ヘッドスペース-ガスクロマトグラフィーによるポリスチレン 製食品用容器中の揮発性物質の分析

(平成 6 年 9 月 22 日受理)

杉田たき子^{*1} 石 綿 肇^{*1} 河村 葉子^{*1}
馬 場 二 夫^{*2} 梅 原 龍 海^{*2}
森 田 茂^{*2} 山 田 隆^{*1}

Headspace Gas Chromatographic Analysis of Residual Volatile Substances in Polystyrene Food Containers

Takiko SUGITA^{*1}, Hajimu ISHIWATA^{*1}, Yoko KAWAMURA^{*1}, Tsugio BABA^{*2},
Tatsumi UMEHARA^{*2}, Shigeru MORITA^{*2}
and Takashi YAMADA^{*1}

(^{*1}National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158,
Japan; ^{*2}Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences:
8-34, Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543, Japan)

A headspace gas chromatographic method was developed for the determination of residual volatile substances (toluene, ethylbenzene, isopropylbenzene, *n*-propylbenzene and styrene) in food containers made of polystyrene (PS). A PS sample (0.20 g) was weighed into a vial and 1.0 ml of *N,N*-dimethylformamide (DMF) as a solvent and 0.5 ml of *p*-diethylbenzene in DMF as an internal standard substance were added. The vial was kept in an oven for 1 hour at 90°C, then 0.5 ml of headspace gas was injected into a GC equipped with a capillary column coated with DB-WAX. Calibration of the volatile substances was performed in both external and internal standard modes, and the calibration curves in both cases showed excellent linear correlations between 2 ppm to 100 ppm for all five substances. The recoveries of the spiked volatile substances from polymer dissolved in DMF were 94~106% in the external standard mode and 90~101% in the internal standard mode.

The concentrations of the total volatile substances in PS products determined in the internal standard mode were 217~814 ppm, and both ethylbenzene and styrene were observed in all 14 samples. The detection limits were 5 ppm for toluene and 10 ppm for other volatile substances in the polymer base. Xylene, which is not regulated in the Food Sanitation Law, was detected in 11 samples. These volatile substances, including three isomers of xylene, were confirmed by GC-mass spectrometry.

(Received September 22, 1994)

Key words: ポリスチレン polystyrene; 食品用容器 food container; 揮発性物質 volatile substance; トルエン toluene; エチルベンゼン ethylbenzene; イソプロピルベンゼン isopropylbenzene; *n*-プロピルベンゼン *n*-propylbenzene; スチレン styrene; キシレン xylene; ヘッドスペースガスクロマトグラフィー headspace gas chromatography

はじめに

食品用容器として使用頻度の高いポリスチレン (PS)

製品は、弁当、惣菜などの容器やインスタント食品の容器などに利用されている。PS 製品には未反応のスチレン (ST) や原料中の不純物などの揮発性物質が残存することが知られており¹⁾、食品衛生法²⁾では ST を含む揮発性物質の測定法と残存量を規定している。この測定法は

^{*1} 国立衛生試験所: 〒158 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

^{*2} 大阪市立環境科学研究所: 〒543 大阪市天王寺区東上町 8-

試料を *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解後、内部標準物質としてシクロペンタノールを加えて試験溶液とし、バックドカラムを装着したガスクロマトグラフに直接注入する。しかし、この方法では溶解したポリマーの残存やシクロペンタノールのピークがブロードになることなどが分析上の問題となっている。また、PS 製品には、食品衛生法で定められた 5 種類の揮発性物質 (トルエン, TO; エチルベンゼン, EB; イソプロピルベンゼン, IPB; *n*-プロピルベンゼン, PB; 及び ST) 以外にもアクリロニトリル³⁾, *o*-キシレン (*o*-Xy)³⁾, *m*-キシレン (*m*-Xy)³⁾, α -メチルスチレン^{4), 5)} 及びベンゼン⁶⁾ など微量揮発性物質の残存が報告されている。これらはバックドカラムを用いて分析しているが、PS 製品にはこのように種々の揮発性物質が残存する可能性が高いことから、揮発性物質を正確に定量するためには、分離能の高いキャピラリーカラムの使用が必要と考えられる。

近年、ヘッドスペース法は水中の低沸点ハロゲン化合物⁷⁾ や食品中の揮発性物質⁸⁾, 天然着色料製剤中の残留溶剤⁹⁾ の分析など様々な分野で使用されており、食品や食品疑似溶媒に移行した ST の分析例^{10)~15)} もある。材質試験では、PS 中の ST の分析としてジメチルアセトアミドを溶媒とし内部標準物質として *d*₈-ST を用いる方法¹⁵⁾ やトルエンを溶媒とする方法¹⁶⁾ などが報告されており、ポリエステル中のベンゼンを分析した例¹⁷⁾ もある。

今回、PS 材質中の揮発性物質の分析法としてヘッドスペース GC を検討したところ、検出器やカラムの汚染が少なく、食品衛生法で定められた 5 種類以外にキシレンを含めて分離定量が可能な方法を確立したので報告する。

実験方法

1. 試料

一般食品用透明 PS (general-purpose polystyrene, GPPS) 製容器、発泡 PS 製コップ及びインスタント食品入り発泡 PS 製容器は市販品を購入した。

2. 試薬及び標準溶液

ST, EB, IPB, *p*-ジェチルベンゼン, シクロペンタノール, DMF, ジクロロメタン, *o*-キシレン (*o*-Xy), *m*-キシレン (*m*-Xy) 及び *p*-キシレン (*p*-Xy): 和光純薬工業(株)製, 試薬特級

TO: 和光純薬工業(株)製, クロマトグラフ用

PB: 和光純薬工業(株)製, 試薬一級

揮発性物質混合標準溶液: TO, EB, IPB, PB 及び ST はそれぞれ 50 mg を DMF に溶解して 50 ml とし、これを標準原液とした。これら各標準原液を適宜混合希釈し 5 種類混合標準溶液を調製した。

ジェチルベンゼン溶液 (内部標準物質): *p*-ジェチルベンゼン 50 mg を DMF に溶解して 200 ml とした (250

ppm)。

シクロペンタノール溶液: シクロペンタノール 50 mg を DMF に溶解して 100 ml とした (500 ppm)。

キシレン (Xy) 標準溶液: *o*-Xy, *m*-Xy 及び *p*-Xy はそれぞれ 50 mg を DMF に溶解して 50 ml とし、これを標準原液とした。各標準原液を適宜混合希釈し Xy 標準溶液を調製した。

3. 器具及び装置

ガスクロマトグラフ: Hewlett Packard 社製 HP-5890A (FID 付)

データ処理装置: Hewlett Packard 社製 HP-3392A

ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS): (株)島津製作所製ガスクロマトグラフ GC-14A に質量分析計 QP2000 を装着した。

空気かく拌装置付き恒温槽: 日本分光工業(株)製 JASCO-860-CO インテリジェントカラムオープン, タバイエスベック(株)製小型高温チャンバー ST-120

バイアル瓶: ガラス製, 容量 25 ml, テフロンコーティングシリコンラバーセプタム及びアルミキャップ付
シリンジ: Hamillton 製マイクロシリンジ (2 μ l), Precision Sampling 製プレッシャーロックシリンジ (2 ml)

4. GC 条件

キャピラリーカラム: DB-WAX (0.32 mm i.d. $\times$ 30 m, 膜厚 0.25 μ m) J & W Scientific 社製, カラム温度: 60 $^{\circ}$ $\rightarrow$ 5 $^{\circ}$ /min $\rightarrow$ 150 $^{\circ}$, 注入口温度: 150 $^{\circ}$, 検出器温度: 200 $^{\circ}$, キャリヤガス: N₂, カラム流量: 1.3 ml/min, 注入方法: スプリット注入 (12:1), 注入量: 0.5 ml

5. GC/MS 条件

キャピラリーカラム: CBP20 (0.22 mm i.d. $\times$ 25 m, 膜厚 0.25 μ m) (株)島津製作所製, カラム温度: 40 $^{\circ}$ (3 min) $\rightarrow$ 15 $^{\circ}$ /min $\rightarrow$ 150 $^{\circ}$, 注入口温度: 150 $^{\circ}$, イオン化室温度: 250 $^{\circ}$, イオン化電圧: 70 eV, キャリヤガス: He

6. 実験操作

6.1 ヘッドスペース法

細切した試料 0.20 g をバイアル瓶に正確にはかり取り、DMF 1.0 ml 及びジェチルベンゼン溶液 0.5 ml を加え、テフロンコーティングシリコンラバーセプタムとアルミキャップで密栓した後、90 $^{\circ}$ の恒温槽中で 1 時間加熱した。バイアル瓶を良く振り混ぜた後、恒温槽中で 5 分間加熱したプレッシャーロックシリンジを用いて気相 0.5 ml を抜き取り、ガスクロマトグラフ並びに GC/MS に注入した。

6.2 直接注入法

細切した試料 0.50 g を 20 ml のメスフラスコに正確にはかり、ジクロロメタン 10 ml を加えて溶解し、シクロペンタノール溶液 1.0 ml を加え、ジクロロメタンで定容とした液 1 μ l を直接ガスクロマトグラフに注入した。

結果及び考察

1. 内部標準物質の検討と検量線の作成

内部標準物質としてシクロペンタノール及びジエチル

Fig. 1. Headspace gas chromatogram of volatile substances specified in the Food Sanitation Law and *p*-diethylbenzene

TO, toluene; EB, ethylbenzene; IPB, isopropylbenzene; PB, *n*-propylbenzene; ST, styrene; DEB, *p*-diethylbenzene (I. S.); DMF, *N,N*-dimethylformamide.

One ml of mix standard solution (each 50 ppm) and 0.5 ml of DEB (250 ppm) were transferred into a 25 ml headspace vial. The vial was heated for 1 hour at 90°C, and 0.5 ml headspace gas was injected to GC.

GC conditions: column, DB-WAX 0.32 mm i.d.×30 m; oven temp, 60°C→5°C/min→150°C; split injection, (12:1); detector, FID

ベンゼンを用いてヘッドスペース GC を行ったところ、食品衛生法²⁾で採用されているシクロペンタノールは非対称形のピークとなった。シクロペンタノールは DMF に溶解して直接注入した場合にもピークの形状が変化することが知られている¹⁸⁾が、ヘッドスペース法においても同様であることが確認された。一方、ジエチルベンゼンのピークはシャープであり、揮発性物質及び溶媒との分離も良好であった (Fig. 1)。

揮発性物質の定量は絶対検量線法と内部標準法で行い、両者を比較した。絶対検量線法は、揮発性物質標準混合溶液のピーク面積値と濃度から、また、内部標準法はジエチルベンゼンに対するピーク面積比と濃度から、最小二乗法によって検量線を作成した。その結果、両方法はともに 2 ppm から 100 ppm の範囲で原点を通る直線性が得られた。内部標準法による TO, EB, IPB, PB 及び ST の検量線の R^2 はそれぞれ 0.9998, 0.9997, 0.9997, 0.9997 及び 0.9992 であり、絶対検量線法でも同様の良好な結果であった。

2. 揮発性物質の添加回収率

GPPS 製試料 0.20 g をバイアル瓶にはかり取り、揮発性物質標準混合溶液 1.0 ml (各 50 µg) 及びジエチルベンゼン溶液 0.5 ml を加えて、ヘッドスペース法により操作したときの回収率は、絶対検量線法では 94~106%, 内部標準法では 90~101% といずれも良好であった (Table 1)。この結果から、定量法として両方法ともに使用可能であるが、食品衛生法で内部標準法を採用していることから、以下本法ではすべて内部標準法で行った。また、材質中の各揮発性物質の定量下限は、TO は 5 ppm, その他は 10 ppm であった。

ヘッドスペース法では、水溶性試料の場合に無機塩を加えるとヘッドスペース中の有機分子の濃度が増加する

Table 1. Recoveries of Volatile Substances Spiked in the Solution of a Polystyrene Product

	GPPS		GPPS+STD*			
	ES	IS	ES		IS	
	Found (ppm)	Found (ppm)	Found (ppm)	Recovery (%)	Found (ppm)	Recovery (%)
TO	9±2	8±2	243±5	94±2	232±8	90±4
EB	ND	ND	255±7	102±3	243±7	96±2
IPB	ND	ND	264±16	106±6	251±6	101±3
PB	ND	ND	260±17	104±7	247±6	99±3
ST	367±11	349±16	617±38	99±15	588±8	96±3

ND: < 10 ppm

Results are mean±S. D. of triplicate determinations.

GPPS, general-purpose polystyrene in contact with food

ES, external standard mode; IS, internal standard mode

* One ml of mix standard solution containing each 50 µg substance was spiked into 0.20 g GPPS sample (250 ppm).

Other abbreviations are seen in Fig. 1.

こと⁹⁾, また非水系で水と混和性のある系では, 試料に水を加えると有機分子の溶解性が減少し, ヘッドスペースの有機分子の濃度が増加することが知られている。そこで水を添加する方法を検討したところ標準溶液では感度が6~8倍上昇した。しかし, 試料では安定した回収率は得られなかった。これは, DMFに溶解したPSは水を加えるとポリマーが析出沈殿するが, その際に揮発性物質や内部標準物質もポリマーとともに沈殿するものと考えられた。

3. ヘッドスペース法と直接注入法の比較

食品衛生法²⁾に従って, DMFを用いて調製した標準

Table 2. Comparison of the Headspace and the Direct Injection Methods for the Determination of Volatile Substances

Material	Volatile substance	Concentration	
		HS (ppm)	DI (ppm)
GPPS	TO	8±2	ND
	ST	349±16	355±8
EPS	EB	252±11	257±8
	IPB	92±5	78±9
	PB	63±6	65±8
	ST	25±3	25±4

Detection limits of TO: HS, 5 ppm; DI, 20 ppm
Results are mean±S.D. of triplicate determinations, obtained by the IS mode.

HS, headspace method; DI, direct injection method; EPS, expanded polystyrene

混合溶液をキャピラリー GC に直接注入したところ, 各揮発性物質は非常にブロードなピークとなり, 測定が困難であった。そこで, 溶媒は, FDA 規格¹⁹⁾の残存スチレンモノマーの分析で採用されているジクロロメタンを用いた。ジクロロメタンのピークは5種類の揮発性物質のピークとの相互分離もよく, 各ピークの形はシャープであったことから, 直接法の溶媒はジクロロメタンを用いることとした。試料にはGPPS製容器と発泡PSカップを用い, ヘッドスペース法と直接注入法による測定値を比較したところ, 両方法の測定値は良く一致した (Table 2)。定量限界は直接注入法が20 ppmで, ヘッドスペース法は5~10 ppmであった。また, ヘッドスペース法はポリマーによる機器やカラムの汚染もなく, 実用上はるかに優れていた。

4. 材質中の揮発性物質の残存量

発泡PS製品のドンブリ, コップ, インスタント食品容器等14試料について, 揮発性物質の残存量を測定した (Table 3)。STとEBはすべての試料で検出され, STは最低15 ppm, 最高604 ppm, 平均238±181 ppm, EBは最低17 ppm, 最高250 ppm, 平均104±74 ppmであった。また, IPB, PBは11試料で検出されたが, ほとんど100 ppm以下で, 両物質の残存量は同程度であった。TOは6試料で検出されたがすべて50 ppm以下であった。試料1, 2, 3, 7及び14についてはこれらのピークをGC/MSで確認した。食品衛生法では, PS製品の材質中に残存するTO, EB, IPB, PB及びSTの含量の合計を5,000 ppm以下と定め, 更に熱湯を用いる発泡PS製品については, それらの合計量が2,000 ppm以

Table 3. Contents of Residual Volatile Substances in Expanded Polystyrene Products

No.	Sample	Volatile substances (ppm)					Total
		TO	EB	IPB	PB	ST	
1	Bowl	40	60	47	63	604	814
2	Bowl	ND	196	51	37	15	299
3	Cup	ND	250	91	63	25	429
4	Cup	7	39	ND	ND	380	426
5	Container	ND	99	11	15	287	412
6	Container	ND	135	50	60	69	314
7	Container	ND	88	113	67	41	309
8	Container	ND	127	ND	ND	90	217
9	Container	ND	33	19	11	393	456
10	Container	19	91	16	11	359	496
11	Container	29	18	72	33	373	525
12	Container	9	69	28	23	370	499
13	Container	15	17	ND	ND	288	320
14	Container	ND	235	89	79	35	438

ND<5 ppm for TO and<10 ppm for IPB and PB

Results are obtained by the IS mode.

These samples are for hot water use except No. 1 and No. 4.

Fig. 2. Headspace gas chromatograms of volatile substances in expanded polystyrene products

A, cup (sample 3); B, container (sample 7)

a, *p*-xylene; b, *m*-xylene; c, *o*-xylene

GC conditions and abbreviations are same as described in Fig. 1.

Fig. 3. Headspace gas chromatogram of xylene and *p*-diethylbenzene

Xy, Xylene

Procedures and GC conditions are same as described in Fig. 1.

下で、かつ ST 及び EB がそれぞれ 1,000 ppm 以下と規定している²⁾。今回測定した発泡 PS 製品は、試料 1 及び 4 以外はすべて熱湯で使用する容器であるが、残存量の合計は 217 ppm から 814 ppm で、基準以下であった。

5. 未知物質の同定

発泡 PS 製品の分析において、食品衛生法の規制対象とされている 5 種類以外に数種類のピークが検出され、特に高頻度で検出されたのはピーク a, b, c であった (Fig. 2)。これらのピークについて GC/MS により測定を行ったところ、分子イオン (M^+) m/z 106 と m/z 91 ($M^+ - 15$) に $C_7H_7^+$ に対応するピークが出現し、EB のマススペクトルと一致した。未知ピークは EB の構造異性体と考えられたので、*o*-Xy, *m*-Xy 及び *p*-Xy の標品につ

いてヘッドスペース GC を行い (Fig. 3)、保持時間から a, b, c はそれぞれ *p*-Xy, *m*-Xy 及び *o*-Xy と判明した。

Xy 標準溶液の検量線は 5 種類の揮発性物質と同様、2 ppm から 100 ppm の範囲で原点を通る直線性を示し、材質試験における定量限界は 10 ppm であった。また、試料 4 の発泡 PS 製コップ (0.20 g) を用い、Xy 標準溶液 1.0 ml (各 50 μ g) を加えてヘッドスペース法により測定したときの *o*-Xy, *m*-Xy 及び *p*-Xy の回収率 ($n=3$) は、それぞれ $98 \pm 7\%$, $98 \pm 7\%$ 及び $99 \pm 6\%$ であった。特に *p*-Xy は EB と保持時間が近接しており、マススペクトルもほぼ一致していることから、両物質を分離定量するにはキャピラリーカラムの使用は必須と考える。

馬場らは、発泡 PS 製品中に、*m*-Xy, *o*-Xy が残存するが、その量は平均 24.4 ppm 及び 18.7 ppm で、検出される割合は少ないと報告³⁾している。しかし、今回用いた試料では 14 試料中 11 試料で検出され、100 ppm を越えるものも多かった (Table 4)。試料 7 では *p*-Xy, 29 ppm, *m*-Xy 134 ppm, *o*-Xy 166 ppm, 合計 329 ppm が残存しており、Xy の総量は規制対象の揮発性物質の総量 (309 ppm) と同程度であった。

まとめ

1) ST 等揮発性物質 (TO, EB, IPB, PB, ST) の材質試験法としてヘッドスペース GC 法を検討した。従来の直接注入法で分析上の問題となっていたポリマーによる検出器やカラムの汚染がなく、感度も直接注入法に比べて 2 倍から 4 倍向上した。

2) 内部標準物質をシクロペンタノールからジエチルベンゼンに変更し、再現性の高い結果が得られた。

3) ヘッドスペース法による添加回収率は 90 ~ 101% で、測定値は直接注入法による結果と良く一致し

Table 4. Contents of Residual Xylene in Expanded Polystyrene Products

No.	Sample	Xylene concentration (ppm)			
		<i>p</i> -Xy	<i>m</i> -Xy	<i>o</i> -Xy	Total
1	Bowl	22	31	38	91
2	Bowl	163	19	35	217
3	Cup	100	22	40	162
4	Cup	ND	ND	ND	ND
5	Container	ND	ND	ND	ND
6	Container	ND	21	31	52
7	Container	29	134	166	329
8	Container	ND	15	87	102
9	Container	ND	14	27	41
10	Container	ND	18	17	35
11	Container	ND	ND	22	22
12	Container	ND	78	91	169
13	Container	ND	ND	ND	ND
14	Container	38	26	40	104

ND<10 ppm

Xy; xylene

Results are obtained by the IS mode.

These samples are for hot water use except No. 1 and No. 4.

た。

4) キャピラリーカラムの使用により、5種類の揮発性物質と規制外の Xy の分離が良くなり、より正確な分析が可能となった。発泡 PS 製品に Xy (*o*-, *m*-, *p*-) が高頻度で残存することを確認した。

本報告の要旨は、(社)日本食品衛生学会第 65 回学術講演会 (1993 年 5 月, 東京) において発表した。

文 献

- 1) 日本薬学会編: “衛生試験法・注解 1990” p. 794~796 (1990) 金原出版。
- 2) 厚生省生活衛生局監修: “食品衛生小六法” p. 1,033 (1994) 新日本法規出版。
- 3) 馬場二夫, 細川 守, 山田明男: 大阪市立環境科学研究所報告 **49**, 80~86 (1987)。
- 4) 丹 茂, 岡田太郎: 食衛誌. **24**, 213~219 (1983)。
- 5) Tan, S., Tatsuno, T., Okada, T.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **74**, 815~818 (1991)。
- 6) Varner, L. S., Breder, V. C.: *ibid.* **67**, 516~520 (1984)。
- 7) 日本薬学会編: “衛生試験法・注解 1990” p. 1,000~1,005 (1990) 金原出版。
- 8) Ulberth, F.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **74**, 630~634 (1991)。
- 9) 植松洋子, 広角雅子, 平田恵子, 中島和雄, 風間成孔: 食衛誌. **34**, 232~238 (1993)。
- 10) Gilbert, J., Startin, R. J.: J. Chromatogr. **205**, 434~437 (1981)。
- 11) Varner, L. S., Breder, V. C.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **64**, 1,122~1,130 (1981)。
- 12) Varner, L. S., Breder, V. C., Fazio, T.: *ibid.* **66**, 1,067~1,073 (1983)。
- 13) Murphy, G. P., MacDonald, A. D., Lickly, D. T.: Food Chem. Toxicol. **30**, 225~232 (1992)。
- 14) Maria, S. I., Carmi, D. J., Ober, G. A.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **37**, 207~212 (1986)。
- 15) Jickells, M. S., Gancedo, P., Nerin, C., Castle, L., Gilbert, J.: Food Addit. Contam. **10**, 567~573 (1993)。
- 16) Wong, K. M., Gan, M. L., Koh, L. L., NG, H. K.: Anal., Chim. Acta **218**, 345~350 (1989)。
- 17) Jickells, M. S., Crews, C., Castle, L., Gilbert, J.: Food Addit. Contam. **7**, 197~205 (1990)。
- 18) 日高公雄: 食衛誌. **22**, 536~538 (1981)。
- 19) Code of Federal Regulations 21 parts 177, 1640.