

食品用器具・容器包装等の安全性確保に資する研究

研究代表者 六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 室長

研究要旨

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗剤（以下、「器具・容器包装等」）の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、新規材質の開発、再生材料の使用、諸外国からの輸入品の増加等により製品が多様化しており、規格試験法の信頼性や市販製品の安全性確保の面で課題が生じている。さらに、令和2年6月より器具・容器包装のポジティブリスト（PL）制度が施行されたが、物質の同定や確認等を目的とした分析法の整備が不十分である。そこで本研究では、規格試験法の性能に関する研究として、総乳酸試験法の性能評価、ジフェニルカーボネート（DPC）、アミン類、メタクリル酸メチル（MMA）試験法の改良分析法に関する検討、市販製品に残存する化学物質に関する研究として、合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索、乳幼児用玩具における過マンガン酸カリウム（ KMnO_4 ）消費量と総有機炭素（TOC）量の関係性の検証、PVC製乳幼児用おもちゃに使用される可塑剤の実態調査、容器の材質、内容物等の違いによる電子レンジ加熱時の温度の確認、PL制度施行に伴う分析法の開発として、PL収載物質を対象としたGC-MS及びLC-MS/MS用の分析情報の収集を実施した。

総乳酸試験法の性能評価では、26試験所が参加する共同実験を実施し、 RSD_R とHorRat値を指標として評価した結果、Codex委員会が分析法承認のために設定している性能規準の指標値を満たしており、規格の判定を行う分析法として妥当であることを確認した。DPC試験法については、ビスフェノールA等も同時に分析可能な改良分析法を構築した。その性能を評価した結果、真度、精度ともに良好な結果が得られ、改良分析法は規格の適否判定を行うための分析法として利用可能で有用であると考えられた。アミン類試験法については選択性が高い質量分析計及びタンデム型質量分析計を利用した改良分析法を構築した。その性能を評価した結果、規格の適否判定を行うための分析法として利用可能で有用であると考えられた。ただし、十分な性能が得られない試験所もあったことから、引き続き器具類への吸着を低減させるための対処法を検討する必要があると考えられた。HPLCを用いたMMA分析法については、試験溶液を調製後速やかにエタノールで10倍以上希釈することとし、MMA標準溶液は20%エタノール溶液からエタノール溶液に変更した。本法は限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能な性能を有していることが判明した。

合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索では、ペレットから無添加試験片を作製した際に増加・生成した化合物は非常に少なく、NIASが大きく増加・

生成することはないと考えられた。一方、5種類の汎用添加剤を練りこんだ試験片の作製工程における含有化合物の変化を確認した結果、種々の化合物が確認された。NIAS 探索には LC-QTOFMS のライブラリーを充実させる必要がある。乳幼児用おもちゃについては、KMnO₄ 消費量及び TOC 量を測定し、これらの相関について検討した。その結果、KMnO₄ 消費量と TOC 量には正の相関がみられ、KMnO₄ 消費量と TOC 量の比 (TOC 量 / KMnO₄ 消費量) は最大で約 3 倍であった。乳幼児用おもちゃを対象とした KMnO₄ 消費量及び TOC 量に関する調査報告は少なく、本成果は規格基準改正の参考情報として活用が期待される。さらに、市販ポリ塩化ビニル製おもちゃに使用される可塑剤を調査した結果、テレフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が主要な可塑剤として使用されており、その他の可塑剤は使用頻度が減少していた。一方、アセチルクエン酸トリブチルからクエン酸トリブチルへの切り替え、アジピン酸エステル系可塑剤の使用の減少及びフタル酸エステル類の一種と推定された新しい可塑剤の使用も確認された。電子レンジ加熱時の液体または液状の内容物の温度を測定し、その温度推移を確認するとともに、電子レンジ加熱する際の適切な加熱時間を検証した。内容物の上部中央が最も温度が上がりやすく、出力数と加熱時間は理論通り反比例の関係にあった。また、材質の違いが加熱対象物の温度に与える影響も小さいと考えられた。一方、加熱対象物の形状や量を変える場合は、加熱時間は対象物の表面積を考慮し、酒類や油分を含む食品を加熱する場合は、加熱しすぎないように加熱時間を調節する必要がある。

PL 制度施行に伴う物質の同定や確認を目的として、PL 収載物質 (候補物質も含む) 約 220 物質を対象に、GC-MS 及び LC-MS/MS 分析を行うための情報を国内の主要分析機器メーカーの協力を得て収集し、公開データベースを作成した。これらの情報を活用することで、標準品が入手出来ない場合でも物質の同定が可能となること期待される。また、測定したい化合物がある場合、GC-MS と LC-MS/MS のどちらを使用したらより高感度に測定できるか、どれくらいの濃度まで測定できるかの参考になると考えられる。

研究分担者

片岡 洋平	国立医薬品食品衛生研究所
阿部 裕	国立医薬品食品衛生研究所
六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗剤 (以下、「器具・容器包装等」) の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、新規材質の開発、再生材料の使用、諸外国からの輸入品の増加等により製品が多様化しており、規格試験法の信頼性や市販製品の安全性確保の面で課題が生じている。さらに、令和 2 年 6 月より器具・容器包装のポ

ジティブリスト (PL) 制度が施行されたが、物質の同定や確認等を行うための分析法の整備が不十分である。そこで本研究では、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性確保及び向上を目的として、規格試験法の性能に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究、並びにポジティブリスト制度施行に伴う分析法の開発を実施した。

食品衛生法では、器具・容器包装等の安全性を確保するための規格基準とともに、その規格基準を満たしているか否かを判定するための試験法が定められている。しかし、多くの試験法については、その性能について十分な評価が行われていない。また、技術の進歩

に伴い、近年では様々な簡便で有用な代替法が開発されており、これらの代替法による試験の実施を希望する試験機関も存在する。そこで、器具・容器包装の規格試験に対する信頼性確保及び向上を目的として、器具・容器包装におけるジフェニルカーボネート(DPC)、アミン類、メタクリル酸メチル(MMA)試験法の改良分析法に関する検討、並びに総乳酸試験法の性能評価を実施した。

器具・容器包装等は合成樹脂、ゴム、金属など多種多様な材質で製造される。製品には原料、添加剤、不純物等の様々な化学物質が残存し、これらの化学物質は食品や唾液を介してヒトを曝露する可能性がある。したがって、器具・容器包装等の安全性を確保するためには、製品に残存する化学物質やその溶出量等を把握することが重要である。そこで、市販製品に残存する化学物質に関する研究として、合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索、乳幼児用玩具における過マンガン酸カリウム(KMnO₄)消費量と総有機炭素(TOC)量の関係性の検証、ポリ塩化ビニル(PVC)製乳幼児用おもちゃに使用される可塑剤の実態調査、容器の材質、内容物等の違いによる電子レンジ加温時の温度の確認を実施した。

平成30年6月の改正食品衛生法の公布により、国際整合的な衛生規制の整備の観点から、令和2年6月より食品用器具・容器包装の原材料である合成樹脂に対するPL制度が施行された。しかし、器具・容器包装の製造に使用される物質の大部分については、その物質の同定や確認等を行うための分析法が未整備である。そこで、PL制度施行に伴う分析法の開発として、PL収載物質を対象としたGC-MS及びLC-MS/MS用の分析情報の収集を実施した。

B. 研究方法

1. 規格試験法の性能に関する研究

1) ポリ乳酸を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装における溶出試験の総乳酸定量分析法の性能評価

①共同実験

室間共同実験の計画及びプロトコール作成には民間の登録検査機関14試験所と公的な衛生研究所など16試験所の計30試験所が参加し、このうち26試験所が試験を実施した。

乳酸を含む溶液(5濃度×各2試料)を参加試験所に濃度非明示で配付し、試料到着後3ヶ月間以内に計画書に従い分析を実施した。

②結果の解析

参加試験所から報告された同濃度2試料の結果をそれぞれの2併行分析の結果として、Codex分析・サンプリング部会の関連文書であるCXG64-1995に示されたプロトコールにしたがい、Microsoft Excel 2016を使用して解析した。解析で併行相対標準偏差(RSD_r%)、室間再現相対標準偏差(RSD_R%)及びRSD_RとHorwitz/Thompson式で予測される室間再現相対標準偏差(PRSD_R%)の比であるHorRat値を算出した。なお、PRSD_Rは各試料の濃度に対応するHorwitz/Thompson式である $PRSD_R \% = 2C^{-0.1505}$ (C:試料濃度)から算出した。また、HorRat値による分析法の性能評価における性能規準の指標としてCodex委員会の手順書⁴⁾を参照した。なおこの手順書では、分析法の性能規準として、HorRat値2以下を設定している。

2) 器具・容器包装におけるジフェニルカーボネート、ビスフェノールA及びアミン類の改良分析法の検討

①改良ジフェニルカーボネート分析法

試料1.0gを遠沈管に入れ、ジクロロメタン10mLを加えて、試料を溶解させた後、アセトン120mLを徐々に滴加し不純物を沈殿させた。これを毎分3,000回転で10分間遠心分離し、上清をナスフラスコに移した。沈殿にアセトン30mLを加えて洗浄後、同様に

遠心分離し、上清を先のナスフラスコに合わせた。ここに 10 vol% ジエチレングリコール-アセトン溶液 2 mL を添加し、40°C の水浴で加温しつつ、エバポレーターにより溶媒を留去した。これに 4 vol% 酢酸・50 vol% アセトニトリルを加えて 20 mL に定容後、1 mL を採り、孔径 0.5 μm 以下のメンブランフィルターでろ過した溶液を測定溶液とした。

HPLC 分析条件

カラム：KinetexC18(内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒子径 5 μm、Phenomenex 社製)

カラム温度：40°C

移動相：A 液 アセトニトリル、B 液 水

グラジエント条件：A/B：30/70-100/0 (0-35 min)- 100/0 (35-45 min)- 30/70 (45-55 min)

流速：1 mL/min

注入量：20 μL

測定波長：217 nm

②改良アミン類分析法

試料 1.0 g を遠沈管に入れ、2 vol% ギ酸・アセトニトリル 1 mL 及びジクロロメタン 10 mL を加えて試料を溶解させた。水を 1 mL 加えた後、攪拌子でよくかき混ぜながらアセトン 120 mL を滴加し不純物を析出させた後、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、上清を 300 mL ナスフラスコに移した。沈殿にアセトン 30 mL を加えて洗浄後、同様に遠心分離し、上清を先の 300 mL ナスフラスコに移した。40°C の水浴で加温しつつ、エバポレーターにより 1 mL 以下まで溶媒を濃縮後、2 vol% ギ酸/アセトニトリル(1:1)で 50 mL に定容した。その 1 mL を採り、孔径 0.5 μm 以下のメンブランフィルターでろ過した溶液を測定溶液とした。

LC-MS/MS 分析条件

カラム：ZIC-HILIC(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3.5 μm、Merck 社製)

カラム温度 40°C

移動相：A 液 12.5 mM ギ酸アンモニウム・0.1 vol% ギ酸、B 液 0.1 vol% ギ酸アセトニ

リル

グラジエント条件：A/B：40/60 (0-10 min)-100/0 (10-15 min)- 40/60 (15-25 min)

流速：0.2 mL/min

注入量：2 μL

イオン化法：ESI(+)

3) メタクリル酸メチル試験法への HPLC の適用

①試料

試料 1 (メタクリル酸樹脂製計量カップ、ネットで購入、熱分解 GC-MS 分析により得られたクロマトグラムから PMMA 製であることを確認) 及び試料 2 (PMMA 製シート、ポリオレフィン等衛生協議会より供与を受けたもの)。

②装置及び測定条件

装置：HPLC (alliance e2695 Separation Module, 2489 UV/VIS Detector, Waters 社製)

カラム：Inertsil ODS-4、4.6×150 mm、粒子径 5 μm (ジーエルサイエンス株式会社製)

移動相：A 液 水、B 液 アセトニトリル
グラジエント：B 液 25% → 10 分 → 60% → 0.1 分 → 100% (7 分)

流速：1.2 mL/min

注入量：25 μL

カラムオープン温度：35°C

測定波長：205 nm

2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究

1) 合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索 (2)

①試料

PP 製の樹脂ペレット及びそれらを加工してシート化した試験片を用いた。試験片は、添加剤を加えずに作製した無添加試験片と、各種添加剤をそれぞれ 1% 添加した添加試験片とし、大きさは 10 cm×20 cm (厚さ 2 mm) とした。

②試験溶液の調製

試料は2~3 mm 角に細切し、その0.50 gにシクロヘキサン・2-プロパノール(1:1)混液10 mLを加え、37°Cの恒温槽中に静置して一晩浸漬後メンブランフィルターでろ過した。ろ液5.0 mLを窒素気流下40°Cで約0.2 mLまで濃縮した。50°Cに加温したアセトニトリルを約4.5 mL加えて十分に攪拌したのち、冷後アセトニトリルを加えて全量を5.0 mLとした。その一部をメンブランフィルターでろ過し、ろ液をGC-MS用及びLC-QTOFMS用の試験溶液とした。

GC-MS 測定条件

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

カラム温度: 40°C (2分間保持) -10°C/min (昇温) -300°C (10分間保持)

注入口温度: 250°C

注入モード: スプリットレス

注入量: 1 µL

キャリアーガス及び流量: He 約1.0 mL/min (定流量、フェナントレン-d10を用いて保持時間を固定)

トランスファーライン温度: 280°C

イオン源温度: 230°C

四重極温度: 150°C

測定モード: SCAN (m/z : 40~800)

LC-QTOFMS 測定条件

カラム: ACQUITY UPLC BEH C18 Column (1.7 µm、2.1 mm×150 mm、Waters 社製)

カラム温度: 35°C

移動相: A液 5% メタノール (10 mM 酢酸アンモニウム)、B液 95% メタノール (10 mM 酢酸アンモニウム)

グラジエント: 移動相 B 濃度 2 - 100% (at 0 - 10 min, linear) - 100% (at 10 - 40 min) - 2% (at 40 - 50 min)

流速: 0.2 mL/min

注入量: 5 µL

イオン化: ESI (+)

サーベイスキャン測定範囲: m/z 50-1200

MS/MS スキャン: データ依存型

キャピラリー温度: 300°C

キャピラリー電圧: 5,500 V

コリジョン電圧: 35V (CE spread 15V)

2) 乳幼児用玩具における過マンガン酸カリウム消費量と総有機炭素量の関係

①試料

乳幼児用おもちゃまたは育児用品 207 検体。内訳は、軟質 PVC 製品 118 検体 (空気注入玩具、人形、ボール、風呂用玩具、浮き輪、その他)、硬質 PVC 製品 8 検体 (その他) 及びポリエチレン (PE) 製品 81 検体 (ボール、ブロック玩具、砂場用玩具、風呂用玩具、その他)。

②試験溶液の調製

試料表面積 1 cm²につき 2 mL の割合の 40°Cに加温した水に試料を浸し、蓋をしたのち時々振とうしながら 40°Cで 30 分間放置した。その後速やかに試料を取り除き室温まで冷却したものを試験溶液とした。試験溶液の調製は一つの試料につき 3 回行い、それぞれ 1 回ずつ測定した。また、試験溶液調製後はすみやかに KMnO₄消費量及び TOC 量の測定に供した。

③ KMnO₄消費量の測定

試験溶液 100 mL を用い、器具又は容器包装一般の試験法の KMnO₄消費量試験法に準じて測定した。なお、おもちゃの規格基準では試験溶液 50 mL を水で 100 mL に希釈したものをを用いることとされているが、今回はできるだけ低濃度まで正確に測定するため、試験溶液は希釈せずに試験に供した。

④ TOC 量の測定

TOC 計: TOC-L CPH (酸化分解方式: 燃焼酸化式、二酸化炭素検出: 非分散赤外吸収方式 (NDIR))、(株) 島津製作所製

試料注入量: 500 µL

試料注入回数: 3 回

燃焼管温度：680°C
燃焼酸化触媒：白金
測定法：NPOC法（酸性化通気処理法）
キャリアーガス（空気）流量：150 mL/min
パージガス（空気）流量：80 mL/min
通気時間：1.5 分間
検出：NDIR

3) ポリ塩化ビニル製おもちゃの使用可塑剤調査（第3報）

①試料

PVC製おもちゃ220検体を用いた。これらは2019及び2020年に主に神奈川県内で購入した。その内訳は、軟質PVC製おもちゃが209検体（指定おもちゃ：146検体、指定外おもちゃ：63検体）、硬質PVC製おもちゃが11検体（指定おもちゃ：9検体、指定外おもちゃ：2検体）、種類別では、人形62検体、風呂用玩具48検体、ボール37検体、空気注入玩具32検体、その他（パズル、縄跳び、水鉄砲、スプリング等）21検体、浮き輪14検体、お面6検体。

②装置及び測定条件

装置：GC-MS (7890A GC System, 5975C inert XL MSD with Triple-Axis Detector (Agilent Technologies 社製)

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

カラム温度：100°C→20°C/min→320°C (10 min)

注入口温度：250°C

トランスファーライン温度：280°C

キャリアーガス：ヘリウム 1.0 mL/min (定流量)

注入量：1.0 µL

注入モード：スプリットレス

イオン化電圧：70 eV

測定モード：同定はスキャンモード (m/z 50～800)

③試験溶液の調製

細切した試料 0.25 g を精秤して 50 mL 容ガラス遠沈管にとり、アセトン・ヘキサン混液 (3 : 7) 15 mL を加えて振り混ぜた後、密栓をして約 40°C の恒温器内で一晩静置した。冷後ろ紙 (No. 5C、125 もしくは 185 mm) を用いてろ過し、アセトンで遠沈管及び漏斗を洗い、得られたろ液及び洗液を 25 mL 容メスフラスコに合わせ、アセトンを加えて定容したものを同定用試験溶液とした。さらにこの液をとり、アセトンで 10～1000 倍に適宜希釈したものを定量用試験溶液とした。

4) 電子レンジ加熱時の液体または液状の内容物の温度

①試料

電子レンジ可能なガラス、陶器、磁器、ストーンウェア (炆器)、合成樹脂、ゴム製のピーカー及びマグカップ 20 種類。

②試薬および装置

水：PURELAB flex 3 (ELGA LabWater 社製) で製造した超純水。

電子レンジ：業務用 (温度センサーを挿入できるように上部に 4 カ所穴あけ加工したもの)、NE-1802 (パナソニック株式会社製)

蛍光式光ファイバー温度計：AMOTH FL-2000 (安立計器株式会社製)

3. ポジティブリスト制度施行に伴う分析法の開発

1) GC-MS による分析

①測定溶液の調製

それぞれの標準品を 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 及び 1 µg/mL となるようにアセトンまたはヘキサンで希釈したものを測定溶液とした。

②測定条件

注入口温度：250°C以上

カラム：5%フェニル-メチルポリシロキサン (MS 用も可) (長さ 30 m 程度、内径 0.25 mm、膜厚 0.1～0.25 µm)

カラム温度：50°C以下-20°C/min-320°C (20 min)

キャリアーガス：He

キャリアーガス流量：1 mL/min 程度（定流量もしくは定圧）

インターフェース温度：280°C程度

注入量：1 µL（スプリットレスもしくはスプリット）

イオン化電圧：70 eV

検出モード：SCAN（範囲指定はしない）及びSIM（物質ごとに設定）

チューニング：オートチューンもしくはDFTPP (Decafluoro-triphenylphosphine) 法

③測定及びデータの収集

上記の測定条件（SCAN モード）でマススペクトルが得られた場合は、適切な定量イオンを選択し、SIM モードによる測定を行った。マススペクトルが得られなかった場合は、条件の最適化等の検討は行わないこととした。

化合物ごとに得られたマススペクトル、マスプロットマトグラム（SCAN 及び SIM）、検量線、測定限界、リテンションインデックス (RI) 等の情報を収集してまとめた。なお、測定限界は、測定溶液のうち、SIM モードにおいてピークが確認された最も濃度が低い溶液のピークの S/N と注入量から、S/N=10 となる量 (ng) を計算で求めた。

2) LC-MS/MS による分析

①測定溶液の調製

それぞれの標準品を 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 及び 1 µg/mL となるようにメタノールまたはアセトニトリルで希釈したものを測定溶液とした。

②測定条件

カラム：C18 または C8 系カラム

カラム温度：40°C

移動相：A 液 5 mM ギ酸アンモニウム、B 液 5 mM ギ酸アンモニウム/メタノール溶液

グラジエント条件：B 液 5%→直線グラジエ

ント→100%

注入量：2~10 µL

イオン化モード：ESI (+) または ESI (-)
イオン化電圧、温度、ガス流量等：一般的な条件

検出モード：SCAN 及び Multi Reaction Monitoring (MRM)

③測定及びデータの収集

原則としてポジティブモード (Pos) の SCAN モードで測定を行い、マススペクトルが得られた場合は、適切なプリカーサーイオンとプロダクトイオンを選択したのち、MRM モードで測定溶液を測定した。ただし多種の化合物を測定するため、それぞれの化合物に対するコリジョンエネルギー等の最適化は不要とし、Pos で測定できた場合はネガティブモード (Neg) での測定は不要とした。一方、Pos でマススペクトルが得られなかった場合は Neg で測定し、マススペクトルが得られた場合は Pos と同様に MRM モードで測定した。Neg でもスペクトルが得られなかった場合は、条件の最適化等を行わないこととした。

化合物ごとにマススペクトルもしくはマスプロットマトグラム (SCAN 及び MRM)、検量線、測定限界等の情報を収集してまとめた。なお、測定限界は、測定溶液のうち、MRM モードにおいてピークが確認された最も濃度が低い溶液の MRM 測定におけるピークの S/N と注入量から、S/N=10 となる量 (ng) を計算で求めた。

3) 紫外可視吸収スペクトルの測定

①測定溶液の調製

各試薬をメタノールまたはアセトニトリルで適宜希釈した溶液を測定溶液とした。

②測定条件

装置：UV-1800（株式会社島津製作所製）

光源：タングステンヨウ素ランプ

測定波長：200~700 nm

スリット幅：1 nm

吸収セル：石英セル、光路長 10 mm

C. 研究結果及び考察

1. 規格試験法の性能に関する研究

1) ポリ乳酸を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装における溶出試験の総乳酸定量分析法の性能評価

26 試験所から報告された各試料の分析結果を用いて解析した結果、試料原液 1 (濃度：8 µg/mL) では、2 試験所の分析結果が外れ値に該当した。試料原液 2 (濃度：23 µg/mL) 及び試料原液 3 (濃度：30 µg/mL) では、それぞれ 1 試験所の分析結果が外れ値に該当した。試料原液 4 (濃度：42 µg/mL) 及び試料原液 5 (濃度：57 µg/mL) では、それぞれ 5 試験所の分析結果が外れ値に該当し、試料測定溶液の取り違い (2 施設) や検量線用測定溶液の誤調製 (1 施設) が原因と推察される外れ値が存在した。

分析法の性能パラメーターを求めた結果、最終推定された RSD_r は 0.48~2.26%、 RSD_R は 1.00~4.03%であった。最終推定された RSD_r 、 RSD_R の値は、初期推定の値と比較し最大で約 1/15 の値である場合も確認され、外れ値となった分析値は、試験所内及び試験所間のばらつきが大きかった。試料原液 1 から試料原液 5 の HorRat 値は、0.12~0.35 の範囲にあり、Codex 委員会の指標値 2 を下回っていたが、本分析法の工程は単純であることが要因と推察された。

以上の解析結果より、総乳酸定量分析法は、精確な分析法であると考えられた。

2) 器具・容器包装におけるジフェニルカーボネート、ビスフェノール A 及びアミン類の改良分析法の検討

①改良 DPC 分析法の検討

現行の標準溶液では DPC が調製後に分解するため検量線の直線性が悪く、分析値の真度が低いことが指摘されている。そこで、標

準原液及び標準溶液の調製溶媒、室温における標準溶液の分解抑制溶解再沈法における溶媒量、溶媒留去時のキーパー添加に関する検討を行い、DPC だけでなくビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールも同時に分析可能な分析法を構築した。

1 日 2 併行で 5 日間の試験により得られた分析値を解析した結果、DPC は併行精度 0.1~0.3%、室内精度 0.3~0.9%、真度 98~100%と推定され、改良分析法は規格を適否判定する分析法として有用であると考えられた。

②改良アミン類分析法の検討

現行の試験法では、トリエチルアミン (TEA) 及びトリブチルアミン (TBA) をガスクロマトグラフで分析する際、窒素リン検出器 (NPD) での感度が低く、定量性も悪いことが判明している。また、TEA と TBA は第 3 級アミンであるためガラス等への吸着が認められた。そこで、既報及び、環境省の報告書を参考に溶解再沈法における溶媒量、分析器具への吸着抑制、測定機器及び測定条件等を検討し、規格値の 1/5 濃度 (0.2 µg/g) でも定量可能な分析法を構築した。

1 日 2 併行で 5 日間の試験により得られた分析値を解析した結果、LC-MS 法の TEA は併行精度 0.7~3.4%、室内精度 1.2~4.8%、真度 93~98%、TBA は併行精度 0.8~2.4%、室内精度 1.2~4.4%、真度 79~97%と推定され、LC-MS/MS 法の TEA は併行精度 0.4~3.5%、室内精度 1.5~7.3%、真度 93~98%、TBA は併行精度 0.4~2.4%、室内精度 1.8~5.7%、真度 78~97%と推定され、改良分析法は規格を適否判定する分析法として有用であると考えられた。

3) メタクリル酸メチル試験法への HPLC の適用

HPLC の分析条件は、JIS T6501 (義歯床用アクリル系レジン中の MMA モノマーの分析) を参考に、カラムは ODS 系の 15 cm カラ

ム、移動相はアセトニトリルを用いたグラジエント条件、検出波長は 205 nm とした。さらに、MMA は 20%エタノール溶液中で不安定であることが判明したため、試験溶液を調製後速やかにエタノールで 10 倍以上希釈することとし、MMA 標準溶液は 20%エタノール溶液からエタノール溶液に変更した。

限度分析法としての性能を評価した結果、いずれも「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」における限度分析の目標値 ($SI_{ratio} : 0.9-1.0$ 、 $S_{standard} : < 5$ 、 $S_{sample} : < 15$) を満たしていた。さらに、1 日 2 併行で 5 日間分析し、定量分析法としての性能を評価した結果、真度は 98.5 及び 100.5%、 RSD_r は 1.2 及び 0.6%、 RSD_R は 1.9 及び 1.0%であり、改良分析法は規格を適否判定する分析法として有用であると考えられた。

2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究

1) 合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索 (2)

PP ペレット、添加剤及びそれらから作製した試験片に含有される化合物を解析した。なお、PP ペレットと無添加試験片の含有化合物を比較することで、主にペレットから試験片に加工する際に生成したポリマー由来の NIAS を調査した。また、無添加試験片と添加試験片の含有化合物を比較することで添加剤を練りこんで試験片に加工する際に生成する添加剤由来の NIAS を調査した。さらに、添加剤自体に不純物や分解物等の NIAS が含まれている可能性があることから、添加剤由来の NIAS についても測定を行った。

その結果、ペレットから無添加試験片を作製した際に増加・生成した化合物は非常に少なく、ポリマー由来である POH や、ペレットに元々含有されていた添加剤の変化は見られなかった。これより、新たに添加剤を加えずにペレットから試験片に加工する工程におい

ては、NIAS が大きく増加・生成することはないことが示された。一方、5 種類の汎用添加剤を練りこんだ試験片の作製工程における含有化合物の変化を確認した結果、種々の化合物が確認された。その由来として、練りこんだ添加剤に元々含まれていた不純物や添加剤の分解物のほか、由来が不明なものもあった。また、試験片の作製工程において混入が疑われたものもあった。

NIAS を把握するためには測定原理の異なる複数の機器を使用することが重要であることが示された。しかしながら、LC-QTOFMS では、NIAS 探索のためのライブラリーの整備が不十分であり、マススペクトルライブラリーの作成や、過去に検出された NIAS 情報についてのデータベース作成が必要であることが示された。

2) 乳幼児用おもちゃにおける過マンガン酸カリウム消費量と総有機炭素量の関係

$KMnO_4$ 消費量は、軟質 PVC 製品 118 検体全ての試料において 0.78~14.3 $\mu g/mL$ であった。一方、硬質 PVC 製品 8 検体及び PE 製品 81 検体ではいずれも定量下限未満であった。TOC 量は、軟質 PVC 製品 118 検体全ての試料において 0.50~17.5 $\mu g/mL$ であった。一方、硬質 PVC 製品 8 検体及び PE 製品 81 検体ではいずれも定量下限未満であった。

軟質 PVC 製品 118 検体から得られた $KMnO_4$ 消費量と TOC 量の相関を検証した結果、両者の回帰直線の相関係数 (r) は 0.639 となり、正の相関が確認された。また、 $KMnO_4$ 消費量と TOC 量の比 (TOC 量/ $KMnO_4$ 消費量) は 0.27~2.6 であった。続いて、厚さが 0.03mm 以下の浮き輪や空気注入玩具のみ (浮き輪等) の場合と、これらを除いたボール、人形、風呂用玩具等のみ (ボール等) の場合とに分け、それぞれの回帰直線から相関係数を求めたところ、いずれにおいても 0.920 となり、強い正の相関が確認された。

3) ポリ塩化ビニル製おもちゃの使用可塑剤調査 (第3報)

軟質PVC製の指定おもちゃ146検体における可塑剤の検出率及び含有量を調査した結果、国内で規制対象の6種のフタル酸エステル(PAEs)は本研究においても検出されなかったが、フタル酸ジイソブチルが検出(検出率4.2%、平均含有量22.2wt%、最大含有量35.4wt%)された。PAEs以外の可塑剤としてはテレフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHTP)が主に使用されており、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸ジイソノニル(DINCH)やアセチルクエン酸トリブチル(ATBC)も引き続き使用されていた。一方、ATBCがクエン酸トリブチル(TBC)へ切り替わっている可能性、アジピン酸エステル系の可塑剤の使用頻度の減少、及びPAEsの一種と推定される新たな可塑剤が使用されている可能性が明らかとなった。

軟質PVC製の指定外おもちゃ63検体における可塑剤の検出率及び含有量を調査した結果、PAEsはこれまでの調査と同じフタル酸ジブチル(DBP)、フタル酸ジイソノニル(DINP)、フタル酸ジイソブチル(DIBP)及びフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)が検出された。PAEs以外の可塑剤としては指定外おもちゃにおいてもDEHTPが主に使用されており、ATBCからTBCへの切り替え、アジピン酸エステル系可塑剤の使用減、PAEsの一種と推定される新しい可塑剤の使用が確認された。

また、1検体あたりの使用量も2009年度調査に比べ低いレベルで推移していることが示唆された。一方、「ATBC-TBC」と記載されている一部の製品ではATBCが使用されていない場合があった。

4) 電子レンジ加熱時の液体または液状の内容物の温度

様々な容量、形状、材質の容器に水を入れ

て電子レンジで加熱し、液体または液状の食品を電子レンジ加熱する際の条件とその設定根拠を検証した。その結果、内容物の上部中央が最も温度が上がりやすかった。出力数と加熱時間は理論通り反比例の関係にあったことから調整が容易であった。また、材質の違いが加熱対象物の温度に与える影響も小さいと考えられた。

一方、加熱対象物の形状や量が変わるとマイクロ波を受ける面積が変わるため、加熱時間は対象物の表面積を考慮して設定する必要がある。また、酒類や油分を含む食品を加熱する場合は、加熱しすぎないように加熱時間を調節する必要がある。

3. ポジティブリスト制度施行に伴う分析法の開発

1) GC-MSによる分析

収集した228物質の標準品のうち、アセトンまたはヘキサンに溶解した201物質を測定対象とした。取得されたマススペクトルを比較したところ、検出されるイオンやその強度比は全メーカーでほとんど同じであり、およそ130物質について測定限界を決定した。さらに、140物質の化合物についてリテンションインデックス(RI)情報を得ることができ、得られたRIは800~4000の間に含まれていた。平均値と標準偏差から相対標準偏差を求めたところ、最大で1.3%でほとんどが1%未満であった。

2) LC-MS/MSによる分析

収集した228物質の標準品のうち、メタノールまたはアセトニトリルに溶解した204物質を測定対象とした。全てのメーカーでPosもしくはNegでマススペクトルが取得できたのは95物質あった。3メーカー以上で取得できたものを加えると154物質となり約75%に相当した。プリカーサーイオンは、ほとんどの場合が $[M+H]^+$ または $[M+NH_4]^+$ に相当する

イオンであった。また、これらのプリカーサーイオンから生成したプロダクトイオンの強度比は異なっていたが、大部分はメーカー間で共通していた。およそ 110 物質について測定限界を決定した。

3) 紫外可視吸収スペクトルの測定

収集した 228 物質の標準品のうち、メタノールまたはアセトニトリルに溶解した 213 物質の紫外可視吸収スペクトルを測定した。分子内に芳香族環を有する化合物は特徴的な吸収を示し、これらの紫外可視吸収スペクトルは LC-UV 測定の際の化合物同定のための参考情報となりえると考えられた。

D. 結論

規格試験法の性能に関する研究では、総乳酸試験法の性能評価、ジフェニルカーボネート (DPC)、アミン類、メタクリル酸メチル (MMA) 試験法の改良分析法に関する検討、市販製品に残存する化学物質に関する研究では、合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索、乳幼児用玩具における過マンガン酸カリウム (KMnO_4) 消費量と総有機炭素 (TOC) 量の関係性の検証、ポリ塩化ビニル (PVC) 製乳幼児用おもちゃに使用される可塑剤の実態調査、容器の材質、内容物等の違いによる電子レンジ加熱時の温度の確認、ポジティブリスト (PL) 制度施行に伴う分析法の開発では、リスト掲載物質を対象とした GC-MS 及び LC-MS/MS 用の分析情報の収集を実施した。

総乳酸試験法の性能評価では、26 試験所が参加する共同実験を実施し、室間再現相対標準偏差、HorRat 値を指標として評価した結果、Codex 委員会が分析法承認のために設定している性能規準の指標値を満たしており、規格の判定を行う分析法であることを確認した。DPC 試験法については、ビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノール

も同時に分析可能な改良分析法を構築した。その性能を評価した結果、真度、精度ともに良好な結果が得られ、改良分析法は規格の適否判定を行うための分析法として利用可能で有用であると考えられた。アミン類試験法については選択性が高い質量分析計及びタンデム型質量分析計を利用した改良分析法を構築した。その性能を評価した結果、規格の適否判定を行うための分析法として利用可能で有用であると考えられた。ただし、十分な性能が得られない試験所もあったことから、引き続き器具類への吸着を低減させるための対処法を検討する必要があると考えられた。HPLC を用いた MMA 分析法については、試験溶液を調製後速やかにエタノールで 10 倍以上希釈することとし、MMA 標準溶液は 20%エタノール溶液からエタノール溶液に変更した。本法は限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能な性能を有していることが判明した。

合成樹脂製器具・容器包装に含有される非意図的添加物質の探索では、ペレットから無添加試験片を作製した際に増加・生成した化合物は非常に少なく、NIAS が大きく増加・生成することはないと考えられた。一方、5 種類の汎用添加剤を練りこんだ試験片の作製工程における含有化合物の変化を確認した結果、種々の化合物が確認された。NIAS 探索には LC-QTOFMS のライブラリーを充実させる必要がある。乳幼児用おもちゃについては、 KMnO_4 消費量及び TOC 量を測定し、これらの相関について検討した。その結果、 KMnO_4 消費量と TOC 量には正の相関がみられ、 KMnO_4 消費量と TOC 量の比 (TOC 量/ KMnO_4 消費量) は最大で約 3 倍であった。乳幼児用おもちゃを対象とした KMnO_4 消費量及び TOC 量に関する調査報告は少なく、本成果は規格基準改正の参考情報として活用が期待される。さらに、市販 PVC 製おも

ちやに使用される可塑剤を調査した結果、テレフタル酸ジ(2-エチルヘキシル)が主要な可塑剤として使用されており、その他の可塑剤は使用頻度が減少していた。一方、アセチルクエン酸トリブチルからクエン酸トリブチルへの切り替え、アジピン酸エステル系可塑剤の使用の減少及びフタル酸エステル的一种と推定された新しい可塑剤の使用も確認された。電子レンジ加熱時の液体または液状の内容物の温度を測定し、その温度推移を確認するとともに、電子レンジ加熱する際の適切な加熱時間を検証した。その結果、内容物の上部中央が最も温度が上がりやすく、出力数と加熱時間は理論通り反比例の関係にあった。また、材質の違いが加熱対象物の温度に与える影響も小さいと考えられた。一方、加熱対象物の形状や量を変える場合は、加熱時間は対象物の表面積を考慮し、酒類や油分を含む食品を加熱する場合は、加熱しすぎないように加熱時間を調節する必要があった。

PL 制度施行に伴う物質の同定や確認を目的として、リスト収載物質(候補物質も含む)約 220 物質を対象に、GC-MS 及び LC-MS/MS 分析を行うための情報を国内の主要分析機器メーカーの協力を得て収集し、公開データベースを作成した。これらの情報を活用することで、標準品が入手出来ない場合でも物質の同定が可能となること期待される。また、測定したい化合物がある場合、GC-MS と LC-MS/MS のどちらを使用したらより高感度に測定できるか、どれくらいの濃度まで測定できるかの参考になると考えられる。

E. 健康被害情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 尾崎麻子、六鹿元雄、岸 映里、阿部智之、阿部 裕、安藤景子、石原絹代、牛山温子、

内田晋作、大坂郁恵、大野浩之、風間貴充、加藤千佳、小林 尚、佐藤 環、柴田 博、関戸晴子、高島秀夫、田中 葵、外岡大幸、花澤耕太郎、山口未来、山田悟志、吉川光英、渡辺一成、佐藤恭子：合成樹脂製の器具・容器包装における溶出試験の精度の検証、食品衛生学雑誌、63、51-61 (2022)

- 2) 阿部 裕、阿部智之、大野浩之、大橋公泰、尾崎麻子、風間貴充、片岡洋平、鈴木公美、永井慎一郎、花澤耕太郎、早川雅人、平林直之、山口未来、渡辺一成、六鹿元雄、佐藤恭子：台所用洗浄剤中のメタノール改良分析法の室間共同実験、食品衛生学雑誌、63、97-103 (2022)

2. 講演、学会発表等

- 1) 山口未来、阿部 裕、大野浩之、片岡洋平、六鹿元雄、佐藤恭子：窒素キャリアーガスを用いたジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会 (2021.6)
- 2) 片岡洋平、阿部智之、阿部 裕、牛山温子、内山陽介、大野浩之、大橋公泰、風間貴充、木村亜莉沙、小林保志、佐藤 環、座間俊輔、高橋良幸、竹澤有紗、田中 葵、照井善光、永井慎一郎、野村千枝、花澤耕太郎、早川雅人、藤吉智治、平林尚之、堀田沙希、宮川弘之、六鹿元雄、村山悠子、四柳道代、渡辺一成、佐藤恭子：器具・容器包装の溶出試験における改良ビスフェノール A 分析法の室間共同実験、日本食品衛生学会第 117 回学術講演会 (2021.10)
- 3) 阿部 裕、阿部智之、大野浩之、大橋公泰、尾崎麻子、風間貴充、片岡洋平、鈴木公美、永井慎一郎、花澤耕太郎、早川雅人、平林尚之、山口未来、渡辺一成、六鹿元雄、佐藤恭子：台所用洗浄剤における改良メタノール分析法の検討および室間共同実験、日本食品衛生学会第 117 回学術講演会 (2021.10)

- 4) 片岡洋平、四柳道代、近藤 翠、阿部 裕、六鹿元雄、佐藤恭子：ポリカーボネート製器具・容器包装のジフェニルカーボネート及びビスフェノール A 分析法の検討、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会 (2021.11)
- 5) 山口未来、阿部 裕、片岡洋平、六鹿元雄、佐藤恭子：電子レンジ調理時の食品の温度変化、第 58 回全国衛生化学技術協議会年会 (2021.11)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし