ガスクロマトグラフィーによるポリエチレン 食品包装用フィルム中の高分子フェノール 系酸化防止剤の分析^{*1}

(昭和 57 年 11 月 4 日受理)

丹 茂^{*2} 岡田 太 郎^{*2}

Determination of High Molecular Phenolic Antioxidants in Polyethylene Food Packaging Films by Gas Liquid Chromatography

(Studies on Plastic Additives. II)

Shigeru TAN and Taro OKADA

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

A gas liquid chromatography (GLC) method was developed for the determination of tetrakis-[methylene-3-(3',5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propionate] methane, known as Irganox 1010, a high-molecular phenolic antioxidant in polyethylene food packaging films.

Direct analysis by GLC is inappropriate for Irganox 1010 because of the high molecular weight. Irganox 1010 was therefore converted to methyl (3,5-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propionate by saponification with potassium hydroxide and then determined by GLC. The product was identified by GLC-MS.

The results of the analysis of Irganox 1010 in polyethylene food packaging films by the present method were compared with the results of high performance liquid chromatography (HPLC) for the same samples. The results of the two methods agreed well, and the coefficients of variation in the GLC and HPLC methods were found to be 2.9% and 3.2%, respectively.

(Received November 4, 1982)

Key words: イルガノックス 1010 Irganox 1010® (tetrakis-[methylene-3-(3',5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl)propionate]methane); ポリエチレン食品包装用フィルム polyethylene food packaging film; ガスクロマトグラフィー gas liquid chromatography (FID); ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

まえがき

酸化防止剤は食品、合成ゴム及びプラスチックなど広範囲に使用されており、このうちプラスチック用酸化防止剤として最も多く用いられるものにフェノール系化合

物がある¹⁾。

Irganox 1010 の商品名で知られている²⁾ Tetrakis-[methylene-3-(3', 5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propionate] methane (Fig. 1) はポリエチレン及びポリプロピレンなど主として食品用ポリオレフィン包装材に添加され、米国、オランダ、西独、イタリア及び英国においては食品包装用プラスチック添加剤として使用が

^{*1} プラスチック添加剤に関する研究 (第2報)

^{*2} (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

where

Fig. 1. Tetrakis-[methylene-3-(3', 5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propionate]methane

認められている^{3),4)}.

一方, その分析法については高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法によるプラスチック中の Irganox 1010 の測定法が報告^{5),6)}されている. しかし, HPLC-質量分析計が汎用されていない現在, 高分子物質である Irganox 1010 (M.W. 1176) はガスクロマトグラフ (GLC) 法において直接検出できないことから, 質量スペクトルによる確認操作を行えない.

このようなことから, 著者らは Irganox 1010 の分解生成物を GLC を用いて検出する方法について検討を行った. その結果, Irganox 1010 の加水分解物である methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate は GLC により測定でき, さらにガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) の利用から同定が可能となった. また, 本法及び HPLC を用いてポリエチレン食品包装用フィルム中の Irganox 1010 を分析したところ, 繰り返し精度は良好であり, 双方から得られる測定値はよく一致したので報告する.

実験方法

1. 試料

Irganox 1010 を 0.1% 添加し, 試験用に作製したポリエチレンフィルム (厚さ 70 μ) を使用した. なお, 一般にポリオレフィンに対して本物質は 0.1~0.5% の添加量で使用されている⁷⁾.

2. 試薬及び標準溶液

Irganox 1010: Ciba-Geigy 社製

n-ヘキサン及びアセトン: いずれも和光純薬工業 (株) 製, 残留農薬試験用

メタノール: 和光純薬工業 (株) 製, 液体クロマトグラフ用

水酸化カリウム, クロロホルム及び硫酸ナトリウム: いずれも和光純薬工業 (株) 製, 特級品

フタル酸ジイソブチル (DiBP): 東京化成工業 (株) 製, 特級品

0.1 *N* 水酸化カリウム-メタノール液: メタノール 1 L 中に水酸化カリウム 5.61 g を含む

Irganox 1010 標準溶液 (1): Irganox 1010 をクロロホルムに溶解し, クロロホルム 1 ml 中に Irganox 1010 を 1~5 mg 含有するように調製した.

Irganox 1010 標準溶液 (2): Irganox 1010 をクロロホルム-メタノール混液 (1:4) に溶解し, 同混液 1 ml 中に Irganox 1010 を 50~250 μ g 含有するように調製した.

内部標準溶液: DiBP を *n*-ヘキサンに溶解し, *n*-ヘキサン 1 ml 中に DiBP を 3 mg 含有するように調製した.

methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 標準溶液: Irganox 1010 標準溶液 (1) の各 1 ml (1, 2, 3, 4 及び 5 mg を含む) を 5 個の 100 ml のナス型フラスコに正確に入れ (1~5 mg 含む), 水浴温度 35° でロータリーエバポレーターを用いて溶媒 (クロロホルム) を留去する. この各フラスコに 0.1 *N* 水酸化カリウム-メタノール液 10 ml を加え, アリン冷却器を付け 40° で 10 分間還流した後, 冷却器の上部から *n*-ヘキサン 9 ml を加え, さらに 40° で 10 分間還流を続ける. 室温まで放冷した後, 飽和硫酸ナトリウム溶液を約 30 ml 加え, フラスコにそれぞれ栓を施し, 1~2 分間激しく振る. 次に内部標準溶液 1 ml を加え, 各々のフラスコの頸部まで再び飽和硫酸ナトリウム溶液を加えて *n*-ヘキサン層と水層を分離させ, 得られる *n*-ヘキサン層 (10 ml) を methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 標準溶液とした. 従って, この標準溶液は *n*-ヘキサン 1 ml 中に Irganox 1010 として 100~500 μ g 含有する.

3. 装置及び測定条件

3.1 ガスクロマトグラフ (GLC) の条件

装置: (株) 島津製作所製, GC-6A (FID 検出器)

カラム管: 内径 3 mm, 長さ 1 m のガラス製

カラム充填剤: Chromosorb W (60~80 mesh, AW-DMCS) に対して 2% のシリコン SE-30 を含む

カラム温度: 160°

注入口及び検出器温度: 250°

キャリアーガス: 窒素, 40 ml/min

3.2 高速液体クロマトグラフ (HPLC) の条件

HPLC: (株) 島津製作所製, LC-3A

検出器: (株) 島津製作所製, SPD-1 (可変型 UV 検出器)

カラム: 内径 4.6 mm, 長さ 250 mm のステンレス管に Zorbax ODS (5 μ m) を充填したもの

ガードカラム: 内径 2.1 mm, 長さ 50 mm のステンレス管に Wakogel LC ODS (30 μ m) を充填したもの

移動相: 100% メタノール

移動相流量: 1 ml/min

温度: 常温

検出波長: 280 nm

感度: 0.08 AUFS

3.3 ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) の条件

装置: (株)島津製作所製, GC-MS 7000

カラム管及びカラム充填剤: GLC の条件で記述したもの

カラム温度: 160°

セパレーター温度: 190°

電子電圧: 20/70 eV

イオン加速電圧: 3.0 kV

電子電流: 60 μ A

4. 実験操作

4.1 試験溶液の調製

GLC 法: 試料を細切 (1×0.2 cm) し, その 5 g を正確に円筒口紙に入れ, ソックスレー抽出器 (ただし, 受器には 100 ml のナス型フラスコを使用する) で 6 時間抽出を行う。冷後, 水浴温度 35° でロータリーエバポレーターを用いてクロロホルムを留去した後, 以下, methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 標準溶液の調製に従って同様に操作し, 得られる *n*-ヘキサン層 (10 ml) を試験溶液とした。

HPLC 法: GLC における試験溶液の調製に従ってソックスレー抽出器を用いて試料を抽出し, 冷後, クロロホルムを濃縮して 4 ml とした後, 20 ml のメスフラスコに移す。ついで, メタノールを加えて全容を 20 ml とし, 溶液 (懸濁を起こしている) が透明になるまでメスフラスコを振り, このクロロホルム-メタノール混液を試験溶液とした。

4.2 定 量

GLC 法: 試験溶液 2 μ l を GLC に注入し, methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 及び DiBP のガスクロマトグラムの相対ピーク高さを測定して, 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 methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 標準溶液の 2 μ l を GLC に注入し, methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 及び内部標準物質の DiBP のピーク高さをそれぞれ測り, 相対ピーク高さから検量線を作成した。

HPLC 法: 試験溶液 20 μ l を HPLC に注入し, 得られた液体クロマトグラムより Irganox 1010 のピーク高さを測定して, 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 Irganox 1010 標準溶液 (2) を用いて試験溶液と同様に操作して得た液体クロマ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。

実験結果及び考察

1. Irganox 1010 より methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate への分解

Irganox 1010 はケン化することにより methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate に分解し, *n*-ヘキサンで抽出され, GLC により定量できる。従って, methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate の生成率に関する最も良いケン化の諸条件について検討を行った。すなわち, 5 mg の Irganox 1010 をケン化して, GLC に注入し, 得られたガスクロマトグラムの相対ピーク高さから methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate の生成率を測定した結果, 水浴温度並びに水酸化カリウム-メタノール液の濃度については双方とも低いほど, 高い生成率を示す (Fig. 2 及び 3) 傾向にあった。また, ケン化時間については 0~30 分間まで変化させたところ, 10 分後において最高 (Fig. 4) の生成率が得られた。

このように, Irganox 1010 は容易にケン化されて methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate に分解されることがわかった。なお, 水浴温度については 40° より 30° において高い生成率が得られるが, 水浴の温度調節は 40° の方が調節し易いため, ケン化温度は 40° に設定した。これは, 標準の Irganox 1010 及

Fig. 2. Effect of water bath temperature on the formation of methyl (3, 5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate

Irganox 1010, 5 mg; DiBP, 3 mg; saponification time, 10 min; cocentration of KOH-methanol, 0.1 N

GLC conditions: column, 2% Silicone SE-30 on Chromosorb W (60-80 mesh, AW-DMCS) 1 m×3 mm id glass column; column temp., 160°C; injection port and detector temp., 250°C; carrier gas, nitrogen 40 ml/min; detector, FID

Fig. 3. Effect of concentration of KOH-methanol on the formation of methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate
Irganox 1010, 5 mg; DiBP, 3 mg; saponification time, 10 min; water bath temperature, 40°C

GLC conditions are shown in Fig. 2.

Fig. 4. Effect of saponification time on the formation of methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate

Irganox 1010, 5 mg; DiBP, 3 mg; concentration of KOH-methanol, 0.1 N; water bath temperature, 40°C

GLC conditions are shown in Fig. 2.

び試料中の Irganox 1010 におけるケン化条件を同一に行えば再現性も良いので支障はないものと考えられる。従って、Irganox 1010 より methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate の生成に関するケン化条件として、水浴温度 40°, ケン化時間10分間及び水酸化カリウム-メタノール液の濃度を 0.1 N にそれぞれ設

定した。

2. 定 量

2.1 GLC による定量

実験方法 3.1 に調製した GLC を用いて操作するとき、内部標準物質として用いた DiBP は methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate との分離 (Fig. 5) も良好であり、内部標準物質及び methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate の保持時間はそれぞれ 3.9 及び 5.6 分であった。また検量線は methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 標準溶液を用い、絶対量 (Irganox 1010 として) 0.2~1.0 μ g の範囲で直線性^{*}(Fig. 6) が得られた。なお、本条件においては methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate 以外の分解生成物は認められず、試料のポリエチレン食品包装用フィルムからも妨害物質の影響を受けずに定量できた。

2.2 HPLC による定量

実験方法 3.2 に調製した HPLC を用いて操作するとき、Irganox 1010 の保持時間は 6.0 分であった。また、検量線は Irganox 1010 標準溶液 (2) を用いて絶対量 1~5 μ g の範囲で直線性が得られ、定量限界は絶対量 100 ng とした。なお、これを試料中の濃度に換算すると 20 ppm に相当する。

次に、HPLC の移動相及び試験溶液における溶媒の選択について若干の検討を行った。すなわち、これらの溶媒としては類似の性質を有することが好ましく、また

Fig. 5. Gas chromatogram of derivative from Irganox 1010 in polyethylene food packaging film

(1), internal standard (DiBP)

(2), methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate

GLC conditions are shown in Fig. 2.

Fig. 6. Calibration curve of methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate by GLC

GLC conditions are shown in Fig. 2.

逆相カラムを用いるとき、水系移動相ではポリマーの凝結あるいは目詰まりを起こすため、ポリマー溶液は直接 LC カラムに注入できないといわれている⁹⁾。本法における試験溶液はポリマー抽出液であるが、著者らは、目詰まりあるいはカラムの劣化などを防ぐため、ガードカラムを施し、かつ抽出液にメタノールを加えることにより重合体を沈降させ、試験溶液（クロロホルム-メタノール混液）を調製した。

3. GLC 及び HPLC によるポリエチレン食品包装用フィルム中の Irganox 1010 含有量の比較

ポリエチレン食品包装用フィルム中の Irganox 1010 含有量について、GLC 及び HPLC により得られる測定値の比較検討を行った。すなわち、実験方法に従って GLC 及び HPLC それぞれ 10 回の繰り返し実験を行ったところ、Table 1 に示すように、GLC より HPLC の方が若干高い測定値が得られるが、双方においてよく一致した。このときの GLC 及び HPLC における変動係数はそれぞれ 2.9 及び 3.2% であり、繰り返し精度としては満足な結果であると考えられる。

なお、GLC における試験溶液の調製は操作が HPLC より若干複雑であるため、1 回の測定に要する分析時間は長い。本研究の GLC による検出法は Irganox 1010 について、GC-MS を用いる確認の前操作としての目的が大きい。一方、試料として用いたポリエチレン食品包装用フィルムは Irganox 1010 を 0.1% 添加して作製しているが、双方より得られた測定値 (Table 1) は添加量の 40~45% であり、同じ酸化防止剤であるジ

Table 1. Comparison of Methods for the Determination of Irganox 1010 Contents (ppm) in Polyethylene Food Packaging Films

	GLC	HPLC
1	440	448
2	404	446
3	410	423
4	422	412
5	436	449
6	424	446
7	426	446
8	414	423
9	410	425
10	430	425
Av.	421.8	434.3
Std. dev.	12.1	13.9
C.V. %	2.9	3.2

GLC conditions are shown in Fig. 2.

HPLC conditions: column, 250×4.6 mm id Zorbax ODS (5 μ m) with 50×2.1 mm id guard column packed with 30 μ m Wakogel LC ODS; temperature, ambient; solvent, 100% methanol; flow rate, 1 ml/min; detector, UV (280 nm); attenuation, 0.08 AUFS

ブチルヒドロキシトルエン (BHT) をポリエチレンに添加し、成形後の含有量を測定した Woggon ら⁹⁾ の報告では 76~90% の回収率となっている。この回収率は他の酸化防止剤 (Irganox 1010 を除く) についても同程度に報告^{9),10)}されているが、辰濃ら⁹⁾ は Irganox 1010 についても調査し、ポリエチレンより 60~62% の回収率を得ている。このように、Irganox 1010 は BHT などと比べポリエチレンから低い回収率を示す傾向にあるが、本研究では、GLC 及び HPLC により得られる Irganox 1010 の測定値に関する比較検討を行ったものである。

4. GC-MS による同定

前述のように、高分子物質である Irganox 1010 は直接 GLC では検出されないため、GC-MS による確認操作を利用できない。しかし、Irganox 1010 の分解生成物である methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate は GLC において検出されることから GC-MS を用いて同定を行った。その結果、標準 Irganox 1010 及びポリエチレン食品包装用フィルムの抽出物をそれぞれケン化することにより得られる分解生成物、すなわち methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate のマススペクトルは完全に一致 (Fig. 7) し、Irganox 1010 であることが確認できた。なお、methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)

Fig. 7. Mass spectra of methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate

A, derivative from standard Irganox 1010

B, derivative from Irganox 1010 in polyethylene food packaging film

Operating conditions: column, 2% Silicone SE-30 on Chromosorb W (60-80 mesh, AW-DMCS) 1 m×3 mm id glass column; column temp., 160°C; separator temp., 190°C; electron energy, 20/70 eV; accelerating voltage, 3.0 kV; trap current, 60 μ A

propionate の特異なイオンとしては m/e 277 のほか、m/e 57 (基準ピーク)、292 (分子イオンピーク)、147 などが挙げられる。

まとめ

プラスチック用の高分子フェノール系酸化防止剤である Irganox 1010 について、ポリエチレン食品包装用フィルムをクロロホルム抽出した後、水酸化カリウム-メタノール液で処理して得た methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate の GLC による定量法を確立した。

Irganox 1010 のケン化条件は水浴温度 40°, ケン化時間 10 分間及び水酸化カリウム-メタノール液の濃度を 0.1 N に設定して行った。

ポリエチレン食品包装用フィルム中の Irganox 1010 含有量について、GLC 及び HPLC により定量したところ、双方より得られる測定値はよく一致した。

GC-MS による同定では、標準 Irganox 1010 及びポリエチレン食品包装用フィルム抽出物の分解生成物である methyl (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate のマススペクトルは完全に一致し、ポリエチレン食品包装用フィルム中の Irganox 1010 を確認できた。

謝 辞

本研究を行うに当たり、試料を提供して下さいました

藤森工業(株)並びに HPLC の測定に御協力いただいた当研究所二宮隆博研究員に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 村橋俊介, 小田良平, 井本 稔編: “プラスチックハンドブック” p. 685~689 (1969) 朝倉書店.
- 2) “便覧 ゴム・プラスチック配合薬品” p. 103 (1974) ラバーダイジェスト社.
- 3) 塩ビ食品衛生協議会編: “プラスチック添加剤の衛生性・2” p. 56~72 (1972) 幸書房.
- 4) 同上: “同上・4” p. 27~32 (1976) 幸書房.
- 5) Schabron, J. F., Fenska, L. E.: Anal. Chem. **52**, 1411~1415 (1980).
- 6) 辰濃 隆, 井上たき子, 谷村顕雄: 衛生試報. **99**, 98~102 (1981).
- 7) 塩ビ食品衛生協議会編: “プラスチックと食品衛生” p. 191~192 (1976).
- 8) Varner, S. L., Breder, C. V.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem. **64**, 647~652 (1981).
- 9) Woggon, H., Uhde, W.-J., Zydek, G.: Z. Lebensm. Untersuch. **138**, 169~177 (1968).
- 10) Uhde, W.-J., Woggon, H.: Deut. Lebensm. Rundschau. **67**, 257~262 (1971).