プラスチック容器包装に関する衛生学的研究 (第2報)

食品中のスチレンモノマーの分析

(昭和 52 年 6 月 10 日受理)

丹 茂* 岡 田 太 郎*

Hygienic Studies on Plastic Containers and Packages (II)

Analysis of Styrene Monomer in Food Content

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 styrene monomer (SM) and ethylbenzene (EB) in foods by mass fragmentography was studied.

The apparatus for the extraction of the migrated substances used was an essential oil distillator shown in Fig. 1. The samples such as noodle-soup and sour milk beverage packed in polystyrene cup. After the sample was placed in a flask, extracting flask was heated in a mantle heater for 60 min, using *n*-pentane as the solvent to collect the migrated substances. After distillation, *n*-pentane layer was transferred in a small test tube quantitatively, SM and EB were determined by mass fragmentography.

The recoveries of SM and EB in noodle-soup and sour milk beverage by the proposed method were at least more than 90%. Analysis of SM and EB in food was simplified by this method, beside the migrated substances were determined without any influences of obstructive substances.

(Received June 10, 1977)

まえがき

ポリスチレンは乳酸菌飲料やカップめんなどの食品容器として使用されている。我が国におけるポリオレフィン等衛生協議会の自主規格によると、ポリスチレン容器中の残存スチレンモノマー（以下 SM と略す）を含めた揮発性成分を 0.5% 以下、また温湯食品用発泡ポリスチレンについては SM、エチルベンゼン（以下 EB と略す）各々 0.1% 以下であって、揮発性成分を 0.2% 以下と規制している。

食品中の SM の分析法として、プレカット装置を用いて直接ガスクロマトグラフへ注入する方法¹⁾や減圧水蒸気蒸留を行って測定する方法²⁾などが報告されており、いずれもガスクロマトグラフィーにより定量が行われている。しかし、食品中に種々の妨害物質が存在するため、ガスクロマトグラフィーにより微量測定を行うこと

は困難であると考えられる。

このことから、著者らは前処理方法として第9改正日本薬局方収載の精油定量器を改良した装置を用い、マスフラグメントグラフィーにより SM および EB の同定、定量を検討した。

実験方法

1. 試料

市販の乳酸菌飲料、カップワントンおよびカップめんを用いた。

2. 試薬および標準溶液

n-ペンタン：和光純薬(株)製、特級品でマスフラグメントグラフィーにより妨害物質を認めないものを使用した。

アセトン：和光純薬(株)製、残留農薬用を使用した。

ジメチルホルムアミド：和光純薬(株)製、吸収スペクトル用を使用した。

SM：和光純薬(株)製、特級品を使用した。シクロペ

* (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

Fig. 1. Distillation apparatus

A, extract flask (1000 ml); B, interior condenser; C, loop; D, exterior condenser; E, extract solvent; F, three-way stopcock; G, mantle heater.

ンタノール (内部標準物質), EB, トルエン, *iso*-プロピルベンゼンおよび *n*-プロピルベンゼン: 東京化成 (株) 製のいずれも特級品を使用した。

揮発性成分標準溶液 (1): SM, EB, トルエン, *iso*-プロピルベンゼンおよび *n*-プロピルベンゼンをアセトンに溶解して, アセトン 1 ml 中に揮発性成分をそれぞれ 100 μ g 含有するように調製した。

揮発性成分標準溶液 (2): SM, EB, トルエン, *iso*-プロピルベンゼン, *n*-プロピルベンゼンおよびシクロペンタノールをジメチルホルムアミドに溶解して, ジメチルホルムアミド 1 ml 中に各揮発性成分をそれぞれ 5~50 μ g およびシクロペンタノールを 100 μ g 含有するように調製した。

SM, EB 混合標準溶液: SM および EB を *n*-ペンタンに溶解して, *n*-ペンタン 1 ml 中に SM および EB をそれぞれ 0.05~0.25 μ g 含有するように調製した。

内部標準溶液: シクロペンタノールをジメチルホルムアミドに溶解して, ジメチルホルムアミド 1 ml 中にシ

クロペンタノールを 1 mg 含有するように調製した。

3. 装置および測定条件

3.1 精油定量装置

精油定量装置を Fig. 1 に示した。

3.2 ガスクロマトグラフィーの条件

装置: (株)島津製作所製 GC-6AM (FID 検出器)

カラム: 内径 3 mm, 長さ 2 m のガラス製のものに Chromosorb W (60~80 mesh, AW-DMCS) のカラム担体に対して25%の PEG 20 M を充てんしたもの

カラム温度: 100°

検出器および注入口温度: 220°

キャリアーガス流量: N₂, 40 ml/min

3.3 ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) の条件

操作条件 (1)

装置: (株)島津製作所製 GC-MS 7000

カラム: ガスクロマトグラフィーの条件で記述したものの

カラム温度: 135°

セパレーター温度: 220°

電子電圧: 20/70 eV

電子電流: 60 μ A

イオン加速電圧: 3.0 kV

操作条件 (2)

装置: (株)島津製作所製 GC-MS 7000

カラム: 内径 3 mm, 長さ 2 m のガラス製のものに Chromosorb W (60~80 mesh, AW-DMCS) のカラム担体に対して10%のシリコン SE-30 を充てんしたもの

カラム温度: 105°

セパレーター温度: 215°

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

乳酸菌飲料: 乳酸菌飲料 100 g に水を加え全量を 200 ml としたものを内容量 1,000 ml のナス型蒸留フラスコに秤取し, 沸騰石を加える。精油定量装置がオーバーフローできるように装置内に少量の水を入れ, *n*-ペンタン 5 ml を正確に加え, Fig. 1 に示した内部冷却器の空気抜き孔に清潔な脱脂綿で緩く栓をして内部冷却器を精油定量装置にセットする。マントルヒーターにより, 3.5 ml/min の蒸留速度で60分間蒸留を行う。蒸留後, 少量の水で内部冷却器上と外部冷却器内を洗い流し, 装置下部の三方コックを開いて *n*-ペンタン層を試験管に採り, 試験溶液とした。

カップワントンおよびカップめん: あらかじめカップワントンあるいはカップめんを熱湯を使用法の指示どおりに加えて3分間放置したあとよくかきまぜ, 液体の全

容量をはかった後、その 200 ml を内容量 1,000 ml のナス型蒸留フラスコに秤取し、以下乳酸菌飲料と同様に操作したものを試験溶液とした。

乳酸菌飲料容器、カップワントン容器およびカップめん容器：容器を細切りし、その 1 g をとり、内部標準溶液 2 ml およびジメチルホルムアミドを加えて溶解し、全量を 20 ml とし、試験溶液とした。

4.2 同定および定量

乳酸菌飲料、カップワントンおよびカップめん：試験溶液 10 μ l を GC-MS に注入し、SM および EB の親イオンの m/e あるいは基準ピークの m/e に固定して得たマスフラグメントグラムにおける保持時間から SM および EB を同定した。

次に、マスフラグメントグラムのピーク高さを測定し、あらかじめ作成した検量線を用いて定量を行った。なお、検量線は SM、EB 混合標準溶液を用いて試験溶液と同様に操作して得たマスフラグメントグラムのピーク高さから絶対検量線法により作成した。

乳酸菌飲料容器、カップワントン容器およびカップめん容器：試験溶液 2 μ l を GC に注入し、揮発性成分とシクロペンタノールのガスクロマトグラムのピーク高比からあらかじめ作成した検量線を用いて定量を行う。なお、検量線は揮発性成分標準溶液 (2) の 2 μ l を GC に注入し、各揮発性成分のピーク高さと内部標準物質のシクロペンタノールのピーク高さを測り、ピーク高比から検量線を作成した。

実験結果および考察

1. 精油定量装置の改良点

本装置は Fig. 1 に示すように、第 9 改正日本薬局方収載の精油定量器の目盛り管の外側に外部冷却器 (Fig. 1. D) を取り付け、また還流冷却器の代わりに内部冷却器 (Fig. 1. B) を用いて外部冷却器に組み込むようにし、冷却効果を高めるようにした。なお、この内部冷却器は目的成分 (揮発性成分) が抽出溶媒によく捕集されるように空気抜き (Fig. 1. C) を小さくした。

2. 抽出溶媒の検討

ガスクロマトグラフィー (GC-FID) により溶媒が始める前に揮発性成分を分離することができる溶媒について検討した。その結果、フェネトールあるいは 2-オクタノールを用いたところ、2-オクタノールは不純物としての妨害ピークが多く、またフェネトールも SM の保持時間のあとにわずかながら不純物としての妨害ピークを認めるため適当でなかった。そこで、溶媒のあとに揮発性成分が分離してくる溶媒としてエチルエーテル、 n -ヘキサン および n -ペンタンについて検討した結果、 n -ペンタンはエチルエーテルおよび n -ヘキサンと比較してテーリングがなく、また揮発性成分をよく溶解させるところから抽出溶媒として n -ペンタンを選んだ。

3. 蒸留時間と回収率の関係

揮発性成分標準溶液 (1) の 5 ml を乳酸菌飲料 100 g に水を加え全量を 200 ml としたものに添加し、またカップめんについてはこれに熱湯を注ぎ、3 分間放置した後の液体部分 200 ml に添加してよく混和させ、以下実験方法 4.1 に従って蒸留時間の検討を行った。蒸留時間を 5 分間から 60 分間まで変化させて蒸留時間による回収率を GC-FID よりみた。その結果、乳酸菌飲料およびカップめんは蒸留時間が長くなるに従いナス型蒸留フラスコ内に炭化がみられるが、乳酸菌飲料およびカップめん双方について、すべての揮発性成分は蒸留時間が長くなるに従って (Fig. 2 および 3) 回収率の上昇がみられ、60 分間の蒸留時間で 90% 以上の回収率が得られるため蒸留時間を 60 分間に設定した。

4. マススペクトル

SM および EB を GC-MS に注入して、実験方法 3.3 の条件下でのマススペクトルを検討した。この結果、SM および EB のマススペクトラムをそれぞれ Fig. 4 および 5 に示した。これによると、SM の場合、親イオンの m/e 104 が基準ピークとなり、SM の同定、定量は親イオンの m/e 104 を固定してマスフラグメントグラフィーを行うことにした。一方、EB は (親イオン-

Fig. 2. Relationship between the distillation times and the recoveries of toluene, ethylbenzene, *iso*-propylbenzene, *n*-propylbenzene and styrene monomer in sour milk beverage

○—○, toluene; ●—●, ethylbenzene; △—△, *iso*-propylbenzene; ▲—▲, *n*-propylbenzene; □—□, styrene monomer.

Operational conditions: column, 25% PEG 20 M on Chromosorb W (60~80 mesh, AW-DMCS) 2 m×3 mm i.d. glass; column temp., 100°C; injection temp., 220°C; detector temp., 220°C; carrier gas, N₂ 40 ml/min; detector, FID

Fig. 3. Relationship between the distillation times and the recoveries of toluene, ethylbenzene, *iso*-propylbenzene, *n*-propylbenzene and styrene monomer in noodle (curry)

○—○, toluene; ●—●, ethylbenzene; △—△, *iso*-propylbenzene; ▲—▲, *n*-propylbenzene; □—□, styrene monomer

Operational conditions are shown in Fig. 2.

15) の m/e 91 が基準ピークとなるため, (親イオン-15) の m/e 91 および親イオンの m/e 106 の双方について m/e 91 および 106 を固定してマスフラグメントグラフィーを行い, EB の同定, 定量を検討した。

5. マスフラグメントグラフィーによる定量

GC カラム充填剤については極性が相違する PEG 20 M と SE-30 の2種を使用した。このため, SM については PEG 20 M と SE-30 の双方とも親イオンの m/e 104 を固定してマスフラグメントグラフィーを行った。一方, EB では PEG 20 M を使用する場合, 親イオンの m/e 106 にだけ固定し, また SE-30 を使用する場合は (親イオン-15) の m/e 91 および親イオンの m/e 106 を固定してマスフラグメントグラフィーを行い検討した。そして, 実験方法 4.2 に従って SM および EB の特徴的な m/e に固定して得たマスフラグメントグラムからピーク高さによる絶対検量線法によって検量線を作成した結果, 絶対量 0.5~2.5 ng の範囲で Fig. 6 に示すようにほぼ直線性を示した。

次に, 乳酸菌飲料における試験溶液を GC-MS に注入して, SM の親イオンの m/e 104 に固定して得たマスフラグメントグラムなどを Fig. 7 および 8 に示した。その結果, PEG 20 M では SM の保持時間は 3.0 分, EB のそれは 1.9 分であった。また SE-30 では SM の保持時間は 2.3 分, EB は 1.9 分であり, SM と EB の分離について比較すると PEG 20 M の方が良い結果が

Fig. 4. Mass spectrum of styrene monomer

Operational conditions: instrument, Shimadzu GC-MS 7000; column, 25% PEG 20 M on Chromosorb W (60~80 mesh, AW-DMCS) 2 m×3 mm i.d. glass; column temp., 135°C; separator temp., 220°C; electron energy 20/70 eV; accelerating voltage, 3.0 kV; trap current, 60 μ A

Fig. 5. Mass spectrum of ethylbenzene

Operational conditions: instrument, Shimadzu GC-MS 7000; column, 10% silicone SE-30 on Chromosorb W (60~80 mesh, AW-DMCS) 2 m×3 mm i.d. glass; column temp., 105°C; separator temp., 215°C; electron energy, 20/70 eV; accelerating voltage, 3.0 kV; trap current, 60 μ A

得られるが, 確認の意味で両カラムを使用して双方のカラムにおける測定値を比較検討した。

また, Fig. 7 および 8 に示されるように, GC カラムにより乳酸菌飲料中の妨害物質は SM の保持時間の前後に分離されるが, SM 量はほぼ同じ値が得られ, SE-30 の方が PEG 20 M よりも若干高い値を示した。このことは EB についても同様な結果を示し, また EB における (親イオン-15) の m/e 91 と親イオンの m/e 106 を固定して得た値を比較すると, カップめん (カレー) の場合だけに食品中の香辛料などの影響により測定値に相違がみられる以外, やはりほぼ同様な結果が得られた。なお, マスフラグメントグラフィーによる定量限界は GC 注入量中の SM および EB の絶対量が 0.5 ng あれば可能である。

6. 市販品の SM と EB の検出

本法を市販試料に適用して得た結果を Table 1 および 2 に示した。その結果, SM は検出されないものから

Fig. 6. Calibration curves for styrene monomer (m/e 104) and ethylbenzene (m/e 106, 91) by mass fragmentography

●—●, styrene monomer (m/e 104);
○—○, ethylbenzene (m/e 106); △—△,
ethylbenzene (m/e 91)

Operational conditions are shown in
Fig. 5.

Fig. 7. Gas chromatogram (A) and mass fragmentogram (B) of styrene monomer (m/e 104) in sour milk beverage (1)

peak (1), styrene monomer; TIM, total
ion monitor

Operational conditions are shown in
Fig. 4.

Fig. 8. Gas chromatogram (A) and mass fragmentogram (B) of styrene monomer (m/e 104) in sour milk beverage (2)

peak (1), styrene monomer; TIM, total
ion monitor

Operational conditions are shown in
Fig. 5.

Table 1. Contents of Migrated Styrene Monomer in Commercial Foods

Sample		SM contents (ppm)		
		Con- tainer	Foods	
			(1)	(2)
Sour milk beverage	A, 1	154	N.D.	N.D.
	2	172	N.D.	N.D.
	B, 1	140	0.008	0.012
	2	140	0.010	0.011
Wantan	1	34	0.003	0.003
	2	35	0.006	0.007
Noodle	1	100	0.024	0.028
	2	50	0.008	0.009
Noodle (curry)	1	120	0.033	0.033
	2	110	0.038	0.041

N.D., below 0.0025 ppm; (1) PEG 20 M for
GC column; (2) SE-30 for GC column.

Table 2. Contents of Migrated Ethylbenzene in Commercial Foods

Sample		EB contents (ppm)			
		Container	Foods		
			(1)	(2)	
				m/e 106	m/e 91
Sour milk beverage	A, 1	108	N.D.	N.D.	N.D.
	2	128	N.D.	N.D.	N.D.
	B, 1	108	0.003	0.005	0.006
	2	110	0.003	0.004	0.005
Wantan	1	286	0.009	0.009	0.011
	2	280	0.021	0.026	0.028
Noodle	1	140	0.015	0.018	0.017
	2	184	0.019	0.018	0.021
Noodle (curry)	1	392	0.143	0.123	0.089
	2	424	0.153	0.138	0.091

N.D., below 0.0025 ppm; (1) PEG 20 M for GC column; (2) SE-30 for GC column

0.04 ppm の間であり、EB では検出されないものから 0.1 ppm の間であった。食品別にみると、乳酸菌飲料よりカップめんの方が高い測定値を示し、カップめんにおいてはカレーが高い測定値を示した。また、Jensen や Finley らは脂肪性食品に SM が溶けやすい傾向にあると報告^{3),4)}している。なお、容器中の SM, EB および揮発性成分についてはポリオレフィン等衛生協議会の自主規制に関する規格基準に適合していた。

ま と め

食品中の SM および EB を Fig. 1 の装置を用いて蒸留し、マスフラグメントグラフィーにより同定および定量した。

カップめんについては加熱蒸留するとめんが膨潤して適当でないため、その液体部分だけについて実験した。

本法は抽出、濃縮が同時にできることから短時間での分析方法であり、妨害物質の影響を受けずに定量で

き、回収率は60分間の蒸留で90%以上、その定量限界は 0.0025 ppm であった。また、本法を市販の乳酸菌飲料、カップワントンおよびカップめんに適用した結果、最高値、SM では 0.04 ppm 程度、EB では 0.1 ppm 程度であった。

なお、本報告の要旨は日本食品衛生学会第33回学術講演会 (1977年 5 月、東京) において発表した。

文 献

- 1) 辰濃 隆, 高野武悦, 岡田太郎: 昭和45年度厚生科学研究報告“牛乳容器としてのポリスチレン” p. 23 (1971).
- 2) 山下哲郎, 桂 秀樹, 森 陽子: 食衛誌. 17, 187 (1976).
- 3) Jensen, F.: Ann. Super Sanita, 8, 443 (1972).
- 4) Finley, J.W., White, J.C.: Wujj. Environmental Contamin Toxicol., 2, 41 (1967).