

# 紙に含まれる蛍光増白剤の定量方法に関する検討

( 東京大学大学院農学生命科学研究科 ) 加地麻衣子、江前敏晴、磯貝明

## A study on determination of fluorescent brightener contained in paper

*Maiko Kaji, Toshiharu Enomae and Akira Isogai*  
*Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo*

### ABSTRACT

It is prohibited to add fluorescent brightener to paperboard for food packaging because it is suspected of causing cancer. But, a certain amount of fluorescent brightener inevitably comes to be mixed in paperboard produced mainly from recycled pulp. Considering that its control technique like decomposition or removal is important as a new technology, its quantitative determination was investigated as a beginning. Excitation /fluorescence wave lengths of aqueous solutions of a fluorescent brightener were measured with a fluorescence spectrophotometer and showed constant pair values of 275/430 and 330/430 nm in the range between 10ppb to 10ppm. Logarithm of the fluorescence intensity was almost proportional to the concentration, but with substantial errors. From a recycled pulp, fluorescent brightener was extracted at pH 9 and filter paper was dyed with it at pH 3. Fluorescence images of filter paper dyed with the fluorescent brightener was acquired with a CCD camera and the gray level was measured. The gray level and concentration of the fluorescent brightener solutions showed a linear relationship. For a trial of fluorescent brightener removal, two methods were applied. Alkaline treatment up to pH 13.0 did not remove much of it. Hypochlorite at 1ppm was found to lower the fluorescent brightener concentration from 1000 ppb to 1ppb approximately.

### KEY WORDS

*Fluorescence image, fluorescence spectrophotometer, food packaging, hypochlorite, stilbene*

### 1. 緒言

紙は従来から包装容器材料として使用されているが、リサイクルが可能で生分解性を持つという特性を考えれば、従来にも増して紙が包装用途に広く使用されるようになると予想される。包装容器用の板紙の製造には大量の古紙パルプが使用されているが、その古紙の素性や流通経路は一般には不明であり、人体に有害な物質が混入する危険性がある。食品と板紙を直接接触させる使い方は稀であるが、小売店や消費者が不用意に接触させることは十分考慮に入れなくてはならない。昨今、BSE や鳥インフルエンザなど食の安全や食の科学が非常に重要視される中、紙器といえどもやはり安全性の確保は必要であろう。蛍光増白剤は人体に有害なものかどうか確認はされていないものの、化学構造が有害なジアミノスチルベンに似ており、発ガン性の疑いがもたれている。その真偽は定かではないが合成食品である以上食品に付着・溶出することは健康を害する危険を否定できない。このような意味合いから古紙処理プロセスの中で、蛍光増白剤の除去や分解が必要となる場合があっても簡単に処理する方法は今のところなく、将来的には簡便な除去・分解の制御方法を見出すことが望まれる。

食品衛生法では容器に蛍光染料等入れることを禁止している。そのような物質が微量である場合は測定そのものが困難であるため規制は難しいが、蛍光増白剤の場合は溶液濃度が 10ppb 程度でも紫外線の照射による蛍光発光を目視で確認できるため、規制対象となりやすい面がある。しかし、規定されている検査方法は、紙から蛍光増白剤をアルカリ抽出し、酸性下でガーゼに染着させ、紫外線照射により目視で有無を判断するという方法で、定量性に乏しい。そこでまず、蛍光増白剤の定量方法をここでは検討した。

### 2. 実験

#### 2.1. 蛍光増白剤試料

日本で広く使用されているスチルベン骨格をもつ蛍光増白剤である Kayaphor NV liquid( 日本化薬 カラーズ製 ) を試料として用いた。このスチルベン系蛍光増白剤は図 1 に示す構造をもち、中央の

二重結合部分がトランス体又はシス体の構造をとるが、蛍光性があるのはトランス体のみであり、温度や紫外線の照射によって容易にトランスからシスへの変換がおこる。また、構造式の X,Y にスルホン酸基がつく数によりジ体、テトラ体、ヘキサ体となるが、実際にはおよそ 3:6:1 の混合物となっている。蛍光増白剤溶液を試料とするときは、原液を濃度 1 とし、脱塩水で希釈しその体積分率を ppm 又は ppb 単位で表示する。

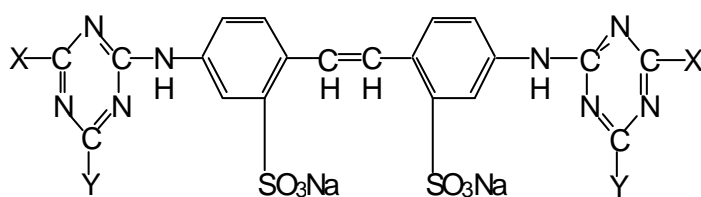


Fig. 1 Fluorescent brightener with a stilbene moiety

## 2.2. 紙試料

### 2.2.1. 標準染着ろ紙試料

希塩酸で pH3 に調整した 2.1 の水溶液試料各 100 ml を 60 に保ち、20 mm×50 mm に採取したろ紙（アドバンテック製定性分析用 2 種）を 30 分間浸漬し蛍光増白剤を染着させ風乾した。

### 2.2.2. パルプ試料と蛍光増白剤除去条件の検討

上質系古紙パルプ（三菱製紙製）を用いた。古紙由来のものに加え新たに添加されたと思われる蛍光増白剤を含んでいる。染着時の pH が蛍光増白剤の定量に与える影響を検討するために上記パルプ試料を 60、pH9 の希アンモニア水 100 ml で 10 分間抽出し、pH1.7～5.0 の範囲の希塩酸 100ml で 30 分間浸漬し、ろ紙に染着させた。なお、食品衛生法関連の検査法では pH3～3.5 で染着することが規定されている。

蛍光増白剤を除去する方法として高濃度アルカリ処理と次亜塩素酸酸化処理を検討した。高濃度アルカリ処理では濃度 3% の古紙パルプ懸濁液 80ml に、水酸化ナトリウム水溶液を加えて容量が 100ml で pH がそれぞれ 11.5 及び 13.0 となるようにした。これを 60 に調整し 20 分間静置した。pH6.8 の脱塩水も対照とした。ろ過によりパルプの回収と洗浄を繰り返し、手抄きによりパルプシートを調製した。さらに pH9 で抽出し、pH3 でろ紙に染着させた。

次亜塩素酸酸化処理ではパルプ懸濁液 80 ml に、次亜塩素酸ナトリウム濃度がそれぞれ 0、25、50、100、1000ppb となるように添加した。この処理及び抄紙・抽出/染着の条件は、前述と同様とした。

以上の染着ろ紙は蛍光画像撮影に供した。

## 2.3. 定量方法

定量的な測定方法として、図 2 に示す方法をすべて検討した。この中で定量法として適用可能と考えられる(1)分光蛍光光度計 日立製 F-2500、(2)蛍光画像取り込み装置 バイオラッド製 MultiImager Fluor-S について取り上げる。(1)では石英セルに水溶液を入れ、正面(0°)から照明し 90°方向での蛍光を測定した。(2)は紫外線のみを照射し、可視光領域での反射画像を高解像度の CCD カメラにより撮影した。試料は暗室内のガラス板ステージ上におかれ、レンズから試料までの距離 0.75m、絞り f 値 22、紫外線照射時間 20s に設定して撮影した。カメラの CCD センサ前の色フィルタは使用しなかった。照明光の波長は、Epi:UV に設定したが、

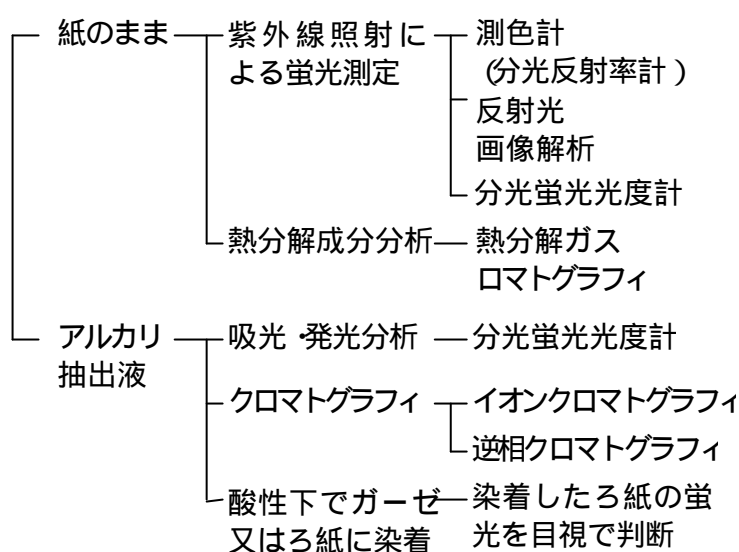


図 2 紙中にある蛍光増白剤の定量分析方法

光学的な条件の詳細は不明であるが、通常の近紫外線照明

(ブラックライト)の蛍光灯が2本左右に並んでおり、紫外線強度は、試料の位置が離れすぎると誤差が大きくなる懸念はある。しかし、露光時間や積算回数の設定が自由に行え、CCD センサの輝度分解能も 16 ビット (65536 階調) と高いことが特長である。しかし、撮影した蛍光画像の輝度について 256 階調に丸めて輝度を調べた。

### 3. 結果と考察

図 3 は、分光蛍光光度計を用いて測定した蛍光増白剤水溶液の蛍光特性を示す。照明(励起)波長と検出(蛍光)波長をそれぞれ一定範囲で 5nm ごとに変化させて全ての組み合わせでの蛍光(通常の散乱光を含む)強度を測定し、3 次元的に表示した。照明波長 = 検出波長となるうねのピークが通常の同一波長での散乱光(レイリー散乱)で、その真下に来るやや勾配の小さいものがラマン散乱を示し、EM 軸の中ほどからさらに小さい勾配で伸びているものが照明波長のちょうど 2 倍となる二次光である。蛍光増白剤による蛍光は中央部やや右よりの二山になったピークと考えられ、波長は、励起/蛍光 (nm) = 275/430 及び 330/430 であった。

ピークが2つ存在するのはジ体、テトラ体に対応する可能性を示唆するが、詳細は検討していない。図は濃度 100ppb の溶液に対してであるが、このピークを示す波長の対は 10ppb ~ 10ppm の広範囲で一貫性があった。蛍光強度の対数に対しては、この3桁にわたる濃度範囲でも濃度との間に直線性が見られたが、精度は高くなかった。以上の結果から定量法として可能性があるが、精度については再検討の余地がある。

図 4 は、標準染着ろ紙試料を撮影した蛍光画像である。各試料上に見える水玉模様のような痕跡は、CCD カメラ内部の露結による水滴で、試料とは無関係である。蛍光増白剤濃度の高い溶液から染着させた方が明らかに蛍光強度が大きい。Blank は対照のろ紙である。図 5 はこの画像における各試料部分の輝度を示す。縦軸は 0 ~ 255 の輝度、横軸は 1ppb ~ 100ppm の濃度をそれぞれ対数で表示した。直線性は認められたが、ばらつきが大きく、完全な定量的な測定としては不完全である。しかし、ここで得られた近似直線を以後の濃度推定計算用の基準とした。

図 6 は、染着時の pH が蛍光発光量に与える影響を蛍光画像の輝度から検討した結果である。肉

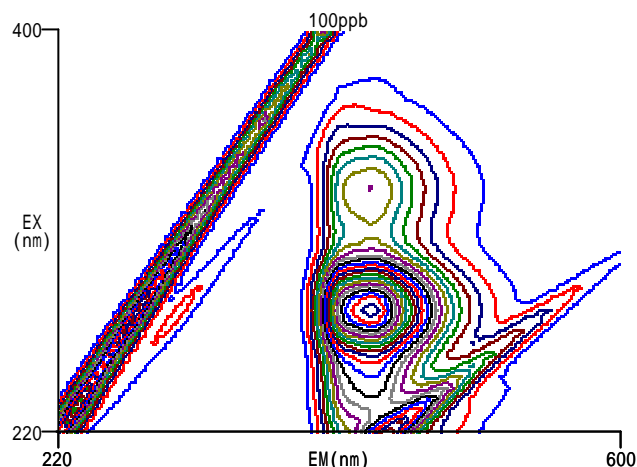


Fig. 3 Fluorescence intensity of stilbene brightener at varied Excitation (EX) and Emission (EM) wavelengths

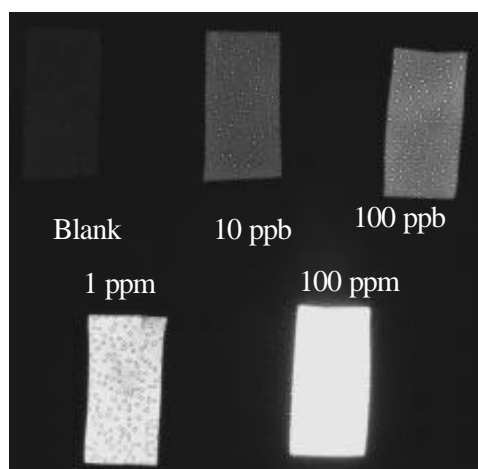


Fig. 4 Fluorescence image of fluorescent brightener-stained filter paper

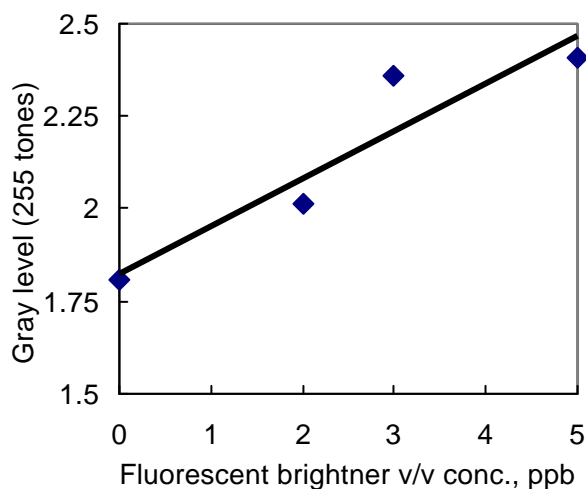


Fig. 5 Gray level of UV-excited image of fluorescent brightener-stained filter paper on both logarithmic scales

眼で明るさを判断するときは、光量や輝度そのものより光学濃度に相当する対数の方が感覚に合うので縦軸は対数表示とした。染着時の pH が 2.3 のとき最大の蛍光発光を示した。スルホン酸基の解離が抑えられ、ろ紙のセルロース表面の水酸基と強く水素結合するためと考えられた。しかし、それ以下に pH を下げても染着量は上がらなかった。pH を 3 以上に高くすると染着量は少しずつ減少したが、安定はしなかった。

表 1 は高濃度のアルカリ処理により蛍光増白剤を除去できるかどうかを検討した結果である。pH13.0 のアルカリ濃度下にパルプをおいても、強く水素結合又は分子間力により繊維表面と結合した蛍光増白剤はほとんど除去されず、その後の pH9 で抽出量は同程度であった。同一パルプから pH9 で抽出する場合、何回抽出を繰り返して行っても同程度の濃度の蛍光増白剤が抽出されることもあり、pH9 の条件では、紙中の蛍光増白剤のうちのごく一部を抽出するに過ぎないようである。したがって pH13.0 のアルカリ処理もごく一部除去しているに過ぎなかったと推測される。しかし、pH6.8でのアルカリ処理では輝度レベルは 255 で飽和しており、実際の蛍光発光はそれ以上であると考えられるのでアルカリ処理は中性条件に比べればある程度多くの蛍光増白剤を除去できることになる。

図 7 は、次亜塩素酸濃度が酸化分解による蛍光増白剤の除去にどの程度影響するかを検討した結果である。1ppm の次亜塩素酸濃度で 1ppb 程度にまで蛍光増白剤濃度を低下させることができることがわかった。食品包装用の原料として許容されるレベルは、およそ 1ppb 程度以下で、このレベルに一致する。しかし、この酸化反応は化学構造のどの部分を酸化することによるのかは特定できない。また、蛍光を失うことが、無害な物質に変化することを意味するのかどうかも実際にはわかっていない。

#### 4. 結論

蛍光増白剤定量法として、分光蛍光光度計と蛍光画像法を試みた。両者ともある程度の定量性があったが不完全な要素も多い。市販紙で複数の蛍光増白剤が混在する場合は蛍光の励起/蛍光波長で識別し蛍光量を測定するしかなく、物質そのものの定量とは言えない。蛍光と物質の定量を分けて考える必要がある。

#### 謝辞

実験に際し多くの有用な情報を頂いた王子製紙の宮川孝氏、尾松正元氏、直原孝之氏、並びに蛍光増白剤試料をご提供頂いた日本化薬カラーズに感謝します。

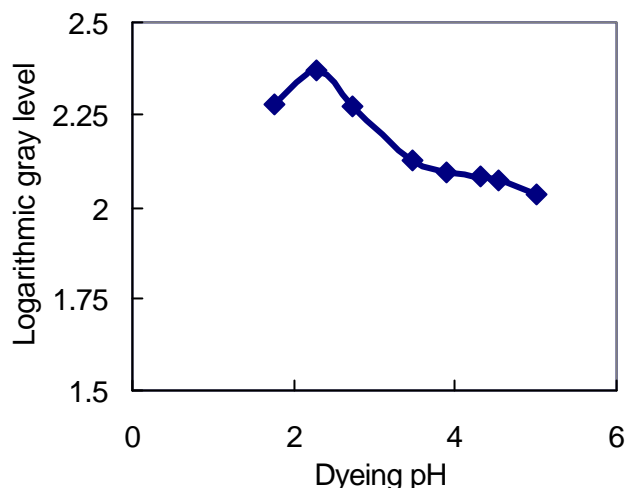


Fig. 6 Effect of pH during dyeing filter paper with brightener solution on its estimated concentration.

表 1 アルカリ処理による蛍光増白剤除去効果

アルカリ処理時の pH	輝度レベル (0-255)	推定蛍光増白剤濃度 (ppb)
6.8(脱塩水)	255	1190
11.5	251	1170
13.0	247	1140

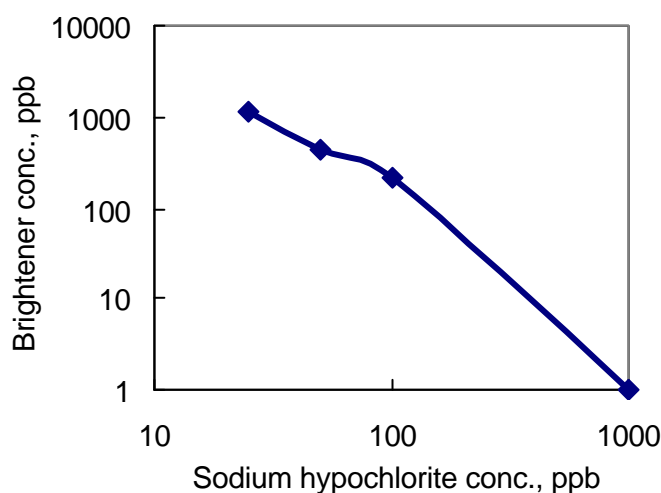


Fig. 7 Effect of sodium hypochlorite on Fluorescent brightener removal