報 文

食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定

(平成9年11月21日受理)

河村 葉子* 杉本 直樹*
武田由比子* 山田 隆*

Identification of Unknown Substances in Food Contact Polystyrene

Yoko KAWAMURA, Naoki SUGIMOTO, Yuiko TAKEDA and Takashi YAMADA

(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan)

Various substances present in polystyrene products were identified by GC/MS and NMR. The chemical structures of 13 unknown substances were confirmed or deduced to be 1,3-diphenylpropane, *cis*- and *trans*-1,2-diphenylcyclobutane, 2,4-diphenyl-1-butene, 2,4,6-triphenyl-1-hexene, 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin and isomers, triphenylcyclohexane, 2,4,6,8-tetraphenyl-1-octene and an isomer, and 2,4,6,8,10-pentaphenyl-1-decene. They are styrene oligomers, which were presumably formed by side reactions during the polymerization of styrene and remained in the final products.

(Received November 21, 1997)

Key words: 食品用ポリスチレン製品 food contact polystyrene; 同定 identification; ガスクロマトグラフィー質量分析法 GC/MS; 核磁気共鳴 NMR; スチレンオリゴマー styrene oligomers; スチレンジイマー styrene dimers; スチレントリマー styrene trimers

緒 言

ポリスチレンは、ベンゼンとエチレンから合成したエチルベンゼンを脱水素してスチレンとした後、重合して得られるポリマーである (Fig. 1)。スチレンの単独重合体である一般用ポリスチレン、重合時に合成ゴムなどを添加した耐衝撃性ポリスチレン、発泡剤を加えた発泡ポリスチレンなどがあり、使い捨てカップ、弁当や惣菜用パック、食品用トレー、即席麺のカップなど食品用器具・容器に広範に使用されている。

著者らは、前報^{1), 2)}で HPLC 及び GC/MS によるポリエチレン中の添加剤の一斉分析法を報告した。この分析法のポリスチレンへの適用を検討していたところ、ほぼすべての食品用ポリスチレン製品から、HPLC, GC/MS のいずれにおいても、極めて類似した未知ピーク群が検出された。これらの未知物質は、同一測定条件における各種添加剤の保持時間から判断して、分子量が 500 以

下と考えられた。しかも、ピーク強度が一般の添加剤よりもはるかに大きく、残存量が多いことが推定され、食品への移行が懸念された。しかし、ポリスチレン製品中のこれらの残存物に関する報告は見られなかった。

そこで、これらの未知物質群について、GC/MS 及び NMR を用いて同定を試み、それらの構造を確定又は推定したので報告する。

実験方法

1. 試 料

一般用ポリスチレン製弁当用パック

Fig. 1. Synthetic process of polystyrene

* 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上野質 1-18-1

Fig. 2. Total ion chromatogram of polystyrene extract by GC/MS

Column: DB-1, 0.1 mm i.d. $\times$ 5 m, 0.1 μ m thickness; oven temperature: 50°C $\rightarrow$ 20°C/min $\rightarrow$ 300°C; carrier gas: He (2.95 mL/min)

Fig. 3. Chromatogram of polystyrene extract by HPLC

Column: TSKgel ODS-80Ts (4.6 mm $\times$ 250 mm); temperature: 50°C; mobile phase: CH₃CN-water (6:4) $\rightarrow$ 0~13 min linear gradient $\rightarrow$ CH₃CN; flow rate: 1.5 mL/min; detection: UV 225 nm

2. 試 薬

シクロヘキサン, 2-プロパノール, アセトニトリル:
HPLC 用, 片山化学工業(株)製

1,3-diphenylpropane: 試薬一級, 東京化成工業製

3. 装 置

高速液体クロマトグラフ: ポンプ LC-6A, 紫外可視
分光検出器 SPD-6AV, システムコントローラー SCL-
6B, データ処理装置 クロマトバック C-R6A 以上(株)
島津製作所製

ガスクロマトグラフ質量分析計: ガスクロマトグラフ
HP5890 Series II plus, 質量分析計 5972 Series 以上
Hewlett Packard 社製

NMR 装置: JEOL JNM-alpha (500 MHz), 日本電子
(株)製

フラクションコレクター: FRAC-100, Pharmacia 社
製

4. HPLC 条件

1) 測定条件

カラム: TSKgel ODS-80Ts (内径 4.6 mm, 長さ
250 mm, 粒径 5 μ m), 東ソー(株)製

カラム温度: 50°C

移動相: アセトニトリル-水 (6:4) を初期濃度とし,
13 分間のリニアグラジエントによりアセトニトリルの
みとした後, 更に 22 分間溶出した。

Fig. 4. Mass spectrum taken from peak 1 in Fig. 2.

Fig. 5. Mass spectra taken from peaks 2 and 4 in Fig. 2.

流速: 1.5 mL/min

検出波長: 225 nm

注入量: 10 μ L

2) 分取条件

移動相: アセトニトリル-水 (9:1)

流速: 0.5 mL/min

注入量: 100 μ L

溶出液は、フラクションコレクターにより 0.5 分ごとに分取した。その他は 1) 測定条件に同じ。

5. GC/MS 測定条件

1) 一般測定用

カラム: DB-1 (0.25 mm i.d. $\times$ 30 m, 膜厚 0.1 μ m) J & W Scientific 社製を 5 m に切断したもの。

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C $\rightarrow$ 20 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 300 $^{\circ}$ C (10 min)

Fig. 6. Mass spectrum taken from peak 3 in Fig. 2.

Fig. 7. Mass spectrum taken from peak 5 in Fig. 2.

注入口温度: 250°C, インレット温度: 280°C

キャリアガス: He (1 psi 定圧)

注入量: 1 μL, スプリット比: 1:2

測定モード: SCAN

イオン化電圧: 70 eV

イオン加速電圧: 1.9 kV

MS 測定範囲: m/z 50~700

スキャン回数: 1.1/sec

得られたマススペクトルはマススペクトルデータベース (NBS Library of MS Spectra 及び Wiley Library of MS Spectra) により検索を行った。

2) ピーク7の分離用

カラム: DB-WAX (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μm), J&W Scientific 社製

カラム温度: 100°C→20°C/min→250°C (30 min)

注入口温度: 220°C

キャリアガス: He (11 psi 定圧)

その他は1)一般測定用に同じ。

6. 試験方法

1) **HPLC 及び GC/MS 測定:** 細切した試料 0.5 g に, シクロヘキサン-2-プロパノール (1:1) 混液 10 mL を加え, 37°Cで一晩浸せき後ろ過した。この 5 mL を窒素気流下約 0.2 mL に濃縮し, 50°Cのアセトニトリル約 4.5 mL を加え十分にかくはんした。アセトニトリルで 5 mL の定容とした後, その一部を孔径 0.5 μm のフィルターを用いてろ過し, HPLC 及び GC/MS により測定した。

2) **分取及び NMR 測定:** 試料 20 g を用いて抽出を行った後, HPLC の繰返し注入により分取した。分取した画分は, GC/MS によりピーク位置を確認した。また, ピーク 5 及び 8 の画分は NMR で測定し, 構造の解析を行った。

結果及び考察

今回検討したポリスチレン製品の, GC/MS トータルイオンクロマトグラム (TIC) 及び HPLC のクロマトグラムを Fig. 2 及び Fig. 3 に示した。GC/MS では 6.7~7.1 分, HPLC では 14.0~14.7 分に特徴的な 4 本の

Table 1. ^1H - and ^{13}C -NMR Data (CDCl_3) on Peak 5

Carbon No.	^{13}C	^1H		
	Chemical shift (ppm)	Chemical shift (ppm)	Multiplicity	J_{HH} (Hz)
1	114.4	4.88 5.15	1H 1H	br s br s
2	146.7			
3	43.6	2.81	2H	m
4	43.4	2.68	1H	m
5	37.3	1.88 2.03	1H 1H	m m
6	33.6	2.36 2.40	1H 1H	m m
1'	141.1			
2',6'	126.4 $\times 2$	7.18	2H	d
1''	145.0			
2'',6''	127.7 $\times 2$	7.09	2H	d
1'''	142.4			
2''',6'''	128.1 $\times 2$	7.02	2H	d
Others	125.6 126.1 127.3 128.2 $\times 4$ 128.3 $\times 2$	7.19~7.40	9H	m

Fig. 8. Observed correlations in HMBC spectrum of peak 5 (2,4,6-triphenyl-1-hexene)

ピークが存在し、その他にもいくつかのピークが検出された。これらのピークについては、HPLCの分取画分をGC/MSで測定することにより、互いの位置を対応させた。

これらのピークの保持時間及びマススペクトルは、これまで検討した添加剤のいずれとも一致せず、またこれらの化合物に関する報告もみられなかった。そこで、GC/MS及びNMRによる同定を試みた。

ピーク1 (GC/MSの保持時間: 3.16分) のマススペクトルは、 m/z 196に M^+ がみられ、またNBS #69537の1,3-diphenylpropane(1,1'-(1,3-propanediyl)

bisbenzene)と一致した (Fig. 4)。この標準品を入手して測定を行ったところ、保持時間、マススペクトルともに一致し、1,3-diphenylpropaneと確定した。この化合物は、ポリスチレンの熱分解により生成することが報告されており³⁾、熱重合時又は成形時に生成したものと推測された。

ピーク2 (3.32分) 及び4 (3.64分) のマススペクトルは酷似しており、 m/z 104に特徴的なベースイオンピークがみられ、またNBS #25027の1,2-diphenylcyclobutane(1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bisbenzene)のトランス体と一致した (Fig. 5)。この化合物は、環状のスチレンジマーであり、Mayo⁴⁾がスチレンの熱重合反応における副生成物として報告している。更に、Kurzeら⁵⁾はトランス体とシス体の生成比が3:1で、GCの無極性カラムにおいてシス体が先に出現することを報告していることから、ピーク2は*cis*-1,2-diphenylcyclobutane、ピーク4は*trans*-1,2-diphenylcyclobutaneと確定した。

ピーク3 (3.52分) のマススペクトルは、 m/z 208に M^+ 、 m/z 91にベースイオンピークがみられた (Fig. 6)。この化合物については、GCにおけるピーク2, 4との相対位置やマススペクトルの解析から、Mayo⁴⁾及びKurzeら⁵⁾の報告にみられる、直鎖状スチレンジマーの2,4-diphenyl-1-buteneであると推定された。

ピーク5 (6.71分) のマススペクトルは、 m/z 312に M^+ 、 m/z 91にベースイオンピークがみられ (Fig.

Fig. 9. Total ion chromatogram of polystyrene extract by GC/MS with polar column
Column: DB-WAX, 0.25 mm i.d. $\times$ 30 m, 0.25 μ m thickness; oven temperature: 100°C $\rightarrow$ 20°C/min $\rightarrow$ 250°C; carrier gas: He (1.38 mL/min)

Fig. 10. Mass spectra taken from peaks 6, 7a, 7b and 8 in Fig. 10.

Table 2. ^1H - and ^{13}C -NMR Data (CDCl_3) on Peak 8

^{13}C		^1H			
Carbon No.	Chemical shift (ppm)	Proton no.	Chemical shift (ppm)	Multiplicity	J_{HH} (Hz)
C-1	46.5	H-1	4.00	dd	8, 7
C-2	31.7	H-2a	1.70	m	
C-3	22.1	H-2b	2.12	m	7
		H-3a	1.71	m	
C-4	44.6	H-3b	1.60	m	7
		H-4	3.26	br q	
C-1'	42.8	H-1'	3.57	m	7
C-2'	20.7	H-2'	1.33	d

Fig. 11. Observed correlations in ^1H - ^1H COSY and HMBC spectra of peak 8 (1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin)

7), 分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}$, 水素不足指数 (IHD)=13 で, 3つのフェニル基と1つの二重結合をもつスチレントリマーであることが推測された。そこで, ピーク5の画分について, その構造をNMRにより解析したところ, ^1H -NMRより, δ_{H} : 4.88, 5.15 に末端メチレン基由来のプロトンと δ_{H} : 7.02–7.40 に3つのフェニル基由来のプロトンが観測され, 鎖状のスチレントリマーであることが示唆された (Table 1)。また, ^1H - ^1H shift correlation spectroscopy (^1H - ^1H COSY), ^{13}C -NMR, heteronuclear multiple quantum coherence (HMQC), heteronuclear multiple bond correlation (HMBC) スペクトルより, 最終的に平面構造は, 直鎖状の 2,4,6-triphenyl-1-hexene と決定した (Fig. 8)。

ピーク6 (6.99分), 7 (7.08分) 及び8 (7.14分) は, ほぼ一致したマススペクトルを示した。しかし, これらのピークが立体異性体であるとする, 3種類よりもシス・トランスの関係の化合物が2種類の合計4種類の可能性が高いと考えられた。しかも, ピーク7は他のピークの約2倍の強度を持っていることから2本

のピークの重複が疑われた。そこで, 強極性の DB-WAX カラムを用いて測定を行ったところ, Fig. 9 に示すように, これらが4本のピークであることが確認された。これらのマススペクトルは, いずれも m/z 91, 129 及び 207 に特徴的なフラグメントイオンがみられ, ピーク6と7a, 7bと8はほぼ一致したスペクトルを示した (Fig. 10)。これらの化合物については, Mayo⁴⁾ 及び Kurze ら⁵⁾ が報告している環状スチレントリマーである 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin の立体異性体と考えられた。

そこで, ピーク8の画分について, NMRによって構造を確認したところ, ^1H 及び ^{13}C -NMRより, フェニル基以外に1つの三級メチル基 (δ_{H} : 1.33, δ_{C} : 20.7), 3つのメチンプロトン (δ_{H} : 3.26, 3.57, 4.00) 及び2組のメチレンプロトン (δ_{H} : 1.70, 2.12; 1.60, 1.71) が観測された (Table 2)。これらのつながりを ^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC によって解析し, この平面構造が 1-phenyl-4-(1'-phenylethyl)tetralin であることを確認した (Fig. 11)。

更に, 1位と2位, 3位と4位のプロトンの結合定数より, フェニル基がエクアトリアル位 (e), フェニルエチル基がアキシアル位 (a) に配座することが示唆された。Kurze ら⁵⁾ は, 保持時間の小さい方から 1e-phenyl-4e-(1'-phenylethyl)tetralin, 1a-phenyl-4e-(1'-phenylethyl)tetralin, 1a-phenyl-4a-(1'-phenylethyl)tetralin, 1e-phenyl-4a-(1'-phenylethyl)tetralin と推定しており, 今回のピーク6, 7a, 7b, 8がこれに対応するものと考えられた。

ピーク9 (7.37分) のマススペクトルは, ピーク2及び4とほぼ一致しており, m/z 104 に特徴的なベースイオンピークがみられた (Fig. 12)。この化合物は GC/MS の前後の化合物からスチレントリマーと考えられ, m/z 104 のフラグメントイオン3個が同等の関係で結合している triphenylcyclohexane と推定された。

ピーク10 (7.43分) 及び11 (7.51分) のマススペ

Fig. 12. Mass spectrum taken from peak 9 in Fig. 2.

Fig. 13. Mass spectra taken from peaks 10 and 11 in Fig. 2.

クトルは, m/z 312 に M^+ , m/z 91, 129, 207 にピーク 6~8 と一致するフラグメントイオンがみられ (Fig. 13), スチレントリマーと推測されたが, 構造は決定できなかった。

ピーク 12 (9.01 分) 及び 13 (9.06 分) のマススペクトルは, ピーク 5 と同様に m/z 91 及び 117 にフラグメントイオンが出現した (Fig. 14)。保持時間からス

チレントラマーと考えられ, 直鎖状の 2,4,6,8-tetraphenyl-1-octene の立体異性体と推定した。

ピーク 14 (10.95 分) のマススペクトルも, ピーク 5 と同様に m/z 91 及び 117 にフラグメントイオンが出現した (Fig. 15)。保持時間からスチレンペンタマーと考えられ, 直鎖状の 2,4,6,8,10-pentaphenyl-1-decene と推定した。

Fig. 14. Mass spectra taken from peaks 12 and 13 in Fig. 2.

Fig. 15. Mass spectrum taken from peak 14 in Fig. 2.

Fig. 2 に示した GC/MS/TIC には、以上の他に 1.88 及び 6.23 分にも微小なピークが存在した。前者のマススペクトルは、 m/z 145 に M^+ 、 m/z 57 にベースピークがみられ、トリメチル基をもつ化合物と考えられたが、構造は不明であった。また、後者のマススペクトルは、 m/z 129 にベースピーク、 m/z 91, 105, 194, 207 にフラグメントイオンが存在し、ピーク 6~8 と類似性がみられた。また、保持時間もスチレントリマー類に近

接していることから、このピークもスチレントリマーの可能性が高いと思われるが、構造を推定することはできなかった。

このように、食品用ポリスチレン製品中に残存していた未知物質の大部分は、スチレンジイマー、スチレントリマー、スチレンテトラマー及びスチレンペンタマーであった。これらの化合物は、ポリスチレン製造時の副生成物として生成し、その後の工程においても除去される

ことなく、最終製品中に残存したものと考えられる。ポリスチレン製品については、これらの化合物の残存に関する報告はみられないが、Gramshaw ら⁶⁾は熱硬化製ポリエステルからスチレンダイマー及びトリマーを検出したことを報告している。

スチレンダイマー及びトリマーの毒性については、Colborn らが、ウィングスプレッド宣言において、エンドクリンかく乱物質として記載している⁷⁾。しかし、その詳細に関する報告は発表されていない。

今回用いたポリスチレン製品では、残存未知物質の大部分がスチレントリマーであった。これらの化合物の残存量は、GC/MS/TIC 及び HPLC のピーク強度から、数千 ppm 以上であると推測された。スチレントリマーは、分子量 312 と比較的低分子であり、食品への移行の可能性も懸念される。今後、各種ポリスチレン製品におけるこれらの化合物の残存量を明らかにするとともに、その溶出挙動についても検討する必要があると考える。

ま と め

GC/MS 及び NMR により、ポリスチレン製品中の未

知物質について同定を試み、13 化合物の構造を確定または推定した。検出された化合物の大部分は、直鎖及び環状のスチレンダイマー及びトリマー、直鎖のテトラマー及びペンタマーであり、いずれもポリスチレンの製造工程における副生成物と考えられた。

文 献

- 1) 河村葉子, 三浦麻記子, 杉田たき子, 山田 隆, 武田明治: 食衛誌. **37**, 272~280 (1996).
- 2) 河村葉子, 渡辺一成, 左山佳代, 武田由比子, 山田 隆: 同上 **38**, 307~318 (1997).
- 3) 関口優紀, 黒木 健, 沢口孝志, 池村 紘: 日化. **1977**, 1,220~1,225 (1997).
- 4) Mayo, F.R.: J. Am. Chem. Soc. **90**, 1,289~1,295 (1968).
- 5) Kurze, V. J., Stein, D. J., Simak, P., Kaser, R.: Angew. Chem. **12**, 25~41 (1970).
- 6) Gramshaw, J. W., Vandenburg, H. J., Lakin, R. A.: Food Addit. Contam. **12**, 211~222 (1995).
- 7) Colborn, T., Dumanoski, D., Myers, J. P.: "Our Stolen Future", p. 253 (1996) The Penguin Group, New York.