

食品用器具・容器包装等に使用される化学物質に関する研究

研究代表者 六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 室長

研究要旨

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗剤（以下、「器具・容器包装等」）の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、製品の多様化、新規材質の開発、再生材料の使用、諸外国からの輸入品の増加等により多くの課題が生じている。さらに近年では、食品の安全性に関する関心が高まり、その試験及び分析に求められる信頼性の確保も重要な課題となっている。そこで本研究では、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性確保及び向上を目的として、規格試験法の性能に関する研究ではビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究では窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験法への適用及び食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

ビスフェノール A 溶出試験法について、23 試験所が参加する室間共同実験を実施した。室間共同実験により得られた分析結果を、国際的なハーモナイズドガイドラインに沿って統計的に解析した。その結果として推定された RSD_R と Horwitz/Thompson 式を用いて計算される $PRSD_R$ から算出される HorRat 値を指標として評価した結果、浸出用液が水、4% 酢酸、20% エタノールの試料を分析する場合は、Codex 委員会が分析法承認のために設定している性能規準の指標値を満たしており、告示試験法の妥当性が確認された。しかし、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、Codex 委員会が示す分析法の性能規準の指標値を満たさない場合があり、告示試験法の妥当性は確認されなかった。また、クロマトグラムにおける各分析対象物質のピーク形状の対称性も悪いことが確認された。以上の結果から、浸出用液がヘプタンの場合の告示試験法については、改良の必要性が考えられた。

ビスフェノール A 溶出試験法への LC-MS 法または LC-MS/MS 法の適用性を 23 試験所が参加する共同実験により検証した。その結果、共同実験の計画書で設定した RSD_r 、 RSD_R を満たすことができない場合や真度を満たさない試験所が多数あったことから、現状では規格試験への適用が難しいことが示唆され、さらなる検討が必要であることが明らかとなった。また、浸出用液がヘプタンである場合について改良法を作成した。本改良法は規格の適否判定を行うための分析法として適切な水準にある可能性が期待された。さらに、紫外吸光度検出器に代わる検出器として蛍光検出器の適用を検討した結果、4 種すべての浸

出用液の場合で、蛍光検出器による分析と定量が可能であることが確認され、代替法として活用可能であることが示唆された。今後は、これら2つの分析法について性能を評価し、規格の適否判定を行うための分析法としての妥当性を確認するために、室間共同実験等の実施が必要である。

ジブチルスズ化合物試験法において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかった。一方、ヘリウムと比べて窒素における感度は約25%の減少し、さらにバックグラウンドのノイズが増加した。そのため、S/Nは1/10以下に低下した。しかし、限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能と考えられる性能を有していた。

GC-MSを用いたフタル酸エステル試験において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかったが、ピーク面積値は10~50%減少した。そこで、カラムサイズを細く短いものに変更し、流速を下げて測定した。その結果、S/Nは10~20倍に改善した。一方、DNOP、DINP及びDIDPについては感度が不十分だったため、大量に含有されている場合は適否判定を行う事は出来ると推測されたが、規格値相当含有されている場合は適否判定を行うことができる水準ではなかった。しかしながら他の可塑剤が共存していてもこれらのPAEsを含有している可能性のある試料を選別することは可能であると考えられた。

日本、米国及び欧州連合における酸性食品の区分とその食品擬似溶媒は整合化されておらず、器具・容器包装の輸出入時の規格適合性確認、並びに新規物質の健康影響評価の円滑な運用を妨げる可能性がある。そこで、器具・容器包装の規格基準における酸性食品の区分と溶出試験で用いる浸出用液の検討を行った。その結果、食品の製造基準ではボツリヌス食中毒の発生防止という観点からpH4.6を指標としており、器具・容器包装の規格においても酸性食品の指標となるpH値を現行の5から4.6へ変更することが望ましいと考えられた。さらに、3%酢酸と4%酢酸について浸出用液としての同等性を検証したが、物質の分配係数によって溶出傾向が異なることから、これらを同等と見なすことができなかった。各種飲料への溶出量を対照として食品擬似溶媒としての妥当性を検証したところ、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。

研究分担者

六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所
阿部 裕 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗浄剤（以下、「器具・容器包装等」）の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、製品の多様化、新規材質の開発、再

生材料の使用、諸外国からの輸入品の増加等により多くの課題が生じている。さらに近年では、食品の安全性に関する関心が高まり、その試験及び分析に求められる信頼性の確保も重要な課題となっている。そこで本研究では、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性確保及び向上を目的として、規格試験法の性能に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究を実施した。

食品衛生法では、器具・容器包装等の安全性を確保するための規格基準とともに、その規格基準を満たしているか否かを判定するための試験法が定められている。しかし、多くの試験法については、その性能について十分な評価が行われていない。また、技術の進歩に伴い、近年では様々な簡便で有用な代替法が開発されており、これらの代替法による試験の実施を希望する試験機関も存在する。そこで、そこで、器具・容器包装の規格試験に対する信頼性確保及び向上を目的として、ビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究を実施した。

器具・容器包装等は合成樹脂、ゴム、金属など多種多様な材質で製造される。製品には原料、添加剤、不純物等の様々な化学物質が残存し、これらの化学物質は食品や唾液を介してヒトを曝露する可能性がある。したがって、器具・容器包装等の安全性を確保するためには、製品に残存する化学物質やその溶出量を把握することが重要である。また、これらの化学物質には分析法がないものや、分析法があっても改良すべき課題を有するものがあるため、これらを解決するための検討も必要である。さらに、近年ヘリウムガスの供給不足が度々発生しており、今後ヘリウムガスの入手が困難となった場合に対応するため、使用実態がほとんどない窒素キャリアーガスの適用性を確認しておく必要がある。そこで、市販製品に残存する化学物質に関する研究として、窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS によるフタル酸エステル試験法の検討、食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

B. 研究方法

1. 規格試験法の性能に関する研究

1) 器具・容器包装におけるビスフェノール

A 溶出試験に係わる試験法の性能評価

①共同試験

共同試験には、民間の登録検査機関の 10 試験所と公的な衛生研究所などの 11 試験所が参加した。

検体としてビスフェノール A、フェノール及び *p*-tert-ブチルフェノールを含む 8 種の溶液を参加機関に濃度非明示で配付し、1 検体につき 2 回の試験を実施した。

②結果の解析

参加試験所から報告された室間共同実験結果は Codex 分析・サンプリング部会の関連文書である CXG64-1995 に示されたプロトコールにしたがい、Microsoft Excel 2019 を使用して解析した。解析で併行相対標準偏差(RSD_r %)、室間再現相対標準偏差(RSD_R %)及び RSD_R と Horwitz/Tompson 式で予測される室間再現相対標準偏差($PRSD_R$ %)の比である HorRat 値を算出した。なお、 $PRSD_R$ は各検体の濃度に対応する Horwitz/ Tompson 式である $PRSD_R \% = 2C^{-0.1505}$ (C : 検体濃度)から算出した。また、HorRat 値による分析法の性能評価における性能規準の指標として Codex 委員会の手順書を参照した。この手順書では、分析法の性能規準として、HorRat 値が 2 以下を設定している。

また、計画書には解析結果の分析法の性能パラメーターについて以下の目標値を設定し、解析結果と比較した。

RSD_r : 10%以下

RSD_R : 25%以下

真度 80%~110%

なお、真度は、各試験所の分析値の平均値と検体濃度の比の百分率で算出した。

2) 器具・容器包装におけるビスフェノール

A 溶出試験に係わる試験法の改良等の検討

①共同試験及び結果の解析

1) と同じ

②改良法

試料 25 mL を分液漏斗に移し、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、アセトニトリル層を 100 mL のナスフラスコに移した。ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のナスフラスコに合わせた。次いでナスフラスコにキーパーとして 2% ジエチレングリコール-アセトン溶液 0.5 mL を添加し、40°C の水浴で加温しつつ、エバポレーターにより溶媒を留去した。これに 50% アセトニトリルで 25 mL に定容して測定溶液とした。

検量線用測定溶液は、試料の浸出用液の種類（ただし、試料 7 及び試料 8 は 50% アセトニトリル）に対応する 10 mg/L の標準溶液を正確に 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL 及び 5 mL をとり、それぞれの浸出用液を用いて正確に 20 mL とした（0.5 mg/L、1 mg/L、1.5 mg/L、2 mg/L、2.5 mg/L）。また、0 mg/L としてそれぞれの浸出用液を用いた。

2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究

1) 窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認

① 試験溶液及び測定溶液の調製

試験溶液の調製は公定法にしたがった。すなわち、細切した試料 0.5 g を共栓付きフラスコに採り、アセトン・ヘキサン混液 (3:7) 20 mL 及び塩酸 50 µL を加え、密栓をして約 40°C の恒温槽内で一晩放置した。冷後、この液をろ紙（定量 5C）ろ過し、ろ液及びアセトン・ヘキサン混液 (3:7) による洗液を合わせ、減圧濃縮器を用いて 40°C 以下で約 1 mL まで濃縮した。次いで、ヘキサンを用いて 25 mL のメスフラスコに移し、さらにヘキサンを加えて 25 mL に定容した。毎分 2500 回転で約 10 分間遠心分離を行い、上澄液を試験溶液とした。

試験溶液 2 mL をとり、酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 5 mL 及びテトラエチルホウ酸ナトリウム試液 1 mL を加えて直ちに密栓し 20 分間激しく振り混ぜた（振とう速度：300 回/分）。これを室温で約 1 時間静置した後、上澄液を採取し測定溶液とした。

② 測定条件

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

カラム温度：45°C (4 分間保持) -15°C/min (昇温) -300°C (10 分間保持)

注入口温度：250°C

注入モード：スプリットレス

注入量：1 µL

キャリアガス及び流量：He 0.8 mL/min、N₂ 0.8 mL/min (定流量)

トランスファーライン温度：280°C

イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

測定モード：SIM

定量イオン (*m/z*)：263

確認イオン (*m/z*)：261 及び 259

2) 窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験への適用

① 試料及び試験溶液の調製

試料は PAEs の含有が確認されなかった軟質 PVC 製おもちゃ 27 検体を用いた。

細切した試料 0.5 g を精秤して 50 mL 容の三角フラスコにとり、アセトン・ヘキサン混液 (3:7) 30 mL を加えて振り混ぜた後、密栓をして約 40°C の恒温槽内で一晩静置した。冷後ろ紙ろ過し、アセトンで三角フラスコ及び漏斗を洗い、得られたろ液及び洗液を合わせアセトンで 50 mL に定容した。この液を試料抽出液とした。

DBP、BBP、DEHP 及び DNOP 標準原液各 0.5 mL を 50 mL 容の三角フラスコにとり、試料抽出液を加えて 50 mL としたものを 4 種混合 PAEs 添加試験溶液とした。また、DNOP

標準原液を除く 3 種の標準原液を用いて上記と同様に調製したものを 3 種混合 PAEs 添加試験溶液とした。また、DINP または DIDP 標準原液を用いて同様の操作を行ったものをそれぞれ DINP 添加試験溶液及び DIDP 添加試験溶液とした。

②GC/MS 条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d.×30 m、膜厚 0.25 μm、Agilent Technologies 社製)

カラム温度：100°C-15°C/min (昇温) -300°C (10 分間保持)

注入口温度：250°C

注入モード：スプリットレス

注入量：1 μL

キャリアガス及び流量：He 0.8 mL/min、N₂ 0.8 mL/min (定流量)

トランスファーライン温度：280°C

イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

測定モード：SIM

3) 食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討

①食品の pH 測定

食品・土壌用の突き刺し型 pH 計 (YK-21PH、株式会社佐藤商事) を用いた。試料は室温 (約 25°C) になるまでしばらく放置した。液体の場合は電極を試料に浸し、個体の場合は電極を試料に押し付けるようにして測定した。

②溶出試験

試料を 2 cm×5 cm (10 cm²、両面 20 cm²) に切断し、あらかじめ試験温度まで加熱した浸出用液 40 mL に入れ、30 分間加熱した。浸出用液から試料を取り出し、室温まで冷却したものを試験溶液とした。

C. 研究結果及び考察

1. 規格試験法の性能に関する研究

1) 器具・容器包装におけるビスフェノール

A 溶出試験に係わる試験法の性能評価

全 23 試験所のうち 4 試験所については、規定の注入量を満たす分析機器を所持していないなど、分析環境の制約により計画書にしたがった分析が行えなかった。このため、19 試験所から報告された各検体の分析結果を解析した。

各検体について外れ値を検定したところ、最大 3 試験所の分析結果が外れ値に該当した。ただし、検体 7 から調製した試料の分析結果からは、試験所間でのばらつきが比較的大きいことが主要因となり、外れ値が検出されなかった。性能パラメーターはこれらの外れ値を除外して推定した。

性能パラメーターを推定した結果、RSD_r は 0.14~4.4%、RSD_R は 2.5~36%であった。このうち、浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノールとした検体 1~6 の分析の場合では、RSD_r は 0.14~0.57%、RSD_R は 2.5~4.6%であったのに対し、浸出用液をヘプタンとした検体 7 及び検体 8 の分析では、RSD_r は 1.2~3.5%、RSD_R は 7.5~36%であり、試験所内、試験所間での分析結果のばらつきが大きかった。また、浸出用液がヘプタンの場合は、クロマトグラムにおける分析対象物質のピーク形状が対称とならずに崩れる場合があった。

浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノールとした検体 1~検体 6 の分析での HorRat 値は、0.17~0.28 の範囲にあり、Codex 委員会の指標値 2 を下回っていた。浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールである場合の分析では、HPLC により測定するだけの分析工程が単純であるため、分析値のばらつきが小さくなったことが推察された。

一方、浸出用液をヘプタンとした検体 7 及び検体 8 の分析での HorRat 値は、0.54~2.5 の範囲にあった。このうち高濃度の試料 7 では、HorRat 値は、分析対象化合物を通じ 0.54~2.5 の範囲にあり、特に、ビスフェノールの分析では HorRat 値が 2.5 と Codex 委員会が示す性能規準の指標値 2 を上回っていた。

各性能パラメーターの目標値と比較したとこ

ろ、 RSD_R は、浸出用液がヘプタンのビスフェノール A 分析では目標値(25%以下)を満たさなかった。真度は、浸出用液が水、20%エタノール、4%酢酸のフェノール分析で目標値(80%~110%)を満たさない試験所が 1 試験所あり、浸出用液がヘプタンの場合のビスフェノール A 分析では、約 50%の試験所で目標値を満たさず、フェノール分析、*p-tert*-ブチルフェノール分析でも、それぞれ約 30%、約 20%の試験所で目標値を満たさなかった。

以上の結果から、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、告示試験法の性能が妥当といえる水準にあることが期待されなかったことから、告示試験法の改良を検討する必要があると考えられた。

2) 器具・容器包装におけるビスフェノール

A 溶出試験に係わる試験法の改良等の検討

①LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同実験

LC-MS 法及び LC-MS/MS 法による分析結果を解析したところ、 RSD_r は浸出用液がヘプタンの検体 8 で LC-MS 分析で目標値(10%以下)を満たさなかった。 RSD_R は、浸出用液が 20%エタノールの検体 6 と浸出用液がヘプタンの検体 7 の LC-MS 分析、ならびに浸出用液がヘプタンの検体 7 と検体 8 の LC-MS/MS 分析で目標値(25%以下)を満たさなかった。真度は、検体 1 の LC-MS/MS 分析以外では目標値を満たさない試験所が多数あった。特に、浸出用液がヘプタンの検体 7、検体 8 の分析では、約半数以上の試験所で目標値を満たさなかった。

以上の結果と前章の告示試験法の結果と比較すると、LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の性能は告示試験法よりも低く、規格を判定する分析法として妥当な水準にないことが示唆された。

②告示試験法の改良

告示試験法の測定溶液はアセトニトリルであるため、各分析対象化合物のピーク形状が対

称とならずに崩れる現象が見られた。そこで、測定溶液のアセトニトリルの割合を 50%に低下させたところ、ピーク形状が改善した。

測定溶液の調製法について、ヘプタンから転溶後のアセトニトリルを留去し、改めて 50%アセトニトリルで定容することを検討した。キーパーを入れずにアセトニトリルを留去したところ、真度はフェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールでそれぞれ 90%未満となり、これらの蒸発が疑われた。そのため、キーパーとして 2%ジエチレングリコール-アセトン溶液を 0.5 mL 添加した。その結果、すべての分析対象化合物で真度が改善し、ほぼ 100%となった。以上の結果から、測定溶液の調製法は、ヘプタンの溶出液をアセトニトリルに転溶後、2%ジエチレングリコール-アセトン溶液 0.5 mL を添加し、エバポレーターでアセトニトリルを留去後、50%アセトニトリルで 25 mL に定容することとした。

告示試験法の検量線用測定溶液は水で調製することになっており、測定溶液と異なる。このため、測定の際の吸光度に違いが生じ、分析値に影響を及ぼすと考えられた。そこで、検量線用測定溶液のアセトニトリルの割合についても 50%とし、調製では 50%アセトニトリルを用いることにした。

改良分析法の性能評価を行った結果、併行精度($RSD\%$)は 0.9~1.3%、真度 98~100%であり、ビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを公定法よりも優れた性能で定量可能であることが示唆された。

③HPLC-FL 法の検討

蛍光検出器による分析法の適用性を検証した。各浸出用液における検量線用測定溶液及び測定溶液を蛍光検出器により分析した結果、各分析対象化合物のクロマトグラムにおけるピーク形状は対称かつシャープであり、またピークの近傍に定量を著しく妨害するようなピークは見られなかった。性能評価を行った結果、併行精度は 0.1~2.9%、真度は 94~102%であり、

HPLC-FL 法はビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを分析時に大きな支障をきたすことなく定量可能な分析法であり、公定法の代替法としての活用が期待できると考えられた。

2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究

1) 窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認

①ヘリウムキャリアーと窒素キャリアーの比較

ジブチルスズ化合物標準溶液を誘導体化した標準測定溶液を用いて、ヘリウム及び窒素キャリアーの比較を行った。その結果、ジブチルスズ化合物誘導体の保持時間及びピーク形状は、いずれもヘリウムの場合とほぼ同じであった。また、得られたマススペクトルを比較したところ、窒素キャリアーではヘリウムキャリアーと比べてバックグラウンドに由来するイオンが高く検出された。しかし、ジブチルスズ化合物誘導体に由来するイオンやこれらの強度比に大きな差はなかった。一方、ピーク面積値は約 20%減少した。さらに、窒素キャリアーの場合はノイズレベルが高いため S/N が 1/10 以下に大きく低下した。しかし、適否判定は可能と考え、適用性に問題ないと判断した。

②妥当性確認

限度分析法としての妥当性を確認した結果、標準測定溶液におけるジブチルスズ化合物誘導体のピーク面積値 (SI_{standard}) の平均値に対する添加試料の分析により得られたピーク面積値 (SI_{sample}) の平均値の比 (SI_{ratio}) は試料 1 では 0.96、試料 2 では 0.94 であった。また、 SI_{standard} の相対標準偏差 (S_{standard}) は 4.9、 SI_{sample} の相対標準偏差 (S_{sample}) は 5.4 及び 4.2 であり、限度試験の目標値 ($SI_{\text{ratio}} : 0.9-1.0$ 、 $S_{\text{standard}} : < 5$ 、 $S_{\text{sample}} : < 15$) を満たしており、本法の

性能は限度分析法として妥当であると判断した。

定量分析法としての妥当性を確認した結果、真度は 99.4 及び 98.8%、併行精度は 3.1 及び 6.3%、室内精度は 6.1 及び 9.9%であった。真度は CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL (Twenty-Seventh edition) が定めるサンプル濃度 100 mg/kg における目標値 (90-107%) を満たした。また RSD_r 及び RSD_R は、GUIDELINES ON GOOD LABORATORY PRACTICE IN PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS (CAC/GL 40) が定める試験室内妥当性確認の基準 (サンプル濃度 > 1 mg/kg の場合の $RSD_r : 10\%$ 及び $RSD_R : 16\%$) を満たした。以上の結果から本法の性能は定量分析法として妥当であると判断した。

2) 窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験への適用

①ヘリウムキャリアーと窒素キャリアーの比較

標準溶液を用いて、ヘリウム及び窒素キャリアーの比較を行った。その結果、保持時間は大きく変わらずピーク形状も良好であった。また、得られたマススペクトルを比較したところ、窒素キャリアーではヘリウムキャリアーと比べてバックグラウンドに由来するイオンが高く検出された。しかし、PAEs に由来するイオンやこれらの強度比に大きな差はなかった。一方、ピーク面積値は 10~50%減少し、S/N は大幅に低下し、窒素キャリアーでは適否判定は困難と考えられた。

②カラムサイズの変更

MSD に導入される窒素ガスの絶対量を減らしてノイズを低減し、結果として S/N の改善が期待される。しかし同一のカラムでは窒素の流量を下げると十分なカラム圧力及び注入口圧力が得られず、さらに保持時間が遅くなる。そこで、機器メーカーが推奨するカラ

ムサイズに変更し（内径：0.25 mm → 0.18 mm、長さ：30 m → 20 m）、さらに流速は最適線速度となるように調整し 0.25 mL/min とし測定した。その結果、DEHP の保持時間は 11.6 分となり、公定法で指定された保持時間と比べ 1 分以上遅くなったが、ピーク面積値はほぼ同程度であったが、S/N は 10~20 倍と大きく改善した。一方、DNOP、DINP 及び DIDP の S/N が 100 未満であり、カラムサイズを変更しても適否判定を行うことは難しいと考えられた。

③ 妥当性確認

DBP、BBP 及び DEHP の 3 種類を対象として限度分析法としての妥当性を確認した結果、 S_{standard} 及び S_{sample} はそれぞれ 3.0~4.6% 及び 1.9~7.3% であり、全て目標値（< 5% 及び < 15%）を満たした。一方、 SI_{ratio} は 1.14~1.63 であり、全て目標値（0.9~1.0）を満たさなかった。これは試験溶液中の塩ビオリゴマーのマトリックス及び大量に共存する他の可塑剤による増感効果が原因であると考えられた。また、この溶液を 2 倍に希釈して測定したところ、 SI_{ratio} は 1.03~1.20% となった。試験溶液の希釈により一部は改善されたが、規格試験法としては十分な性能が得られなかった。しかし、DBP、BBP 及び DEHP の重水素体（d 体）を内部標準として用いた内標法の場合は SI_{ratio} は 1.00~1.04、 S_{standard} は 0.6~1.6%、 S_{sample} は 1.0~1.6% であり、全て目標値を満たした。

DNOP、DINP 及び DIDP については、含有可塑剤の種類及び量が多種多様な 27 種類の PVC 玩具から得られた試料抽出液に DNOP、DINP 及び DIDP 添加した溶液を測定し、DNOP、DINP 及び DIDP を含有する試料を選別することが可能かどうか検討した。

その結果、DNOP、DINP 及び DIDP を含有しているかどうかの判断は可能であると考えられた。しかし DNOP と DEHTP は装置によっては保持時間が他の繁用可塑剤と完全に重複する可能性があるため、標準品などを用い

てこれらがわずかでも分離することを事前に確認しておく必要がある。

3) 食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討

① 日米欧における食品分類と食品擬似溶媒の違い

米国では、pH 5.0 を超えるものが「I 非酸性水溶性食品」に分類されることから、「II 酸性水溶性食品」の pH 5.0 以下の食品が「酸性食品」に該当する。また、これらの食品擬似溶媒として 10% エタノールを用いることが推奨されている。一方、欧州連合では pH 4.5 未満の食品を「acidic foods」としており、食品擬似溶媒として 3% 酢酸を用いる。日本の食品衛生法では、油脂及び脂肪性食品（油性食品）並びに酒類以外の食品で pH 5 を超えるものを「酸性食品」に分類し、浸出用液（食品擬似溶媒）として 4% 酢酸を用いる。しかし、食品健康影響評価指針では、pH 4.6 以下の食品を酸性食品としている。このように日米欧では酸性食品の範囲とその食品擬似溶媒が異なっている。

食品衛生法の「食品、添加物等の規格基準 第 1 食品 D 各条」において、「○清涼飲料水」及び「○容器包装詰加圧加熱殺菌食品」では、ボツリヌス食中毒の発生を未然に防止するための指標として pH 4.6 で殺菌条件を区分している。容器包装においても、食品の pH が 4.6 以上の場合には pH 4.6 未満の場合と比べてより高温で殺菌しなければならず、耐熱性や密封性が求められる。また、低温での保存を要する場合においては耐寒性も必要となる。そのため、器具・容器包装において酸性食品の指標となる pH 値と食品において低酸性食品の指標となる pH 値を一致させることが望ましいと考えられた。

② 食品の pH 値

酸性食品の実態を確認するため、代表的な食品の pH を測定した。その結果、食品の一

部で pH 4.6~5.0 に該当するものが存在したがその割合は少なく、油脂含量が低い調味料類に限定的と考えられた。そのため、酸性食品の指標となる pH 値を 5 以下から 4.6 以下に変更してもその影響は小さいと考えられた。

③食品擬似溶媒に関する検討

各種試料を用いた溶出試験により、3%酢酸と 4%酢酸の食品擬似溶媒としての同等性を確認した。有機物の溶出量を比較した結果、検出されたいずれの有機物においても酢酸濃度に応じて溶出量が増加する傾向が見られ、分配係数が 4.3~6.9 のやや親油性を有する物質についてはその傾向が顕著であった。一方、無機物では、酢酸濃度と溶出量に相関はみられなかった。以上のことから、有機物に対しては、3%酢酸と 4%酢酸では溶出傾向が異なっており、同等と見なすことはできないと考えられた。

3%酢酸及び 4%酢酸と飲料への溶出量と比較し、3%酢酸及び 4%酢酸の食品擬似溶媒としての妥当性を検証した。分配係数が 1.7~4.3 の親水性が高い物質の溶出量は飲料の種類や pH に関連せず、ほぼ同程度であったが、3%酢酸及び 4%酢酸の溶出量と比較すると、飲料への溶出量は 4%酢酸と比べて同等またはそれ以下であった。一方、3%酢酸の溶出量と比べると、一部の物質の溶出量は 3%酢酸よりも飲料が多かった。分配係数が 5.7 及び 6.9 のやや親油性を有する物質については、炭酸飲料への溶出量は 4%酢酸もしくは 3%酢酸と同程度であったが、その他の飲料は 4%酢酸よりも溶出量が多かった。

以上のことから、保守的な管理という観点では、4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。しかし、3%酢酸または 4%酢酸のいずれを食品擬似溶媒とする場合であっても、個々の物質に対して溶出量の規格を設定

する際は、その物質の物性等を考慮して実際の食品への移行量と同程度の溶出量が得られる食品擬似溶媒（浸出用液）を設定すべきと考えられる。

D. 結論

規格試験法の性能に関する研究ではビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究では窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験への適用、食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

ビスフェノール A 溶出試験法について、23 試験所が参加する室間共同実験を実施した。その結果、浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールの試料を分析する場合は、告示試験法の妥当性が確認された。しかし、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、告示試験法の妥当性は確認されなかった。以上の結果から、浸出用液がヘプタンの場合の告示試験法については、改良の必要性が考えられた。

ビスフェノール A 溶出試験法への LC-MS 法または LC-MS/MS 法の適用性を検証した。その結果、規格試験への適用が難しいことが示唆された。また、浸出用液がヘプタンである場合について改良法を作成した。本改良法は規格の適否判定を行うための分析法として妥当な水準にある可能性が期待された。さらに、紫外吸光度検出器に代わる検出器として蛍光検出器の適用を検討した結果、代替法として活用可能であることが示唆された。

ジブチルスズ化合物試験法において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかった。一方、ヘリウムと比べて窒素

では感度が減少した。しかし、限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能と考えられる性能を有していた。

GC-MS を用いたフタル酸エステル試験において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかったが、ピーク面積値は減少した。そこで、カラムサイズを細く短いものに変更し、流速を下げた測定した。その結果、S/N は 10~20 倍に改善し、DBP、BBP 及び DEHP については規格試験として適用可能と考えられた。一方、DNOP、DINP 及び DIDP については適否判定を行うことができる水準ではなかったが、他の可塑剤が共存していてもこれらの PAEs を含有している可能性のある試料を選別することは可能であると考えられた。

器具・容器包装の規格基準における酸性食品の区分と溶出試験で用いる浸出用液の検討を行った。その結果、酸性食品の指標となる pH 値を現行の 5 から 4.6 へ変更することが望ましいと考えられた。各種飲料への溶出量を対照として 3%酢酸と 4%酢酸の食品擬似溶媒としての妥当性を検証したところ、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる 4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。

E. 健康被害情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 尾崎麻子ら、ヘッドスペース-GC/MS による食品用ラミネートフィルム中の残留有機溶剤の分析、食品衛生学雑誌、60、73-81 (2019)
- 2) 河村葉子ら、油脂および脂肪性食品用合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物試験に関する考察、食品衛生学雑誌、60、82-87 (2019)

2. 講演、学会発表等

- 1) 六鹿元雄、食品用器具・容器包装におけるポジティブリスト制度の導入について、第 92 回日本産業衛生学会シンポジウム (2019.5)
- 2) 大野浩之、鈴木昌子、山口未来、六鹿元雄；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 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (2019.10)
- 3) 尾崎麻子ら、合成樹脂製の器具・容器包装における溶出試験の精度の検証、第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (2019.10)
- 4) 六鹿元雄、器具・容器包装におけるポジティブリスト制度の最新情報、日本食品衛生学会第 22 回特別シンポジウム (2020.2)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし