

<その2> 総溶出物試験とその乾燥操作の平準化に関する検討

研究代表者 六鹿 元雄
研究分担者 藤原 恒司
研究協力者 山口 未来

国立医薬品食品衛生研究所
国立医薬品食品衛生研究所
国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

令和2年6月1日より合成樹脂の原材料に対してポジティブリスト (PL) 制度が導入され¹⁾、安全が担保されたもののみが使用可能となった。一方、最終製品には原材料中の不純物や製造時に発生する非意図的な混入物も含まれるため、最終製品に対して、不純物等の非意図的な混入物を管理するための措置を講じる必要がある。しかしながら、これらの非意図的な混入物は、使用する原材料、製品の製造工程等により様々であるため、対象となる物質を特定することが困難である。そのため、非意図的な混入物の管理は、蒸発残留物試験や過マンガン酸カリウム消費量試験のような総量規制により、PL収載物質を含む器具・容器包装から溶出するあらゆる物質を包括的に測定する手法による管理が有効と考えられる。

現行の規格基準では、一般規格としてすべての合成樹脂製の器具・容器包装に対して過マンガン酸カリウム消費量試験による規格が設定されているが、本試験の結果は、器具・容器包装から溶出した有機物の過マンガン酸カリウムに対する被酸化性に依存するため測定対象物が明確でなく、目視による試験であるため試験者によって結果が異なる場合がある等の問題が指摘されている^{2,3)}。さらに、試験法の性質上、溶出試験の浸出用液は水に限られるため測定対象となる溶出物が限定的であり、油脂および脂肪性食

品等へ移行しやすい物質に対応できないといった課題もある。

一方、蒸発残留物試験は、個別規格が設定された合成樹脂製の器具・容器包装に対してのみ規格が設定されており、個別規格が設定されていない合成樹脂製の器具・容器包装には規格が設定されていない。本試験法は、器具・容器包装の溶出液を重量既知の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°Cで2時間乾燥してその残留物の重量を測定することで溶出液中の不揮発性物質の量を求める方法である^{2,3)}。そのため、溶出試験の浸出用液として、ヘプタン、20%エタノール、水、4%酢酸が適用可能であり、食品の種類に即した広範囲の溶出物の管理を行うことができる。しかし、沸点が150~200°C程度の溶出物の中には大部分が試験操作中に揮散してしまうものがあり、これらは残留物量として結果に反映されない。さらに、過去に実施した蒸発残留物試験の共同試験では、試験溶液中に揮散しにくい溶出物を多く含む場合は、蒸発乾固後の105°Cで2時間の乾燥操作においてその大部分が残留し、共同試験による性能評価において良好な性能を示したが、乾燥操作により揮散しやすい溶出物を多く含む試験溶液の場合は、一部または大部分が揮散してしまうため、試験結果が試験所によって異なり、規格試験法として十分な性能が得られない可能性が示唆されている⁴⁾。その原因として、使用する容器の形状や乾燥器の送風方式により、溶出物

の残留物量に差が生じるためと考えられ、改善方法として、現行公定法の規定に準拠している「蒸発皿、結晶皿等」より背が高いビーカーを使用する、乾燥操作時に容器に蓋をするといった、乾燥器内で残留物に風があたることを抑制するなど、試験所間の溶出物の残留物量の差をできるだけ小さくする方法が提案されている^{5,6)}。

そこで、器具・容器包装からの溶出物を幅広く包括的に測定する手法として、蒸発残留物試験の乾燥操作時にアルミニウム箔の蓋を使用した改良法（総溶出物試験）⁶⁾について、蓋の効果を検証した。さらに、総溶出物試験において各試験所で得られる残留物量を同程度にするための乾燥操作の平準化に関する検討を行った。

B. 研究方法

1. 試薬・試液等

アセトン：残留農薬・PCB分析用、シグマ アルドリッチ ジャパン（同）製

メタノール：LC/MS用、関東化学（株）製

テトラエチレングリコール（TetEG）：関東化学（株）製

2. アルミニウム箔の蓋による影響

試薬をアセトンまたはメタノールに溶解し、200 mg/mLの濃度としたものを100 μ L採り、結晶皿の中央部に滴下した。次いで、5か所に直径1 mmの穴を空けたアルミニウム箔で結晶皿に蓋をして、105°Cで2時間乾燥した後、デシケーター中で放冷した。冷後、アルミニウム箔の蓋を取り除いて秤量し、操作前後の結晶皿の質量差（mg）を求め、これを総溶出物試験の結果とした。別にアルミニウム箔の蓋をせず、同様に105°Cで2時間の加熱を行った結晶皿の質量差（mg）を求め、次式により試薬の残留率（%）

を算出し、これを蒸発残留物試験の結果とした。なお、質量差1 mgを残留物量の定量下限値と設定し、残留率が5%未満となった場合は<5%、95%を超えた場合は>95%とした。

$$\text{残留率 (\%)} = (\text{操作前後の結晶皿の質量差} / 20) \times 100$$

3. 指標物質による乾燥操作条件の検証および調節

TetEG 100 mgにアセトンを加えて50 mLとし、これを指標試料（濃度：2 mg/mL）とした。

指標試料5 mLを、あらかじめ105°Cで乾燥した質量既知（①）の耐熱ガラス製の容器に採り（n=5）、60~80°Cに設定したホットプレートで30~60分間加温してアセトンを除去した。デシケーター内で放冷後、秤量（②）して操作前後の容器の質量差 I_0 （mg）を求めた。質量差 I_0 が9.0~11.0 mgの範囲内であることを確認した。質量差 I_0 が11.0 mgを超える場合は、質量差 I_0 が9.0~11.0 mgの範囲内となるまで30~60分間の加温を繰り返した。次いで、5か所に直径1 mmの穴を空けたアルミニウム箔で容器に蓋をして、105°Cで2時間乾燥した後、デシケーター中で放冷した。冷後、アルミニウム箔を取り除いて秤量（③）し、操作前後の容器の質量差 I_1 （mg）を求めた。別に空試験として質量差 B_0 （mg）および質量差 B_1 （mg）を同様にして求め、次式により指標物質の残留率（%）および相対標準偏差RSD（%）を求めた。残留率（n=5）の平均値が70~90%、かつ、RSDが15.0%以下であることを確認した。これらの条件を満たさないときは、容器、乾燥器の設定温度等を変更して、残留率の平均値および相対標準偏差が上記の条件を満たすまで同様の操作を繰り返した。

$$\text{質量差 } I_0 = \text{②} - \text{①}、\text{質量差 } I_1 = \text{③} - \text{①}$$

残留率 (%) = (質量差 I₁ - 空試験の質量差 B₁) / (質量差 I₀ - 空試験の質量差 B₀) × 100

C. 研究結果および考察

1. アルミニウム箔の蓋による影響

合成樹脂のポジティブリスト⁷⁾に記載されている添加剤のうち、分子量 100~430 の 64 物質について、自然対流方式および強制送風方式の乾燥器を用いて乾燥操作時に蓋をしない蒸発残留物試験と乾燥操作時にアルミニウム箔で蓋をする総溶出物試験での各物質の残留物量の違いを確認した(表 1)。

自然対流方式の乾燥器を用いた場合、蒸発残留物試験では、64 物質のうち 28 物質の残留率が 5%未満であった。これらは器具・容器包装から溶出しても、乾燥操作で大部分が揮散してしまい、蒸発残留物試験の結果に反映されない可能性が高いと考えられた。しかし、総溶出物試験では、このうちの 12 物質が 14~68%の残留率を示し、溶出物の一部が結果に反映されることが示唆された。一方、残りの 16 物質については、蓋の有無に関わらず、ほとんどが揮散してしまい、いずれの試験法においても結果に反映されない可能性が高かった。さらに、蒸発残留物試験で残留率が 5~90%であった 24 物質については、ほぼすべてが総溶出物試験では残留物量が増加した。また、蒸発残留物試験で残留率が 90%を超えた 9 物質は、総溶出物試験でも同様の残留率を示した。

強制送風方式の乾燥器を用いた場合、蒸発残留物試験では、64 物質のうち 28 物質の残留率が 5%未満であり、総溶出物試験ではこのうちの 8 物質が 13~82%の残留率を示した。一方、残りの 20 物質については、蓋の有無に関わらず、

残留率は 5%未満であった。さらに、蒸発残留物試験で残留率が 5~90%であった物質は 22 物質存在し、総溶出物試験ではこれらのほぼすべての物質で残留物量が増加した。また、蒸発残留物試験で残留率が 90%を超えた 14 物質は、総溶出物試験でも同様の残留率を示した。

このようにいずれの送風方式においても総溶出物試験では蒸発残留物試験と比べて大部分の物質で残留物量が増加した。一方、3-アミノプロピルトリエトキシシランおよび酢酸ナトリウム 3 水和物の 2 物質は、いずれの送風方式においても蒸発残留物試験と総溶出物試験の残留率がほぼ同じであり、アルミニウム箔の蓋による影響を受けなかった。そのため、これらの残留率が低い原因は揮散による消失ではなく、3-アミノプロピルトリエトキシシランについては加熱による分解、酢酸ナトリウム 3 水和物については結晶水の脱離と考えられた。

物質の分子量と自然対流方式の乾燥器を用いた際の残留率の関係を図 1 に示した。分子量が 150 付近の物質は、蒸発残留物試験、総溶出物試験ともに、残留率が 5%未満となる物質が多く存在したが、総溶出物試験ではそれらのうち一部の残留率が 30~65%となった。また、分子量が 200~300 の物質のうち蒸発残留物試験で残留率が 20~45%であった物質は、総溶出物試験では大部分でその残留率が 65%以上となった。さらに、分子量 300 以上の物質のうち蒸発残留物試験で残留率が 75~90%であった物質は、総溶出物試験ではその残留率が 90%以上となり、溶出物量の大部分を試験結果に反映させることができた。

沸点が判明した 41 物質について、沸点と自然対流方式の乾燥器を用いた際の残留率の関係を図 2 に示した。沸点が 300°C以下の物質では、蒸

表1 各種添加剤の蒸発残留物試験および総溶出物試験における残留率（1）

通し番号	物質	CAS登録番号	分子量	沸点(°C)	残留率 (%)			
					自然対流方式		強制送風方式	
					蒸発残留 物試験	総溶出物 試験	蒸発残留 物試験	総溶出物 試験
21	アセチルアセトン	123-54-6	100	140	<5	<5	<5	<5
229	塩化ベンゾイル	98-88-4	140	197	<5	<5	<5	<5
277	グルタル酸ジメチル	1119-40-0	160	214	<5	<5	<5	<5
283	4-クロロ-3-メチルフェノール	59-50-7	142	235	<5	<5	<5	<5
290	酢酸2-(2-エトキシエトキシ)エチル	112-15-2	176	218	<5	<5	<5	<5
329	N,N-ジエチル-アニリン	91-66-7	149	216	<5	<5	<5	<5
334	ジエチレングリコールのモノエチルエーテル	111-90-0	134	196	<5	<5	<5	<5
336	ジエチレングリコールのモノブチルエーテル	112-34-5	162	230	<5	<5	<5	<5
373	ジプロピレングリコール	25265-71-8	134	230	<5	<5	<5	<5
381	2-エチルヘキサノール	149-57-5	144	228	<5	<5	<5	<5
390	1-オクタノール	111-87-5	130	195	<5	<5	<5	<5
390	1-デカノール	112-30-1	158	231	<5	<5	<5	<5
405	2,5-ジメチル-2,5-ビス(tert-ブチルペルオキシ)ヘキサノール	78-63-7	290	-	<5	<5	<5	<5
407	N,N-ジメチル-1,3-プロパンジアミン	109-55-7	102	123	<5	<5	<5	<5
592	ビス(2-ヒドロキシプロピル)アミン	110-97-4	133	250	<5	<5	<5	<5
638	ビニルトリメトキシシラン	2768-02-7	148	123	<5	<5	<5	<5
381	n-オクタン酸	124-07-2	144	240	<5	14	<5	<5
390	1-トリデカノール	112-70-9	200	-	<5	20	<5	21
270	二酢酸グリセリル	25395-31-7	176	259	<5	32	<5	<5
487	4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール	140-66-9	206	279	<5	33	6	18
552	β -ナフトール	135-19-3	144	285	<5	38	<5	13
67	安息香酸	65-85-0	122	249	<5	42	<5	<5
412	マロン酸	141-82-2	104	-	<5	47	16	85
381	ネオデカン酸	26896-20-8	172	250	<5	49	<5	<5
381	n-カプリン酸	334-48-5	172	269	<5	60	<5	50

表1 各種添加剤の蒸発残留物試験および総溶出物試験における残留率（2）

通し番号	物質	CAS登録番号	分子量	沸点(°C)	残留率 (%)			
					自然対流方式		強制送風方式	
					蒸発残留物試験	総溶出物試験	蒸発残留物試験	総溶出物試験
504	トリエチレングリコール	112-27-6	150	285	<5	64	12	45
23	アセチルクエン酸トリエチル	77-89-4	318	-	<5	68	<5	68
15	アジピン酸ジイソブチル	141-04-8	258	280	<5	68	<5	43
39	3-アミノプロピルトリエトキシシラン	919-30-2	221	217	6	9	7	<5
82	イソソルビド	652-67-5	146	-	15	46	<5	79
634	4-ヒドロキシメチル-2,6-ジ-tert-ブチルフェノール	88-26-6	236	-	21	92	8	80
118	テトラエチレングリコール	112-60-7	194	328	22	88	33	92
663	フタル酸ジイソブチル	84-69-5	278	296	26	66	<5	81
309	シアヌル酸トリアリル	101-37-1	249	-	30	76	<5	82
105	N-エチル-メチルベンゼンスルホン酸アミド	80-39-7	199	208	36	79	63	>95
695	オレイン酸メチル	112-62-9	297	-	37	90	11	89
661	フタル酸エチルエトキシカルボニルメチル	84-72-0	280	320	43	83	59	>95
371	ジ-tert-ブチルペルオキシド	110-05-4	222	-	44	88	58	92
289	酢酸ナトリウム3水和物	6131-90-4	136	-	58	57	57	53
501	トリエタノールアミン	102-71-6	149	335	70	93	>95	>95
412	セバシン酸ジブチル	109-43-3	314	344	76	>95	53	>95
27	アセチルリシノール酸メチル	140-03-4	355	-	78	93	75	>95
750	マレイン酸ビス(2-エチルヘキシル)	142-16-5	341	-	79	94	45	>95
412	クエン酸トリブチル	77-94-1	360	-	80	90	42	>95
270	モノラウリン酸グリセリル	142-18-7	274	-	81	94	94	>95
381	リノール酸	60-33-3	280	365	83	92	>95	>95
734	パルミチン酸ブチル	111-06-8	313	-	84	94	73	91
357	N, N'-ジフェニル-エチレンジアミン	150-61-8	212	-	85	93	87	94
15	アジピン酸ビス(2-エチルヘキシル)	103-23-1	371	417	86	93	80	>95
822	リン酸トリフェニル	115-86-6	326	370	88	90	84	>95

表1 各種添加剤の蒸発残留物試験および総溶出物試験における残留率（3）

通し番号	物質	CAS登録番号	分子量	沸点(°C)	残留率 (%)			
					自然対流方式		強制送風方式	
					蒸発残留物試験	総溶出物試験	蒸発残留物試験	総溶出物試験
571	N, N'-ビス (サリチリデン) - 1, 2 - プロパンジアミン	94-91-7	282	-	88	91	85	89
412	リンゴ酸	6915-15-7	139	-	89	>95	89	>95
70	安息香酸及びジエチレングリコールからなるジエステル	120-55-8	314	225	91	92	>95	>95
622	12-ヒドロキシステアリン酸	106-14-9	300	180	93	94	>95	>95
381	オレイン酸	112-80-1	282	360	93	95	93	94
672	フタル酸ビス (2-ブトキシエチル)	117-83-9	366	270	94	91	87	>95
808	リシノール酸	141-22-0	298	-	94	93	>95	>95
342	1, 2-シクロヘキサンジカルボン酸ジイソノニル	166412-78-8	425	394	94	>95	>95	>95
563	1-パルミチルピリジニウムの塩化物	123-03-5	340	-	94	>95	>95	>95
490	テレフタル酸ビス (2-エチルヘキシル)	6422-86-2	391	383	>95	93	>95	>95
228	塩化コリン	67-48-1	140	-	>95	>95	>95	>95
261	クエン酸	77-92-9	192	143	>95	>95	>95	>95
381	エルカ酸	112-86-7	339	-	>95	>95	>95	>95
587	N, N-ビス (2-ヒドロキシエチル) - ラウリン酸アミド	120-40-1	287	-	>95	>95	>95	>95

発残留物試験において残留率が 5%未満の物質が多く存在した。このうち、沸点が 200°C以下の物質の残留物量は、蒸発残留物試験と総溶出物試験でほぼ同じであったが、沸点が 200~300°Cの物質では、半数の物質で総溶出物試験におけ

る残留率が増加し、溶出物量の一部を試験結果に反映させることができた。さらに、沸点が 300~400°Cの物質については、総溶出物試験ではいずれも 80%以上の残留率を示し、溶出物量の大部分を試験結果に反映させることができた。

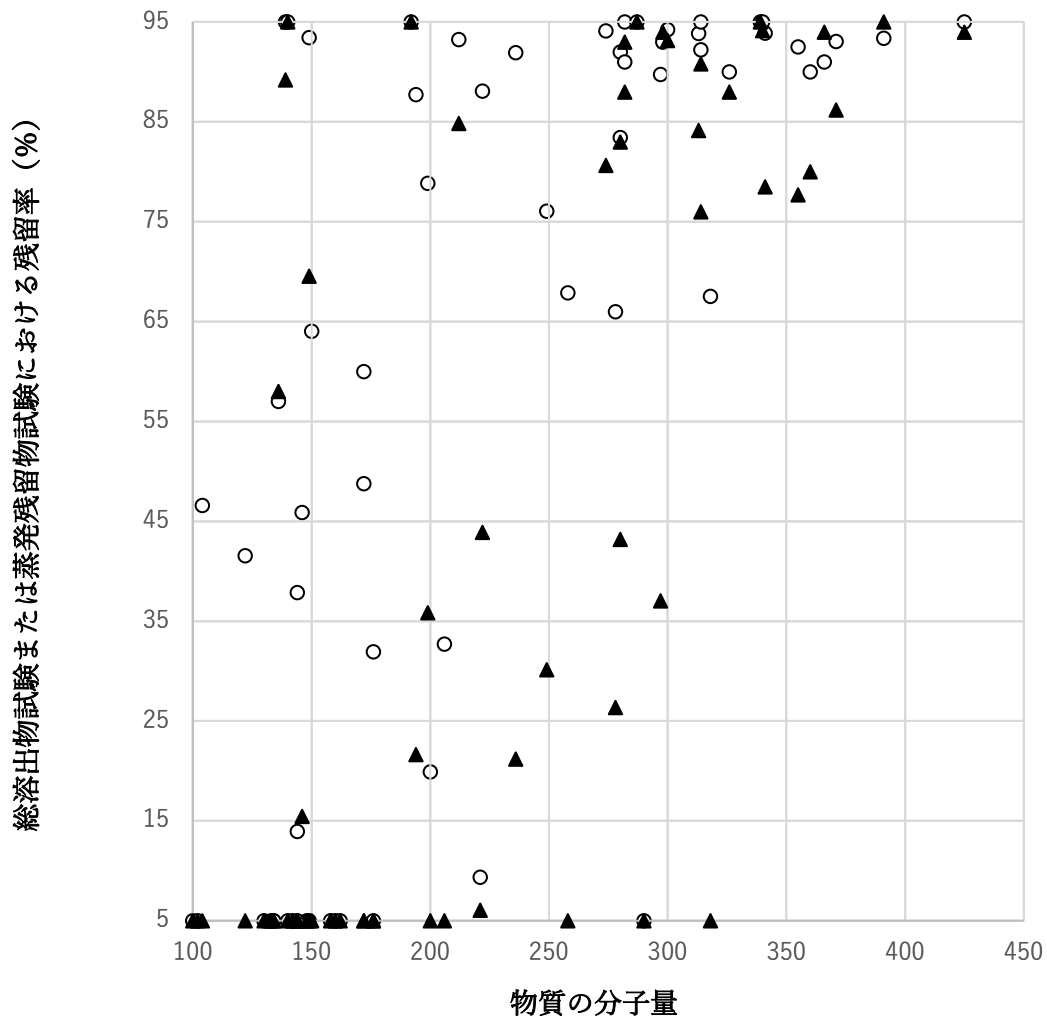


図1 物質の分子量とその残留率の関係
○：総溶出物試験、▲：蒸発残留物試験

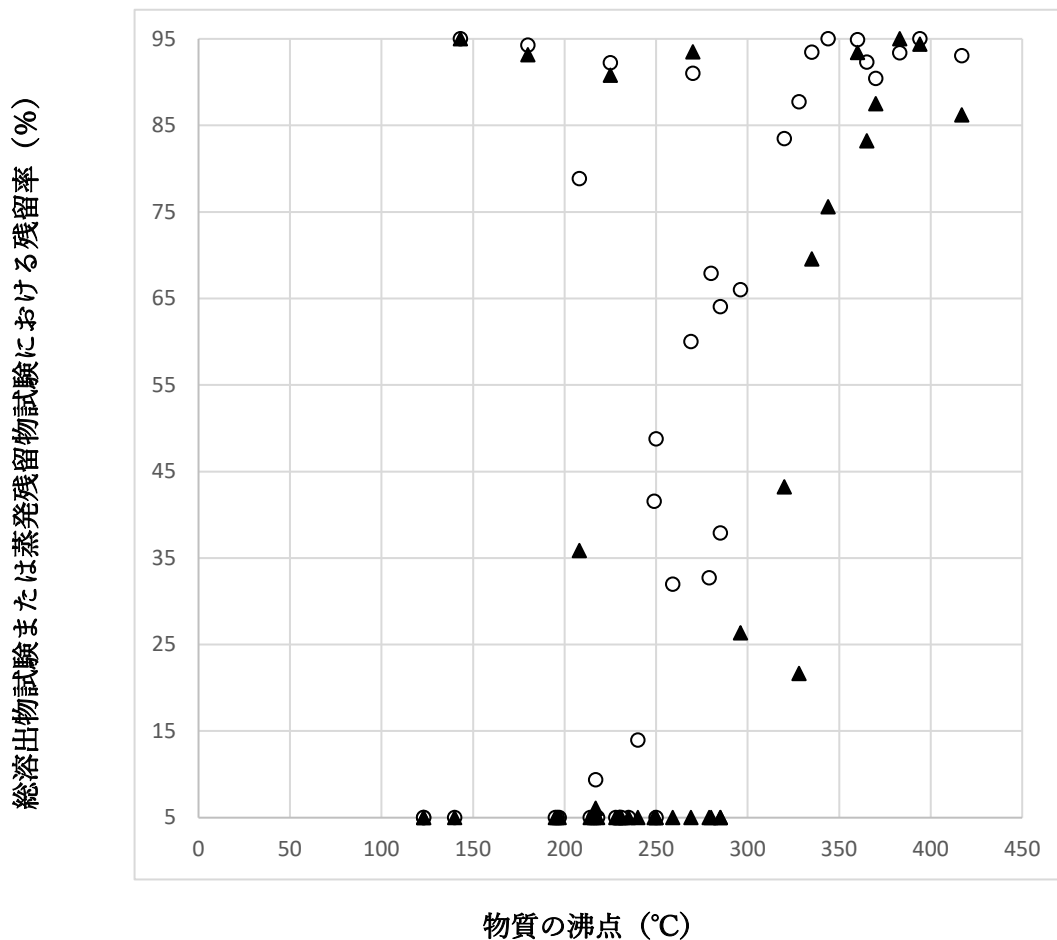


図2 物質の沸点とその残留率の比較
○：総溶出物試験、▲：蒸発残留物試験

2. 指標物質による乾燥操作の平準化

1) 指標物質の選定

これまでの研究により、蒸発残留物試験では、各試験所で使用する容器の形状や乾燥器の送風方式の違いにより、一部の溶出物の残留物量に差が生じることが明らかとなっている^{5,6)}。総溶出物試験においても同様に、試験所間で残留物量に差が生じる可能性があることから、各試験所で得られる残留物量を同程度にするための方策を検討する必要がある。そこで、乾燥操作における溶出物の挙動を平準化するため、乾燥操作における残留物量の指標となる物質（指標物質）を用いて、乾燥操作における溶出物の挙動を一

定の範囲内に収めるための検証および調節を行うことを試みた。

指標物質は、乾燥操作により一部が揮散する物質であることが望ましいが、残留率が30～70%となる物質では残留物量が安定しないと予想されるため、指標物質として適さないと考えられた。一方で指標物質は、乾燥操作時における揮散の状況を明確に示すことが可能な物質でなければならない。そこで、総溶出物試験での残留率が70～90%程度となる物質のうち、蒸発残留物試験と総溶出物試験で最も残留率に差があった TetEG（蒸発残留物試験：22 および 33%、総溶出物試験：88 および 92%）を指標物質の候補とした。本物質はアセトンやメタノール等の

有機溶媒に溶解するため、簡易な操作で残留物が確認できることに加え、水に溶解するため洗浄が容易であり、容器に残留しないという利点がある。

2) 指標物質による乾燥操作条件の検証と調節

公的な衛生研究所など7試験所において、指標物質による乾燥操作条件を検証した。TetEGを指標物質として5試行の平均残留率と相対標準偏差を算出した。それぞれの目標値として、平均残留率は70~90%、相対標準偏差は15%以下と設定し、この範囲内であることを確認した。いずれかの目標値を満たさないときは、使用する容器の形状、乾燥器の種類、乾燥温度等の乾燥操作条件を調節後、両目標値を満たすまで同様の操作を繰り返した。各試験所における最終的な乾燥操作条件とその際の平均残留率および相対標準偏差を表2に示した。

7試験所のうち5試験所では、従来の乾燥操作条件で平均残留物量および併行精度の目標値を満たし、これらの試験所では従来の条件から変更する必要はなかった。この結果は、各試験所における乾燥操作時の揮散の程度が、アルミニウム箔の蓋の使用により平準化されていることを示唆している。一方、試験所3および5の2試験所では、従来の乾燥操作条件では残留率が目

標値を満たさなかったため、乾燥器の温度を105°Cから100°Cへ変更した。さらに、試験所5では目標値を満たすためにアルミニウム箔に開ける穴の数を1つに減らした。その結果、目標値を満たす乾燥操作条件を設定することができた。

指標物質を用いた乾燥操作条件の検証および調節は、試験所間の乾燥操作条件を平準化する方策として有用と考えられるが、今回指標物質として使用したTetEGは、溶媒として用いたアセトン除去後の秤量操作において、質量差 I_0 が9.0~11.0 mgの範囲内となるまで、複数回の加温を繰り返す必要があり、事前の調整に時間を要するといった問題が指摘された。そのため、最適な指標物質の探索を行うとともに、検証および調節の操作手順の見直しをする必要があった。

D. 結論

器具・容器包装からの溶出物を幅広く包括的に測定する手法として、蒸発残留物試験の乾燥操作時にアルミニウム箔の蓋を使用した総溶出物試験を考案し、蓋の効果を検証するとともに、各試験所で得られる残留物量を同程度にするための乾燥操作の平準化に関する検討を行った。

アルミニウム箔で蓋をすることにより、蒸発残留物試験では105°C 2時間の乾燥操作で完全

表2 各試験所における乾燥操作条件と指標物質の残留物量

試験所	容器 (容量)	乾燥器		残存率 (%)
		送風方式	設定温度	
1	ガラス製ビーカー (200 mL)	強制送風	105°C	83.0±3.3
2	ガラス製ビーカー (100 mL)	強制送風	105°C	80.6±5.1
3	ガラス製ビーカー (100 mL)	強制送風	100°C	83.7±7.3
4	ガラス製蒸発皿 (200 mL)	自然対流	105°C	77.5±2.8
5	ガラス製蒸発皿 (100 mL)	強制送風	100°C	76.2±6.2
6	ガラス製蒸発皿 (70 mL)	強制送風	105°C	78.7±7.5
7	ガラス製結晶皿 (100 mL)	自然対流	105°C	85.4±6.1

に揮散してしまい試験結果に反映されなかった物質のうち、約半数の物質では、残留させることが可能となり、試験結果に反映させることができた。また、分子量が150~300の物質のうち、約半数の物質で残留物量を向上させることができた。さらに、試験所間の乾燥操作による物質の揮散の程度を平準化する効果もあった。

さらに、各試験所で使用する容器の形状や乾燥器の送風方式の違いにより、一部の溶出物の残留物量に差が生じてしまうことから、各試験所で得られる残留物量を同程度にするための方策として、指標物質を用いて乾燥操作条件を検証および調節する方法を考案した。本試験法は、試験所間の乾燥操作条件を平準化する方策として有用と考えられた。

E. 参考文献

- 1) 厚生労働省告示第196号、食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件、令和2年4月28日
- 2) 河村葉子、器具・容器包装の規格基準とその試験法 (ISBN 4-8058-2663-0)、中央出版、

p32-40 (2006)

- 3) 公益社団法人日本薬学会、衛生試験法・注解2020 (ISBN 4-307-47049-0)、金原出版、p670-671 (2020)
- 4) 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・分担研究報告書、p 15-55 (2016)
- 5) 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・容器包装等に使用される化学物質に関する研究 総括・分担研究報告書、p 66-77 (2018)
- 6) 平成30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・容器包装等に使用される化学物質に関する研究 総括・分担研究報告書、p 13-21 (2019)
- 7) 消費者庁、食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件、消費者庁HP (https://www.caa.go.jp/policies/policy/standards_evaluation/appliance/positive_list_new)