

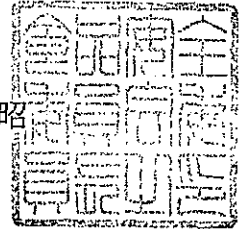
府食第523号
平成17年5月26日

厚生労働大臣

尾辻 秀久 殿

食品安全委員会

委員長 寺田 雅昭



厚生労働省発食安第0830001号に係る食品健康影響評価の
結果の通知について

平成16年8月30日付け厚生労働省発食安第0830001号をもって貴省から当委員会
に対して意見を求められたポリ乳酸を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包
装に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平
成15年法律第48号）第23条第2項の規程に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細をまとめたものは別添のとおりです。

記

ポリ乳酸を器具又は容器包装として使用する場合に考慮すべき物質及びその
ADIは、以下のとおりである。

ラクチド 0.1mg/kg体重/日

ただし、D-乳酸の含有率、添加剤等の組成及び使用条件で溶出性、分解性が大
きく変化する可能性があることから、適切な管理措置の設定が必要である。

ポリ乳酸を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装 に関する食品健康影響評価

1. はじめに

ポリ乳酸は、乳酸又はラクチド(乳酸の環状二量体)を重合させて得られる高分子である。国内では、野菜や果物等の袋や容器、惣菜や弁当用のトレー、菓子類の包装等に既に使用されており、また、ポリ乳酸を主成分とした医療用具も既に承認されている。

米国では、ポリ乳酸は米国食品医薬品庁(US-FDA)のFCN登録申請制度^aにより認可され、D-乳酸含量が^b 6%以下のもの及び 16%以下のものの2種類が食品と接触する材質の構成成分として使用が認められている。欧州連合(EU)では、容器包装に使用できるモノマーとして、乳酸を認めており、乳酸から製造されるポリ乳酸も容器包装に使用することができる¹⁾。

今回、ポリ乳酸に関し、国内において汎用される見込みがあるため、また、清涼飲料、乳飲料等の容器にも使用される可能性があることから、新たに個別規格を定めることを目的として食品健康影響評価を求められたものである。

(参考) 器具・容器包装に関する現行法令上の規格基準²⁾

		試験項目	試験条件及び規格基準	
一般規格	材質試験	カドミウム	100 ppm 以下	
		鉛	100 ppm 以下	
	溶出試験	重金属	4%酢酸 (60°C-30min) ³⁾	1 ppm 以下(Pbとして)
		KMnO ₄ 消費量	水 (60°C-30min) ³⁾	10 ppm 以下
個別規格	ポリ乳酸に関する個別規格はない			

注) 使用温度が 100°Cを超える場合は、95°C、30 分間

^a 国内での承認事例として、吸収性骨接合剤等数品目がある。

^b FCN登録申請制度:従来の間接食品添加物申請制度では、申請から認可までかなりの期間(2~4年)を要する。その解決策として制定された制度。間接添加物申請認可物質は規格に適合すれば誰でも製造販売できるのに対し、FCN登録物質は当該物質の申請者しか製造販売する権利はない。又、製造工程を変更した場合は改めてFCN登録申請を行う必要がある。

制度の概要は、ヒトの健康障害のリスクが低いと考えられる食品中への溶出量が少ない食品包装材料に対しては、予め物理化学的データ、毒性データ並びに安全性判断基準の具体的基準をガイドラインに規定し、申請者がそれに従ったデータを採取し安全性を確認した申請書をFDAに届出する。FDAが届出受理後120日以内に拒絶しなければ自動的に法的に有効となるというものである。この場合FDAは申請者にletterで通知するとともにHPに申請者、申請物質、使用条件等を公表している。(FCN登録一覧: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opa-fcn.html>)

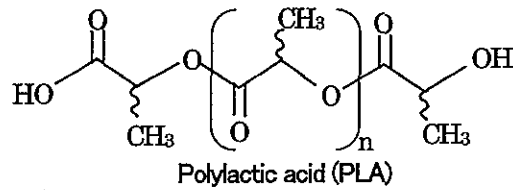
2. ポリ乳酸について

名称：ポリ乳酸、ポリラクチド

(Polylactic acid, Polylactide)

分子式：(C₃H₄O₂)_n

CAS No. :9051-89-2



2-1. ポリ乳酸の特性

(a) 特性：ポリ乳酸(PLA)は、乳酸、又はラクチドの縮重合により合成される熱可塑性樹脂である。高純度のL-乳酸(又はL-ラクチド)やD-乳酸(又はD-ラクチド)から合成されたポリ-L-乳酸(PLLA)、ポリ-D-乳酸(PDLA)は、立体的に規則性を有し、ガラス転移点 55-60°C、融点 180°C程度の半結晶性ポリマーとなるが、L-乳酸とD-乳酸との共重合体(PDLLA)の物理化学的性質は、高分子鎖中のL-、D-乳酸の比率に依存しており、DL-乳酸から合成したポリ-DL-乳酸(PDLLA)は結晶性を有していないと報告されている³⁾。

また、ポリスチレン(PS) やポリエチレンテレフタレート (PET) と同様の透明性、機械的特性を有しているが、耐衝撃性、柔軟性が低く、非晶質の状態では、耐熱性が低いとされている⁴⁾。

(b) 分解性：ポリ乳酸の加水分解については、*in vivo*及び*in vitro*において広く研究されており、分解速度がpH、温度、酵素等の生物学的活性、ポリマーの物理化学的性質(分子量、強度、純度など)などに依存することが知られている。食品擬似溶媒(水、4%酢酸、20%エタノール、オリーブ油)への浸漬試験(40°C・30 日間)の結果、表 3に示すように、ポリ乳酸フィルム(重量平均分子量(Mw)及び数平均分子量(Mn) が、20%エタノール溶液中で著しく低下する一方で、オリーブ油では、Mw、Mnとも変化は認められなかったことが報告されている⁵⁾。

表1. ポリ乳酸の基本物性(他樹脂との比較)

	PLLA	PET*	PS*
融点	約 180°C	約 264°C	約 80-100°C
ガラス転移点(Tg)	約 55-60°C	約 69°C	(軟化点)
比重	約 1.24	約 1.34	約 1.06

* 参照: 化学大事典(東京化学同人)

表2. 諸外国で使用又は開発中のポリ乳酸の基本特性例

	カーギル・ダウ製ポリマー	瀬田製ヨクホリマー
分子量	≥65,000 ダルトン	≥100,000 ダルトン
D-乳酸含有率	≤6 %	≤1 %
残留ラクチド	≤0.3 %	≤0.5 %
水分	250 ppm	500 ppm
相対粘度	≥25	≥28

表 3 食品擬似溶媒を用いた浸漬試験

食品擬似溶媒		0 日	30 日	平均低下率(%)
水	重量平均分子量(×10 ⁴)	145-146	119-120	17.9
	数平均分子量(×10 ⁴)	6.18-6.25	5.23-5.26	15.6
4%酢酸	重量平均分子量(×10 ⁴)	145-146	11.3	22.3
	数平均分子量(×10 ⁴)	6.18-6.25	4.77-4.80	23.0
20%エタノール	重量平均分子量(×10 ⁴)	145-146	7.63-7.88	46.7
	数平均分子量(×10 ⁴)	6.18-6.25	3.49-3.53	43.5
オリーブ油	重量平均分子量(×10 ⁴)	145-146	14.9-15.1	-3.1
	数平均分子量(×10 ⁴)	6.18-6.25	6.15-6.24	0.3

* 低下率=100(1-30 日経過後/試験開始前)

その他、リン酸緩衝液(37°C、pH7.4)を用いた分解性に関する報告では、120 日付近から急激に重量損失を示す

結果が示されている⁹⁾。また、ポリ乳酸の分解に対し、アルブミン、γ-グロブリン及びフィブリノーゲンの添加により、分解速度が加速されるとする報告がなされている⁷⁾。

(c) 溶解性:塩化メチレン、クロロホルム等の有機溶媒に溶解する⁹⁾。

2-2. 製造用原材料

① 乳酸(乳酸脱水縮合物も含む)

化学名:Lactic acid (2-hydroxy propionic acid)

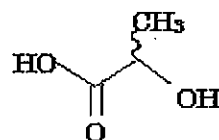
分子式:C₃H₆O₃

分子量:90.08

CAS No.:50-21-5

性状:無色～淡黄色澄明の粘性の液体(DL-乳酸の場合)

比重:1.20g/cm³



Lactic acid

② ラクチド

化学名:3,6-dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione

分子式:C₆H₈O₄

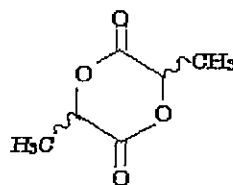
分子量:144.1

CAS No.:4511-42-6

融点:97.6-100.1°C

比重:1.25g/cm³

性状:白色粉末



Lactide

分解性:ラクチドは、酸性条件化で迅速に開環し、直鎖状乳酸2量体、更に乳酸まで分解され、その半減期は、水溶液(21°C)中で3時間、0.1mol塩酸水溶液(37°C)中で0.4時間であると報告されている⁹⁾。

2-3. 製造用添加剤

添加剤について

ポリ乳酸には、付与する物性により、米国、EU 各国で既に容器包装への使用が認められている物質、又は食品添加物に指定されている物質等が界面活性剤、滑剤、充填剤、安定剤として添加される場合がある。ポリ乳酸の製造で使用される頻度の高い添加剤としては、2-エチルヘキサン酸スズが挙げられる。

① 2-エチルヘキサン酸スズ(2+)塩

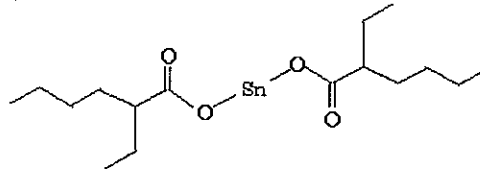
化学名:2-エチルヘキサン酸スズ(2+)塩 (Hexanoic acid, 2-ethyl, tin(2+) salt)

一般名: Stannous octoate

分子式: $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CO}_2]_2 \text{Sn}$

分子量: 405.11

CAS No.: 301-10-0



分解性: 2-エチルヘキサン酸スズは、胃酸中、37°C、10分で、100%化学量論的に、Sn(2+)及び2-エチルヘキサン酸に加水分解される¹⁰⁾。

用途: 重合触媒

2-4. 製造方法

ポリ乳酸の製造方法は、乳酸を縮重合する方法と、ラクチドを開環重合する方法とがある。前者では、分子量の大きいポリ乳酸が得られないことから、高分子量のポリ乳酸を得る場合にはラクチドの開環重合が用いられる^{11),12)}。

ラクチドの開環重合は次の工程で行われる。

- 乳酸を緩やかな条件下で脱水縮合し、低分子量のプレポリマーを生成する。
- 次に触媒を用いて、このプレポリマーを解重合し、ラクチド(環状二量体)を形成させ、蒸留により精製する。
- 精製したラクチドに対し、触媒(Sn, Ti, Zn, Al 等)を用いて開環重合し、ポリ乳酸とする。開環重合の触媒としては、2-エチルヘキサン酸スズが広く一般的に使用されている¹³⁾。

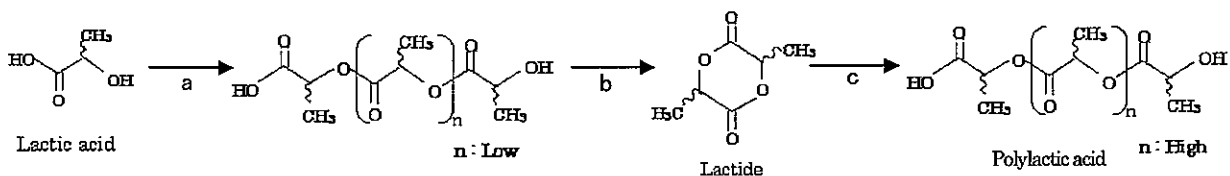


図. 2 ポリ乳酸の製造工程(概要)

a: Condensation ($-\text{H}_2\text{O}$), b: Catalytically depolymerization, c: Ring-opening polymerization

3. 溶出試験について

3-1. 食品擬似溶媒を用いた溶出試験

当該製造方法で製造したポリ乳酸を用いて、食品擬似溶媒(Miglyol812^c、3%酢酸、10%エタノール、50%エタノール:想定使用条件 沸騰水殺菌処理、及び高温充填又は 66°C以上での殺菌処理)に対する溶出試験が実施されている¹⁴⁾。その結果、アルコール性溶液で著しく乳酸の溶出が増大しており、また、D-乳酸を多く含む樹脂においては、更に溶出量が増大していた(表. 4参照)¹⁵⁾。

この結果については、D-乳酸の含有率により、ポリ乳酸の特性が変化する、すなわち、低D体ポリ乳酸に比べ、高D体ポリ乳酸では非晶質領域が多く、加水分解が生じやすいことが要因と考えられる¹³⁾。

^c Miglyol812: 中鎖脂肪酸(C6, C8) トリグリセリド

表 4 各種溶媒に対する樹脂成分の溶出試験結果(FDA ガイダンスに準拠)

[溶出物を NaOH で加水分解した後に測定]

食品擬似溶媒	想定食品	試験条件(想定される熱処理、長期貯蔵条件)	乳酸溶出濃度(μg/mL) (低 D 体樹脂: D-乳酸 ≤ 6%)	乳酸溶出濃度(μg/mL) (高 D 体樹脂: D-乳酸 ≤ 16%)
3%酢酸	水性及び酸性食品	100°C×2 時間→40°C×10 日 (沸騰水殺菌処理を考慮した条件) 50%エタノールのみ 71°C×2 時間→40°C×10 日	16.6	
10%エタノール	低濃度アルコール性食品		34.3	
50%エタノール	高濃度アルコール性食品		16.4	
Miglyol 812	脂肪性食品		2.5	
3%酢酸	水性及び酸性食品	66°C×2 時間→40°C×10 日 (最高充填温度が 100°C以下、66°C以上の滅菌処理を考慮した条件)	0.80	1.50
10%エタノール	低濃度アルコール性食品		1.5	1.16
50%エタノール	高濃度アルコール性食品		12.8	49.7
Miglyol 812	脂肪性食品		0.07	0.023

(* 数値は、サブリングポイント中の最大値を記載)

また、溶出物を水酸化ナトリウムで加水分解しないで、LC/MSIにより溶出物質の分析を実施した結果、主な溶出物は、乳酸、ラクチド及び乳酸オリゴマー($(C_3H_4O_2)_{n-2-21}$)であることが報告されている^{16),17)}。

3-2. 添加剤の溶出

ポリ乳酸の製造に際しては、触媒として一般的に 2-エチルヘキサン酸スズ が用いられているが、溶出試験で、全ての条件下において検出限界以下であったことが報告されている(表 5, 6参照)^{18),19)}。

表 5 触媒(2-エチルヘキサン酸スズ)の溶出試験(カーギル・ダウ製ポリマー)

食品擬似溶媒	条件(時間・期間及び温度)	2-エチルヘキサン酸スズ 溶出量	2-エチルヘキサン酸溶出量
3%酢酸	40°C×10 日	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
	70°C×2 時間	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
	85°C×30 分→40°C×4 時間	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
10%エタノール	40°C×10 日	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
	70°C×2 時間	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
	85°C×30 分→40°C×4 時間	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
イノオクタン	20°C×2 日	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}
	40°C×30 分	検出限界以下 ^{b)}	検出限界以下 ^{d)}

検出限界^{a)}

2-エチルヘキサン酸スズ a) 検出限界: 0.005 μg/mL

2-エチルヘキサン酸 d) 検出限界: 0.01 μg/mL

b) 検出限界: 0.02 μg/mL

e) 検出限界: 0.025 μg/mL

c) 検出限界: 0.02 μg/mL

f) 検出限界: 0.0085 μg/mL

表 6 触媒(2-エチルヘキサン酸スズ)の溶出試験(トヨタ製ポリマー)

食品擬似溶媒	条件(時間・期間及び温度)	スズ 溶出量	2-エチルヘキサン酸溶出量
水	40°C×10 日	検出限界以下	検出限界以下
	90°C×30 分	検出限界以下	検出限界以下
4%酢酸	40°C×10 日	検出限界以下	検出限界以下
	60°C×1 時間	検出限界以下	検出限界以下
20%エタノール	40°C×10 日	検出限界以下	検出限界以下
	60°C×1 時間	検出限界以下	検出限界以下
n-ヘプタン	40°C×10 日	検出限界以下	検出限界以下
	90°C×30 分	検出限界以下	検出限界以下

検出限界 スズ: 0.01 μg/mL

2-エチルヘキサン酸: 0.05 μg/mL

^{d)} 報告書では単位が mg/dm² であったが、これを 1cm² 当たり 2ml の溶媒を用いるとして μg/mL として換算した。

その他の添加剤についても、数種の条件で溶出試験^eが実施されているが、脂溶性の添加剤で、n-ヘプタン中90°C、30分浸漬条件下1ppm程度、及び40°C、10日間浸漬条件下0.06ppmの溶出が認められたのみで、他の条件ではいずれも検出限界以下であった。

3-3. 食品、添加物等の規格基準(昭和34年12月28日厚生省告示第370号)の試験結果

数種のサンプルについて、100°C以上での使用²⁰⁾及び100°C未満での使用^{21), 22)}を想定し、規格試験を実施した。いずれのサンプルにおいても現行の規格を満たすことが明らかになった(表7、8参照)。

表7 厚生省告示370号試験結果(使用温度が100°Cを超える場合)

	試験項目	試験条件	H-100	H-400	H-440	H-360	H-280	規格基準
材質試験	カドミウム		限度以下	限度以下	限度以下	限度以下	限度以下	100ppm以下
	鉛		限度以下	限度以下	限度以下	限度以下	限度以下	100ppm以下
溶出試験	重金属	4%酢酸(95°C-30分)	限度以下	限度以下	限度以下	限度以下	限度以下	1ppm以下(Pbとして)
	KMnO ₄ 消費量	水(95°C-30分)	3.0ppm	2.1ppm	3.2ppm	4.4ppm	8.5ppm	10ppm以下
参考	蒸発残留物	4%酢酸(95°C-30分)	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	7.0ppm	5ppm以下	30ppm以下
		水(95°C-30分)	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	
		20%エタノール(60°C-30分)	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	
		n-ヘプタン(25°C-60分)	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	5ppm以下	

表8 厚生省告示370号試験結果(使用温度が100°C未満場合)

	試験項目	試験条件	H-400	H-440	ラティ5000	規格基準
材質試験	カドミウム				1ppm以下	100ppm以下
	鉛				1ppm以下	100ppm以下
溶出試験	重金属	4%酢酸(60°C-30分)	1ppm以下	1ppm以下	1ppm以下	1ppm以下(Pbとして)
	KMnO ₄ 消費量	水(60°C-30分)	0.6ppm	0.8ppm	0.2ppm	10ppm以下
参考	蒸発残留物	4%酢酸(60°C-30分)	1ppm以下	1ppm以下	2.5ppm	30ppm以下
		水(60°C-30分)	1ppm以下	1ppm以下	1ppm以下	
		20%エタノール(60°C-30分)	2.0ppm	1ppm以下	1ppm以下	
		n-ヘプタン(25°C-60分)	1ppm以下	1ppm以下	3.0ppm	

3-4. 溶出試験のまとめ

ポリ乳酸の溶出試験等の結果、乳酸(乳酸オリゴマーを含む)及びラクチドが溶出し、その溶出濃度(乳酸換算)は、D-乳酸含有率が6%以下のポリ乳酸(低D体樹脂)では、10%エタノールを擬似溶媒として用いた場合、100°C、2時間、その後40°C、10日間保存で34.3ppm、D-乳酸含有率が16%以下のポリ乳酸(高D体樹脂)では、50%エタノールを擬似溶媒として用いた場合66°C、2時間、その後40°C、10日間保存で49.7ppmであった。

また、添加剤については、脂溶性の添加剤で、n-ヘプタン中90°C、30分という条件下において、1ppm程度の溶出、及び40°C、10日間という条件下で0.06ppmの溶出が認められた他は、いずれの条件においても溶出は確認されなかった。

^e 試験に使用したポリ乳酸は、低分子量、低粘度のものであり、使用されている添加剤が最も多く溶出する可能性があるグレードを用いている。試験条件は表6に記載されているものと同一条件である。

4. 毒性試験について

ポリ乳酸、また、製造用原材料であり、溶出試験で溶出が認められた乳酸、ラクチドの毒性試験に関する知見を整理した。

ポリ乳酸に使用される添加剤は、食品添加物として使用されているもの、又は諸外国等で安全性評価がなされていること、また今回行った3物質の溶出試験の結果、ポリ乳酸からの溶出は限られた条件下において、わずかに認められた、若しくは検出限界以下であったことから、溶出物によるヒトへの健康影響の可能性は低いものと判断された。ただし、2-エチルヘキサン酸スズについては、ポリ乳酸の製造に一般的に使用される点に着目し、毒性試験に関する知見を記載した。

4-1. ポリ乳酸

吸収・分布・代謝及び排泄

ポリ乳酸の生体内での分解は、酵素的または非酵素的な加水分解と代謝の2段階で生じることが報告されている^{12), 23), 24)}。加水分解されることで高分子鎖が切断され乳酸となり、最終的に多くの臓器で二酸化炭素と水に代謝される。

毒性試験

①急性毒性

(a) CrI:CD系ラット(雌雄各5匹)を用い、強制経口投与(2000 mg/kg体重)によるポリ乳酸の急性毒性試験が実施されているが、観察期間(14日)中、死亡例もなく、投与に起因する病理所見も認められなかった(LD₅₀>2000 mg/kg体重)²⁵⁾。

(b) CrI:CDBR系ラット(雌雄各5匹)を用い、強制経口投与(5000 mg/kg体重)によるポリ乳酸(D-乳酸含量:4-6%)の急性毒性試験が実施されているが、観察期間中、死亡例もなく、投与に起因する病理所見も認められなかった(LD₅₀>5000 mg/kg体重)²⁶⁾。

(c) Hra:SPF系ウサギ(雌雄各5匹)を用い、経皮投与(2000 mg/kg体重)によるポリ乳酸(D-乳酸含量:4-6%)の急性毒性試験が実施されているが、観察期間中、死亡例もなく、軽い紅斑反応が認められたものの、病理検査では、投与に起因する病変等も認められなかった(LD₅₀>2000 mg/kg体重)²⁷⁾。

②遺伝毒性

ポリ乳酸の懸濁液を用い復帰突然変異試験²⁸⁾を実施した結果、陰性であった(表9参照)。

表9 ポリ乳酸の遺伝毒性結果試験の結果

試験	試験対象	被検物質濃度	結果
復帰突然変異原試験	<i>Styphimurium</i> (TA98,TA100,TA1535,TA1537) <i>E.coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate (±S9 mix) (懸濁液: DMSO)	陰性

③細胞毒性^f

ポリ乳酸懸濁液を用いた細胞毒性試験²⁹⁾では、試験に用いた濃度の範囲内では細胞毒性は認められていない(表. 10参照)。

表. 10 ポリ乳酸の細胞毒性試験の結果

試験	試験対象	被検物質濃度	結果
細胞毒性試験	チャイニーズハムスター肺由来V79細胞	0.025, 0.05, 0.075, 0.1 g/ml	コロニー形成阻害なし

④局所刺激性

(a)眼一次刺激性試験

Hra:SPF系ウサギ(雌雄各3匹)を用い、眼刺激性試験(0.05 g適用、非洗眼)の結果は以下のとおりであった。眼障害の評価はDraize法に準じて実施した。その結果、軽度から中等度の結膜刺激性が認められたが、投与後72時間後には正常に戻っていた³⁰⁾。

(b)皮膚一次刺激性試験

Hra:SPF系ウサギ(雌雄各3匹)を用い、皮膚刺激性試験(0.5 g、4時間接触)の結果は以下のとおりであった。皮膚刺激性の評価はDraize法に準じて実施した。その結果、軽度の紅斑反応が認められたが、投与後48時間後には消失していた³¹⁾。

⑤皮膚感作性

CrI(HA)BR系モルモット(雄10匹)を用い、皮膚感作性試験(閉塞パッチ法:感作、惹起時に0.2 gを貼付)の結果は以下のとおりであった。感作は週1回6時間閉塞貼付を3回行い、最終感作の2週間後に6時間閉塞貼付により惹起させた。感作、惹起の評価はBuehlerの評点法に準じて実施した。その結果、感作及び惹起を通じて皮膚反応は観察されなかった³²⁾。

4-2. 製造用原料

① 乳酸(乳酸脱水縮合物も含む)

乳酸の現状について

乳酸について、FAO/WHO合同食品添加物専門会議(JECFA)で既に評価を実施しており、「ヒトにおける通常の摂取後の代謝経路は十分に確立されており、乳酸は炭水化物の代謝の重要な中間体である。しかし、最大耐量の確定は出来ていない。生後3ヶ月の乳児では、少量のDL-乳酸又はD-乳酸を利用することが困難であるといういくつかの証拠がある。」とコメントした上で、「乳酸のADIは設定する必要はない。しかし、乳児用の食品にD-乳酸、DL-乳酸を使用すべきではない。」と判断している³³⁾。

^f 本試験は、「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学試験のガイドラインについて(厚生省)」にある細胞毒性試験に準じて実施されたものであり、材料からの溶出物の影響と材料界面上の細胞反応とを重ねて評価する方法である。この結果は、補足する知見として毒性評価の参考にするものである。

U.S.-FDAにおいては、21CFR 184.1061 において、GRAS (GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE) 物質(乳児用食品を除く)として掲載されている³⁴⁾。

欧州共同体食品科学委員会(EC-SCF)においては、JECFAにより設定された“ADIを設定する必要はない”に同意するとともに、乳児用の食品に対しては、L-乳酸のみを用いるべきであるとしている³⁵⁾。

国内においては、既に食品添加物³⁶⁾、医薬品製剤原料³⁷⁾としての使用が認められている。

急性毒性

ラットを用いた乳酸ナトリウムの腹腔内投与、乳酸の経口投与試験において、LD₅₀は2000、3730 mg/kg体重と報告されている。ヒトにおいては、33%乳酸(100ml)の十二指腸内投与で12時間以内に死亡した例がある。また、成人の最大耐量は1530mg/kg体重とする報告がある^{33-a),b),c),d)}。

亜急性毒性

(ラット)

(a) ラットを用いた乳酸ナトリウムの14-16日間投与(乳酸として1000, 2000 mg/kg体重)試験の結果、生体への蓄積は認められなかった^{33-b)}。

(b) ラットを用いた乳酸の90日間経口投与(10%乳酸(4ml)を含む飼料(20g))試験の結果は以下の通りであった。剖検では異常は見られず、更に臓器重量にも変化は認められなかった。血中のCO₂濃度が僅かに変化していた^{33-a)}。

(c) SDラット(雌)を用いた乳酸の13週間経皮投与(886mg/kg体重)試験の結果は以下の通りであった。一般所見では、僅かな皮膚の炎症を除き、大きな変化は認められなかった。血液学的検査では、血中尿素窒素の増加が認められた。臓器重量では、脳の絶対重量と腎の相対重量が増加した。剖検および組織学的検査では変化は認められなかった。著者らは、試験に用いた製剤は累積毒性の観点では安全であると結論つけている^{33-a)}。

(d) Fischer344ラット(雌雄各群10匹)を用いた乳酸カルシウムの13週間飲水投与(0.3, 0.6, 1.25, 2.5, 5%)、及び13週間経口投与(飼料中に5, 10, 20, 30%混入)試験の結果は以下の通りであった。一般所見においては、飲水投与、経口投与で異常等は認められなかった。体重増加では、飲水投与の5%及び1.25%投与群の雄で軽度の体重増加抑制が認められ、経口投与の20%投与群の雄及び30%投与群の雌雄で体重増加抑制が認められた。血液生化学的検査では、飲水投与の0.6%以上の投与群で軽度ではあるが、BUN、クレアチニンの増加、GOT,LDHの増加が認められた。病理組織学的検査では、飲水投与の5%投与群の雌雄で幽門部上皮の萎縮、雄で局所的な壊死とびらんが認められた^{33-c)}。

(ハムスター)

シリアンハムスター(各群雌7匹雄8匹)を用いた乳酸の14週間経口投与(混餌、飲水80%乳酸を0.5cc添加)試験の結果、成長速度及びびう蝕性傷害の発生率に差異は認められなかった^{33-d)}。

(イヌ)

イヌを用いた乳酸の 2.5 ヶ月間(42 回)投与(600-1600 mg/kg体重)試験の結果、病状等は認められていない^{33-e)}。

(乳幼児の事例)

(a) 新生児 40 人にDL-乳酸を 0.4%含有する市販の食事を与えたが、生後2週間から4週間の体重増加速度に影響は認められなかった^{33-f)}。

(b) 生後3ヶ月の乳児に、牛乳中のカゼインを極微細に凝固させ易消化性にする目的でDL-乳酸を添加した酸性乳(乳酸濃度:0.4~0.5%)を 10 日間与えた結果、尿中の酸性度が上昇し、尿pH の低下が観察された。高濃度の牛乳を含む酸性乳(牛乳 80%)を摂取した乳児は、その約 33%がアシドーシスとなった。臨床的には、体重増加割合の低下、食事摂取量の低下であった^{33-g)}

(c) 乳児に対し、DL-乳酸を 0.35%含有する組成物を 10 日間与えた結果、投与前と比較し、L-乳酸の尿中排泄が3倍、総乳酸(D-乳酸及びL-乳酸)の排泄が12倍増加していた。食事から乳酸を除いたところ、尿中の乳酸量は正常に回復した。試験に用いた乳酸がL-乳酸(80%)とD-乳酸(20%)の混合物であったことから、乳児でD-乳酸を代謝することはL-乳酸よりも難しいと考えられた。乳酸のいずれかの構造のものが尿中で増加したということは、乳児は食事中に 0.35%含有される乳酸を代謝できていないということを示すものである。乳酸を耐容できなかった多くの乳児では、体重の減少、下痢、血中の炭酸塩の減少、尿中への有機酸の増加が生じた。それらの影響は、食事中から乳酸を除くことで回復するものであった^{33-h)}。

発がん性

(a) Fischer344 ラット(各群雌 5 匹雄 3~4匹)を用いた乳酸カルシウムの 2 年間飲水投与(2.5%、5%)試験の結果は以下の通りであった。試験期間中に死亡したラット及び試験後にと殺したラットの剖検、組織学的検査において、乳酸カルシウムの影響は認められず、いかなる臓器、組織においても用量相関のある腫瘍発生は認められなかった^{38-e)}。

(b) ウサギ(雌)を用いた乳酸の 5 ヶ月及び 13 ヶ月飲水投与(0.1-0.2 g/kg体重(5 ヶ月)、0.1-0.7g/kg体重(13 ヶ月))試験の結果、いずれの試験においても腫瘍は認められなかった^{38-f)}。

発生毒性/催奇形性

CD-1 マウス(12 匹)を用いた乳酸の 10 日間強制経口投与(妊娠期 6-15 日、570mg/kg体重/日) 試験の結果、母体毒性、胎児毒性のいずれも認められなかった^{38-g)}。

遺伝毒性

復帰突然変異試験及び染色体異常試験の結果、いずれも陰性であった(表. 11 参照)^{38-h)}。

表. 11 乳酸の遺伝毒性試験の結果

試験		試験対象	被検物質濃度	結果
in vitro	復帰変異原性試験	<i>Styphimurium</i> (TA97, TA98, TA100, TA104)	0.5, 1.0, 2.0 μ l 乳酸(plate (±S9 mix))	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣K1細胞	8-35mM (±S9 mix) 乳酸	陰性

②ラクトド

急性毒性

(a) CrI:CDBR系ラット(雌雄各5匹)を用い、強制経口投与(5000 mg/kg 体重)による急性毒性試験の結果は以下の通りであった。

観察期間中、2例で死亡が確認された。一般所見として、活動の低下、眼周囲の汚れ、皮膚蒼白、呼吸器音増大、上腹部膨満、軟便が認められた。病理検査では、死亡ラット2例中雄1例に腺胃粘膜に暗褐色領域が多数認められたが、偶発的なものと判断された。他のラットでも、投与に起因する病変等は認められなかった(LD₅₀>5000 mg/kg 体重)³⁹⁾。

(b) Hra:SPF系ウサギ(雌雄各5匹)を用い、経皮投与(2000 mg/kg 体重、D-乳酸含量:4-6%)による急性毒性試験の結果は以下の通りであった。観察期間中、死亡例もなく、軽い紅斑及び浮腫並びに軽度の弛緩、落屑が認められた。雌1例で腎皮質表面に嚢胞が認められたが、偶発的なものと判断している。その他、投与に起因する病変等も認められなかった(LD₅₀>2000 mg/kg 体重)⁴⁰⁾。

亜急性毒性⁴¹⁾

(a) イヌを用いた2週間亜急性毒性試験

ビーグル犬(各群雌雄各2匹)を用いた2週間経口投与(0, 10, 100, 400, 1000, 2500 mg/kg 体重/日、D-乳酸含量:4-6%)試験の結果は以下の通りであった。一般的所見では、2500mg/kg 体重投与群の雌雄で嘔吐、雌で下痢、1000mg/kg 体重投与群の雌雄で嘔吐、100mg/kg 体重投与群の雄1例で下痢が認められた。体重では、2500mg/kg 体重投与群の雌雄、1000mg/kg 体重投与群の雄で投与初日と比較して平均体重が減少していた。臓器重量では、1000mg/kg 体重以上の投与群で胸腺、脾臓の絶対的及び相対的重量の減少が認められている。病理学的検査では、400mg/kg 体重及び2500mg/kg 体重投与群の雌雄で、炎症による重度の傷害(食道、胃、小腸の暗色化、胃潰瘍)や胸腺、脾臓の萎縮、脾臓の暗色化が認められた。組織病理学的検査では、2500mg/kg 体重投与群の雌雄で、胃潰瘍、胃粘膜からの出血、小腸のうっ血、尿細管の変性、胸腺、脾臓の萎縮、雄で胃のびらん、雌で食道のびらん、肝細胞グリコーゲン及び膵腺房細胞のチモーゲン枯渇、1000mg/kg 体重投与群の雄で胸腺、脾臓の萎縮、雌で食道の潰瘍、400mg/kg 体重投与群の雌雄で胃粘膜からの出血、雄で小腸のうっ血が認められている。

その他、血液学的検査、生化学的検査では、投与による影響は認められなかった。

(b) イヌを用いた13週間亜急性毒性試験

ビーグル犬(各群雌雄各4匹)を用いた13週間経口投与(0, 4, 20, 100 mg/kg 体重/日、D-乳酸含量:4-6%)試験の結果

果は以下の通りであった。一般的所見、臓器重量、血液学的検査、生化学的検査等では投与による影響は認められなかった。病理学的検査では、100mg/kg 体重投与群の雌雄で胃の病巣が認められた。組織病理学的検査では、100mg/kg 体重投与群で胃粘膜の潰瘍形成が認められている。その他、リンパ節、肝臓での出血、膀胱の病巣等が観察されたが、いずれも偶発的なものと判断されている。

* 本試験結果に基づくNOAELは、1996年での報告では100mg/kg体重での胃粘膜の潰瘍形成を毒性と見なし、20mg/kg体重/dayとしていたが、同試験結果が1999年に*Food and Chemical Toxicology*⁴²⁾に掲載された際には、胃粘膜の炎症は、雌雄ともに局所的であり、雌雄各4例中1例と少ないことから、カプセルによる経口投与により、ラクチドと高濃度で接触したことにより生じた所見であると判断し、NOAELを100mg/kg体重/dayとしている。

遺伝毒性

*in vitro*での復帰変異原性試験⁴³⁾、前進突然変異試験⁴⁴⁾、*in vivo*での小核試験⁴⁵⁾の結果、いずれも陰性であった。

試験には、D-乳酸含量が4-6%のラクチドが使用されている(表. 12参照)。

表. 12 ラクチドの遺伝毒性試験の結果

試験		試験対象	被検物質濃度	結果
<i>in vitro</i>	復帰変異原性試験	<i>Styphimurium</i> (TA98,TA100,TA1535,TA1537) <i>E.coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	100, 333, 1000, 3300, 5000 µg/plate (±S9 mix)	陰性
	前進突然変異試験	L5178Y TK+/- マウスリンパ腫	1回目:1000, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 µg/mL 2回目: 500, 1000, 2000, 2500, 3000 µg/mL(±S9 mix)	陰性
<i>in vivo</i>	マウス骨髄小核試験	Crl:CD-1BR 系マウス(雌雄各群5匹) 投与方法: 単回強制経口投与 投与媒体: コーン油	837.5, 1675, 3350 [*] mg/kg	陰性

*) 3350mg/kg 投与群の雌で多染性赤血球数と正染性赤血球との比率が溶媒対照群と比較して有意な減少を示したが、ラクチドの細胞毒性によるものと判断されている。

局所刺激性

(a)眼一次刺激性試験⁴⁶⁾

Hra:SPF 系ウサギ(雄1匹)を用い、眼刺激性試験(0.05 g 適用、非洗眼の結果は以下の通りである。眼障害の評価は Draize 法に準じて実施している。その結果、角膜及び虹彩障害並びに強度の結膜刺激性が認められ、刺激性は適用後21日後にも認められている。

(b)皮膚一次刺激性試験⁴⁷⁾

Hra:SPF 系ウサギ(雌雄各3匹)を用い、皮膚刺激性試験(0.5 g、4時間接触)の結果は以下の通りである。皮膚刺激性の評価は Draize 法に準じて実施している。その結果、高度の紅斑、中程度の浮腫反応が認められている。更に、皮下出血、白色化、落屑、剥離、壊死の疑いのある部分、癬痕の疑いのある組織も観察されている。観察された刺激は投与後21日後にはほぼ消失したとされている。

皮膚感作性⁴⁸⁾

CrI(HA)BR系モルモット(雄10匹)を用い、皮膚感作性試験(閉塞パッチ法:感作、惹起時に0.2gを貼付)は以下の通りである。感作は週1回6時間閉塞貼付を3回行い、最終感作の2週間後に6時間閉塞貼付により惹起させている。感作、惹起の評価はBuehlerの評点法に準じて実施している。その結果、感作及び惹起を通じて皮膚反応は観察されなかったとされている。

4-2. 製造用添加剤

2-エチルヘキサン酸スズ(2+)塩

2-エチルヘキサン酸スズは胃酸中、摂氏37度10分間以内で100%化学量論的に、Sn(2+)及び2-エチルヘキサン酸に加水分解⁴⁹⁾されることが報告されていることから、毒性に関しては、それぞれの知見を整理した。

① 2-エチルヘキサン酸

2-エチルヘキサン酸については、米国環境保護庁(US-EPA)⁵⁰⁾、独連邦リスク評価研究所(BfR)⁵¹⁾及びEC-SCF⁵²⁾で評価(分類)が実施されているが、ADIの設定は実施されていない、若しくは、データが不十分で評価ができないとしている。

JECFA⁵³⁾では、2-エチルヘキサン酸の評価は実施していないが、生体内で2-エチルヘキサン酸に代謝される2-エチルヘキサノールについては、ADIとして0.5mg/kg体重/dayを設定している。

代謝・排泄⁵⁴⁾

Fischer344ラット(雌投与群4匹)に¹⁴C標識2-エチルヘキサン酸を静脈内投与、単回経口投与及び15日間反復経口投与を実施し、尿中、糞中への回収率を測定した。総投与量に対する回収量の比率は、静脈内投与(1mg/kg)では、尿中が約66%、糞中が約4%、単回経口投与(0.1, 1g/kg)では、尿中が79~82%、糞中が6.7~12.5%、15日間反復経口投与(0.1g/kg:最終日のみ¹⁴C標識2-エチルヘキサン酸投与)では、尿中が約61%、糞中が約15%であった。

尿中の主な代謝物はグルクロン抱合、チトクロムP-450が関与する酸化及びβ酸化により生成する2-エチルヘキサン酸、2-エチルアジピン酸、2-エチル-5-ヒドロキシヘキサン酸、2-エチル-6-ヒドロキシヘキサン酸、エチルケトヘキサン酸のグルクロン酸抱合体であった。

急性毒性⁵⁵⁾

ラット(各群4匹)を用いた強制経口投与(0, 90, 722, 1445, 2890mg/kg体重/日)による急性毒性試験の結果は以下の通りであった。2890mg/kg体重投与群では、全てのラットが一日で死亡した。その他の投与群で、投与1日後で体重減少が認められたが、7日後には全て回復していた。生存していたラットの絶対的及び相対的肝臓重量は、対照群と比較して差は認められなかった。LD₅₀は、2043mg/kg体重と算出された。