

台所用品からのヒノキチオール分析

萩野 賀世*, 松本 ひろ子*, 坂牧 成恵*, 中里 光男*, 安田 和男*

Determination of Hinokitiol in kitchen ware by HPLC

Kayo HAGINO*, Hiroko MATSUMOTO*, Narue SAKAMAKI*, Mitsuo NAKAZATO* and Kazuo YASUDA*

Keywords : ヒノキチオール hinokitiol,天然抗菌剤 natural antimicrobial agent,台所用品 kitchen ware, 浴用品 bath ware,水蒸気蒸留 distillation,フォトダイオードアレイ検出器 photo diode array detector(PDA),高速液体クロマトグラフィーHPLC

緒言

近年,腸管出血性大腸菌O-157による食中毒や牛海綿状脳症(BSE),また,ウエストナイル熱や重症急性呼吸症候群(SARS)等の新たな感染症の流行等,我々の生命や健康を脅かす問題が続発している.

これらの影響や消費者の健康・清潔志向と相まって,「抗菌防臭加工」,「防カビ加工」等の表示のある製品がもてはやされている.最近では食品用の包装フィルム,ふきん,たわし等の台所用品,タオル等の浴用品,下着や靴下等の衣類を始めとして,文具,玩具,電化製品,建築材料に至るまで広範囲に及んでいる¹⁾.それに伴い,添加する抗菌剤の開発研究も盛んに行われ,多くの抗菌剤が実用化されている.ヒノキチオールもその中のひとつである²⁾.

ヒノキチオールは,台湾ひのき,青森ヒバ(ヒノキアスナロ)などの精油中に含まれる7員環を有するトロポロン誘導体である.抗菌性が比較的強い上に,その抗菌スペクトルも広く,耐性菌の出現も認められないなど,抗菌剤として優れた特性を有している³⁾.また,ヒノキチオールは植物性の天然成分であるという安心感から,近年,繊維製品⁴⁾,包装フィルム⁵⁾等の抗菌剤としての需要が増加している.さらに,食品の鮮度保持剤としても期待され,既存添加物名簿に保存料(ツヤプリシン)として収載されている⁶⁾.

一方,ヒノキチオールの毒性については天然物ということで詳細な検討が行われなかった.近年,各種毒性評価が行われるようになり⁷⁾,当センターにおいて妊娠マウスに対して催奇形性があるとの報告がなされている⁸⁾.

著者らは,これまでも台所用品に使用される抗菌剤について調査を行っており,前報⁹⁾ではチアベンダゾールの使用実態について報告した.今回は,ヒノキチオールが台所用品に使用されている例が見受けられることから,これらについてヒノキチオールの含有量実態調査を行うことにした.また,今回用いた台所用品と同じメーカー製で,同じ材質の浴用品にも同様の表示が見受けられたことから,浴用品についても併せて分析を行った.それらの結果につ

いて報告する.

実験方法

1. 試料

2001年3月から2001年9月に,ヒノキチオール,青森ヒバ,ヒバ油を抗菌剤に用いた「抗菌加工」表示のある,台所用品として,ふきん7検体,キッチンタオル1検体,おしぼり1検体及び台所用スポンジ5検体の合計14検体,浴用品として,ボディタオル16検体及びボディスポンジ1検体の合計17検体,総計31検体を購入し試料とした.

2. 試薬

1)ヒノキチオール標準溶液:ヒノキチオールC₁₀H₁₂O₂(純度99%以上,東京化成工業(株)製)100 mgをHPLC用メタノールに溶解し,正確に100 mLとしたものを標準原液(1,000 µg/mL)とし,遮光して冷暗所(4)に保存した.これを用時に適宜メタノールで希釈したものを標準溶液とした.

2)0.2 mmol/L EDTA含有5 mmol/Lクエン酸緩衝液(pH4.0):クエン酸一水和物(試薬特級,和光純薬工業(株)製)7.0 g,クエン酸三ナトリウム二水和物(試薬特級,和光純薬工業(株)製)6.0 g及びEDTA二ナトリウム(試薬特級,同仁化学研究所(株)製)0.68 gを水に溶解して1,000 mLとした.これを用時水で10倍に希釈して使用した.

3)メタノール:HPLC用を用いた.

3. 装置

1)HPLC:Agilent Technologies社製1100シリーズ(ポンプ,カラム恒温槽,オートサンプラー,紫外外部吸収検出器,フォトダイオードアレイ検出器(PDA)で構成)

2)データ処理装置:Agilent Technologies社製ケミステーション

4. 試験溶液の調製

試料を細切し,ふきんなど繊維製品は20 g,台所用スポンジについては10 gを500 mLの二口丸底フラスコに取り,メタノール50 mLを加え,30~60分浸潤させた.次に,15%酒石酸10 mL及びシリコン樹脂2,3滴を加えた後,水を加

* 東京都健康安全研究センター多摩支所理化学研究科 190-0023 東京都立川市柴崎町3-16-25

* Tama Branch Institute, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-16-25, Shibasaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023 Japan

え全量を200 mLとした。これを毎分10 mLの留出速度で水蒸気蒸留を行い、留液500 mLを採取した。この留液5 mLを取り、メタノールを加えて10 mLにメスアップし、0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過し、HPLC試験溶液とした。

5. HPLC測定条件

カラム：L-column ODS(4.6 mm i.d.×250 mm, mesh 5 μm , 化学品検査協会(財)製), 移動相：メタノール・0.2 mmol/L EDTA含有5 mmol/Lクエン酸緩衝液(6:4), 流速：1.0 mL/min, カラム温度：40, 検出器：紫外外部吸収検出器, 検出波長：240 nm, PDA 200~350 nm, 注入量：20 μL

6. 定性及び定量

各試験溶液をHPLCに付し、標準品の保持時間と比較して定性を行った。また、それぞれの標準溶液のピーク面積から検量線を作成し、定量を行った。

7. 確認

HPLCにおいて、標準品と保持時間が一致するピークが検出された場合には、PDAによりスペクトルの確認を行った。

結果及び考察

1. 分析条件

ヒノキチオール分析法としては、化粧品^{10,11}, 繊維製品¹², 食品¹³を対象としていくつか報告されている。このうち、食品中のヒノキチオールを水蒸気蒸留で分離し、HPLCで定量を行う小川らの方法¹³が簡便で精度も比較的優れていることから、著者らはこの方法を応用することとし、今回用いた試料への適応性について検討した。なお、試料はヒノキチオールの揮散、分解を避けるために、試料調製直前まで冷暗所に保管し、分析時に1 cm^2 以下に細切して用いた。

1) 水蒸気蒸留 試料からのヒノキチオールの抽出は、ヒノキチオールを直接吹き付けた試料や浸潤させた試料については、そのまま水蒸気蒸留に付しても問題は無いものと思われる。しかし、今回の試料の中にはヒノキチオールが繊維素材へ練り込まれているものや、徐放性のマイクロカプセルに封入されているものもあることが想定された。そこで、あらかじめ、試料をメタノールで浸潤させ、素材やカプセルから浸出し易くする操作を追加した。すなわち、ヒノキチオールはアルコール類によく溶け、水には比較的溶けにくいいため、細切した試料にメタノールを加え、30~60分静置してから水蒸気蒸留を行うこととした。なお、ヒノキチオールは光によって分解されやすいことから、蒸留操作は遮光して行った。

2) HPLC条件 小川らの方法¹³におけるHPLC条件は、本調査の繊維製品やスポンジ類にも十分適用可能であったが、検出波長はより感度の良いヒノキチオールの極大吸収波長である240 nmとした。なお、クロマトグラム上にも特に妨害となるピークは認められなかった。ヒノキチオール標

準品と同様の保持時間にピークが検出されたものは、PDAを用いてスペクトルを測定し、標準品と比較して確認を行った。図1にヒノキチオールの検出されたふきん(試料番号4)のHPLCクロマトグラムとPDAスペクトルを示した。

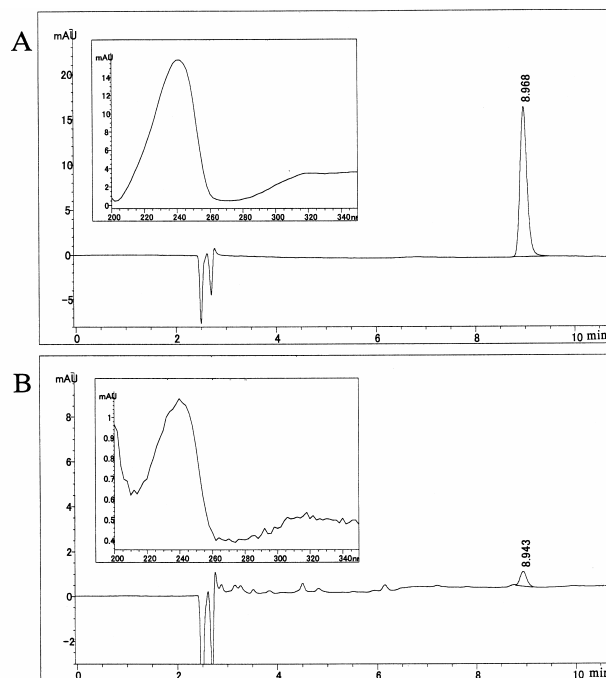


図1. ヒノキチオール標準溶液及びふきんから検出されたヒノキチオールのHPLCクロマトグラム及びPDAスペクトル

A: ヒノキチオール標準溶液(1 $\mu\text{g/mL}$)

B: ふきんから検出されたヒノキチオール(試料番号4)

3) 検量線及び検出限界 検量線はヒノキチオール標準溶液 0.01 $\mu\text{g/mL}$ ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で直線性が得られ、試料中の検出限界はふきんなど繊維製品で0.5 $\mu\text{g/g}$, 台所用スポンジで1.0 $\mu\text{g/g}$ であった。

4) 添加回収試験 あらかじめ、ヒノキチオールが検出されないことを確認したふきん及び台所用ナイロン製スポンジに、ヒノキチオールを50, 125 $\mu\text{g/g}$ の濃度で添加し、本法に従って回収実験(n=3)を行った。ふきんにおける回収率は85.7~98.0%であり、台所用ナイロン製スポンジでは82.7~99.6%であり、良好な結果が得られた。

2. 市販製品中のヒノキチオール含有量

ヒノキチオール、青森ヒバ、ヒバ油を抗菌剤に用いた「抗菌加工」表示のある台所用品及び浴用品31検体を分析対象としてヒノキチオール含有量調査を行った。結果を表1に示した。

全試料にヒノキチオールの使用表示があったにもかかわらず、台所用品では、ふきん1検体から2 $\mu\text{g/g}$, キッチンタオル1検体から1 $\mu\text{g/g}$, 浴用品ではボディタオルの1検体から10 $\mu\text{g/g}$ が検出されたにすぎず、極めて低い検出率(9.7%)であった。この結果は、市販のヒノキチオール含有繊維製品5検体の分析を行い、全く検出されなかったと報告して

表1. 市販台所製品及び浴用品のヒノキチオール含有量実態調査結果

試料番号	用途	名称	検出値(μg/g)	抗菌防臭加工表示	材質表示
1	台所用品	ふきん	-	HN	綿
2		ふきん	-	HN	綿
3		ふきん	-	HN	綿
4		ふきん	2	ヒバ油	綿
5		ふきん	-	ヒバ油	綿
6		ふきん	-	青森ヒバ	綿
7		ふきん	-	HN	綿
8		キッチンタオル	1	HN	ポリノジック
9		おしぼり	-	HN	綿
10		台所用スポンジ	-	HN	ナイロン
11		台所用スポンジ	-	HN	ポリウレタン
12		台所用スポンジ	-	HN	ナイロン
13		台所用スポンジ	-	HN	ナイロン、ポリウレタン
14		台所用スポンジ	-	青森ヒバ	ポリエステル
15	浴用品	ボディタオル	-	HN	綿
16		ボディタオル	-	HN	綿
17		ボディタオル	-	HN	綿
18		ボディタオル	-	HN	綿
19		ボディタオル	-	HN	綿
20		ボディタオル	-	HN	綿
21		ボディタオル	-	HN	綿
22		ボディタオル	-	HN	綿
23		ボディタオル	-	HN	綿
24		ボディタオル	10	HN	綿 90%, レーヨン 10%
25		ボディタオル	-	青森ヒバ	綿 25%, 麻 73%, ラメ 2%
26		ボディタオル	-	青森ヒバ	麻
27		ボディタオル	-	HN	綿 33%, ポリエステル 67%
28		ボディタオル	-	青森ヒバ, HN	絹
29		ボディタオル	-	HN	綿
30		ボディタオル	-	HN	綿
31		ボディスポンジ	-	HN	セルロース

HN:ヒノキチオール

いる中島ら¹²⁾の結果と同様であった。ヒノキチオールの細菌、酵母、カビに対する最小発育阻止濃度(MIC)が通常25~100 μg/mLとされていることから³⁾、今回の検出量では、抗菌効果はほとんど期待できないものと思われる。

市販製品からほとんど検出されない理由としては、中島ら¹²⁾も指摘しているようにヒノキチオールが本来昇華性の物質であるため揮散して残留していないか、ヒノキチオールは光によって速やかに分解するために残留していなかったか、あるいは、金属と錯体を形成して本来の化学形態ではないものに変化してしまったのではないかと考えられる。実際、今回調査した試料の包装などに遮光措置は特にとられていなかった。

そこで、表示があってもヒノキチオールが検出されなかった場合、実際に使用されなかったものか、あるいは消失

したものかの判断が必要になる。中島ら¹⁴⁾はヒバ油及びヒノキチオール加工の表示のある繊維製品23検体について、添加の有無を確認するため、ヒバ油の主成分ツヨブセンを分析した結果、大部分の製品でツヨブセンの残留を認めたことを報告している。今後、表示のある製品についてはこのようなヒバ油の特有成分の分析が必要になると考えられる。

現在、繊維製品ではヒノキチオールあるいはヒバ油を徐放性のマイクロカプセルに封入し、これを加工途中で添加し、効果が長期間持続するように図ったものが主流になりつつある¹⁵⁾。今回用いた試料ではその使用形態まで特定できる情報は得られなかったが、消費者の手に入るまでにその効果が消失してしまうのは問題であろう。

ま と め

「抗菌加工」表示のあった市販台所用品及び浴用品について、ヒノキチオール含有量を水蒸気蒸留による抽出とHPLCによる測定を組み合わせた分析法を用いて、調査を実施した。台所用品14検体中2検体、浴用品17検体中1検体からヒノキチオールが1~10 µg/g検出された。検出率は10%以下と極めて低く、使われていても残留性は極めて低いものと考えられる。

文 献

- 1) 花岡邦明：ここがいけない消臭・抗菌剤,10-67,2002, (株)日中出版,東京
- 2) 高麗寛紀：加工技術, **36**, 543-552, 2001
- 3) 岡部敏弘, 斉藤幸司, 大友良光：ジャパンフードサイエンス, 1989-4, 49-58, 1989
- 4) 岡部敏弘, 斉藤幸司：加工技術, **29**, 689-693, 1994
- 5) 海沼祐治：包装技術, **35**(5), 504-510, 1997
- 6) 日本食品添加物協会技術委員会編：既存添加物名簿収載品目リスト注解書, 359, 1999, 日本食品添加物協会, 東京
- 7) 稲森善彦, 森田泰弘, 岡部敏弘, 他：医薬ジャーナル, **39**, 1283-1294, 2003
- 8) Ogata, A., Ando, H., Kubo, Y., et al. : *Food and Chemical Toxicology*, **37**, 1097-1104, 1999
- 9) 青柳陽子, 田口信夫, 大石充男, 他：東京衛研年報, **50**, 215-219, 1999
- 10) Endo, M., Mizutani, T. and Matsumura, M. : *J. Chromatogr.*, **445**, 430-433, 1988
- 11) 花房文人, 中村 淳, 梅野清作, 他：分析化学, **38**, 124-128, 1989
- 12) 中島晴信, 宮野直子, 松永一郎, 他：繊維学会誌, **56**(1), 20-25, 2000
- 13) 小川仁志, 勝木康隆, 鈴木敬子, 他：東京衛研年報, **48**, 129-134, 1997
- 14) Nakashima, H., Onji, Y. and Takatuka, T. : *SEN'IGAKKAISHI*, **59**(4), 145-152, 2003
- 15) 高塚正, 上甲恭平：抗菌のすべて, 199-214, 1997, (株)繊維社, 大阪