

Figure 1. Mass spectra of (a) AN, (b) 1,3-BD, (c) 1-butene, (d) PN, and (e) 4-VC identified from ABS copolymers.

Sciences Inc. (Tokyo, Japan). AN (99%), PN (99%), 4-VC (95%), and isobutyronitrile (IBN; 99%) were purchased from Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd (Tokyo, Japan). Stock solutions of AN, PN, and 4-VC were prepared in DMA at 1000 µg/mL, and the mixed standard solution was prepared at 5–250 µg/mL by diluting aliquots of individual stock solutions with DMA. Stock solutions of 1,3-BD and 1,2-butadiene (1,2-BD) were purchased at 1000 µg/mL from Hayashi Pure Chemical Ind., Ltd (Osaka, Japan). The standard solution of 1,3-BD was prepared at 0.5–50 µg/mL by diluting aliquots of the stock solution with DMA. The internal standard containing 1,2-BD and IBN was prepared by diluting different volumes of individual stock solutions with DMA. The concentrations were 10 µg/mL for

1,2-BD and 1000 µg/mL for IBN. All solutions were kept in storage bottles with a tightly sealing cap (Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan) and were stored in a freezer (–20°C).

Samples

Twenty-two samples made from ABS copolymer (13 kitchen utensils and nine children’s toys) were purchased at supermarkets and toy shops in Nagoya, Japan. AS copolymers (five kitchen utensils), PS (three kitchen utensils and two food containers), and seven NBR gloves for home use were also purchased as the materials related to ABS copolymer. The thickness of the NBR gloves was 0.17–0.35 mm. All samples were stored in zip lock plastic bags constructed with low

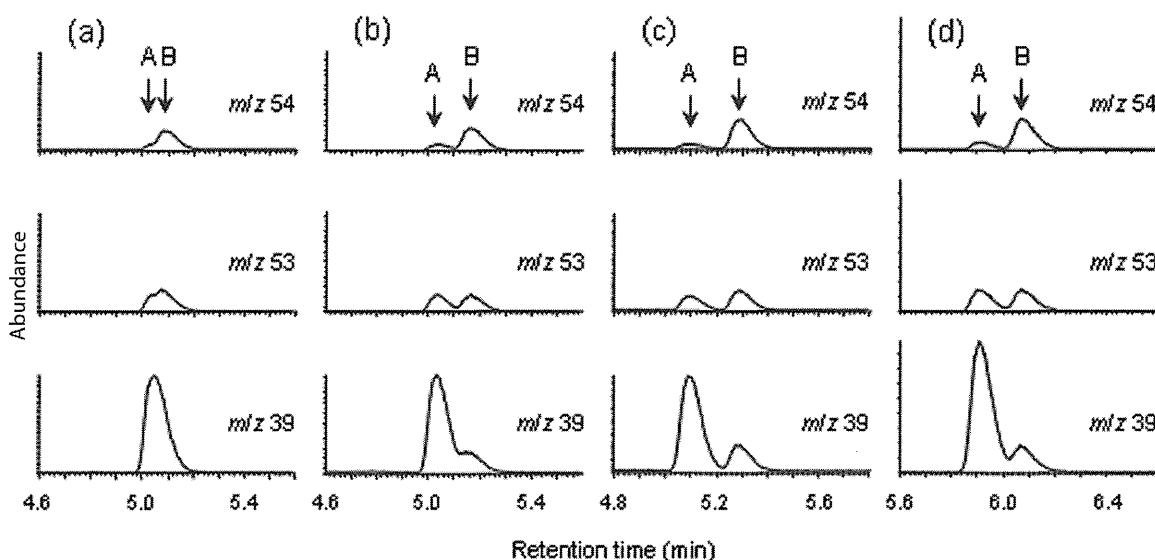


Figure 2. Separation of (A) 1-butene and (B) 1,3-BD obtained from four capillary columns, including (a) DB-1, (b) DB-1301, (c) DB-624, and (d) DB-VRX.

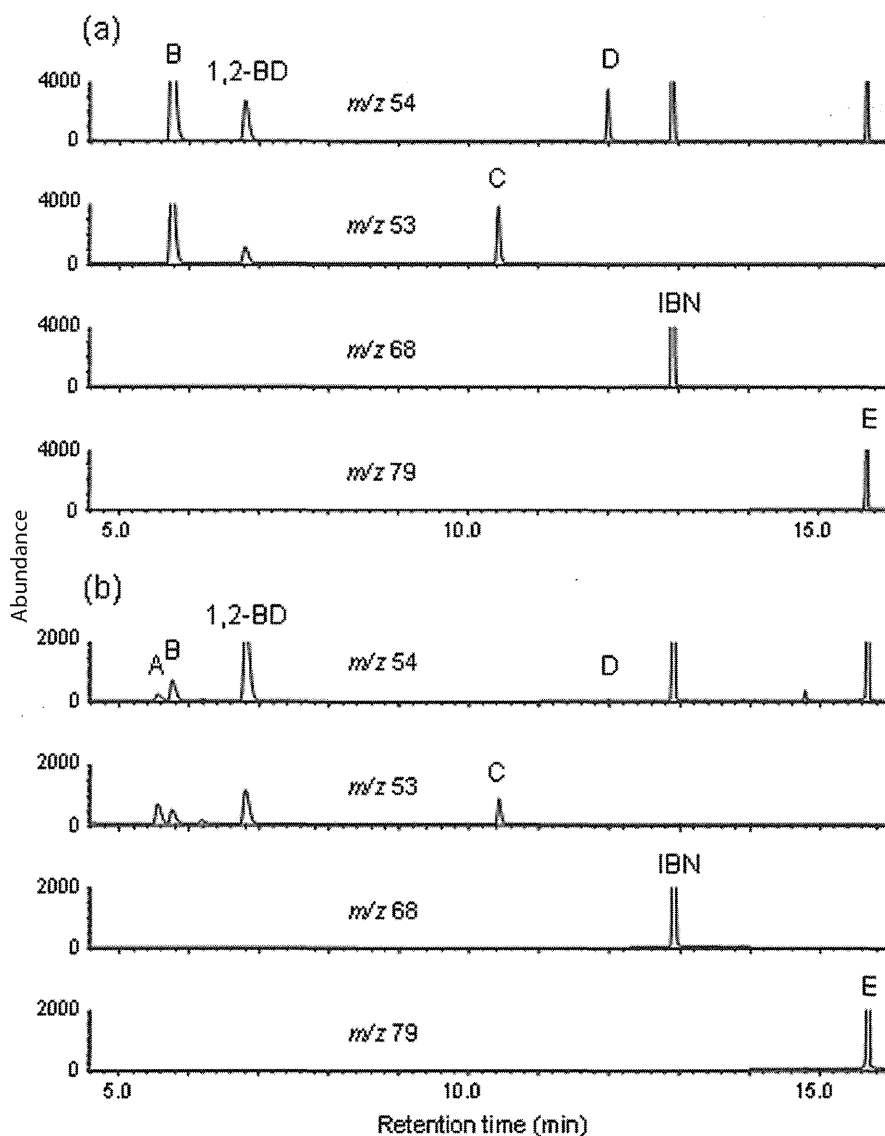


Figure 3. GC/MS chromatograms for (a) the standard solution and (b) sample No. 1. The standard solution was spiked at levels equivalent to 2 $\mu\text{g/g}$ for (B) 1,3-BD, and 10 $\mu\text{g/g}$ for (C) AN, (D) PN, and (E) 4-VC. These four compounds, except for (A) 1-butene, were determined.

density polyethylene immediately after purchase and sealed until analysis. The materials of the samples were identified by FTIR spectroscopy using an IRPestige-21 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Sample Preparation

For kitchen utensils and children's toys, a sample (0.5 g) was cut into small pieces and then dissolved in DMA (2.5 mL) in a 20 mL headspace vial. The internal standard (50 μL) was added at levels equivalent to 1 $\mu\text{g/g}$ 1,2-BD and 100 $\mu\text{g/g}$ IBN in the sample. The vial was immediately sealed tightly with an aluminum crimp seal and a PTFE/silicone rubber septum. The sample was stored overnight in DMA at room temperature in order to completely dissolve it during the following incubation.

For NBR gloves, a sample (0.5 g) was cut into small pieces and then added to DMA (10 mL) in a 20 mL headspace vial. The following operations were the same as the above. Unlike the kitchen utensils and children's toys, the NBR gloves never dissolved in DMA in the headspace vial after storage overnight, irrespective of the thickness. The storage time was extended by 5 days in order to check how much AN remained in the sample, and the detected levels did not change at all. The result indicated that AN in the NBR gloves migrated almost completely in DMA by storage overnight and was determined successfully.

Headspace GC/MS Analysis

The vial was incubated for 1 h at 90°C with occasional shaking; then, the headspace gas (0.5 mL) was removed manually using a 1 mL Pressure-Lok gas-tight syringe

Table 1. Recoveries of the analytes from spiked samples

Analyte	Spiked, $\mu\text{g/g}$	Kitchen utensil (No. 1)		Children's toy (No. 14)	
		Recovery ^a , %	CV, %	Recovery ^a , %	CV, %
AN	2	101.8	2.9	101.0	6.5
	10	100.0	0.8	100.9	2.2
	50	99.3	0.7	100.4	0.8
PN	2	95.6	0.9	93.3	2.8
	10	97.0	0.4	96.4	0.8
	50	98.9	0.5	98.3	0.3
1,3-BD	0.5	101.0	3.8	99.9	1.7
	2	98.2	1.6	101.5	0.7
	10	100.0	1.4	96.2	1.2
4-VC	2	—	—	94.7	4.0
	10	101.5	5.5	96.3	1.9
	50	100.1	1.9	95.8	1.2

^a Average of three trials.

(Precision Sampling, Baton Rouge, LA) and injected into the GC/MS system. For the calibration curve, standard solutions were spiked at levels equivalent to 0.01–10 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD, 0.1–500 $\mu\text{g/g}$ for 4-VC, and 0.2–50 $\mu\text{g/g}$ for AN and PN in kitchen utensils and children's toys. In the case of NBR gloves, standard solutions were spiked at levels equivalent to 0.05–10 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD and 0.5–50 $\mu\text{g/g}$ for the other analytes.

GC/MS analysis was performed with an Agilent 6890N gas chromatograph and 5973 mass spectrometer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). GC conditions were as follows: column, DB-624 (0.25 mm id \times 60 m, 1.4 μm film thickness (Agilent); oven temperature, 40°C (constant for 7 min) then rising at 20°C/min to 250°C (constant for 5 min); injection temperature, 200°C; transfer line temperature, 250°C; carrier gas, helium at 1.0 mL/min; injection volume, 0.5 mL (split ratio 10:1); and injector liner, straight (4 mm id \times 78.5 mm; Agilent). MS conditions were as follows: electron impact ionization mode; ion source temperature, 230°C; and ion source voltage, 70 eV.

For quantitative analysis, the analyte concentrations were determined by the internal standard method. The GC/MS system was operated in selected ion monitoring (SIM) mode. The monitored ions were m/z 27, 52, and 53 for AN; m/z 39, 53, and 54 for 1,3-BD; m/z 52, 54, and 55 for PN; and m/z 54, 79, and 80 for 4-VC. The monitored ions for the internal standards were m/z 39, 53, and 54 for 1,2-BD and m/z 42, 54, and 68 for IBN. Calibration curves were constructed by plotting the peak area ratios of 1,3-BD (m/z 54) versus 1,2-BD (m/z 54), and those of AN (m/z 53), PN (m/z 54), and 4-VC (m/z 79) versus IBN (m/z 68). The LOQ were set at an S/N of 10/1. The ratio was calculated by dividing peak intensity by the proximal noise. The GC/MS system was operated in the full-scan mode to identify unknown peaks. The mass spectra

were referred to those in the National Institute of Standards and Technology (NIST) database.

Results and Discussion

Identification of Residual Compounds

Two peaks of AN and 1,3-BD were detected from some ABS copolymers at retention times of 5.8 and 10.4 min by GC/MS in the full-scan mode, respectively. The mass spectra are shown in Figure 1a and b. Three unknown peaks were also detected at retention times of 5.6, 12.0, and 15.7 min. The respective mass spectra (Figure 1c–e) matched 1-butene, PN, and 4-VC with more than a 90% coincidence rate by reference to the NIST database. The standard gas (1-butene) and the standard solutions (PN and 4-VC) were analyzed, with the result that these retention times and mass spectra were determined to be the same as the unknown peaks. Accordingly, the unknown peaks were identified as 1-butene, PN, and 4-VC. This was the first confirmation of their presence in kitchen utensils and children's toys, except for the detection of 4-VC by Tan et al. (11).

The formation of 1-butene and PN may occur in the manufacturing process of the respective monomers or the polymerization of the ABS copolymer, considering that they are hydrogenation products of 1,3-BD and AN, respectively. On the other hand, 4-VC is a dimer of 1,3-BD and has been classified as possibly carcinogenic to humans (Group 2B) by the IARC. The dimer formation is considered to occur in the polymerization or thermal decomposition of the polymer. However, 1-butene was not determined in this study because the 1-butene standard solution could not only be obtained.

Table 2. Levels of the analytes in ABS copolymer, AS copolymer, and PS samples

Material	Type	Sample No.	Product	Content, µg/g ^a			
				AN	PN	1,3-BD	4-VC
ABS copolymer	Kitchen utensil	1	Japanese radish grater	2.2	ND ^b	0.18	34.7
		2	Cup	10.2	0.6	0.24	42.2
		3	Chocolate mold	4.3	0.9	0.06	2.3
		4	Lunch box	3.1	0.9	0.13	2.5
		5	Lunch box	5.0	0.8	0.44	2.1
		6	Measuring cup	50.4	3.4	0.22	12.4
		7	Measuring spoon	20.2	3.5	0.26	20.2
		8	Peeler	9.0	0.4	1.58	76.8
		9	Multislicer	17.6	1.2	0.40	52.8
		10	Peeler	5.0	0.4	0.13	99.1
		11	Ice cream baller	29.3	3.2	0.26	13.1
		12	Chinese spoon	0.3	ND	0.24	1.1
		13	Foodpick	4.2	0.7	0.41	2.3
	Children's toy	14	Rattle	5.8	1.3	0.07	1.5
		15	Rattle	5.4	0.4	0.06	7.0
		16	Rattle	13.0	0.3	0.15	42.8
		17	Animal toy	22.5	1.4	0.74	295
		18	Animal toy	33.2	1.0	1.03	243
		19	Toy bugle	43.6	1.7	0.10	14.3
		20	Toy bugle	9.9	0.9	0.17	121
		21	Toy bugle	39.1	4.5	0.10	15.3
		22	Teether	21.1	2.7	0.08	15.3
AS copolymer	Kitchen utensil	23	Measuring cup	23.1	2.9	ND	ND
		24	Measuring cup	31.0	6.9	ND	ND
		25	Japanese radish grater	54.5	6.3	ND	ND
		26	Japanese radish grater	16.8	0.8	ND	ND
		27	Coffee dripper	18.4	1.6	ND	ND
PS	Kitchen utensil	28	Multislicer	ND	ND	0.01	ND
		29	Fork	ND	ND	ND	ND
		30	Spoon	ND	ND	ND	ND
	Food container	31	Tray (Chinese food)	ND	ND	ND	0.2
		32	Tray (Sasimi)	ND	ND	0.08	0.6
	Determination limit				0.2	0.2	0.01

^a Average of three trials.^b ND = None detected.

Headspace GC/MS Analysis

In our previous studies (9, 10), a CP-PoraBOND Q capillary column (Varian), a bonded porous polymer-coated capillary column, was used to analyze highly volatile compounds. However, this column could not separate 1-butene and 1,3-BD. After reviewing four Agilent columns, including DB-1 (0.25 mm id × 60 m, 1 µm film thickness), DB-1301 (0.25 mm id × 60 m, 1 µm film thickness), DB-624

(0.25 mm id × 60 m, 1.4 µm film thickness), and DB-VRX (0.25 mm id × 60 m, 1.4 µm film thickness), DB-624 was determined to be the most suitable for the separation, as shown in Figure 2. Figure 3 shows typical GC/MS chromatograms for the standard solution and sample No. 1. After the 4-VC peak, the styrene peak was also detected at a retention time of 16.6 min. However, styrene could not be determined simultaneously by this method because its peak is

Table 3. Levels of the analytes in NBR gloves

Material	Product	Sample No.	Country	Content, $\mu\text{g/g}^a$				
				AN	PN	1,3-BD	4-VC	
NBR	Gloves for cooking purposes	33	Malaysia	1.6	ND ^b	ND	ND	
		34	Malaysia	ND	ND	ND	ND	
		35	China	ND	ND	ND	ND	
		36	China	0.6	ND	ND	ND	
	Household gloves for general purposes	37	Malaysia	1.1	ND	ND	ND	
		38	Malaysia	ND	ND	ND	ND	
		39	China	ND	ND	ND	ND	
		Determination limit			0.5	0.5	0.05	0.5

^a Average of three trials.

^b ND = None detected.

often several dozen times larger than those of the other compounds.

In the SIM mode, the ions of m/z 53 for AN, m/z 54 for 1,3-BD and PN, and m/z 79 for 4-VC were selected as the quantitative ions with the highest sensitivity. They were quantitated by the internal standard method using 1,2-BD for 1,3-BD and IBN for the others. The analytes were determined successfully without interference by coexisting compounds in all samples.

To determine the optimal incubation temperature for the headspace analysis, the vial spiked with the standard solutions at levels equivalent to 5 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD and 25 $\mu\text{g/g}$ for the others was incubated for 1 h at temperatures varying from 60 to 100°C (10°C intervals) and was analyzed. The respective peak area ratios relative to the internal standard were almost the same after equilibrium, irrespective of the temperature. Therefore, the temperature chosen was at 90°C, as in our previous studies (9, 10), to increase the sample solubility during the incubation. In addition, when operating at 90°C, the respective peak area ratios were the same for an incubation time ranging from 30 min to 2 h. Accordingly, an incubation time of 1 h was sufficient for equilibrium to be achieved.

Calibration Curves and Quantitative Limits

The calibration curves of the kitchen utensils and children's toys were linear in the concentration range of 0.2–50 $\mu\text{g/g}$ for AN and PN, 0.01–10 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD, and 0.1–500 $\mu\text{g/g}$ for 4-VC. The quantitative limits were 0.2 $\mu\text{g/g}$ for AN and PN, 0.01 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD, and 0.1 $\mu\text{g/g}$ for 4-VC. The calibration curves of the NBR gloves were linear in the concentration range of 0.05–10 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD and 0.5–50 $\mu\text{g/g}$ for the other analytes. The quantitative limits were 0.05 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD and 0.5 $\mu\text{g/g}$ for the others.

Recovery

The recovery test was carried out in three trials for each concentration and performed by spiking in two samples, as shown in Table 1. The analytes were spiked at levels

equivalent to 0.5–10 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD and 2–50 $\mu\text{g/g}$ for the others. The recovery rates were 99.3–101.8% for AN, 93.3–98.9% for PN, 96.2–101.5% for 1,3-BD, and 94.7–101.5% for 4-VC. The CV values were 0.7–6.5% for AN, 0.3–2.8% for PN, 0.7–3.8% for 1,3-BD, and 1.2–5.5% for 4-VC. These results showed the efficiency of the proposed method using manual injections and internal standard quantitation in terms of precision and accuracy.

Levels of Residual AN, 1,3-BD, and Related Compounds

Table 2 shows the contents of four compounds in ABS and AS copolymers, and PS samples. The CV values of the analytes were 2.0–7.9%. In ABS copolymers, AN and 1,3-BD were detected at 0.3–50.4 and 0.06–1.58 $\mu\text{g/g}$ in all samples, respectively. The levels in children's toys were confirmed to be identical to those in kitchen utensils. In addition, 4-VC was detected at 1.1–295 $\mu\text{g/g}$ in all samples and PN was detected at 0.3–4.5 $\mu\text{g/g}$ in 20 samples. The levels of AN and 4-VC were significantly higher than those of the other analytes. In particular, the 4-VC levels were highest, in agreement with those (29–205 $\mu\text{g/g}$) reported by Tan et al. (11).

In AS copolymers, AN and PN were detected at 16.8–54.5 and 0.8–6.9 $\mu\text{g/g}$ in all samples, respectively. The levels were either identical to, or slightly higher than, those of ABS copolymers. The other analytes were not detected in any AS copolymer. In PS samples, 1,3-BD and 4-VC were detected at low levels compared with the ABS copolymers, and the other analytes were not. The levels were 0.01 and 0.08 $\mu\text{g/g}$ for 1,3-BD, and 0.2 and 0.6 $\mu\text{g/g}$ for 4-VC.

In NBR gloves, AN was detected at 0.6–1.6 $\mu\text{g/g}$ in only three samples, as shown in Table 3, with CV values of 4.2–9.8%. The AN levels were lower than those of kitchen utensils and children's toys, and nearly identical to those (0.40–0.94 $\mu\text{g/g}$) reported by Wakui et al. (12).

Conclusions

The U.S. Food and Drug Administration specified maximum residual AN levels in ABS and AS copolymers used as food contact materials in the *Federal Regulations* (21CFR177.1020; 13). These AN levels are 11 µg/g in ABS copolymers and 50 or 80 µg/g in AS copolymers according to the degree of polymerization. In this study, the levels of ABS copolymers in four kitchen utensils were over 11 µg/g. In AS copolymers, only a radish grater exhibited a level over 50 µg/g. The European Community set a maximum permitted level of 1,3-BD in a finished material or article as less than 1 µg/g in the Commission Directive (14). The 1,3-BD levels in two ABS copolymers exceeded 1 µg/g. On the other hand, the 4-VC levels were about 48- to 712-fold greater than the 1,3-BD levels among 15 ABS copolymers, in which more than 10 µg/g 4-VC was detected. Accordingly, attention must be paid to the levels of AN, 1,3-BD, and 4-VC in ABS and AS copolymers. Further investigation is necessary to determine the migration levels of these compounds by food simulations.

Acknowledgments

This study was supported in part by Health Labour Sciences Research grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

References

- (1) Ohno, H., Suzuki, M., Aoyama, T., & Mitani, K. (2002) *Ann. Rep. Nagoya City Public Health Res. Inst.* **48**, 61–65
- (2) Ohno, H., Suzuki, M., & Nakajima, M. (2008) *Ann. Rep. Nagoya City Public Health Res. Inst.* **54**, 58–61
- (3) Brown, M.E., Breder, C.V., & McNeal, T.P. (1978) *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **61**, 1383–1388
- (4) Yoshida, R., Watanabe, Y., Sato, K., & Endo, F. (1979) *Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P. H.* **30-1**, 163–166
- (5) Gilbert, J., & Startin, J.R. (1982) *Food Chem.* **9**, 243–252
- (6) Tan, S., & Okada, T. (1981) *J. Food Hyg. Soc. Japan* **22**, 150–154
- (7) Startin, J.R., & Gilbert, J. (1984) *J. Chromatogr.* **294**, 427–430
- (8) UK Food Standards Agency (2003) *Chemicals Used in Plastic Materials and Articles in Contact with Food: Compliance with Statutory Limits on Composition and Migration*, FSIS 43/03, London, UK
- (9) Ohno, H., Mutsuga, M., Kawamura, Y., Suzuki, M., & Aoyama, T. (2005) *J. Food Hyg. Soc. Japan* **46**, 8–12
- (10) Ohno, H., & Kawamura, Y. (2006) *Food Addit. Contam.* **23**, 839–844
- (11) Tan, S., Tatsuno, T., & Okada, T. (1989) *J. Chromatogr.* **482**, 246–251
- (12) Wakui, C., Kawamura, Y., & Maitani, T. (2001) *J. Food Hyg. Soc. Japan* **42**, 322–328
- (13) U.S. Food and Drug Administration (2009) *Indirect Food Additives: Polymers*, 21CFR177. 1020, Rockville, MD
- (14) European Community (2002) *Commission Directive 2002/72/EC of 6 August 2002 Relating to Plastic Materials and Articles Intended to Come into Contact with Foodstuffs*, *Off. J. Eur. Commun.* **L** 220/27

報 文

ポリ乳酸製器具・容器包装の含有物質の検討および溶出液の変異原性

(平成 22 年 4 月 13 日受理)

尾崎麻子^{1,*} 大嶋智子¹ 大垣寿美子¹ 河村葉子²

Determination of Substances in Polylactic Acid Products for Food-contact Use and Mutagenicity of Their Migration Solutions

Asako OZAKI^{1,*}, Tomoko OOSHIMA¹, Sumiko OHGAKI¹ and Yoko KAWAMURA²¹ Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences: 8-34 Tojo-cho, Tennouji-ku, Osaka 543-0026, Japan; ² National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan;

*Corresponding author

Specification tests defined in the Japanese Food Sanitation Law were conducted on 7 polylactic acid food-contact products. Moreover, the content and migration of other compounds were examined by means of ICP-AES, GC/MS and mutagenicity tests. All products met their specifications, and migration levels of heavy metals were negligible. No notable peak was observed in GC/MS analysis. Moreover, all products gave negative results in both rec-assay and the *umu*-test. An increase in the β -galactosidase activity in the *umu*-test observed with the migration solution of soup bowl was due not to polylactic acid, but to the polyurethane coating.

(Received March 13, 2010)

Key words: ポリ乳酸 polylactic acid; 溶出 migration; 規格試験 specification test; 重金属 heavy metal; レックアッセイ rec-assay; *umu*-テスト *umu*-test

緒 言

ポリエチレンやポリプロピレンをはじめとする石油由来のプラスチックは、食品用器具・容器包装に広く使用されているが、廃棄後に焼却処分され大気中の二酸化炭素濃度を上昇させる一因となっている。そこで、環境負荷の低減、すなわち二酸化炭素の発生を抑制するために植物由来樹脂（バイオマスプラスチック）の開発が進められている。原料である植物は、成長過程で光合成することによって大気中の二酸化炭素を吸収するため、廃棄後に焼却処分して発生する二酸化炭素は相殺され二酸化炭素の増減に影響を与えないとみなされる。これをカーボンニュートラルと呼ぶ。

ポリ乳酸は最も実用化が進んだバイオマスプラスチックであり、主にトウモロコシから得られるデンプンを発酵して得られた乳酸またはその環状 2 量体のラクチドを重合して製造される (Fig. 1)。わが国では平成 17 年に食品容器への実用化が開始され、平成 19 年 10 月には食品衛生法においてポリ乳酸を用いた器具・容器包装に新たに個別

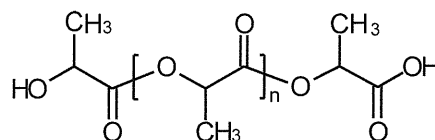


Fig. 1. Structure of polylactic acid

規格が設けられた。

そこで、現在流通しているポリ乳酸製器具・容器包装を収集して食品衛生法における規格試験を実施するとともに、その他の含有物質や溶出物質の検討および溶出液について変異原性試験を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

Table 1 に示す 7 試料について試験を行った。

2. 試薬

L-乳酸リチウム、D-乳酸リチウム：純度 97%，シグマアルドリッチ社製

35 元素混合標準溶液：XSTC-622, 10 μ g/mL, SPEX 社製

過マンガン酸カリウム溶液：0.002 mol/L, 容量分析用, シュウ酸ナトリウム：0.005 mol/L, 容量分析用

* 連絡先 E-mail: as-ozaki@city.osaka.lg.jp

¹ 大阪市立環境科学研究所：〒543-0026 大阪市天王寺区東上町 8-34² 国立医薬品食品衛生研究所：〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

上和光純薬工業(株)製

アセトニトリル, メタノール, エタノール, ヘプタン:
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
薬工業(株)製または関東化学(株)製

硝酸, 塩酸, 硫酸: 有害金属測定用, 関東化学(株)製
L- または D-乳酸標準溶液: L- または D-乳酸リチウム
107 mg を採り, 水を加えて 100 mL とし 1,000 µg/mL
の標準溶液を作製した. 適宜水で希釈して 1~100 µg/
mL となるように調製した.

3. 装 置

熱分解ガスクロマトグラフ: 熱分解装置 JCI-22, 日本
分析工業(株)製, ガスクロマトグラフ 14AH, (株)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 HP 6890, 質量分析計 HP 5973, 以上 Agilent
Technologies 社製

ICP 発光分光分析計 (ICP-AES): IRIS 1000, サーモ
ジャーレルアッシュ社製

マイクロウェーブ分解装置: Anton Paar マルチウェー
ブ, パーキンエルマー社製

超遠心粉碎機: Retsch, 日本精機(株)製

4. 測定条件

1) 総乳酸測定用 HPLC

カラム: ODS-80Ts (内径 4.6 mm, 長さ 250 mm, 粒
径 5 µm), 東ソー(株)製

カラム温度: 40°C

移動相: リン酸-アセトニトリル-水 (0.1:1:99)

流速: 1 mL/min

注入量: 100 µL

測定波長: UV (210 nm)

2) L- および D-乳酸測定用 HPLC

カラム: SUMICHIRAL OA-6100 (内径 4.6 mm, 長
さ 150 mm, 粒径 5 µm), 住化分析センター(株)社製

カラム温度: 40°C

移動相: 1 mmol/L 硫酸銅-アセトニトリル (99:1)

流速: 1 mL/min

注入量: 20 µL

測定波長: UV (254 nm)

3) GC/MS

カラム: HP-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 µm),
Agilent Technologies 社製

カラム温度: 50°C (2 min)→15°C/min→300°C (10
min)

注入口温度: 250°C

キャリアーガス: He, 1 mL/min

注入量: 1 µL (スプリットレス)

測定モード: SCAN (*m/z*: 50~800)

イオン源温度: 230°C, 四重極温度: 150°C

4) ICP-AES

高周波出力: 1,150 W

プラズマガス (Ar): 14 L/min

補助ガス (Ar): 0.5 L/min

ネブライザー圧力: 26 psi

測定波長 (nm): Ag (338.289), Al (396.152), As
(189.042), Ba (233.527), Ca (393.366), Cd (228.802), Co
(238.892), Cr (267.716), Cu (224.700), Fe (259.940), Mg
(279.553), Mn (260.569), Ni (232.003), Pb (220.353), Si
(251.612), Sn (189.989), Ti (323.452), Zn (213.856)

5. 材質判別

試料の細片を熱分解用カセロールに入れて熱分解クロマ
トグラフに装着し測定を行った. 得られたクロマトグラム
を材質既知のクロマトグラムと比較することにより材質判
別を行った. 表面に塗装が施されている試料は, 素地と塗
装のそれぞれについて測定した.

6. 材質構成成分における D-乳酸含有率

六鹿らの方法¹⁾に従い, 細切した試料 1 g に 1 mol/L
水酸化ナトリウム/メタノール-水 (3:1) 溶液 20 mL を加
え, 振とうしながら 65°C で 1 時間加温し, ポリマーをアル
カリ分解して乳酸とした. この溶液 1 mL に 2 mol/L
塩酸を 0.5 mL 加えて中和した後, 水を加えて 50 mL と
した. HPLC により L-乳酸量および D-乳酸量を測定し,
総乳酸量に対する D-乳酸量の比率を求めた.

7. 食品衛生法による規格試験

試料を水でよく洗い, 表面積 1 cm² につき 2 mL の割
合の水, 4% 酢酸, 20% エタノールおよびヘプタンを浸
出用液として用いた. 水および 4% 酢酸では 60°C および
95°C, 20% エタノールでは 60°C に保ちながら 30 分間,
ヘプタンでは 25°C に保ちながら 1 時間放置し溶出液とし
た. これらの溶出液を試験溶液とし, 食品, 添加物等の規
格基準第三器具および容器包装に従って総乳酸, 蒸発残留
物, 過マンガン酸カリウム消費量, 重金属の測定を行っ
た.

8. 含有および溶出金属の測定

1) 材質試験

液体窒素で凍結させた試料を超遠心粉碎機を用いて粉碎
した. その 200 mg を石英製分解容器に採り, 硝酸 4 mL
と塩酸 1 mL を加え, マイクロウェーブ分解装置により分
解を行った. 分解装置の加熱プログラムは 300 W (2 min)
→400 W (6 min)→800 W (15 min) とした (マイクロウ
ェーブ分解法). 室温まで冷却後, 水を加えて 20 mL と
し, ろ過後, 適宜希釈して試験溶液とした. その後, ICP-
AES を用いて鉛およびカドミウムを含む 18 元素の測定
を行った.

表面に塗装が施されている試料は, 電動やすりを用いて
塗装と素地を分けて削り取り, それぞれ試験を行った. ま
た, これらの試料では塗装および素地部分の両方において
マイクロウェーブ分解した際に白色沈殿が観察され完全に
分解することができなかった. そこで, 以下の乾式灰化法

による分解を行ったところ、白色沈殿は見られたもののチタンの測定値がマイクロウェーブによる分解時に比べて給食用食器および汁椀のそれぞれで16および4倍となった。よって、チタンについてのみ乾式灰化法による測定を行った。

乾式灰化法：試料100 mgを耐熱ガラス製ビーカーに採り、硫酸1 mLを加えて除々に加熱し、大部分が炭化するまで加熱した。これを450°Cの電気炉で灰化した。この残留物に塩酸(1→2)5 mLを加えてかき混ぜ、ホットプレート上で蒸発乾固した。冷後0.1 mol/L硝酸30 mLを加えて溶解し、ろ過後、適宜希釈して試験溶液とした。

2) 溶出試験

4%酢酸を浸出用液として得た溶出液を試験溶液とし、ICP-AESを用いて測定を行った。

9. GC/MSによる溶出物の探索

ヘプタンを浸出用液として得た溶出液を試験溶液とし、GC/MSのSCANモードで測定を行い、溶出化合物の探索を行った。

10. 変異原性試験

1) 試験溶液の調製

水、20%エタノールおよびヘプタンを浸出用液として得た溶出液を試験溶液とした。水溶出液はそのまま試験に供し、20%エタノールおよびヘプタン溶出液は以下の操作により10倍濃縮したものを試験に供した。溶出液をそれぞれ1 mL採り、窒素を吹き付けて乾固した。ただし、20%エタノール溶出液は50°Cのヒートブロックで加熱した。また、*umu*-テスト用の試験溶液として、汁椀の20%エタノール溶出液1 mL採り、凍結乾燥したのもも調製した。いずれの乾燥物にもジメチルスルホキシド100 μ Lを加えて溶解したものを試験溶液とした。

2) レックアッセイ

(1) 使用培地および菌株

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*⁺およびDNA

組換え修復欠損株M45 *Rec*⁻の孢子懸濁液を用いた。菌株は国立遺伝学研究所より分与された。

(2) 試験方法

H17株およびM45株それぞれについて孢子一定量(2×10⁵)を混和した寒天培地10 mLをシャーレ(直径90 mm, テルモ(株)製)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(ADVANTEC社製)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株およびM45株いずれかに生育阻止円が見られた試料を、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。

3) *umu*-テスト

umu-テストに基づく試験用キット(ウムラックAT, (株)蛋白精製工業製)を用いた。

菌株は試験用キットに含まれるNM2009株を用い、代謝活性化系(S9⁺)および非代謝活性化系(S9⁻)の両方について試験を行った。*umu*遺伝子の発現を β -ガラクトシダーゼ活性を指標として比色測定(620 nm)を行い、各試料が溶媒対照の2倍以上の吸光度を呈した場合に陽性とした。

実験結果および考察

1. 試料の材質判別

サラダ容器、青果用袋、卵パック、スプーンおよびコップの材質はポリ乳酸のみから構成されていた。ポリ乳酸製品の多くは熱に弱い。サラダ容器、青果用袋および卵パックは低温での利用を想定した製品であり、スプーンおよびコップについても耐熱温度が50°Cと明記されていた。

一方、耐熱性が120°Cとより高温での利用が想定される給食用食器および汁椀は、いずれもポリ乳酸を素地としてポリウレタン塗装されたものであった(Table 1)。食品に接触する面がポリウレタンであることからポリ乳酸の個別規格は適用されないが、以下、他の試料とともにポリ乳

Table 1. List of materials, heat-proof temperature and component ratio of D-lactic acid of polylactic acid food-contact products

Sample	Use	Material	Heat-proof temperature*	Component ratio of D-lactic acid (%)
Container	Salad	PLA	40°C	4.4
Bag	Fruit and vegetable	PLA	—**	1.4
Pack	Egg	PLA	—**	4.0
Spoon		PLA	50°C	1.3
Cup		PLA	50°C	1.3
Bowl-1	School or hospital meal	Base: PLA Coating: PU	120°C	1.3
Bowl-2	Soup	Base: PLA Coating: PU	120°C	1.4

PLA: polylactic acid, PU: polyurethane

* Indicated on the product

** Not indicated

Table 2. Results of migration tests defined in Japanese Food Sanitation Law

Sample	Migration conditions	Total lactic acid (µg/mL)	Overall migration test (µg/mL)				Consumption of KMnO ₄ test (µg/mL)	Heavy metals (µg/mL)
			Water	4% Acetic acid	20% Ethanol	Heptane*		
Container	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bag	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pack	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spoon	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cup	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bowl-1	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	95°C・30 min	ND	ND	ND	—	—	ND	ND
Bowl-2	60°C・30 min	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	95°C・30 min	ND	ND	7.4	—	—	ND	ND
Detection limit		1 µg/mL	5 µg/mL			1 µg/mL	1 µg/mL (regarded as Pb)	
Regulation limit		30 µg/mL	30 µg/mL			10 µg/mL	1 µg/mL (regarded as Pb)	

* Time and temperature conditions for heptane: 1 hour at 25°C

酸の個別規格を含めて試験を行った。

2. 材質構成成分のD-乳酸含有率

食品衛生法において、使用温度が40°Cを超える器具・容器包装を製造する場合は、D-乳酸含有率が6%を超えるポリ乳酸を使用してはならない（ただし、100°C以下で30分以内または66°C以下で2時間以内で使用するものはこの限りでない）と規定されている。Table 1に示したようにD-乳酸含有率はすべての試料において1.3~4.4%であり、基準を満たしていた。

3. 食品衛生法による溶出試験

溶出試験結果をTable 2に示した。給食用食器および汁椀の使用温度は100°Cを超えないが、他の試料に比べて高温で使用されることから、水および4%酢酸を浸出液にした際に参考として95°Cにおける溶出試験も併せて行った。

総乳酸、過マンガン酸カリウム消費量および重金属試験では全ての試料および条件において検出限界以下であった。汁椀を4%酢酸を用いて95°Cで30分間溶出させた際の蒸発残留物は7.4 µg/mLであったが、ポリ乳酸や他の合成樹脂の蒸発残留物の規格値である30 µg/mLを下回っており、問題となるものではなかった。

4. 含有および溶出金属

材質に含有される金属の測定結果をTable 3に示した。食品衛生法で規格が設けられている鉛およびカドミウムはすべての試料で検出されず、同じく有害金属であるヒ素もすべての試料で検出されなかった。一方、Snはポリ乳酸試料および塗装された試料のポリ乳酸部分から14~33 µg/g検出された。製品に成型される前のポリ乳酸シートから検出されているスズの含有量(3~32 µg/g)¹⁾とよく一致していることから、ポリ乳酸重合時の触媒として一般的

に使用されている2-エチルヘキサン酸スズが使用されたためと推測される。

また、すべての試料のポリ乳酸部分からマグネシウム、カルシウム、鉄、ケイ素が検出され、一部の試料からアルミニウム、チタン、クロム、亜鉛、バリウムおよびニッケルが検出された。これらは製品に成型される前のポリ乳酸シートからは検出されていないことから¹⁾、充填剤や顔料などとして添加された可能性が高い。

耐熱性が120°Cと高く設定されている給食用食器および汁椀のポリ乳酸素地部分では、耐熱性の低いサラダ容器などの試料に比べて、マグネシウム、ケイ素、カルシウム、チタンなどの含有量が著しく高かった。これらを含む化合物は充填剤として使用されることから、本来耐熱性の低いポリ乳酸に耐熱性を付与するために充填剤が多量に配合されたものと推測された。また、ポリウレタン塗装面のマグネシウム、アルミニウム、ケイ素、カルシウム、チタンなどの含有量も高く、同様に充填剤として配合されたものと推測された。汁椀の塗装面から検出された鉄は、その面が赤く着色されていたことから赤色顔料として使用されたものと推測された。

それぞれの金属の4%酢酸への溶出量をTable 4に示した。給食用食器および汁椀を95°C、30分間試験した際にケイ素がそれぞれ0.4および0.3 µg/mL溶出した。また、汁椀を60および95°C、30分間試験した際にカルシウムが0.4および0.3 µg/mL溶出した。これらは塗装面から溶出したと考えられるが、いずれも溶出量は低く、問題となるものではなかった。

5. GC/MSによる溶出物の探索

ヘプタン溶出液についてGC/MSにより溶出物の探索を行った。ポリ乳酸は水や4%酢酸などの水溶性溶媒と

Table 3. Contents of 18 elements in polylactic acid food-contact products

Sample	Content ($\mu\text{g/g}$)																	
	Cd	Pb	As	Sn	Mg	Al	Si	Ca	Ti	Cr	Fe	Zn	Ba	Mn	Co	Cu	Ag	Ni
Container*	ND	ND	ND	16	30	ND	150	4.4	ND	ND	6.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bag*	ND	ND	ND	24	12	69	190	55	ND	ND	6.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pack*	ND	ND	ND	26	10	ND	180	1.8	ND	ND	3.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spoon*	ND	ND	ND	15	17	43	160	2.8	120	5.4	52	130	130	ND	ND	ND	ND	2.5
Cup*	ND	ND	ND	23	12	32	85	31	98	1.3	15	130	40	ND	ND	ND	ND	ND
Bowl-1**	Base	ND	ND	ND	33	11,000	21	2,300	360	1,900	ND	93	78	ND	ND	ND	ND	ND
	Coating	ND	ND	ND	5	2,500	18	1,300	100	950	ND	15	6.6	5.1	ND	ND	ND	ND
Bowl-2**	Base	ND	ND	ND	14	19,000	49	1,500	1,300	18	ND	160	39	ND	ND	ND	ND	ND
	Coating	ND	ND	ND	83	8,600	1,500	1,000	1,800	23,000	ND	46,000	38	13,000	21	ND	ND	ND

* As, Al, Si, Ti, Ag: ND < 3 $\mu\text{g/g}$; others: ND < 1 $\mu\text{g/g}$

** As, Al, Si, Ti, Ag: ND < 9 $\mu\text{g/g}$; others: ND < 3 $\mu\text{g/g}$

接触した際にオリゴマー、ラクチドおよび乳酸の溶出量が多くなることが報告されており、ラクチドはヘプタンに溶出することが報告されている^{1),2)}。今回は脂溶性溶媒に溶

出する化学物質を探索するためにヘプタン溶出液について汎用カラムの1つであるHP-5MSを用いて分析を行ったが、大きなピークは見られず、未知の脂溶性物質が大量に溶出している可能性は低いと考えられた。

Table 4. Migration level of 18 elements from polylactic acid food-contact products

Sample	Migration conditions	Migration level (µg/mL)	
		Si	Ca
Container	60°C·30 min	ND	ND
Bag	60°C·30 min	ND	ND
Pack	60°C·30 min	ND	ND
Spoon	60°C·30 min	ND	ND
Cup	60°C·30 min	ND	ND
Bowl-1	60°C·30 min	ND	ND
	95°C·30 min	0.4	ND
Bowl-2	60°C·30 min	ND	0.4
	95°C·30 min	0.3	0.3

ND<0.2 µg/mL

Cd, Pb, As, Sn, Mg, Al, Ti, Cr, Fe, Zn, Ba, Mn, Co, Cu, Ag and Ni were not detected in all samples.

6. 変異原性試験

レックアッセイの結果を Table 5 に示した。すべての試料および溶出条件において H17 および M45 株に生育阻止円は見られず、遺伝毒性は示されなかった。

umu-テストの結果を Table 6 に示した。*umu*-テストはエイムステストに比べ短い時間で結果が得られ、かつ、*umu*-テストおよびエイムステストの結果には約90%という非常に高い相関性が認められている³⁾。そのため、上水・下水試験法の公定法としても採用されている。判定は溶媒対照の2倍以上の吸光度を呈した場合に陽性とされる。今回の試験の結果、陽性と判定された試料はなかったが、汁椀のヘプタン溶出液では代謝活性化法において約1.7倍の発光強度の増加が見られた (Table 6, 溶媒コントロールの発光強度 0.45 ± 0.03 に対し Bowl-2 の発光強度 0.75 ± 0.04)。

本試験で用いた NM2009 株は、TA1535/pSK1002 株

Table 5. Rec-assay of migration solution obtained from polylactic acid food-contact products

Sample	Migration conditions		Diameter of killing zone (mm)		
			M45	H17	M45-H17*
Container	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
	Heptane	25°C·1 hr	—**	—**	—
Bag	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
	Heptane	25°C·1 hr	—**	—**	—
Pack	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
	Heptane	25°C·1 hr	—**	—**	—
Spoon	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
	Heptane	25°C·1 hr	—**	—**	—
Cup	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
	Heptane	25°C·1 hr	—**	—**	—
Bowl-1	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
		95°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
		Heptane	25°C·1 hr	—**	—**
Bowl-2	Water	60°C·30 min	—**	—**	—
		95°C·30 min	—**	—**	—
	20% Ethanol	60°C·30 min	—**	—**	—
		Heptane	25°C·1 hr	—**	—**
AF-2***		0.04 µg/disc	27	22	5
		0.02 µg/disc	23	18	5

* Chemical or sample solution was concluded to exhibit DNA-damaging activity when the diameter of the killing zone was larger in M45 strain than in H17 strain.

** No growth inhibition observed

*** Positive control: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

Table 6. *Umu*-test of migration solution obtained from polylactic acid food-contact products

Sample	Migration conditions	Amount added/assay		β -Galactosidase (Absorbance)	
		(μ L)	(μ g)	S9(-)	S9(+)
Solvent control (DMSO)		4		0.43 \pm 0.01	0.45 \pm 0.03
Container	20% Ethanol	4		0.40 \pm 0.01	0.43 \pm 0.02
	Heptane	4		0.46 \pm 0.03	0.43 \pm 0.02
Bag	20% Ethanol	4		0.40 \pm 0.02	0.41 \pm 0.00
	Heptane	4		0.44 \pm 0.01	0.44 \pm 0.00
Pack	20% Ethanol	4		0.42 \pm 0.01	0.45 \pm 0.05
	Heptane	4		0.49 \pm 0.01	0.53 \pm 0.10
Spoon	20% Ethanol	4		0.43 \pm 0.03	0.43 \pm 0.00
	Heptane	4		0.47 \pm 0.02	0.47 \pm 0.02
Cup	20% Ethanol	4		0.43 \pm 0.02	0.46 \pm 0.01
	Heptane	4		0.46 \pm 0.01	0.52 \pm 0.00
Bowl-1	20% Ethanol	4		0.44 \pm 0.02	0.49 \pm 0.00
	Heptane	4		0.46 \pm 0.02	0.40 \pm 0.07
Bowl-2	20% Ethanol	4		0.51 \pm 0.00	0.49 \pm 0.00
	Heptane	4		0.49 \pm 0.01	0.75 \pm 0.04
AF-2*			0*** 0.003	0.49 \pm 0.05 1.89 \pm 0.30****	— —
2AA**			0*** 0.003	— —	0.64 \pm 0.06 1.78 \pm 0.05****

Each value is expressed as the mean \pm SD ($n=3$).

* Positive control: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

** Positive control: 2-aminoanthracene

*** 10% DMSO was used as the solvent control for AF-2 and 2AA

**** Two-fold or greater compared with the solvent control was considered as positive.

に *O*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を導入したもので、特に芳香族アミン類およびニトロ化合物に高い感受性を示す。ポリウレタン塗装面の材質中には原料のイソシアネート類やそれらが分解したアミン類が存在することが報告されている^{4), *1}。イソシアネート化合物はイソシアネート基が水と反応して容易にアミン基へと変化することが知られており、2,6-トルエンジイソシアネートおよび2,4-トルエンジイソシアネートのイソシアネート基がアミン基になった2,6-トルエンジアミンおよび2,4-トルエンジアミンは *umu*-テストの代謝活性化法において陽性を示す⁵⁾。本汁椀はポリ乳酸の素地にポリウレタン塗装を施したものであることから、これらのイソシアネート類やアミン類が塗装面に存在していたと考えられる。これらは極性が比較的高いことからヘプタンよりも20% エタノールに多く溶出するが⁴⁾、汁椀の20% エタノール溶出液では発光強度の増加が全く見られなかった。これは、試験溶液を調製する際に20% エタノール溶出液を加熱下で窒素を吹き付けて

乾固したことから、イソシアネート類やアミン類が揮散してしまったものと考えられた。そこで、汁椀の20% エタノール溶出液を凍結乾燥後に *umu*-テストに供したところ、代謝活性化法において約1.4倍の発光強度の増加が見られた(データ示さず)。凍結乾燥処理によりイソシアネート類やアミン類が揮散してしまっ可能性もあるが、加熱下での窒素吹き付けに比べて揮散が抑制されたものと考えられる。

以上より、汁椀における発光強度の増加は素地であるポリ乳酸から溶出した化合物によるものではなく塗装面のポリウレタン由来である可能性が考えられた。

結 論

ポリ乳酸はポリエチレンやポリプロピレンなどの汎用プラスチックに比べて耐熱性、耐加水分解性などの特性は劣っているが、原料が植物由来であるためカーボンニュートラルであるとして注目され、市場においてポリ乳酸製器具・容器包装が少しずつではあるが流通するようになってきた。また、ポリ乳酸の欠点である耐熱性を向上させた製品も開発されてきており、今後使用が拡大するものと考えられる。

今回の試験では、ポリ乳酸製の器具・容器包装7試料

*1 河村葉子, 六鹿元雄.

平成19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, 乳幼児用玩具およ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. ポリウレタン製品中のイソシアネートの分析, p. 71-86 (2008).

について食品衛生法における規格試験を含め、種々の試験を行い安全性を評価した。その結果、すべての試料が食品衛生法における規格基準を満たしており、金属の溶出もほとんど見られなかった。

しかしながら、充填剤を多く配合し、さらに塗装を施すことによって本来熱に弱いポリ乳酸の耐熱性を上げている製品については、塗装がはげたりひびが入った場合に金属などの溶出量が急増したり、内部のポリ乳酸の分解が急速に進む恐れがあり、注意を要する。

未知化合物が溶出して健康を害する可能性を検討するために、GC/MSによるピーク検索および2種類の変異原性試験を実施した。その結果、GC/MSにおいて大きなピークは見られなかった。また、変異原性試験では、レックアッセイおよび *umu*-テストの両方においてすべての試料が陰性を示した。*umu*-テストにおいて、汁椀の溶出液が発光強度を若干増加させたが、これは素地であるポリ乳酸からの溶出物によるものではなく、塗装面のポリウレタンによるものと推測された。

謝 辞

本研究は、平成20年度厚生労働科学研究費補助金食品安心・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」により

行った。その内容の一部は、日本食品衛生学会第98回学術講演会（2009年10月、函館）において発表した。

文 献

- 1) Mutsuga, M., Kawamura, Y., Tanamoto, K. Studies on polylactide properties. *Jpn. J. Food Chem.*, **14**, 67-92 (2007).
- 2) Mutsuga, M., Kawamura, Y., Tanamoto, K. Migration of lactic acid, lactide and oligomers from polylactide food-contact materials. *Food Addit. Contam.*, **25**, 1283-1290 (2008).
- 3) Reifferscheid, G. Validation of the SOS/*umu* test using test results of 486 chemicals and comparison with the Ames test and carcinogenicity data. *Mutation Res.*, **369**, 129-145 (1996).
- 4) Inoue, T., Ishiwata, H., Tanimura, A. Toluenediamine: Studies on analytical methods and on migration from polyurethane and polyurethane-coated tableware. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **26**, 326-330 (1985).
- 5) Oda, Y., Yamazaki, H., Watanabe, M., Nohmi, T., Shimada, T. Development of high sensitive *umu* test system: Rapid detection of genotoxicity of promutagenic aromatic amines by *Salmonella typhimurium* strain NM2009 possessing high *O*-acetyltransferase activity. *Mutation Res.*, **334**, 145-156 (1995).

報 文

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

(平成 22 年 4 月 26 日受理)

六鹿元雄^{1,*} 山口未来¹ 大野浩之² 河村葉子¹

Migration of Monomers and Primary Aromatic Amines from Nylon Products

Motoh MUTSUGA^{1,*}, Miku YAMAGUCHI¹, Hiroyuki OHNO² and Yoko KAWAMURA¹¹ National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan;² Nagoya City Public Health Research Institute: 1-11 Hagiya-cho, Mizuho-ku, Nagoya 467-8615, Japan; * Corresponding author

Migration of 2 kinds of monomer and 21 kinds of primary aromatic amines (PAAs) from 21 kinds of nylon products such as turners, ladles and wrap film were determined. Samples were classified as regards materials by mean of pyrolysis-GC/MS. One sample was classified as nylon 6, 15 samples as nylon 66 and three samples as nylon 6/66 copolymers, while two samples were laminate of nylon 6 with polyethylene or polypropylene. All of the nylon 66 samples contained a small amount of ϵ -caprolactam (CPL), which is the nylon 6 monomer. Migration levels of monomers and PAAs at 60°C for 30 min into 20% ethanol were measured by LC/MS/MS. CPL was detected at the level of 0.015–38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ from all samples, excluding one wrap film sample, and 1,6-hexamethylenediamine was detected at the level of 0.002–0.013 $\mu\text{g}/\text{mL}$ from all nylon 66 samples and one nylon 6/66 sample. In addition 0.006–4.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of 4,4'-diaminodiphenylmethane from three samples, 0.032–0.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of aniline from four samples, 0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of 4-chloroaniline from two samples, and 0.002 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of 2-toluidine and 0.066 mg/mL of 1-naphthylamine from one sample each were detected. The migration levels at 95 or 121°C were about 3 and 10 times the 60°C levels, respectively.

(Received April 26, 2010)

Key words: ナイロン nylon; カプロラクタム caprolactam; ヘキサメチレンジアミン hexamethylenediamine; 芳香族第一級アミン primary aromatic amine; 熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析法 Py-GC/MS; 液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 LC/MS/MS

緒 言

ナイロン (ポリアミド) はアミド結合で重合したポリマーの総称であり、いくつかの種類が存在するが、世界で生産されるナイロンの大部分は ϵ -カプロラクタム (CPL) の重合体であるナイロン 6 と 1,6-ヘキサメチレンジアミン (HDA) とアジピン酸の重合体であるナイロン 66 である (Fig. 1).

ナイロンは機械的強度が優れ、耐熱性があるため、おたまやフライ返しなどの食品用器具に使用される。また、ガスバリア性に優れることから冷蔵冷凍調理品やレトルト食品などの食品包装材にも使用されるが、ヒートシール性がないためナイロンが食品接触層となることは少ない¹⁾。

欧州連合 (EU) では欧州指令 2002/72/EC により食品

に接触する容器包装に使用できるモノマーとして CPL, HDA および ω -ラウロラクタムを認めているが、特定移行限度値 (Specific Migration Limit: SML) をそれぞれ 15 mg/kg, 2.4 mg/kg, 5 mg/kg と設定している。

一方、EU ではナイロン製品に対して頻繁に通関拒否通知や警告通知が出されているが、これは欧州指令 2007/19/EC のプラスチック製品から芳香族第一級アミン類 (PAAs) が溶出してはならない (定量限界: 0.01 mg/kg) という規制に違反するためである*¹。PAAs は主にアゾ色素の原料として使用されるが、発がん性を持つものが多数存在し、IARC は 20 種類の PAAs をグループ 1~2B に分類している。

食品衛生法では、ナイロンの個別規格で 20% エタノール 60°C 30 分での CPL 溶出量を 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下と定めている。一方、ナイロン 66 のモノマーである HDA については溶出しにくく、ナイロン 12 では ω -ラウロラクタムが

* 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 名古屋市衛生研究所: 〒467-8615 名古屋市瑞穂区荻山町 1-11*¹ http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm

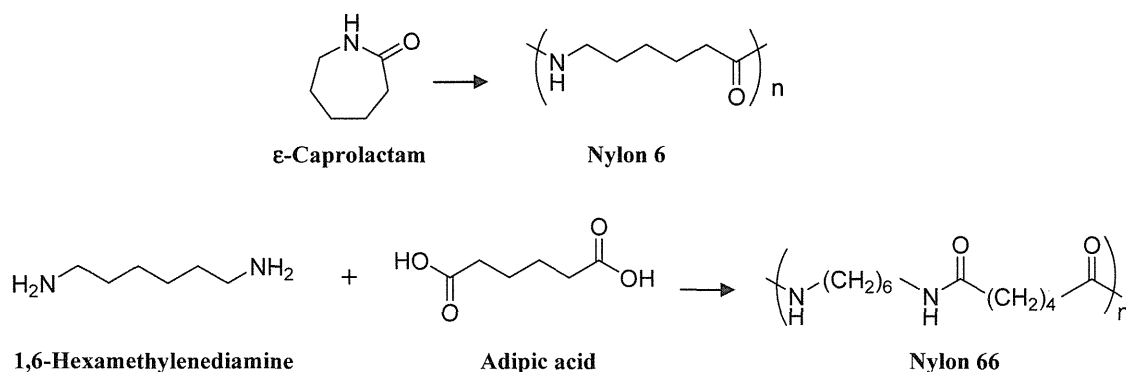


Fig. 1. Structures of nylon monomers and polymers

わずかに溶出するが生産量が非常に少ないといった理由からいずれも規格は設定されていない²⁾。また、器具・容器包装に対して PAAs に関する規制も行われていない。

ナイロン製器具および容器包装の材質に関する調査は見られず、CPL 以外のモノマーや PAAs の溶出についても報告は見られない。

一方、過マンガン酸カリウム消費量および全有機炭素 (TOC) では、ナイロン製品は比較的高い値を示し、いずれかの値が 10 mg/mL を超えるものもあり³⁾、何らかの物質が溶出していることが示唆された。

そこで、食品用ナイロン製品について、熱分解ガスクロマトグラフィーを用いてそのナイロンの種類を判別するとともに、主な溶出物と考えられるモノマーおよび PAAs の溶出量を測定した。

実験方法

1. 試料

2006～2007年に名古屋市内および東京都内で購入したナイロン製器具 21 検体を用いた。内訳は、フライ返し 9 検体、おたま 7 検体、その他 3 検体、およびナイロン層を含むラップフィルム 2 検体 (ポリエチレン (PE)-ナイロン-PE の 3 層、PE-ポリプロピレン (PP)-ナイロン-PP-PE の 5 層)。各試料の生産国、耐熱温度、色および製品に表示されていた材質は材質判別の結果とともに Table 4 に示した。

2. 試薬

モノマーおよび PAA 標準品: 27 種類、化合物名、CAS 番号、欧州指令に収載の有無、試薬の純度、販売会社は Table 1 に記載した。

各標準原液 (1,000 μg/mL): 各標準品 50 mg にメタノールを加えて 50 mL とした。

混合標準原液 (10 μg/mL): 各標準原液を 1 mL ずつ混合し水を加えて 100 mL とした。

混合標準溶液: 混合標準原液を各浸出用液で希釈して 0.001～0.1 μg/mL とした。

3. 装置

熱分解ガスクロマトグラフ質量分析計 (Py-GC/MS): ダブルショットパイロライザー PY-2020iD, フロンティ

ア・ラボ(株)製; GC 6890 Series PLUS, MS 5973 Agilent Technologies 社製

高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC/MS/MS): Acquity Series, Waters 社製

恒温水槽: Thermistor tempet T-80, 東京理化工機(株)製

オートクレーブ装置: Autoclave SS-245, TOMY 精工(株)製

4. 材質判別

1) 試料の調製

試料をナイフで削り取り、その 1～2 mg を熱分解用試料管に入れ Py-GC/MS で分析した。

2) Py-GC/MS 条件

パイロライザー分解管温度: 500°C (0.5 min); 注入口温度: 300°C, スプリット比: 100:1; カラム: DB-1 (30 m × 0.25 mm, 膜厚 0.1 μm, Agilent Technologies 社製); キャリヤーガス: He, 100 kPa (定圧); カラム温度: 50°C (4 min) → 20°C/min → 300°C (10 min); トランスファーライン温度: 280°C; モード: SCAN (*m/z* 20～500)

5. モノマーおよび PAAs 溶出量

1) 試験溶液の調製

試料を切断し面積を測定後、あらかじめ 60°C に加温した浸出用液 (水, 4% 酢酸または 20% エタノール) を 1 cm² 当たり 2 mL 加え、60 および 95°C に設定した恒温水槽内に 30 分間静置した。121°C 30 分間の加熱はオートクレーブ装置により行った。冷後、これらを試験溶液とし LC/MS/MS で測定した。

2) LC/MS/MS 条件

注入量: 10 μL; カラム: Acquity BEH C18 (100 mm × 2.1 mm, 粒径 1.7 μm, Waters 社製); カラム温度: 40°C; 移動相: A 0.1% ギ酸; B 0.1% ギ酸/メタノール, A:B (30:70) (5 min) → 直線グラジエント (5 min) → A:B (5:95) (5 min); 流速: 0.25 mL/min; イオン化法: ESI (+); キャピラリー電圧: 3 kV; イオン源温度: 150°C; 脱溶媒温度: 400°C; 脱溶媒ガス流量: N₂ 600 L/hr; コーンガス流量: N₂ 50 L/hr; コリジョンガス流量: Ar 0.1 mL/min; 測定モード: MRM; コーン電圧, コリジョンエネルギーおよび定量イオン: Table 1 に記載

Table 1. Compound-specific parameters for monomers and PAAs included in the method

Code	Compound	CAS No.	Directive 2002/61/EC* ¹	IARC group* ²	Reagent purity (%)	Reagent supplier* ³	Retention time (min)	Quantitative ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Determination limit ($\mu\text{g/mL}$)
HDA	1,6-Hexamethylenediamine	124-09-4	—	—	>95	A	0.82	117.0 → 99.9	25	12	0.001
CPL	Caprolactam	105-60-2	—	4	>98	A	2.55	114.3 → 114.3	35	10	0.001
OA	4,4'-Oxydianiline	101-80-4	+	2B	>99	A	1.11	200.9 → 107.9	45	22	0.001
AT	2,4-Diaminotoluene	95-80-7	+	2B	>95	A	1.13	122.9 → 108.3	35	15	0.02
MDA	4,4'-Diaminodiphenylmethane	101-77-9	+	2B	>98	A	1.21	199.0 → 105.9	45	26	0.002
ANL	Aniline	62-53-3	—	3	>99	A	1.31	93.8 → 76.8	30	16	0.001
MOA	2-Methoxyaniline	90-04-0	+	2B	>98	A	1.60	124.0 → 108.9	30	15	0.001
TD	2-Toluidine	95-53-4	+	2A	>99	A	1.85	108.0 → 90.9	35	15	0.001
MOBZ	3,3'-Dimethoxybenzidine	119-90-4	+	2B	>95	E	2.03	244.8 → 230.0	35	20	0.005
MBZ	3,3'-Dimethylbenzidine	119-93-7	+	2B	>97	A	2.21	212.8 → 198.4	45	20	0.001
MMDA	3,3'-Dimethyl-4,4'-diaminodiphenylmethane	838-88-0	+	2B	>95	A	2.55	227.0 → 119.9	45	25	0.001
CR	4-Cresidine	120-71-8	+	2B	>97	B	2.59	138.0 → 122.9	30	15	0.001
CA	4-Chloroaniline	106-47-8	+	2B	>98	A	3.71	127.9 → 92.9	35	15	0.001
TMA	2,4,5-Trimethylaniline	137-17-7	+	3	1 mg/mL soln* ⁴	C	4.45	136.0 → 90.9	35	25	0.001
SA	4,4'-Thiodianiline	139-65-1	+	2B	>98	A	4.90	216.9 → 123.9	40	20	0.001
1NA	1-Naphthylamine	134-32-7	—	3	>99	F	6.33	144.0 → 126.9	40	25	0.005
CTD	4-Chlorotoluidine	95-69-2	+	2A	>95	A	6.42	141.9 → 106.9	35	15	0.001
4AP	4-Aminodiphenyl	92-67-1	+	1	—	—	8.22	169.9 → 152.0	45	25	0.001
2AP	2-Aminodiphenyl	90-41-5	—	—	>98	B	9.47	169.9 → 152.0	45	25	0.001
CBZ	3,3'-Dichlorobenzidine	91-94-1	+	2B	>99.9	D	9.55	252.9 → 217.1	45	20	0.005
AAB	4-Aminoazobenzene	60-09-3	+	2B	>95	A	9.96	197.9 → 76.9	35	20	0.005
CMDA	4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline)	101-14-4	+	2A	>98	A	10.00	267.0 → 230.9	45	20	0.005
AAT	2-Aminoazotoluene	97-56-3	+	2B	>97	A	10.83	226.0 → 90.9	35	20	0.005
ANT	2-Amino-4-nitrotoluene	99-55-8	+	3	>95	A	—* ⁵	—	—	—	—
DAA	2,4-Diaminoanisole	615-05-4	+	2B	0.1 mg/mL	C	—* ⁵	—	—	—	—

*¹: List of primary aromatic amines in the Directive 2002/61/EC*²: IARC classification groups: 1=carcinogenic to humans, 2A=probably carcinogenic to humans, 2B=possibly carcinogenic to humans, 3=not classifiable as carcinogenic to humans, 4=probably not carcinogenic to humans*³: A) Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., B) Wako Pure Chemical Industries, Ltd., C) AccuStandard Inc., D) SUPELCO, E) Kanto Chemical Co., Inc., F) Aldrich Chemical Co., Inc.*⁴: Standard is sold only as solution.*⁵: Could not determined.

3) 検量線の作成

混合標準溶液を LC/MS/MS に注入し、得られた各化合物の定量イオンのピーク面積を用いて絶対検量線法により検量線を作成した。

結果および考察

1. モノマーおよび PAAs 試験法の検討

1) 試験対象化合物

溶出量の測定は、モノマーでは CPL および HDA の 2 種類を対象とした。また PAAs では、欧州指令 2002/61/EC の規制対象のうち標準品を入手できた 20 種類のほかに、PAAs の母核である aniline (ANL), 2-naphtylamine (2NA) の異性体である 1-naphtylamine (1NA), IARC でグループ 1 に分類されており入手が困難な 4-aminodiphenyl (4AP) の代替として異性体である 2-aminodiphenyl (2AP) を加えた 23 種類を対象とした (Table 1)。

2) LC/MS/MS 条件の検討

モノマーおよび PAAs の測定は GC/MS でも可能であるが⁴⁾、溶出液中の化合物を有機溶媒への転溶および濃縮操作を行う必要がある。一方、Mortensen ら⁵⁾は LC/MS/MS により溶出液をそのまま注入しても大部分の化合物が数 ng/mL まで検出可能であることを報告している。そのため、今回は試験溶液の調製が簡便な LC/MS/MS を用いて測定を行うこととした。

各化合物のマススペクトルを確認したところ、2-amino-4-nitrotoluene (ANT) および 2,4-diaminoanisole (DAA) は 1 µg/mL の標準溶液を注入しても検出できなかった。これらの化合物は熱や酸により分解しやすいと考えられ、測定対象から除外した。その他の化合物については、標準溶液のマススペクトルからプリカーサーイオンおよびプロダクトイオンを選択した。ただし、CPL については、コリジョンエネルギーを 0~50 eV に変化させてもプリカーサーイオンとして用いた m/z 114.3 以外のイオンは検出されなかった。そのため、 m/z 114.3 をそのまま定量イオンとした。コーン電圧およびコリジョンエネルギーはプロダクトイオンのピーク面積が最も大きくなる値に設定した。

設定した条件で標準溶液を分析したところ、保持時間および定量イオンによりほぼすべての化合物が分別定量可能であった。しかし、4,4'-oxydianiline (OA) と 4,4'-diaminodiphenylmethane (MDA) は保持時間が近く、しかも OA から MDA の定量イオンが検出される。そのため、OA が定量限界以上の場合には MDA の定量値は求めないこととした。それ以外の化合物では定量時の干渉は見られなかった。

ピーク形状、ベースラインの安定性およびブランクとのピーク面積値の比較により各化合物の標準溶液における定量限界を設定した結果、2,4-Diaminotoluene (AT) は定量限界が 0.02 µg/mL と他と比べて高かったが、それ以外の化合物の定量限界は 0.001~0.005 µg/mL であり、十分低い濃度まで測定できることが判明した。そのため、各

化合物は溶出液をそのまま注入して溶出量を測定することとした。各化合物の保持時間および定量限界を Table 1、混合標準溶液のトータルイオンクロマトグラムを Fig. 2 に示した。

3) 溶出試験における安定性

対象化合物の浸出用液中の安定性を調べるため水、4%酢酸および 20%エタノールにモノマーおよび PAAs を 0.005 または 0.05 µg/mL 添加し、95°C で 30 分間加熱したときの各化合物の安定性を検討した。その結果、水は 61~113% でやや低いものもあったが、4%酢酸は 76~114% とほぼ安定であり、20%エタノールでは 95°C で 85~112% と安定であった (Table 2)。

さらに後述の 121°C 30 分間での溶出試験で溶出が認められたモノマーの HDA, CPL および 5 種の PAAs については、水および 20%エタノール 121°C 30 分間でも安定性を検討した。水で HDA, MDA および 1NA が 46, 67 および 57%, 20%エタノールで HDA が 63% と低かったが、その他は 85~114% と安定であった。

4) 溶出試験条件の検討

食品衛生法の CPL 規格では、20%エタノールを浸出用液とし、試験温度は 60°C 30 分間という試験条件のみが規定されている。また、PAAs についての規格は設定されていない。そこで、CPL, HDA および PAAs の溶出試験条件を検討するため、おたま 1, おたま 7 およびヘラ 1 の 3 試料を用い、水、4%酢酸および 20%エタノールを浸出用液として、60°C 30 分間での溶出量を測定し、浸出用液による溶出量の違いを確認した (Table 3)。

その結果、CPL の溶出量は 4%酢酸と 20%エタノールで同程度であり、水ではやや低かった。PAAs は CPL と同様に水で少なく、4%酢酸より 20%エタノールの方がやや多かった。そのため、浸出用液は食品衛生法の CPL 試験法と同じ 20%エタノールとし、全試料の溶出試験を行った。また、高温時の溶出については水と 20%エタノールを用いた。

2. 市販製品の調査

1) 材質判別

各試料を Py-GC/MS により測定し、得られたクロマトグラムをデータ集⁶⁾と比較して材質を判別した (Table 4)。代表的な試料 4 検体の Py-GC/MS/トータルイオンクロマトグラムを Fig. 3 に示した。なお、CPL および HDA 標準品を測定して、保持時間およびマススペクトル (Fig. 4) により試料クロマトグラム中のこれらの化合物を確認した。

おたま 1 (Fig. 3a) では 8~9.5 分にかけて大量の CPL が検出されたが HDA は検出されなかった。そのため、この材質はナイロン 6 と判定された。9 分以降の多数のピークは同定できなかったが、ナイロン 6 のオリゴマーおよび熱分解物と考えられた。

一方、フライ返し 9 検体、おたま 2~6 (Fig. 3b) の 5 検体およびヘラ 2 では HDA がかなり検出され、CPL も少量検出された。そのため、これらの材質はナイロン 66

Table 2. Stability of monomers and PAAs in various simulants for 30 min

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Stability (%)*				
		95°C			121°C	
		Water	4% AcOH	20% EtOH	Water	20% EtOH
HDA	0.005	114 \pm 1	80 \pm 4	101 \pm 3	46 \pm 6	63 \pm 7
CPL	0.005	104 \pm 10	105 \pm 7	100 \pm 7	92 \pm 4	113 \pm 9
OA	0.005	103 \pm 6	101 \pm 2	104 \pm 6	—	—
AT	0.05	86 \pm 3	100 \pm 9	93 \pm 5	—	—
MDA	0.005	61 \pm 7	103 \pm 10	98 \pm 9	67 \pm 3	113 \pm 8
ANL	0.005	78 \pm 10	114 \pm 3	112 \pm 8	109 \pm 5	85 \pm 1
MOA	0.005	104 \pm 9	111 \pm 8	102 \pm 4	—	—
TD	0.005	104 \pm 10	101 \pm 1	86 \pm 4	101 \pm 7	100 \pm 7
MOBZ	0.05	113 \pm 4	103 \pm 7	90 \pm 1	—	—
MBZ	0.005	97 \pm 7	108 \pm 6	92 \pm 4	—	—
MMDA	0.005	88 \pm 5	97 \pm 4	97 \pm 9	—	—
CR	0.005	96 \pm 7	100 \pm 4	85 \pm 2	—	—
CA	0.005	101 \pm 6	105 \pm 9	97 \pm 9	101 \pm 7	114 \pm 8
TMA	0.005	89 \pm 5	92 \pm 8	98 \pm 4	—	—
SA	0.005	101 \pm 8	111 \pm 1	98 \pm 9	—	—
1NA	0.05	86 \pm 4	97 \pm 0	93 \pm 6	57 \pm 5	88 \pm 8
CTD	0.005	80 \pm 3	99 \pm 3	103 \pm 1	—	—
4AP	0.005	68 \pm 3	101 \pm 4	99 \pm 2	—	—
2AP	0.005	64 \pm 5	102 \pm 0	96 \pm 2	—	—
CBZ	0.05	86 \pm 11	110 \pm 6	99 \pm 7	—	—
AAB	0.05	102 \pm 4	76 \pm 4	104 \pm 6	—	—
CMDA	0.05	86 \pm 7	113 \pm 5	100 \pm 8	—	—
AAT	0.05	95 \pm 5	83 \pm 3	96 \pm 3	—	—

*: Each value is the stability (% remaining) of compounds in each condition (mean \pm SD of four trials). 50 or 500 ng of each PAA was spiked in 10 mL of solvent.

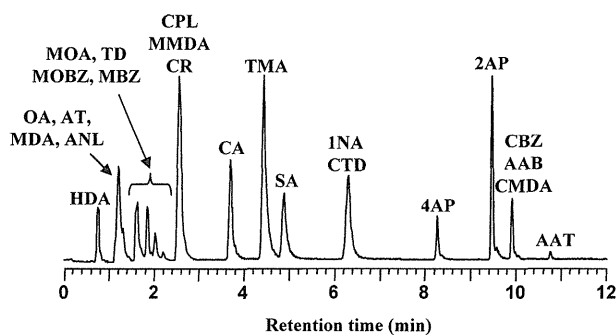


Fig. 2. LC/MS/MS total ion chromatogram (MRM) of standard solution (each 50 ng/mL)

と判定され、ナイロン6が共重合または添加されていると推測された。これらのうち9検体は材質表示でもナイロン66と表記されていた。その他のピークはオリゴマーおよび熱分解物と考えられた。

おたま7、ケーキサーバーおよびヘラ1の3検体はCPLとHDAの両者がはっきりと検出された(Fig. 3c)。そのため、これらはナイロン6とナイロン66がほぼ同量の共重合体(ナイロン6/66)と判定した。

一方、ラップフィルム2検体(Fig. 3d)では大量のCPLが検出されたことからナイロン層の材質はナイロン6と判定された。また、9分以降にはナイロン6、PEおよびPPのオリゴマーや熱分解物と思われるピークが多数検出された。

今回測定した試料21検体のうち、15検体がナイロン

Table 3. Migration of monomers and PAAs from nylon products at 60°C

Sample	Compound	Migration level ($\mu\text{g/mL}$)		
		Water	4% AcOH	20% EtOH
Ladle 1	CPL	20	33	38
	MDA	0.006	0.001	0.006
Ladle 7	CPL	2.8	4.4	5.5
	MDA	2.6	4.4	4.3
	ANL	0.11	0.18	0.23
	TD	0.001	0.001	0.002
	1NA	0.044	0.047	0.066
Paddle 1	CPL	2.6	4.6	5.4

Each value is the mean of three trials.

Other PAAs were not detected.

66, 1検体がナイロン6, 3検体がナイロン6/66共重合体、ラップフィルム2検体はナイロン6とPE、PPとのラミネートであった。これらはナイロンまたはナイロン66と表示されており、表示と分析結果が異なるものはなかった。

2) モノマーおよびPAAsの溶出

市販ナイロン製品21試料を用い、食品衛生法のナイロンの個別規格で定める20%エタノール60°C30分間の溶出量を測定し、その結果をTable 5に示した。なお、OAはいずれの検体からも検出されなかったため、MDAの定量に支障はなく、2種類のモノマーと21種類のPAAsを測定することができた。

Table 4. Nylon sample details and material identification by Py-GC/MS

Sample	Producer	Upper temperature limit (°C)	Color	Material	
				Label	Py-GC/MS
Turner 1	China	200	Black	Ny	66
Turner 2	Japan	180	Black	66	66
Turner 3	Japan	200	Black	Ny	66
Turner 4	Japan	210	Gray	Ny	66
Turner 5	China	180	Gray	Ny	66
Turner 6	Japan	200	Gray	Ny	66
Turner 7	Japan	210	Black	66	66
Turner 8	Japan	220	Black	66	66
Turner 9	Japan	210	Gray	66	66
Ladle 1	China	180	Gray	Ny	6
Ladle 2	Japan	180	Gray	66	66
Ladle 3	China	180	Gray	Ny	66
Ladle 4	Japan	220	Black	66	66
Ladle 5	Japan	210	Black	66	66
Ladle 6	Japan	210	Gray	66	66
Ladle 7	China	210	Black	Ny	6/66
Cake server	China	180	Gray	Ny	6/66
Paddle 1	China	180	Gray	Ny	6/66
Paddle 2	Japan	210	Black	66	66
Wrap film 1	Japan	160	Colorless	PE-Ny-PE	6*
Wrap film 2	Japan	160	Colorless	PE-PP-Ny-PP-PE	6*

6: Nylon 6, 66: Nylon 66, 6/66: copolymer of 6 and 66, Ny: Nylon (the type was not described)

*: Type of nylon part

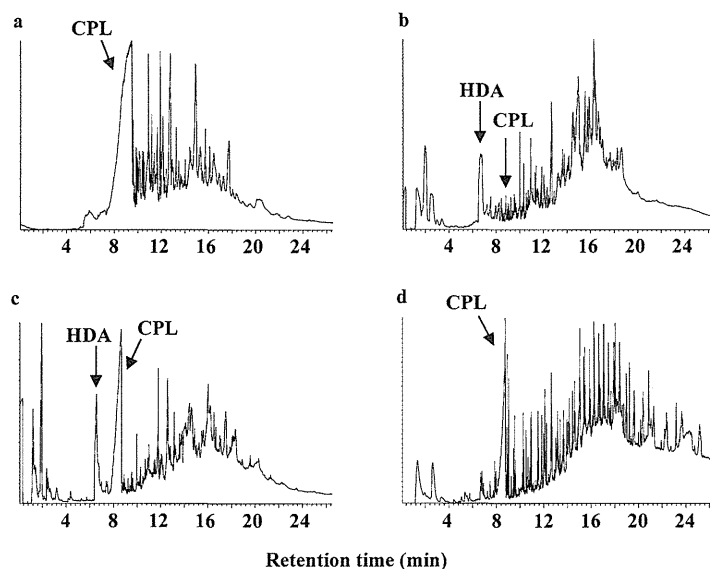


Fig. 3. Py-GC/MS/total ion chromatograms of nylon samples
a: Ladle 1, b: Ladle 7, c: Ladle 6, d: Wrap film 1

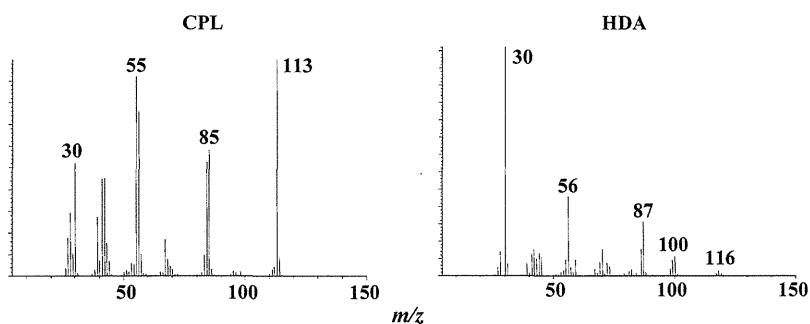


Fig. 4. Mass spectra of ϵ -caprolactam (CPL) and 1,6-hexamethylenediamine (HDA)