

# 大切な内容物を液漏れ、コンタミネーションから防ぐ - 各社培地用ボトルの4つの性能比較 -

## Nalgene PET および PETG 培地ボトル

### 概要

製品の品質を維持するためには、ボトルとキャップを組み合わせることによって、内容物の液漏れ、コンタミネーションおよび貴重なサンプルを失うことが無いようにすることが重要です。さらに、重要なアプリケーションに使用する培地ボトルを選択する場合、特に凍結温度を下回る場合には、キャップの密封性、品質および実験台からの偶発的な落下時の耐久性を考慮することも重要となります。本試験では、ボトルの性能を評価するために、異なるサイズのポリエチレンテレフタレート (PET) 製およびグリコール変性ポリエチレンテレフタレート (PETG) 製の Thermo Scientific™ Nalgene™ 培地ボトルを使用して、ボトルの4つの主要な機能性に関する評価を行いました。また、お客様が製品を選ぶ際に役立つように、弊社以外の7種類の市販培地ボトルと結果を比較し、最良の総合性能を有するボトルを決定しました。今回評価した他社ブランドのボトルの多くは、実施した試験の1つまたはいくつかで良好な成績を示しましたが、評価したすべてのカテゴリーで優れた成績を示したのは Nalgene 培地ボトルのみであり、Nalgene 培地ボトルが優れた培地ボトルであることが明らかとなりました。

### はじめに

大切なサンプルの品質を保持するためには、溶出またはコンタミネーションから守ることができる適切な容器、および密閉性を維持できる適切なキャップシステムを選択することが必要です。PET樹脂とPETG樹脂は、物理的および化学的性質が優れているため、生物学的アプリケーションへの使用に適しています。HDPEキャップ付きのNalgene PETボトルとPETGボトルは、USP Class VI、USP <661> および ISO 10993-3を含む最新の生物学的試験基準に適合しており、また、医薬



品研究および食品グレードの基準を満たす高品質のバージン樹脂で製造されているため、ボトル内容物を安全に保つことができます。Nalgene 培地ボトルは、樹脂を慎重に選択することで、添加物を最小限に抑え、樹脂からの溶出が生じる可能性を低減させています。また、Nalgene 培地ボトルのプラスチックには、可塑剤、離型剤は一切添加されておらず、無機不純物の指標である総灰分量が、他社の容器に使用されているプラスチックよりも低くなっています。さらに、HDPEキャップには、摩耗、腐食、亀裂、漏出またはコンタミネーションの原因となり得るライナーは使用していません。Nalgene ボトルとキャップは、組み合わせて使用することで、独自のバルブシールと強力なセミバットレスねじが良好に機能し、液漏れ防止保証\*をできるように、製造および検査されています。

キャップの十分な密封性を確保するためには、装着トルクおよび開栓トルクを測定し、ねじ式キャップとボトルの適切な噛み



合わせを確認することが必要です。装着トルクは、容器にキャップを装着させる回転力であり、ボトルとキャップの密封性に影響します。時間経過とともに、応力緩和により装着トルクが低下し、キャップがボトルのネック部分のねじ山から「後退」し始める可能性があります。開栓トルク、すなわちバックオフトルクは、キャップを開ける、緩める、または取り外すために必要な回転力です。バックオフトルクは、時間および輸送、振動、温度サイクルまたは圧力などの環境変動の影響を受けます。装着トルクとバックオフトルクの関係を示すのがトルク低下です。トルク低下は、ボトルとキャップの組み合わせによる密封性に影響します。適切にデザインされ装着されたキャップは、ボトルが使用時に開封されるまで十分な密封力を維持します。

生物学的物質は室温では感受性が高く分解する場合がありますため、多くの高価な物質は非常に低い温度で保存されています。溶液を凍結させることができれば、バッチ処理、有効期間の延長、微生物増殖の抑制、物質の安定した輸送や保管のオプションなど、製造において多くの利点を得ることができ、さらに製品品質の多くの側面に関連するコストを削減できる可能性があります。

しかし、凍結時の水分の膨張によりプラスチックがひずみ、ひびや亀裂が生じ、その結果、解凍時に保存溶液が漏出する可能性があります。さらに、ボトルとキャップのインターフェースも、凍結および解凍時に膨張・収縮し、ねじ式密封の有効性を阻害する可能性があります。また、生物学的物質を含む pH 感受性の高い内容物においては特に適切な pH が維持できることも重要です。コールドチェーン輸送中に大気中の二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) が変化したことにより、CO<sub>2</sub> ガスがボトルに侵入すると、溶液の pH が変化する可能性があります。

容器とキャップを含むシステムにおいて最も重要な特性は、さまざまなアプリケーションで遭遇する実際の温度における、キャップ密封性の維持およびサンプルの保護です。本試験では、培地ボトルのこれらの機能特性を、Nalgene PET ボトルおよび Nalgene PETG ボトルと他の 7 社のブランドのボトルについて評価しました (表 1)。Nalgene PET ボトルおよび Nalgene PETG ボトルは、いずれもポリマーの脆化温度が比較的低いため、しばしば凍結アプリケーションに使用されてい

ます。ここでは、凍結解凍サイクル後のボトルに関して、衝撃破壊、加圧漏出、バックオフトルクおよびガス透過性の試験を行い、これらのストレス因子がボトル性能に与える影響を調べました。

## 材料および方法

### ボトルの選択

本試験で使用したボトルおよびキャップのパラメーターを表 1 に示します。Nalgene PETG ボトル (30 mL および 1 L) ならびに、当社のロチェスター (米国) およびニューポート (英国) で製造された、Nalgene PET ボトル (125 mL および 1 L) を分析しました。これらの製造施設で製造された Nalgene PET ボトルを評価することで、いずれの製造施設からも、堅牢で再現性のある Nalgene ボトル製品が提供されることを確認しました。Nalgene ボトルには滅菌のため最大 45 kGy という比較的高い線量を照射しました。さらに、結果の再現性を担保するため、Nalgene 製品は 3 ロットの試験を実施しました。他社ブランドに関しては、滅菌ボトル各 1 ロットの分析を実施しました。

当社が **Nalgene ボトルで推奨している装着トルクの最小値および最大値**を示します (表 1)。他社の推奨トルク値が入手可能な場合、装着トルク値は、類似したサイズの Nalgene キャップの装着トルク値および適切な装着トルクはキャップの直径の約半分であるという一般的な原理に基づいて設定しました。

\* 当社の液漏れ防止保証は、Thermo Fisher Scientific Terms and Conditions of Sale に定める当社の標準製品保証の対象となります。当社製品は、対応するキャップと組み合わせで使用する場合、周囲温度と周囲圧力で漏出を防止します。ただし、お客様の計画している各アプリケーションの条件下で、当社の容器およびキャップの試験を事前に行うことを推奨します。当社製品に関するその他の情報は、[jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com) までお問い合わせください。

表1. 本試験で使用した培地ボトルおよびキャップのパラメーター

培地ボトル	キャップ	キャップのサイズ (mm)	装着トルク (in-lb)
<b>PETG 公称容量 1,000 mL</b>			
Nalgene 培地ボトル：製品番号 342020-1000 (ロット番号 1183665、1184397、1178854)	標準	38-430	27
他社 A	不正開封防止／標準*	38-430	26～27 (不正開封防止)／20～21 (標準)
<b>PETG 公称容量 30 mL</b>			
Nalgene 培地ボトル：製品番号 342020-0030 (ロット番号 1184149、1183661、1173345)	標準	20-415	10
他社 A	不正開封防止	20-415	10
<b>PET 公称容量 1,000 mL</b>			
Nalgene 培地ボトル (米国)：製品番号 342040-1000 (ロット番号 182760、1183244、1184855)	標準	38-430	27
Nalgene 培地ボトル (英国)：製品番号 842040-1000 (ロット番号 M198580、M238850、000099080)	標準	38-430	27
他社 B**	不正開封防止	31.7	20
他社 C**	標準	45	30
他社 D**	不正開封防止	31.7	20
他社 E	標準	42	28
他社 F	標準	38-430	19
他社 G**	標準	42	28
<b>PET 公称容量 125 mL</b>			
Nalgene 培地ボトル (米国)：製品番号 342040-0125 (ロット番号 1182226、1172046、1177901)	標準	38-430	27
Nalgene 培地ボトル (英国)：製品番号 842040-0125 (ロット番号 M194640、M211840、M221800)	標準	38-430	27
他社 B**	不正開封防止	31.7	20
他社 C**	標準	45	30
他社 D**	不正開封防止	31.7	20
他社 E	標準	42	28
他社 F	標準	33-430	17
他社 G***	標準	42	28

\* 加圧漏出、CO<sub>2</sub> 侵入およびバックオフトルク試験には不正開封防止キャップを使用し、衝撃破壊試験には標準キャップを使用しました。

\*\* これらのメーカーは、それぞれの製品に関する推奨トルク値を提供していません。

\*\*\* この試験では 100 mL の容量を使用しました。

## 試験手順の要約

すべてのボトルに液体を公称容量まで充填し、キャリブレーション済みの電子トルク計を使用して、メーカー推奨最小装着トルク (入手可能な場合) をかけてキャップを装着することで、各試験において最悪条件を確実に再現しました。本試験で使用した凍結温度 (-40°C、-70°C およびドライアイス) は、各凍結解凍サイクルにおいて、キャリブレーション済みの環境チャン

バー、データロガーおよび T 熱電対を用いて検証されました。米国と英国で製造された同サイズの Nalgene PET ボトルの結果の平均値を、各試験に関して求めました。本試験で使用した機器および消耗品を表 2 に示します。各試験の詳細を表 3 に示します。

表2. 試験に使用した機器および消耗品

機器／消耗品	メーカー
油圧式落下試験装置	Lansmont Corporation
Tenney環境チャンバー、モデルT20C-4	Tenney
ポータブル温度データロガーOM-SQ2040	Omega
電子トルク計	Kaps-All Packaging Systems
Thermo Scientific™ OrionStar™ Star A Series A111 pHベンチトップメーター	Thermo Fisher Scientific
加圧漏出試験装置	自社製造
Gibco™ PBS粉末	Thermo Fisher Scientific
α-D(+)-グルコース (≥99%、無水)	ACROS Organics
Invitrogen™ UltraPure™ 5M NaCl	Thermo Fisher Scientific

表3. 本試験で用いた試験パラメーター

試験	ボトル内容物	試験サンプル	コントロール	試験条件	合格基準
衝撃破壊	1 g/Lグルコース、 9 g/L NaCl、 脱イオン水	-40°Cまで凍結	室温	約91センチ (36インチ) から落下	漏出が10%未満
加圧漏出	水、赤色色素	-40°Cまで凍結、 解凍×2 -70°Cまで凍結、 解凍×2	室温	2 psig、5 psig、 7.5 psig、10 psigで 2分間加圧	≤10 psigで漏出なし
バックオフトルク	水	-40°Cまで凍結、 解凍 -70°Cまで凍結、 解凍	室温	開栓トルクを測定	バックオフトルクの 平均値が、装着トルク の40~60%以内
CO <sub>2</sub> 侵入	PBS、 pH 7.4 ± 0.1	-70°Cまで凍結、 ドライアイス中に 60時間以上設置、 解凍	-70°Cまで凍結	pHを測定	終了時のpHが開始時 のpHの設定範囲内

### 衝撃破壊試験

-40°Cまで凍結させた試験ボトル (n = 15) を油圧式落下試験装置に設置し、約 91 センチ (36 インチ) の高さからスチール製の板の上に落下させ、ベンチ高さからの落下を再現しました。各社のコントロールボトル (n = 15) は、凍結したボトルと同時間室温に静置した後に落下させました。試験ボトルを解凍し、室温に達した時点ですべてのボトルの漏出を調べました。

気圧装置をボトルに接続させるチューブを設置するために、各ボトルの側面に小さな穴を開けました。ボトルを、2 psig、5 psig、7.5 psig および 10 psig の各一定圧力で 2 分間または容器キャップシステムが破損するまで加圧しました。キャップから水が漏出した場合に、容器キャップシステムに不具合が発生したとみなしました。

### 加圧漏出試験

試験ボトル (1 L の Nalgene PETG ボトルは n = 15。それ以外は n = 30) には、キャリブレーション済みの冷凍庫内で 2 回の凍結解凍サイクルを実施し (-40°C または -70°C まで凍結)、コントロールボトル (1 L の Nalgene PETG ボトルおよび 1 L と 125 mL の Nalgene PET ボトルは n = 7。それ以外は n = 15) は試験ボトルと同時間室温に静置しました。空

### 凍結解凍によるバックオフトルク低下試験

1 回の凍結解凍サイクル (キャリブレーション済みの冷凍庫内で -40°C または -70°C まで凍結) 後、試験ボトル (1 L の Nalgene PETG ボトルは n = 15。それ以外は n = 30) についてキャリブレーション済みの電子トルク計を用いてバックオフトルク試験を実施しました。

コントロールボトル (1 L の Nalgene PETG ボトルおよび 1 L と 125 mL の Nalgene PET ボトルは n =7。それ以外は n = 15) は凍結せず、試験ボトルの凍結解凍サイクルと同時間、室温に静置しました。

### CO<sub>2</sub> 侵入試験

リン酸バッファー (PBS) の調製バッチの pH を記録しました (pH 7.4 ± 0.1)。培地ボトルに PBS を充填し、キャリブレーション済みの冷凍庫で -70°C まで凍結させました。その後、試験ボトル (1 L の Nalgene PETG ボトルおよび 1 L と 125 mL の Nalgene PET ボトルは n =7。それ以外は n = 30) をドライアイスバンカーに移し、60 時間以上静置して冷蔵輸送中の保存工程を再現しました。コントロールボトル (ブランド A の 1 L の PETG ボトルは n=6、1 L と 125 mL の全 Nalgene ボトルは n =7。それ以外は n = 15) は、試験ボトルがドライアイス環境から取り出されるまで -70°C の冷凍庫内に保持しました。ボトルを室温まで解凍し、キャリブレーション済みの pH 計を用いて各ボトル中の PBS の pH を記録しました。

### 衝撃破壊試験

-40°C での保存から取り出した直後にボトルを落下させると破損する可能性が高いため、凍結ボトルの取り扱いには特に注意が必要です。

他社製品の全体的な不具合発生率は、ブランド F を除き、いずれの場合も Nalgene ボトルより高く、ブランド F も他のいくつかの試験では良好な性能を示しませんでした (図 1)。

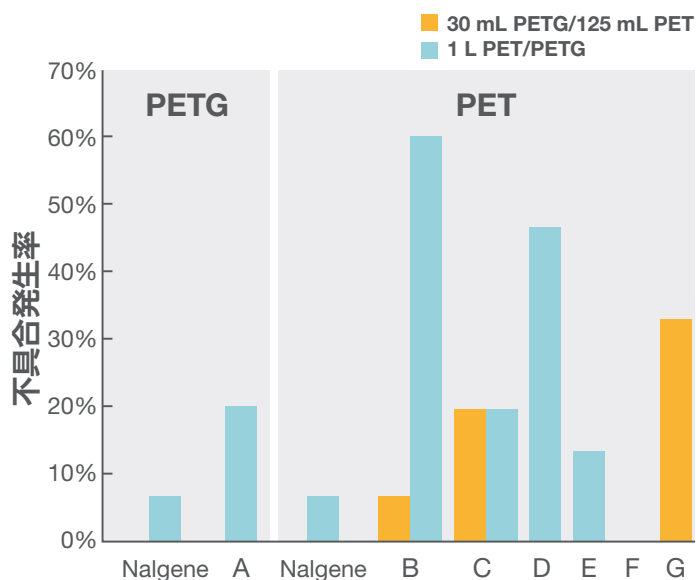


図1. 衝撃破壊試験の結果

### 加圧漏出試験

当社では、通常の品質管理工程の一環として、すべての Nalgene ボトルに加圧漏出試験を実施しています。予想通り、すべての Nalgene PET および PETG 培地ボトルは、室温保存後および -40°C または -70°C で 2 回の凍結解凍サイクル後に、累積加圧 10 psig を上回っても漏出しませんでした。ほとんどの他社ボトルの不具合発生率は Nalgene ボトルを上回っていました。結果は表 4 に示しています。各ブランドのボトルについて、最初に不具合が発生した圧力 (psig) を表示しています。試験ボトルまたはコントロールボトルが、10 psig で 2 分後に漏出なかった場合、「不具合なし」と報告されています。不具合発生率 (%) は、試験したすべての温度で、最高 10 psig までの圧力において 2 分後に不具合が生じたボトルの累積率を表します。

表4. 加圧漏出試験の結果

PETG	30 mL	不具合発生率 (%)	1 L	不具合発生率 (%)
Nalgene	不具合なし	0	不具合なし	0
A	0 psig	85	0 psig	25
PET	125 mL	不具合発生率 (%)	1 L	不具合発生率 (%)
Nalgene	不具合なし	0	不具合なし	0
B	不具合なし	0	5 psig	3
C	5 psig	92	5 psig	100
D	2 psig	97	不具合なし	0
E	不具合なし	0	不具合なし	0
F	10 psig	1	10 psig	5
G*	不具合なし	0	2 psig	1

\* 100 mL

### 凍結解凍バックオフトルク

キャップをきつく締めるほど、密封性が向上すると誤解されがちですが、締め過ぎにより、キャップの一部が他の部分よりも大きく加圧される可能性があり、また、ねじ山がなくなったり、つぶれたり、破損したりすることで密封が不適切になる可能性があります。プラスチック業界の標準的な許容開栓トルクは、キャップの装着から 24 時間以上経過後において、推奨装着トルクの約 40 ~ 60% です。図 2 の 4 つのボトルブランドが示すように、加圧漏出試験中の漏出 (\* で示す) は、キャップを開栓するために高いトルク (装着トルクの 60% 超) を必要とすることに起因する可能性があります。3 つのボトルブランドが 40 ~ 60% の推奨範囲のバックオフトルクを示しましたが、加圧漏出試験ではこれらのブランドで漏出も見られました。オペレーターへの負担を低減させるために、外しやすいキャップ (装着トルクに対してより低いバックオフトルク) が望ましい場合がありますが、Nalgene 培地ボトルのように漏出が生じないことを保証する必要があります。



不正開封防止キャップでは、不正開封防止シールリングがあるため、一般的にバックオフトルクの測定値が標準キャップのバックオフトルクの測定値より高くなります（他社 A の結果から明らかです）。スリップトルクは、キャップをボトルのねじ山周囲に回転させるために必要なトルクです。ブリッジトルクは、キャッ

プのブリッジまたは網目部分の破断開始に必要なトルクです。不正開封防止キャップの開栓トルク値は、ブリッジトルクではなく、スリップトルクの測定値を表しています。

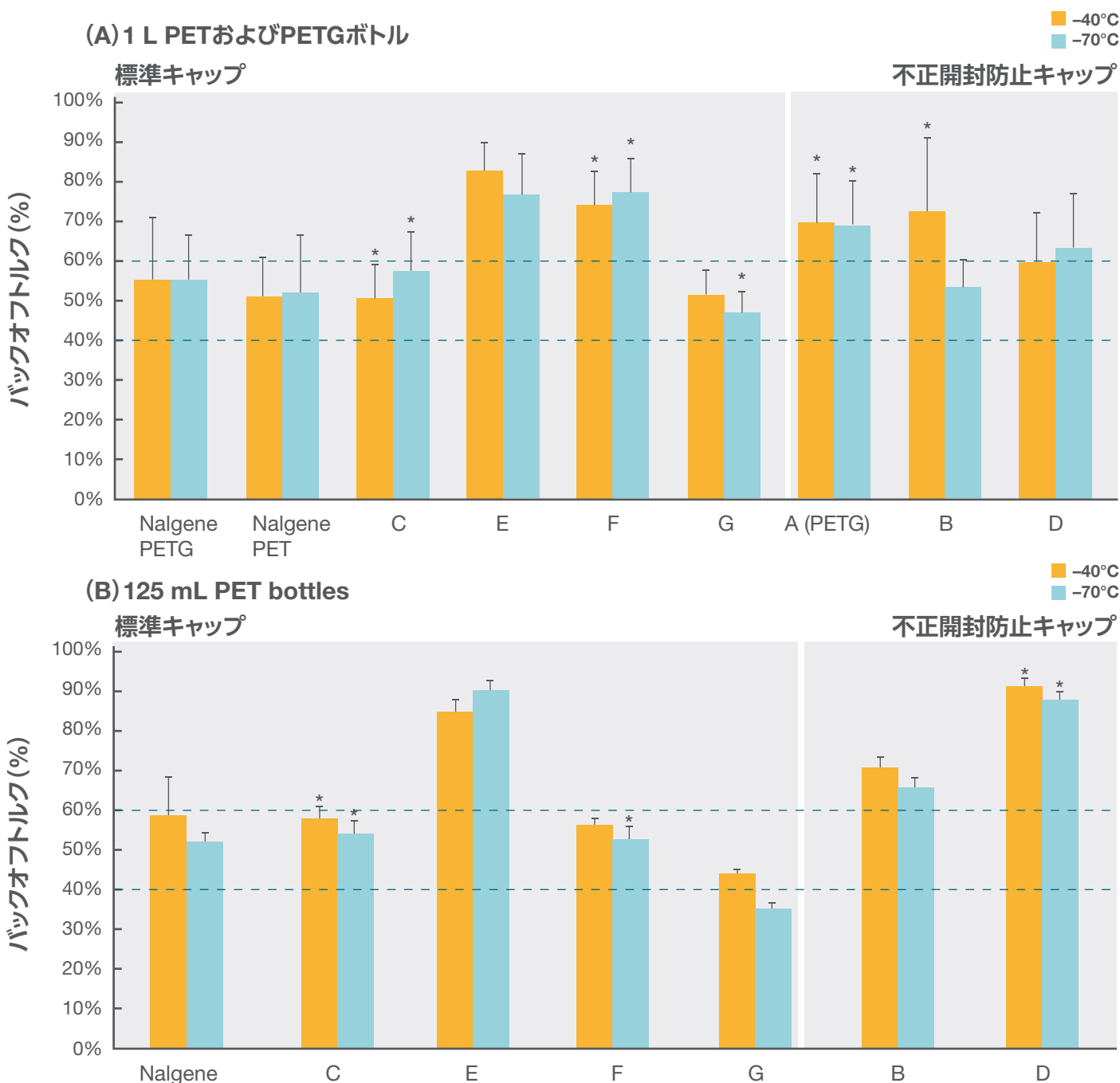


図2 (A、B) -40°Cまたは-70°Cに凍結後の (A) 1 Lボトルおよび (B) 125 mLボトルのバックオフトルク率 (± 1 SD)。破線は、バックオフトルクの許容範囲 (装着トルクの40~60%) を示します。ブランドGのボトルの容量は100 mLです。

\* これらのボトル群では、加圧漏出試験で不具合が発生しました。

## CO<sub>2</sub> 侵入

pH 測定により、試験を行ったボトルブランドの多くの1 L PET ボトルおよび PETG ボトルが、長期間のドライアイス曝露下でも CO<sub>2</sub> 侵入を防止できることが示されました。

Nalgene の 30 mL と 1 L の PETG ボトル、および 1 L の PET ボトルの内容物をドライアイスに曝露した後の pH は、-70°C で保存したコントロールサンプルの pH と比較してわずかに変化していませんでした。30 mL と 1 L の Nalgene ボトルおよび他社ボトルの結果を図 3 に示します。

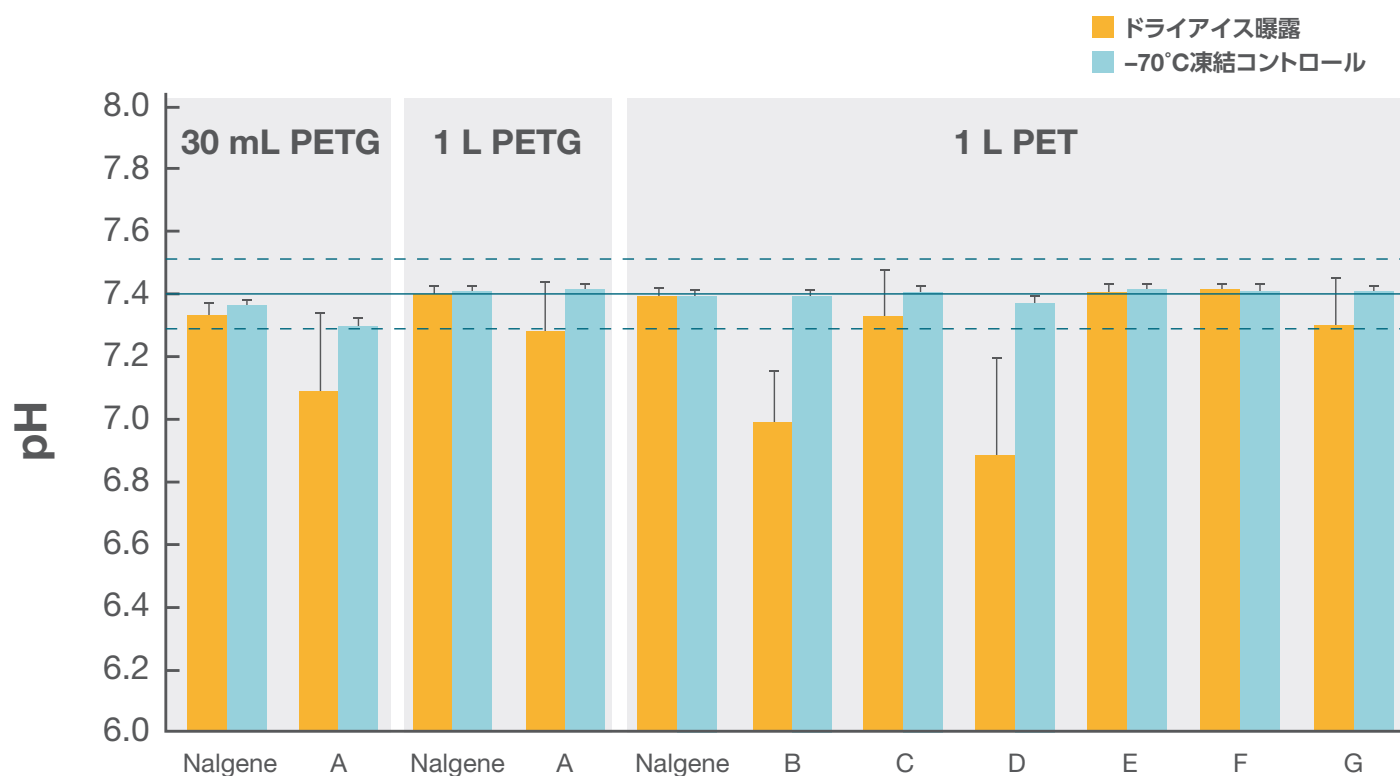


図3. 30 mLのPETGと1 LのPET Nalgeneボトル、および他社ボトルに関する、ドライアイス曝露後のCO<sub>2</sub>侵入 (pH) 測定値 (± 1 SD) (-70°Cで保存したコントロールボトルと比較)。破線は、ボトルに充填するPBSの当初のpH範囲 (7.4 ± 0.1) を示し、実線はpH 7.4を表しています。

## 結論

本試験は、Nalgene 培地ボトルに低温で負荷をかけ、衝撃破壊、加圧漏出、バックオフトルク低下および CO<sub>2</sub> 侵入の性能を評価しました。結果を7つの他社ブランドのボトルと比較しました。他社製品はいずれも、Nalgene ボトルが示す強力な機能的性能を達成することができませんでした (表 5)。このことから、Nalgene PET および Nalgene PETG 培地ボトルが、貴重なサンプルを安全かつ確実に維持するための優れた培地ボトルであることが明らかとなりました。

表5. 結果の要約

記号: -は不具合を示す

	衝撃破壊	加圧漏出	トルク低下	CO <sub>2</sub> 侵入
Nalgene PETG	合格	合格	合格	合格
他社A	-	-	-	-
Nalgene PET	合格	合格	合格	合格
他社B	-	-	-	-
他社C	-	-	合格	合格
他社D	-	-	-	-
他社E	-	合格	-	合格
他社F	合格	-	-	合格
他社G	-	-	-	合格
合格基準	漏出が10%未満	≤10 psigで漏出なし	バックオフトルクの平均値が装着トルクの40~60%以内	終了pH 7.4 ± 0.1

詳細はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/mediabottles](https://thermofisher.com/mediabottles)

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. 無断複写・転載を禁じます。 LSP025-A20110B  
ここに記載の会社名、製品名は各社の商標または登録商標です。  
また、記載されている製品は研究用機器であり、診断目的およびその手続き上での使用はできません。  
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。  
実際の販売価格は、当社販売代理店までお問い合わせください。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC