

<その1> 蒸発残留物試験における蒸発乾固後の乾燥操作に関する検討 (第2報)

研究協力者	大野 浩之	名古屋市衛生研究所
研究協力者	鈴木 昌子	名古屋市衛生研究所
研究協力者	山口 未来	国立医薬品食品衛生研究所
研究代表者	六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

蒸発残留物試験は、ヘプタン、20%エタノール、水、4%酢酸の4種類の浸出用液を用いて溶出操作を行って試験溶液を調製し、この試験溶液を重量既知の白金製、石英製または耐熱ガラス製の蒸発皿に採り、水浴上で蒸発乾固したのち、105 で2時間加熱してその残留物の重量を測定することで試験溶液中の蒸発残留物量を求める方法である^{1), 2)}。しかし、蒸発乾固の操作や使用する容器については、公定法変法を行う試験機関も少なくない。試験結果に影響を及ぼす可能性がある要因がいくつか存在するにもかかわらず、これまで試験室間共同試験は実施されておらず、真度や精度などの性能評価は行われていなかった。

平成27年度の本研究において蒸発残留物試験の試験溶液の蒸発乾固操作における公定法と公定法変法の性能を確認し、規格試験法としての適用性を検証したところ³⁾⁻⁵⁾、両法ともに、試験溶液中に揮散しにくい成分を多く含む場合は良好な性能を示した。しかし、加熱により揮散または変化しやすい成分を多く含む試験溶液の場合は十分な性能が得られない可能性が示された。その原因として、蒸発乾固だけではなく、蒸発乾固後の105°Cで2時間の乾燥操作によるばらつきが疑われた。

平成29年度は、蒸発乾固後の乾燥操作に着目し、この操作が試験結果に与える影響について検討を行った⁶⁾。まず105 に設定した各試験機関の乾燥器内の位置による温度差を調

べたところ、自然対流方式より強制送風方式の方が温度差は少なく温度が安定する傾向にあることが分かった。

次に、105 において揮散の程度が異なる5種類の可塑剤等〔シリコンオイル、テレフタル酸ビス(2-エチルヘキシル)、ビスフェノールA、アセチルクエン酸トリブチル(ATBC)及びセバシン酸ジブチル(DBS)〕を試験対象物質(溶出物)として105 で2時間の乾燥操作後の残存率を調べた。その結果、揮散しやすい物質(ATBC及びDBS)では、残存率及びそのばらつきは試験機関による差が大きく、しかもその傾向は乾燥器が自然対流方式より強制送風方式の場合に顕著であった。その傾向は、容器の位置を乾燥器内の105 となる位置に限定して検討しても同様であった。以上より、乾燥器内の温度のばらつきよりも大きな影響を与える因子の存在が考えられた。

そこで、送風量及び容器の形状について影響を調べたところ、送風量が少なく、容器は蒸発皿や結晶皿より背が高いピーカーの方が残存率は高くなる傾向があり、容器内の残留物に風があたることによって揮散量が増加することが示唆された。

今年度は、揮散しやすいATBC及びDBSを用いた9機関での共同試験を実施し、容器形状や送風方式の違いなどによる試験結果への影響を確認した。さらに、蒸発残留物試験において結果がばらつく要因とその解決策について考察した。

B . 研究方法

1 . 参加機関

共同試験には、昨年度本研究に参加した民間の登録検査機関、公的な衛生研究所など 10 機関のうち 9 機関が参加した。

2 . 試験対象物質

以下の 2 種類の試薬を試験対象物質として用いた。これらは国立医薬品食品衛生研究所で購入し、各試験機関に配布した。

アセチルクエン酸トリブチル (ATBC) : 純度 97.0% 以上、東京化成工業(株)製

セバシン酸ジブチル (DBS) : 純度 98.0% 以上、東京化成工業(株)製

3 . 試験溶液の調製

国立医薬品食品衛生研究所から配布された試験対象物質を各試験機関においてそれぞれアセトンに溶解して各試験溶液 (600 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を調製した。

4 . 乾燥器及び容器

共同試験に使用した乾燥器及び容器は各試験機関が通常使用しているものとした(表 1)。

乾燥器は 9 機関中、自然対流方式が 5 機関、強制送風方式が 4 機関であった。

容器は現行公定法の規定に準拠し、通常使用している「蒸発皿等」と、それより背が高い容量 50 mL のガラス製ビーカー (外径 : 4.6 cm、高さ : 6 cm) を用いて比較検討した。

5 . 操作手順

共同試験の操作手順を以下に示した。なお、 W_s は試験溶液用の容器の重量 (mg)、 W_b は空試験用の容器の重量 (mg) とした。

1) 容器の重量測定

使用する容器を乾燥器により 105 $^{\circ}\text{C}$ で 2 時間加熱し、デシケーター内で 1 晩静置したのち、容器の重量 (mg) を測定した (W_{s1} 、

W_{b1})、

2) 試験対象物質の添加

各試験溶液 10 mL を容器に採取した (蒸発残留物 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 相当)。また空試験としてアセトン 10 mL を採取し、同様の操作を行った。

各容器は自然乾燥 (ドラフト内で 1~2 時間静置) によりアセトンを除去し、アセトン臭が無くなったことを確認した。

3) 乾燥器による乾燥操作前の容器の重量測定

容器をデシケーター内で 1 時間~1 晩静置して乾燥したのち、容器の重量を測定した (W_{s2} 、 W_{b2})。この時、乾燥操作前の残留物量 [($W_{s2} - W_{s1}$) - ($W_{b2} - W_{b1}$)] が 5.5 ~ 6.5 mg の範囲になった容器を使用して次の操作を行った。これらの容器が必要数に満たない場合は、必要数の容器が得られるまで乾燥時間を延長した。

4) 乾燥器による乾燥操作

乾燥器内に容器 3 個及び空試験用容器 1 個を置き (3 試行) 105 $^{\circ}\text{C}$ で 2 時間加熱した。容器は乾燥器内で 105 $^{\circ}\text{C}$ となる位置を中心に配置した。

なお、容器に蓋をして残存率を測定する場合は、図 1 のようにガラス製時計皿またはアルミ箔を用いて蓋をして同様の乾燥操作を行った。蓋は 2 時間加熱後に外した。

5) 乾燥操作後の容器の重量測定

容器をデシケーター内で 1 時間~1 晩静置したのち、容器の重量を測定した (W_{s3} 、 W_{b3})。

6) 残存物量及び残存率の計算

上記の操作手順によって得られた各重量から以下のように残存率を計算した。

乾燥操作前の残留物量 (mg) :

$$(W_{s2} - W_{s1}) - (W_{b2} - W_{b1})$$

表 1 各試験機関の乾燥器及び容器

試験 機関	乾燥器			通常使用している 「蒸発皿、結晶皿等」の容器
	送風方式	温度分布 ¹⁾	内槽サイズ	
1	強制送風	±2.5 (210)	横幅 60 cm 奥行 50 cm 高さ 50 cm	蒸発皿 (ガラス製) 内径 6.0 cm、高さ 3.5 cm
2	自然対流	±10 (300)	横幅 45 cm 奥行 41 cm 高さ 40 cm	結晶皿 (ガラス製) 内径 7.2 cm、高さ 3.5 cm (容量 100 mL)
4	自然対流	±7 (270)	横幅 61 cm 奥行 52.5 cm 高さ 50 cm	蒸発皿 (ガラス製) 内径 10 cm、高さ 5 cm (容量 200 mL)
5	自然対流	±8 (300)	横幅 61 cm 奥行 52.5 cm 高さ 50 cm	蒸発皿 (ガラス製) 内径 6.5 cm、高さ 3.5 cm (容量 50 mL)
6	自然対流	±10 (250)	横幅 61 cm 奥行 52.5 cm 高さ 50 cm	蒸発皿 (ガラス製) 内径 6 cm、高さ 3 cm (容量 20 mL) 内径 7.5 cm、高さ 3.7 cm (容量 80 mL)
7	強制送風	±2.5 (210)	横幅 60 cm 奥行 50 cm 高さ 50 cm	蒸発皿 (ガラス製) 内径 6.0 cm、高さ 3.6 cm (容量 50 mL)
8	強制送風 (標準/微風の 風量設定可能)	±0.5 (100) ±1.5 (200)	横幅 40 cm 奥行 35 cm 高さ 28 cm	結晶皿 (ガラス製) 内径 7.2 cm、高さ 3.5 cm (容量 100 mL)
9	強制送風	±2.5 (210)	横幅 60 cm 奥行 51 cm 高さ 50 cm	ビーカー (ガラス製) ²⁾ 内径 8.4 cm、高さ 4.6 cm (容量 200 mL)
10	自然対流	±8 (260)	横幅 60 cm 奥行 53 cm 高さ 50 cm	ビーカー (ガラス製) ²⁾ 内径 8.5 cm、高さ 4.5 cm (容量 200 mL)

¹⁾ 取扱説明書等に記載の温度分布

²⁾ ビーカーの上部を切断したもので、形状は結晶皿に近い
試験機関及びそのNo.はH29年度と同じ



図1 時計皿及びアルミ箔で蓋をした結晶皿及びビーカー

乾燥操作後の残留物量 (mg) :

$$(Ws3 - Ws1) - (Wb3 - Wb1)$$

乾燥操作による残留物の減量 (mg) :

$$(Ws2 - Ws3) - (Wb2 - Wb3)$$

残存率 (%) : $\frac{\text{減量}}{\text{乾燥前重量}} \times 100$

なお、各試験における残存率は3試行の平均値で表した。

C. 研究結果及び考察

1. 予試験

送風方式及び容器形状の違いによって残存率にどの程度の差が生じるのかを比較するため、予試験を行った。送風方式が異なる乾燥器を有する試験機関2(自然対流方式)及び試験機関8(強制送風方式)の2機関において、ガラス製の結晶皿及びビーカーを用いてATBCとDBSの蒸発残留物量を測定し、残存率を調べた。

その結果、ATBCの残存率は、自然対流方式では結晶皿は62.6%、ビーカーは80.2%、強制送風方式では結晶皿は24.7%、ビーカーは58.5%であった。またDBSの残存率は、自然対流方式では結晶皿は42.5%、ビーカーは72.7%、強制送風方式では結晶皿は17%未満、ビーカーは45.2%であった。

乾燥器の送風方式による差を比較すると、2物質ともにいずれの容器形状でも残存率は送

風量が少ない自然対流方式の方が高かった。

また、容器形状による差を比較すると、2物質ともにいずれの送風方式でも残存率はビーカーの方が高かった。

2.9 機関の共同試験

予試験の結果から、ATBCとDBSの残存率は乾燥器の送風方式及び容器形状の違いにより顕著な差が認められた。そこで、本試験として9機関による共同試験を実施した。その結果を表2に示す。

ATBCでは、「蒸発皿、結晶皿等」の残存率は24.7~76.7%、標準偏差は1.9~13.9%、ビーカーの残存率は58.5~90.6%、標準偏差は2.0~9.5%であった。一方DBSでは、「蒸発皿、結晶皿等」の残存率は17%未満~69.0%、標準偏差は1.7~12.7%、ビーカーの残存率は45.2~71.0%、標準偏差は1.7~12.0%であった。

各残存率は、試験機関5のDBSの結果を除き、2物質ともにビーカーを使用した方が高かった。容器を蒸発皿や結晶皿等から背が高いビーカーに変更することにより、9機関の平均残存率はATBCが52.8%から78.6%、DBSは35.0%から60.9%といずれも高くなった。また、9機関の相対標準偏差もATBCが32.1%から12.7%、DBSは55.8%から18.4%に改善した。

表2 9機関の共同試験結果

試験機関	乾燥器の送風方式	残存率	ATBC		DBS	
			蒸発皿、結晶皿等	ビーカー	蒸発皿、結晶皿等	ビーカー
1	強制送風	平均値 (%)	48.9	80.1	33.7	47.8
		標準偏差 (%)	1.9	5.5	7.9	10.2
2	自然対流	平均値 (%)	62.6	80.2	42.5	72.7
		標準偏差 (%)	6.5	4.2	7.5	5.3
4	自然対流	平均値 (%)	56.6	86.0	34.1	71.0
		標準偏差 (%)	13.9	2.0	12.7	1.7
5	自然対流	平均値 (%)	76.7	80.4	69.0	64.8
		標準偏差 (%)	2.1	3.6	1.7	2.4
6	自然対流	平均値 (%)	70.5	82.2	51.4	63.3
		標準偏差 (%)	3.7	4.5	11.9	2.4
7	強制送風	平均値 (%)	59.9	66.1	44.7	46.5
		標準偏差 (%)	4.2	3.5	5.3	9.4
8	強制送風	平均値 (%)	24.7	58.5	<17	45.2
		標準偏差 (%)	8.2	9.5	-	12.0
9	強制送風	平均値 (%)	37.3	83.6	<17	68.1
		標準偏差 (%)	7.3	2.3	-	6.2
10	自然対流	平均値 (%)	38.3	90.6	17.5	68.9
		標準偏差 (%)	6.3	4.0	6.4	2.6
		平均残存率 (%)	52.8	78.6	35.0	60.9
		相対標準偏差 (%)	32.1	12.7	55.8	18.4

n=3

3. 乾燥器の送風方式別の比較

上記の共同試験の結果を乾燥器の送風方式別に比較するため、表3に自然対流方式5機関、表4に強制送風方式4機関の結果をそれぞれまとめた。

自然対流方式では、容器を「蒸発皿、結晶皿等」からビーカーに変更すると、ATBCの平均残存率は60.9%から83.9%と高くなり、相対標準偏差は24.2%から5.3%と小さくなった。DBSも同様に、平均残存率は42.9%から68.1%と高くなり、相対標準偏差は44.7%から5.9%と大幅に小さくなった。

強制送風方式でも、容器を「蒸発皿、結晶

皿等」からビーカーに変更すると、ATBCの平均残存率は42.7%から72.1%と高くなり、相対標準偏差は35.5%から16.3%と小さくなった。また、DBSの平均残存率は25.1%から51.9%と高くなり、相対標準偏差は67.7%から20.9%と小さくなった。

以上のことから、容器を「蒸発皿、結晶皿等」から背が高いビーカーに変更すると、乾燥器の送風方式にかかわらず、2物質とも平均残存率が高くなり、試験機関間のばらつきも小さくなった。これは、背が高いビーカーを使用することにより、蒸発乾固後の乾燥操作の際、より効率的に風の影響を抑えること

表3 自然対流方式5機関の結果

試験機関	残存率	ATBC		DBS	
		蒸発皿、結晶皿等	ピーカー	蒸発皿、結晶皿等	ピーカー
2	平均値 (%)	62.6	80.2	42.5	72.7
	標準偏差 (%)	6.5	4.2	7.5	5.3
4	平均値 (%)	56.6	86.0	34.1	71.0
	標準偏差 (%)	13.9	2.0	12.7	1.7
5	平均値 (%)	76.7	80.4	69.0	64.8
	標準偏差 (%)	2.1	3.6	1.7	2.4
6	平均値 (%)	70.5	82.2	51.4	63.3
	標準偏差 (%)	3.7	4.5	11.9	2.4
10	平均値 (%)	38.3	90.6	17.5	68.9
	標準偏差 (%)	6.3	4.0	6.4	2.6
平均残存率 (%)		60.9	83.9	42.9	68.1
相対標準偏差 (%)		24.2	5.3	44.7	5.9

n=3

表4 強制送風方式4機関の結果

試験機関	残存率	ATBC		DBS	
		蒸発皿、結晶皿等	ピーカー	蒸発皿、結晶皿等	ピーカー
1	平均値 (%)	48.9	80.1	33.7	47.8
	標準偏差 (%)	1.9	5.5	7.9	10.2
7	平均値 (%)	59.9	66.1	44.7	46.5
	標準偏差 (%)	4.2	3.5	5.3	9.4
8	平均値 (%)	24.7	58.5	<17	45.2
	標準偏差 (%)	8.2	9.5	-	12.0
9	平均値 (%)	37.3	83.6	<17	68.1
	標準偏差 (%)	7.3	2.3	-	6.2
平均残存率 (%)		42.7	72.1	25.1	51.9
相対標準偏差 (%)		35.5	16.3	67.7	20.9

n=3

ができたためと推察された。

また、送風方式別に比較すると、残留物に風があたりにくい自然対流方式の方が試験機関間のばらつきも小さかったため、乾燥操作には自然対流方式を使用する方が望ましいと考えられた。

一方、強制送風方式を使用する場合は、容器をビーカーに変更し残留物に風があたりにくくすると、自然対流方式ほどではないが残存率が高くなり、ばらつきも改善することが分かった。

4．容器の蓋の有無による残存率の比較

次に、蒸発乾固後の乾燥操作において風の影響を抑える方法として、容器の蓋の有無について効果を調べた。予試験と同様に、送風方式が異なる乾燥器を有する試験機関2及び8において、ガラス製の結晶皿及びビーカーを用い、容器に時計皿またはアルミ箔の蓋の有無による残存率を比較した。その結果を表5に示す。

蓋が有る場合は、蓋が無い場合と比較すると、残存率はいずれも大幅に高くなり、標準偏差もほとんどの場合で小さくなった。自然対流方式では、ATBCの残存率は95.6～99.4%、DBSは91.1～97.8%といずれも容器形状にかかわらず非常に高い値であった。強制送風方式では、ATBCの残存率は90.4～97.2%と自然対流方式と同様に高かったが、DBSではビーカーは残存率が90%前後であったが、結晶皿は65.8及び68.1%と低かった。これはDBSがATBCより揮散しやすい物質であることに加え、背の高いビーカーでは容器内で空気が対流しても容器内に留まりやすいためと考えられた。一方、時計皿とアルミ箔では残存率に明らかな違いは認められなかった。

現行公定法では乾燥操作時における蓋の使用に関しては記載がなく、通常の試験では多くの試験機関が蓋を使用していない。容器に蓋をして乾燥操作を行うと標準偏差は小さく

なり、乾燥器の送風方式による結果の差はほとんどなくなり試験機関間のばらつきは小さくなると考えられるが、蒸発残留物量が規格値付近の検体の場合、今までの合否判定の結果と齟齬を生じる可能性がある。

また、蒸発皿や結晶皿を用いた場合は蓋をしても強制送風方式の乾燥器では、完全にDBSの揮散を防ぐことができず一部は揮散することが分かった。そのため、沸点がDBS（沸点：約345）よりも低いまたは同程度の物質においては、蓋の材質や形状、乾燥器内での位置などの各試験に機関における細かな操作や状況によって残存率が大きく変わる可能性もある。

5．蒸発残留物試験における結果のばらつきの要因とその解決策

蒸発残留物試験は、器具・容器包装から浸出液に溶出した物質のうち、蒸発乾固及び105℃2時間の加熱で揮発せずに残留した物質の総量を求める試験である。そのため、規格の対象となる溶出物は明確に定められていない。

このため、ATBCやDBSといった沸点が150～400の有機化合物については、試験操作後に残存した部分は規格の対象となるが、揮散した部分は対象とならない。しかも、このような揮発性を有する物質の残存率は各試験機関における試験操作や使用する乾燥器などの細かな違いにより大きく異なる可能性があることが明らかとなった。

今回の検討の結果、105℃での乾燥時にビーカーを用いガラス製時計皿等で蓋をするなど各試験機関における試験操作の細部を統一化することにより、ばらつきを大きく低減することができた。しかし、さらに試験精度を向上させるためには、蒸発残留物の規格の意義や目的を明確にし、その意義や目的に適した範囲の物質を精度よく測定できる試験法を検討する必要がある。

表5 容器の蓋の有無による残存率の比較

試験対象物質	乾燥器の送風方式	残存率	蓋無し		時計皿で蓋		アルミ箔で蓋	
			結晶皿	ピーカー	結晶皿	ピーカー	結晶皿	ピーカー
ATBC	自然対流	平均値 (%)	62.6	80.2	95.6	97.8	98.9	99.4
		標準偏差 (%)	6.5	4.2	1.9	0.9	0.9	1.0
	強制送風	平均値 (%)	24.7	58.5	92.2	97.2	90.4	94.4
		標準偏差 (%)	8.2	9.5	1.9	0.9	6.4	0.9
DBS	自然対流	平均値 (%)	42.5	72.7	91.1	95.6	95.6	97.8
		標準偏差 (%)	7.5	5.3	2.0	1.0	1.0	1.0
	強制送風	平均値 (%)	<17	45.2	68.1	93.3	65.8	88.7
		標準偏差 (%)	-	12.0	16.2	1.6	8.8	1.0

自然対流方式の乾燥器による試験は試験機関2、強制送風方式の乾燥器による試験は試験機関8で実施

n=3

D. 結論

蒸発乾固後の乾燥操作において、容器形状や乾燥器の送風方式の違いなど風の影響が残存率にどのような影響を及ぼすかについて、揮散しやすいATBC及びDBSを用い、9機関が参加した共同試験を実施した。

その結果、現行公定法の規定に準拠している「蒸発皿、結晶皿等」より背が高いピーカーを使用すると、乾燥器の送風方式にかかわらず、平均残存率はATBCが52.8%から78.6%、DBSは35.0%から60.9%といずれも高くなり、試験機関間のばらつきも改善された。また、送風方式別に比較すると、自然対流方式が残存率、標準偏差はともに良好であり、強制送風方式より望ましいと考えられた。また、強制送風方式を使用する場合は、容器をピーカーに変更することで、残存率が高くなりばらつきも改善することが分かった。

さらに、容器に蓋をして効果を調べたところ、風に影響が抑えられ、残存率が大幅に高くなり、ばらつきも改善した。

しかしながら、蒸発残留物試験において試験機関間の結果にばらつきを生じさせている

根本的な要因は、規格の対象となる溶出物の範囲が明確に定められていないことにあると考えられる。そのため、さらに試験精度を向上させるためには、蒸発残留物の規格の意義や目的を明確にし、その意義や目的に適した範囲の物質を精度よく測定できる試験法を検討する必要がある。

E. 参考文献

- 1) 厚生労働省告示第201号、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）の一部改正（平成18年3月31日）
- 2) 河村葉子、器具・容器包装の規格基準とその試験法（ISBN4-8058-2663-0）、中央法規、p 34-36（2006）
- 3) 平成27年度厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業 食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究 総括・分析研究報告書、p 15-55（2016）
- 4) 大野浩之ら、器具・容器包装における蒸発残留物試験の試験室間共同試験（第1報）、食衛誌、59、55-63（2018）

- 5) 大野浩之ら、器具・容器包装における蒸発残留物試験の試験室間共同試験(第2報)、食衛誌、59、64-71 (2018)
- 6) 平成 29 年度厚生労働科学研究費補助金

食品の安全確保推進研究事業 食品用器具・容器包装等を使用される化学物質に関する研究 総括・分析研究報告書、p 69-86 (2018)