

＜その1＞ 器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる試験法の性能評価

研究協力者	片岡 洋平	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	阿部 裕	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	四柳 道代	国立医薬品食品衛生研究所
研究代表者	六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

ビスフェノール A (2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane) は、ポリカーボネート (PC) の原料モノマーであり重合時に未重合体が残存する。しかも、PCは酸化により末端から分解してビスフェノール A を生成することもあるため、PCの材質中には、未重合体及び分解物であるビスフェノール A が存在する。

食品衛生法における食品・添加物等の規格基準では、PC を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装について、ビスフェノール A (フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを含む。) の合算値として材質中に 500 µg/g 以下、溶出量として 2.5 µg/mL の規格値とともに、規格に適合していることを判定するための試験法が設定されている。そのうち溶出量については溶出試験を行うための定量分析法が試験法 (以下、告示試験法) として定められている。なお、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールはポリカーボネート製造時に添加される重合調節剤であり、食品・添加物等の規格基準ではビスフェノール A と合算で規制されている。

告示試験法の溶出試験では、PC を主成分とする器具・容器包装を用いる食品の区分によって浸出用液の種類が設定されており、油脂及び脂肪性食品、酒類、それ以外の食品で pH5 を超えるもの及び pH5 以下のものに対して、浸出用液をそれぞれへ

プタン、20%エタノール、水、4%酢酸とすることが規定されている。

溶出操作は、試料の表面積 1 cm² につき 2 mL の割合の 60°C に加温した浸出用液を用い、60°C に保ちながら 30 分放置して溶出液を調製する。ただし、使用温度が 100°C を超える場合であって浸出用液が水又は 4%酢酸の場合には 95°C に保ちながら 30 分間、浸出用液がヘプタンの場合には 25°C に保ちながら 1 時間放置して溶出液を調製する。

溶出操作後の定量分析では、浸出用液が 20%エタノール、水、4%酢酸の場合は、溶出液を試験溶液として HPLC によりビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールの 3 化合物を分析する。一方、浸出用液がヘプタンの場合は、溶出液をアセトニトリルに転溶し、得られた溶液を HPLC により 3 化合物を分析する。

しかし、この告示試験法については、これまで分析法の性能を評価するのに必要な妥当性試験が行われておらず、十分な評価がされていない。そこで本研究では、告示試験法について、23 機関で共同試験を実施し、その性能を評価した。

B. 研究方法

1. 試薬、試液等

1) 試料の調製

水：LC/MS 用、エタノール：環境分析用、酢酸：特級、ヘプタン：環境分析用、以

上富士フィルム和光純薬製

ビスフェノール A 標準品：環境分析用、フェノール標準品：特級、*p-tert*-ブチルフェノール標準品：環境分析用、以上関東化学製

4%酢酸：酢酸 40 mL を量り、水を加えて 1000 mL とした。計 3 L 調製し混和した。

20%エタノール：エタノール 200 mL を量り、水を加えて 1000 mL とした。計 3 L 調製し混和した。

混合標準原液①：ビスフェノール A 標準品、フェノール標準品及び *p-tert*-ブチルフェノール標準品各 115.0 mg をとり、エタノールを加えて正確に 100 mL とした。

混合標準原液②：ビスフェノール A 標準品 180.0 mg、フェノール標準品 180.0 mg 及び *p-tert*-ブチルフェノール標準品 180.0 mg をとり、エタノールを加えて正確に 200 mL とした。

混合標準原液③：ビスフェノール A 標準品 120.0 mg、フェノール標準品 120.0 mg 及び *p-tert*-ブチルフェノール標準品 120.0 mg をとり、エタノールを加えて正確に 100 mL とした。

混合標準原液④：ビスフェノール A 標準品、フェノール標準品及び *p-tert*-ブチルフェノール標準品各 160.0 mg をとり、エタノールを加えて正確に 200 mL とした。

混合標準原液⑤：ビスフェノール A 標準品、フェノール標準品及び *p-tert*-ブチルフェノール標準品各 240.0 mg をとり、エタノールを加えて正確に 50 mL とした。

混合標準原液⑥：ビスフェノール A 標準品、フェノール標準品及び *p-tert*-ブチルフェノール標準品各 160.0 mg をとり、エタノールを加えて正確に 100 mL とした。

2) 検体の均質性及び安定性の確認

以下に示すもの以外は、①配布試料の調製に示すものを用いた。

水：オルガノ社製超純水装置ピューリック ω で精製した超純水

アセトニトリル：LC-MS 用、関東化学製

エタノール：残留農薬・PCB 試験用、富士フィルム和光純薬製

酢酸：精密分析用、シグマアルドリッチジャパン社製

ヘプタン：特級、富士フィルム和光純薬製

ジエチレングリコール：>99.5%、東京化成工業製

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社製

50%アセトニトリル溶液：アセトニトリル 500 mL に水を加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

2%ジエチレングリコール・アセトン溶液：ジエチレングリコール 2 mL にアセトンを加えて混和し、正確に 100 mL とした。

2. 試料の概要

試料 1~8 を（一財）食品薬品安全センターにおいて次項に示す方法で調製した。各試料のビスフェノール A、フェノール、*p-tert*-ブチルフェノールの濃度を表 1 に示した。

なお、試料 1 及び 2 は浸出用液として水、試料 3 及び 4 は浸出用液として 4%酢酸、試料 5 及び 6 は浸出用液として 20%エタノール、試料 7 及び 8 は浸出用液としてヘプタンを用いた。また、浸出用液として用いた水をブランク試料 1、4%酢酸をブランク試料 2、20%エタノールをブランク試料 3、ヘプタンをブランク試料 4 とした。

表 1 検体の各分析対象化合物濃度

検体No	浸出用液	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)		
		ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール
検体1	水	2.3	2.3	2.3
検体2		0.9	0.9	0.9
検体3	4%酢酸	2.4	2.4	2.4
検体4		0.9	0.9	0.9
検体5	20%エタノール	2.3	2.3	2.3
検体6		0.8	0.8	0.8
検体7	ヘプタン	48 (2.4)	49 (2.4)	50 (2.4)
検体8		16 (0.8)	17 (0.8)	18 (0.8)

括弧内は検体から調製した試験溶液の濃度

3. 試料の調製

試料 1: 混合標準原液①2 mL を正確にとり、水を加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 2: 混合標準原液②1 mL を正確にとり、水を加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 3: 混合標準原液③2 mL を正確にとり、4%酢酸を加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 4: 混合標準原液④1 mL を正確にとり、4%酢酸を加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 5: 混合標準原液⑤2 mL を正確にとり、20%エタノールを加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 6: 混合標準原液⑥1 mL を正確にとり、20%エタノールを加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 7: 混合標準原液⑦10 mL を正確にとり、ヘプタンを加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

試料 8: 混合標準原液⑧を 10 mL ずつ正確にとり、ヘプタンを加えて混和し、正確に 1000 mL とした。

4. 検体の送付

試料 1~8 及びブランク試料 1~4 の各 10 mL をそれぞれ褐色のガラス瓶に小分けし、検体 1~8 及びブランク検体 1~4 とし

て、濃度非明示で令和元年 9 月 17 日に共同試験の参加機関に発送した。

5. 参加機関

共同試験の計画及びプロトコール作成並びに共同試験の実施には民間の登録検査機関の 10 機関と公的な衛生研究所などの 11 機関が参加した。このうち登録検査機関の 2 機関はそれぞれ異なる 2 つの機関で試験を実施したため、今回はこれらをすべて別機関として扱い、共同試験への参加機関数は合計で 23 機関となった。

6. 検体の均質性及び安定性の確認

検体の均質性と安定性の確認のための分析は、国立医薬品食品衛生研究所において発送直後 (0 日目) とその約 3 ヶ月後 (90 日目) に実施した。なお、均質性と安定性の確認には告示試験法は用いず、より精密な分析が可能と考えられた以下の分析法を用いた。

1) 装置等

HPLC 及び紫外吸光度検出器: 1100 シリーズ、Agilent Technologies 社製

2) 測定溶液の調製

浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールの検体 1~6 は、検体を測定溶液とした。

浸出用液がヘプタンの検体 7 及び検体 8 は、検体から調製した溶液 25 mL を分液漏斗に移し、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を 100 mL のナスフラスコに移した。ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のナスフラスコに合わせ、キーパーとして 2%ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.5 mL を添加し、エバポレーターにより溶媒を留去した。これに 50%アセトニトリル溶液を加え、25 mL に定容して溶液を測定溶液とした。

3) 検量線用測定溶液の調製

ビスフェノール A、フェノール及び *p*-*tert*-ブチルフェノールそれぞれ約 10mg を精密に量り、100 mL のメスフラスコに採り、メタノールを加えて 100 mL とした。この溶液 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL 及び 5 mL を採り、それぞれ 20 mL のメスフラスコに入れ、各検体に対応する溶媒（水、4%酢酸又は 20%エタノール、50%アセトニトリル）を加えて 20 mL とし（5 µg/mL、10 µg/mL、15 µg/mL、20 µg/mL 及び 25 µg/mL）とした。これらを 2 mL ずつ採り、それぞれ 20 mL のメスフラスコに入れ、同様に各検体に対応する溶媒（水、4%酢酸又は 20%エタノール、50%アセトニトリル）を加えて 20 mL としたもの（0.5 µg/mL、1.0 µg/mL、1.5 µg/mL、2.0 µg/mL 及び 2.5 µg/mL）を検量線用測定溶液とした。

4) 測定条件

カラム：TSKgel ODS-80Ts（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒子径：5 µm）
カラム温度：40°C
検出器：紫外吸光検出器
波長：217nm
移動相：A アセトニトリル、B 水、A : B

(3 : 7) から (100 : 0) までの直線濃度勾配を 35 分間行った後、アセトニトリルを 10 分間送液した。

注入量：100 µL

5) 定量

検量線用測定溶液を HPLC に注入し、信号強度と濃度との 1 次回帰式を求め検量線を作成した。ビスフェノール A、フェノール及び *p*-*tert*-ブチルフェノールの各定量値は作製した検量線に検体の測定溶液の信号強度をそれぞれ内挿し算出した。

6) 検体の分析と結果の評価

各検体又は検体から調製した測定溶液 10 点について、2 併行分析した。これら測定溶液を分析する順番はランダムにした。

検体の均質性は、IUPAC の技能試験のハーモナイズドプロトコールの 2006 年版²⁾ Appendix により示されている統計的手法を用いて分析結果を解析して評価した。すなわち、0 日目に分析した各検体の分析値とその値を下記の判定式に代入し、判定式が成立する場合は均質性に問題はないと判断した。なお、併行分析した測定溶液の点数に応じて、自由度 9 の χ^2 値 (1.88) と F 値 (1.01) を代入した。 σ_R は各検体の濃度に対応する Horwitz/Tompson 式 ($\sigma_R = 0.02C^{0.8495}$ 、C : 検体濃度) から算出し、代入した。

$$s_{sam}^2 \leq \chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times s_{an}^2$$

s_{sam} : 試料間標準偏差

χ^2 : χ^2 値

σ_R : 室間再現標準偏差の予測値

F : F 値

s_{an} : 試料内標準偏差

安定性は ISO 13528 : 2015³⁾ Annex B により示されている統計的手法を用いて分析

結果を解析して評価した。すなわち、90 日目に分析した各検体の分析値と 0 日目と 90 日目に分析した分析値の平均値の最大値と最小値を下記の判定式に代入し、判定式が成立する場合は安定性に問題はないと判断した。

$$X_{max} - X_{min} \leq 0.3\sigma_R$$

X_{max} : 検証期間中に取得した分析結果の平均値の最大値

X_{min} : 検証期間中に取得した分析結果の平均値の最小値

6. 告示試験法

1) 試験溶液の調製

浸出用液として水、4%酢酸、20%エタノールを用いた場合は、検体をそのまま試験溶液とした。浸出用液としてヘプタンを用いた場合は、まず検体の溶出溶液 25 mL を分液漏斗に移し、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を 25 mL 容のメスフラスコに移した。ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のメスフラスコに合わせた。次いでアセトニトリルを加えて 25 mL とし、これを試験溶液とした。

2) 定量

①操作条件

カラム充てん剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム温度：40°C

検出器：紫外吸収検出器 217 nm

移動相：水及びアセトニトリルの混液（7：3）から（0：10）まで 35 分間の直線濃度勾配で変化させ 10 分間保持した。

②検量線の作成

ビスフェノール A、フェノール及び *p*-tert-ブチルフェノールをそれぞれ 0.5、1、1.5、

2.0 及び 2.5 µg/mL 含む標準溶液を用い、液体クロマトグラフィーを行いピーク高さまたは面積から検量線を作成した。

③分析

試験溶液 100 µL を用いて液体クロマトグラフィーを行いピーク高さまたは面積を求め、検量線を用いて試験溶液中のビスフェノール A、フェノール及び *p*-tert-ブチルフェノールの濃度を求めた。

7. 共同試験の実施と結果の解析

共同試験は「<別添 1>令和元年度 共同試験 計画書(以下、計画書)」にしたがい実施した。計画書には、分析方法の他、分析の全般、送付検体の保管、分析計画、分析実施期間、分析結果の報告に関する注意事項を示した。

分析結果の報告では、Microsoft Excel を使って作成した報告様式を配布し、分析結果の他、分析環境の情報、また分析に関して気づいた点などの情報を提供するように参加機関に依頼した。共同試験の分析の実施期間は、検体到着後の 2019 年 9 月 18 日～2019 年 11 月 22 日の約 2 ヶ月間とした。

参加機関から報告された共同試験結果は Codex 分析・サンプリング部会の関連文書である CXG64-1995⁴⁾に示されたプロトコールにしたがい、Microsoft Excel 2019 を使用して解析した。解析で併行相対標準偏差 (RSD_r %)、室間再現相対標準偏差 (RSD_R %) 及び RSD_R と Horwitz/Tompson 式で予測される室間再現相対標準偏差 (PRSD_R %) の比である HorRat 値を算出した。なお、PRSD_R は各検体の濃度に対応する Horwitz/ Tompson 式である PRSD_R % = 2C^{-0.1505} (C: 検体濃度) から算出した。また、HorRat 値による分析法の性能評価における性能規準の指標として Codex 委員会の手順書⁵⁾を参照した。この手順書では、分

析法の性能規準として、HorRat 値が 2 以下を設定している。

また、計画書には解析結果の分析法の性能パラメーターについて以下の目標値を設定し、解析結果と比較した。

RSD_r : 10%以下、

RSD_R : 25%以下

真度 : 80%~110%

なお、真度は、各機関の分析値の平均値の検体濃度に対する百分率で算出した。

C. 研究結果及び考察

1. 検体の均質性及び安定性

検体の均質性については、0 日目に分析

した各検体の分析値とその値を判定式に代入した(表 2-1~4)。その結果、いずれの検体についても上記の判定式が成立したことから、検体が均質であると確認された。

検体の安定性については、90 日目の各検体の分析値と 0 日目と 90 日目の分析値の平均値の最大値と最小値を上記の判定式に代入した(表 3-1~4)。その結果、いずれの検体についても上記の判定式が成立したことから、各検体の 90 日目までの安定性が確認された。したがって、計画書に記載の分析実施期間における検体の安定性に問題はないと判断された。

表 2-1 0 日目の検体の分析結果と均質性の解析結果 (浸出用液 : 水)

試料No.	検体1						検体2					
	濃度(µg/mL)						濃度(µg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.34	2.32	2.20	2.19	2.22	2.22	0.850	0.848	0.865	0.864	0.856	0.857
2	2.33	2.32	2.20	2.18	2.23	2.23	0.849	0.844	0.865	0.857	0.849	0.846
3	2.32	2.35	2.20	2.19	2.21	2.24	0.850	0.846	0.866	0.866	0.858	0.852
4	2.30	2.33	2.21	2.19	2.24	2.21	0.846	0.849	0.858	0.863	0.845	0.856
5	2.31	2.31	2.24	2.20	2.27	2.23	0.847	0.843	0.861	0.865	0.845	0.842
6	2.32	2.33	2.21	2.21	2.24	2.25	0.849	0.851	0.858	0.863	0.857	0.858
7	2.31	2.35	2.25	2.20	2.27	2.19	0.849	0.849	0.860	0.862	0.850	0.853
8	2.31	2.33	2.20	2.22	2.22	2.20	0.851	0.845	0.853	0.862	0.860	0.843
9	2.30	2.32	2.23	2.21	2.27	2.27	0.849	0.847	0.861	0.862	0.849	0.850
10	2.31	2.33	2.19	2.20	2.20	2.22	0.843	0.847	0.855	0.861	0.844	0.849
s^2_{sam}	0		0.0000081		0.000016		0		0.00000021		0.00000039	
$\chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times s^2$	0.018		0.017		0.018		0.0033		0.0034		0.0033	

表 2-2 0 日目の検体の分析結果と均質性の解析結果 (浸出用液 : 4%酢酸)

試料No.	検体3						検体4					
	濃度(µg/mL)						濃度(µg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.39	2.38	2.28	2.25	2.37	2.36	0.872	0.868	0.822	0.824	0.889	0.889
2	2.39	2.38	2.25	2.25	2.35	2.37	0.868	0.869	0.826	0.820	0.902	0.882
3	2.39	2.38	2.29	2.26	2.38	2.40	0.875	0.871	0.821	0.816	0.885	0.874
4	2.39	2.38	2.26	2.24	2.35	2.35	0.876	0.875	0.826	0.820	0.899	0.880
5	2.38	2.37	2.31	2.28	2.39	2.42	0.873	0.869	0.823	0.815	0.890	0.878
6	2.39	2.38	2.30	2.24	2.38	2.35	0.870	0.868	0.820	0.823	0.873	0.890
7	2.39	2.38	2.26	2.25	2.36	2.37	0.873	0.867	0.822	0.822	0.888	0.879
8	2.39	2.38	2.27	2.25	2.36	2.37	0.876	0.870	0.822	0.822	0.883	0.879
9	2.39	2.39	2.30	2.24	2.39	2.35	0.877	0.875	0.823	0.824	0.888	0.897
10	2.39	2.39	2.30	2.25	2.38	2.35	0.876	0.866	0.824	0.819	0.895	0.885
s^2_{sam}	0		0		0.000075		0		0		0	
$\chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times s^2$	0.019		0.018		0.019		0.0036		0.0031		0.0036	

表 2-3 0 日目の検体の分析結果と均質性の解析結果（浸出用液：20%エタノール）

試料No.	検体5						検体6					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.26	2.26	2.27	2.29	2.26	2.29	0.787	0.792	0.796	0.793	0.796	0.792
2	2.26	2.25	2.27	2.28	2.25	2.26	0.790	0.792	0.785	0.785	0.781	0.779
3	2.26	2.26	2.27	2.27	2.26	2.26	0.787	0.793	0.787	0.787	0.781	0.785
4	2.26	2.25	2.28	2.27	2.28	2.26	0.793	0.790	0.789	0.789	0.777	0.784
5	2.26	2.26	2.28	2.27	2.28	2.25	0.785	0.790	0.789	0.794	0.786	0.796
6	2.27	2.26	2.27	2.28	2.27	2.27	0.798	0.788	0.790	0.788	0.788	0.785
7	2.26	2.25	2.27	2.29	2.26	2.29	0.786	0.794	0.789	0.786	0.785	0.783
8	2.26	2.25	2.28	2.27	2.29	2.26	0.781	0.792	0.790	0.786	0.784	0.778
9	2.26	2.25	2.29	2.28	2.29	2.27	0.788	0.792	0.790	0.792	0.785	0.793
10	2.26	2.24	2.28	2.28	2.28	2.27	0.784	0.788	0.788	0.783	0.783	0.777
s^2_{sam}	0		0		0		0		0.000033		0.000084	
$\chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times s^2$	0.017		0.018		0.018		0.0029		0.0029		0.0029	

表 2-4 0 日目の検体の分析結果と均質性の解析結果（浸出用液：ヘプタン）

試料No.	検体7						検体8					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.32	2.41	2.40	2.39	2.42	2.39	0.787	0.791	0.789	0.786	0.796	0.784
2	2.39	2.39	2.41	2.38	2.46	2.38	0.778	0.796	0.776	0.773	0.793	0.782
3	2.39	2.32	2.35	2.31	2.40	2.37	0.788	0.816	0.791	0.762	0.797	0.788
4	2.36	2.45	2.38	2.39	2.39	2.38	0.786	0.787	0.741	0.766	0.785	0.786
5	2.33	2.44	2.37	2.36	2.37	2.41	0.785	0.794	0.772	0.788	0.797	0.800
6	2.35	2.43	2.35	2.41	2.38	2.39	0.787	0.787	0.776	0.776	0.788	0.791
7	2.38	2.43	2.40	2.37	2.38	2.35	0.786	0.801	0.765	0.784	0.785	0.798
8	2.37	2.36	2.38	2.36	2.39	2.40	0.780	0.784	0.775	0.779	0.793	0.790
9	2.27	2.41	2.42	2.42	2.38	2.40	0.779	0.801	0.755	0.766	0.787	0.792
10	2.33	2.47	2.38	2.34	2.37	2.39	0.773	0.779	0.733	0.798	0.773	0.808
s^2_{sam}	0		0.00019		0		0		0		0	
$\chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times s^2$	0.023		0.019		0.020		0.0030		0.0031		0.0030	

表 3-1 90 日目の検体の分析結果と安定性の解析結果（浸出用液：水）

試料No.	検体1						検体2					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.27	2.28	2.24	2.23	2.27	2.27	0.878	0.877	0.851	0.843	0.846	0.833
2	2.29	2.28	2.25	2.25	2.29	2.28	0.877	0.874	0.849	0.847	0.840	0.840
3	2.28	2.27	2.25	2.24	2.29	2.27	0.879	0.876	0.851	0.850	0.849	0.847
4	2.28	2.29	2.25	2.26	2.29	2.29	0.870	0.876	0.847	0.849	0.835	0.848
5	2.27	2.27	2.23	2.23	2.23	2.24	0.873	0.874	0.848	0.846	0.835	0.834
6	2.29	2.29	2.25	2.25	2.30	2.29	0.871	0.879	0.849	0.846	0.847	0.843
7	2.29	2.28	2.26	2.25	2.30	2.29	0.872	0.875	0.849	0.851	0.841	0.849
8	2.28	2.29	2.25	2.26	2.29	2.29	0.866	0.874	0.852	0.849	0.851	0.844
9	2.29	2.27	2.25	2.25	2.29	2.27	0.873	0.875	0.849	0.848	0.840	0.841
10	2.27	2.28	2.25	2.25	2.28	2.27	0.867	0.869	0.843	0.845	0.835	0.837
$X_{max} - X_{min}$	0.061		0.061		0.088		0.033		0.022		0.022	
$0.3\sigma_R$	0.097		0.095		0.096		0.042		0.042		0.042	

表 3-2 90 日目の検体の分析結果と安定性の解析結果（浸出用液：4%酢酸）

試料No.	検体3						検体4					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.40	2.38	2.32	2.29	2.41	2.40	0.894	0.895	0.838	0.838	0.898	0.901
2	2.42	2.37	2.33	2.29	2.43	2.41	0.900	0.889	0.842	0.834	0.903	0.896
3	2.46	2.39	2.34	2.30	2.44	2.40	0.895	0.888	0.840	0.840	0.902	0.896
4	2.38	2.38	2.30	2.29	2.39	2.39	0.894	0.896	0.841	0.837	0.901	0.897
5	2.39	2.37	2.31	2.29	2.42	2.40	0.897	0.893	0.839	0.837	0.899	0.899
6	2.40	2.38	2.32	2.29	2.40	2.40	0.896	0.892	0.842	0.839	0.900	0.900
7	2.40	2.36	2.32	2.29	2.41	2.39	0.898	0.894	0.837	0.839	0.902	0.898
8	2.38	2.37	2.30	2.29	2.41	2.40	0.891	0.891	0.838	0.838	0.899	0.897
9	2.46	2.39	2.35	2.30	2.46	2.42	0.901	0.893	0.839	0.839	0.906	0.899
10	2.40	2.36	2.30	2.29	2.41	2.39	0.895	0.899	0.842	0.838	0.903	0.902
$X_{max} - X_{min}$	0.048		0.078		0.089		0.028		0.022		0.023	
$0.3\sigma_R$	0.101		0.097		0.101		0.043		0.041		0.044	

表 3-3 90 日目の検体の分析結果と安定性の解析結果（浸出用液：20%エタノール）

試料No.	検体5						検体6					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.30	2.28	2.26	2.28	2.25	2.30	0.805	0.807	0.789	0.782	0.807	0.805
2	2.29	2.28	2.26	2.27	2.31	2.29	0.804	0.803	0.778	0.776	0.807	0.805
3	2.29	2.30	2.27	2.27	2.29	2.30	0.800	0.800	0.785	0.776	0.806	0.803
4	2.29	2.28	2.27	2.27	2.30	2.30	0.805	0.803	0.786	0.782	0.807	0.805
5	2.30	2.28	2.28	2.26	2.30	2.29	0.806	0.802	0.790	0.777	0.809	0.805
6	2.29	2.30	2.27	2.27	2.30	2.30	0.805	0.803	0.784	0.789	0.806	0.806
7	2.30	2.29	2.26	2.28	2.30	2.30	0.802	0.799	0.786	0.785	0.804	0.803
8	2.29	2.30	2.28	2.27	2.30	2.30	0.807	0.808	0.786	0.789	0.807	0.806
9	2.30	2.29	2.29	2.27	2.30	2.29	0.807	0.809	0.787	0.781	0.808	0.808
10	2.29	2.28	2.28	2.27	2.30	2.29	0.800	0.798	0.777	0.784	0.804	0.805
$X_{max} - X_{min}$	0.048		0.017		0.042		0.022		0.018		0.028	
$0.3\sigma_R$	0.096		0.096		0.097		0.040		0.039		0.040	

表 3-4 90 日目の検体の分析結果と安定性の解析結果（浸出用液：ヘプタン）

試料No.	検体7						検体8					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
1	2.31	2.40	2.35	2.30	2.37	2.42	0.788	0.808	0.781	0.784	0.779	0.785
2	2.33	2.44	2.41	2.30	2.40	2.45	0.795	0.817	0.788	0.780	0.779	0.750
3	2.45	2.40	2.37	2.39	2.40	2.42	0.784	0.783	0.758	0.766	0.781	0.779
4	2.32	2.38	2.35	2.40	2.37	2.39	0.824	0.763	0.763	0.794	0.794	0.786
5	2.34	2.42	2.42	2.31	2.44	2.45	0.804	0.792	0.753	0.813	0.785	0.781
6	2.30	2.40	2.41	2.32	2.44	2.45	0.789	0.800	0.755	0.769	0.786	0.792
7	2.41	2.45	2.37	2.36	2.44	2.41	0.811	0.793	0.772	0.780	0.783	0.788
8	2.34	2.45	2.37	2.43	2.42	2.46	0.801	0.798	0.774	0.780	0.783	0.780
9	2.34	2.37	2.40	2.37	2.40	2.38	0.786	0.802	0.777	0.763	0.765	0.786
10	2.40	2.42	2.42	2.30	2.46	2.42	0.793	0.791	0.766	0.756	0.760	0.789
$X_{max} - X_{min}$	0.089		0.094		0.080		0.030		0.034		0.034	
$0.3\sigma_R$	0.100		0.100		0.101		0.039		0.039		0.039	

2. 共同試験で取得された分析結果の解析

1) 分析結果の選択

共同試験の分析は9月24日から11月19日までに実施され、計画書の実施期間内に完了した。

全 23 機関から報告された各検体の全分析結果を表 4-1~4 に示した。なお、機関 D、

F、P、X の計 4 ヶ所については、規定の注 入量を満たす分析機器を所持していない など、分析環境の制約により計画書にした がった分析が行えなかった。このため、こ の後の分析結果の解析からは除くことに し、全 19 機関から報告された各検体の分 析結果を解析した。

表 4-1 共同試験による分析結果（浸出用液：水）

機関	検体1						検体2					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
A	2.35	2.34	2.23	2.22	2.30	2.30	0.923	0.923	0.859	0.862	0.908	0.908
C	2.27	2.27	2.37	2.36	2.25	2.25	0.885	0.883	0.920	0.920	0.881	0.878
D* ¹	2.17	2.18	2.27	2.27	2.16	2.17	0.845	0.837	0.879	0.877	0.842	0.838
E	2.34	2.34	2.17	2.16	2.28	2.28	0.898	0.898	0.824	0.823	0.881	0.880
F* ¹	2.25	2.25	2.31	2.31	2.32	2.33	0.880	0.880	0.900	0.910	0.900	0.910
G	2.32	2.32	2.34	2.35	2.32	2.32	0.905	0.905	0.910	0.908	0.888	0.888
H	2.37	2.37	2.12	2.13	2.36	2.36	0.934	0.932	0.839	0.839	0.940	0.938
I	2.21	2.21	2.30	2.30	2.20	2.20	0.870	0.870	0.905	0.902	0.869	0.867
J	2.22	2.22	2.09	2.09	2.18	2.18	0.864	0.863	0.811	0.812	0.849	0.847
K	2.17	2.19	2.23	2.24	2.25	2.27	0.851	0.849	0.867	0.865	0.877	0.876
L	2.21	2.18	2.29	2.27	2.22	2.22	0.874	0.877	0.889	0.887	0.853	0.859
M	2.25	2.24	2.22	2.22	2.27	2.27	0.874	0.872	0.862	0.859	0.887	0.886
N	2.26	2.26	2.25	2.26	(2.26)* ²	(2.21)* ²	0.865	0.873	(0.790)* ²	(0.800)* ²	0.873	0.886
O	2.24	2.23	2.14	2.14	2.26	2.24	0.857	0.845	0.825	0.820	0.862	0.855
P* ¹	2.30	2.30	2.22	2.23	2.29	2.30	0.899	0.897	0.879	0.881	0.897	0.894
Q	2.19	2.19	2.08	2.08	2.15	2.14	0.848	0.848	0.801	0.800	0.829	0.813
R	2.24	2.23	2.24	2.23	2.24	2.23	0.875	0.879	0.866	0.866	0.870	0.872
S	2.30	2.30	2.26	2.26	2.29	2.29	0.898	0.897	0.882	0.883	0.895	0.895
T	2.29	2.29	2.33	2.32	2.30	2.30	0.873	0.872	0.879	0.879	0.875	0.874
U	2.28	2.27	(2.74)* ²	(2.74)* ²	2.34	2.34	0.881	0.880	(1.06)* ²	(1.05)* ²	0.905	0.906
V	(2.35)* ²	(2.31)* ²	2.32	2.29	2.31	2.28	(0.910)* ²	(0.895)* ²	(0.904)* ²	(0.885)* ²	0.892	0.879
W	2.14	2.14	2.15	2.15	2.21	2.22	0.842	0.843	0.841	0.841	0.882	0.880
X* ¹	2.88	2.88	2.82	2.82	2.88	2.87	1.13	1.12	1.09	1.08	1.05	1.05

表 4-2 共同試験による分析結果（浸出用液：4%酢酸）

機関	検体3						検体4					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
A	2.49	2.49	2.31	2.32	2.41	2.43	0.955	0.961	0.874	0.875	0.916	0.914
C	2.40	2.41	2.48	2.48	2.39	2.38	0.903	0.907	(0.993)* ²	(0.935)* ²	0.899	0.899
D* ¹	2.25	2.25	2.35	2.34	2.24	2.22	0.849	0.840	0.873	0.881	0.835	0.839
E	2.42	2.42	2.25	2.25	2.36	2.36	0.892	0.892	0.830	0.829	0.881	0.880
F* ¹	2.34	2.36	2.34	2.38	2.41	2.42	0.900	0.910	0.850	0.890	0.900	0.910
G	2.41	2.40	2.45	2.45	2.45	2.45	0.896	0.897	0.918	0.918	0.912	0.913
H	(2.44)* ²	(2.40)* ²	2.25	2.24	2.48	2.46	0.954	0.956	0.848	0.849	0.950	0.948
I	2.44	2.44	2.43	2.43	2.33	2.33	0.933	0.933	0.924	0.926	0.910	0.907
J	2.29	2.31	2.17	2.17	2.24	2.25	0.859	0.866	0.821	0.814	0.852	0.850
K	2.30	2.30	2.32	2.32	2.36	2.38	0.861	0.863	0.868	0.868	0.886	0.913
L	2.23	2.24	2.37	2.38	2.27	2.30	(0.851)* ²	(0.813)* ²	(0.898)* ²	(0.846)* ²	(0.867)* ²	(0.808)* ²
M	2.45	2.45	2.34	2.34	2.43	2.43	0.920	0.920	0.873	0.873	0.922	0.922
N	2.48	2.48	2.29	2.29	2.40	2.41	0.948	0.947	0.822	0.823	0.931	0.926
O	2.50	2.50	2.37	2.37	2.47	2.47	0.961	0.961	0.891	0.891	0.924	0.927
P* ¹	2.44	2.44	2.33	2.33	2.40	2.41	0.916	0.913	0.878	0.878	0.903	0.903
Q	2.32	2.32	2.19	2.18	2.24	2.23	0.860	0.858	0.815	0.815	0.834	0.833
R	2.37	2.37	2.33	2.33	2.35	2.35	0.899	0.900	0.871	0.871	0.884	0.884
S	2.37	2.37	2.34	2.34	2.37	2.37	0.878	0.878	0.879	0.879	0.887	0.885
T	2.40	2.40	2.42	2.42	2.40	2.40	0.879	0.877	0.886	0.886	0.879	0.878
U	2.36	2.36	(2.85)* ²	(2.85)* ²	2.42	2.42	0.869	0.869	(1.06)* ²	(1.06)* ²	0.899	0.899
V	2.45	2.42	(2.40)* ²	(2.37)* ²	2.40	2.38	0.917	0.904	0.894	0.882	0.889	0.877
W	2.23	2.23	2.23	2.22	2.30	2.29	0.840	0.839	0.833	0.835	0.866	0.869
X* ¹	3.32	3.33	3.11	3.11	3.21	3.22	1.28	1.28	1.16	1.16	1.17	1.18

表 4-3 共同試験による分析結果（浸出用液：20%エタノール）

機関	検体5						検体6					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
A	2.43	2.42	2.24	2.24	2.35	2.35	0.869	0.868	0.786	0.789	0.829	0.829
C	2.31	2.30	2.40	2.40	2.28	2.27	0.802	0.801	0.826	0.829	0.792	0.793
D* ¹	2.17	2.18	2.27	2.28	2.17	2.17	0.760	0.757	0.788	0.779	0.754	0.747
E	2.32	2.32	2.17	2.16	2.28	2.28	0.802	0.802	0.736	0.736	0.789	0.789
F* ¹	2.25	2.25	2.32	2.31	2.34	2.34	0.790	0.780	0.810	0.800	0.820	0.820
G	2.32	2.32	2.38	2.38	2.45	2.45	0.816	0.815	0.828	0.832	0.842	0.841
H	2.39	2.38	2.16	2.16	2.39	2.39	0.846	0.844	0.757	0.756	0.848	0.845
I	2.33	2.33	2.34	2.34	2.26	2.26	0.838	0.839	0.822	0.824	0.815	0.813
J	2.26	2.26	2.11	2.11	2.22	2.22	0.789	0.788	0.735	0.736	0.768	0.768
K	2.19	2.18	2.24	2.23	2.28	2.26	0.764	0.764	0.775	0.774	0.781	0.779
L	(2.25)* ²	(2.17)* ²	(2.32)* ²	(2.25)* ²	(2.29)* ²	(2.21)* ²	(0.702)* ²	(0.798)* ²	(0.699)* ²	(0.798)* ²	(0.684)* ²	(0.779)* ²
M	2.32	2.32	2.25	2.25	2.29	2.29	0.799	0.788	0.773	0.773	0.802	0.803
N	2.33	2.33	2.18	2.17	2.29	2.27	0.837	0.839	0.711	0.705	0.822	0.825
O	2.38	2.37	2.24	2.24	2.32	2.31	0.835	0.835	0.781	0.780	0.805	0.803
P* ¹	2.32	2.32	2.23	2.22	2.30	2.30	0.808	0.806	0.788	0.789	0.799	0.801
Q	2.22	2.22	2.10	2.10	2.18	2.18	0.769	0.770	0.722	0.722	0.755	0.754
R	2.27	2.27	2.24	2.24	2.26	2.25	0.803	0.805	0.777	0.775	0.789	0.788
S	2.30	2.30	2.25	2.25	2.30	2.30	0.808	0.808	0.787	0.786	0.805	0.806
T	2.31	2.31	2.32	2.32	2.31	2.30	0.779	0.779	0.782	0.782	0.780	0.780
U	2.29	2.29	(2.74)* ²	(2.74)* ²	2.35	2.35	0.792	0.793	(0.942)* ²	(0.942)* ²	0.814	0.813
V	2.36	2.33	(2.31)* ²	(2.28)* ²	2.32	2.29	0.822	0.814	0.803	0.796	0.805	0.795
W	2.15	2.15	2.16	2.16	2.21	2.21	0.756	0.756	0.748	0.750	0.780	0.783
X* ¹	3.09	3.07	2.95	2.94	3.04	3.02	1.12	1.12	1.03	1.03	1.05	1.05

表 4-4 共同試験による分析結果（浸出用液：ヘプタン）

機関	検体7						検体8					
	濃度(μg/mL)						濃度(μg/mL)					
	ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール		ビスフェノールA		フェノール		p-tert-ブチルフェノール	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
A	2.20	2.25	2.42	2.41	2.42	2.41	0.676	0.696	0.792	0.786	0.792	0.786
C	2.03	1.99	2.36	2.35	2.36	2.35	0.576	0.613	0.756	0.757	0.756	0.757
D* ¹	1.94	1.95	2.11	2.04	2.03	1.95	0.623	0.692	0.673	0.726	0.673	0.726
E	1.97	1.97	2.17	2.21	2.37	2.37	0.737	0.730	0.795	0.794	0.795	0.794
F* ¹	2.13	2.21	2.78	2.82	2.36	2.43	0.760	0.750	0.800	0.800	0.800	0.800
G	2.46	2.42	2.69	2.71	2.85	2.85	0.759	0.777	0.973	0.968	0.973	0.968
H	1.46	1.39	1.60	1.59	2.10	2.20	0.648	0.667	0.760	0.656	0.760	0.656
I	2.53	2.52	2.75	2.71	2.65	2.67	0.748	0.746	0.895	0.895	0.895	0.895
J	0.70	0.74	2.18	2.18	2.32	2.34	0.698	0.694	0.741	0.772	0.741	0.772
K	1.92	1.88	2.16	2.11	2.35	2.33	0.613	0.619	0.754	0.756	0.754	0.756
L	0.68	0.67	2.31	2.35	2.47	2.44	0.614	0.693	0.735	0.765	0.735	0.765
M	1.51	1.63	2.25	2.26	2.47	2.46	0.602	0.651	0.781	0.772	0.781	0.772
N	2.36	2.42	2.34	2.42	2.69	2.62	0.606	0.575	0.740	0.825	0.740	0.825
O	1.83	1.95	2.01	2.05	2.36	2.43	0.408	0.432	0.726	0.676	0.726	0.676
P* ¹	2.43	2.45	2.37	2.42	2.43	2.43	0.783	0.814	0.825	0.834	0.825	0.834
Q	2.04	2.19	2.27	2.36	2.16	2.23	0.598	0.667	0.650	0.695	0.650	0.695
R	1.80	1.90	2.24	2.27	2.27	2.26	0.571	0.595	0.728	0.749	0.728	0.749
S	1.97	1.95	1.82	1.84	2.36	2.34	0.539	0.568	0.741	0.783	0.741	0.783
T	2.13	2.12	2.43	2.45	2.74	2.74	0.686	0.682	(1.06)* ²	(1.05)* ²	(1.06)* ²	(1.05)* ²
U	0.54	0.56	2.83	2.92	2.56	2.58	0.693	0.678	0.800	0.802	0.800	0.802
V	0.70	0.76	2.26	2.35	2.40	2.40	0.688	0.725	0.788	0.806	0.788	0.806
W	1.76	1.77	2.14	2.05	2.42	2.37	0.582	0.602	0.787	0.780	0.787	0.780
X* ¹	1.89	1.78	2.48	1.04	2.68	2.75	0.624	0.689	1.05	1.06	1.05	1.06

*1 分析結果の解析から除外した機関

*2 Cochran検定とGrubbs検定の結果の外れ値

2) 外れ値の検定

CXG64-1995 で示された Cochran 検定と Grubbs 検定を実施した。その結果、各検体の分析対象化合物と2つの検体濃度を通じ、最大3機関の分析結果が外れ値に該当した。ただし、検体7から調製した試験溶液の分析結果からは、機関間でのばらつきが比較的大きいことが主要因となり、外れ値が検出されなかった。

本共同試験の目的は、分析法の性能を明らかにし、評価することであるが、詳細な計画書を策定し可能な限りの管理を行ったが、共同試験により得られる分析結果は、

分析を実施した機関がもつ分析環境等の要因を受けていた。そこで、上記の影響を受けたであろう分析結果を除外することは妥当と考え、外れ値を除外して性能パラメーターを推定することとした。外れ値の検定結果を表4-1~4に示した。

3) 分析結果の解析

外れ値除外前の全分析結果と外れ値除外後の分析結果を使用し、それぞれを初期推定結果及び最終推定結果として分析法の性能パラメーターを求めた。これらの結果を表5-1~4及び表6-1~4に示した。

表 5-1 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：水）

分析対象化合物 試験所数	検体1			検体2		
	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
平均値 (µg/mL)	2.2605	2.2547	2.260	0.8798	0.8693	0.8790
併行標準偏差 s_r (µg/mL)	0.0095	0.0076	0.011	0.0036	0.0037	0.0043
併行許容差 $2.8s_r$ (µg/mL)	0.0265	0.0213	0.030	0.0099	0.0104	0.0121
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	0.42	0.34	0.48	0.40	0.43	0.49
室間再現標準偏差 s_R (µg/mL)	0.064	0.14	0.055	0.025	0.058	0.025
室間再現許容差 $2.8s_R$ (µg/mL)	0.18	0.40	0.155	0.070	0.163	0.070
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	2.8	6.4	2.4	2.9	6.7	2.8
HorRat	0.2	0.5	0.2	0.2	0.4	0.2

表 5-2 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：4%酢酸）

分析対象化合物 試験所数	検体3			検体4		
	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
平均値 (µg/mL)	2.3858	2.3563	2.3726	0.8978	0.881	0.8926
併行標準偏差 s_r (µg/mL)	0.0092	0.0061	0.0089	0.0068	0.013	0.011
併行許容差 $2.8s_r$ (µg/mL)	0.0257	0.0170	0.0249	0.0189	0.036	0.030
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	0.38	0.26	0.37	0.75	1.5	1.2
室間再現標準偏差 s_R (µg/mL)	0.079	0.148	0.070	0.040	0.058	0.032
室間再現許容差 $2.8s_R$ (µg/mL)	0.222	0.414	0.195	0.113	0.163	0.089
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	3.3	6.3	2.9	4.5	6.6	3.6
HorRat	0.2	0.4	0.2	0.3	0.4	0.2

表 5-3 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：20%エタノール）

分析対象化合物 試験所数	検体5			検体6		
	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
平均値 (µg/mL)	2.297	2.268	2.291	0.804	0.781	0.797
併行標準偏差 s_r (µg/mL)	0.014	0.013	0.015	0.016	0.016	0.015
併行許容差 $2.8s_r$ (µg/mL)	0.040	0.035	0.042	0.044	0.045	0.042
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	0.62	0.56	0.65	2.0	2.1	1.9
室間再現標準偏差 s_R (µg/mL)	0.070	0.142	0.064	0.034	0.053	0.064
室間再現許容差 $2.8s_R$ (µg/mL)	0.196	0.398	0.179	0.095	0.149	0.179
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	3.0	6.3	2.8	4.2	6.8	8.0
HorRat	0.2	0.4	0.2	0.3	0.4	0.5

表 5-4 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：ヘプタン）

分析対象化合物 試験所数	検体7			検体8		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
平均値 (μg/mL)	1.728	2.285	2.440	0.643	0.745	0.792
併行標準偏差 s_r (μg/mL)	0.047	0.036	0.028	0.023	0.033	0.027
併行許容差 $2.8s_r$ (μg/mL)	0.131	0.102	0.079	0.066	0.093	0.075
併行相対標準偏差 RSD_r (%)	2.7	1.6	1.2	3.6	4.4	3.4
室間再現標準偏差 s_R (μg/mL)	0.626	0.300	0.183	0.082	0.12	0.094
室間再現許容差 $2.8s_R$ (μg/mL)	1.752	0.839	0.512	0.231	0.33	0.262
室間再現相対標準偏差 RSD_R (%)	36	13	7.5	13	16	12
HorRat	2.5	0.9	0.5	0.7	0.9	0.7

表 6-1 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：水）

分析対象化合物 試験所数	検体1			検体2		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
データ解析に有効な試験所数	18	18	18	18	16	19
外れ値になった試験所数	1	1	1	1	3	0
平均値 (μg/mL)	2.2567	2.2278	2.2617	0.8785	0.8608	0.8790
併行標準偏差 s_r (μg/mL)	0.0071	0.0078	0.0075	0.0027	0.0015	0.0043
併行許容差 $2.8s_r$ (μg/mL)	0.0198	0.0219	0.0209	0.0074	0.0041	0.0121
併行相対標準偏差 RSD_r (%)	0.31	0.35	0.33	0.30	0.17	0.49
室間再現標準偏差 s_R (μg/mL)	0.063	0.087	0.056	0.025	0.036	0.025
室間再現許容差 $2.8s_R$ (μg/mL)	0.177	0.242	0.158	0.070	0.100	0.070
室間再現相対標準偏差 RSD_R (%)	2.8	3.9	2.5	2.9	4.1	2.8
HorRat	0.18	0.27	0.18	0.18	0.25	0.17

表 6-2 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：4%酢酸）

分析対象化合物 試験所数	検体3			検体4		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
データ解析に有効な試験所数	18	17	19	18	16	18
外れ値になった試験所数	1	2	0	1	3	1
平均値 (μg/mL)	2.3839	2.3256	2.3726	0.9014	0.8650	0.8957
併行標準偏差 s_r (μg/mL)	0.0067	0.0038	0.0089	0.0028	0.0025	0.0051
併行許容差 $2.8s_r$ (μg/mL)	0.0187	0.0107	0.0249	0.0079	0.0071	0.0143
併行相対標準偏差 RSD_r (%)	0.28	0.16	0.37	0.31	0.29	0.57
室間再現標準偏差 s_R (μg/mL)	0.081	0.091	0.070	0.038	0.034	0.029
室間再現許容差 $2.8s_R$ (μg/mL)	0.227	0.254	0.195	0.106	0.096	0.081
室間再現相対標準偏差 RSD_R (%)	3.4	3.9	2.9	4.2	4.0	3.2
HorRat	0.24	0.28	0.21	0.26	0.24	0.20

表 6-3 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：20%エタノール）

分析対象化合物 試験所数	検体5			検体6		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p</i> -tert-ブチルフェノール
試験所数	19			19		
データ解析に有効な試験所数	18	16	18	18	17	18
外れ値になった試験所数	1	3	1	1	2	1
平均値 (μg/mL)	2.3022	2.2353	2.2936	0.8065	0.7734	0.8008
併行標準偏差 s_r (μg/mL)	0.0062	0.0031	0.0076	0.0024	0.0020	0.0020
併行許容差 $2.8s_r$ (μg/mL)	0.0175	0.0086	0.0214	0.0067	0.0056	0.0056
併行相対標準偏差 RSD_r (%)	0.27	0.14	0.33	0.30	0.26	0.25
室間再現標準偏差 s_R (μg/mL)	0.068	0.090	0.064	0.030	0.036	0.025
室間再現許容差 $2.8s_R$ (μg/mL)	0.190	0.251	0.180	0.085	0.100	0.069
室間再現相対標準偏差 RSD_R (%)	3.0	4.0	2.8	3.8	4.6	3.1
HorRat	0.21	0.28	0.20	0.23	0.28	0.19

表 6-4 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：ヘプタン）

分析対象化合物 試験所数	検体7			検体8		
	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール
データ解析に有効な試験所数	19	19	19	19	19	18
外れ値になった試験所数	0	0	0	0	0	1
平均値 (µg/mL)	1.728	2.285	2.440	0.643	0.745	0.777
併行標準偏差 s_r (µg/mL)	0.047	0.036	0.028	0.023	0.033	0.027
併行許容差 $2.8s_r$ (µg/mL)	0.131	0.102	0.079	0.066	0.093	0.077
併行相対標準偏差 RSD_r (%)	2.7	1.6	1.2	3.6	4.4	3.5
室間再現標準偏差 s_R (µg/mL)	0.626	0.300	0.183	0.082	0.12	0.071
室間再現許容差 $2.8s_R$ (µg/mL)	1.752	0.839	0.512	0.231	0.33	0.197
室間再現相対標準偏差 RSD_R (%)	36	13	7.5	13	16	9.1
HorRat	2.5	0.93	0.54	0.75	0.95	0.55

最終推定された RSD_r 、 RSD_R の値は、初期推定の値とほぼ同じであり、 RSD_r は 0.14～4.4%、 RSD_R は 2.5～36%であった。

このうち、浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノールとした検体 1～6 の分析の場合では、 RSD_r は 0.14～0.57%、 RSD_R は 2.5～4.6%であったのに対し、浸出用液をヘプタンとした検体 7 及び検体 8 の分析では、 RSD_r は 1.2～3.5%、 RSD_R は 7.5～36%であった。このように浸出用液をヘプタンとした検体の分析では、その他の場合と比較して RSD_r は約 3～26 倍、 RSD_R は約 2.5～13 倍大きな値となり、機関内、機関間での分析結果のばらつきが大きかった。

また、浸出用液がヘプタンの場合は、クロマトグラムにおける分析対象物質のピーク形状が対称とならずに崩れるといった情報が提供された（図 1）。これは、試験溶液がアセトニトリル溶液であるためであり、分析結果のばらつきの要因の一つと考えられた。

室間再現標準偏差 (s_R) や RSD_R は、室間共同試験を行うことでしか推定することのできない重要な性能パラメーターである。そこで推定されたこれらの値に基づいて告示試験法の性能を評価するために、Horwitz/Thompson 式を用いて計算される $PRSD_R$ から算出される HorRat 値を指標にした。

浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノール

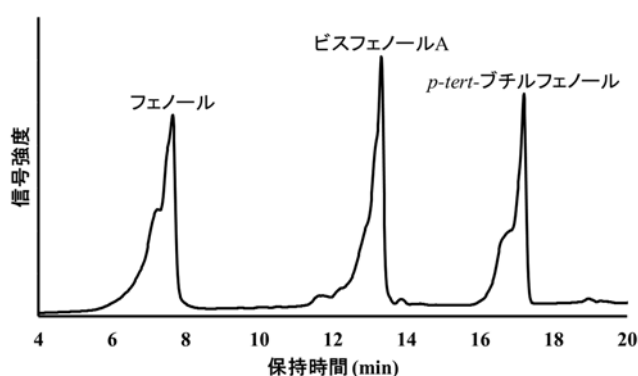


図 1 ヘプタンを浸出用液とする溶出試験の HPLC のクロマトグラムの問題例

とした検体 1～6 の分析での HorRat 値は、0.17～0.28 の範囲にあり、Codex 委員会の指標値 2 を下回っていた。ただし、HorRat 値が 0.5 を下回る場合には、分析法の性能が過度に小さく推定されていないか考察する必要がある⁵⁾。浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールである場合の分析では、抽出操作もなく HPLC により測定するだけと分析工程が単純であるため、分析者や測定機器が異なる機関間でも分析値のばらつきが小さくなったことが推察され、HorRat 値が、0.5 より小さな値として算出されることは合理的であると考えられた。一方、浸出用液をヘプタンとした検体 7 及び検体 8 の分析での HorRat 値は、0.54～2.5 の範囲にあった。このうち低濃度側の検体 8 では、HorRat 値は、分析対象化合物を通じ 0.55～0.95 の範囲にあり、Codex 委

員会が示す指標値 2 を下回った。しかし、高濃度側の検体 7 では、HorRat 値は 0.54～2.5 の範囲にあり、特に、ビスフェノールの分析では HorRat 値が 2.5 と Codex 委員会 が示す性能規準の指標値 2 を上回っていた。以上の解析結果より、浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールの試験溶液を分析する場合は、告示試験法として妥当な性能を有する分析法であることが確認された。しかし、浸出用液がヘプタンから調製した試験溶液を分析する場合は、告示試験法の性能が妥当といえる水準にあることが期待されなかったことから、分析法の検討が必要であると考えられた。

4) 解析結果の目標値との比較

計画書に設定した分析法の各性能パラメーターの目標値との比較結果の概要を表 7-1～4 に示した。

RSD_r は 4 種類全ての浸出用液において目標値 (10%以下) を満たした。

RSD_R は、浸出用液がヘプタンのビスフェノール A 分析では目標値 (25%以下) を満たさなかったが、その他の分析では目標値を満たした。

真度は、浸出用液が水、20%エタノール、4%酢酸のフェノール分析で目標値 (80%～110%) を満たさない機関が 1 機関あったが、大部分の機関が目標値を満たした。

一方、浸出用液がヘプタンの場合のビスフェノール A 分析では、約 50%の機関で目標値を満たさず、フェノール、*p-tert*-ブチルフェノールでも、それぞれ約 30%、約 20%の機関で目標値を満たさなかった。

以上の結果からも浸出用液がヘプタンの場合における分析法の性能が低いことが示唆され、分析法の検討が必要であると考えられた。

表 7-1 分析法性能パラメーターの目標値との比較結果 (浸出用液: 水)

分析対象化合物	検体1			検体2		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール
機関数		19			19	
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	0.31	0.35	0.33	0.30	0.17	0.49
目標値(併行精度)との適合性* ¹	+	+	+	+	+	+
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	2.8	3.9	2.5	2.9	4.1	2.8
目標値(室間精度)との適合性* ²	+	+	+	+	+	+
外れ値(真度)* ³ になった機関数	0	1	0	0	1	0
外れ値(真度)率* ⁴ (%)	0	5.3	0	0	5.3	0

表 7-2 分析法性能パラメーターの目標値との比較結果 (浸出用液: 4%酢酸)

分析対象化合物	検体3			検体4		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール
機関数		19			19	
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	0.28	0.16	0.37	0.31	0.29	0.57
目標値(室間精度)との適合性* ⁵	+	+	+	+	+	+
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	3.4	3.9	2.9	4.2	4.0	3.2
目標値(室間精度)との適合性* ⁵	+	+	+	+	+	+
外れ値(真度)* ² になった機関数	0	1	0	0	1	0
外れ値(真度)率* ⁴ (%)	0	5.3	0	0	5.3	0

表 7-3 分析法性能パラメーターの目標値との比較結果 (浸出用液: 20%エタノール)

分析対象化合物	検体5			検体6		
	ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール
機関数		19			19	
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	0.27	0.14	0.33	0.30	0.26	0.25
目標値(室間精度)との適合性* ⁵	+	+	+	+	+	+
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	3.0	4.0	2.8	3.8	4.6	3.1
目標値(室間精度)との適合性* ⁵	+	+	+	+	+	+
外れ値(真度)* ² になった機関数	0	1	0	0	1	0
外れ値(真度)率* ⁴ (%)	0	5.3	0	0	5.3	0

表 7-4 分析法性能パラメーターの目標値との比較結果（浸出用液：ヘプタン）

分析対象化合物 機関数	検体7			検体8		
	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール	ビスフェノールA	フェノール	p-tert-ブチルフェノール
併行相対標準偏差 RSD _r (%)	2.7	1.6	1.2	3.6	4.4	3.5
目標値(室間精度)との適合性* ⁵	+	+	+	+	+	+
室間再現相対標準偏差 RSD _R (%)	36	13	7.5	13	16	9.1
目標値(室間精度)との適合性* ⁵	-	+	+	+	+	+
外れ値(真度)* ² になった機関数	10	5	4	9	6	3
外れ値(真度)率* ⁴ (%)	53	26	21	47	32	16

*1 目標値(併行精度)との適合性：適合(併行相対標準偏差 RSD_rが10%を超えない)：+、不適合(RSD_rが10%を超える)：-

*2 目標値(室間精度)との適合性：適合(室間再現相対標準偏差 RSD_Rが25%を超えない)：+、不適合(RSD_Rが25%を超える)：-

*3 外れ値(真度)：[(各機関の定量値の平均値) / 検体濃度 × 100 (%)] の値が80%未満または110%を超える

*4 外れ値(真度)率：[外れ値(真度)になった機関数 / 機関数(19機関)] × 100 (%)

D. 結論

告示試験法のビスフェノール A 溶出試験について、23 機関が参加する共同試験を実施した。共同試験により得られた分析結果を、国際的なハーモナイズドガイドラインに沿って統計的に解析した。

その結果として推定された RSD_R と Horwitz/Thompson 式を用いて計算される PRSD_R から算出される HorRat 値を指標として評価した結果、浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールの試験溶液を分析する場合は、Codex 委員会が分析法承認のために設定している性能規準の指標値を満たしており、告示試験法の妥当性が確認された。しかし、浸出用液がヘプタンの場合の試験溶液を分析する場合は、Codex 委員会が示す分析法の性能規準の指標値を満たさない場合があり、告示試験法の妥当性は確認されなかった。また、クロマトグラムにおける各分析対象物質のピーク形状の対称性も悪いことが確認された。

以上の結果から、浸出用液がヘプタンの場合の告示試験法については、分析法検討の必要性が考えられた。

E. 参考文献

- 1) Thompson, M., Ellison, S. L., Wood, R. The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem., **78**, 145-196 (2006).
- 2) ISO, E. 13528:2015. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. ISO 13528 (2015).
- 3) Horwitz, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies: Revised 1994 (Technical Report). Pure Appl. Chem., **67**, 331-343 (1995).
- 4) Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission. Procedural manual (Twenty-seventh edition). Food & Agriculture Org. (2004).
- 5) AOAC Int. Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. In Official Methods of Analysis of AOAC Int. 18 ed., Gaithersburg, MD, USA. 2005.