずれも規格値を下回っており、規格としてどちらが厳しいかは判定できなかった。

そこで、今回は Pb および Cd を 1,000 mg/kg と高濃度に含有する塗膜を調製し、両試験法の溶出力および規格としての厳しさを検証した。

実験方法

1. 試薬

塩化ビニル樹脂塗料：白色，大日本塗料(株)製

アクリル樹脂塗料：白色，(株)カンペハビオ製

炭酸カドミウム (CdCO₃): 化学用試薬，和光純薬工業製

クロム酸鉛 (PbCrO₄): 特級試薬，関東化学株式会社製

Cd 標準液，Pb 標準液：1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 計量標準試薬，和光純薬工業製

2. 装置および器具

誘導結合プラズマ発光強度測定装置 (ICP-AES):

Optima 5300DV, パーキンエルマー社製

卓上型ボールミル：V-1,(株)入江商会製

冷凍粉碎機：JFC-300, 日本分析工業(株)製

3. ICP-AES 測定条件

測定波長：228.80 nm (Cd), 220.35 nm (Pb)

4. Cd および Pb 添加試料の調製

塩化ビニル樹脂塗料およびアクリル樹脂塗料の一部をガラス板に塗布し、一晚乾燥させてその重量を測定した。その結果、乾燥後の重量は前者では 58.4%，後者では 56.5% であった。両塗料に Cd または Pb が塗料の乾燥重量当たり 1,000 mg/kg になるように CdCO₃ または PbCrO₄ を添加してボールミルで 1 晩かくはんした。これらの各 0.16 g を表面積 20 cm² のガラス板に塗布し 1 晩乾燥させたものを試料とした。

5. 食品衛生法に準拠した溶出試験

シャーレに 1 cm² あたり 2 mL の水を入れ、塗装されたガラス板を浸漬して 40°C で 30 分間静置した。得られた試験溶液中の Cd および Pb 量を ICP-AES により定量した。また、溶出溶媒の影響を検討するため、水の代わりに 4% 酢酸および 0.07 mol/L 塩酸を用いた試験も行った。

6. ISO 規格に準拠した溶出試験

ガラス板から塗膜を削り取り、冷凍粉碎機で粉碎してその 50 倍量の 0.07 mol/L 塩酸を加えて 37°C で 1 時間振とう後、37°C で 1 時間静置した。得られた溶出液をろ過して試験溶液とし、Cd および Pb 量を ICP-AES により定量した。また、0.07 mol/L 塩酸の代わりに水および 4% 酢酸を用いた試験も行った。

実験結果

1. 食品衛生法に準拠した溶出試験

Cd または Pb を添加した塩化ビニル樹脂塗料およびアクリル樹脂塗料で塗装されたガラス板を用い、食品衛生法の塩化ビニル樹脂塗料の規格に準じて溶出試験を行った (Table 1)。

食品衛生法で定める水を溶出溶媒に用いると、塩化ビニル樹脂塗料、アクリル樹脂塗料ともに Cd および Pb の溶出は認められなかった (定量限界：各 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。これらは塩化ビニル樹脂塗料の規格値である Cd 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ および Pb 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に対して少なくとも Cd で 5 倍、Pb で 10 倍以上のマージンをもって下回っていると言える。

次に、溶出溶媒を 4% 酢酸および 0.07 mol/L 塩酸に代えて同様の試験を行った。4% 酢酸は食品衛生法の器具・容器包装の規格基準において金属類の溶出試験に用いられ、0.07 mol/L 塩酸は ISO 規格で用いられる。その結

Table 1. Migration test of Cd and Pb from paint films according to the Japanese official method

Sample	Element	Limit	Migration level		
			Water	4% CH ₃ COOH	0.07 mol/L HCl
Vinyl chloride resin enamel	Cd	0.5	<0.1	<0.1	<0.1
	Pb	1.0	<0.1	<0.1	<0.1
Acrylic resin enamel	Cd	(0.5)	<0.1	1.5	2.3
	Pb	(1.0)	<0.1	0.3	1.0

Unit: $\mu\text{g}/\text{mL}$ in test solution

Limit: Migration limit using water at 40°C for 30 min, set for PVC paint on baby toys