

## <その1> おもちゃにおける着色料試験の試験室間共同試験 試験機関ごとの判定結果の検証 -

研究代表者 六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所  
研究協力者 佐藤 環 福岡県保健環境研究所  
研究協力者 中西 徹 (一財)日本食品分析センター

### A. 研究目的

着色料は、生活に彩りを与えるだけでなく、識別や内容物の保護などの利便性や品質の向上にも役立っており、多くの食品用器具・容器包装及びおもちゃに使用されている。しかしながら、食品用器具・容器包装及びおもちゃから着色料が色落ちして食品や唾液に移行すると、人の体内に摂取されて健康に影響をおよぼす可能性がある。そこで、食品衛生法のおもちゃの規格基準では、製品の安全性を確保するため、「B おもちゃの製造基準」において「おもちゃの製造に際し、化学的合成品たる着色料を使用する場合は、食品衛生法施行規則別表第1に掲げる着色料以外の着色料を使用してはならない。ただし、次の試験法による試験に適合する場合は、この限りでない。」と規定している。その試験法は、水を用いた40 10分間の溶出試験により得られた試験溶液をネスラー管に移し、白色を背景として着色の有無を確認すると定められている。ただし、繊維、木及び紙製玩具では、合成樹脂製玩具などと比べて試験溶液が着色しやすいことから、通知(食安基発第0416001号 平成20年4月16日)<sup>1)</sup>において3種の比較対照液(赤、青、黄)と比較して同等以下の着色の場合には「着色無」と判断することを認めている。一方、合成樹脂製玩具等については「着色有」と判断する基準や比較対照液は示されていない。

同様に、器具・容器包装についても、「A 器具若しくは容器包装又はこれらの原材料一般の規格」及び「F 器具及び容器包装の製

造基準」において、「器具又は容器包装は、食品衛生法施行規則(昭和23年厚生省令第23号)別表第1に掲げる着色料以外の化学的合成品たる着色料を含むものであつてはならない。ただし、着色料が溶出又は浸出して食品に混和するおそれのないように加工されている場合はこの限りでない。」と規定している。すなわち、食品添加物として認められた合成着色料の使用を認め、これら以外の着色料を使用する場合は、食品へ移行しないように加工することを製造者に求めている。そのため、具体的な試験法は定められていないが、規格基準への適合性を確認するための参考として、蒸発残留物試験の溶出条件を用いた溶出試験を行う場合が多い。ただし、規格基準への適合性は実際の使用時に食品へ着色料が移行するか否かで判断する必要がある。

このように着色料の規格試験または参考試験では、溶出試験により得られた試験溶液の着色の有無の判断が目視で行われているが、その判断は官能試験であるため、結果には人為的裁量が入り個人差を伴う可能性がある。判断が困難な場合などは複数の試験者による総合評価を行うことで対応している試験機関も多いが、試験者の人選や人数、総合評価の方法等は試験機関ごとに異なる。そのため、同じ製品または試験溶液であっても着色の有無の判断が試験機関により異なる可能性がある。

そこで、着色料の規格試験または参考試験について各試験機関における試験溶液の着色の有無の判定方法を調査するとともに、同一

の試験溶液を用いた試験室間共同試験を実施し、その結果について検証した。

## B. 研究方法

### 1. 参加機関

試験室間共同試験の計画及びプロトコール作成には民間の登録検査機関、公的な衛生研究所など 26 機関が参加し、試験室間共同試験には着色料試験を実施した経験を有する民間の登録検査機関 10 機関、公的な衛生研究所など 4 機関が参加した。このうち登録検査機関の 2 機関はそれぞれ所在地が異なる 2 つの試験所で独立して試験を実施したことから、今回はこれらを別機関として扱い、試験室間共同試験への参加機関数は合計で 16 機関とした。なお、国立医薬品食品衛生研究所で行った試験はすべて用賀旧庁舎において実施した。

### 2. 試薬・装置等

塩化コバルト( )六水和物(  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ): 特級、純度 99.0% 以上、和光純薬(株)製

クロム酸カリウム(  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  ): 特級、純度 99% 以上、和光純薬(株)製

硫酸銅( )五水和物(  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ): 特級、純度 99.5% 以上、シグマアルドリッチ ジャパン社製

酢酸: 精密分析用、シグマアルドリッチ ジャパン社製

水: Milli-Q Element A10 により精製した Milli-Q 水、ミリポア社製

簡易照度計: Digital Lux Meter L830、Leaton 社製

### 3. 検体原液および検体

#### 1) 検体原液の調製

試験室間共同試験に用いた検体の原液(検体原液)は、国立医薬品食品衛生研究所において以下のように調製した。

検体原液(赤):  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  40 g を 2000

mL の 10% 酢酸に溶解した(20 mg/mL)

検体原液(黄):  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  0.8 g を 2000 mL の 10% 酢酸に溶解した(0.4 mg/mL)

検体原液(青):  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  100 g を 2000 mL の 10% 酢酸に溶解した(50 mg/mL)

検体原液(橙): 検体原液(赤)及び検体原液(黄)をそれぞれ 500 mL 採り混合した。

検体原液(紫): 検体原液(赤)及び検体原液(青)をそれぞれ 500 mL 採り混合した。

検体原液(緑): 検体原液(黄)及び検体原液(青)をそれぞれ 500 mL 採り混合した。

#### 2) 検体の調製

検体は国立医薬品食品衛生研究所において、各検体原液を 10% 酢酸で 50、100、200、300、400 倍の 5 段階に希釈して調製した。最も濃度が濃いものを Lv 1、最も薄いものを Lv 5 とした。

#### 3) 検体数及び検体番号

検体は各色 Lv 1~Lv 5 の 5 段階の濃度とし、赤、黄、青の Lv 3 のみ  $n=3$  とした。これにブランク 3 検体を加え、合計 39 検体とした。各検体には表 1 に示す検体番号 1~39 を付し、その番号順に試験を行うよう指示した。赤、黄、青の Lv 3 はそれぞれ最初と各色 Lv 1 及び Lv 5 の検体の後に配置した。

#### 4. 検体の調製および配布

検体 55 mL をポリプロピレン製容器に入れ、濃度、色調等の情報は非明示で平成 29 年 6 月 7 日に各試験機関に配付した。

#### 5. 検体の均質性及び安定性の確認

各試験機関に配布した検体及び比較液はすべて一度に調製した溶液であるため、均質性試験は省略した。また、安定性の確認については、国立医薬品食品衛生研究所において検体を比色管に移し、配付後 15~30 で 3 ヶ月間保管し、沈殿や変色がないことを確認した。

表1 試験1（試験機関ごと）における検体と検体番号

検体 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
検体 Lv	青-Lv3	赤-Lv3	黄-Lv3	緑-Lv5	Blank 1	赤-Lv2	紫-Lv1	赤-Lv5	赤-Lv3	紫-Lv2
検体 No.	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
検体 Lv	黄-Lv2	紫-Lv5	青-Lv1	青-Lv3	緑-Lv2	橙-Lv1	Blank 2	緑-Lv4	黄-Lv1	黄-Lv3
検体 No.	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
検体 Lv	緑-Lv3	青-Lv4	橙-Lv5	赤-Lv1	赤-Lv3	赤-Lv4	緑-Lv1	紫-Lv4	黄-Lv5	黄-Lv3
検体 No.	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
検体 Lv	橙-Lv3	青-Lv2	橙-Lv2	青-Lv5	青-Lv3	黄-Lv4	Blank 3	紫-Lv3	橙-Lv4	

Blank：10%酢酸

試験は検体番号順に実施



赤 黄 青 橙 紫 緑

図1 検体原液の写真

## 6. 試験（試験1：試験機関ごと）

試験は、（別添）「平成29年度 試験室間共同試験 計画書」（以下、計画書）に従い、平成29年6月7日～7月7日の期間内で実施した。また、すべての試験機関に同型の簡易照度計を配布し、試験時の照度を測定した。試験は、各試験機関において通常の試験業務として実施している方法により行い、検体の着色の有無について、試験機関としての判定結果を報告した。

## 7. 結果の解析

すべての試験機関の判定結果を集計し、「有」の割合を検体ごとに算出した。また、80%以上の試験機関が「着色有」と判定した濃度レベルを「判定可能レベル」、80%以上の試験機関が「着色無」と判定した濃度レベルを「認識不能レベル」とした。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 予備試験による検体原液と検体の濃度設定

通知（食安基発第0416001号 平成20年4月16日）に示される比較対照液を参考として、それぞれ  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{K}_2\text{CrO}_4$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  を水に溶解して予備試験用検体原液（赤、黄及び青）を作成した。さらに、これら3種の検体原液のうち2種類を同量ずつ混合して予備試験用検体原液（橙、紫及び緑）を作成した。しかし、検体原液（緑）では調製後しばらく静置すると沈殿が生じたため、すべて10%酢酸を用いて調製した。

これらの予備試験用検体原液を10%酢酸で50～400倍に段階希釈したものを予備試験用検体として、国立医薬品食品衛生研究所において10名（すべて試験未経験者）で着色の有無を判定した。この結果を参考にして、多くの試験者の判断が分かれた濃度が中心（Lv3）となるよう検体原液（赤、黄及び青）の濃度を再調整した。

その結果、各検体原液（赤）は20 mg/mL の  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、検体原液（黄）は0.4 mg/mL の  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ 、検体原液（青）は50 mg/mL の  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  の10%酢酸溶液とした。さらに、検体原液（橙、紫及び緑）については、赤、黄、青のうち2種類を同量ずつ混合した結果、適切と考えられる色調となったため、これらを中間色の検体原液とした。各検体原液の写真を図1に示した。

## 2. 各試験機関における試験条件等

### 1) ネスラー管

試験に用いるネスラー管については、食品衛生法のおもちゃの規格基準では、「内径 20 mm、外径 24 mm、底から栓の下面までの距離 20 cm で、5 mL ごとに 50 mL まで目盛りを付けたもの」と規定されている。しかし、一般に市販されているネスラー管は底から栓の下面までの距離が 18 または 23 cm であり、規定に合ったネスラー管の入手は困難であった。そのため計画書では、規定から外れたネスラー管の使用を認めることとした。

各試験機関で使用したネスラー管のサイズ等を表 2 に示した。今回の試験室間共同試験では、16 機関中 14 機関が、底から栓の下面までの距離が 18 cm のものを使用していた。一方、機関 K は 14.5 cm の短いもの、機関 M は 18.5 cm のやや長いものを使用していた。

しかし、ネスラー管の全長は他と同じ 20 cm であるため、これら 2 機関のネスラー管は栓の長さが異なるものであった。その他の内径、外径および目盛の間隔については、すべての機関が規定に合致したものを使用していた。

このように、「底から栓の下面までの距離 20 cm」のネスラー管を使用した試験機関は存在しなかった。「底から栓の下面までの距離」は、栓の長さによって変わるが、着色の有無を上方から確認する際は栓を取り外すため、判定結果や精度には影響しない。一方、ネスラー管の全長は、上方から確認する際の液面からの距離に関係するため、試験の結果や精度に影響を与える可能性がある。そのため、現在の規定である「底から栓の下面までの距離 20 cm」を「底からネスラー管の上端までの距離 20 cm」に変更すべきと考えられた。

表 2 試験に使用したネスラー管のサイズ等

試験機関	内径 (mm)	外径 (mm)	高さ (cm) 栓の下部まで	高さ (cm) 全長	目盛の 間隔 (mL)
A	20	24	18	20	5
B	20	24	18	20	5
C	20	24	18	20	5
D	20	24	18	20	5
E	20	24	18	20	5
F	20	24	18	20	5
G	20	24	18	20	5
H	20	24	18	20	5
I	20	24	18	20	5
J	20	24	18	20	5
K	20	24	14.5	20	5
L	20	24	18	20	5
M	20	24	18.5	20	5
N	20	24	18	20	5
O	20	24	18	20	5
P	20	24	18	20	5

## 2) 試験環境

着色料試験は目視で着色の有無を確認するため、試験室の照明や自然光の有無が結果に影響を与える可能性がある。そこで、各試験機関における試験室の窓の向き、日射遮蔽の有無、照明の種類、照度を調べた。その結果を表3に示す。14機関は屋外に接した窓のある場所で試験が実施されていたが、ブラインドやすりガラスで遮光するなど、直射日光のもとで試験を実施しないよう対応していた。いずれの機関も天井照明の下で試験が実施されていたが照度は358~770 lxの範囲であった。

## 3) 判定方法

着色料試験は官能試験であるため、着色の有無の判定には個人差を伴う可能性があるため、多くの試験機関では複数の試験者による

総合評価により判定している。しかし、食品衛生法では、試験者の人数や判断が分かれた場合の判定についての規定はない。各試験機関における実際の試験時の判定方法を表4に示した。試験人数は、5機関が1名のみ、その他の11機関は2名以上であった。最も多いのは機関Mで5名により試験を行っていた。複数名で試験を行うと回答した機関のうち、8機関は多数決、3機関は全員が「着色無」と判断した場合のみ「着色無」と判定していた。さらに、12機関では判断に迷った場合、責任者を交えて協議する、試験者を追加して多数決などの対応を行っていた。このように試験機関によって判定方法はやや異なっていたが、いずれの試験機関も判断に迷う場合は複数名で判定していた。

表3 各試験機関における試験環境

試験機関	屋外に接した窓の有無(向き)	日射遮蔽の有無	照明の種類	照度(lx)*
A	あり(南)	なし(建物が隣接)	天井照明	632
B	あり(南)	あり(ブラインド)	天井照明	770
C	あり(北)	あり(ブラインド)	天井照明	694
D	あり(北東)	あり(ブラインド)	天井照明	385
E	あり(西)	あり(ブラインド)	天井照明	740
F	あり(北)	なし	天井照明	440
G	あり(西)	なし	天井照明	397
H	あり(南)	あり(ブラインド)	天井照明	593
I	あり(南)	なし	天井照明	374
J	なし	-	天井照明	364
K	あり(南)	あり(ブラインド)	天井照明	527
L	あり(南)	なし	天井照明	461
M	あり(北)	あり(すりガラス)	天井照明	770
N	なし	-	天井照明	380
O	あり	なし(最奥で試験実施)	天井照明	666
P	あり(南)	あり(すりガラス)	天井照明	358

\* : 試験時の照度の平均値

表4 各試験機関における総合判定の方法及び試験者の教育・訓練等の実施の有無

試験機関	通常時の試験人数	判定方法	判定困難時の判定
A	1名	試験者の判断	試験者を2名加えて多数決
B	1名	試験者の判断	責任者を交えて協議
C	1名	試験者の判断	責任者等を交えて多数決
D	3名	多数決	試験者を追加して協議
E	3名以上	多数決	同左
F	3名	全員が「無」の場合のみ「無」	別の3名で試験、全員が「無」の場合のみ「無」
G	2名	全員が「無」の場合のみ「無」	試験者を追加して協議
H	3名	多数決	同左
I	1名	試験者の判断	試験者を追加して協議
J	2名	全員が「無」の場合のみ「無」	試験者を追加して多数決
K	3名	多数決	試験者を追加して協議
L	1名	試験者の判断	試験者を2名追加して多数決
M	5名	多数決	同左
N	3名	多数決	試験者を追加して協議
O	3名	多数決	同左
P	複数名	多数決	責任者を交えて協議

### 3. 試験の結果の解析

#### 1) 各試験機関における判定結果

各試験機関による判定結果を表5に示す。赤、黄、青、緑のLv1及び青のLv2では、すべての試験機関が「着色有」と判定し、結果が一致していたが、これら以外の結果は試験機関により異なっていた。また、ブランク3検体については、1機関が1検体のみ「着色有」と判定していたが、他はすべて「着色無」と判定されていた。

試験機関ごとの判定結果を比較すると、機関E、G、I及びJは全体的に判定基準が高めで、半分以上の検体を「着色無」と判定していた。ただし、機関GとIは青色の判定が機関E及びJと比べて低かった。一方、機関A、B、D、F、H、K、L、M及びNの9機関は、ブランクを除く36検体中30検体以上を「着色有」と判定していた。試験室の日射遮蔽の有無、照度等の試験環境と判定結果に関係はみられなかった。すなわち、機関E、G、I及びJは、比較対照液を設定して比較する、もしくは上方と側方の両方で着色を認めた場合に「着色有」と判断するなどの判定方法を有していると考えられた。

また、機関Oは赤-Lv4を「着色無」と判定しているにもかかわらず赤-Lv5を「着色有」、機関Fでは橙-Lv3及び橙-Lv5を「着色無」と判定しているが橙-Lv4を「着色有」と判定しており、一部の判定結果が逆転していた。このことから、特に赤、黄、橙のような暖色系の色では濃度が薄くなると判定が困難になると考えられた。

今回の試験室間共同試験では、赤、黄及び青のLv3の検体をそれぞれ3回ずつ試験した。これらの検体の判定結果について確認したところ、以下のような結果が得られた。

青のLv3はすべての試験機関で3回の結果が一致していたが、赤及び黄では、2機関が同一濃度の検体にもかかわらず判定結果が異なっていた(表6)。また、「着色有」と判定された割合はほぼ同じであり、前の検体や試験順による影響はみられなかった。

着色料試験では判定基準が明確に定められていない。そのため、試験経験を有する試験機関であっても、それらの判定結果は大きく異なる。いくつかの試験機関では判定における個人差を小さくするための対策として、SOPを設定し、教育・訓練等を実施している



表6 同一検体の判定結果の一致の有無

試験機関	赤	黄	青	Blank
A	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
B	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
C	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
D	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
E	一致(無)	一致(無)	一致(無)	一致(無)
F	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
G	一致(無)	一致(無)	一致(有)	一致(無)
H	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
I	一致せず	一致(無)	一致(有)	一致(無)
J	一致(無)	一致(無)	一致(無)	一致(無)
K	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
L	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
M	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致(無)
N	一致(有)	一致(有)	一致(有)	一致せず
O	一致せず	一致せず	一致(有)	一致(無)
P	一致(有)	一致せず	一致(有)	一致(無)
一致(有)	11	10	14	0
一致(無)	3	4	2	15
一致せず	2	2	0	1

一致(有) : Lv 3 の検体 (n=3) の判定結果がすべて「有」

一致(無) : Lv 3 の検体 (n=3) の判定結果がすべて「無」

一致せず : Lv 3 の検体 (n=3) の判定結果が一致しない

が、試験機関により判定基準が異なる可能性も伺えた。現行の試験法では判定基準が明確に示されていないことから、機関間での判定結果の統合化や試験の精度管理は困難である。そのため、試験結果の精度を向上させるための対策が必要と考えられた。

## 2) 判定可能レベルと認識不能レベル

検体ごとに「着色有」と判定した割合を算出し、80%以上の試験機関が「着色有」と判定できる濃度(「判定可能レベル」)、80%以上の試験機関が検体の着色を認識できない濃度(「認識不能レベル」)を色調ごとに設定した。その結果、「判定可能レベル」は、赤、黄、紫、

緑ではLv 2、橙ではLv 1、青ではLv 5であった。一方、「認識不能レベル」は、橙及び紫でLv 5であったが、その他の色調ではLv 5よりも低い濃度に存在し、今回の検体では認識不能レベルを設定できなかった。このように大部分の試験機関が「着色有」と認識可能な濃度と認識できない濃度に大きな濃度差が存在し、「判定可能レベル」と「認識不能レベル」の間の濃度の検体では、試験機関間で判定結果が異なる。そのため、着色の有無の判定基準を明確にし、「判定可能レベル」と「認識不能レベル」の濃度差を小さくする対策が必要と考えられた。



## D. 結論

着色料試験における試験溶液の着色の有無の判定方法を調査するとともに、同一の試験溶液を用いた試験室間共同試験を実施し、その結果について検証した。

ネスラー管については、現在おもちゃの製造基準で規定されている「底から栓の下面までの距離 20 cm」は市販されておらず、また試験に影響を与えるのは試験管上端からの距離であることから「底からネスラー管の上端までの距離 20 cm」に変更すべきと考えられた。

また、試験機関によって試験室の環境は様々であり、試験時の明るさも異なっていたが、判定結果への影響は認められなかった。

おもちゃの着色料試験のうち、繊維、紙、木製以外のおもちゃでは着色の有無の判定基準が明確に定められていないため、試験機関間で判定方法や結果が異なったり、試験機関

内で同じ検体の判定結果が異なるケースが存在した。さらに、着色している検体を見逃さないようにと厳しく判断することにより、ブランク試料を「着色有」と判定した結果も見られた。今回のような試験者により判断が分かれる濃度の検体では、試験経験を有する試験機関であっても判定結果が異なり、現行の試験法では機関間での判定結果の統合化や試験の精度管理が困難であることが伺えた。そのため、判定基準を明確にし、試験機関間における判定結果の統合性を向上させる対策が必要と考えられた。

## E. 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知‘おもちゃに係る改正に関するQ&Aについて’平成20年4月16日食安基発第0416001号