

図1 0.5 μ g/mL 標準溶液の GC-FID クロマトグラム

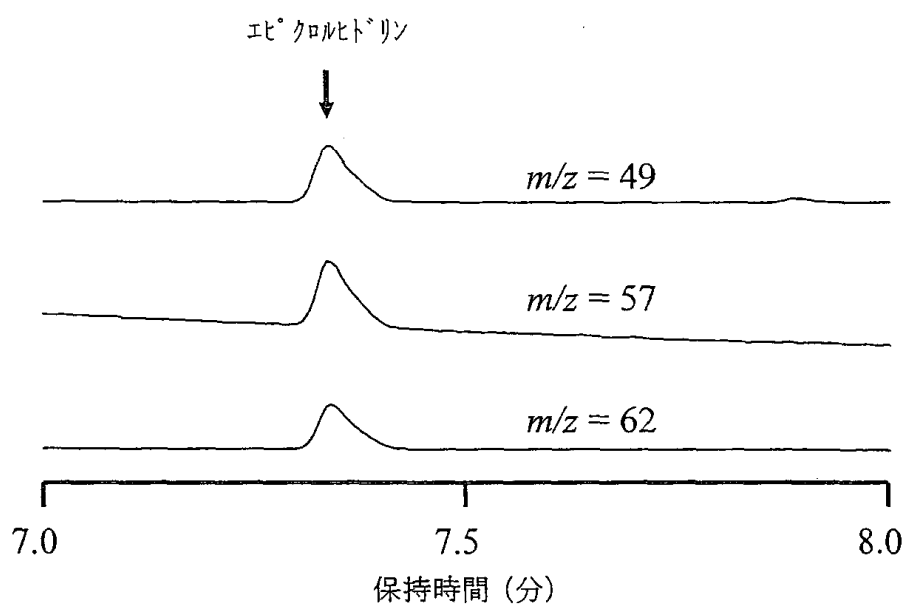


図2 0.5 μ g/mL 標準溶液の GC/MS (SIM) クロマトグラム

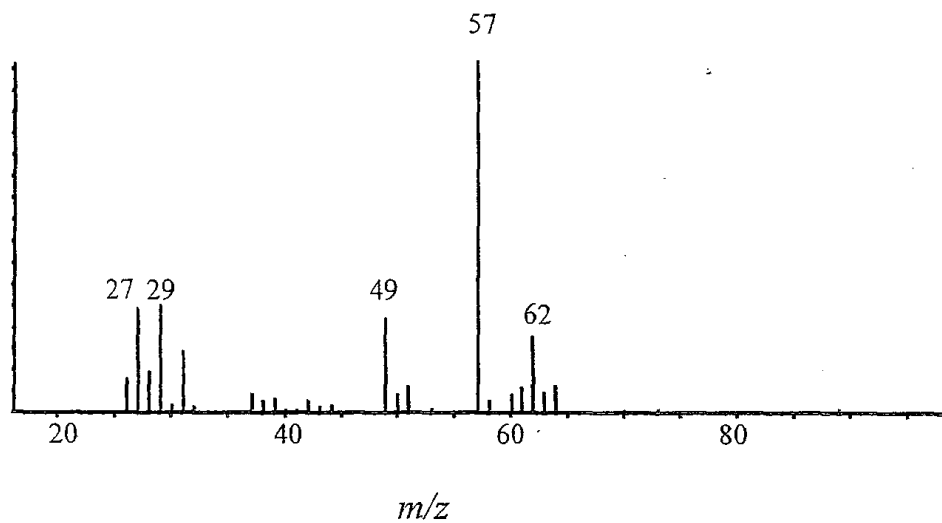


図3 エピククロヒドリンのマススペクトル

表1. エピククロヒドリンの安定性

標準溶液 ($\mu\text{g/mL}$)	測定方法	残存率 (%)	
		缶 ¹⁾	天蓋 ²⁾
0.05	GC/MS(SIM)	103.9 \pm 3.6	104.9 \pm 6.1
0.5	GC-FID	99.9 \pm 1.5	103.3 \pm 1.3
	GC/MS(SIM)	102.0 \pm 2.5	104.5 \pm 1.5

$n = 4$

1) : 缶 (試料D) に標準溶液を満たし、25°Cで2時間放置した。

2) : 天蓋 (試料D) のコーティング面 1cm^2 につき2mLの標準溶液を用い、25°Cで2時間放置した。

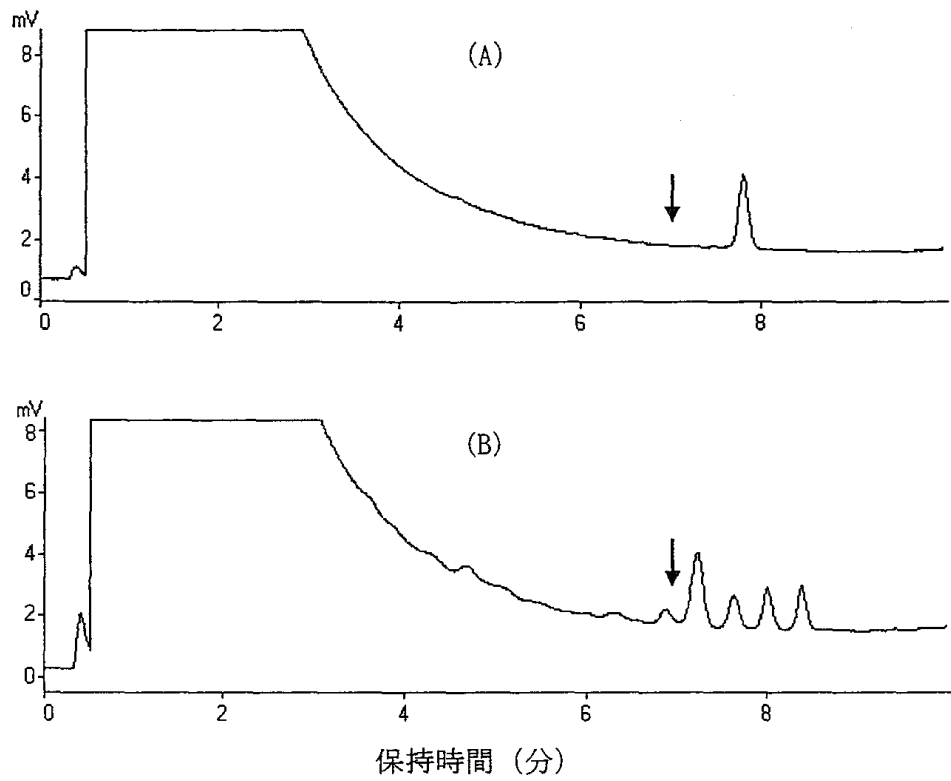


図4 *n*-ペンタンのGC-FIDクロマトグラム

(A) : 和光純薬工業(株)製、(B) : 東京化成工業(株)製

表 2. 試料の測定結果

試料	用途	タイプ	内容量 (mL)	材質		内面コーティング			測定結果 ($\mu\text{g/mL}$)				
				缶		天蓋			缶 ¹⁾		天蓋 ²⁾		
				胴	底蓋	天蓋	缶	天蓋	胴	底蓋	天蓋	天蓋	
A	ビール	2ピース缶	360	AL	AL	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02		
B	炭酸飲料	2ピース缶	360	AL	AL	EP	PVC	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02		
C	レモンティー	3ピース缶	360	ST	ST	AL	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
D	コーヒー飲料	3ピース缶	200	ST	AL	ST	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
E	コーヒー飲料	2ピース缶	200	ST	AL	PET	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02		
F	調理食品 (ゆであずき)	2ピース缶	210	ST	AL	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02		
G	調理食品 (牛肉味付け)	2ピース缶	180	ST	AL	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02		
H	調理食品 (さば味付け)	3ピース缶	210	ST	AL	ST	EP	EP	EP	<0.05	<0.02	<0.05	<0.02

AL : アルミニウム, ST : スチール, EP : エポキシ系樹脂, PET : ポリエチレンテレフタレート, PVC : ポリ塩化ビニル

1) : 缶に*n*-ペンタンを満たして浸出した。

2) : コーティング面 1cm^2 につき2mLの割合の*n*-ペンタンを用いて浸出した。

＜その4＞フェノール試験法の精度向上に関する検討

協力研究者 尾崎麻子、山口之彦、藤田忠雄 大阪市立環境科学研究所

A. 研究目的

食品衛生法のフェノール試験法は、対象とする試料によって4-アミノアンチピリン法と臭素溶液による方法（トリブロモ法）が規定されている。前者は一般の金属缶及びゴム製品のフェノールの溶出試験に採用されている方法で、フェノールと4-アミノアンチピリンをアルカリ性でフェリシアン化カリウム $[K_3Fe(CN)_6]$ の存在下で反応させ、アンチピリン色素を生成させて比色定量する方法である。また、後者はフェノールに臭素を反応させてトリブロモフェノールの黄白色の沈殿の生成を観察する試験法で、ホルムアルデヒドを製造原料とする合成樹脂、発酵乳用等の合成樹脂塗装した金属缶、発酵乳用等の合成樹脂加工したアルミニウム箔のフェノール溶出試験に適用される。

先に規格が制定されたトリブロモ法は、4-アミノアンチピリン法に比べ感度が著しく劣る。また、用いる臭素が劇物であるという問題点を持つ。

そこで我々は、両試験法を比較し、トリブロモ法が適用されているものについて4-アミノアンチピリン法に代替して問題がないか検討を行った。また、4-アミノアンチピリン法に記載されているホウ酸緩衝液¹⁾が溶解しないことから、適切な緩衝液の濃度を摸索した。

B. 研究方法

1. 試料

ゴム製品、メラミン樹脂、フェノール樹脂を材質として塗装したもの及び乳飲料の金属缶を用いた。

2. 試薬

フェノール、臭素、ホウ酸、水酸化ナトリウ

ム、塩酸、アンモニア水、4-アミノアンチピリン：試薬特級、和光純薬工業(株)製

フェリシアン化カリウム：半井化学薬品(株)製

フェノール標準溶液：フェノールを水に溶解し、1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように調製し、必要に応じ希釈して用いた。

臭素溶液：栓にワセリンを塗布した共栓瓶に臭素 2~3 ml を入れ、冷水 100 ml を加え、密栓して振り混ぜその水層を用いた。

4-アミノアンチピリン試液：4-アミノアンチピリン 1.36 g を水に溶かして 1000 ml とした。

フェリシアン化カリウム試液：フェリシアン化カリウム 8.6 g を水に溶かし、強アンモニア試液（アンモニア水）1.8 ml 及び水を加えて 1000 ml とした。

ホウ酸緩衝液¹⁾：第1液；水酸化ナトリウム 4.0 g を水に溶かして 100 ml とした。第2液；ホウ酸 18.5 g を水に溶かして 100 ml とした。第1液 9 容量と第2液 10 容量とを混和した。

ホウ酸緩衝液-2：第1液；水酸化ナトリウム 4.0 g を水に溶かして 100ml とした。第2液；ホウ酸 6.18 g を水に溶かして 100 ml とした。第1液 9 容量と第2液 10 容量とを混和した。

ホウ酸緩衝液-3：第1液；水酸化ナトリウム 0.4 g を水に溶かして 100 ml とした。第2液；ホウ酸 0.618 g を水に溶かして 100 ml とした。第1液 1 容量と第2液 1 容量とを混和した。

3. 装置

pH メーター：株式会社堀場製作所製 M-12

分光光度計：株式会社日立サイエンスシステムズ製 U-2000

4. 試験溶液の調製

それぞれ水を用い、表面積 1 cm^2 あたり溶出

液が 2 ml になるように 60℃で 30 分間溶出させた。ゴム製のほ乳器具は、重量 1 g あたり浸出液が 20 ml になるように 40℃で 24 時間溶出させた。

5. トリブロモ法

試験溶液 5 ml をとり、臭素溶液 5 滴を加えて、一時間放置し、帯黄白色の沈殿が生じたものを陽性とした。

6. 4-アミノアンチピリン法

試験溶液 20 ml をとり、ホウ酸緩衝液 3 ml を加えてよく振り混ぜた後、4-アミノアンチピリン試液 5 ml 及びフェリシアン化カリウム試液 2.5 ml を加え、更に水を加えて 100 ml とし、よく振り混ぜて室温で 10 分間放置した後、波長 510 nm の吸光度を測定した。

C. 研究結果および考察

1. トリブロモ法

フェノール標準溶液を用いて、本法の検出感度を調べた(表 1)。検出感度はおよそ 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

2. 4-アミノアンチピリン法

ホウ酸の溶解度は温度に大きく依存し、10℃で 3.65 g/100 ml、20℃で 4.88 g/100 ml、60℃で 14.9 g/100 ml、80℃で 23.5 g/100 ml である。公定法に記載されている第 2 液(ホウ酸: 18.5 g/100 ml; 3M)を溶解するためには 80℃近くに温度をあげ、保たなければならないが、これは試験操作上、不可能である。そこで、第 2 液が溶解し、かつ緩衝作用を保つことのできるホウ酸緩衝液の濃度を検討した。第 2 液の濃度を 3M から 1M に変更したものを緩衝液-2、第 1 液及び 2 液ともに 0.1M に変更し、さらに混合割合を等量にしたものを緩衝液-3 とした。

フェノール標準溶液を用いて試験したところ、図 1 に示すように、緩衝液-2 及び 3 を用いた際に発色強度に違いはなく、良好な直線性を示す検量線が得られた。どちらも検出感度は 1

$\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。また、どちらも試験一日後、色素は安定であった。よって、試薬使用量が低く、混和割合のわかりやすい緩衝液-3 がより望ましいと考えられる。そこで、以後の検討は緩衝液-3 を用いた。

トリブロモ法の規格基準値は、表 1 よりおよそ 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 前後と概算された。4-アミノアンチピリン法で 1~40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のフェノール標準溶液について試験を行ったところ、良好な直線性が得られた(図 2)。

ゴムの試験溶液は、シリコンゴムを除いて水と同じか弱アルカリ性²⁾、そしてシリコンゴムは酸性を示すものがあると報告されている³⁾。そこで、試験溶液の液性が 4-アミノアンチピリン法の発色強度に及ぼす影響について検討した。蒸留水に 0.01 M 塩酸水溶液もしくは 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液を適宜加え、pH3.0~11.3 に調整した水溶液にそれぞれ 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるようにフェノールを添加し、発色強度を比較した。その結果、図 3 に示したように、pH 3.0~8.5 では発色強度は一定であったが、pH 8.5 を超えると強度が低下する傾向が見られた。よって、酸性の場合は問題ないが、溶出液が強いアルカリ性を示した場合は注意が必要である。

そこで、4-アミノアンチピリン法が適用されているゴム製品(シリコンゴム製 2 試料、イソプレングム、エチレンプロピレングム、ニトリルゴム)と、トリブロモ法が適用されているメラミン樹脂(2 試料)、フェノール樹脂(2 試料)及び乳飲料の金属缶(2 試料)の溶出液の pH を測定した。その結果、ゴム製品の pH は 6.2~7.0、その他の試料は pH5.9~7.9 と全てがほぼ中性であり、強い酸性及びアルカリ性を示す試料はなかった。

この内、4 試料について 4-アミノアンチピリン法で添加回収試験を行った(表 2)。4 試料とも、無添加時は検出限界未満(1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 未満)であった。それぞれ 5 及び 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよ

うに添加したときの回収率は、99~109%及び95~102%と良好であった。

D. 結論

トリブロモ法は検出感度が悪く、反応終結に時間がかかる。その上劇物に指定されている臭素を使用するので、クリーンアナリシスの観点からも好ましくない。今回我々は、トリブロモ法を感度の良い4-アミノアンチピリン法に代替可能か検討を行った。また、4-アミノアンチピリン法に記載されているホウ酸緩衝液が溶解しないことから、適切な緩衝液の濃度について検討した。

- ① トリブロモ法及び4-アミノアンチピリン法の検出感度はそれぞれ25及び1 µg/mlであった。また、4-アミノアンチピリン法では1~40 µg/mlの範囲で検量線に直線性が得られた。
- ② 4-アミノアンチピリン法が適用されているゴム製品、トリブロモ法が適用されているホルムアルデヒドを製造原料とする合成樹脂及び発酵乳用等の合成樹脂塗装した金属缶について、4-アミノアンチピリン法で添加回収試験を行ったところ、回収率は、95~109%と良好であった。
- ③ 4-アミノアンチピリン法に適切なホウ酸緩衝液濃度を検討したところ、ともに0.1Mの第1液、2液を等量混合した緩衝液を用いて、良好に測定することができた。

以上より、トリブロモ法をそのまま4-アミノアンチピリン法に代替することは問題ないと考えられる。但し、ホルムアルデヒドを製造原料とする器具・容器包装におけるフェノールの規格基準は帯黄白色の沈殿を生じてはならないとしているが、これはほぼフェノール25 ppmに相当する。そこで、基準値を「検出してはならない」から、25 ppm以下またはゴム製器具・容器包装と同様に5 ppm以下に変更することが

必要と考えられる。

さらに、フェリシアン化カリウム試液の調製に用いる強アンモニア試液は、アンモニアを約28%含むアンモニア水を指している。しかし、強アンモニア試液という名称は、器具・容器包装や添加物の規格基準の試液の項には記載されておらず、添加物等の他の試験法ではアンモニア水と記載されている。よって、本試験法においても、記載をアンモニア水に変える必要がある。

E. 参考文献

- 1) 厚生省告示第370号、食品・添加物等の規格基準、昭和34年12月28日
- 2) 馬場二夫、楠本一枝、水谷泰久：食品衛生学雑誌、20(5)、396-401(1979)
- 3) 馬場二夫、楠本一枝、水谷泰久：食品衛生学雑誌、20(5)、332-337(1979)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 六鹿元雄、河村葉子、渡辺悠二、米谷民雄、食品衛生学雑誌、44、26-31(2003)

2. 学会発表

- 1) 金子令子、船山恵市、羽石奈穂子、鎌田国広：日本食品衛生学会第84回学術講演会(2002.11)
- 2) 柿本幸子、池辺克彦、堀伸二郎：日本食品衛生学会第85回学術講演会(2003.5)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1 トリプロモ法による試験法の感度

判定	フェノール (μg/ml)						
	20	25	30	35	40	45	50
	陰性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性

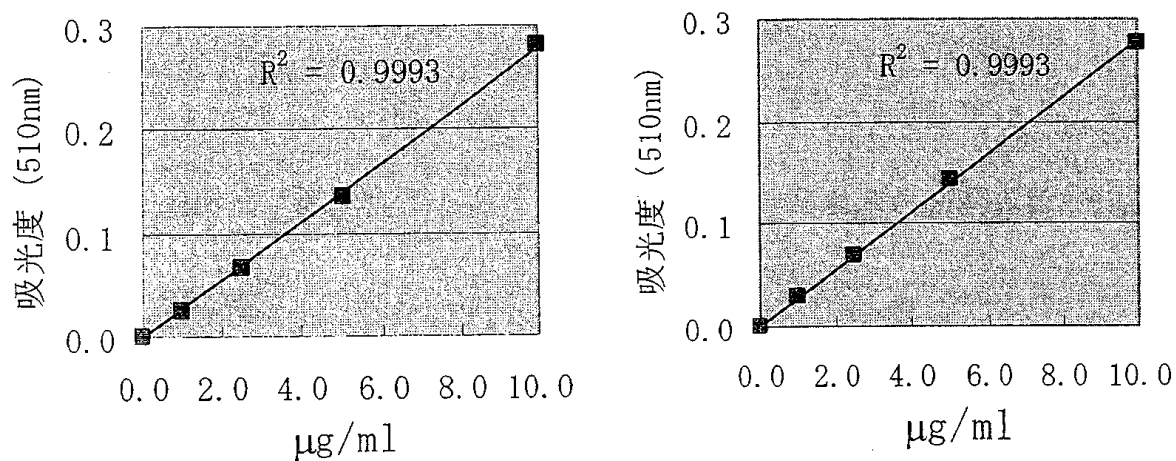


図1 緩衝液 - 2 (左) 及び3 (右) を用いた時の4 - アミノアンチピリン法による検量線

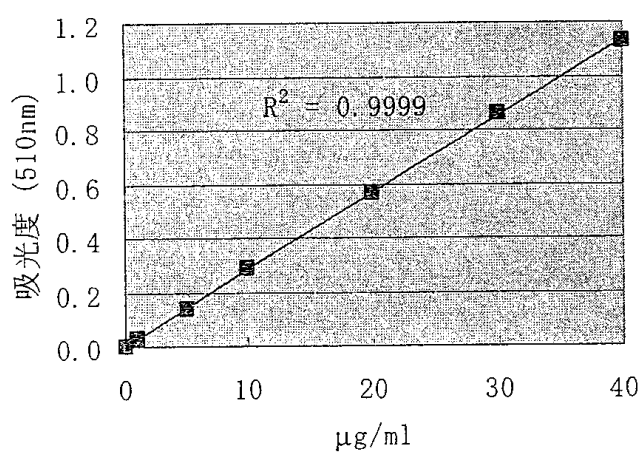


図2 緩衝液 - 3を用いた時の4 - アミノアンチピリン法による検量線

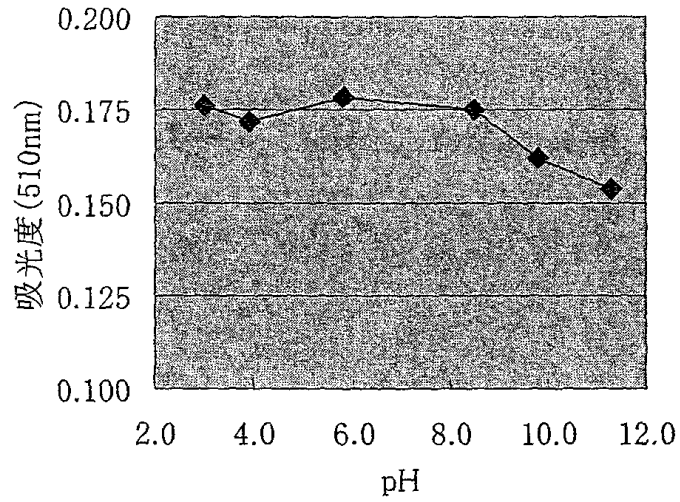


図3 異なるpHの水溶液を用いた時の4-アミノアンチピリン法における発色強度

表2 4-アミノアンチピリン法によるフェノールの添加回収率

試料	添加量 ($\mu\text{g/ml}$)	添加回収率 (%)
シリコンゴム 乳首	5	99 \pm 1.6
	25	95 \pm 1.5
メラミン樹脂 飯椀	5	101 \pm 8.0
	25	101 \pm 4.9
フェノール樹脂 汁椀	5	109 \pm 2.0
	25	102 \pm 1.7
乳飲料金属缶	5	109 \pm 3.1
	25	101 \pm 5.8

n=3, 平均値 \pm SD