

## <その2>ナイロン製器具・容器包装における カプロラクタム試験の性能評価

研究代表者 六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所  
研究協力者 渡辺 一成 (一財)化学研究評価機構

### A. 研究目的

我が国の食品衛生法ではナイロンを主成分とする合成樹脂製の器具・容器包装に対してナイロン6のモノマーであるカプロラクタムの溶出量が規制されている。カプロラクタムの溶出試験は、20%エタノールを浸出用液とした60～30分間の溶出条件により試験溶液を調製した後、試験溶液中のカプロラクタムをガスクロマトグラフ・水素炎イオン化検出器(GC-FID)により測定し、得られたピーク面積とカプロラクタム標準溶液(15 µg/mL)の面積を比較して適否判定を行うこととされている。しかし、これまでに試験室間共同試験は実施されておらず、規格試験としての真度や精度などの性能評価は行われていない。

カプロラクタムの試験のうち、試験溶液の調製方法に関しては、使用する浸出用液を除き、重金属試験、過マンガン酸カリウム消費量試験及び蒸発残留物試験と共通であるが、試料の形態や形状などによって最適な操作方法が異なるほか、試験によって必要とされる試験溶液の量が異なるため<sup>1), 2)</sup>、食品衛生法では基本的な条件しか規定されていない。そのため、試験機関ごとに様々な条件で試験溶液の調製が行われている。また、カプロラクタムの含有量や溶出量が値付けされている認証標準物質は存在せず、市販ナイロン製品では、試験に用いる検体や部位により溶出量が異なる可能性がある。さらに、製品の製造に使用される添加剤等の種類や量は製品ごとに異なるがその実態は明らかでないため、カプロラクタム以外の混入物による影響について評価を行うことが難しい。そのため、溶出操作を含めた試験の性能評価は困難である。そ

こで、今回は溶出試験時の浸出用液である20%エタノールにカプロラクタムを添加した溶液を検体として用いて試験室間共同試験を実施し、カプロラクタムの測定のみを評価の対象とした性能評価を実施することとした。

食品衛生法のカプロラクタム試験法(公定法)では、GC-FIDの測定条件については基本的な条件しか規定しておらず、規定のない条件については各試験機関の判断によって選択または設定されている。さらに、食品衛生法では、「規定の方法に代わる方法で、それが規定の方法以上の精度のある場合は、その方法を用いることができる。」としており、GC条件等を変更した方法(公定法変法)により、試験を実施している試験機関も存在する。

また、公定法では20%エタノールで調製した試験溶液を直接装置に注入するため、測定条件によっては水分の蒸発に伴う体積の膨張により、ピーク割れ等の現象の発生<sup>3)</sup>やカラムへの導入量が安定しない場合がある。しかし、公定法ではピーク形状や内標準補正について規定していない。

さらに、公定法ではピーク面積の比較により適否判定を行っているが、この方法では真度、精度等の性能パラメーターが得られず、十分な性能評価を行うことができない。そこで、今回の試験室間共同試験では、内標準として、カプロラクタムと構造が類似のヘプタラクタムを用い、検体中のカプロラクタム濃度を絶対検量線法と内標準法の両法で定量することとした。

一方、ガスクロマトグラフ・質量分析法(GC/MS)はGC-FIDと比べて選択性が良く、同時に他の成分の定性や定量を行うことも可

能である。そのため、GC/MS による複数の溶出物の一斉分析法が報告されている<sup>4), 5)</sup>。しかし、GC/MS は器具・容器包装の公定法として採用されていない。また、最適な測定質量数や内標準補正などの測定条件については検討されておらず、代替法としての妥当性の確認も行われていない。その他、LC や LC/MS により溶出量を測定した報告も多数存在する<sup>6- 14)</sup>。これらの方法についても試験法としての性能評価は行われていない。

そこで、ナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム試験法について、カプロラクタム溶液を用いた試験室間共同試験を行い、公定法の性能を評価するとともに、公定法変法及び GC/MS については代替法としての妥当性を確認することとした。また、今回の試験室間共同試験では、LC 及び LC/MS による試験を希望する試験機関が存在しなかったため、これらの方法については確認しなかった。

## B. 研究方法

### 1. 参加機関

試験室間共同試験の計画及びプロトコール作成には民間の登録検査機関、公的な衛生研究所など 25 機関が参加し、試験室間共同試験には民間の登録検査機関の 11 試験所、公的な衛生研究所など 9 機関の合計 20 機関が参加して実施した。

### 2. 検体

検体のカプロラクタム濃度（添加量）は、食品衛生法の規格値である 15 µg/mL を参考に設定した（表 1）。

検体は（一財）食品薬品安全センターにおいて調製し、各検体 10 mL を褐色のガラス瓶に入れ、濃度非明示で平成 26 年 6 月 6 日に各試験機関に配付し、試験は 2 ヶ月以内に実施した。また、内標準として使用するヘプタラクタムは国立医薬品食品衛生研究所で 2~3 g 小分けし、褐色のガラス瓶に入れて平成 26

年 4 月 22 日に各試験機関に配付した。

検体の調製及びヘプタラクタムは以下の試験薬を用いた。

蒸留水：日本薬局方注射用水、光製薬（株）製

エタノール：99.5%、特級、和光純薬工業（株）製

カプロラクタム：ε-カプロラクタム、100.0%、特級、和光純薬工業（株）製

ヘプタラクタム：ω-ヘプタラクタム、99.0%以上、1 級、東京化成工業（株）製

表 1 各検体のカプロラクタム濃度

検体 No.	濃度 (µg/mL)
1	11
2	15
3	17

いずれも 20%エタノール溶液

### 3. 検体の均質性及び安定性の確認

国立医薬品食品衛生研究所において配付直後とその 2 ヶ月後に食品衛生法に準じて各 10 検体を 2 併行測定し、内標準法により各成分を定量した。この定量値を使って検体の均質性及び安定性を確認した。

均質性については一元配置の分散分析による F 検定で判定し、安定性については定量値（総平均）の変化量が±5%以内であるか否かで判断した。

### 4. 試験

試験は「<別添 2>平成 26 年度 試験室間共同試験 計画書」に従って各検体につき 2 回の試験を行い、検体中のカプロラクタムの濃度を測定した。ただし、試験実施者が適切な状態で測定または定量が行われていないと判断でき、かつ、その原因が明らかかな場合は再測定を認めた。

試験薬、試液、装置及び試験操作は、各試験機関における通常の試験業務と同様とした。

「<別添2>平成26年度 試験室間共同試験計画書」に記載した各測定法の条件を以下に示した。

### GC-FID (公定法及び公定法変法)

食品衛生法で規定されている測定条件に従った場合は公定法、規定と異なる測定条件を用いた場合は公定法変法とした。定量は絶対検量線法と内標準法の両者で行った。内標準はヘプタラクタムを用い、その添加法及び濃度は任意とした。

### GC/MS

定量は絶対検量線法と内標準法の両者で行った。内標準はヘプタラクタムを用いた。それ以外のすべての測定条件は任意とした。

## 5. 定量値の解析

各試験機関から収集した定量値について、ISO 5725-2<sup>15)</sup> 及びJIS Z 8402-2<sup>16)</sup> に基づいてCochran検定(併行)、Grubbs検定(試験室間)を行った。これらの検定の結果、外れ値とされたものを外れ値(精度)とした。また、定量結果(同検体2測定の平均値)が添加量の80~110%の範囲から外れたものを外れ値(真度)とした。

真度、併行精度( $RSD_r$ %)及び室間再現精度( $RSD_R$ %)の性能パラメーターの値は、食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン<sup>17)</sup>に従って、一元配置の分散分析により外れ値を棄却せずに求めた。各性能パラメーターの目標値はこのガイドラインを参考に、真度は80~110%、 $RSD_r$ は10%以下、 $RSD_R$ は25%以下とした。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 検体の調製

ナイロン製品の中には重合の副生成物として混入するオリゴマーが数%含まれており<sup>6), 7), 14), 18)</sup>、数~数十  $\mu\text{g/mL}$  溶出する<sup>8-12)</sup>。しかし、カプロラクタムの試験では、オリゴマーやその他の夾雑物が試験結果に影響を与えたという事例はこれまでに報告されていない。実際に複数のナイロン製品から調製した試験溶液をGC-FID及びGC/MSで測定したところ、カプロラクタムのピーク付近にオリゴマーやその他の夾雑物のピークは観察されなかった。そのため、今回は溶出試験の浸出用液である20%エタノールにカプロラクタムを添加したものを検体とした。

### 2. 均質性及び安定性確認

各検体の均質性及び安定性を確認するため、検体の配付直後及びその2ヶ月後(測定期限後)に公定法により各10検体を2併行で測定し、各成分の定量値(総平均)、分散比(F値、検体間分散/併行分散)、濃度比を求めた。その結果を表2に示した。

検体の均質性については、配付直後とその2ヶ月後の測定結果から、すべての検体で濃度差がないと判定された。検体の安定性については、いずれの検体も配付2ヶ月後の定量値は配付直後の定量値の99.1~99.4%であった。以上から、検体の均質性及び安定性に問題がないことが確認された。

表2 検体受領直後及び測定期限後の濃度、分散比及び濃度比

検体No.	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	受領直後		測定期限後		濃度比 /
		定量値 ( $\mu\text{g/mL}$ )	分散比 (F値)	定量値 ( $\mu\text{g/mL}$ )	分散比 (F値)	
1	11	11.1	1.83	11.0	0.96	99.1%
2	15	15.1	1.02	15.0	0.75	99.3%
3	17	17.1	1.58	17.0	2.16	99.4%

F値：(検体間分散, n=10) / (併行分散, n=2)、F境界値：3.02

### 3. 試験室間共同試験の結果

試験室間共同試験により得られたカプロラクタムの定量値について、測定法ごと（GC-FID及びGC/MS）に外れ値検定を行った。その結

果を表3に示した。各測定法について、測定条件、定量下限値、性能パラメーター等の考察を行った。

**表3 試験室間共同試験における検体中のカプロラクタム定量値と外れ値検定の結果**

測定法	試験機関	絶対検量線法 (µg/mL)			内標準法 (µg/mL)		
		検体 1	検体 2	検体 3	検体 1	検体 2	検体 3
GC-FID (公定法)	A	10.5, 11.5	14.9, 13.7	15.7, 16.5	10.6, 11.6	15.1, 14.1	15.9, 16.7
	B	10.7, 10.7	14.2, 14.7	16.4, 16.2	10.6, 11.2	14.7, 14.7	16.8, 16.6
	C	10.1, 10.4	14.7, 14.8	16.6, 16.5	10.3, 10.6	14.9, 14.9	16.4, 17.2
	F	11.8, 11.7	15.4, 15.3	16.5, 16.7	11.1, 10.8	15.3, 15.3	17.1, 17.2
	H	10.6, 10.7	14.5, 14.6	16.1, 16.0	10.9, 10.9	14.5, 14.5	17.0, 17.0
	I	10.5, 10.9	15.1, 14.8	16.7, 16.6	10.8, 11.2	15.2, 14.8	17.1, 17.0
	K	11.4, 10.2	14.6, 14.7	16.5, 16.4	11.7, 11.2	14.2, 14.7	15.7, 16.2
	M	9.19, 9.53	13.4, 13.9	16.0, 15.2	9.14, 9.92 <sup>††</sup>	13.7, 14.8	15.3, 16.5
	O	9.82, 10.6	15.2, 14.7	16.7, 15.7	10.6, 10.6	14.6, 14.5	16.4, 15.9
	P	9.34, 11.7 <sup>**</sup>	12.9, 11.5 <sup>††</sup>	16.3, 15.9	11.0, 11.1	14.6, 15.1	17.6, 17.8
	Q	9.93, 10.1	14.5, 14.0	16.2, 15.4	11.0, 10.8	15.2, 15.1	16.6, 16.3
	R	10.9, 10.6	15.5, 15.2	17.2, 17.6	11.6, 11.3	14.9, 15.0	17.0, 17.2
	S	9.55, 9.96	15.8, 12.4 <sup>**</sup>	16.5, 14.9	11.1, 11.1	15.1, 14.6	17.7, 17.2
	T	10.4, 10.9	14.0, 14.7	15.2, 16.8	11.1, 11.1	15.1, 15.0	17.1, 17.1
U	11.0, 11.2	15.3, 15.2	17.4, 17.2	10.6, 10.6	14.2, 14.6	16.9, 16.6	
GC-FID (公定法変法)	N	10.7, 10.6	14.5, 14.0	15.9, 16.1	10.9, 10.7	15.0, 14.3	16.4, 16.1
	X	11.1, 11.3	15.4, 15.7	17.8, 17.7	11.3, 11.2	15.3, 15.2	17.5, 17.2
	Y	10.4, 10.1	12.2, 13.5	14.6, 15.1	11.1, 10.9	13.3, 13.3	15.8, 17.2
GC/MS	A	10.8, 9.56	14.4, 12.8	16.8, 16.7	8.03, 9.82 <sup>*</sup>	13.9, 12.8	15.7, 15.8
	D	10.8, 10.9	14.5, 14.8	16.6, 16.6	10.8, 10.8	14.9, 14.8	16.6, 16.7
	F	10.8, 11.6	14.7, 15.1	16.3, 15.6	10.8, 11.2	14.6, 14.4	16.3, 16.5
	H	<u>16.9, 10.3<sup>**</sup></u>	16.7, 15.8	19.8, 17.0	11.2, 11.1	15.6, 15.7	17.1, 17.2
	I	10.6, 10.6	14.8, 16.5	16.0, 15.9	10.8, 10.9	15.5, 14.9	16.4, 17.3
	K	<u>6.08, 7.14</u>	<u>8.10, 7.69<sup>††</sup></u>	<u>9.87, 8.83<sup>†</sup></u>	9.40, 10.5 <sup>*</sup>	15.5, 14.0	16.5, 15.5
	M	12.8, 10.5	13.4, 15.6	<u>21.5, 18.0</u>	9.13, 8.72	12.5, 11.9	13.7, 13.9
	N	<u>8.14, 8.23</u>	12.7, 13.5	14.9, 15.0	11.3, 10.7	15.3, 15.1	16.6, 16.2
	P	9.45, 10.7	14.5, 14.6	15.8, 16.4	9.89, 9.71	13.6, 13.7	15.4, 15.3
	Q	<u>8.68, 7.64</u>	12.4, 12.5	14.1, 14.6	9.65, 9.48	14.0, 13.8	15.7, 16.4
	S	<u>12.3, 13.7</u>	15.1, 17.8	<u>25.2, 16.7<sup>**</sup></u>	11.5, 11.4	15.3, 14.7	16.6, 16.8
	W	9.30, 9.55	12.7, 12.8	14.1, 14.5	9.48, 9.91	13.1, 13.1	14.7, 14.8
	X	11.5, 12.8	15.1, 16.9	<u>18.7, 19.2</u>	11.4, 11.6	15.7, 16.1	18.3, 18.2

\_: [(定量値の平均値) / 推定含有量×100 (%)] の値が 80%未滿または 110%を超える、外れ値 (真度) に該当

\*: Cochran検定で異常値 (危険率<5%) と判定、外れ値に該当しない

\*\* : Cochran検定で異常値 (危険率<1%) と判定、外れ値 (精度) に該当

† : Grubbs検定で異常値 (危険率<5%) と判定、外れ値に該当しない

†† : Grubbs検定で異常値 (危険率<1%) と判定、外れ値 (精度) に該当

GC-FID (公定法変法) はデータ数が少ないため、Cochran検定及びGrubbs検定を実施せず

## 1) GC-FID による試験結果

### 測定条件

GC-FID による試験は 18 機関で実施した。各試験機関の GC 条件を表 4 に示した。

試験機関 X ではカラム及びカラム温度が規定と異なっており、カプロラクタムの保持時間が規定よりも遅かった。これは使用している装置では使用可能なカラムや注入方式が制限され、規定のカラムが使用できないためであった。一方、他の試験機関は公定法で規定されているカラム(内径:0.32 mm、長さ 30 m のケイ酸ガラス製細管に、ジメチルポリシロキサンを 5 μm の厚さでコーティングしたもの)を用い、公定法で規定されているカラム

温度(240 )で測定していた。

また、試験機関 Y は注入量が 2 μL であり、規定の注入量(1 μL)と異なっていた。さらに、食品衛生法ではカプロラクタムの保持時間が約 5 分となるようにキャリアーガス流量を調節することとされているが、試験機関 N は保持時間が 1.6 分であり、規定の保持時間よりも早かった。

以上から、GC-FID による試験を実施した 18 機関のうち、試験機関 N、X 及び Y の 3 機関を GC-FID(公定法変法)とし、他の試験機関の GC-FID(公定法)の結果と区別して解析した。

表 4 GC-FID における GC 条件

試験機関	カラム	キャリアーガス	キャリアーガス流量	注入量(μL)	スプリット比	保持時間(分)	
						カプロラクタム	ヘプタラクタム
A	DB-1	He	1.4 mL/min	1	10:1	5.2	6.5
B	DB-1	He	1.1 mL/min (定圧)	1	10:1	5.1	6.4
C	DB-1	N <sub>2</sub>	1.0 mL/min	1	10:1	4.2	5.2
F	DB-1	He	1.99 mL/min	1	15:1	4.0	5.0
H	DB-1	He	1.3 mL/min	1	20:1	5.1	6.4
I	InertCap 1	He	1.2 mL/min	1	20:1	5.2	6.5
K	HP-1	He	1.5 mL/min	1	10:1	4.5	5.6
M	DB-1	N <sub>2</sub>	1.3 mL/min (定圧)	1	10:1	5.4	6.6
N	DB-1	N <sub>2</sub>	4.75 mL/min (定圧)	1	50:1	1.6 <sup>*4</sup>	2.0
O	DB-1	N <sub>2</sub>	1.3 mL/min (定圧)	1	10:1	4.8	6.1
P	DB-1	He	1.56 mL/min	1	20:1	4.4	5.6
Q	DB-1	He	1.5 mL/min	1	15:1	5.0	6.2
R	DB-1	He	1.33 mL/min	1	10:1	5.2	6.5
S	TC-1	He	0.7 mL/min	1	50:1	5.2	6.5
T	DB-1	He	1.2 mL/min	1	10:1	5.6	7.1
U	DB-1	He	0.8 mL/min	1	10:1	5.1	6.3
X	DB-1 <sup>*1*</sup>	N <sub>2</sub>	2.7 mL/min (定圧)	1	スプリットレス	9.6 <sup>*4</sup>	13.7
Y	DB-1	N <sub>2</sub>	1.7 mL/min (定圧)	2 <sup>*3</sup>	10:1	5.1	6.4

\*1: カラムサイズは内径0.53 mm、長さ30 m、膜厚5 μm、

食品衛生法で規定されるカラムサイズ(内径0.32 mm、長さ30 m、膜厚5 μm)と異なる

\*2: カラム温度は180 (20 min)-20 /min-240 (12 min)、食品衛生法で規定されるカラム温度(240 で保持)と異なる

\*3: 食品衛生法で規定される注入量(1 μL)と異なる

\*4: 食品衛生法で規定される保持時間(約5分)と異なる

キャリアーガスについては、いずれの試験機関も公定法に準拠した He 及び N<sub>2</sub> を使用しており、18 機関中 12 機関が He を使用し、残り 6 機関は窒素を使用していた。保持時間が規定通りである 16 機関のキャリアーガス流量は、0.7~1.99 mL/min であった。キャリアーガス流量の制御方法及び注入モードについては食品衛生法では規定されていないが、18 機関中 6 機関が定圧モードを使用、残りは定流量モードにより制御していた。また、すべての試験機関は試験溶液の注入にオートサンプラーを使用していたが、試験機関 X 以外の

試験機関は、注入モードとしてスプリット方式を使用し、そのスプリット比は大部分が 10 : 1 ~ 20 : 1 であった。

#### 内標準の添加方法及び定量下限値

各試験機関における内標準の添加方法及び添加濃度、並びにカプロラクタムの定量下限値を表 5 に示した。内標準の添加方法及び添加濃度は試験機関により様々であった。定量下限値は 1 ~ 5 µg/mL であり、すべての試験機関が規格値 (15 µg/mL) の 1/3 以下まで定量可能であり、カプロラクタムの試験が可能であった。

表 5 GC-FIDにおける内標準の添加方法と定量下限値

試験機関	内標準の添加方法	内標濃度 (µg/mL) <sup>*2</sup>	定量下限値 (µg/mL)
A	検体 2.5 mL に IS (0.3 mg/mL) 1 mL を添加し、20%エタノールで10 mL に定容	30	1.5
B	検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 50 µL を添加	約50	5
C	検体 2.5 mL に IS (37.5 µg/mL) 1 mL を添加し、20%エタノールで5 mL に定容	7.5	5
F	検体 10 mL に IS (1 mg/mL) 150 µL を添加	約15	1
H	検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 50 µL を添加	約50	1.5
I	検体 2 mL に IS (30 µg/mL) 1 mL を添加	約10	1.5
K	検体 2 mL に IS (1 mg/mL) 20 µL を添加	約10	3
M	検体 1 mL に IS (0.15 mg/mL) 50 µL を添加	約 7	5
N <sup>*1</sup>	検体 2 mL に IS (0.6 mg/mL) 50 µL を添加	約15	3
O	検体 2 mL に IS (1.5 mg/mL) 50 µL を添加	約38	1.5
P	IS (1 mg/mL) 30 µL に検体を添加して2 mL に定容	15	1.5
Q	検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 30 µL を添加	約30	1.5
R	検体 2 mL に IS (0.16 mg/mL) 200 µL を添加	約15	1.5
S	検体 2 mL に IS (1.5 mg/mL) 20 µL を添加	約15	1.5
T	検体 1 mL に IS (0.75 mg/mL) 20 µL を添加	約15	1.5
U	検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 15 µL を添加	約15	1.5
X <sup>*1</sup>	検体 0.9 mL に IS (0.2 mg/mL) 100 µL を添加	約20	1.5
Y <sup>*1</sup>	検体 1 mL に IS (0.1 mg/mL) 100 µL を添加	約10	2

IS : 内標準溶液 (ヘプタラクタム溶液)、すべて20%エタノール溶液

<sup>\*1</sup> : 公定法変法

<sup>\*2</sup> : 測定溶液中の濃度

### 公定法による定量値の解析

GC-FID (公定法) による 15 機関の定量値とその解析結果を表 6 に示した。絶対検量線法では、外れ値(真度)はなかったが、Cochran 検定による外れ値(精度)が 2 つ、Grubbs 検定による外れ値(精度)が 1 つ存在した。Cochran 検定による外れ値では 2 併行のうち、一方の定量値は添加量に近い値であったが、他方が添加量から乖離していた。Grubbs 検定による外れ値は添加量よりも低い値であった。一方、内標準法では外れ値(真度)はなく、Grubbs 検定による外れ値(精度)が 1 つ存在し、絶対検量線法で外れ値となった結果はいずれも適切に補正され、添加量とほぼ同じ値

となった。さらに、絶対検量線法で定量値が低かった試験機関 O、Q 及び S の結果についても内標準法では適切に補正されていた。しかし、試験機関 M の定量値は絶対検量線法と内標準法ともに添加量と比べてやや低く、内標準補正による改善はみられなかった。

絶対検量線法における真度は 95.9 ~ 96.5%、 $RSD_F$  は 3.3 ~ 5.4%、 $RSD_R$  は 4.0 ~ 6.7%であり、十分に目標値を満たしていた。内標準法では、内標準の添加方法や濃度は試験機関により様々であったが、真度は 98.4 ~ 98.8%、 $RSD_F$  は 2.1 ~ 2.8%、 $RSD_R$  は 2.6 ~ 4.7%といずれの性能パラメーターも改善されていた。

表 6 GC-FID (公定法) によるカプロラクタムの定量値とその解析結果

試験機関	絶対検量線法 (µg/mL)			内標準法 (µg/mL)		
	検体1	検体2	検体3	検体1	検体2	検体3
A	10.5, 11.5	14.9, 13.7	15.7, 16.5	10.6, 11.6	15.1, 14.1	15.9, 16.7
B	10.7, 10.7	14.2, 14.7	16.4, 16.2	10.6, 11.2	14.7, 14.7	16.8, 16.6
C	10.1, 10.4	14.7, 14.8	16.6, 16.5	10.3, 10.6	14.9, 14.9	16.4, 17.2
F	11.8, 11.7	15.4, 15.3	16.5, 16.7	11.1, 10.8	15.3, 15.3	17.1, 17.2
H	10.6, 10.7	14.5, 14.6	16.1, 16.0	10.9, 10.9	14.5, 14.5	17.0, 17.0
I	10.5, 10.9	15.1, 14.8	16.7, 16.6	10.8, 11.2	15.2, 14.8	17.1, 17.0
K	11.4, 10.2	14.6, 14.7	16.5, 16.4	11.7, 11.2	14.2, 14.7	15.7, 16.2
M	9.19, 9.53	13.4, 13.9	16.0, 15.2	9.14, 9.92 <sup>*2b</sup>	13.7, 14.8	15.3, 16.5
O	9.82, 10.6	15.2, 14.7	16.7, 15.7	10.6, 10.6	14.6, 14.5	16.4, 15.9
P	9.34, 11.7 <sup>*2a</sup>	12.9, 11.5 <sup>*2b</sup>	16.3, 15.9	11.0, 11.1	14.6, 15.1	17.6, 17.8
Q	9.93, 10.1	14.5, 14.0	16.2, 15.4	11.0, 10.8	15.2, 15.1	16.6, 16.3
R	10.9, 10.6	15.5, 15.2	17.2, 17.6	11.6, 11.3	14.9, 15.0	17.0, 17.2
S	9.55, 9.96	15.8, 12.4 <sup>*2a</sup>	16.5, 14.9	11.1, 11.1	15.1, 14.6	17.7, 17.2
T	10.4, 10.9	14.0, 14.7	15.2, 16.8	11.1, 11.1	15.1, 15.0	17.1, 17.1
U	11.0, 11.2	15.3, 15.2	17.4, 17.2	10.6, 10.6	14.2, 14.6	16.9, 16.6
平均値 (µg/g)	10.5	14.5	16.3	10.9	14.8	16.8
真度 (%)	95.9	96.5	96.0	98.8	98.4	98.7
$RSD_F$ (%)	5.4	5.2	3.3	2.8	2.3	2.1
$RSD_R$ (%)	6.7	6.6	4.0	4.7	2.6	3.5
外れ値(真度)数 <sup>*1</sup>	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
外れ値(精度)数 <sup>*2</sup>	1/15	2/15	0/15	1/15	0/15	0/15

$RSD_F$ : 併行精度、 $RSD_R$ : 室間再現精度

\*1: 外れ値(真度)、[(定量値の平均値) / 推定含有量×100 (%)] の値が 80%未満または110%を超える

\*2: 外れ値(精度)、Cochran検定(\*2a)またはGrubbs検定(\*2b)における異常値(危険率<1%)

本試験では 20%エタノールの試験溶液を 240 の注入口内に注入するため、直後に水分が蒸発して体積が大きく膨張する。そのため、インサートの形状や状態、スプリット比等の条件が適切でないとカラムに導入される量が不安定となり、結果にばらつきが生じる。また、実施した試験機関から、ピーク割れが発生する、繰り返し測定するとピーク面積の変動が大きくなることがある、インサートのガラスウールの有無や量によってピーク形状やピーク面積が大きく変化するとの報告があった。これらの問題の解決策として、スプリット比の調整など注入部分の条件の最適化が有効と考えられる。また、今回の結果から内標準による補正も極めて有効な手段であることが判明し、内標準法による試験の実施を希望する試験機関も存在した。

また、キャリーオーバーが発生するといった報告もあった。これに関しては、シリンジの洗浄液にメタノールを使用するとよいとの解決策も提示された。

#### 公定法変法による定量値

GC-FID(公定法変法)による定量値とその解析結果を表7に示した。これらの結果については、データ数が少なく、公定法からの変更点が様々であるため、性能パラメーターによる評価は実施しなかった。

3 機関のうち、規定よりも保持時間が早かった試験機関 N、並びにカラム、カラム温度が公定法と異なる試験機関 X の定量値は、絶対検量線法、内標準法ともに添加量とほぼ同じであった。一方、規定よりも注入量が多い試験機関 Y は定量値が全体的にやや低い傾向があった。以上から、本試験ではカラムや保持時間を変更しても性能に大きな変化は生じないと考えられた。

## 2) GC/MS による試験結果

### 測定条件

GC/MS による試験は 13 機関で実施した。各試験機関の GC 条件を表 8、保持時間及び測定イオンを表 9 に示した。

試験機関 F、M 及び Q は公定法と同じカラムを用いており、そのうち、試験機関 M 及び Q はカラム温度も同じであった。また、試験機関 N は内径と膜厚が異なるカラムを使用していたが、カラム温度は公定法と同じであった。その他の試験機関はカラム、カラム温度ともに公定法とは異なるものを使用していた。

キャリアーガスはいずれの試験機関も He を使用しており、キャリアーガス流量は、0.8 ~ 1.66 mL/min、カラムのサイズが規定されている公定法よりも試験機関間の差が小さかった。また、すべての試験機関は試験溶液の注入にオートサンプラーを使用しており、スプリット比は 5 : 1 ~ 100 : 1 であった。MS 検出器は FID 検出器と比べて選択性や感度が良いため、GC-FID による試験時よりも高く設定されていた。

カプロラクタムの保持時間は 2.4 ~ 12.8 分と試験機関により差があったが、多くの試験機関は公定法で規定されている保持時間と同じ約 5 分となるようにキャリアーガス流量を調整していた。

定量イオンについては、カプロラクタムはいずれの試験機関も  $m/z$  113 を用いて定量していた。また、確認イオンとして、 $m/z$  55 及び 85 が使用されていた。内標準のヘプタラクタムの定量イオンについては 9 機関が  $m/z$  99、4 機関が  $m/z$  127 を使用していた。

カプロラクタム及びヘプタラクタムの測定イオンは大部分の試験機関で共通しており、これらのベースイオンやフラグメントパターンは装置や条件が異なってもあまり変わらないと考えられた。

**表7 GC-FID (公定法変法) によるカプロラクタムの定量値とその解析結果**

試験機関	絶対検量線法 (µg/mL)			内標準法 (µg/mL)		
	検体1	検体2	検体3	検体1	検体2	検体3
N	10.7, 10.6	14.5, 14.0	15.9, 16.1	10.9, 10.7	15.0, 14.3	16.4, 16.1
X	11.1, 11.3	15.4, 15.7	17.8, 17.7	11.3, 11.2	15.3, 15.2	17.5, 17.2
Y	10.4, 10.1	12.2, 13.5	14.6, 15.1	11.1, 10.9	13.3, 13.3	15.8, 17.2

**表8 GC/MS 測定における各試験機関の GC 条件とカプロラクタムの保持時間**

試験機関	測定条件			保持時間(分)	
	カラム(内径, 長さ, 膜厚)及びカラム温度	キャリアーガス流量	スプリット比	カプロラクタム	ヘプタラクタム
A	DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 200 (1 min)-2 /min-220 (5 min)	He 1.2 mL/min	30:1	4.2	5.2
D	DB-1 (0.25 mm, 30 m, 1 µm) 100 -10 /min-240 (5 min)	He 1.2 mL/min	50:1	7.5	8.9
F	DB-1 (0.32 mm, 30 m, 5 µm) 70 (1 min)-20 /min-300	He 1.66 mL/min	10:1	5.2	5.9
H	VF-1ms (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 75 (0.5 min)-10 /min-180 -25 /min-310 (10 min)	He 1.5 mL/min	20:1	6.5	7.8
I	DB-5 (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 100 (1 min)-15 /min-180 -50 /min-300 (1 min)	He 1.0 mL/min	30:1	4.7	5.6
K	DB-5ms (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 80 (1 min)-10 /min-300	He 1.0 mL/min	10:1	7.8	9.3
M	DB-1 (0.32 mm, 30 m, 5 µm) 240	He 1.0 mL/min <sup>*2</sup>	10:1	4.7	5.9
N	DB-1 (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 240	He 1.32 mL/min <sup>*2</sup>	100:1	2.4	2.5
P	DB-5ms (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 120 -10 /min-240 -30 /min-300 (1 min)	He 0.8 mL/min	20:1	3.9	4.9
Q	DB-1 (0.32 mm, 30 m, 5 µm) 240	He 0.8 mL/min	5:1	4.4	5.5
S	TC-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 µm) 75 (0.5 min)-10 /min-230 (10 min)	He 1.0 mL/min	30:1	12.8	13.8
W	DB-1 (0.25 mm, 30 m, 1 µm) 150 (2 min)-30 /min-240 (1 min)	He 1.5 mL/min	10:1	4.1	4.7
X	VF-1ms (0.25 mm, 60 m, 1 µm) 150 -10 /min-250 (10 min)	He 1.2 mL/min	30:1	8.3	9.6

\*1: 定圧、他は定流量

表9 GC/MS測定における各試験機関の測定イオン

試験機関	保持時間(分)		定量イオン		確認イオン	
	カプロラクタム	ヘプタラクタム	カプロラクタム	ヘプタラクタム	カプロラクタム	ヘプタラクタム
A	4.2	5.2	113	127	55, 85	55, 99
D	7.5	8.9	113	99	55, 85	55, 127
F	5.2	5.9	113	127	85	99
H	6.5	7.8	113	99	85	127
I	4.7	5.6	113	99	85	127
K	7.8	9.3	113	127	85	99
M	4.7	5.9	113	127	84, 85	98, 99
N	2.4	2.5	113	99	85	70
P	3.9	4.9	113	99	55, 85	55, 85
Q	4.4	5.5	113	99	85	127
S	12.8	13.8	113	99	85	70
W	4.1	4.7	113	99	85	127
X	8.3	9.6	113	99	85	127

### 定量下限値

各試験機関における内標準の添加方法及び添加濃度、並びにカプロラクタムの定量下限値を表10に示した。内標準の添加方法や濃度は試験機関により様々であった。

定量下限値は1~5 µg/mLであり、いずれの試験機関も試験は可能であった。定量下限値はGC-FIDと比べて大きな違いはなかったが、これは、GC-FIDの定量下限値で試験は可能であり、GC/MSにおいても同様に定量下限値が規格値の1/3~1/10となるようスプリット比をできるだけ大きく設定したためと考えられた。

### 定量値の解析

GC/MSによる13機関の定量値とその解析結果を表11に示した。絶対検量線法では、外れ値(真度)が9つと多く存在した。さらに、Cochran検定による外れ値(精度)が2つ、Grubbs検定による外れ値(精度)が1つ存在した。絶対検量線法における真度は93.7~96.1%、RSD<sub>r</sub>は6.7~14.4%、RSD<sub>R</sub>は16.8~21.7%であり、検体1のRSD<sub>r</sub>が目標値を満たさなかった。また、他の性能パラメーター

の値も公定法と比べて劣っていた。

GC/MSは検出器が真空状態であることから、試験溶液がインサートからカラムへ導入される速度がGC-FIDと比べて速い。そのため、試験溶液の注入口部分の条件についてはGC-FIDよりも慎重に設定する必要があると考えられた。

一方、内標準法では外れ値(真度)、外れ値(精度)ともに存在しなかった。また、内標準の添加方法や濃度は試験機関により様々であったが、真度は94.1~96.0%、RSD<sub>r</sub>は2.0~4.4%、RSD<sub>R</sub>は7.0~9.4%であり、いずれの性能パラメーターの値も目標値を満たしていた。

GC/MSでは様々なGC条件で測定が行われたが、これらの条件の違いによる差はみられなかった。また、GC/MSの試験を実施した試験機関からもピーク割れ、キャリアオーバー等が発生するといった報告があった。これらの問題については、GC-FIDと同様に、注入口部分の条件の見直しや内標準による補正により改善が可能と考えられた。

**表 1 0 GC/MS 測定における内標準の添加方法と定量下限値**

試験機関	内標準の添加方法	内標濃度* ( $\mu\text{g/mL}$ )	定量下限値 ( $\mu\text{g/mL}$ )
A	検体 2.5 mL に IS (0.3 mg/mL) 1 mL を添加し、 20%エタノールで 10 mL に定容	30	1.5
D	検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 15 $\mu\text{L}$ を添加	約15	5
F	検体 10 mL にIS (3 mg/mL) 150 $\mu\text{L}$ を添加	約45	1
H	検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 50 $\mu\text{L}$ を添加	約50	1.5
I	検体 2 mLに IS (30 $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL を添加	約10	1.5
K	検体 2 mL に IS (1 mg/mL) 20 $\mu\text{L}$ を添加	約10	3
M	検体 1 mL に IS (0.15 mg/mL) 50 $\mu\text{L}$ を添加	約 7	5
N	検体 2 mL に IS (0.6 mg/mL) 50 $\mu\text{L}$ を添加	約15	3
P	IS (1 mg/mL) 30 $\mu\text{L}$ に検体を添加し 2 mL に定容	15	3
Q	検体 1 mL に IS (30 $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL を添加	約15	3
S	検体 2 mL に IS (1.5 mg/mL) 20 $\mu\text{L}$ を添加	約15	1.5
W	検体 1 mL に IS (30 $\mu\text{g/mL}$ , エタノール) 0.5 mL 及び エタノール 3.5 mL を添加	約 3	1
X	検体 0.5 mL に IS (20 $\mu\text{g/mL}$ ) 0.5 mL を添加	約10	1.5

IS : 内標準 (ヘブタラクタム) 溶液、溶媒の記載がないものは20%エタノール溶液

\* : 測定溶液中の濃度

**表 1 1 GC/MSによるカプロラクタムの定量値とその解析結果**

試験機関	絶対検量線法 ( $\mu\text{g/mL}$ )			内標準法 ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	検体1	検体2	検体3	検体1	検体2	検体3
A	10.8, 9.56	14.4, 12.8	16.8, 16.7	8.03, 9.82	13.9, 12.8	15.7, 15.8
D	10.8, 10.9	14.5, 14.8	16.6, 16.6	10.8, 10.8	14.9, 14.8	16.6, 16.7
F	10.8, 11.6	14.7, 15.1	16.3, 15.6	10.8, 11.2	14.6, 14.4	16.3, 16.5
H	16.9, 10.3 <sup>*1,2a</sup>	16.7, 15.8	19.8, 17.0	11.2, 11.1	15.6, 15.7	17.1, 17.2
I	10.6, 10.6	14.8, 16.5	16.0, 15.9	10.8, 10.9	15.5, 14.9	16.4, 17.3
K	6.08, 7.14 <sup>*1</sup>	8.10, 7.69 <sup>*1,2b</sup>	9.87, 8.83 <sup>*1</sup>	9.40, 10.5	15.5, 14.0	16.5, 15.5
M	12.8, 10.5	13.4, 15.6	21.5, 18.0 <sup>*1</sup>	9.13, 8.72	12.5, 11.9	13.7, 13.9
N	8.14, 8.23 <sup>*1</sup>	12.7, 13.5	14.9, 15.0	11.3, 10.7	15.3, 15.1	16.6, 16.2
P	9.45, 10.7	14.5, 14.6	15.8, 16.4	9.89, 9.71	13.6, 13.7	15.4, 15.3
Q	8.68, 7.64	12.4, 12.5	14.1, 14.6	9.65, 9.48	14.0, 13.8	15.7, 16.4
S	12.3, 13.7 <sup>*1</sup>	15.1, 17.8	25.2, 16.7 <sup>*1,2a</sup>	11.5, 11.4	15.3, 14.7	16.6, 16.8
W	9.3.0, 9.55	12.7, 12.8	14.1, 14.5	9.48, 9.91	13.1, 13.1	14.7, 14.8
X	11.5, 12.8	15.1, 16.9	18.7, 19.2 <sup>*1</sup>	11.4, 11.6	15.7, 16.1	18.3, 18.2
平均値 ( $\mu\text{g/g}$ )	10.4	14.1	16.3	10.4	14.4	16.2
真度 (%)	94.9	93.7	96.1	94.1	96.0	95.1
RSD <sub>r</sub> (%)	14.4	6.7	11.7	4.4	3.0	2.0
RSD <sub>R</sub> (%)	21.7	16.8	19.8	9.4	7.9	7.0
外れ値 (真度) 数 <sup>*1</sup>	4/13	1/13	4/13	0/13	0/13	0/13
外れ値 (精度) 数 <sup>*2</sup>	1/13	1/13	1/13	0/13	0/13	0/13

RSD<sub>r</sub> : 併行精度、RSD<sub>R</sub> : 室間再現精度

\*<sup>1</sup> : 外れ値 (真度)、[ (定量値の平均値) / 推定含有量 $\times 100$  (%) ] の値が 80%未満または110%を超える

\*<sup>2</sup> : 外れ値 (精度)、Cochran検定 (\*<sup>2a</sup>) またはGrubbs検定 (\*<sup>2b</sup>) における異常値 (危険率 <1%)

#### 4. 各測定法の性能評価

GC-FID（公定法）及び GC/MS の性能パラメーターと外れ値数を表 1 2 にまとめた。

公定法では、絶対検量線法の定量値において精度の外れ値が存在したが、すべての性能パラメーターの値は目標値を満たしていた。内標法では、外れ値が減少し、すべての性能パラメーターが改善し、極めて良好な値を示した。以上から GC-FID（公定法）は規格試験法として十分な性能を有していることが判明した。さらに、内標準法を用いるとその性能は格段に向上することが判明した。一方、実施した試験機関からピーク割れやキャリアオーバーが発生したという報告があったが、これらの問題に対しては注入部分の条件の見直しが有効な手段と考えられた。

GC/MS では、絶対検量線法において外れ値（真度）が多く存在し、一部の併行精度が目標値を満たさなかった。しかし、内標法では真度、精度ともに外れ値がなく、いずれの性能パラメーターの値も目標値を満たしており、代替法として適用可能であった。GC/MS では内標準法を使用することが望ましい。また、公定法と同様にピーク割れ等の問題が発生することがあった。

公定法変法については、サイズが異なるカラムの使用や、保持時間が規定から外れるようなキャリアーガス流量でも添加量に近い定

量値が得られ、公定法は十分な頑健性を有していると考えられた。ただし、注入量を増やすと注入口部分の負荷が大きくなり、正確な定量値が得られなくなる可能性があった。

#### D. 結論

ナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム試験法について試験室間共同試験を行い、公定法及び GC/MS の性能を評価した。

公定法の性能パラメーターの値は目標値を十分に満たしており、規格試験法として十分な性能を有していることが判明した。また、測定条件の軽微な変更に対して十分な頑健性を有していた。一方、注入口部分の状態によっては、ピーク割れやキャリアオーバー等の問題が発生することがある。これらの解決策として、注入条件の見直し、内標準による補正、シリンジ洗浄液の変更が有効である。

食品衛生法では採用されていない GC/MS については、絶対検量線法では一部の性能パラメーターの値が目標値を満たさなかったが、内標準法は規格試験法の代替法として十分に適用可能であった。しかし、GC/MS においても公定法と同様にピーク割れやキャリアオーバー等の問題が発生することがあるため、注入口部分の条件設定に関しては十分な注意が必要である。

表 1 2 測定法ごとの真度、精度及び外れ値数

試験法	試験機関数	定量法	真度 (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	RSD <sub>R</sub> (%)	外れ値数	
						真度 <sup>*1</sup>	精度 <sup>*2</sup>
公定法	15	絶対検量線法	95.9 ~ 96.5	3.3 ~ 5.4	4.0 ~ 6.7	0/45	3/45
		内標準法	98.4 ~ 98.8	2.1 ~ 2.8	2.6 ~ 4.7	0/45	1/45
GC/MS	13	絶対検量線法	93.7 ~ 96.1	6.7 ~ 14.4	16.8 ~ 21.7	9/39	3/39
		内標準法	94.1 ~ 96.0	2.0 ~ 4.4	7.0 ~ 9.4	0/39	0/39

RSD<sub>r</sub> : 併行精度、RSD<sub>R</sub> : 室間再現精度

\*1 : 外れ値（真度）、 $[(\text{定量値の平均値}) / \text{推定含有量} \times 100 (\%)]$  の値が 80%未満または110%を超える

\*2 : 外れ値（精度）、Cochran検定またはGrubbs検定における異常値（危険率 <1%）

## E. 参考文献

- 1) 河村葉子、器具・容器包装の規格基準とその試験法( ISBN4-8058-2663-0 )、中央法規、p 32-34 (2006)
- 2) 日本薬学会編、衛生試験法・注解 2010、( ISBN978-4-307-47039-1 )金原出版株式会社、p 624-626 (2010)
- 3) 日本薬学会編、衛生試験法・注解 2010、( ISBN978-4-307-47039-1 )金原出版株式会社、p 426-428、p 630-631 (2010)
- 4) Felix J.S. et al, Identification and migration of degradation compounds from irradiation of multilayer polyamine 6 film for meat food stuffs and cheese, Anal. Bioanal. Chem., 391, 847-857 (2008)
- 5) Felix J.S. and Nerin C., Analytical tools for identification of non-intentionally added substances (NIAS) coming from polyurethane adhesives in multilayer packing materials and their migration into food simulants, Anal. Bioanal. Chem., 403, 2869-2882 (2012)
- 6) Krajcnik V, et al, High-performance liquid chromatography of 6-caprolactam and its cyclic oligomers present in polyamide 6, J. Chromatogr., 240, 539-542 (1982)
- 7) Bonifaci L. et al, Analysis of e-caprolactam and its cyclic oligomers by high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr., 585, 333-336 (1991)
- 8) Barkby C.T. and Lawson G., Analysis of migrants from nylon 6 packaging films into boiling water, Food Addit. Contam., 10, 541-553 (1993)
- 9) Begley T.H. et al, Determination of migrants in and migration from nylon food packaging. Food Addit. Contam., 12, 671-676 (1995)
- 10) Soto-Valdez H. et al, Determination of potential migrants present in nylon microwave and roasting bags and migration into olive oil, Food Addit. Contam., 14, 309-318 (1997)
- 11) Gramshaw J.W. and Soto-Valdez H., Migration from polyamide microwave and roasting bags into roast chicken, Food Addit. Contam., 15, 329-335 (1998)
- 12) Bradley E.L. et al, Method of test and survey of caprolactam migration into food packaged in nylon-6, Food Addit. Contam., 21, 1179-1185 (2004)
- 13) 六鹿元雄ら、ナイロン製品からのモノマーおよび芳香族第一級アミン類の溶出、食衛誌、51、228-236 (2010)
- 14) Heimrich M. et al, Cyclic oligomers in polyamide for food contact material: quantification by HPLC-CLND and single-substance calibration. Food Addit. Contam., 29, 846-860 (2012)
- 15) ISO 5725-2 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 2 : Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (1994)
- 16) JIS Z 8402-2、測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度) - 第2部: 標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本的な方法 (1999)
- 17) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第 0926001 号、食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて、(平成20年9月26日)
- 18) Mori S., Gel permeation chromatography of the cyclic monomers and oligomers in nylon 6 and nylon 66, J. Chromatogr., 49, 230-238 (1970)

## F. 健康危害情報

なし