乳首中のジブチルヒドロキシトルエンと そのミルクへの溶出^{*1}

(昭和 54 年 7 月 11 日受理)

福井 弥生^{*2} 馬場 二夫^{*2} 斎藤 穰^{*2}
大宮 季宏^{*2} 谷口 繁^{*2}

Contents of Dibutylhydroxytoluene in Rubber Nipple and Its Migration into Milk

(Hygienic Chemistry of Rubber Articles Used in Contact with Foods. VI)

Yayoi FUKUI*, Tsugio BABA*, Minoru SAITO*, Suehiro OMIYA*
and Sigeru TANIGUCHI*

(*Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences:
21 Tojyo-cho, Tennoji-ku, Osaka)

Artificial nipples are made from isoprene rubber, natural rubber or silicone rubber. Those made from isoprene rubber were found to contain dibutylhydroxytoluene (BHT), but the others were not.

The amount of BHT transferred from an isoprene rubber nipple to milk was trace~0.34 ppm. In repeated tests, the amount tended to decrease, and the maximum daily intake was determined to be 1/31.6~1/12.5 of ADI. This amount of BHT is not considered to affect the health of babies, but from a general food hygienic point of view, it is desired to reduce the daily intake as far as possible.

Accordingly, initial removal of BHT from nipples resulted in a marked decrease in the amount of BHT migrating into milk to a very low level that seemed reasonable.

(Received July 11, 1979)

はじめに

現在、母乳のみで育てられている乳児より、母乳と調製粉乳の併用あるいは調製粉乳のみで育てられている乳児が多い。これら乳児が使用する乳用乳首には、イソプレンゴム、天然ゴム、シリコンゴムを材質としたものがある。一般に、飲食物用器具などに使用するゴム製品は、プラスチックなど他の製品と比べて配合剤も多量に添加されており、それゆえ食品に移行する成分は質、量ともに多く、しかもその溶出パターンは複雑である。したがって、乳首中の種々の添加剤がミルクへ溶出し、その溶出量いかんによっては乳児の健康をそこなうおそれがあると考えられる。

本研究においては、乳首などに老化防止剤として添加されるジブチルヒドロキシトルエン（以下、BHT と略記）に関して以下の調査研究を行った。

- 1) 乳首中に含まれている BHT の実態調査
- 2) 乳首からミルクへの BHT の溶出量
- 3) 乳首の繰り返し使用にともなう BHT の溶出量の変化
- 4) 乳首中の BHT の除去法およびその効果
- 5) BHT 除去後の乳首の物性について

なお、ミルク中の BHT の定量法についても検討を行った。

実験方法

1. 試料および試薬

市販の乳首10種類を試料とした。また、本実験において使用した試薬は、特級または残留農薬試験用のものを用い、さらに溶媒に関しては、200倍濃縮液についてGC

^{*1} 飲食物用器具などに使用するゴム製品の衛生化学的研究（第6報）

^{*2} 大阪市立環境科学研究所：大阪市天王寺区東上町
21

Table 1. BHT in Nipple

No.	Material	Concentration of BHT (ppm)				
		<i>n</i>	Max.	Min.	Mean	S.D.
1	isoprene rubber	5	939	680	847	93
2	"	7	1090	824	973	96
3	"	4	1410	1110	1300	118
4	"	3	1030	787	913	100
5	natural rubber	2		ND		
6	"	2		ND		
7	silicone rubber	2		ND		
8	"	2		ND		
9	"	2		ND		
10	"	2		ND		

S.D., standard deviation

で妨害物質のないことを確認した。

2. 材質試験

細切した試料約 1g を精秤し、ベンゼン 30 ml を加えて、2 時間還流抽出し、冷後ろ過する。この抽出操作を繰り返し、ろ液を合わせ、ロータリーエバポレーターを用い、減圧濃縮した後、残留物を *n*-ヘキサンに溶解させ、GC 用試料とした。なお、BHT は昇華しやすいので濃縮操作は低温で行う必要がある。水浴の温度は 35° 以下に保ち、濃縮液が約 5 ml になったとき、水浴からはずし、室温で濃縮を続けた。以下、濃縮操作はすべてこの方法で行った。

3. 溶出試験

あらかじめ中性洗剤で洗浄し、5 分間煮沸処理した乳首 1 個にミルク（調製粉乳 13.5% 溶液）50 ml を加え、40° に保ちながら 30 分間浸出した。このミルクについて、BHT を定量した。

4. ミルク中の BHT の定量

Scheme 1 に示したように、浸出したミルクを 250 ml の分液漏斗にとり、50% トリクロル酢酸 5 ml を加え、振とうした後、エーテル・石油エーテル (1:1) 100 ml を加えて、10 分間はげしく振とうする。次に、これを 250 ml の共栓遠沈管に移し、2000 rpm で 5 分間遠心分離する。分離した液相を分液漏斗に移し、有機溶媒層を分取する。沈殿物および水層についてこの抽出操作を繰り返し、分取した有機溶媒層を合わせ、エーテル・石油エーテル (1:1) を飽和させた水、50 ml および 30 ml で 2 回洗い、これに無水硫酸ナトリウム約 30 g を加え脱水する。ついで溶媒を留去した後、*n*-ヘキサン 25 ml を加え再び留去する。残った油状物質を *n*-ヘキサン 50 ml にとかし、あらかじめ 5% 含水率に調製したフロリジル 25 g のカラムに通し、さらに *n*-ヘキサン 100 ml で BHT を溶離させる。溶離液を 1~5 ml に濃縮し、これを GC 用試料とした。なお、5% 含水フロリジルの調製

は、140° で 3 時間活性化させたフロリジルに冷後、水を加え 5~6 時間振とうした。

5. GC 条件

ガスクロマトグラフ：日電パリアン(株)製 GC, 1800 型

カラム：内径 3 mm, 長さ 2 m, ガラスカラム

充てん剤：2% OV-1 (クロモソルブ WAW-DMCS, 80~100 mesh)

カラム温度：120°

検出器および注入口温度：230°

検出器：FID

キャリアーガス流量：N₂ 40 ml/min

結果と考察

1. 材質試験

乳首中の BHT 含有量の測定結果を Table 1 に示した。市販乳首 10 種中、4 種から 680~1400 ppm の BHT が検出された。イソプレンゴムの乳首については、その

Fig. 1. Migrated amount of BHT in repeated test. BHT present (after test) (ppm)
No. 1: ○, 895; ●, 909; ◐, 711
No. 2: △, 1006; ▲, 1055

Table 2. Recovery of BHT in Milk

Milk (ml)	Initial BHT (μg)	BHT added (μg)	BHT found (μg)	Recovery (%)
50	0.86	1.03	1.86	97.1
		"	1.81	92.2
		"	1.73	84.5
"	"	5.15	5.02	80.8
		"	4.81	76.7
		"	4.76	75.7
"	"	10.3	9.44	83.3
		"	9.44	83.3
		"	9.28	81.7

Table 3. Migrated Amount of BHT under Various Conditions

Solvent	Condition	Migrated amount of BHT (ppm)	
		I	II
Water	40°C, 30 min.	ND.	ND.
<i>n</i> -Heptane	40°C, 30 min.	55	55
Milk	40°C, 30 min.	0.35	0.32

sample; No. 1

全例から BHT を検出したが、天然ゴム、シリコンゴムの乳首からは 1 例も検出されなかった。なお、その検出量については、かなりの差があるが、同一ロットのものでもばらつきがあった。これはゴムに BHT を添加したとき、必ずしも均一になっていないことによるものと考えられる。

2. ミルク中の BHT の回収実験

調製粉乳 6.75 g を 70~80° の温水に溶解させて 50 ml としたもの (13.5 w/v%) に、1.03, 5.15, 10.3 ppm の BHT メタノール標準溶液 1 ml をそれぞれ加え、実験方法 4 によって回収率を求めたところ、Table 2 に示したように 76~97% であった。本法によれば、かなり良好な回収率がえられることがわかったので、ミルク中の BHT の定量法は以下すべてこの方法によった。

3. 溶出試験

はじめに No. 1 の試料を用い、浸出溶媒を検討した。

周知のように、容器包装関係の法規で定められている溶出試験¹⁾においては、水、4%酢酸、*n*-ヘプタンなどが浸出溶媒として用いられている。これは実際に、容器包装材と接触する食品が多岐にわたること、また浸出溶媒として食品で均一なものを得られにくいことなどの理由から擬似溶媒として上記の溶媒が用いられる。そこで、水、*n*-ヘプタンおよびミルクで、使用実態に最も近い条

Table 4. Migrated Amount of BHT from Nipple to Milk

No.	Migrated amount of BHT (ppm)				
	<i>n</i>	Max.	Min.	Mean	S.D.
1	10	0.32	0.16	0.27	0.05
2	10	0.16	0.03	0.11	0.04
3	10	0.34	0.07	0.19	0.09
4	10	0.17	trace	0.04	0.04

件である 40°, 30 分間における BHT の溶出量を測定したところ、Table 3 に示したようにミルクとこれら擬似溶媒における溶出量は、はなはだしく相違し(水: 0 倍, *n*-ヘプタン: 100 倍) ミルクの擬似溶媒として水、あるいは *n*-ヘプタンは適当でないことがわかった。したがって、今回の溶出試験ではとりあえずミルクを浸出溶媒とした。

次に、材質試験において BHT を検出したイソブレンゴムの乳首について、ミルクへの溶出試験を行った。その結果を Table 4 に示したが、溶出試験結果も材質試験結果と同様にかなりのばらつきがみられた(こん跡 ~ 0.34 ppm)。また両者の間に相関関係はみられなかった。

4. 繰り返し溶出試験

実際に乳首を使用する際はこれを繰り返して使用する。その場合、BHT の溶出がどのようなパターンをとるかという問題がある。そこで、ミルクによる繰り返し溶出試験を行い、この問題を検討した。

その結果を Fig. 1 に示したが、○●印のように、徐々にではあるが減少していくもの、また△印のように 2~3 回目ピークをもって、その後減少の傾向にあるもの、▲印のように同じような溶出量を持続していくものなど、いろいろなパターンがみられた。また、材質中の BHT 含量が 700~900 ppm 程度のもの(○, ●, ▲印)の方が 1000 ppm 以上のもの(△, ▲印)よりもむしろその溶出量が多かった。このことは乳首からミルクへの

Fig. 2. Migrated amount of BHT to milk from the ethanol-boiled nipple BHT present (after test) (ppm)

○, 90; ●, 60

Scheme 1. Quantitative analysis of BHT in milk

Table 5. Calculated Maximam Intake of BHT

	Intake of milk/day	BHT present in milk	BHT from nipple	Total	BHT ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	Ratio to ADI
New-born infant 3.3 (kg)	90×7 630 (ml)	630×0.02 12.6 (μg)	$0.34 (\text{ppm}) \times 50 (\text{ml})$ $= 17.0 (\mu\text{g})$ 17.0×7 119 (μg)	131.6 (μg)	39.9	1/12.5
After four months 6.7 (kg)	210×5 1050 (ml)	1050×0.02 21 (μg)	17.0×5 85 (μg)	106.0 (μg)	15.8	1/31.6

溶出量について材質中の BHT の含有量以外に、ほかの因子も関与していることを示唆しており、今後、検討すべき問題であると考ええる。いずれにしても、乳首の繰り返し使用に伴い、BHT の溶出量が増加するものはなかった。

以上の結果より、乳児が実際に摂取する BHT の最大量を計算したのが Table 5 である。体重 3.3 kg の新生児に 1 回当たり 13.5% のミルク 90 ml を 1 日 7 回、また、体重 6.7 kg の生後 4 か月の乳児に 1 回当たり 210 ml のミルクを 1 日 5 回哺乳させた場合の摂取量を示した。なおその際、乳首からの BHT の溶出量は、実際の使用時における溶出とは異なるかもしれないが、先に述べた溶出試験の結果の最大のものをを用い、また、調製粉

乳からの BHT 量はこの実験に使用したミルクの BHT 含有量でそれを算出した。その結果、BHT の一日最大摂取量は新生児の場合、 $39.9 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 、生後 4 か月の乳児の場合、 $15.8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ でこれはそれぞれ ADI ($500 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)²⁾ の 1/12.5、1/31.6 になる。抵抗力の弱い新生児に ADI を基準として用いることが正当であるかどうかという問題があるが、PCB の場合、母乳で育てられている乳児の 40% は母乳を通じて ADI ($5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) 以上の PCB を摂取していながら、特に健康上異常は認められていない³⁾。PCB⁴⁾ と BHT⁵⁾ は生体内においてかなり似通った挙動をとり、しかも BHT の場合、摂取量は ADI の約 1/10 以下であることからその危険性は少ないものと思われる。

Table 6. Removal of BHT in Nipple

No.	Method		Removability of BHT (%)	Remarks
	Solvent	Condition		
A	Water	Boil, 30 min	17.8	Devitrificated and got back to original state after 12 hours. Elasticity was constant.
B	Water	Pressure cooker Boil, 10 min	24.7	Devitrificated and got back to original state after 24 hours. Elasticity was constant.
C	Water	Pressure cooker Boil, 30 min	30.6	"
D	Milk	Boil, 30 min	25.7	Devitrificated and got back to original state after 12 hours. Elasticity was constant.
E	Ethanol	Boil, 30 min	65.0	Devitrificated and got back to original state after 24 hours. Elasticity was constant.
F	Ethanol	Pressure cooker Boil, 10 min	27.2	"
G	Ethanol	Boil, 2 hours	88.7	"
H	Ethanol	Boil, 30 min	91.1	"
	Water	Pressure cooker Boil, 30 min		
I	Ethanol	Boil, 2 hours	91.4	"
	Water	Boil, 2 hours		
J	Ethanol	Boil, 2 hours	96.1	"
	Water	Pressure cooker Boil, 30 min		

Sample; No. 1 $n=2$

5. 乳首中の BHT の除去法およびその効果

食品衛生の立場からは、BHT の溶出量をさらに減少させることが望ましい。あらかじめ、乳首中の BHT を除去すれば、その溶出量も減少すると考えられるので、以下の実験を行った。

Table 6 に示した方法で、乳首中の BHT の除去法を検討した。これらの方法の一部は、まず一般家庭内で実行し得ることを想定して選んだものであるが、水あるいはミルクでは良好な除去率は得られなかった。ところが、エタノールを使用した H, I, J の方法によれば、90% 以上の除去率を得た。なお、エタノール処理した後、さらに水で処理したのは乳首中に残留するエタノールを除去するためである。この方法はエタノールを使用するため、一般家庭で行うことは適当でないが、出荷前にメーカーにおいてこのような処理を行うことは可能である。

I の方法で BHT を除去した乳首についてその効果を調べるため、ミルクで繰り返し溶出試験を行ったのが

Fig. 3. Tensile test of nipple

Fig. 4. Extension test of nipple

Fig. 2 である。Fig. 2 において、繰返し回数 1 の溶出量は BHT 除去前の溶出量であり、回数 2 以降は除去後の溶出量である。除去後の溶出量は除去前と比べて非常に低く、繰返し溶出試験においても常に低い値が得られた。

以上の結果、乳首から BHT をあらかじめ除去することはかなり有効であると考えられるが、老化防止剤として添加されている BHT を除去した乳首が、実際の使用に耐え得るかどうかという問題が残る。この問題を検討するため物性試験 (JIS, T 9106 の老化試験) を行った。

Fig. 3 は、引張強度に関する試験結果である。試料は No. 1 および No. 2 であるが、この結果より、BHT を除去したものとししないものの差はみられず、老化後の引張強度は両者共、同様に減少した。ここでいう老化とは、両者の試料を空気加熱法により $70 \pm 1^\circ$ で連続 72 時間促進老化させたものである。また、Fig. 4 に示したのび率の結果においても同様な結果を得た。なお、引張強度は試験片が切断するまでに耐えた最大荷重を平行部の原断面積で除したものである。これは、ゴムの強さを表すもので、最も広く使用されているものである。また、のび率は長さ L_0 のものが変形して、長さ L にな

り破壊したときの $(L-L_0) \times 100/L_0$ である。さらに、肉眼での観察においても BHT の除去による外観上の変化はみられなかった。したがって、この方法で BHT を除去した乳首は現実に十分使用に耐えうるものと思われる。

おわりに

ほ乳用乳首中、イソブレンゴムを材質とする乳首のみから BHT を検出したが、他のシリコンゴム、天然ゴムからは検出しなかった。イソブレンゴムの乳首からミルクへの BHT の溶出量はこん跡 ~ 0.34 ppm で、乳首を繰返し浸出した場合、その溶出量はおおむね減少の傾向にあった。この結果から、乳児が摂取する BHT 量を算出すると、その一日最大摂取量は、ADI の $1/31.6 \sim 1/12.5$ である。この量は乳児にとって必ずしも危険であるとは思われない。

しかしながら、食品衛生の立場からこれをさらに減少させることが望ましいので、エタノールを用いて乳首中の BHT を除去し、その効果を検討したところ、溶出量は激減し、また、BHT を除去した乳首そのものも十分に使用に耐え得るという結果を得た。

終わりにのぞみ、本研究の試料の収集に御尽力いただいた大阪市環境保健局食品衛生課の各位に深謝します。また、乳首の物性試験に種々御協力いただいた(財)化学製品検査協会関西事務所ゴム化成品技術課の方々に深く感謝します。なお、本研究の要旨は、日本食品衛生学会第 35 回学術講演会 (1978 年 5 月東京) において発表した。

文 献

- 1) 厚生省告示第 434 号 (昭和 41 年 10 月 4 日)。
厚生省告示第 178 号 (昭和 48 年 6 月 22 日)。
- 2) WHO: Technical Report Series No. 228 p. 45~49.
- 3) 林 路彰: 日本公衛誌. 20, 126~127 (1973)
- 4) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯清太郎, 塚元久雄: 福岡医誌. 62, 30~34 (1971)。
- 5) 高 伸 正, 加藤隆一, 大森義仁: 食衛誌. 10, 260~265 (1969)。