

<その2> 揮発性物質試験におけるスチレンのメモリー現象に関する検討

研究代表者	六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者	阿部 裕	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	阿部 智之	(公社)日本食品衛生協会
研究協力者	大野 浩之	名古屋市衛生研究所

A. 研究目的

ポリスチレン (PS) を主成分とする合成樹脂製の器具・容器包装では、モノマー試験として揮発性物質 (スチレン (ST)、トルエン、エチルベンゼン (EB)、イソプロピルベンゼンおよびプロピルベンゼン) の残存量が規制されている。その試験法は、試料をテトラヒドロフラン (THF) で溶解後、内標準としてジエチルベンゼン (DEB) を加えて試験溶液とし、これをガスクロマトグラフ・水素炎イオン化検出器 (GC-FID) で測定し、内標準法により得られた各成分の定量値から製品中に残存する各成分の濃度を算出して適否判定を行う。一般の製品では各成分の濃度の合計が 5 mg/g 以下、発泡 PS (熱湯を用いるものに限る) では各成分の濃度の合計が 2 mg/g 以下、かつ ST および EB の濃度がそれぞれ 1 mg/g 以下とされている。

食品衛生法では、PS を主成分とする合成樹脂とは、基ポリマー中の ST または α -メチルスチレンの含有率が 50% 以上のものと規定されている¹⁾。主に PS を指すが、その他にもアクリロニトリル・スチレン共重合 (AS) 樹脂、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合 (ABS) 樹脂、ポリメタクリルスチレンなどでは ST の含有率が 50% 以上の製品も多く、本規格の対象となる²⁾。

平成 26 年度の厚生労働科学研究において、器具・容器包装等の規格試験法の性能評価の一つとして、PS、AS および ABS 樹脂製ペレットを用いた揮発性物質試験の試験室間共同試験を行った³⁾。その結果、公定法の各性能パラメーターの値は極めて良好であり、規格

試験法として十分な性能を有していることが判明した。さらに、検出器として質量分析計 (MS) を用いた GC/MS 法、気相のみを装置に導入するヘッドスペース (HS) 法についても公定法と同等以上の性能を有していることが明らかとなった。

しかしこのうち GC-FID を用いた公定法および GC/MS 法を実施した一部の機関から、繰り返し試験溶液を測定するうちに ST のメモリー現象がみられる、ST のピーク面積が減少する、シリンジが詰まるといった問題が報告された。これらの試験法は THF に溶解した試料を直接 GC に注入するため、ポリマーや不溶物がシリンジや注入口部分に蓄積し、メモリー現象の発生やシリンジの詰まりの原因になったと考えられた。これらの問題に対しては、注入口ライナーに不活性化したガラスウールを詰めるとともに、頻繁にライナー交換を行うなどの対応策が示されているが^{4, 5)}、問題の発生状況、原因究明、対応策については具体的な検討が行われていない。ポリマーや不溶物を GC に直接注入せず装置の汚染が少ない方法としては HS 法が有効であり、精度も良好であるが^{3, 6)}、公定法の方が試験操作の工程が少なく簡便である。

そこで本研究では、GC-FID を用いた揮発性物質の公定法における問題のうち、特に ST のメモリー現象に注目し、その発生状況や原因を追究し、メモリー現象の低減化を図るための対策案について検討した。さらに、メモリー現象が ST の適否判定にどの程度影響を与えるかについても検討した。

B. 研究方法

1. 試料

AS 試料：AS 樹脂製ピックおよび箸箱

ABS 試料：ABS 樹脂製フォークおよび弁当箱

これらは 2011 年に東京都内で購入し、以前の研究⁷⁾において揮発性物質を定量しており、ST 残存量が既知のものである。

2. 試薬等

DEB：>98%、東京化成工業製

揮発性物質混合標準溶液（5 種）：食品分析用（1,000 mg/L、THF 溶液） 関東化学株式会社製

THF：HPLC 用（安定剤不含） 和光純薬工業製

DEB 試液：DEB 1 mL に THF を加えて 100 mL とし、その 10 mL を採り、さらに THF を加えて 100 mL とした（1 μL/mL）。

石英ウール：石英ウール Fine（1~6 μm）、不活性化処理（シラン処理） ジーエルサイエンス社製

3. 装置

GC-FID：7890A Agilent Technologies 社製もしくは GC-2010 島津製作所製

4. 測定条件

カラム：DB-WAX（30 m×0.25 mm, 0.50 μm, Agilent Technologies 社製）、オープン温度：60 °C、流量：1 mL/min、100 °C、流量：1 mL/min、150 °C、流量：1 mL/min、キャリアガス：He、1.4 mL（定流量）、ライナー：7890A 用 スプリット用、シングルテーパー、ウール入り（PN：5183-4647、Agilent Technologies 社製）、GC-2010 用 スプリット / スプリットレス用、ウール入り（PN：221-75195、島津製作所製） 注入量：1 μL、シリンジ容量：10 μL、シリンジ洗浄溶媒およ

び回数：THF、前後各 3 回、シリンジ共洗い回数：3 回、スプリット比：30：1、注入口温度：220 °C、検出器温度：220 °C、H₂ ガス流量：30 mL/min、空気流量：400 mL/min、メイクアップガス流量：He、23.5 mL/min

5. 試験溶液の調製

公定法に準拠した。ただし、試料や溶媒などの量は、すべて 1/2 のスケールで行った。すなわち、細切した試料 0.25 g を量り、10 mL のメスフラスコに採り、THF を適量加えた。試料が溶けた後、DEB 試液 0.5 mL を加え、次に THF を加え 10 mL としたものを試験溶液とした。

C. 研究結果及び考察

1. 試料の選択

平成 26 年に実施した揮発性物質の試験室間共同試験で用いた検体である PS、AS および ABS 樹脂製ペレットの ST 残存量は、それぞれ約 270、730 および 850 μg/g であった。これらの残存量は規格値と比べると比較的少なく、国立医薬品食品衛生研究所では ST のメモリー現象は発生しなかった。そのため、メモリー現象を再現し種々の検討を行うため、ST 残存量がより多い試料を用いる必要があった。

我々が近年に行った市販製品の調査では、PS、AS および ABS 樹脂製器具・容器包装の ST 最大残存量は、PS 樹脂製品（主に即席めん用）は 350 μg/g⁸⁾、AS 樹脂製品（ピック、カップ等）は 2,800 μg/g、ABS 樹脂製品（ピーラー、スプーン等）は 2,000 μg/g であった⁷⁾。この中で最も ST 残存量が多かった AS 樹脂製ピックから調製した試験溶液を繰り返し測定したところ ST のメモリー現象が確認された。したがってこれを試料として以降の検討を行った。

2. ST メモリー現象の発生とブランク溶液による洗浄効果の確認

ST のメモリー現象の発生を確認するため、AS 樹脂製ピックから調製した試験溶液とブランク溶液 (DEB の濃度が試験溶液と同じになるように DEB 試液を THF で希釈した溶液) を交互にそれぞれ 10 回ずつ連続測定し、ブランク溶液のクロマトグラム上に ST ピークが検出されるか否かを調べた。ただし、ライナー、シリンジなどは測定前にすべて新品に交換し、さらに、注入シリンジを介したブランク溶液へのコンタミを防止するため、試験溶液およびブランク溶液は同一のバイアルからは採取せず、20 個のバイアルを用意しそれぞれから採取して注入した。

表1 試験溶液の連続測定による STメモリー現象の発生

測定試料	ピーク面積値		ピーク面積比 (ST/DEB)
	ST	DEB	
試験溶液-1	3687940	2246711	1.641
ブランク溶液-1	0	2439195	0.000
試験溶液-2	3840251	2328504	1.649
ブランク溶液-2	0	2091902	0.000
試験溶液-3	3787203	2295044	1.650
ブランク溶液-3	0	2049727	0.000
試験溶液-4	3803879	2295476	1.657
ブランク溶液-4	0	2311749	0.000
試験溶液-5	3668367	2189827	1.675
ブランク溶液-5	34633	2178200	0.016
試験溶液-6	3726003	2240044	1.663
ブランク溶液-6	41756	2093087	0.020
試験溶液-7	3688582	2215442	1.665
ブランク溶液-7	46935	2312196	0.020
試験溶液-8	3346378	1967931	1.700
ブランク溶液-8	60238	2195414	0.027
試験溶液-9	3928547	2319610	1.694
ブランク溶液-9	85542	2062354	0.041
試験溶液-10	3802783	2211595	1.719
ブランク溶液-10	98997	2288419	0.043

表1および図1に示すように、5 回目のブランク溶液を測定したときに ST のメモリー現象が確認された。またそのピーク面積値は注入回数が増すごとに大きくなり、ブランク溶液による洗浄効果は確認できなかった。

次いで、ブランク溶液を繰り返し注入することによって ST ピークの低減効果が得られるかを検討した。そこで、10 回連続で試験溶液を測定後、さらにブランク溶液を 5 回連続で測定し、メモリー現象の変化を調べた。表2に示すように、ST のピーク面積値および面積比はともにほとんど変化はなく、ブランク溶液を 5 回連続注入してもメモリー現象は低減しないことが判明した。

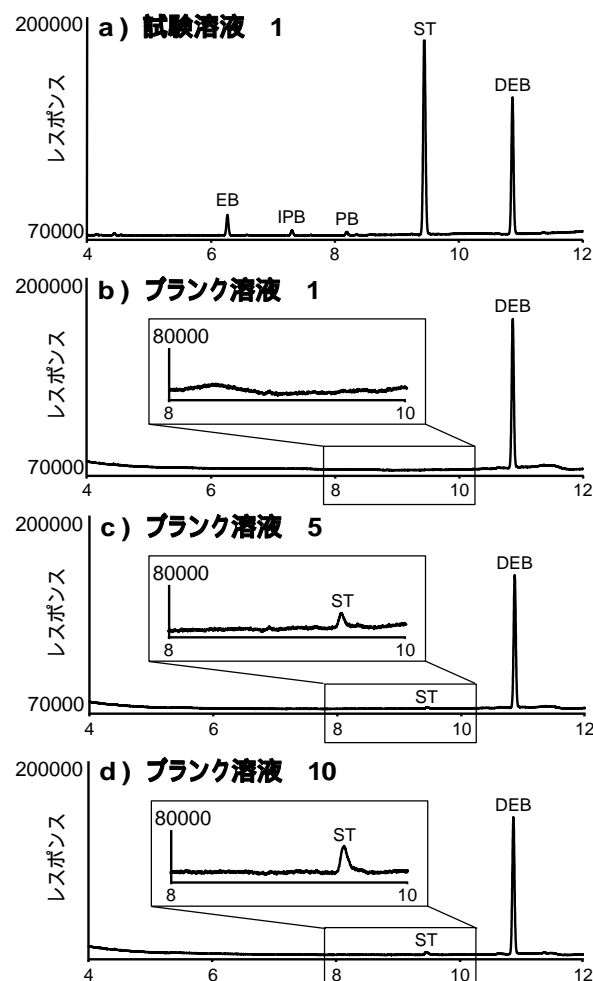


図1 試験溶液(a)およびブランク溶液-1, 5 および10(b~d)のクロマトグラム

EB:エチルベンゼン、IPB:イソプロピルベンゼン、PB:プロピルベンゼン、ST:スチレン、DEB:ジエチルベンゼン
ブランク溶液番号は表1の測定試料番号と同じ。
揮発性物質の保持時間は揮発性物質混合標準溶液と比較して決定した。

表2 ブランク溶液測定によるSTピークの低減効果

測定試料	ピーク面積値		ピーク面積比 (ST/DEB)
	ST	DEB	
ブランク溶液-1	127408	1949131	0.065
ブランク溶液-2	116832	2003500	0.058
ブランク溶液-3	126636	1990500	0.064
ブランク溶液-4	121991	1982112	0.062
ブランク溶液-5	121437	2005048	0.061

試験溶液を10回連続測定後、ブランク溶液を5回連続測定した値

3. カラム温度の昇温プログラムの追加によるメモリー現象の抑制効果

平成26年度の厚生労働科学研究の試験室共同試験では、試験溶液中に含有される添加剤やオリゴマーなどの共存物質をカラム内に残留させない目的で、18機関中11機関が規定のカラム温度に洗浄用の昇温プログラムを追加していた。そこで、昇温プログラム追加によるメモリー現象の抑制効果について検討した。

公定法のカラム温度条件に洗浄用の昇温プログラムを追加した60⁻⁴/min-100⁻¹⁰/min-150⁻²⁰/min-240(10min)の温度条件を用い、試験溶液およびブランク溶液を交互に10回連続測定した。その結果を表3に示した。4回目のブランク溶液を測定したときにSTのメモリー現象が確認され、その後も表1の結果と同様にSTのピーク面積値と面積比はいずれも増加した。したがって、洗浄用の昇温プログラムによるSTメモリー現象の抑制効果はないことが明らかとなった。

4. シリンジおよびライナーの洗浄または交換によるSTメモリー現象の低減効果とその原因

シリンジの洗浄および交換、ライナーの交換およびライナーの石英ウールの交換によりSTピークが低減されるか検討した。

表2の測定後、シリンジを10回以上THF

表3 洗浄用の昇温プログラムを使用したときのSTメモリー現象の抑制効果の確認

測定試料	ピーク面積値		ピーク面積比 (ST/DEB)
	ST	DEB	
試験溶液-1	3818350	2335261	1.635
ブランク溶液-1	0	2259559	0.000
試験溶液-2	3956416	2407641	1.643
ブランク溶液-2	0	2208357	0.000
試験溶液-3	3917514	2391325	1.638
ブランク溶液-3	0	2176105	0.000
試験溶液-4	3902401	2367499	1.648
ブランク溶液-4	26487	2125724	0.012
試験溶液-5	3886595	2359170	1.647
ブランク溶液-5	33488	2078443	0.016
試験溶液-6	3859994	2345094	1.646
ブランク溶液-6	33705	2020293	0.017
試験溶液-7	3897245	2365394	1.648
ブランク溶液-7	61290	2010380	0.030
試験溶液-8	3915017	2342990	1.671
ブランク溶液-8	68744	2048085	0.034
試験溶液-9	4032910	2397862	1.682
ブランク溶液-9	105333	2019227	0.052
試験溶液-10	4037654	2390194	1.689
ブランク溶液-10	124779	2057313	0.061

で洗浄し、再度ブランク溶液を5回連続測定した。その後シリンジを新品に交換してからブランク溶液を同様に5回連続測定した。表4に示すように、シリンジを洗浄してもSTピークの面積値はほとんど減少しなかった。また、シリンジを交換すると1回目の測定でピーク面積値は20%程度減少したが、その後は減少しなかった。

次にライナー交換後にブランク溶液を5回連続測定した。表4に示すように、STピークはライナー交換後に完全に認められなくなった。また、ライナーのウールのみを新品に詰め直すだけでもSTピークは完全に取り除け

表4 シリンジおよびライナー交換等による
ST ピークの低減効果

測定試料	ピーク面積値		ピーク面積比 (ST/DEB)
	ST	DEB	
シリンジ洗浄後			
ブランク溶液-1	133908	1992109	0.067
ブランク溶液-2	130375	2000857	0.065
ブランク溶液-3	125300	2021949	0.062
ブランク溶液-4	137388	2019345	0.068
ブランク溶液-5	132174	2014066	0.066
シリンジ交換後			
ブランク溶液-1	91249	2100970	0.043
ブランク溶液-2	104003	2041055	0.051
ブランク溶液-3	112246	2046102	0.055
ブランク溶液-4	108839	2041813	0.053
ブランク溶液-5	105184	2055012	0.051
ライナー交換後*			
ブランク溶液-1	0	2345853	-

*ブランク溶液-2以降のSTのピーク面積値はすべて0だったため省略した

ることも確認された。したがって、ST メモリー現象の低減に最も効果的なのはライナーまたはウール交換であることが明らかとなった。

これらの結果は、他の試料（AS 樹脂製箸箱、ABS 樹脂製フォークおよび弁当箱）から調製した試験溶液の場合、他のメーカーのGC-FID（島津製作所製）を用いた場合でも同様であることが確認された。

以上の結果から、ST のメモリー現象は、試験溶液を繰り返し測定することによって注入口に蓄積したオリゴマーやポリマーが、それ以降の測定の際に再溶解と熱分解を受けてST に変化することで発生したのではないかと推測された。しかも、オリゴマーやポリマーは測定回数が増えると注入口に大量に蓄積すると考えられ、ブランク溶液を5回連続測定する程度では減少せず、ライナーまたはウール交換しない限りメモリー現象は低減しな

いことが判明した。

5 . ST メモリー現象による適否判定への影響

メモリー現象により検出された ST が適否判定へどのような影響があるか検討した。

表1に示したように、本研究で用いた試料では5回目の測定でSTのメモリー現象が発生した。そのときのSTのDEBに対するピーク面積比は0.016であり、試験溶液のSTのDEBに対するピーク面積比の約1%であった。これは、ST残存量として約30 μg/gに相当する。その後、測定を繰り返すことにより見かけのST残存量は0.6 ~ 23 μg/g程度ずつ増加し、10回目では約70 μg/g相当に達した。以前に実施したASもしくはABS樹脂製器具・容器包装中の揮発性物質の残存量調査において5種類合計の最大値は3,200 μg/gであった⁷⁾。また、揮発性物質の規格値は5種合計で5 mg/gであることから、メモリー現象由来のST残存量が100 μg/g以下であれば大部分の市販製品の適否判定にはほとんど影響しないと考えられた。しかし、発泡PSについてはSTのみの残存量として1 mg/g以下と規定されており、メモリー現象由来のST残存量が大きい場合には適否判定に影響を与える可能性があるため注意が必要である。このような場合は、ライナー交換を行い、STピークが検出されないことを確認し再度試験を行う必要がある。ただし、使用する装置やその状態、さらには測定する試料によってメモリー現象由来のST残存量は大きく異なる可能性がある。よりの確な適否判定や精密な定量を行うためには、必要に応じてブランク溶液を測定し、STメモリー現象の発生の有無を確認するとよい。メモリー現象が確認された場合はメモリー現象由来の残存量を把握し、定量値から差し引く必要がある。

D. 結論

揮発性物質試験において指摘されている ST のメモリー現象について、その発生状況を確認し、低減方法および適否判定への影響を検討した。

メモリー現象の原因は試料を繰り返し測定することによって注入口に蓄積したオリゴマーやポリマーに由来することが推測され、その対処法として、洗浄プログラムの追加や洗浄液の注入、シリンジの洗浄および交換だけでは不十分であり、ライナーやその中のウールを交換する必要があった。

試料によっては数回測定しただけでメモリー現象が確認されたが、その見かけの残存量は規格値から見るとそれほど小さくなく、適否判定への影響はほとんどないと考えられた。しかし、より正確な定量や適否判定を行うためには、必要に応じてブランク液を測定し、メモリー現象の発生の有無やその量を把握する必要がある。

E. 参考文献

- 1) 厚生省環境衛生局長通知環食第 160 号、食品、添加物等の規格基準の一部改正について（昭和 54 年 6 月 29 日）
- 2) 河村葉子、馬場二夫、食品安全セミナー 7、器具・容器包装（ISBN4-8058-2127-2）、中央法規、p 61-66 (2002)
- 3) 六鹿元雄ら、食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究、平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書、17-36 (2015)
- 4) 河村葉子、器具・容器包装の規格基準とその試験法（ISBN4-8058-2663-0）、中央法規、p 61-65 (2006)
- 5) 日本薬学会編、衛生試験法・注解 2015、（ISBN978-4-307-47043-8）金原出版株式会社、p 627-629 (2015)
- 6) 尾崎麻子ら、ヘッドスペース-GC によるポリスチレン製器具・容器包装中の揮発性物質試験の妥当性評価と実態調査（1998~2014 年）、食品衛生学雑誌、56、166-172 (2014)
- 7) Abe, Y. et al, Survey of volatile substances in kitchen utensils made from acrylonitrile-butadiene-styrene and acrylonitrile-styrene resin in Japan, Food Science & Nutrition, 2, 236-243 (2014)
- 8) 平原嘉親ら、ヘッドスペース GC/MS によるポリスチレン製容器入り即席食品に関する揮発性物質の分析、日本食品化学学会第 16 回総会・学術大会 講演要旨集、p 30 (2010)