

紙容器入り飲料及びその容器中のUV印刷用光重合開始剤の一斉分析

羽石 奈穂子^a, 坂牧 成恵^a, 鈴木 公美^a, 荻本 真美^a, 塩澤 優^a, 高梨 麻由^a,
富岡 直子^a, 早矢仕 裕子^{b,c}, 江夏 瑛理子^{b,c}, 廣島 愛弓^{b,d}, 浦野 奈緒子^e,
植松 洋子^a, 門間 公夫^a

紙容器入り飲料の容器の印刷に用いられる7種類の光重合開始剤の一斉分析法を開発した。材質試験では、紙容器をジクロロメタンで抽出後シリカゲルカートリッジで処理し、GC-MSで定量した。溶出試験及び内容物試験ではC₁₈カートリッジで処理し、HPLCで定量した。7成分の添加回収率は材質試験では72~103%、内容物試験では59~96%であった。市販品の分析の結果、DETX (ジエチルチオキサントン) (75/129), MBPH (4-メチルベンゾフェノン) (12/28), HCPK (1-ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトン) (16/129), EDAB (エチル-4-(ジメチルアミノ)ベンゾエート) (24/129) が紙容器材質中から検出された。材質試験でDETX, MBPH, HCPK, EDABが検出された試料を用いて溶出試験を行ったところ、MBPH (1/12), HCPK (2/16), EDAB (7/24) が検出された。内容物試験ではDETX (1/49), MBPH (5/24), HCPK (4/49), EDAB (9/49) が検出されたが、2011年度の英国食品基準庁の調査結果と比較すると、含有量はおおむね低かった。

キーワード: 光重合開始剤, 紙容器, 紙容器入り飲料, ジエチルチオキサントン, 4-メチルベンゾフェノン, 1-ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトン, エチル-4-(ジメチルアミノ)ベンゾエート

はじめに

UV印刷とは、紫外線を照射することにより短時間で硬化するインキを用いる印刷方法であり、飲料用紙容器表面等への印刷に汎用されている。UV印刷用のインキには、インキ被膜を形成するモノマーやポリマー、それらの重合を促す光重合開始剤が含まれている。2005年に、欧州で紙容器入り幼児用ミルクから、光重合開始剤の一種であるイソプロピルチオキサントン (ITX) が検出され、当該食品容器メーカーがITXの使用を中止する契機となった¹⁾。しかし、検出された量のITXでは健康への懸念はなく、ドイツ連邦リスク評価研究所 (BfR) では、ITXは遺伝毒性は示唆されず、食品への移行量が50 µg/kg以下であれば、食品包材に使用しても良い²⁾と報告している。一方、日本では50種類以上の光重合開始剤が市販されているが、飲料用紙容器への光重合開始剤についての規制はなく、その使用実態に関しても把握されていない。

そこで、海外での実態調査等を参考にITX, ジエチルチオキサントン (DETX), 4-メチルベンゾフェノン (MBPH), ベンゾフェノン (BPH), 1-ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトン (HCPK), 2-エチルヘキシル-4-(ジメチルアミノ)ベンゾエート (EHDAB), エチル-4-(ジメチルアミノ)ベンゾエート (EDAB) の7成分を選択し検討を行った。

紙容器中の光重合開始剤について、Sagrati³⁾らはジクロロメタン³⁾, Sun⁴⁾らや英国食品基準庁 (FSA) ではアセトニトリルによる抽出方法を報告している⁴⁻⁵⁾。また、食品中の光重合開始剤について、Sagrati³⁾ら、Rothenbacher, Gallart-Ayala 及びGil-Vergarara⁶⁻⁸⁾らはアセトニトリルによる抽出方法を報告している⁶⁻⁸⁾。これらの報告をもとに、UV印刷に使用される光重合開始剤7成分について、①紙容器入り飲料の容器に含まれる量、②様々な食品の代替として通常用いられる溶媒への溶出量、③牛乳、清涼飲料水等の紙容器内容物中の含有量を測定するための一斉分析法を作成し、市販品への適用を行った。

実験方法

1. 試料

材質試験用試料: 平成24~26年度に都内で入手した紙容器入り飲料の容器129製品 (牛乳35, 乳飲料26, その他の清涼飲料水45, 発酵乳11, 酒精飲料5, 豆乳3, スープ3, 低脂肪乳1) を用いた。

溶出試験用試料: 上記試料のうち、材質試験で定量下限値を超える光重合開始剤を検出した試料を用いた。

内容物試験用試料: 平成25年, 26年に都内で入手した紙容器入り飲料の内容物49製品 (牛乳10, 乳飲料11, その他の清涼飲料水20, 発酵乳3, スープ3, 酒精飲料1, 豆乳1) を用いた。

^a 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 当時: 東京都健康安全研究センター広域監視部食品監視第二課
190-0021 東京都立川市羽衣町2-63

^c 現所属: 東京都福祉保健局健康安全部食品監視課

^d 現所属: 東京都健康安全研究センター広域監視部食品監視第一課

^e 東京都健康安全研究センター広域監視部食品監視第二課

Table 1. List of Standard of Photoinitiators and an Internal Standard

| Analyte | CAS No. | MW | Manufacturer |
|---|------------|-----|-----------------------------------|
| 2-Isopropylthioxanthone(ITX) | 5495-84-1 | 254 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| 2,4-Diethylthioxanthen-9-one(DETX) | 82799-44-8 | 268 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| 4-Methylbenzophenone(MBPH) | 134-84-9 | 196 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| Benzophenone(BPH) | 119-61-9 | 182 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| 1-Hydroxycyclohexylphenylketone(HCPK) | 947-19-3 | 204 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| 2-Ethylhexyl 4-(dimethylamino) benzoate(EHDAB) | 21245-02-3 | 277 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| Ethyl 4-(dimethylamino) benzoate(EDAB) | 10287-53-3 | 193 | Tokyo Chemical Industry Co., LTD. |
| Benzophenone-2,3,4,5,6-d5(BPH-d5) ¹⁾ | 2694-78-2 | 187 | C/D/N ISOTOPS INC. |

1): Internal standard

2. 試薬等

標準品：ITX, DETX, MBPH, BPH, HCPK, EHDAB, EDAB.

内標準物質：ベンゾフェノン-d5体 (BPH-d5) .

標準品及び内標準物質ともにTable 1に示した.

ジクロロメタン, *n*-ヘキサン, 酢酸エチル, エタノール, 酢酸：特級, アセトニトリル, メタノール：高速液体クロマトグラフ用, すべて和光純薬工業 (株) 製.

前処理用固相抽出カートリッジ：Bond Elut SI (500 mg, 3 mL), Bond Elut C18 (500 mg, 3 mL), 以上アジレントテクノロジー (株) 製, Sep-Pak C18 Vac (1 g, 6 cc), ウォーターズ (株) 製.

3. 標準溶液及び内標準溶液

混合標準溶液：ITX, DETX, MBPH, BPH, HCPK, EHDAB, EDABは各々50 mgを精秤し, アセトニトリルで50 mLに定容したものをそれぞれの標準原液とした (1,000 µg/mL). 各標準原液を5.0 mLずつ採り, アセトニトリルで50 mLに定容したものを混合標準原液とした (100 µg/mL). 混合標準原液をアセトニトリルで希釈して50~10,000 ng/mLの混合標準溶液を調製した. ただし, 材質試験における添加回収試験用及び内容物試験におけるGC-MS用の混合標準溶液は, 別途 *n*-ヘキサンまたはメタノールで調製した.

内標準溶液：BPH-d5の1,000 µg/mLのアセトニトリル溶液を調製した.

4. 装置

GC-MS (材質試験及び溶出試験用)：VoyagerまたはISQ, サーモフィッシャーサイエンティフィック (株) 製.

GC-MS (内容物試験用)：6890GC/5793MS, アジレントテクノロジー (株) 製.

HPLC：1200series, アジレントテクノロジー (株) 製.

5. GC-MS測定条件

1) GC条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 µm)

アジレントテクノロジー (株) 製, カラム温度：80°C (1 min) →10°C/min→300°C, 注入口温度：250°C, イオン源温度：200°C, キャリアーガス：He (1 mL/min), 注入量：1 または2 µL, 注入モード：スプリットレス.

2) MS条件

イオン化法：EI, イオン化エネルギー：70 eV, イオン源温度：200または230°C, 測定モード：SIM, 確認モード：SCAN (*m/z* 75~300), 各成分の定量用及び確認用イオン (*m/z*)：ITX 239及び254, DETX 253及び268, MBPH 119及び196, BPH 182及び105, HCPK 81及び99, EHDAB 148及び165, EDAB 148及び164, BPH-d5 110及び187.

6. HPLC条件

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6 mm i.d.×250 mm, 粒径5 µm, ジーエルサイエンス (株)), 移動相：A液；水, B液；アセトニトリル, グラジエント条件：0 min (B液70%) →10 min (B液70%) →15 min (B液85%) →25 min (B液85%) →30 min (B液70%), カラム温度：40°C, 流速：1.0 mL/min, 注入量：10または20 µL, 検出器：フォトダイオードアレイ (PDA) または蛍光検出器 (FL), 検出波長：溶出試験では, ITX, DETX, MBPH (PDA 260 nm), BPH, HCPK (PDA 245 nm), EHDAB, EDAB (PDA 310 nm), 内容物試験では, ITX, DETX (FL Ex 272 nm, Em 440 nm), MBPH, BPH, HCPK (PDA 245 nm), EHDAB, EDAB (PDA 310 nm) .

7. 試験溶液の調製

1) 材質試験

試料から内容物を取り出し水洗した後, 一昼夜紙容器を風乾した. その後紙容器を2 g細切し, ジクロロメタン50 mLを加えて一昼夜抽出した. 抽出液を全量ろ過し, 40°C以下のエバポレーターで溶媒を留去後*n*-ヘキサン1 mLに溶解した. これをあらかじめ *n*-ヘキサン・酢酸エチル (3:7) 4 mL×2回でコンディショニングしたBond Elut SIに負荷した. これを *n*-ヘキサン・酢酸エチル (3:7) 4 mL×2回で溶出し, 流出液及び溶出液を合せて40°C以下のエバポレーターで溶媒を留去した. 残さをアセトニトリルに溶解し,

2.0 mLに定容した後、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものをGC-MSのSCAN用試験溶液、その1.0 mLに内標準溶液50 μL を加えたものをSIM用試験溶液とした。

2) 溶出試験

試料から内容物を取り出し水洗した後、一昼夜紙容器を風乾した。内容物がお茶・牛乳等の場合は水、ジュース等の場合は4%酢酸、酒類の場合は20%エタノールを浸出用液とした。あらかじめ60°Cに加熱した浸出用液を、紙容器の容量が200 mL以上の場合は200 mL、200 mL未満の場合は紙容器の上端5 mmの部分まで入れ、60°Cの恒温器で紙容器を30分間加熱し、浸出液を得た。同時に、浸出用液が接触する紙容器の面積を測定した。ITX及びDETXでは、あらかじめアセトニトリル、水各10 mLでコンディショニングしたBond Elut C18 (500 mg)に浸出液50 mLを負荷した。50%アセトニトリル20 mLで洗浄した後、アセトニトリル20 mLで溶出し、この溶出液を40°C以下のエバポレータで溶媒を留去した。残さをアセトニトリルで溶解し、1.0 mLに定容した後、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものをHPLC試験溶液及びGC-MS試験溶液とした。MBPH, BPH, HCPK, EHDAB, EDABでは、あらかじめメタノール、水各10 mLでコンディショニングしたBond Elut C18 (500 mg)に浸出液50 mLを負荷した。40%メタノール20 mLで洗浄した後、メタノール20 mLで溶出し、以下同様に操作した。

3) 内容物試験

内容物はよく混和し、お茶、牛乳、ジュースなどそのまま、固形分や残さのある野菜・果実入り飲料等については3,000 rpm、10分の遠心分離後その上清を、ヨーグルトドリンクなど粘性の高いものは水で5倍希釈したものを試験に用いた。

これら50 mLをあらかじめメタノール、水各10 mLでコンディショニングしたSep-Pak Vac C18に負荷した。これを40%メタノール20 mLで洗浄した後、メタノール20 mLで溶出し、この溶出液を40°C以下のエバポレータで溶媒を留去した。残さをメタノールに溶解し、1.0 mLに定容した後、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものをHPLC試験溶液及びGC-MS試験溶液とした。

8. 添加回収試験

1) 材質試験

測定対象の光重合開始剤を含まない紙容器を細切し、その2 gにヘキサンで調製した100 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液40 μL を添加し、30分放置後、7.1) に従い調製した。

2) 内容物試験

測定対象の光重合開始剤を含まない乳酸菌飲料50 mLに、2 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液0.5 mLを添加し、30分放置後、7.3) に従い調製した。

9. 測定方法及び検量線

1) 材質試験

試験溶液をGC-MSのSCANモードで測定し、200 ng/mLの混合標準溶液と同様のマススペクトルが得られたものについて、SIMモードで測定した。混合標準溶液100, 200, 500, 1,000 ng/mLを調製し、内部標準法を用いてピーク面積法により検量線を作成し定量した。

2) 溶出試験

混合標準溶液50, 100, 500, 1,000 ng/mLを調製し、その20 μL をHPLCに付し、絶対検量線法を用いてピーク面積法により検量線を作成し定量した。得られた定量値と、予め算出した浸出用液の接触面積を用いて、単位面積当たりの溶出量を算出した。検出が確認された成分について、GC-MSのSCANモードで測定し、200 ng/mLの混合標準溶液におけるマススペクトルと比較した。

3) 内容物試験

混合標準溶液200, 400, 800, 1,000, 2,000, 5,000, 10,000 ng/mLを調製し、その10 μL (5倍希釈した試料は20 μL)をHPLCに付し、絶対検量線法を用いてピーク面積法により検量線を作成し定量した。ただし、ITX及びDETXについては200から2,000 ng/mLまでを検量線範囲とした。検出が確認された成分について、GC-MSのSCANモードで測定し、200 ng/mLの混合標準溶液におけるマススペクトルと比較した。

結果及び考察

1. 材質試験

1) 試験溶液調製法の検討

紙容器をジクロロメタンで抽出後、シリカゲルカートリッジによる前処理操作を行っているSagratiiniらの方法(Sagratiini法)³⁾に準拠した。ただし、Sagratiini法では試料を5×10 cm採取しているが、これは一般的な500 mLまたは1 Lの紙容器約2 gに相当したため、試料採取量は2 gに統一した。まず、カートリッジ使用時の回収率について確認するため、*n*-ヘキサンで調製した4 $\mu\text{g/mL}$ の混合標準溶液1 mLをカートリッジに負荷し、7.1) に従い操作した。なおSagratiini法では、減圧濃縮後*n*-ヘキサン・酢酸エチル (3:7) で定容しているが、HPLC等他の機器での測定も考慮し、アセトニトリルでの定容を検討した。GC-MSで測定した結果、*n*-ヘキサン・酢酸エチル (3:7) 及びアセトニトリルで定容した試験溶液の強度に差はなかったため、本法を用いることとした。いずれの光重合開始剤でも77%以上の回収率が得られた。

2) GC-MS測定条件の検討

Sagratiini法では2段階の昇温速度 (25°C/min及び10°C/min) を用いているが、十分に分離できない成分が認められたため、本法では10°C/minのみの条件で検討した。その結果、分離は改善され、Sagratiini法では分析対象外のDETXやMBPHも良好に分析できた。また、Sagratiini法では注入方法はスプリットモードであるが、本法では感度向

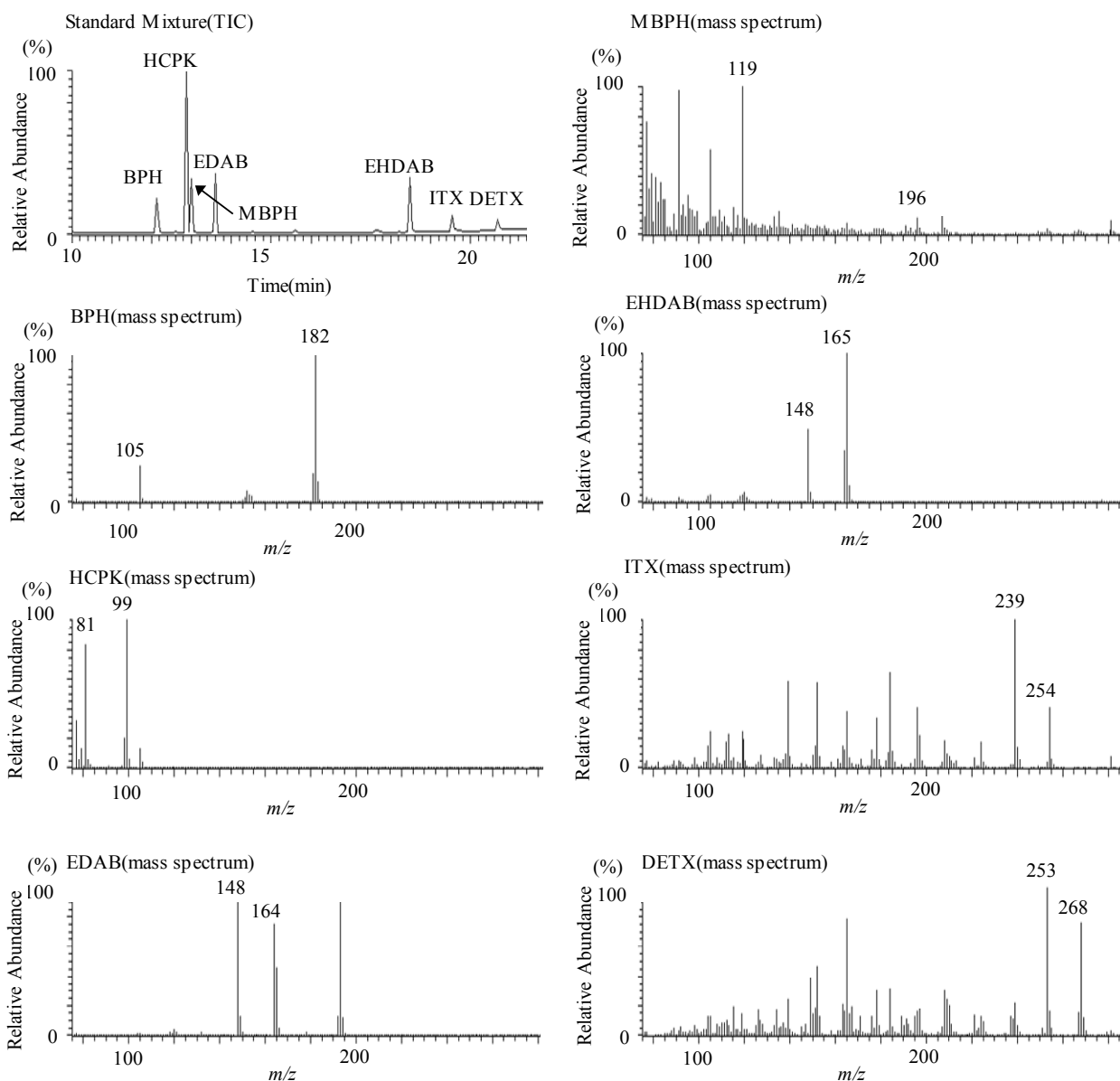


Fig.1 TIC and Mass Spectra of Photoinitiators(Standard Mixture of 1,000 ng/mL)

上を目的としてスプリットレスモードで定量した。 Fig. 1 に1,000 ng/mLの混合標準溶液のGC-MSクロマトグラムを示した。

3) 検量線

混合標準溶液をGC-MSに付し、内部標準法で検量線を作成し、100~1,000 ng/mLの範囲で直線性 ($r \geq 0.999$) を示した。定量下限値は、検量線の精度や妨害等から、試料あたり200 ng/gとした。

4) 添加回収試験

測定対象の光重合開始剤を含まない紙容器を用い、本法に従い試験溶液を調製した。添加回収試験を行った結果、回収率は72~103%であった (Table 2) 。

Table 2. Recovery and Relative Standard Deviation of Photoinitiators from Food-Packaging Material

| Analyte | Recovery ¹⁾ (%) | RSD (%) |
|---------|----------------------------|---------|
| ITX | 90 | 4.1 |
| DET X | 98 | 3.2 |
| MBPH | 75 | 6.2 |
| BPH | 72 | 4.3 |
| HCPK | 85 | 4.0 |
| EHDAB | 103 | 5.9 |
| EDAB | 93 | 1.7 |

1) : Spiked level was 2,000 ng/g, n=3

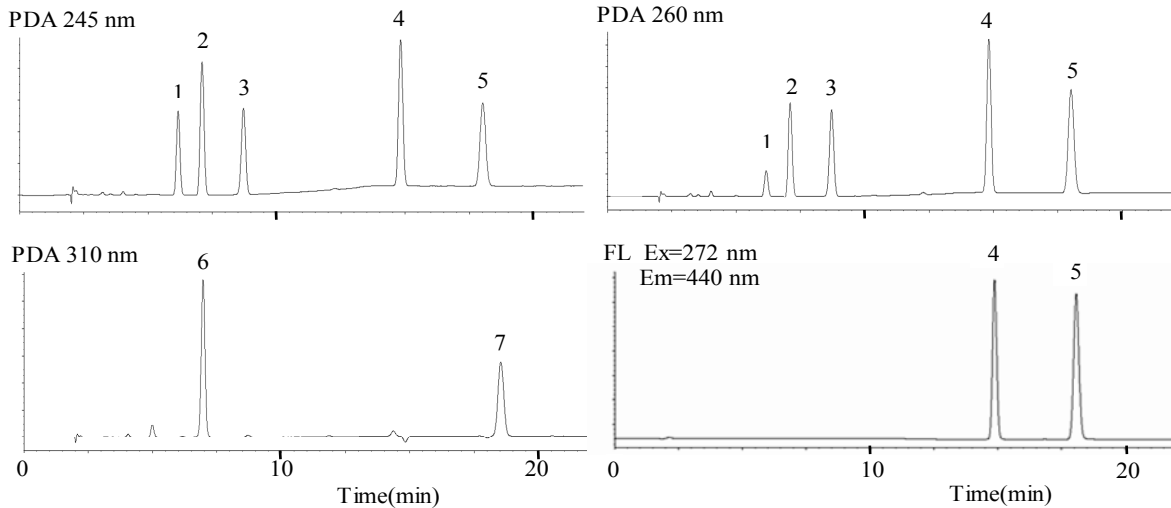


Fig. 2 Liquid Chromatograms of Standard Solution (1,000 ng/mL)
1:HCPK 2:BPH 3:MBPH 4:ITX 5:DETX 6:EDAB 7:EHDAB

2. 溶出試験

1) 試験溶液調製法の検討

飲料用紙容器の浸出液を濃縮して低濃度まで測定することを目的として、前処理用固相抽出カートリッジの検討を行った。測定対象とした光重合開始剤は、いずれもODSカラムによるHPLC分析が可能なこと、浸出液は、水または水を80%以上含み、極性が高いことから、C₁₈カートリッジに紙容器の浸出液を負荷し、メタノールまたはアセトニトリルで溶出する方法を検討した。①Bond Elut C18, ②Sep-Pak Vac C18, ③InertSep C18 (各製品固相充填量は500 mg)について、混合標準原液を、水で希釈し10 µg/mLとしたものを50 mL負荷し、7.2) に示す洗浄及び溶出条件を適用した。この条件では、いずれのカートリッジカラムにおいても、流出液及び洗浄液から対象成分は検出されないことを確認し、それぞれの回収率を検討した。②Sep-Pak Vac C18及び③InertSep C18では、HCPK, EDABの回収率は90%以上と非常に良好であり、MBPH及びBPHの回収率も65%以上とほぼ良好であった。しかし、ITX, DETXでは50%台、EHDABでは30%台と非常に低かった。一方、①Bond Elut C18では、EHDABの回収率は40%台であったが、それ以外は65%以上を示し、ほぼ良好であった。以上より、特に回収率の低かったITX, DETX及びEHDABにおいて、最も良好な回収率を示した①Bond Elut C18を選択した。EHDABは、メタノールまたはアセトニトリルの溶出溶液量を増やしても回収率の上昇はみられず、充填剤中に強く保持されていると推察された。

2) HPLC測定条件の検討

7成分を同時に測定するため、グラジェント条件を検討した。その結果、**実験方法 6. HPLC条件**に示す方法において良好な分離が得られた。Fig.2 にアセトニトリルで調製した1,000 ng/mLの標準溶液のHPLCクロマトグラムを示した。

3) 検量線

混合標準溶液をHPLCに付し、絶対検量線法で検量線を作成し、50~1,000 ng/mLの範囲で直線性 ($r \geq 0.999$) を示した。定量下限値は、検量線の精度や妨害等から、浸出液あたり1 ng/mLとした。液体を満たすことのできる試料にあっては、単位面積当たりの浸出液量の比率は、約0.7~2.0 mL/cm²である⁹⁾ため、紙容器表面積あたりの定量限界は2 ng/cm²とした。

4) 充填量の違いによる回収率の検討

測定対象の光重合開始剤を含まない紙容器に水、4%酢酸または20%エタノールを入れ、60°Cで30分間加熱して浸出液を得た。浸出液200 mLに対し100 µg/mLの混合標準溶液20 µLを添加し、30分放置後、7.2) に従い調製した。

Bond Elut C18カートリッジ (充填量500 mg) で処理したときの7成分の回収率をTable 3 に示した。MBPH, BPH, HCPK, 及びEDABにおいて69%以上と良好であった。一方、ITX, DETX, EHDABでは回収率は40または50%台と低かったため、カートリッジの固相充填量を1 gとして検討を行った。しかし、Bond Elut C18 (充填量1 g) を用いてこれら3成分の回収率を検討したところ、回収率に大きな変化はみられなかったため、充填量は500 mgのままとした。

3. 内容物試験

1) 試験溶液調製法の検討及び添加回収試験

食品中の光重合開始剤については牛乳、果汁、ワイン等の飲料やトマトピューレ、ヨーグルト、朝食用シリアルなどの分析方法が報告³⁻⁸⁾されている。今回、内容物としては乳飲料や果汁飲料等の飲料が想定されることから、対象物質の混入の可能性が低いペットボトル、ビンあるいは缶飲料50 mLに混合標準溶液を1,000 ng添加し、その回収率を用いて試験法として適用可能かどうかを検討した。

Table 3. Recovery of Photoinitiators from Food Simulants using SPE Cartridge with different Amount of Octadecyl-Bonded Silica Gel as Sorbent

| Analyte | Sorbent Amount | Food Simulant | | | | | |
|---------|----------------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|
| | | Water | | 4% acetic acid | | 20% ethanol | |
| | | Recovery ¹⁾ (%) | RSD (%) | Recovery ¹⁾ (%) | RSD (%) | Recovery ¹⁾ (%) | RSD (%) |
| ITX | 500 mg | 57 | 2.8 | 61 | 2.2 | 64 | 0.5 |
| | 1 g | 56 | 0.3 | 59 | 0.6 | 70 | 4.5 |
| DETX | 500 mg | 58 | 3.3 | 58 | 1.2 | 78 | 1.6 |
| | 1 g | 54 | 2.0 | 56 | 3.6 | 60 | 2.1 |
| MBPH | 500 mg | 69 | 1.1 | 83 | 3.8 | 96 | 3.6 |
| | 1 g | 68 | 5.5 | 74 | 1.7 | 68 | 5.5 |
| BPH | 500 mg | 74 | 0.9 | 98 | 0.4 | 100 | 4.0 |
| | 1 g | 75 | 3.7 | 84 | 3.0 | 72 | 3.6 |
| HCPK | 500 mg | 82 | 3.5 | 84 | 3.1 | 78 | 1.9 |
| | 1 g | 88 | 2.8 | 100 | 3.0 | 79 | 2.1 |
| EHDAB | 500 mg | 49 | 2.1 | 56 | 3.7 | 53 | 0.8 |
| | 1 g | 59 | 4.4 | 49 | 1.4 | 61 | 1.7 |
| EDAB | 500 mg | 79 | 3.5 | 84 | 1.6 | 99 | 4.9 |
| | 1 g | 98 | 2.5 | 97 | 1.9 | 95 | 2.9 |

1) : Spiked level was 500 ng/cartridge, n=3

Rotenbacherらの方法⁶⁾ (分析対象: ITX, DETX) に準じ、乳飲料を用いたアセトニトリルによる直接抽出を試みたが、ITX, DETX及びEHDABの3成分については夾雑物質との分離が不十分で測定が困難であり、その他の成分は添加回収率が20%程度であり、抽出法として十分ではなかった。またSagratiiniらの方法³⁾ (分析対象: ITX, EHDAB, BPH, HCPK, EDAB) に従い、乳飲料及びジュースを用いた*n*-ヘキサンによる直接抽出を行ったところ、強固なエマルジョン形成により溶媒との分離が困難であったため、抽出に用いる溶媒の検討を行った。しかし、*n*-ヘキサン・酢酸エチル混液、酢酸エチル及びジエチルエーテルによる抽出でも同様の結果となり、抽出法として採用できるものではなかった。その他の分析方法では、分析対象物質が限定されていたり、加圧抽出等の特殊な方法を用いていたため、検討を行わなかった。

そこで溶出試験の試験溶液調製法を参考に、前処理固相抽出カートリッジによる濃縮・精製について検討を行った。乳酸菌飲料を用い、①Sep-Pak Vac C18, ②Bond Elut Jr-C18, ③InertSep C18及び④ASPEC C18 (各製品固相充填量は500 mg) による比較を行ったところ、②Bond Elut Jr-C18, ③InertSep C18及び④ASPEC C18の3種の固相カートリッジでは試料負荷時に固相に目詰まりが生じ、負荷途中で操作が困難となった。①Sep-Pak Vac C18を用いたときは試料負荷時の固相の目詰まりもなく、目的物質の回収が得られ、濃縮・精製工程として有効であったことから、Sep-Pak Vac C18を用いることとした。さらに、飲料中にはマトリックスが共存することを考慮し、①Sep-Pak Vac

C18について、固相充填量500 mgと1 gでの比較を行った。500 mgでは7成分の回収率が42~79%であったが、1 gを用いたところ59~96%の回収率となり (Table 4), 飲料等の内容物の試験溶液調製法として適用可能と考え、この方法を採用した。

2) 検量線

混合標準溶液をHPLCに付し、絶対検量線法で検量線を作成し、200~10,000 ng/mLの範囲で直線性 ($r \geq 0.999$) を示した。ITX及びDETXについては200~2,000 ng/mLの範囲で良好な直線性 ($r \geq 0.999$) を示した。定量下限値は、検量線の精度や妨害等から、試料あたり4 µg/L、水で希釈後試験に供した試料については10 µg/Lとした。

Table 4. Recovery of Photoinitiators from Lactic Acid Bacteria Beverage using SPE Cartridge with different Amount of Octadecyl-Bonded Silica Gel

| Analyte | Sep-Pak (500 mg) | | Sep-Pak (1 g) | |
|---------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|
| | Recovery ¹⁾ (%) | RSD (%) | Recovery ¹⁾ (%) | RSD (%) |
| ITX | 60 | 3.9 | 78 | 2.6 |
| DETX | 47 | 3.8 | 67 | 2.2 |
| MBPH | 79 | 4.0 | 85 | 1.7 |
| BPH | 64 | 1.2 | 87 | 5.2 |
| HCPK | 48 | 6.2 | 96 | 3.7 |
| EHDAB | 42 | 4.6 | 59 | 3.2 |
| EDAB | 76 | 6.5 | 88 | 2.4 |

1) : Spiked level was 20 ng/mL, n=3

4. 市販品の分析

検討した試験法を用いて市販品の分析を行った。製品ごとに同一ロット品3個についてそれぞれ検査 (n=3) を実施し、平均値を算出した (Fig. 3)。

1) 材質試験

材質試験では、平成24~26年度に都内で入手した129製品 (MBPHは平成26年度に入手した28製品) を定量した結果、DETXが75製品、MBPHが12製品、HCPKが16製品、EDABが24製品から検出された。欧州でミルクから検出されたITX¹⁾及びEHDAB、発がん性物質の可能性が指摘されているBPH⁹⁾は不検出であった。2008年のSagrati³⁾らの報告³⁾では、BPHは調査した40試料すべてから検出されている。一方、今回の我々の調査ではMBPHが検出されている。BPHはMBPHの代替であり、両者は同様の目的のために使用されるが¹⁰⁾、日本ではMBPHが使用されていると考えられた。またSagrati³⁾らは、アプリコットジュースの容器からHCPKが最高0.8 μgdm^{-2} 、EDABがチョコレートミルクの容器から最高6.1 μgdm^{-2} 検出したと報告している³⁾。これらの紙容器の厚さが日本に流通している一般的な牛乳用紙容器と同程度の厚さと仮定すると、HCPKは約200 ng/g、EDABは約1500 ng/gに相当する。今回の調査では、HCPKは約34,000 ng/g、EDABは約6,000 ng/g検出されている製品もあり、紙容器に用いられる光重合開始剤の種類及び添加量は、国により異なる可能性が考えられた。HCPKはジェルネイルの成分として知られているが、紙容器にも用いられていることがわかった。

2) 溶出試験

溶出試験では、材質試験で定量値が示された製品を用いた。紙容器から内容物を取り除いた後に試験を行ったため、紙容器中の光重合開始剤は、すでに内容物中に溶出されている可能性がある。DETXは75製品中、溶出試験で検出された製品はなかった。しかし、MBPHは12製品中1製品、HCPKは16製品中2製品から溶出を認められた。さらに、EDABは24製品中7製品と高頻度に溶出が認められた。紙容器に残存する光重合開始剤については、溶出試験において水など極性の高い浸出用液を用いている。EDABは親水性のアミノ基を有し、浸出用液への親和性が高いため、溶出率が高くなったと考えられた。

3) 内容物試験

内容物試験では、平成25、26年度の49製品 (MBPHについては、平成26年度の24製品) を分析対象とした。ITX、BPH及びEHDABは49製品すべて不検出であった。49製品中、DETXは1製品、HCPKは4製品、EDABは9製品からそれぞれ検出した。MBPHについては、24製品中5製品から検出した。2011年FSA実施の362食品の調査結果⁵⁾では、菓子やシリアルからHCPKが56~1,020 $\mu\text{g/kg}$ 、BPHが10~2,460 $\mu\text{g/kg}$ 、EDABが0.8~2,490 $\mu\text{g/kg}$ 、EHDABが11~830 $\mu\text{g/kg}$ と高い値を検出している。それらと比較すると、今回の検出量は概ね低い値であった。また、製品ごとに混合標準溶液を添加した回収試験を併行実施し、分析精度を確

認した。夾雑ピークにより回収率の算出ができないものもあったが、今回検出した製品では、EDAB検出の1製品 (回収率45%) を除き、他はそれぞれ70%~110%の回収率が得られた。このことから、飲料等からの抽出法として比較的良好な精度であると考えられた。

今回分析対象とした市販飲料49製品は、あらかじめ実施した材質試験の結果から、光重合開始剤の検出の可能性が見込まれる製品を選択している。そのため、検出量や検出率等が流通している市場規模を必ずしも反映していない。

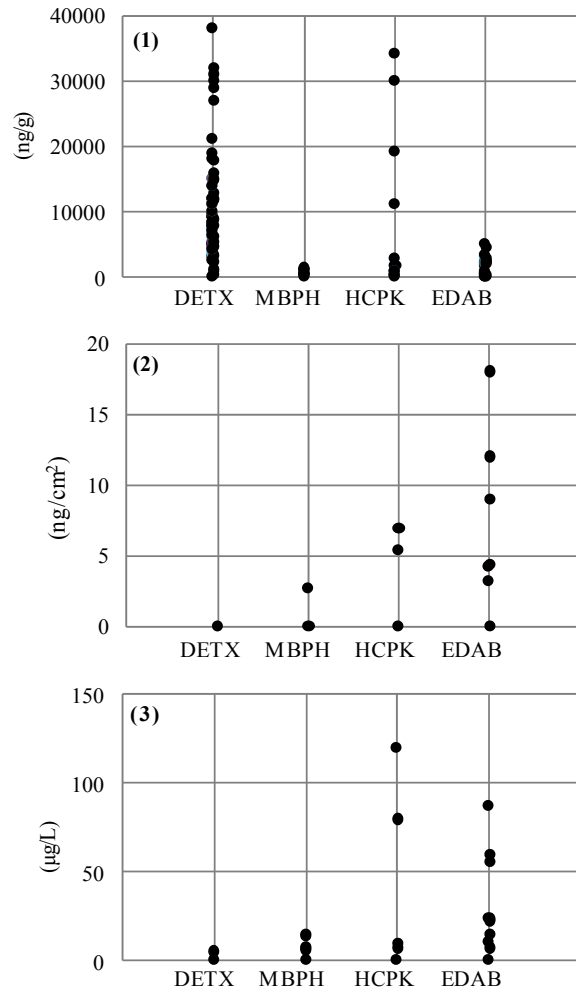


Fig.3 Amount of Photoinitiators in Food-Packaging Materials and Beverages

- (1): Amount in Packing Material
(2): Extract in Simulant
(3): Amount in Beverage

ま と め

光重合開始剤7成分 (ITX, DETX, MBPH, BPH, HCPK, EHDAB, EDAB) の一斉分析法を開発した。紙容器の材質試験では、添加回収率は、各成分ともに72%以上であった。溶出試験では、材質試験において紙容器本体から検出されたDETX, MBPH, HCPK, EDABの4成分についてのカートリッジ操作時における回収率は、いずれの食

品疑似溶媒を用いても58%以上であった。紙容器の内容物については、乳酸菌飲料における添加回収率は、7成分いずれも59%以上であった。開発した試験法を用いて市販品の分析を行ったところ、ITX, BPH, EHDABは検出されず、DETX, MBPH, HCPK 及びEDABが検出された。

文 献

- 1) European Commission: The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report 2005, 22-23, 2005.
- 2) BfR Opinion No. 028/2008: Replacement of isopropyl thioxanthone (ITX) in printing inks by non-assessed substances is not appropriate, 2008.
- 3) Sagratini, G., Caprioli, G., Cristalli, G., *et al.*: *Journal of Chromatography A*, **1194**, 213-220, 2008.
- 4) Sun, C., Harn, S., Dan, C., *et al.*: *Journal of Chromatography A*, **1143**, 162-167, 2007.
- 5) Food Standards Agency: Food survey information sheet number 03/11, A4-year rolling programme of surveys on chemical migrants from food packaging materials and articles, 2011.
- 6) Rotenbacher, T., Baumann, M., Fugel, D.: *Food Additives and Contaminants*, **24**(4), 438-444, 2007.
- 7) Gallart-A., H., Moyano, E., Galceran, M. T.: *Journal of Chromatography A*, **1208**, 182-188, 2008.
- 8) Gil-V., A., Blasco, C., Pico, Y.: *Anal Bioanal Chem*, **389**, 605-617, 2007.
- 9) 日本薬学会編：衛生試験法・注解1990, 729-730, 1990, 金原出版, 東京.
- 10) Scientific opinion: *The EFSA Journal*, **1104**, 1-30, 2009.

Analysis of Photoinitiators in Beverages Packed in Paper-Based Packages and in the Emptied Packages

Nahoko HANEISHI^a, Narue SAKAMAKI^a, Kumi SUZUKI^a, Mami OGIMOTO^a, Yuu SHIOZAWA^a, Mayu TAKANASHI^a, Naoko TOMIOKA^a, Yuuko HAYASHI^{b,c}, Eriko KOUKA^{b,c}, Ayumi HIROSHIMA^a, Naoko URANO^a, Yoko UEMATSU^a and Kimio MONMA^a

Simultaneous analytical methods with seven photoinitiators used for UV-cured ink were developed for analysis of beverages in paper-based packages and in the emptied packages. A part of the emptied packages was subjected to simulant extraction testing.

Photoinitiators in shredded packaging materials were extracted with dichloromethane, followed by cleaning-up with a silica gel solid-phase extraction (SPE) cartridge, and measurement by GC-MS. Photoinitiators in the simulant extraction and beverages were measured by HPLC, after cleaning-up with a C₁₈ SPE cartridge. Recoveries of the photoinitiators were 72%–103% from packaging materials and 59%–96% from beverages.

DETX (2,4-diethylthioxanthen-9-one) (75/129), MBPH (4-methylbenzophenone) (12/28), HCPK (1-hydroxycyclohexylphenylketone) (16/129), and EDAB (ethyl 4-(dimethylamino)benzoate) (24/129) were found in the shredded packaging materials, and MBPH (1/12), HCPK (2/16), and EDAB (7/24) were found in simulant extractions of emptied packages. DETX (1/49), MBPH (5/24), HCPK (4/49), and EDAB (9/49) were found in the corresponding beverages. The detected levels of DETX, MBPH, HCPK, and EDAB in the beverages were generally lower than in the survey conducted by the Food Standards Agency of the United Kingdom in 2011.

Keywords: photoinitiator, packaging material, beverage, 2,4-diethylthioxanthen-9-one, 4-methylbenzophenone, 1-hydroxycyclohexylphenylketone, ethyl 4-(dimethylamino)benzoate

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out

^c Present Address: Food Safety Control Section, Health and Safety Division,
Tokyo Metropolitan Bureau of Social Welfare and Public Health,
2-8-1, Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 163-8001, Japan

