プラスチック容器包装に関する衛生学的研究 (第1報)

内部標準法による食品中の塩化ビニルモノマーの分析

(昭和 51 年 11 月 16 日受理)

丹 茂* 岡 田 太 郎*

Hygienic Studies on Container and Packaging of Plastics (I)

Analysis of Vinyl Chloride Monomer in Foods by Internal Standard Method

Shigeru TAN and Taro OKADA

(Institute of Food Hygiene, Japan Food Hygiene Association: 6-1,
Jingu-mae 2-chome, Shibuya-ku, Tokyo)

The determination of migrated vinyl chloride monomer (VCM) in foods by internal standard method was studied.

As internal standard substance, methyl vinyl ether (MVE) was used, VCM and MVE could be concurrently collected into a test tube cooled with dry ice-ethanol by nitrogen bubbling. The concentration of VCM in the cooling test tube was determined by gas chromatography.

VCM added in the samples such as soy sauce, wine, edible oil and jam were determined by the internal standard method and by the absolute calibration curve method. The values of VCM obtained by the proposed method were reasonably greater than those obtained by the absolute calibration curve method.

(Received November 16, 1976)

まえがき

近年、塩化ビニル樹脂の単量体である塩化ビニルモノマー (以下 VCM と略す) が肝臓ガンや骨端溶解症の原因^{1),2)} になることから、塩化ビニル樹脂製の食品容器から食品への溶出が問題となった。そのため、食品中の VCM の分析方法として、直接ガスクロマトグラフへ注入する方法、蒸留法、窒素で追い出す方法、ヘッドスペース法、VCM を 1-クロル-1, 2-ジブロムエタンに転換させて測定する方法およびそれらを用いた分析結果が報告されている^{*1,3)~7)}。

しかしながら、VCM を定量する場合、叶多^{*2}が報告した塩化ビニル樹脂材質中の VCM 測定を除いて、いず

れも絶対検量線法で行っている。

このことから、著者らは、窒素で VCM を追い出す方法を利用し、食品中の VCM が完全に追い出されるか否かについて検討した。すなわち、一定量の VCM と内部標準物質としてメチルビニルエーテル (以下 MVE と略す) をジャム、しょう油などに添加し、VCM 量を絶対検量線法と MVE を使用する内部標準法により比較検討した。

実験方法

1. 試料

固型の食品として、VCM が窒素で追い出されにくいと考えられるジャムの他、厚生省通知“塩化ビニル樹脂製容器包装の取り扱いについて”(環食化第53号, 昭和50年12月23日)に示された食品のうちから、しょう油、食用油、ぶどう酒を選んだ。

2. 試薬

エタノール: 和光純薬(株)製, 精密分析用のものでガスクロマトグラフィーにより VCM 定量に支障のないも

* (社)日本食品衛生協会食品衛生研究所: 東京都渋谷区神宮前 2-6-1

*1 衣田隆一郎: 塩ビ食品衛生協議会第7回セミナーテキスト (1975)

*2 叶多謙蔵: 全国衛生化学技術協議会第12回総会要旨 p. 11 (1975)

Fig. 1. Nitrogen bubbling apparatus for vinyl chloride monomer

Sample, water (or ethanol) and methyl vinyl ether were added in a large test tube and bubbled under flow rate of 60 ml/min at 80°C for 30 min.

のを使用。

テトラヒドロフラン: 和光純薬(株)製, VCM 測定用を使用。

VCM 標準溶液: 関東化学(株)製, (1 μg/ml) を使用。

MVE 標準溶液: 東京化成(株)製の MVE (M459EP) をエタノールに溶解して, エタノール 1 ml 中に MVE 2.2 μg を含有するものを使用。

3. 装置および測定条件

3.1 バブリング装置

バブリング装置を Fig. 1 に示した。なお, 窒素吹き込み管の先端の内径は約 0.5 mm とした。

バブリング条件: 水浴温度, 80°; 窒素ガス流量, 60 ml/min; バブリング時間, 30分間

3.2 プレカット装置^{*3}

(株)島津製作所製 PRC-2 を使用した。本装置はカラム担体の Chromosorb W (80~100 mesh, AW) に対して20%の Ucon Oil LB550X を含むものを内径 3 mm, 長さ 2 m のステンレス製のカラムに充てんしたプレカットカラム (P-col.), 以下, 同じ充てん剤をステンレス製のカラムに充てんした内径 3 mm, 長さ 1 m のメインカラム (M-col.), 内径 3 mm, 長さ 2 m のダミーカ

ラム (D-col.), 内径 3 mm, 長さ 1 m のチョークカラム (C-col.) および内径 3 mm, 長さ 3 m の抵抗管 (R-col.) の5本のカラムより成っており, 各々のカラムは8方コックおよび検出器へ Fig. 2 のように接続されている。

操作法はコックを実線の状態において, 試料を注入口 (INJ. 1) に導入し, あらかじめガスクロマトグラム上から, 気化した目的成分 (VCM および MVE) が P-col. を通過する (M-col. に入る) 時間をチェックしておき, チェックしたところでコックを破線に切り換える。溶媒 (エタノールあるいはテトラヒドロフラン) などの不要成分は P-col. 中にあるが, (A) 流路からのキャリアガスで P-col. 中の成分はバックフラッシュされ, C-col. から放出口 (V-2) に放出される。M-col. 中の目的成分は (B) 流路から D-col. を経て M-col. を流れるキャリアガスによって検出器 (FID-1) に達して検出される。なお, Fig. 2 の D-col., C-col. および R-col. はコック切換時の流量変動をなくすためのカラムである。

3.3 ガスクロマトグラフィーの条件

操作条件 (1)

装置: (株)島津製作所製 GC-4CM (FID 検出器)

Fig. 2. GC setup used for backflushing ethanol or tetrahydrofuran solvent

Table 1. Bubbling Efficiency of VCM and MVE from Foods

Sample		Bubbling efficiency (%)	
		MVE (added 4.4 μg)	VCM (added 2 μg)
Soy sauce	1	93.9	94.1
	2	90.2	86.5
Wine	1	82.5	86.2
	2	93.3	100.0
Edible oil	1	99.0	99.8
	2	104.2	103.5
Jam	1	75.5	77.5
	2	72.9	74.0

Bubbling efficiency of VCM and MVE were quantitatively measured against values (100%) obtained by bubbling standard solution.

^{*3} 安居茂夫, 塩見紘一: (社)日本食品衛生学会第31回講演要旨 p. 28 (1976)

Fig. 3. (A), gas chromatogram of VCM ethanol solution by the common method; (B), gas chromatogram of VCM ethanol solution by the backflushing method

Fig. 4. Gas chromatograms of vinyl chloride monomer and the internal standard substance

(A), standard; (B), soy sauce containing vinyl chloride monomer; 1, VCM; 2, I. S. (MVE).

Operational conditions: column, 20% ucon oil LB 550X on chromosorb W (80~100 mesh, AW); P-col. (2m×3 mm i. d.); M-col. (1m×3 mm i. d.); D-col. (2m×3 mm i. d.); C-col. (1m×3 mm i. d.); R-col. (3m×3 mm i. d.) stainless; column temp., 70°C; injection temp., 170°C; detector temp., 170°C; carrier gas, N₂ 60 ml/min; detector, FID.

カラム: プレカット装置で記述したもの
カラム温度: 70°

検出器および注入口温度: 170°

キャリアーガス流量: N₂, 40 ml/min

操作条件 (2)

装置: (株)島津製作所製 GC-4CM (FID 検出器)

Fig. 5. Gas chromatograms of vinyl chloride monomer and the internal standard substance

(A), standard; (B), jam containing vinyl chloride monomer; 1, VCM; 2, I. S. (MVE).

Operational conditions: column, chromosorb 104 (60~80 mesh) 1.5 m×3 mm i. d. glass; column temp., 120°C; injection temp., 200°C; detector temp., 200°C; carrier gas, N₂ 40 ml/min; detector, FID.

カラム: 内径 3 mm, 長さ 1.5 m のガラス製のものに chromosorb 104 (60~80 mesh) を充てんしたもの
カラム温度: 120°

検出器および注入口温度: 200°

キャリアーガス流量: N₂, 40 ml/min

3.4 ガスクロマトグラフ質量分析計の条件

装置: (株)島津製作所製 GCMS-7000

カラム: ガスクロマトグラフィーの条件のうち操作条件 (2) で記述したもの

Fig. 6. Calibration curve of vinyl chloride monomer

Relative peak height was calculated from the height of vinyl chloride monomer and the internal standard substance (methyl vinyl ether).

カラム温度: 90°

電子電圧: 20/70 eV

電子電流: 60 μ A

イオン加速電圧: 3.0 kV

4. 実験操作

4.1 試験溶液の調製

(1) 内部標準法の場合

液状食品: 試料 20 g, 蒸留水 (ぶどう酒, 食用油についてはエタノール) 40 ml および MVE 標準溶液 2 ml (MVE 4.4 μ g) を Fig. 1 に示した大型試験管にとり, 混和した後速やかに装置を組み立て, 水浴温度 80°, 窒素流量 60 ml/min で30分間バブリングを行い, あらかじめドライアイス-エタノールで冷却 (-78°) した捕集試験管中のエタノール 10 ml に VCM および MVE を捕集し, これを試験溶液とした。

ジャムまたは固型食品: 細切またはすりつぶした試料 20 g を大型試験管にとり, 蒸留水 40 ml を加えて均一に混和した後, MVE 標準溶液 2 ml (MVE 4.4 μ g) を加え, 以下液状食品と同様に操作したものを試験溶液とした。

(2) 絶対検量線法の場合

液状食品, ジャムまたは固型食品共に MVE 標準溶液を添加せずに, 内部標準法の場合と同様に操作したものを試験溶液とした。

(3) 塩化ビニル樹脂容器

厚生省環境衛生局長から都道府県知事あてに出された環食化第53号昭和50年12月23日“塩化ビニル樹脂製容器

Fig. 7. Gas chromatogram of vinyl chloride monomer and internal standard substances 1, vinyl chloride monomer; 2, 1,3-butadiene; 3, methyl vinyl ether; 4, ethylene oxide.

Operational conditions: column, Chromosorb 104 (60~80 mesh) 1.5 m $\times$ 3 mm i.d. glass; column temp., 110°C; injection temp., 200°C; detector temp., 200°C; carrier gas, N₂ 35 ml/min; detector, FID.

包装の取り扱いについて (通知)” の別添に掲げる試験溶液の調製に準じた。

4.2 ガスクロマトグラフによる定量

ガスクロマトグラフィー用カラムの分配法として20% ucon oil LB550X を, 吸着法として chromosorb 104 を用い, 前記測定条件に従って調整したガスクロマトグラフに試験溶液 10 μ l を注入し, 標準 VCM および標準 MVE と保持時間が一致するピーク高さを測定し, 絶対検量線法および内部標準法による検量線より VCM 量を求めた。また容器中の VCM 測定は試験溶液 10 μ l をガスクロマトグラフに注入し, 絶対検量線法で作成した検量線より VCM 量を求めた。

4.3 検量線の作成

(1) 内部標準法

VCM 標準溶液 1~4 ml (VCM 1~4 μ g) を大型試験管にとり, エタノール 40 ml および MVE 標準溶液 2 ml (MVE 4.4 μ g) を加え, 以下試料の場合と同様に操作する。得られたガスクロマトグラムから内部標準法によるピーク高比により検量線を作成した。

(2) 絶対検量線法

MVE 標準溶液を添加せずに, 内部標準法による検量線の作成と同様に操作し, ピーク高さより検量線を作成した。

4.4 ガスクロマトグラフ-質量分析計による同定

標準 VCM の親ピークの m/e と同位体の親ピークに

対する相対強度および開裂ピークの m/e などを基準にして、VCM の保持時間に相当するピークの同定を行った。

実験結果および考察

1. VCM および MVE の追い出し率

各種食品に VCM 標準溶液 2 ml (VCM $2\mu\text{g}$) および MVE 標準溶液 2 ml (MVE $4.4\mu\text{g}$) を添加し、以下試験溶液の調製に従って操作する。別に、食品を除いたものについても同様に操作し試験溶液を調製する。これらの試験溶液から得られたガスクロマトグラムのピーク高さを比較して VCM および MVE の追い出し率を求めた。結果は Table 1 のとおりであり、食用油については VCM および MVE 標準溶液が食用油と混和不完全のため追い出し率が高く、またジャムの場合は辰濃ら⁹⁾も指摘しているが、粘度が大きい食品のため低い追い出し率を示したと考えられる。このように追い出し率は食品によって変動するが、VCM と内部標準物質の MVE との追い出し率の比がほぼ一定であり、内部標準物質により VCM 量を補正できる傾向にあるため、内部標準法が適用できる。

2. プレカット装置

標準溶液あるいは試験溶液中の VCM または MVE はエタノールあるいはテトラヒドロフランに溶解されている。この試験溶液などをガスクロマトグラフに注入して分析する場合、VCM および MVE が分離したあとと溶媒が出終わるまでに長時間 (70~80分間) を要する。そこで、前述したプレカット装置を用いることにより VCM および MVE が分離したあと、エタノールあるいはテトラヒドロフランをバックフラッシュさせることにより分析時間は約10分間となり、通常のガスクロマトグラフィーと比較するとかなり短縮された (Fig. 3)。

3. ガスクロマトグラフィー

20% Ucon Oil LB550X と Chromosorb 104 によるガスクロマトグラムを Fig. 4, 5 に示した。Ucon Oil LB550X の場合、VCM の保持時間は 2.0 分、内部標準物質のそれは 2.25 分であり、Chromosorb 104 の場合、VCM は 1.8 分、内部標準物質は 2.65 分であった。また、Chromosorb 104 を用いて食用油を分析した際、MVE に相当する保持時間に妨害物質が認められる以外、双方のカラムにおいて、VCM および MVE に相当する保持時間に妨害物質は認められなかった。なお内部標準法によ

Table 2. Internal Standard Substance
(Methyl vinyl ether)

Formula	$\text{CH}_2=\text{CHOCH}_3$
Molecular weight	58.08
Specific gravity	0.75 (20°C)
Boiling point	6.0°C
Melting point	-122.0°C

Fig. 8. Mass spectrum of vinyl chloride monomer

Operational conditions: instrument, Shimadzu GCMS-7000 column. Chromosorb 104 (60~80 mesh) 1.5 m×3 mm i.d. glass; column temp., 90°C; electron energy, 20/70 eV; accelerating voltage, 3.0 kV; trap current, 60 μA .

る検量線は Fig. 6 に示すようにエタノール溶液中、VCM 濃度 $0.1\sim 0.4\mu\text{g/ml}$ の範囲で直線性を示し、定量限界値はエタノール溶液中において $0.1\mu\text{g/ml}$ とした。これを試料中の濃度に換算すると 0.05 ppm に相当する。

4. 内部標準物質の検討

Ucon Oil LB550X と Chromosorb 104 のカラムを用い、内部標準物質として、MVE, 1,3-ブタジエン、エチレンオキサイドをガスクロマトグラフに注入し検討した。Chromosorb 104 を用いたときの、これら、内部標準物質試料のガスクロマトグラムを Fig. 7 に示した。1,3-ブタジエンのピークは VCM の保持時間と近いために、またエチレンオキサイドは VCM の保持時間とは分離するがエタノールの溶媒と重なるために適当でなかった。しかし、Table 2 に示した MVE は VCM と完全に分離し、類似の官能基を有する化合物であり、双方のカラムにおいてもっとも優れているところから MVE を内部標準物質として選定した。

5. ガスクロマトグラフィー質量分析計による同定

VCM に相当する保持時間の成分についてガスクロマトグラフィー質量分析計により、分析を行った結果を Fig. 8 に示した。親イオンは m/e 62 を示し、VCM には、 ^{37}Cl の同位体を含むことから m/e 62 に比べて m/e 64 に、相対強度約 $1/3$ のピークが得られた。このスペクトルは試料中の VCM と一致し、これらの結果から VCM であると同定した。

6. 添加回収実験ならびに絶対検量線法と内部標準法による比較

各種食品に VCM 標準溶液 2 ml (VCM $2\mu\text{g}$) を添加して試験溶液の調製に従って分析を行い、絶対検量線法

Table 3. Recovery of VCM Added to Foods, and Comparison of the VCM Found (ppm) in Soy Sauce, Wine, Edible Oil and Jam by Absolute Calibration Curve and Internal Standard Methods

Sample (added 2 μ g/20 g)		Recovery (%)		VCM found (ppm)	
		A	B	A	B
Soy sauce	1	87	96	0.174	0.192
	2	94	100	0.188	0.200
Wine	1	86	105	0.172	0.210
	2	100	107	0.200	0.214
Edible oil	1	100	101	0.200	0.202
	2	104	99	0.208	0.198
Jam	1	78	103	0.156	0.206
	2	73	102	0.146	0.204

A, absolute calibration curve method; B, internal standard method

Table 4. Contents of Migrated Vinyl Chloride Monomer in Jam

Sample		VCM content (ppm)	
		Container	Jam
Strawberry jam	1	13.4	0.262
	2	8.1	0.073
	3	N. D. ^{a)}	N. D. ^{b)}
	4	N. D.	N. D.
	5	N. D.	N. D.
	6	N. D.	N. D.
Orange marmalade	1	9.1	0.082
	2	N. D.	N. D.
	3	N. D.	N. D.
	4	N. D.	N. D.
	5	N. D.	N. D.
Paste (peanut)	1	N. D.	N. D.
	2	N. D.	N. D.
	3	N. D.	N. D.
Paste (chocolate)	1	N. D.	N. D.
	2	N. D.	N. D.
	3	N. D.	N. D.
	4	N. D.	N. D.

^{a)} below 1 ppm.

^{b)} below 0.05 ppm.

と内部標準法による回収率を求め、双方を比較検討した。その結果は Table 3 に示したとおり、実験を行ったほとんどの食品について内部標準法は絶対検量線法よりも高い値を示した。これは、VCM が窒素のパブリングによって完全には追い出されにくいためと考えられ、内部標準物質により VCM 濃度を補正することがより良

好な分析方法であると思われる。特に、液状の食品よりも固型の食品において内部標準物質を用いる本法は有効であると考えられ、VCM と MVE が妨害物質の影響を受けず、前記パブリング条件に従って操作する限り、一定の比をもって分離するので内部標準物質により補正することが可能であると思われる。

7. 本法を用いたジャム中の VCM 量と移行性

窒素のパブリングで追い出されにくいと考えられる固型の食品としてのジャムは塩化ビニル樹脂で包装されているものが多く、その塩化ビニル樹脂材質中に VCM を含有するものもみられる。そこで、18検体について、塩化ビニル樹脂中の VCM 含有量およびジャム中の VCM 量を測定し、Table 4 に示すような結果を得た。イチゴジャム 1 は輸入品であり、イチゴジャム 2 およびオレンジマーマレード 1 は充てん日 (昭和49年11月、12月) が古く、塩化ビニル樹脂中に残存した VCM がジャム中に移行したのと考えられ、最近充てんされたものについては塩化ビニル樹脂中に VCM が残存していないため、ジャム中への移行も認められなかった。

ま と め

食品中の VCM の測定方法として、内部標準法による定量法を確立した。

内部標準物質としては MVE が良好であり、食品中の VCM を定量する際、窒素のパブリングによって得られる VCM 濃度は内部標準物質を用いる本法により補正できると考えられる。このことは、Table 3 に示したとおり、本法は絶対検量線法よりも良好な回収率を示し、より精度の高い分析方法であると考えられる。

また、本法は食品中の VCM 測定だけでなく塩化ビニル樹脂材質中の VCM 測定にも応用できると思われる。

検量線は 0.1~0.4 μ g/ml の範囲で直線性を示し、定量限界は 0.1 μ g/ml で行った。

なお、本報告の要旨は、日本食品衛生学会第32回学術講演会（1976年10月、岡山）において発表した。

文 献

- 1) 竹内康浩, 馬淵千之: 産業医学, **15**, 385 (1973).
- 2) Viola, P. L., Bigotti, A., Caputo, A.: Cancer Research, **31**, 516 (1971).
- 3) Williams, D. T., Miles, W. F.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., **58**, 272 (1975).
- 4) Breder, C. T., Dennison, J. L., Brown, M. E.: *ibid.*, **58**, 1214 (1975).
- 5) Williams, D. T.: *ibid.*, **59**, 30 (1976).
- 6) Williams, D. T.: *ibid.*, **59**, 32 (1976).
- 7) Rösli, M., Zimmerli, B., Marek, B.: Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg., **66**, 507 (1975).
- 8) 辰濃 隆, 佐藤美恵子, 谷村顕雄: 衛生試報, **94**, 133 (1976).