平成２６年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業

# 食品用器具･容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究

## 総括･分担研究報告書

平成27(2015)年3月


研究代表者　　六鹿　元雄　　　　国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者　　阿部　　裕　　　　国立医薬品食品衛生研究所

# 目　　次


Ⅰ．総括研究報告書

食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究 ・・・・・・・・1

六鹿　元雄

Ⅱ．分担研究報告書

１．規格試験法の性能評価に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・13

六鹿　元雄

＜その１＞ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験の性能評価・17

六鹿　元雄、薗部　博則

別添１　平成 26 年度 試験室間共同試験 計画書

－ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質材質試験－・・・・37

＜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 49

六鹿　元雄、渡辺一成

別添２　平成 26 年度 試験室間共同試験 計画書

－ナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム試験－・・・・・・63

２．市販製品に残存する化学物質に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・73

六鹿　元雄、阿部　裕

＜その１＞植物油総溶出物量試験法の改良

－植物油抽出法の検討及び改良試験法の検証－・・・・・・・・・・77

河村　葉子、中西　徹、渡邊　雄一、城市　香、川口　寿之

＜その２＞ガスクロマトグラフィーを用いる試験法における

キャリヤーガスの変更による影響・・・95

羽石　奈穂子

＜その３＞アンチモン及びゲルマニウム溶出試験における

ICP-OES を用いた代替試験法の開発 ・・・113

六鹿　元雄、阿部　裕、田中　秀幸、城野　克広

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・131

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
総括研究報告書

# 食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究

研究代表者　六鹿　元雄　国立医薬品食品衛生研究所

**研究要旨**

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗浄剤（以下、「器具・容器包装等」）の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、器具・容器包装等の多様化、新規材質の開発、再生材料の使用、諸外国からの輸入品の増加等により多くの課題が生じている。また近年、食品の安全性に対する関心が高まり、食品の試験及び分析に求められる信頼性の確保も重要な課題となっている。そこで、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性の確保を目的として、規格試験法の性能評価に関する研究及び市販製品に残存する化学物質に関する研究を行った。

規格試験法の性能評価に関する研究では、ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験法、並びにナイロン製品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、これら試験法及び代替法の性能評価を行った。

ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験法については、GC-FID、GC/MS 及び HS-GC-FID の性能評価を行った。その結果、公定法に準拠した GC-FID 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。食品衛生法では採用されていない GC/MS の性能パラメーターの値は目標値を満たしており、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-FID 及び GC/MS では試料の溶解液を直接注入するため装置が汚染されやすい。そのため、注入口部分の状態に注意を払う必要がある。一方、HS-GC-FID は性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしており、規格試験法の代替法として十分に適用可能であった。また、気相部を装置に注入するため汚染が少なく、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。

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は、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。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。ただし、いずれの測定法においても、注入量や注入口部分の状態によっては、ピーク割れやキャリーオーバー等の問題が発生し、性能に影響を与える可能性があるため注意が必要である。

市販製品に残存する化学物質に関する研究では、植物油総溶出物量試験法の改良、ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響及びアン

チモン（Sb）及びゲルマニウム（Ge）溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発に関する検討を行った。

植物油総溶出物量試験法について改良では、EN1186-2 オリブ油総溶出物量試験法のうち、試料中の残存植物油の抽出法について検討を行った。その結果、内標準を加えたシクロヘキサンに浸漬し、40℃で 120 分間の振とう抽出を 1 回行うという簡便な抽出法で、残存植物油量を求められることを明らかにした。昨年度の検討結果と併せて、操作が簡便でしかも有害試薬を使用しない植物油総溶出物量試験法を確立した。さらに、6 種類の試料を用いて本試験法と EN 法の同等性を検証した結果、得られた植物油総溶出物量及びその標準偏差は極めて良く一致し、両者は同等の試験法であることが確認された。

GC を用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響では、食品衛生法における器具・容器包装の規格試験法のうち、GC-FID 及び GC-NPD を用いる試験について、キャリヤーガスの違いによる影響を確認した。GC-FID による試験では、一部でキャリヤーガスにより測定対象物のピーク形状または面積に変化が認められたが、適否判定に支障をきたすほどではなかった。いずれの試験法においても、キャリヤーガスに関わらず規格試験法として十分な性能を示した。また、キャリヤーガスに $N_2$ が規定されていない GC-NPD を用いるアミン類試験では、代替試験法として $N_2$ キャリヤーガスが適用可能であった。しかし、トリエチルアミンの保持時間付近に複数のピークが認められたため、慎重に定性を行う必要があった。

Sb 及び Ge 溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発では、試験溶液を濃縮して測定する蒸発乾固法及びキレート法、試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法について検討し、その適用性を検証した。蒸発乾固法では、Sb 及び Ge の揮散を防ぐ方策を見出すことができなかった。キレート法は代替法として十分な性能を有していたが、公定法では使用しないキレート繊維や試薬・試液が必要であった。また、これらの試験溶液を濃縮する方法では、試験溶液中の Sb 及び Ge の化学形態によっては回収できない場合があると考えられた。一方、標準添加法及び既知量添加法は代替法として十分な性能を有していた。これらは大部分の試験機関で実施することが可能であり、代替法として有用と考えられた。ただし、測定条件の設定を慎重に行う必要がある。

**研究分担者**
六鹿　元雄　国立医薬品食品衛生研究所
阿部　裕　　国立医薬品食品衛生研究所

## A. 研究目的

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗浄剤（以下、「器具・容器包装等」）の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、器具・容器包装等の多様化、新規材質の開発、再生材料の使用、諸外国からの輸入品の増加等により多くの課題が生じている。また近年、食品の安全性に対する関心が高まり、食品の試験及び分析に求められる信頼性の確保も重要な課題となっている。そこで本研究では、器具・容器包装等に含有される化学物質の分析法及び規格試験法の開発、改良及び性能評価、並びに市販製品に残存する化学物質の実態調査等を行うことにより、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性の確保を目的とする。

食品衛生法では、器具・容器包装等の安全性を確保するための規格基準とともに、その規格基準を満たしているか否かを判定するための試験法（公定法）が定められているが、多くの公定法では、その操作手順や分析装置の測定条件等の詳細まで規定されていない。そのため、試験機関が独自の裁量で設定している部分が存在する。しかし、これらの試験法については、その性能や規定されていない条件等が試験結果に及ぼす影響について十分な評価が行われていない。また、技術の進歩に伴い、近年では様々な簡便で有用な代替法が開発されており、これらの代替法による試験の実施を希望する試験機関も存在する。そのため、公定法及び汎用性が高い代替法について、試験室間共同試験を実施し、各試験法の性能評価を行うとともに代替法については試験法としての妥当性を確認する必要がある。

そこで、規格試験法の性能評価に関する研究として、本年度はポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験法、並びにナイロン製器具・容器包装におけるカプロラクタム試験法について、民間の登録検査機関及び公的衛生研究所等による試験室間共同試験を行い、試験法の性能評価を行った。

器具・容器包装等には様々な化学物質が残存しているが、食品衛生法で規格基準が設定されていない物質の中には、分析法が確立されていないものや残存量・溶出量等の実態が明らかでないものが多く存在する。また、食品衛生法で規制されている物質であっても、その試験法に問題を有するものも存在する。そのため、安全性に懸念のある化学物質については、分析法の開発や試験法の改良を行い、それらの方法を用いて市販製品における化学物質の残存量・移行量の実態調査を行う必要がある。そこで市販製品に残存する化学物質に関する研究として、本年度は植物油総溶出量試験法の改良、ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響及びアンチモン及びゲルマニウム溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発に関する検討を行った。

植物油総溶出量試験法の改良では、操作が極めて煩雑な欧州規格 EN 1186 のオリブ油総溶出量試験法の工程のうち、試料中の残存植物油の抽出法について検討を行った。さらに改良法と EN 法の同等性を検証した。

ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響では、食品衛生法において GC-FID または GC-NPD を用いる試験について、同一装置、同一条件を用いキャリヤーガスのみを He と $N_2$ に換えて測定を行い、試験対象物質の保持時間、感度等のクロマトグラムの変化、検量線の範囲及び直線性を比較するとともに、それぞれの試験法としての性能を評価した。

アンチモン及びゲルマニウム溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発では、規格試験法の代替法の開発を目指し、試験溶液を濃縮する試験法として、蒸発乾固法及びキレート法、試験溶液に標準溶液を添加して定量する試験法として、標準添加法及び

既知量添加法について、代替法としての適用性を検証した。

## B. 研究方法

### １．規格試験法の性能評価に関する研究

#### １）ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験法の性能評価

**①試験室間共同試験**

PS製ペレット、アクリロニトリル・スチレン共重合（AS）樹脂製ペレット、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合（ABS）樹脂製ペレット検体とし、公的な衛生研究所など10機関の合計21機関において、GC-FID（公定法）、GC-FID（公定法変法）、GC/MS及びヘッドスペース（HS）-GC-FID及びHS-GC/MSにより検体中のトルエン（TO）、エチルベンゼン（EB）、イソプロピルベンゼン（iPB）、プロピルベンゼン（PB）及びスチレン（ST）の各濃度を測定した。

**②性能評価**

成分ごとに定量値の解析を行い、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を算出し、各試験法の性能を検証した。

試験法ごとにISO 5725-2 及びJIS Z 8402-2 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）が推定含有量の70～120%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一元配置の分散分析により求め、真度は70～120%、$RSD_r$ は10%以下、$RSD_R$ は25%以下を目標値とした。

#### 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法の性能評価

**①試験室間共同試験**

3種のカプロラクタムの20%エタノール溶液（11、15及び17 μg/mL）を検体として、公的な衛生研究所など9機関の合計20機関において、GC-FID（公定法）、GC-FID（公定法変法）及びGC/MSにより測定し、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で定量した。内標準はヘプタラクタムを用いた。

**②性能評価**

各試験機関から収集した定量値について、ISO 5725-2 及びJIS Z 8402-2 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、$RSD_r$ %及び$RSD_R$の性能パラメーターの値は一元配置の分散分析により求め、真度は80～110%、$RSD_r$ は10%以下、$RSD_R$ は25%以下を目標値とした。

### ２．市販製品に残存する化学物質に関する研究

#### １）植物油総溶出量試験法の改良

**①試料中の植物油抽出法の検討**

シリコーンゴム、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、天然ゴム及びポリ塩化ビニル試料を用いて、抽出試験用試料を作成した。

シリコーンゴムの抽出試験用試料を用い、抽出溶媒、抽出温度、抽出時間、抽出回数及び定量法による植物油含有量の定量値の変化を比較し、最適な抽出条件を設定した。さらに、設定した抽出条件により他の抽出試験用試料の植物油含有量を測定し、他材質への適用性を確認した。

**②改良法及びEN法の同等性の検証**

確立した方法（改良法）と欧州規格EN 1186のオリブ油総溶出量試験法（EN 法）を用いてシリコーンゴム、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、天然ゴム及びポリ塩化ビ

ニル試料の植物油総溶出物量を求めた。これらの試験結果を比較して同等性を検証した。

**２）ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響**

**①ブランク溶液及び添加溶液の調製**

市販のポリスチレン製コップ、市販のポリ塩化ビニル製ラップフィルム、市販のポリ塩化ビニリデン製ラップフィルム、市販のポリメタクリル酸メチル製調味料入れ、市販のナイロン製杓子、未使用のエポキシ樹脂塗装金属缶、市販のポリカーボネート製計量カップをブランク試料として用い、食品衛生法に従って試験溶液を調製した。これをブランク溶液とし、ブランク溶液に規格値相当の試験対象物を添加したものを添加溶液とした。これらの溶液を He 及び $N_2$ をキャリヤーガスとする GC-FID または GC- NPD（He 法及び $N_2$ 法）により測定した。

**②性能評価**

ブランク溶液のクロマトグラムから選択性、試験対象物質の検量線から定量可能範囲、検量線の濃度及び直線性を比較した。さらに、同一の添加溶液を He 及び $N_2$ にをキャリヤーガスとした GC-FID または GC- NPD によりそれぞれ 1 日 2 試行で 5 日間測定し、添加溶液中の試験対象物質の濃度を定量した。一元配置の分散分析により真度、併行精度（$RSD_r$）及び室内再現精度（$RSD_i$）を求めて比較した。真度は 70~120%、$RSD_r$ は 10%以下、$RSD_i$ は 15%以下を目標値とした。

**３）アンチモン及びゲルマニウム溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発**

**①試験溶液の調製**

PET 製使い捨てカップ（400 mL 容）を試料として食品衛生法に従って 4%酢酸で 60℃ 30 分間の溶出試験により得た溶出液または 4%酢酸をブランク溶液とした。ブランク溶液に Sb 標準液及び Ge 標準液を添加したものを試験溶液とした。

**②適用性確認と妥当性評価**

蒸発乾固法、キレート法、標準添加法、既知量添加法により試験溶液中の Sb 及び Ge 濃度または酢酸濃度を測定し、各代替法の適用性を確認した。さらに、キレート法、標準添加法、既知量添加法では試験溶液中の Sb 及び Ge 濃度を 1 日 2 併行で日を変えて 5 回測定し、一元配置の分散分析により真度、併行精度（$RSD_r$）及び室内再現精度（$RSD_i$）を求めた。真度は 80～120%、$RSD_r$ は 15%以下、$RSD_i$ は 20%以下を目標値としてその妥当性を評価した。

**C. 研究結果及び考察**

**１．規格試験法の性能評価に関する研究**

**１）ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験法の性能評価**

**①GC-FID（公定法）による試験結果**

GC-FID（公定法）による試験は 15 機関で実施した。食品衛生法では約 25～125 μg/mL（1～5 mg/g に相当）の濃度範囲で検量線を作成することとされているが、各試験機関の定量下限値は 20～100 μg/g であり、いずれの試験機関においても規定されている最低濃度の 1/10 以下まで定量が可能であった。

各検体中の推定含有量はこれらの結果をもとに算出した数値であるため、真度は求めなかった。外れ値（精度）については、ABS 検体の ST で 1 つ存在した。性能パラメーターの値は、$RSD_r$ が 1.0～2.6%、$RSD_R$ が 2.5～5.8%であり、十分に目標値を満たしていた。

本法は良好な回収率を示すことが報告されているため、各試験機関から得られた定量値は実際の含有量に近い値と考えられた。

**②GC-FID（公定法変法）による試験結果**

GC-FID（公定法変法）による試験は 3 機関で実施した。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。

規定よりも保持時間が早かった試験機関、

カラム温度が公定法と異なる試験機関の定量値は、GC-FID（公定法）の結果とほぼ同じであった。一方、カラムやカラム温度が公定法と大きく異なる試験機関の結果は、AS 及び ABS 検体の EB の定量値が外れ値（真度）に該当した。また、ST の定量値は外れ値（真度）に該当しなかったが、PS 及び ABS 検体では定量値が推定含有量と比べて低く、AS 検体では高かった。

**③GC/MS による試験結果**

GC/MS による試験は 5 機関で実施した。各試験機関のカラム、カラム温度、スプリット比は様々であった。一方、各成分の定量イオンは 5 機関とも同じであり、TO、EB 及び PB は *m/z* 91、iPB は *m/z* 105、ST は *m/z* 104 を用いていた。定量下限値は、1 機関が 2 μg/g、その他の 4 機関は公定法と同じ 100 μg/g であり、いずれの試験機関も試験の実施が可能であった。

外れ値（精度）は存在しなかったが、外れ値（真度）が 1 つ存在した。性能パラメーターの値は、いずれも目標値を満たしており、真度は 96.8～103.3%であり、公定法とほぼ同じ定量値が得られた。しかし、$RSD_r$ は 1.4～7.8%、$RSD_R$ は 4.9～13.0%であり、公定法と比べてやや大きく、特に、PS 検体中の ST では 2 機関の併行精度が悪かった。

**④HS-GC-FID による定量値の解析**

HS-GC-FID による試験は 10 機関で実施した。いずれの試験機関も衛生試験法・注解 2010 に準じた方法で測定を実施していたが、試料量、バイアル加熱条件、内標準の濃度などが試験機関ごとにやや異なっていた。定量下限値は 6.25～100 μg/g であり、公定法の時と比較して全体的に定量下限値は低く、いずれの試験機関も試験は可能であった。

外れ値（真度）は 3 つ、外れ値（精度）は 5 つ存在し、その大部分は同一機関の結果であった。性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしていたが、真度は 95.9～97.8% と公定法よりもやや低く、$RSD_R$ は 8.1～13.5% と公定法よりもやや大きかった。これは 1 機関の定量値が他の試験機関よりも明らかに低いためであった。この試験機関の結果を棄却して解析を行ったところ、真度は 98.5～100.6%、$RSD_R$ は 3.3～6.9%となり、いずれも公定法とほぼ同じ値となった。

**⑤HS-GC/MS による定量値の解析**

HS-GC/MS による試験は 4 機関で実施した。これらの結果については、データ数が少なく、衛生試験法・注解 2010 に掲載されている条件から変更された部分が異なっていため、性能パラメーターによる評価は実施しなかった。

溶媒に THF を用いた試験機関の PS 及び AS 検体の結果は推定含有量と比べて高かった。試験に用いた試料量が少なかった試験機関は、AS 検体の結果がやや高かった。測定条件の多くが衛生試験法･注解 2010 の条件と異なっていた試験機関の結果は全体的に高かった。一方、検出器を MS に変更したのみの試験機関では推定含有量に近い値が得られていた。

**⑥各試験法の性能評価**

公定法はいずれの性能パラメーターも目標値を満たしており、いずれの試験機関においても規定されている最低濃度の 1/10 以下まで定量が可能であった。以上から、公定法は規格試験法として十分な性能を有していると考えられた。

GC/MS 及び HS-GC-FID の試験は様々な測定条件で実施されたが、定量下限値及び定量値は公定法とほぼ同じであり、条件の違いによる差はみられなかった。性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしており、代替法として適用可能と考えられた。さらに、HS-GC-FID は装置への負担や使用する有機溶媒の量が少ないなどの利点を有する。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ることが判明した。

公定法変法では、公定法とほぼ同じ定量値が得られており、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。しかし、カラムやカラム温度などの複数の測定条件を変更する場合は十分な精度管理が必要であった。

GC-FID 及び GC/MS では、試験溶液を複数回連続して注入すると、ST のキャリーオーバーがみられる、ST のピーク面積が減少する、シリンジが詰まるという症状の発生が報告された。これらの解決策として、注入用シリンジの洗浄を十分に行う、注入口インサート取り換えを頻繁に行うなどの措置を行うとともに、定期的に標準溶液やブランクを注入し、ST のピーク面積の変化やキャリーオーバーの有無について確認を行うとよい。さらに、GC/MS では、イオン源部分についても定期的に交換または洗浄を行う必要がある。

**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法の性能評価**

**①GC-FID（公定法）による試験結果**

GC-FID（公定法）による試験は 15 機関で実施した。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った。

絶対検量線法では、外れ値（真度）はなかったが、外れ値（精度）が 3 つ存在した。一方、内標準法では外れ値（真度）はなかった。さらに、絶対検量線法で定量値が低かった結果の大部分が内標準法では適切に補正されていた。

絶対検量線法における真度は 95.9～96.5%、$RSD_r$ 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が試験機関により様々であったが、真度は 98.4～98.8%、$RSD_r$ 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。

**②GC-FID（公定法変法）による試験結果**

GC-FID（公定法変法）による試験は 3 機関で実施した。これらの結果については性能パラメーターによる評価は実施しなかったが、規定よりも保持時間が早かった試験機関、並びにカラム、カラム温度が公定法と異なる試験機関の定量値は、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は定量値が全体的にやや低い傾向があった。

**③GC/MS による試験結果**

GC/MS による試験は 13 機関で実施した。各試験機関におけるカラム及びカラム温度などの測定条件は様々であった。一方、カプロラクタムの定量イオンはいずれの試験機関も *m/z* 113 を用いていた。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。

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、外れ値（精度）が 3 つ存在した。絶対検量線法における真度は 93.7～96.1%、$RSD_r$ は 6.7～14.4%、$RSD_R$ は 16.8～21.7%であり、検体 1 の $RSD_r$ 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。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%、$RSD_r$ は 2.0～4.4%、$RSD_R$ 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。

**④各測定法の性能評価**

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。内標法では外れ値の数が減少し、性能パラメーターはすべて改善された。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ー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。

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ヤ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。

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 $RSD_r$ 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 においても、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。

## ２．市販製品に残存する化学物質に関する研究

### １）植物油総溶出量試験法の改良

#### ①試料中の残存植物油の抽出法の検討

シリコーンゴム試料を用い、植物油の抽出を試み、抽出溶媒、抽出温度、抽出時間、抽出回数などを検討した。

抽出溶媒としてシクロヘキサン、ヘキサン及びヘキサン・エタノール（95：5）を対象として比較した。その結果、オリブ油の抽出量はシクロヘキサンで最も高かった。シクロヘキサンを用いて 40℃で 15～360 分間の振とう抽出を行ったところ、抽出されたオリブ油量はいずれの溶媒でも 60 分間で平衡に達した。そのため、抽出時間は 40℃120 分間の振とう抽出が適当と判断された。抽出回数については、絶対検量線法で定量するならば少なくとも 3 回の抽出を行う必要があった。一方、内標準法で定量を行うと 1 回の抽出で試料中の全オリブ油量を算出することができた。そのため、内標準法を用いて定量することとした。ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、天然ゴム及びポリ塩化ビニル試料について、設定した抽出条件が適用可能か否か確認したところ、いずれの試料においても残存する植物油量を正しく求められることが判明した。

以上から、昨年度検討した試料の恒量化及び試料中に残存する植物油の定量法と併せて、操作が簡便でしかも有害試薬を使用しない植物油総溶出物量試験法の改良法を確立した。

#### ②改良法と EN 法の同等性に関する検証

改良法と EN 法の同等性を検証するため、両法によりポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリ塩化ビニル、シリコーンゴム及び天然ゴム製試料の植物油総溶出物量を求め、試験結果を比較した。いずれの試料においても、改良法と EN 法で得られた試料あたりの溶出物量及び植物油総溶出物量はよく一致していた。また、それぞれの標準偏差も十分に小さかった。このことから改良法は EN 法とほぼ同じ試験結果を得ることができ、その試験精度も同等であると結論された。

### ２）ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響

GC-FID を用いる揮発性物質､塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチル、カプロラクタム及びエピクロルヒドリン試験法においては、$N_2$ をキャリヤーガスとして用いると揮発性物質試験法ではピークのテーリングが、カプロラクタム試験法ではピークのリーディングが認められたが、適否判定に支障をきたすほどの変化ではなかった。一方、塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチル及びエピクロルヒドリン試験では、キャリヤーガスによる違いは認められなかった。ブランク溶液を用いて選択性を確認した結果、いずれの試験においてもクロマトグラムに大きな変化はなく、妨害ピークも検出されなかった。

各試験法について性能評価を行ったところ、揮発性物質、塩化ビニル、塩化ビニリデン試験ではキャリヤーガスの違いによる差は認められず、性能パラメーターの値はいずれも目

標値を満たしていた。メタクリル酸メチル試験では He、カプロラクタム及びエピクロルヒドリン試験では $N_2$ をキャリヤーガスとして用いるとやや性能が低下したが、性能パラメーターの値は目標値を満たしていた。

キャリヤーガスに $N_2$ が規定されていない GC-NPD を用いたアミン類試験では、各成分の保持時間に違いはなかったが、ベースラインの形状が異なり、ブランク溶液でトリエチルアミンの保持時間付近に複数のピークが認められたため、慎重に定性を行う必要があった。一方、性能パラメーターはいずれのキャリヤーガスにおいても目標値を満たしており、$N_2$ を用いた GC-NPD はアミン類の定性試験の代替試験法として適用可能であると考えられた。

**3）アンチモン及びゲルマニウム溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発**

**①濃縮法**

蒸発乾固法については、平成 25 年度の厚生労働科学研究では 7 または 8 機関において、試験室間共同試験実施したが、代替法として十分な性能は得られなかった。さらに今回、濃縮乾固時に用いる容器の材質について検討したが、十分な回収率は得られなかった。そのため、蒸発乾固法については有用な代替法を確立できなかった。キレート法については、試験溶液の pH 調整、キレート繊維への吸着時間、吸着した Sb 及び Ge の溶出溶媒について検討し、それぞれの最適な条件を設定した。本法は蒸発乾固法と比べて操作時間を大幅に短縮できた。Sb の真度がやや低かったが、内標準法により定量を行うと、性能パラメーターは目標値を満たしていた。

**②添加法**

標準添加法の性能を評価したところ、Sb、Ge ともに性能パラメーターの値は目標値を満たしていた。一方、Sb の定量値では 4 つ、Ge では 1 つ外れ値が存在した。Sb では測定波長の近傍にピークが存在するため、正確な BG 補正が求められる。既知量添加法については、3 種類の添加濃度による試験の性能を評価したところ、0.1 μg/mL 添加における絶対検量線法による定量値では外れ値が Sb で 2 つ存在したが、Sb、Ge ともに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。0.2 μg/mL 添加における性能パラメーターの値は Sb、Ge ともに 0.1 μg/mL 添加とほぼ同じであった。一方、いずれの添加量においても内標準法による結果では、一部の性能パラメーターの値が目標値から外れており、0.2 μg/mL 添加では誤判定となる結果も 2 つ存在した。0.5 μg/mL 添加では、絶対検量線法、内標準法ともに一部の性能パラメーターの値が目標値から外れ、誤判定となる結果も多くみられた。標準添加法及び既知量添加法は代替法として十分な性能を有していた。これらは大部分の試験機関で実施することが可能であり、代替法として有用と考えられた。ただし、測定条件の設定を慎重に行う必要がある。

## D. 結論

規格試験法の性能評価に関する研究として、ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験法、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、これら試験法及び代替法の性能評価を行った。また、市販製品に残存する化学物質に関する研究として、植物油総溶出物量試験法の改良、ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響及び Sb 及び Ge 溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発に関する検討を行った。

ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験法については、GC-FID、GC/MS 及び HS-GC-FID の性能評価を行った。その結果、公定法に準拠した GC-FID 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。しかし、試料の溶解液を直接注入するため装置が汚染されやすい。そのため、注入口部分の状態に注意を払う必要がある。食品衛生法では採用されていない GC/MS の性能パラメーターの値は目標値を満たしており、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、公定法と同様に装置の汚染について注意を払う必要がある。一方、HS-GC-FID は性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしており、規格試験法の代替法として十分に適用可能であった。また、気相部を装置に注入するため汚染が少なく、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。

ナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム試験については、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。ただし、注入量の変更については影響を与える可能性があるため、慎重に検討する必要があった。また、注入口部分の状態によっては、ピーク割れやキャリーオーバー等の問題が発生することがあるが、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、公定法と同様の問題が発生することがあるため、注意が必要である。

植物油総溶出物量試験法について改良では、EN1186-2 オリブ油総溶出物量試験法のうち、試料中の残存植物油の抽出法について検討を行った。その結果、内標準を加えたシクロヘキサンに浸漬し、40℃で 120 分間の振とう抽出を 1 回行うという簡便な抽出法で、残存植物油量を正しく求められることが判明した。昨年度の検討結果と併せて、操作が簡便でしかも有害試薬を使用しない植物油総溶出物量試験法を確立した。さらに、6 種類の試料を用いて本試験法と EN 法の同等性を検証した結果、得られた植物油総溶出物量及びその標準偏差は極めて良く一致し、両者は同等の試験法であることが確認された。

食品衛生法における器具・容器包装の規格試験法のうち、GC-FID 及び GC-NPD を用いる試験について、キャリヤーガスとして He 及び $N_2$ を用い、同一装置、同一条件で測定を行い、キャリヤーガスの違いによる影響を確認した。GC-FID を用いる揮発性物質、塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチル、カプロラクタム及びエピクロルヒドリン試験においては、$N_2$ をキャリヤーガスとして用いるとピークのテーリングまたはリーディングが認められたが、適否判定に支障をきたすほどの変化ではなかった。いずれの試験法においても、キャリヤーガスに関わらず規格試験法として十分な性能を示した。また、キャリヤーガスに $N_2$ が規定されていない GC-NPD を用いるアミン類試験では、$N_2$ を用いても各成分の保持時間の変化はなく、性能パラメーターの値は目標値を満たしていた。

Sb 及び Ge 溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発では、試験溶液を濃縮して測定する蒸発乾固法及びキレート法、試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法について検討し、その適用性を検証した。試験溶液を蒸発させて乾固する蒸発乾固法では、Sb 及び Ge の揮散を防ぐ方策を見出すことができず、適用可能な方法を確立できなかった。試験溶液中の Sb 及び Ge をキレート繊維に吸着させて濃縮するキレート法は代替法として十分な性能を有していたが、公定法では使用しないキレート繊維や試薬・試液が必要であ

った。試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法は代替法として十分な性能を有していた。これらは特別な試薬や装置を必要とせず、大部分の試験機関で実施することが可能なため代替法として有用であると考えられた。

## E. 健康被害情報

なし

## F. 研究発表

### １．論文発表

1) 村上　亮ら：ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装におけるアンチモン及びゲルマニウム溶出試験の試験室間共同試験、食品衛生学雑誌、56、印刷中 (2015)
2) 柴田　博ら：ゴム製器具・容器包装における亜鉛試験の試験室間共同試験、食品衛生学雑誌、投稿中 (2015)

### ２．講演、学会発表等

1) Mutsuga, M.：Food contact regulatory situation in Japan, Global Food Contact conference 2014 (2014.5)
2) 六鹿元雄：規格試験法の性能評価と改正に向けた取り組み、平成 26 年度 一般社団法人食品衛生登録検査機関協会 器具・容器包装研修会 (2014. 10)
3) 阿部　裕ら：GC/MS を用いたフタル酸エステル測定における共存可塑剤の影響、第 51 回全国衛生化学技術協議会年会 (2014. 11)
4) 村上　亮ら：ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装におけるアンチモンおよびゲルマニウム溶出試験の試験室間共同試験、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
5) 柴田　博ら：ゴム製器具・容器包装における亜鉛溶出試験の試験室間共同試験、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
6) 中西　徹ら：植物油総溶出量試験法の改良 その 1　植物油定量法、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
7) 城市　香ら：植物油総溶出量試験法の改良 その 2 試料の恒量化、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
8) 阿部　裕ら：LC/MS/MS を用いたポリ塩化ビニル中のフタル酸エステル分析法、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

# 規格試験法の性能評価に関する研究

研究代表者　六鹿　元雄　国立医薬品食品衛生研究所

**研究要旨**

食品用器具・容器包装、おもちゃ及び洗浄剤（以下、「器具・容器包装等」）の安全性は、食品衛生法の規格基準により担保されているが、近年、食品の安全性及びその信頼性の確保に関する関心の高まりとともに、その試験及び分析に求められる信頼性の確保も重要な課題となっている。しかし、食品用器具・容器包装の規格試験法については、試験機関ごとに様々な測定条件で実施されているなど、各試験機関の裁量に任せている部分も存在し、大部分の試験法で室間再現精度などの詳細な性能評価は行われていない。そこで、民間の登録検査機関、国及び地方自治体の衛生研究所等の 25 機関により、ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験法及びナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム試験法についての試験室間共同試験を実施し、これら試験法及び代替法の性能評価を行った。

ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験法については、GC-FID、GC/MS 及び HS-GC-FID の性能評価を行った。その結果、公定法に準拠した GC-FID 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。しかし、試料の溶解液を直接注入するため装置が汚染されやすいため、注入口部分の状態に注意を払う必要がある。食品衛生法では採用されていない GC/MS の性能パラメーターの値は目標値を満たしており、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、公定法と同様に試料の溶解液を直接注入するため、注入口部分だけでなくイオン源部分の汚染についても注意を払う必要がある。また、HS-GC-FID の性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしており、規格試験法の代替法として十分に適用可能であった。さらに、HS-GC-FID では気相部のみを装置に注入するため汚染が少なく、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。ただし、試料量や溶媒の設定には注意が必要である。

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は、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。ただし、注入量の変更については影響を与える可能性があるため、慎重に検討する必要があった。また、注入口部分の状態によっては、ピーク割れやキャリーオーバー等の問題が発生することがあるが、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ー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。

**研究協力者**

薗部博則：(一財) 日本文化用品安全試験所
渡辺一成：(一財) 化学研究評価機構
穐山　浩：国立医薬品食品衛生研究所
阿部　孝：(一財) 日本食品分析センター
阿部智之：(公社) 日本食品衛生協会
阿部　裕：国立医薬品食品衛生研究所
石原絹代：(一財) 日本食品分析センター
伊藤禎啓：(公社) 日本食品衛生協会
大坂郁恵：埼玉県衛生研究所
大野春香：愛知県衛生研究所
大野浩之：名古屋市衛生研究所
大野雄一郎：(一財) 千葉県薬剤師会検査センター
大坪昌広：静岡県環境衛生科学研究所
大畑昌輝：(独) 産業技術総合研究所
大森清美：神奈川県衛生研究所
荻本真美：東京都健康安全研究センター
尾崎麻子：大阪市立環境科学研究所
柿原芳輝：(一財) 日本穀物検定協会
河村葉子：国立医薬品食品衛生研究所
神邊友宏：静岡市環境保健研究所
菊地　優：東京都健康安全研究センター
岸　映里：大阪市立環境科学研究所
小林　尚：(一財) 食品分析開発センター SUNATEC
近藤貴英：さいたま市健康科学研究センター
齋藤敬之：(一財) 食品環境検査協会
櫻木大志：名古屋市衛生研究所
柴田　博：(一財) 東京顕微鏡院
清水　碧：神奈川県衛生研究所
城野克広：(独) 産業技術総合研究所
鈴木公美：東京都健康安全研究センター
清木達生：(一社) 日本海事検定協会
関戸晴子：神奈川県衛生研究所
高坂典子：(一財) 食品薬品安全センター
竹内温教：(一財) 食品分析開発センター SUNATEC
竹中　佑：(一財) 日本文化用品安全試験所
但馬吉保：(一財) 食品環境検査協会
田中　葵：(一社) 日本海事検定協会
田中秀幸：(独) 産業技術総合研究所
外岡大幸：さいたま市健康科学研究センター
冨田浩嗣：愛知県衛生研究所
中西　徹：(一財) 日本食品分析センター
野村千枝：大阪府立公衆衛生研究所
羽石奈穂子：東京都健康安全研究センター
早川雅人：(一財) 化学研究評価機構
原　貴彦：(一財) 食品環境検査協会
疋田晃典：長野県環境保全研究所
平川佳則：(一財) 食品環境検査協会
松山重倫：(独) 産業技術総合研究所
三浦俊彦：(一財) 日本冷凍食品検査協会
水野会美：(一財) 食品分析開発センター SUNATEC
村上　亮：(公社) 日本食品衛生協会
山口未来：国立医薬品食品衛生研究所
若山貴成：名古屋市衛生研究所

**健康危害情報**

なし

**研究発表**

**１．論文発表**

1) 村上　亮ら：ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装におけるアンチモンおよびゲルマニウム溶出試験の試験室間共同試験、食品衛生学雑誌、56、印刷中 (2015)
2) 柴田　博ら：ゴム製器具・容器包装における亜鉛試験の試験室間共同試験、食品衛生学雑誌、投稿中 (2015)

**２．講演、学会発表等**

1) Mutsuga, M.：Food contact regulatory situation in Japan, Global Food Contact conference 2014 (2014.5)
2) 六鹿元雄：規格試験法の性能評価と改正に向けた取り組み、平成 26 年度 一般社団法人食品衛生登録検査機関協会 器具・容器包装研修会 (2014. 10)
3) 村上　亮ら：ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装におけるアンチモンおよびゲルマニウム溶出試験の試験室間共同試験、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
4) 柴田　博ら：ゴム製器具・容器包装における亜鉛溶出試験の試験室間共同試験、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)

**知的財産権の出願・登録状況**

なし

# ＜その１＞ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験の性能評価

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　薗部　博則　（一財）日本文化用品安全試験所

## A. 研究目的

ポリスチレン（PS）を主成分とする合成樹脂製の器具・容器包装では、モノマー試験として揮発性物質（スチレン：ST、トルエン：TO、エチルベンゼン：EB、イソプロピルベンゼン：iPB、及びプロピルベンゼン：PB）の残存量が規制されている。その試験法は、試料をテトラヒドロフラン（THF）で溶解後、内標準としてジエチルベンゼン（DEB）を加えて試験溶液とする。これをガスクロマトグラフ・水素炎イオン化検出器（GC-FID）で測定し、内標準法により得られた各成分の定量値から製品中に残存する各成分の濃度を算出し、適否判定を行う。一般の製品では各成分の濃度の合計が 5 mg/g 以下でなければならない。ただし、発泡 PS（熱湯を用いるものに限る）では各成分の濃度の合計が 2 mg/g 以下、かつ、ST 及び EB の濃度がそれぞれ 1 mg/g 以下とされている。

揮発性物質試験は PS を主成分とする合成樹脂製の器具または容器包装に適用される。PS を主成分とする合成樹脂製の器具または容器包装とは、基ポリマー中の ST 及びα-メチルスチレンの含有率が50%以上のものであり[1]、主に PS を指すが、その他にもアクリロニトリル・スチレン共重合（AS）樹脂、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合（ABS）樹脂、ポリメタクリルスチレンなどでは ST の含有率が 50%以上の製品も多く、本規格の対象となる[2]。

揮発性物質試験法については、パックドカラムから汎用性の高いキャピラリーカラムへの変更が検討され[3, 4]、厚生労働省告示第 201 号により、キャピラリーGC 法が規格試験法として採用された[5]。本法は、溶解した試料を直接装置に注入しているため、試験溶液を注入するシリンジや装置の注入口部分がポリマーの付着により汚染されやすい。また、ABS 樹脂中のブタジエン成分は THF に溶解せず、試験溶液は懸濁状となる。そのため、不溶物も含めて装置に注入しなければならない。このように本試験法ではシリンジや注入口部分が汚染されやすく、その状態によっては揮発性物質のピーク形状や面積値が変化することがあるため、シリンジは十分に洗浄し、注入口インサートには不活性化したガラスウールを入れておくとともに、頻繁にインサートを交換するなどの対応策が示されている[6, 7]。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。しかし、本試験法については、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。

その他に、PS 製品中の ST や TO などの分析法として、ガスクロマトグラフ・質量分析法（GC/MS）やヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法（HS-GC）が報告されている[7-13]。GC/MS はイオン源部分の汚染が危惧されるため、試験溶液を直接注入する方法は推奨されていないが、GC-FID と比べて選択性が良く、同時に他の添加剤の一斉分析やオリゴマーなどの定性や定量を行うことが可能である[8]。また、HS-GC は気相部分のみを装置に注入するため、装置への負担や汚染が少ない[7, 9,

[10]。さらに近年ではヘッドスペースサンプラーの普及により、簡便で再現性に優れる分析が可能となっている。また、検出器として MS を使用することでより選択性と感度の良い分析が可能となる。

そこで、PS 製器具・容器包装の揮発性物質試験法について試験室間共同試験を行い、食品衛生法の規格試験法の性能を評価するとともに、公定法変法、GC/MS 及び HS-GC については代替法としての妥当性を検証した。

## 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 10 機関の合計 21 機関が参加して実施した。

### ２．検体

PS 検体：PS 製ペレット（PSJ-ポリスチレンペレット、SGP10、粒度 74、PS ジャパン㈱製）約 10 g

AS 検体：AS 製ペレット（STYLAC-AS、TYPE 767、粒度 71、旭化成ケミカルズ㈱製）約 10 g

ABS 検体：ABS 製ペレット（デンカ ABS、GR-2000、電気化学工業㈱製）約 10 g

各検体は国立医薬品食品衛生研究所で 10～15 g に小分けし、褐色のガラス瓶に入れて濃度非明示で平成 26 年 4 月 22 日に各試験機関に配付し、試験は 2 ヶ月以内に実施した。

### 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１＞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 TO、EB、iPB、PB 及び ST の各濃度を測定した。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、その原因が明らかな場合は再測定を認めた。

試薬、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。また、いずれの試験法においても、各成分の定量は内標準として DEB を用いた内標準法で行うこととした。

「＜別添１＞平成 26 年度 試験室間共同試験 計画書」に記載した各試験法の条件を以下に示した。

**GC-FID（公定法及び公定法変法）**

試験溶液の調製は食品衛生法に準じて行う。検量線溶液等は市販の標準液を使用して調製してもよいこととする。食品衛生法で規定されている測定条件を用いた場合は公定法、規定と異なる測定条件を用いた場合は公定法変法とする。

**GC/MS**

試験溶液の調製法は食品衛生法に準じて行い、GC/MS を用いて測定する。試験溶液の注入量及び測定条件等は任意とする。

**HS-GC 法**

HS-GC-FID または HS-GC/MS を用いて測定する。試験溶液の調製法、測定条件等は任意とする。

### ５．定量値の解析及び性能の検証

食品衛生法の規格では、5種の各成分の濃度を求め、その合計により適否を判定するが、

今回は成分ごとに定量値の解析を行い、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を算出し、各試験法の性能を検証した。

各試験機関から収集した定量値のうち、各検体の少なくとも一方の定量値が定量下限値未満であった結果を除外したものを有効データとした。

本試験室間共同試験で使用した検体は各成分の含有量の値付けがなされていないため、GC-FID（公定法）の有効データを用いて推定含有量を求めた。ただし、TO、PB 及び iPB はすべての試験機関で定量下限値未満であり、有効データが存在しなかったため、GC-FID（公定法）を実施した試験機関のうち、最も低い定量下限値から、これらの含有量を 20 μg/g 未満と推定した。PS 検体中の EB は含有量が少なく、定量下限値が低い 3 機関のみが定量可能であった。そのため、これら 3 機関の平均値を推定含有量とした。3 検体すべての ST、AS 検体及び ABS 検体の EB は 15 機関すべての平均値を推定含有量とした。各成分の推定含有量を表１に示した。

EB 及び ST の有効データについて、試験法ごとに ISO 5725-2 [14] 及び JIS Z 8402-2 [15] 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。

**表１　検体中の各成分の推定含有量**

| 検体 | 推定含有量 (μg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | TO | EB | iPB | PB | ST |
| PS | < 20 | 38.9 | < 20 | < 20 | 272.8 |
| AS | < 20 | 859.1 | < 20 | < 20 | 727.7 |
| ABS | < 20 | 158.5 | < 20 | < 20 | 852.7 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、
EB：エチルベンゼン、iPB：イソプロピルベンゼン、
PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン

また、定量結果（同検体2測定の平均値）が推定含有量の70～120%の範囲から外れたものを外れ値（真度）とした。

真度、$RSD_r$及び$RSD_R$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」[16] 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70～120%、$RSD_r$ は10%以下、$RSD_R$ は25%以下とした。

## C. 研究結果及び考察

### １．検体の選択

揮発性物質試験の対象はTOやSTなどの揮発性物質であるため、認証標準物質は存在しない。また、市販の器具・容器包装では、各試験機関に配付するために適量の揮発性物質を含有する製品が複数個必要であるが、試験部位や製品ごとに揮発性物質の量が異なる可能性がある。また、粉末化による均質化はその操作の過程で揮発性物質が揮散してしまうおそれがある。そこで、今回の試験室間共同試験では、検体の均質性を考慮して、ペレット状の製品を検体として用いることとした。1 粒あたり 0.02 g 程度の大きさのペレットであれば、公定法で試験する際に必要となる 0.5 g は 30 粒程度となり、ペレット間で多少含有量に差があっても平均化されるため、試験室間共同試験を行うための均質性は確保できると考えた。

そこで、PS 製の市販ペレットに加え、AS 樹脂及び ABS 樹脂製の市販ペレットを購入し、各成分の含有量を GC-FID（公定法）により測定した。その結果、いずれのペレットからも TO、iPB 及び PB は検出されなかったが、EB 及び ST は数十から数百μg/g 検出された。これらの量は規格値に比べて明らかに少なかったが、GC-FID で十分に定量可能な濃度であったことから公定法においても検量線範囲を低濃度側に広げることで十分に定量可

能と考えられた。そのため、これら3種のペレットを検体として用いて試験室間共同試験を実施した。

## 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。また、10検体の各定量値の相対標準偏差を求めたところ、1.4～3.5%であった。このばらつきの大部分は操作誤差及び測定誤差によるものと考えられたため、ペレット（0.5 g）の均質性についても問題がないと判断した。検体の安定性については、いずれの検体も配付2ヶ月後の定量値が配付直後の定量値の95～105%の範囲内であった。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。

## 3．試験室間共同試験の結果

対象とした5成分のうち、iPB及びPBはすべての結果が定量下限値未満であった。TOはHS-GCによる試験で2機関から検出されたが、その他の試験法ではいずれも定量下限値未満であった。そのため、結果の解析はEBとSTの定量値についてのみ行った。試験室間共同試験により得られた各成分の定量値と外れ値検定の結果を表３及び４に示した。

表２　検体中の成分含有量の均質性及び安定性

| 検体 | 成分 | 配付前 | | | 配付2ヶ月後 | | | 含有量比（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 総平均①（μg/g） | 分散比（F値） | RSDr (%) | 総平均②（μg/g） | 分散比（F値） | RSDr (%) | ②／①×100 |
| PS | TO | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | EB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | iPB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | PB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | ST | 278 | 0.58 | 1.8 | 291 | 1.81 | 4.7 | 104.8 |
| AS | TO | <100 | | | <100 | - | - | - |
| | EB | 833 | 1.00 | 3.5 | 843 | 2.07 | 2.1 | 101.2 |
| | iPB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | PB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | ST | 708 | 1.07 | 2.6 | 695 | 0.99 | 2.1 | 98.1 |
| ABS | TO | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | EB | 163 | 0.75 | 2.8 | 156 | 1.18 | 4.9 | 95.8 |
| | iPB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | PB | <100 | - | - | <100 | - | - | - |
| | ST | 859 | 1.67 | 1.4 | 818 | 2.95 | 1.9 | 95.2 |

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

-：算出せず、$RSD_r$：10検体の定量値の相対標準偏差

**表３　試験室間共同試験（GC-FID）における検体中の各成分の定量値と外れ値検定の結果**

| 試験法 | 試験機関 | PS検体中の濃度 (μg/g) | | | | | AS検体中の濃度 (μg/g) | | | | | ABS検体中の濃度 (μg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | トルエン | エチルベンゼン | イソプロピルベンゼン | プロピルベンゼン | スチレン | トルエン | エチルベンゼン | イソプロピルベンゼン | プロピルベンゼン | スチレン | トルエン | エチルベンゼン | イソプロピルベンゼン | プロピルベンゼン | スチレン |
| GC-FID | A | <40, <40 | <40, <40 | <40, <40 | <40, <40 | 283, 284 | <40, <40 | 854, 846 | <40, <40 | <40, <40 | 738, 731 | <40, <40 | 155, 155 | <40, <40 | <40, <40 | 858, 850 |
| （公定法） | B | <30, <30 | 40.4, 39.2 | <30, <30 | <30, <30 | 267, 274 | <30, <30 | 914, 911 | <30, <30 | <30, <30 | 749, 746 | <30, <30 | 157, 157 | <30, <30 | <30, <30 | 885, 887 |
| | H | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 272, 268 | <100, <100 | 856, 872 | <100, <100 | <100, <100 | 707, 725 | <100, <100 | 161, 158 | <100, <100 | <100, <100 | 829, 823 |
| | I | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 274, 269 | <100, <100 | 850, 839 | <100, <100 | <100, <100 | 735, 717 | <100, <100 | 162, 158 | <100, <100 | <100, <100 | 860, 863 |
| | K | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 288, 280 | <100, <100 | 874, 857 | <100, <100 | <100, <100 | 746, 735 | <100, <100 | 170, 167 | <100, <100 | <100, <100 | 873, 867 |
| | M | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 273, 266 | <100, <100 | 897, 869 | <100, <100 | <100, <100 | 722, 701 | <100, <100 | 159, 159 | <100, <100 | <100, <100 | 818, 838 |
| | N | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 292, 275 | <100, <100 | 846, 860 | <100, <100 | <100, <100 | 725, 737 | <100, <100 | 164, 172 | <100, <100 | <100, <100 | 864, 866 |
| | O | <20, <20 | 38.5, 39.3 | <20, <20 | <20, <20 | 276, 278 | <20, <20 | 838, 836 | <20, <20 | <20, <20 | 721, 718 | <20, <20 | 159, 158 | <20, <20 | <20, <20 | 857, 858 |
| | P | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 227, 245 | <100, <100 | 837, 839 | <100, <100 | <100, <100 | 713, 711 | <100, <100 | 161, 162 | <100, <100 | <100, <100 | 836, 819 |
| | Q | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 281, 295 | <100, <100 | 856, 860 | <100, <100 | <100, <100 | 729, 741 | <100, <100 | 164, 160 | <100, <100 | <100, <100 | 856, 863 |
| | R | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 260, 268 | <100, <100 | 828, 828 | <100, <100 | <100, <100 | 713, 702 | <100, <100 | 160, 149 | <100, <100 | <100, <100 | 822, 809 |
| | S | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 270, 277 | <100, <100 | 862, 861 | <100, <100 | <100, <100 | 732, 730 | <100, <100 | 157, 157 | <100, <100 | <100, <100 | 837, 838 |
| | U | <30, <30 | 38.6, 37.3 | <30, <30 | <30, <30 | 277, 281 | <30, <30 | 869, 886 | <30, <30 | <30, <30 | 731, 746 | <30, <30 | 161, 165 | <30, <30 | <30, <30 | 868, 908** |
| | V | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 295, 293 | <100, <100 | 873, 873 | <100, <100 | <100, <100 | 770, 760 | <100, <100 | 154, 154 | <100, <100 | <100, <100 | 896, 904 |
| | Y | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 258, 240 | <100, <100 | 841, 840 | <100, <100 | <100, <100 | 696, 704 | <100, <100 | 136, 144† | <100, <100 | <100, <100 | 817, 813 |
| GC-FID | C | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 290, 291 | <100, <100 | 884, 886 | <100, <100 | <100, <100 | 762, 770 | <100, <100 | 163, 165 | <100, <100 | <100, <100 | 894, 900 |
| （公定法変法） | F | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 282, 286 | <100, <100 | 901, 891 | <100, <100 | <100, <100 | 752, 755 | <100, <100 | 162, 161 | <100, <100 | <100, <100 | 880, 872 |
| | X | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <u>211, 203</u> | <100, <100 | <u><u>1010, 1070</u></u> | <100, <100 | <100, <100 | <u>866, 854</u> | <100, <100 | <u><u>104, 111</u></u> | <100, <100 | <100, <100 | 830, 834 |

＿：[（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、外れ値（真度）に該当しない、GC-FID（公定法）は検定を実施せず

＝：[（定量値の平均値）／推定含有量×100 (%)] の値が 70%未満または 120%を超える、外れ値（真度）に該当、GC-FID（公定法）は検定を実施せず

*：Cochran検定で異常値（危険率<5%）と判定、外れ値（精度）に該当しない（ただし、これに該当したデータは存在せず）

**：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（精度）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（ただし、これに該当したデータは存在せず）

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

**表４　試験室間共同試験（GC/MS、HS-GC-FID及びHS-GC/MS）における検体中の各成分の定量値と外れ値検定の結果**

| 試験法 | 試験機関 | PS検体中の濃度 (μg/g) | | | | | AS検体中の濃度 (μg/g) | | | | | ABS検体中の濃度 (μg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | トルエン | エチルベンゼン | イソプロピルベンゼン | プロピルベンゼン | スチレン | トルエン | エチルベンゼン | イソプロピルベンゼン | プロピルベンゼン | スチレン | トルエン | エチルベンゼン | イソプロピルベンゼン | プロピルベンゼン | スチレン |
| GC/MS | D | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 261, 272 | <100, <100 | 908, 882 | <100, <100 | <100, <100 | 757, 741 | <100, <100 | 164, 165 | <100, <100 | <100, <100 | 893, 912 |
| | I | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 263, 263 | <100, <100 | 819, 813 | <100, <100 | <100, <100 | 705, 695 | <100, <100 | 145, 150 | <100, <100 | <100, <100 | 837, 852 |
| | M | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 191, 249 | <100, <100 | 831, 801 | <100, <100 | <100, <100 | 696, 647 | <100, <100 | 154, 152 | <100, <100 | <100, <100 | 809, 787 |
| | N | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 261, 267 | <100, <100 | 806, 818 | <100, <100 | <100, <100 | 706, 714 | <100, <100 | 148, 151 | <100, <100 | <100, <100 | 825, 842 |
| | X | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 294, 321 | <100, <100 | 864, 891 | <100, <100 | <100, <100 | 785, 849 | <100, <100 | 174, 162 | <100, <100 | <100, <100 | 1020, 1030 |
| HS-GC-FID | B | <30, <30 | 39.1, 40.4 | <30, <30 | <30, <30 | 278, 278 | <30, <30 | 839, 850 | <30, <30 | <30, <30 | 766, 750 | <30, <30 | 154, 157 | <30, <30 | <30, <30 | 844, 877 |
| | K | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | 204, 178†† | <50, <50 | 648, 628 | <50, <50 | <50, <50 | 452, 449†† | <50, <50 | 127, 121†† | <50, <50 | <50, <50 | 521, 512†† |
| | M | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | 264, 262 | <50, <50 | 773, 727 | <50, <50 | <50, <50 | 718, 771 | <50, <50 | 145, 153 | <50, <50 | <50, <50 | 763, 776 |
| | N | 12.0, 12.0 | 35.3, 36.6 | <6.25, 6.25 | <6.25, 6.25 | 278, 281 | <6.25, <6.25 | 912, 912 | <6.25, <6.25 | <6.25, 7.31 | 731, 728 | 7.06, 7.13 | 160, 160 | <6.25, <6.25 | <6.25, <6.25 | 871, 878 |
| | P | <25, <25 | 42.0, 40.2 | <25, <25 | <25, <25 | 292, 280 | <25, <25 | 827, 854 | <25, <25 | <25, <25 | 709, 729 | <25, <25 | 165, 167 | <25, <25 | <25, <25 | 850, 873 |
| | Q | <25, <25 | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | 286, 278 | <25, <25 | 818, 839 | <50, <50 | <50, <50 | 701, 728 | <25, <25 | 148, 160 | <50, <50 | <50, <50 | 812, 833 |
| | R | 9.85, 9.59 | 40.4, 28.9** | <6.25, <6.25 | <6.25, <6.25 | 282, 271 | <6.25, <6.25 | 843, 830 | <6.25, <6.25 | <6.25, <6.25 | 715, 720 | <6.25, <6.25 | 157, 154 | <6.25, <6.25 | <6.25, <6.25 | 857, 851 |
| | S | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 275, 268 | <100, <100 | 862, 826 | <100, <100 | <100, <100 | 738, 713 | <100, <100 | 157, 159 | <100, <100 | <100, <100 | 862, 835 |
| | T | <20, <20 | 36.2, 37.3 | <20, <20 | <20, <20 | 274, 281 | <20, <20 | 964, 948 | <20, <20 | <20, <20 | 807, 782 | <20, <20 | 172, 164 | <20, <20 | <20, <20 | 896, 837 |
| | U | <30, <30 | 35.5, 35.6 | <30, <30 | <30, <30 | 256, 268 | <30, <30 | 837, 835 | <30, <30 | <30, <30 | 722, 717 | <30, <30 | 161, 160 | <30, <30 | <30, <30 | 857, 865 |
| HS-GC/MS | D | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | <50, <50 | 272, 264 | <50, <50 | 862, 876 | <50, <50 | <50, <50 | 706, 719 | <50, <50 | 158, 158 | <50, <50 | <50, <50 | 827, 829 |
| | H | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 307, 302 | <100, <100 | 903, 873 | <100, <100 | <100, <100 | 758, 720 | <100, <100 | 159, 149 | <100, <100 | <100, <100 | 839, 773 |
| | W | <33, <33 | <33, <33 | <33, <33 | <33, <33 | 240, 190 | <33, <33 | 1029, 913 | <33, <33 | <33, <33 | 874, 783 | <33, <33 | 167, 161 | <33, <33 | <33, <33 | 868, 863 |
| | X | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | <100, <100 | 303, 309 | <100, <100 | 1010, 960 | <100, <100 | <100, <100 | 851, 810 | <100, <100 | 179, 184 | <100, <100 | <100, <100 | 983, 1010 |

＿：[（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、外れ値（真度）に該当しない

＝：[（定量値の平均値）／推定含有量×100 (%)] の値が 70%未満または 120%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（精度）に該当しない（ただし、これに該当したデータは存在せず）

**：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（ただし、これに該当したデータは存在せず）

††：Grubbs検定で異常値（危険率<1%）と判定、外れ値（精度）に該当

HS-GC/MS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）各試験機関で使用した試薬・試液等**

食品衛生法の揮発性物質試験法では、約25～125 μg/mL（1～5 mg/g に相当）の標準溶液を調製し、これらを用いて検量線を作成して定量を行うこととされているが、各成分の標準品は揮発性を有する液体であるため、その操作は煩雑である。一方、試験の対象である5種の揮発性物質をTHFに溶解した混合標準液（1000 mg/L）が市販されており、この市販品を希釈して標準溶液を調製する試験機関もある。

また、食品衛生法では内標準として DEB 試液を添加している。その DEB 試液は、DEB 1 mL を THF 100 mL に溶解し、さらに THF で 10 倍希釈して調製する。そのため、その濃度は 1 μL/mL となる。一方、DEB についても揮発性を有する液体であるため、1000 mg/L の THF 溶液（DEB 標準液）が市販されているが、濃度の単位が異なる。この市販品を用いる試験機関では主に DEB 標準液を THF で 1 μg/mL に希釈し、これを DEB 試液として用いている。この場合、DEB の比重が 0.87 g/mL であるため、実際の濃度は DEB 試液よりもやや高くなる。しかし、DEB は内標準として添加しており、これらの濃度差はわずかであるため、定量値に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

今回の試験室間共同試験では 21 機関中、標準溶液については 6 機関（A、C、H、K、O 及び W）、DEB 試液については 4 機関（試験機関 A、H、K 及び W）が市販の混合標準液から、残りの試験機関は標準品から調製を行っていた。しかし、市販の標準液の使用に関しては区別せずに結果を解析した。

**2）GC-FID による試験結果**

**①測定条件及び各成分の保持時間**

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５に示した。

試験機関 F はカラムの温度が規定とやや異なっていた。試験機関 X はカラム担体、カラムサイズ、カラム温度が規定と異なっていたが、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。また、18 機関中、11 機関が規定のカラム温度に洗浄用の昇温プログラムを追加していた。キャリヤーガスについては、いずれの試験機関も公定法に準拠した He または $N_2$ を使用しており、18 機関中 12 機関が He、残り 6 機関は $N_2$ を使用していた。

キャリヤーガス流量は約半数が 1.5 mL/min 程度であったが、試験機関 M と U はそれぞれ 0.89 及び 0.85 mL/min と他の試験機関と比べてやや低かった。また、試験機関 X は公定法で規定されるカラムよりも内径が大きいものを使用していたため、他の試験機関と比べて流量が大きかった。

キャリヤ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 10 機関が定流量モード、8 機関が定圧モードでキャリヤーガス流量を制御していた。また、試験機関 X を除くすべての試験機関は、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 5：1～40：1 であった。

各成分の保持時間を表６に示した。食品衛生法では内標準として添加した DEB の保持時間が約 11 分となるようにキャリヤーガス流量を調節することとされているが、試験機関 C は DEB の保持時間が 7.8 分と規定よりもやや早かった。試験機関 F はカラム温度が規定と異なり、初期温度（60℃）のまま 3 分間保持したのち昇温しているため、規定の保持時間よりも遅かった。また、GC 条件が規定と大きく異なる試験機関 X の保持時間は、32.3 分とかなり遅かった。

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 C、F 及び X 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

表５　GC-FIDにおける各試験機関のGC条件

| 試験機関 | カラム | カラム温度[*1] | キャリヤーガス | キャリヤーガス流量 | スプリット比 |
|---|---|---|---|---|---|
| A | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-10°C/min-220°C(5 min)[*3] | He | 1.4 mL/min | 30:1 |
| B | InertCap WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-30°C/min-220°C(5 min)[*3] | He | 1.7 mL/min (定圧) | 5：1 |
| C | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-20°C/min-200°C(5 min)[*3] | $N_2$ | 1.2 mL/min | 10：1 |
| F | DB-WAX[*1] | 60°C(3 min)-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C[*4] | He | 1.2 mL/min | 40：1 |
| H | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-200°C(5 min)[*3] | He | 1.5 mL/min (定圧) | 20：1 |
| I | InertCap WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C | He | 1.2 mL/min | 30：1 |
| K | HP-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C | He | 1.6 mL/min | 15：1 |
| M | TC-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-10°C/min-210°C(2 min)[*3] | He | 0.89 mL/min (定圧) | 15：1 |
| N | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-30°C/min-180°C(5 min)[*3] | $N_2$ | 1.32 mL/min (定圧) | 25：1 |
| O | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-200°C(5min)[*3] | $N_2$ | 1.49 mL/min (定圧) | 20：1 |
| P | Rtx-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C(5 min)-20°C/min-220°C(5 min)[*3] | He | 1.51 mL/min | 30：1 |
| Q | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C | He | 1.4 mL/min | 10：1 |
| R | InertCap WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C(1 min)-10°C/min-220°C(5 min)[*3] | He | 1.42 mL/min (定圧) | 30：1 |
| S | InertCap Pure WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-200°C(5 min)[*3] | He | 1.2 mL/min | 15：1 |
| U | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-30°C/min-180°C(1 min)[*3] | He | 0.85 mL/min | 5：1 |
| V | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C(5 min) | $N_2$ | 1.46 mL/min | 30：1 |
| X | DB-1[*2] | 40°C(15 min)-4°C/min-140°C-10°C/min-200°C(4 min)[*4] | $N_2$ | 10 mL/min (定圧) | スプリットレス |
| Y | DB-WAX[*1] | 60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C(5 min) | $N_2$ | 1.1 mL/min (定圧) | 10：1 |

[*1]：内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.5 μm（公定法で規定されているカラムサイズ）

[*2]：内径0.53 mm, 長さ30 m, 膜厚5 μm

[*3]：食品衛生法で規定されるカラム温度（60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C）＋カラム洗浄用の追加昇温

[*4]：食品衛生法で規定されるカラム温度と異なる

**表６　GC-FIDにおける各成分の保持時間**

| 試験機関 | 保持時間 (分) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST |
| A | 11.4 | 5.0 | 6.7 | 7.8 | 8.8 | 10.1 |
| B | 10.5 | 4.2 | 5.8 | 6.8 | 7.7 | 9.0 |
| C | 7.8[*2] | 2.9 | 4.1 | 4.8 | 5.5 | 6.6 |
| F[*1] | 15.1[*2] | 6.9 | 9.4 | 10.8 | 12.0 | 13.6 |
| H | 11.0 | 4.5 | 6.2 | 7.2 | 8.2 | 9.5 |
| I | 11.3 | 4.9 | 6.6 | 7.6 | 8.6 | 10.0 |
| K | 11.1 | 4.8 | 6.5 | 7.5 | 8.4 | 9.7 |
| M | 12.8 | 6.0 | 7.9 | 9.1 | 10.1 | 11.5 |
| N | 12.2 | 5.4 | 7.3 | 8.5 | 9.5 | 10.9 |
| O | 11.0 | 4.5 | 6.2 | 7.2 | 8.2 | 9.5 |
| P | 11.0 | 4.6 | 6.2 | 7.3 | 8.2 | 9.5 |
| Q | 10.9 | 4.6 | 6.2 | 7.3 | 8.2 | 9.4 |
| R | 10.7 | 4.4 | 6.1 | 7.1 | 7.9 | 9.3 |
| S | 11.3 | 5.1 | 6.7 | 7.8 | 8.7 | 9.9 |
| U | 11.2 | 5.0 | 6.7 | 7.7 | 8.6 | 9.9 |
| V | 11.9 | 5.0 | 6.9 | 8.1 | 9.0 | 10.4 |
| X[*1] | 32.3[*2] | 17.1 | 24.1 | 28.7 | 30.3 | 26.5 |
| Y | 10.9 | 4.6 | 6.2 | 7.3 | 8.2 | 9.5 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、EB：エチルベンゼン、
iPB：イソプロピルベンゼン、PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン
[*1]：測定条件が食品衛生法の規定と異なる
[*2]：食品衛生法で規定される保持時間（約11分）と異なる

**表７　GC-FIDにおける各成分の定量下限値**

| 試験機関 | 定量下限値 (μg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | TO | EB | iPB | PB | ST |
| A | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| B | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| H | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| I | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| K | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| M | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| N | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| O | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| P | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Q | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| R | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| S | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| U | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| V | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Y | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| C[*] | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| F[*] | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| X[*] | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、EB：エチルベンゼン
iPB：イソプロピルベンゼン、PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン
[*]：公定法変法

解析した。

**②定量下限値**

各試験機関における定量下限値を表７に示した。

食品衛生法では約 25〜125 μg/mL（1〜5 mg/g に相当）の濃度範囲で検量線を作成することとされているが、各試験機関の定量下限値は 20〜100 μg/g であり、いずれの試験機関においても規定されている最低濃度の 1/10 以下まで定量が可能であった。

**③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８に示した。4 機関が市販の混合標準液、3 機関が市販の DEB 試液を使用していたが、定量値に差はみられなかった。また、1 機関がオートサンプラーを用いず、手打ちで試験を行っていたが、同様に差はみられなかった。

各検体中の推定含有量はこれらの結果をもとに算出した数値であるため、GC-FID（公定法）では真度は求めなかった。外れ値（精度）については、ABS 検体の ST で Cochran 検定によるものが 1 つ存在した。

性能パラメーターの値は、$RSD_r$ が 1.0〜2.6%、$RSD_R$ が 2.5〜5.8%であり、十分に目標値を満たしていた。このように公定法は併行精度が良く、試験室間でのばらつきも少ない。また、既報の添加回収試験では 96〜102%と良好な回収率が得られている[3)]。そのため、各試験機関から得られた定量値は実際の含有量に近い値と考えられた。検体に含有されていなかった iPB 及び PB、並びに含有量が少なかった TO については性能パラメーターを得ることができなかったが、これらは EB 及び ST と類似の構造や性質を有するため、TO、iPB 及び PB についても EB 及び ST と同程度のパラメーターが得られるものと考えられた。

ABS 検体は THF に不溶のゴム成分を含むため、試験溶液は白濁し、他の検体と比べて溶解に要する時間が長い。しかし、試験機関

**表8　GC-FID（公定法）によるエチルベンゼン及びスチレンの定量値とその解析結果**

| 試験機関 | PS検体中の含有量 (μg/g) | | AS検体中の含有量 (μg/g) | | ABS検体中の含有量 (μg/g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | EB | ST | EB | ST | EB | ST |
| A | <40, <40 | 283, 284 | 854, 846 | 738, 731 | 155, 155 | 858, 850 |
| B | 40.4, 39.2 | 267, 274 | 914, 911 | 749, 746 | 157, 157 | 885, 887 |
| H | <100, <100 | 272, 268 | 856, 872 | 707, 725 | 161, 158 | 829, 823 |
| I | <100, <100 | 274, 269 | 850, 839 | 735, 717 | 162, 158 | 860, 863 |
| K | <100, <100 | 288, 280 | 874, 857 | 746, 735 | 170, 167 | 873, 867 |
| M | <100, <100 | 273, 266 | 897, 869 | 722, 701 | 159, 159 | 818, 838 |
| N | <100, <100 | 292, 275 | 846, 860 | 725, 737 | 164, 172 | 864, 866 |
| O | 38.5, 39.3 | 276, 278 | 838, 836 | 721, 718 | 159, 158 | 857, 858 |
| P | <100, <100 | 227, 245 | 837, 839 | 713, 711 | 161, 162 | 836, 819 |
| Q | <100, <100 | 281, 295 | 856, 860 | 729, 741 | 164, 160 | 856, 863 |
| R | <100, <100 | 260, 268 | 828, 828 | 713, 702 | 160, 149 | 822, 809 |
| S | <100, <100 | 270, 277 | 862, 861 | 732, 730 | 157, 157 | 837, 838 |
| U | 38.6, 37.3 | 277, 281 | 869, 886 | 731, 746 | 161, 165 | 868, 908[*2a] |
| V | <100, <100 | 295, 293 | 873, 873 | 770, 760 | 154, 154 | 896, 904 |
| Y | <100, <100 | 258, 240 | 841, 840 | 696, 704 | 136, 144 | 817, 813 |
| **有効データ数** | 3 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |
| **平均値**（μg/g） | 38.9 | 273 | 859 | 728 | 159 | 853 |
| $RSD_r$（%） | - | 2.6 | 1.0 | 1.1 | 2.0 | 1.1 |
| $RSD_R$（%） | - | 5.8 | 2.6 | 2.5 | 4.5 | 3.3 |
| **外れ値（真度）数**[*1] | - | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/15 |
| **外れ値（精度）数**[*2] | - | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 1/15 |

EB：エチルベンゼン、ST：スチレン、$RSD_r$：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70%未満または 120%を超える結果

[*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%）に該当する結果

間で定量値に差はみられず、$RSD_r$、$RSD_R$ ともに PS 及び AS 検体とほぼ同じであった。このことから、公定法では試験溶液に不溶物が存在していても、定量値への影響はほとんどないことが分かった。

一方、公定法では試料の溶解液を直接装置に注入するため、シリンジやインサート内にポリマーが残りやすい[6, 7]。今回の試験室間共同試験においても 3 機関から、試験溶液を複数回連続して注入すると ST のキャリーオーバーがみられる、ST のピーク面積が減少する、シリンジが詰まるという症状の発生が報告された。これらの症状は試験機関によって様々であったが、キャリーオーバーやピーク面積の減少は、ST についてのみ発生し、内標準の DEB や他の成分では発生しなかった。この原因として注入用シリンジの洗浄不足、注入口インサートの汚染など、注入操作に関連する部分に問題があると考えられた。また、多数の試験を一度に行う場合は、インサート内にポリマーが蓄積され、その分解によるキャリーオーバーやポリマーへの吸着による感度の低下が発生することもある。そのため、注入用シリンジの洗浄を十分に行う、注入口インサートの取り換えを頻繁に行う、定期的に標準溶液を注入して ST のピーク面積に変化がないことを確認するなどの対応策を実施するとよい[6, 7]。

**④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

**表９　GC-FID（公定法変法）によるエチルベンゼン及びスチレンの定量値とその解析結果**

| 試験機関 | PS検体中の含有量 (μg/g) | | AS検体中の含有量 (μg/g) | | ABS検体中の含有量 (μg/g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | EB | ST | EB | ST | EB | ST |
| C | <100, <100 | 290, 291 | 884, 886 | 762, 770 | 163, 165 | 894, 900 |
| F | <100, <100 | 282, 286 | 901, 891 | 752, 755 | 162, 161 | 880, 872 |
| X | <100, <100 | 211, 203 | 1010, 1070* | 866, 854 | 104, 111* | 830, 834 |

*：外れ値（真度）、[（定量値の平均値）／推定含有量×100 (%)] の値が70%未満または120%を超える結果

解析結果を表９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 C、カラム温度が公定法と異なる試験機関 F の定量値は、GC-FID（公定法）の結果とほぼ同じであった。保持時間が多少ずれる程度の条件の変更であれば、性能に大きな変化は生じないと考えられた。一方、カラムやカラム温度が公定法と大きく異なる試験機関 X の結果は、AS 及び ABS 検体の EB の定量値が外れ値（真度）に該当した。また、ST の定量値は外れ値（真度）に該当しなかったが、PS 及び ABS 検体では定量値が推定含有量と比べて低く、AS 検体では高かった。

**２）GC/MS による試験結果**

**①測定条件**

GC/MS による試験は 5 機関で実施した。各試験機関の GC 条件を表１０に示した。

機関 M と N は GC-FID（公定法）と同じカラムを用いており、カラム温度も同じであった。機関 D と I は公定法と同じ WAX 系のカラムを使用していたが、膜厚 0.25 μm ものを使用しており、カラム温度も GC-FID（公定法）と異なっていた。試験機関 X はジメチルシロキサン系カラムを使用しており、その長さ、膜厚も他の試験機関と異なっていた。

キャリヤーガスはいずれの試験機関も He を用いていたが、キャリヤーガス流量は、1.0〜1.4 mL/min と公定法よりも全体的に若干低く設定されていた。これは GC/MS では検出器が真空状態であるため、GC-FID と同じ流量で測定すると保持時間が早くなり、各成分が十分に分離しないためと考えられた。いずれの試験機関もオートサンプラーを用いており、注入モードはスプリット方式で、そのスプリット比は 10：1〜30：1 であった。

**表１０　GC/MSにおける各試験機関のGC条件**

| 試験機関 | カラム及びカラム温度 | キャリヤーガス流量 | スプリット比 |
|---|---|---|---|
| D | InertCap Pure WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>50°C(2 min)-5°C/min-150°C | He, 1.0 mL/min | 12：1 |
| I | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>60°C-6°C/min-100°C-10°C/min-150°C | He, 1.0 mL/min | 30：1 |
| M | TC-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-210°C(2 min) | He, 1.2 mL/min (定圧) | 10：1 |
| N | DB-WAX (0.25mm, 30m, 0.5mm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-30°C/min-180°C(5 min) | He, 1.32 mL/min (定圧) | 25：1 |
| X | VF-1ms (0.25 mm, 60 m, 1 μm)<br>60°C-10°C/min-200°C(4 min) | He, 1.4 mL/min | 10：1 |

**表１１　GC/MSにおける各試験機関の測定イオン**

| 試験機関 | 定量イオン | | | | | | 確認イオン | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST |
| D | 105 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 91, 117 | 92 | 106 | 120 | 120 | 78, 102 |
| I | 119 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 105 | 92 | 106 | 120 | 120 | 103 |
| M | 119 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 105, 134 | 65, 92 | 65, 106 | 77, 120 | 105, 120 | 78, 103 |
| N | 119 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 105 | 92 | 106 | 120 | 120 | 78 |
| X | 119 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 105 | 65 | 106 | 120 | 120 | 78 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、EB：エチルベンゼン、iPB：イソプロピルベンゼン
PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン

各試験機関の測定イオンを表１１に示した。試験機関 D では内標準の DEB の定量イオン及び確認イオンは他の 4 機関と異なっていたが、各成分の定量イオンは 5 機関とも同じであり、TO、EB 及び PB は *m/z* 91、iPB は *m/z* 105、ST は *m/z* 104 を用いていた。このように定量イオン及び確認イオンは大部分の試験機関で共通しており、各成分のフラグメントパターンは装置や条件が異なってもほとんど変わらないと考えられた。

**②保持時間と定量下限値**

各成分の保持時間と定量下限値を表１２に示した。

試験機関 X を除いて、4 機関の保持時間のずれは 1 分以内に収まっていた。これらの試験機関の保持時間は、公定法と比較して、いずれも 1～2 分程度早かった。一方、試験機関 X は他の試験機関よりも長いカラムを使用していたため、いずれの成分も保持時間がやや遅かった。

定量下限値については、試験機関 I は 2 μg/g と低かったが、その他の試験機関は公定法と同じ 100 μg/g であった。そのため、いずれの試験機関も試験の実施が可能であった。

**③定量値の解析**

GC/MS による 5 機関の定量値とその解析結果を表１３に示した。PS 検体の EB はいずれの試験機関も定量下限値以下であったため、解析を行うことはできなかった。

外れ値（精度）は存在しなかったが、試験機関 X の結果の 1 つが外れ値（真度）に該当した。また、試験機関 X の定量値は他の試験機関と比べて全体的にやや高かった。

**表１２　GC/MSにおける各成分の保持時間と定量下限値**

| 試験機関 | 保持時間（分） | | | | | | 定量下限値（μg/g） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST | TO | EB | iPB | PB | ST |
| D | 9.5 | 3.9 | 5.4 | 6.3 | 7.1 | 8.2 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| I | 10.5 | 3.8 | 5.7 | 7.0 | 7.9 | 8.6 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| M | 10.3 | 4.2 | 5.7 | 6.7 | 7.5 | 8.9 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| N | 10.1 | 3.9 | 5.4 | 6.5 | 7.3 | 8.6 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| X | 13.0 | 8.0 | 9.7 | 10.8 | 11.3 | 10.2 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、EB：エチルベンゼン、iPB：イソプロピルベンゼン
PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン

**表１３　GC/MSによるエチルベンゼン及びスチレンの定量値とその解析結果**

| 試験機関 | PS検体中の含有量 (μg/g) | | AS検体中の含有量 (μg/g) | | ABS検体中の含有量 (μg/g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | EB | ST | EB | ST | EB | ST |
| D | <100, <100 | 261, 272 | 908, 882 | 757, 741 | 164, 165 | 893, 912 |
| I | <100, <100 | 263, 263 | 819, 813 | 705, 695 | 145, 150 | 837, 852 |
| M | <100, <100 | 191, 249 | 831, 801 | 696, 647 | 154, 152 | 809, 787 |
| N | <100, <100 | 261, 267 | 806, 818 | 706, 714 | 148, 151 | 825, 842 |
| X | <100, <100 | 294, 321 | 864, 891 | 785, 849 | 174, 162 | 1020, 1030*1 |
| **有効データ数** | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| **平均値**（μg/g） | - | 264.2 | 843.3 | 729.5 | 156.5 | 880.7 |
| **真度**（%） | - | 96.8 | 98.2 | 100.2 | 98.7 | 103.3 |
| $RSD_r$（%） | - | 7.8 | 1.9 | 3.6 | 2.7 | 1.4 |
| $RSD_R$（%） | - | 13.0 | 4.9 | 8.1 | 6.2 | 10.2 |
| **外れ値（真度）数***1 | - | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 1/5 |
| **外れ値（精度）数***2 | - | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |

EB：エチルベンゼン、ST：スチレン、$RSD_r$：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70%未満または 120%を超える結果

*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%）に該当する結果

**性能パラメーターの値は、いずれも目標値を満たしており、真度は**96.8〜103.3%**であり、公定法とほぼ同じ定量値が得られた。しかし、**$RSD_r$ **は** 1.4〜7.8%、$RSD_R$ **は** 4.9〜13.0%**であり、公定法と比べてやや大きく、特に、**PS **検体中の** ST **では試験機関** M **及び** X **の併行精度が悪かった。**

**今回の試験室間共同試験においては** 1 **機関から、前後** 2 **回の検量線で** ST **のみピーク面積比の乖離がみられたとの報告があった。これは、インサート内に蓄積されたポリマーに** ST **が吸着したためと考えられた。また、注入口部分の状態に関しては公定法と同様に注意が必要であり、注入用シリンジの洗浄を十分に行う、注入口インサートの取り換えを頻繁に行う、定期的に標準溶液を注入して** ST **のピーク面積に変化がないことを確認するなどの対応策が必要である。**

**４）ヘッドスペース法による試験結果**

**①検出器及びヘッドスペース条件**

HS-GC **を用いた試験法は、衛生試験法・注解** 2010 [7] **に収載されており、試料** 0.2g **を** HS **用バイアルに量り取り、ジメチルホルムアミド**（DMF）**を加えて密栓し、**90℃**で** 1 **時間加熱後、その気相部から** 0.5 mL **を採取して** GC **で測定する。本法は、公定法と同等の定量値が得られることが報告されている** [3, 9, 10]**。さらに、試料の溶解液を直接装置に注入せず、気相のみを注入するため、装置への負担が小さい。その他、使用する試料や有機溶媒の量も少ない。そのため、本法を用いた試験の実施を希望する試験機関も多い。**

**一方、本法におけるバイアルの加熱温度は** 90℃**とやや高く、手打ちで注入を行うと注入量がばらつきやすい。**HS **オートサンプラーを用いることで、バイアルの加温から注入操作を自動化することが可能であり、注入量は安定するが、オートサンプラーは十分に普及していない。また、装置に注入する気相の量はオートサンプラーに装着されているサンプルループのサイズにより異なる。そこで、今回の試験室間共同試験では、**HS **条件、**GC **条件、検出器など、いずれの条件も任意とし、試験機関ごとに適切と思われる条件で試験を実施した。**

**各試験機関の検出器及び** HS **条件を表１４**

に示した。HS-GC による試験は 14 機関で実施し、10 機関が検出器として FID 検出器、4 機関が MS 検出器を用いていた。

試験機関 T 及び U は 10 mL 容のバイアルを使用していた。試験に用いた試料量は、大部分が 0.1 または 0.2 g と公定法の 1/2.5〜1/5 であったが、試験機関 H は公定法の試験溶液を用いたため 0.025 g、試験機関 W はペレット一粒を用いため 0.015 g とさらに少なかった。大部分の試験機関が溶媒として衛生試験法・注解と同じ DMF を使用していたが、試験機関 H は公定法の試験溶液をそのまま使用したため THF、試験機関 X は溶媒として DMF 及び THF を用いたところ、装置に不具合が発生したため水を用いていた。また、内標準の濃度は、6 機関が衛生試験法・注解と同じ 125 μg/mL であったが、他の試験機関は異なる濃度で実施していた。

バイアルの加熱温度及び時間は大部分が衛生試験法・注解に準拠した 90℃ 60 分間であったが、試験機関 M 及び Q は 140℃まで加熱していた。一方、試験機関 X は 50℃で 15 分間と温度も低く、時間も短かった。気相部の注入量は 5 機関が 0.5 mL、9 機関が 1.0 mL であった。また、試験機関 T のみが手打ちで注入を行い、他の試験機関はバイアルの加熱及び注入をオートサンプラーで行っていた。

このように、HS-GC において、MS 検出器を用いた 4 機関のうち、試験機関 H 及び X は溶媒、試験機関 W は試料量が衛生試験法・注解の方法と異なっていたことから、MS 検出器を用いた 4 機関を他の試験機関の結果と区別して解析することとした。

**②GC 条件及び MS 条件**

各試験機関の GC 条件を表１５に示した。試験機関 X では、公定法の GC 条件と同様に使用可能なカラムや注入方式が装置により制限されるため、カラムサイズ、注入方式等が他の試験機関と大きく異なっていた。衛生試験法・注解 2010 では 0.32 mm i.d.×30 m、膜厚 0.25 μm のカラムが採用されているが、大部分の試験機関では 0.25 mm i.d.×30 m のものを使用しており、膜厚も 0.5 μm のものを使用した試験機関が多かった。キャリヤーガスはすべての試験機関が He を使用し、その流量は 1.0〜1.6 mL/min であった。スプリット比は大部分の試験機関では公定法とほぼ同じ 5：1〜33：1 であったが、試験機関 D 及び S は 100：1 と大きかった。

MS 検出器により試験を行った 4 機関の測定イオンを表１６に示した。各成分の定量イオンは 4 機関とも同じであった。また、DEB の定量イオン及び各成分の確認イオンも GC/MS による試験とほぼ同じであった。

**表１４　HS-GCにおける各試験機関の検出器及びヘッドスペース条件**

| 試験法 | 試験機関 | 検出器 | バイアル容量 (mL) | 試料量 (g) | 溶媒 | 溶媒量 (mL) | 内標準濃度 | バイアル加熱条件 温度 (℃) | バイアル加熱条件 時間 (分) | 注入量 (mL) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| HS-GC-FID | B | FID | 22 | 0.1 | DMF | 2 | 50 μg/mL | 90 | 60 | 1 |
| | K | FID | 20 | 0.2 | DMF | 2.1 | 50 μg/mL | 90 | 60 | 1 |
| | M | FID | 20 | 0.2 | DMF | 1 | 125 μg/mL | 140 | 60 | 0.5 |
| | N | FID | 20 | 0.2 | DMF | 1 | 125 μg/mL | 90 | 60 | 1 |
| | P | FID | 20 | 0.2 | DMF | 1 | 125 μg/mL | 90 | 60 | 0.5 |
| | Q | FID | 20 | 0.2 | DMF | 2 | 125 μg/mL | 140 | 60 | 1 |
| | R | FID | 20 | 0.2 | DMF | 1 | 125 μg/mL | 90 | 60 | 0.5 |
| | S | FID | 20 | 0.1 | DMF | 2 | 125 μg/mL | 90 | 60 | 1 |
| | T[*1] | FID | 10 | 0.2 | DMF | 1.5 | 83.3 μg/mL | 90 | 60 | 0.5 |
| | U | FID | 10 | 0.1 | DMF | 2 | 50 μg/mL | 90 | 60 | 1 |
| HS-GC/MS | D | MS | 20 | 0.2 | DMF | 1 | 0.025 μL/mL | 90 | 60 | 1 |
| | H | MS | 20 | 0.025[*2] | THF[*2] | 1[*2] | 50 μg/mL | 90 | 60 | 1 |
| | W | MS | 20 | 0.015 | DMF | 1 | 25 μg/mL | 90 | 60 | 0.5 |
| | X | MS | 22 | 0.2 | 水 | 10 | 0.005 μg/mL | 50 | 15 | 1 |

DMF：ジメチルホルムアミド、THF：テトラヒドロフラン

[*1]：オートサンプラーを使用せず

[*2]：公定法の試験溶液を使用、試料量は試験溶液 1 mL中の量

**表１５　HS-GCにおける各試験機関のGC条件及び検出器**

| 試験法 | 試験機関 | カラム及びカラム温度 | キャリヤーガス流量 | スプリット比 |
|---|---|---|---|---|
| HS-GC-FID | B | InertCap WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-30°C/min-220°C(5 min) | He<br>1.5 mL/min (定圧) | 5：1 |
| | K | HP-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C | He<br>1.6 mL/min | 10：1 |
| | M | TC-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-5°C/min-150°C-30°C/min-180°C | He<br>1.3 mL/min (定圧) | 12：1 |
| | N | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-6°C/min-150°C-30°C/min-180°C(5 min) | $N_2$<br>1.32 mL/min (定圧) | 25：1 |
| | P | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>60°C-5°C/min-150°C(1 min)-20°C/min-200°C(5 min) | He<br>1.3 mL/min | 12：1 |
| | Q | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-5°C/min-150°C | He<br>1.3 mL/min | 12：1 |
| | R | InertCap WAX (0.32 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>60°C-5°C/min-150°C(5 min) | He<br>1.3 mL/min (定圧) | 12：1 |
| | S | InertCap Pure WAX (0.32 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>60°C(1 min)-5°C/min-150°C(5 min) | He<br>1.6 mL/min | 100：1 |
| | T | HP-INNOWAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C(5 min) | He<br>1.5 mL/min | 33：1 |
| | U | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-150°C-30°C/min-180°C(2 min) | He<br>1.5 mL/min (定圧) | 5：1 |
| HS-GC/MS | D | InertCap Pure WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>50°C-2°C/min-80°C(5 min)-20°C/min-150°C | He<br>1.0 mL/min | 100：1 |
| | H | VF-WAXms (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-10°C/min-200°C(5 min) | He<br>1.1 mL/min | 10：1 |
| | W | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.5 μm)<br>60°C-4°C/min-100°C-40°C/min-230°C | He<br>1.5 mL/min | 12：1 |
| | X | VOCOL (0.25 mm, 60 m, 1.5 μm)<br>45°C(4 min)-10°C/min-200°C(3.5 min) | He<br>60 psi (1 min)-30 psi | スプリットレス |

**表１６　HS-GC/MSにおける各試験機関の測定イオン**

| 試験機関 | 定量イオン | | | | | | 確認イオン | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST |
| D | 105 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 91 | 92 | 106 | 120 | 120 | 78 |
| H | 105 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 119 | 92 | 106 | 120 | 120 | 78 |
| W | 119 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 134 | 92 | 106 | 120 | 120 | 103 |
| X | 105 | 91 | 91 | 105 | 91 | 104 | 119 | 92 | 106 | 120 | 120 | 78 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、EB：エチルベンゼン、iPB：イソプロピルベンゼン
PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン

**③保持時間と定量下限値**

各試験機関における保持時間と定量下限値を表１７に示した。

DEB の保持時間は 14 機関中 8 機関では公定法で規定されている時間とほぼ同じであり、そのように流量などを調整したためと考えられた。一方、試験機関 K 及び X は遅く、機関 P、R、S 及び W はやや早かった。

定量下限値は 6.25～100 μg/g であり、公定法の時と比較して全体的に定量下限値は低く、いずれの試験機関も試験は可能であった。

**④HS-GC-FID による定量値の解析**

HS-GC-FID による 10 機関の定量値とその解析結果を表１８に示した。PS 検体の EB は 4 機関が定量下限値以下であったため、6 機関の結果を用いて解析を行った。

外れ値（真度）は 3 つ存在し、いずれも試験機関 K の ST の結果であった。また、外れ値（精度）は 5 つ存在し、そのうち 4 つは試験機関 K の結果であった。

性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしていたが、真度は 95.9～97.8%と公定法よりもやや低く、$RSD_R$ は 8.1～13.5%と公定法よりもやや大きかった。これは試験機関 K の定量値が他機関よりも明らかに低いためであった。試験機関 K では AS 及び ABS 検体の EB の定量値も他の試験機関と比べて低いが、併行精度はそれほど悪くないことから、検量線が不適切であったと考えられた。そこで、試験機関 K の結果を棄却して解析を行った。その結果、真度は 98.5～100.6%、$RSD_R$ は 3.3～6.9%となり、いずれも公定法とほぼ同じ値となった。また、PS 検体における EB の $RSD_r$ が 9.2%とやや大きかったが、これは試験機関 R の併行精度が悪かったためであり、他の $RSD_r$ は 2.0～3.0%と公定法と同様に良好であった。

**⑤HS-GC-MS による定量値の解析**

HS-GC-MS による 4 機関の定量値を表１９に示した。これらの結果については、データ数が少なく、衛生試験法・注解 2010 に掲載されている条件から変更された部分が異なっていため、性能パラメーターによる評価は実施しなかった。

溶媒に THF を用いた試験機関 H の PS 及び AS 検体の結果は推定含有量と比べて、高かった。通常 HS 法におけるバイアル加熱温度は溶媒の沸点よりも低く設定するが、試験機関 H のバイアル加熱温度は 90℃と THF の沸点（66℃）よりもやや高かった。このことから、バイアル内の圧力が高くなり過ぎたため、注入量が安定しなかったことが原因と推察さ

**表１７　HS-GCにおける各成分の保持時間と定量下限値**

| 試験法 | 試験機関 | 保持時間 (分) | | | | | | 定量下限値 (μg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | DEB | TO | EB | iPB | PB | ST | TO | EB | iPB | PB | ST |
| HS-GC-FID | B | 11.0 | 4.6 | 6.2 | 7.3 | 8.2 | 9.6 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| | K | 15.1 | 6.1 | 8.8 | 10.3 | 11.6 | 13.3 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | M | 11.0 | 4.9 | 6.5 | 7.5 | 8.4 | 9.7 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | N | 11.1 | 5.3 | 6.9 | 7.9 | 8.7 | 9.8 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| | P | 8.9 | 4.2 | 5.3 | 6.1 | 6.7 | 7.7 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | Q | 10.2 | 4.6 | 6.1 | 7.0 | 7.8 | 8.9 | 25 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | R | 8.4 | 4.0 | 5.0 | 5.7 | 6.4 | 7.3 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |
| | S | 7.9 | 3.6 | 4.6 | 5.3 | 5.9 | 6.8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | T | 10.6 | 4.4 | 6.0 | 7.0 | 7.9 | 9.2 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| | U | 11.8 | 5.1 | 6.9 | 8.0 | 9.0 | 10.4 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| HS-GC/MS | D | 11.5 | 3.8 | 5.4 | 6.6 | 7.6 | 9.2 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | H | 10.2 | 4.2 | 5.7 | 5.7 | 7.5 | 8.8 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | W | 9.9 | 3.9 | 5.4 | 6.4 | 7.1 | 8.4 | 33.3 | 33.3 | 33.3 | 33.3 | 33.3 |
| | X | 21.4 | 14.4 | 17.1 | 18.4 | 19.2 | 18.1 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

DEB：ジエチルベンゼン、TO：トルエン、EB：エチルベンゼン、iPB：イソプロピルベンゼン、PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン

**表１８　HS-GC-FIDによるエチルベンゼン及びスチレンの定量値とその解析結果**

| 試験機関 | PS検体中の含有量 (μg/g) | | AS検体中の含有量 (μg/g) | | ABS検体中の含有量 (μg/g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | EB | ST | EB | ST | EB | ST |
| B | 39.1, 40.4 | 278, 278 | 839, 850 | 766, 750 | 154, 157 | 844, 877 |
| K | <50, <50 | 204, 178[*1,2b] | 648, 628 | 452, 449[*1,2b] | 127, 121[*2b] | 521, 512[*1,2b] |
| M | <50, <50 | 264, 262 | 773, 727 | 718, 771 | 145, 153 | 763, 776 |
| N | 35.3, 36.6 | 278, 281 | 912, 912 | 731, 728 | 160, 160 | 871, 878 |
| P | 42.0, 40.2 | 292, 280 | 827, 854 | 709, 729 | 165, 167 | 850, 873 |
| Q | <50, <50 | 286, 278 | 818, 839 | 701, 728 | 148, 160 | 812, 833 |
| R | 40.4, 28.9[*2a] | 282, 271 | 843, 830 | 715, 720 | 157, 154 | 857, 851 |
| S | <100, <100 | 275, 268 | 862, 826 | 738, 713 | 157, 159 | 862, 835 |
| T | 36.2, 37.3 | 274, 281 | 964, 948 | 807, 782 | 172, 164 | 896, 837 |
| U | 35.5, 35.6 | 256, 268 | 837, 835 | 722, 717 | 161, 160 | 857, 865 |
| **有効データ数** | 6 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| **平均値**（μg/g） | 37.3 | 266.7 | 828.6 | 707.3 | 151.1 | 813.5 |
| **真度**（%） | 95.9 | 97.8 | 96.4 | 97.2 | 95.3 | 95.4 |
| | | (100.2) | (98.5) | (100.6) | (98.9) | (99.2) |
| $RSD_r$（%） | 9.2 | 3.0 | 2.0 | 2.4 | 2.6 | 2.2 |
| | | (2.1) | (2.0) | (2.4) | (2.6) | (2.3) |
| $RSD_R$（%） | 9.4 | 10.6 | 10.5 | 13.3 | 8.1 | 13.5 |
| | | (3.3) | (6.9) | (3.9) | (4.2) | (4.1) |
| **外れ値（真度）数**[*1] | 0/6 | 1/10 | 0/10 | 1/10 | 0/10 | 1/10 |
| **外れ値（精度）数**[*2] | 1/6 | 1/10 | 0/10 | 1/10 | 1/10 | 1/10 |

EB：エチルベンゼン、ST：スチレン、$RSD_r$：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70%未満または 120%を超える結果

[*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%）に該当する結果

（　）内は試験機関Kの結果を棄却して解析した場合の値

**表１９　HS-GC/MSによるエチルベンゼン及びスチレンの定量値とその解析結果**

| 試験機関 | PS検体中の含有量 (μg/g) | | AS検体中の含有量 (μg/g) | | ABS検体中の含有量 (μg/g) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | EB | ST | EB | ST | EB | ST |
| D | <50, <50 | 272, 264 | 862, 876 | 706, 719 | 158, 158 | 827, 829 |
| H | <100, <100 | 307, 302 | 903, 873 | 758, 720 | 159, 149 | 839, 773 |
| W | <33, <33 | 240, 190 | 1029, 913 | 874, 783 | 167, 161 | 868, 863 |
| X | <100, <100 | 303, 309 | 1010, 960 | 851, 810 | 179, 184 | 983, 1010 |

EB：エチルベンゼン、ST：スチレン

**表２０　試験法ごとの真度、精度及び外れ値数**

| 試験法 | 試験機関数 | 成分 | 真度 (%) | $RSD_r$ (%) | $RSD_R$ (%) | 外れ値数 真度 | 外れ値数 精度 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| GC-FID（公定法） | 15 | EB[*2] | - | 1.0, 2.0 | 2.6, 4.5 | 0/30 | 0/30 |
| | | ST | - | 1.1-2.6 | 2.5-5.8 | 0/45 | 1/45 |
| GC/MS | 5 | EB[*2] | 98.2, 98.7 | 1.9, 2.7 | 4.9, 6.2 | 0/10 | 0/10 |
| | | ST | 96.8-103.3 | 1.4-7.8 | 8.1-13.0 | 1/15 | 0/15 |
| HS-GC-FID[*1] | 10 | EB[*2] | 98.5, 98.9 | 2.0, 2.6 | 4.2, 6.9 | 0/20 | 1/20 |
| | | ST | 99.2-100.6 | 2.1-2.4 | 3.3-4.1 | 3/30 | 3/30 |

EB：エチルベンゼン、ST：スチレン、$RSD_r$：併行精度、$RSD_R$：室間再現精度

[*1]：HS-GC-FIDの真度、$RSD_r$及び$RSD_R$は試験機関Kの結果を棄却して解析した場合の値

[*2]：PS検体のEBは検出率が低いため除外

れた。試験に用いた試料量が少なかった試験機関 W は、AS 検体の結果がやや高かった。この原因としては検体間のばらつきが考えられ、今回の試験では比較的含有量が多いペレットを試験に用いたためと推察された。試験機関 X の結果は全体的に高かったが、測定条件の多くが衛生試験法･注解 2010 の条件と異なっていたため、原因は分からなかった。一方、検出器を MS に変更した試験機関 D では推定含有量に近い値が得られていた。さらに、GC/MS の結果においても、大部分の試験機関で推定含有量に近い値が得られていたことから、HS 条件が適切であれば、検出器を MS に変更しても性能は大きく変化しないと考えられた。

## ４．各試験法の性能評価

各試験法における性能パラメーターと外れ値数を表２０にまとめた。

今回の試験室間共同試験では検体の推定含有量を公定法の結果から求めたため、公定法の真度については評価できなかったが、過去の添加回収試験では良好な回収率が示されているため[3)]、得られた定量値は実際の含有量に近い値と考えられた。公定法の $RSD_r$ 及び $RSD_R$ の値はいずれも目標値を満たしており、外れ値となる結果も少なかった。また、いずれの試験機関においても規定されている最低濃度の 1/10 以下まで定量が可能であった。今回は検体として市販のペレットを用いたため、検体に含有されていなかった iPB 及び PB、並びに含有量が少なかった TO についての評価は行うことができなかったが、これらは EB 及び ST と類似の構造や性質を有するため、TO、iPB 及び PB についても EB 及び ST と同程度のパラメーターが得られるものと考えられた。以上から、公定法は規格試験法として十分な性能を有していた。

公定法変法においては、公定法とほぼ同じ定量値が得られており、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。しかし、カラムやカラム温度などの複数の測定条件を変更する場合は十分な精度管理の必要性が示唆された。

GC/MS の試験は様々な測定条件で実施されたが、条件の違いによる差はみられなかった。真度は 96.8～103.3%であり、公定法とほぼ同じ定量値が得られることが判明した。$RSD_r$ 及び $RSD_R$ の値は公定法と比べると劣っていたが、性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしていた。また、定量下限値は GC-FID と同等であり、試験の実施が可能であった。以上から、GC/MS は代替法として適用可能と考えられた。

また、試料の溶解液を直接装置に注入する GC-FID 及び GC/MS では、3 機関から、試験溶液を複数回連続して注入すると、ST のキャリーオーバーがみられる、ST のピーク面積が減少する、シリンジが詰まるという症状の発生が報告された。症状は試験機関によって様々であったが、キャリーオーバーやピーク面積の減少は、ST についてのみ発生し、内標準の DEB や他の成分では発生しなかった。この原因として注入用シリンジの洗浄不足、注入口インサートへのポリマーの蓄積など、注入操作に関連する部分に問題があると考えられた。そのため、定期的に標準溶液やブランクを注入し、ST のピーク面積の変化やキャリーオーバーの有無について確認を行う必要がある。また、注入用シリンジの洗浄を十分に行う、注入口インサート取り換えを頻繁に行うなどの措置を行うとよい。さらに、GC/MS では、イオン源部分についても定期的に交換または洗浄を行う必要がある。

HS-GC-FID では 1 機関の結果が推定含有量から逸脱していたが、この試験機関の結果を棄却すると真度は 98.5～100.6%となり、公定法とほぼ同じ定量値が得られることが判明した。さらに、$RSD_r$ 及び $RSD_R$ の値は公定法と同等であり、いくつかの試験機関では定量下限値が公定法よりも低く、すべての試験機関で試験の実施が可能であった。以上から、HS-GC-FID は代替法として適用可能と考えられた。さらに、本法は装置への負担や使用する有機溶媒の量が少ないなどの利点を有する。そのため、複数の試験機関が本法を用いた試験の実施を希望していた。また、試験機関によって HS 条件や GC 条件が少し異なっていたが、それらの違いによる差はみられなかったことから、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ることが判明した。ただし、試料量や溶媒の設定には注意が必要であった。さらに、今回の試験室間共同試験では十分な検証はできなかったが、HS 条件が適切であれば、検出器を MS に変更しても性能は大きく変化しないと考えられた。

**D. 結論**

PS 製器具・容器包装の揮発性物質試験法について試験室間共同試験を行い、GC-FID（公定法)、GC/MS 及び HS-GC-FID の性能を評価した。

GC-FID（公定法）の性能パラメーターの値は極めて良好で、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。しかし、試験溶液を直接注入するため装置やシリンジが汚染されやすい。そのため、シリンジの十分な洗浄や注入口インサートの頻繁な取り替えを行う必要がある。

食品衛生法では採用されていない GC/MS についても、性能パラメーターの値は目標値を満たしており、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、注入口部分だけでなくイオン源部分の汚染についても注意を払う必要がある。

一方、HS-GC-FID は性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしており、規格試験法の代替法として十分に適用可能であった。また、気相部を装置に注入するため汚染が少

なく、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。ただし、試料量や溶媒の設定には注意が必要である。

## E. 参考文献


1) 厚生省環境衛生局長通知環食第160号、食品、添加物等の規格基準の一部改正について（昭和54年6月29日）
2) 河村葉子、馬場二夫、食品安全セミナー7、器具・容器包装（ISBN4-8058-2127-2)、中央法規、p 61-66 (2002)
3) 河村葉子ら、食品用器具・容器包装等の安全性確保に関する研究、平成15年度厚生労働科学研究費補助金　総括・分担研究報告書、101-112 (2004)
4) 金子令子ら、キャピラリーGCによる揮発性物質、カプロラクタムおよびメタクリル酸メチル試験法の改良、東京健安研セ年報、55、111-115 (2004)
5) 厚生労働省告示201号、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）の一部改正（平成18年3月31日）
6) 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 61-65 (2006)
7) 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 618-619、p 624-626 (2010)
8) 河村葉子ら、食品用ポリスチレン製品に残存する未知物質の同定、食衛誌、39、110-119 (1998)
9) 杉田たき子ら、ヘッドスペース−ガスクロマトグラフィーによるポリスチレン製食品用容器中の揮発性物質の分析、食衛誌、36、263-268 (1995)
10) 尾崎麻子ら、ヘッドスペース-GCによるポリスチレン製器具・容器包装中の揮発性物質試験の妥当性評価と実態調査（1998〜2014年）、食衛誌、投稿中
11) 河村葉子ら、酸化防止剤含有ポリエチレン、ポリプロピレン及びポリスチレンに対するガンマ線照射の影響、食品照射、38、11-22 (2003)
12) Abe, Y. et al, Volatile substances in polymer toys made from butadiene and styrene, American Journal of Analytical Chemistry, 4, 229-237 (2013)
13) Abe, Y. et al, Survey of volatile substances in kitchen utensils made from acrylonitrile-butadiene-styrene and acrylonitrile-styrene resin in Japan, Food Science & Nutrition, 2, 236-243 (2014)
14) 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)
15) 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方法 (1999)
16) 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）

＜別添１＞

平成 26 年度　厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

# 分担研究課題
# 規格試験法の性能評価に関する研究

# 平成 26 年度
# 試験室間共同試験
# 計画書

**ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質材質試験**

平成 26 年 5 月 7 日

# ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質材質試験

**A 目的**

ポリスチレンを主成分とする合成樹脂製の器具・容器包装ではモノマー試験として揮発性物質（スチレン、トルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン及びプロピルベンゼン）の残存量が規制されている。その試験法は製品中に残存する揮発性物質の濃度をガスクロマトグラフ・水素炎イオン化検出器（GC-FID）で定量し、適否判定を行うこととしている。

しかし、本試験法については、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。また近年では、ガスクロマトグラフ・質量分析装置（GC-MS）やヘッドスペースサンプラーの普及が進み、これらを用いた測測定法が報告されている。

そこで、ポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験について試験室間共同試験を行い、試験法の性能を評価するとともに、汎用性または有用性が高いガスクロマトグラフ・質量分析法（GC/MS)、ヘッドスペース・ガスクロマトグラフ法（HS-GC）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。

**B　スケジュール**

実験計画の立案と調整・・・・・・・・・研究代表者・解析者⇔各試験機関、第 1 回班会議
↓　（4 月～5 月上旬）
検体の調製・・・・・・・・・・・・・・・国立医薬品食品衛生研究所
↓
検体の配付・・・・・・・・・・・・・・・国立医薬品食品衛生研究所⇒各試験機関
↓　（4 月 22 日に配付）
各試験機関で定量・・・・・・・・・・・（検体配付後 2 ヶ間）
↓
個々の結果の報告・・・・・・・・・・・各試験機関⇒研究代表者⇒解析者
↓
全体の結果を集約及び報告・・・・・・・解析者による解析
↓　第 2 回班会議（平成 26 年 11 月ごろ）
報告書の作成・・・・・・・・・・・・・研究代表者・解析者（平成 26 年 11 月～）

**C　測定に関する要件**

検体の測定は以下の要件を満たす測定法または条件により実施すること。

①試験に用いる測定法または機器は、規格試験を実施可能なものであること。

試験に用いる測定法または機器は、食品衛生法の規格試験が可能（定量下限値が規格値以下）であること。通常の業務で使用していない場合は概ね可能かどうかの判断でよいが、測定前に定量下限と検量線の確認を行うこと。

検体の測定は、通常の業務（他の化合物の試験等でもよい）で使用している機器または今

後の使用が見込まれる機器を用いて行うこと。ただし、長期間使用していない機器を用いる場合は、測定前に整備及び感度等の確認を行うこと。

②試験は、その測定法に関する経験・知識を有する者またはその者から指導を受けた者が行うこと。

経験がある者（他の化合物の測定経験でも可）による測定の実施が望ましい。

経験が無いものが測定を実施する場合は、事前に操作法などを確認しておくこと。

③検体の測定は検体受領後 2 ヶ月以内に実施すること。

可能であれば検体受領後 1 週間以内の実施が望ましい。

予定していた試験は可能な限り実施すること。

多数の測定法による試験を実施、突発的な他業務の遂行による遅延、機器の故障など、特段の事情により測定作業が遅延または試験が不可能となった場合は速やかに連絡すること。

④試験は本計画書に従って行うこと。

測定及び定量は「Ⅰ　測定方法」に従って行うこと。ただし、記載のない条件等については任意とする。

⑤試験結果は研究終了後、1 年間保存すること。

測定条件、検量線及び検体の測定データは平成 28 年 3 月末まで保存すること。

D　解析者

（一財）日本文化用品安全試験所　薗部　博則

【注意】研究代表者及び解析者は、本研究で知り得た各試験機関の情報・結果について守秘義務を負うものとする。また、研究代表者及び解析者本人は試験を実施しない。

E　参加機関及び機関コード

①参加機関

東京都健康安全研究センター　埼玉県衛生研究所　神奈川県衛生研究所
長野県環境保全研究所　静岡県環境衛生科学研究所　静岡市環境保健研究所
愛知県衛生研究所　名古屋市衛生研究所　大阪府立公衆衛生研究所
大阪市立環境科学研究所　さいたま市健康科学研究センター
国立医薬品食品衛生研究所　（独）産業技術総合研究所
（一財）化学研究評価機構　高分子試験・評価センター・東京事業所
（一財）化学研究評価機構　高分子試験・評価センター・大阪事業所
（一財）日本食品分析センター　多摩研究所
（一財）日本食品分析センター　彩都研究所
（一財）食品環境検査協会　（一財）日本冷凍食品検査協会
（公社）日本食品衛生協会　（一財）東京顕微鏡院
（一財）日本文化用品安全試験所　（一財）日本穀物検定協会
（一社）日本海事検定協会　（一財）千葉県薬剤師会検査センター
（一財）食品分析開発センターSUNATEC　（一財）食品薬品安全センター

合計 27 機関

【注意】試験を実施しない試験機関も含む

**F　各試験機関で実施する試験項目と測定法**

| **機関** Code | GC-FID | GC/MS | HS-GC-FID | HS-GC/MS |
|---|---|---|---|---|
| A | ○ | × | × | × |
| B | ○ | × | ○ | × |
| C | ○ | × | × | × |
| D | × | ○ | × | ○ |
| E | × | × | × | × |
| F | ○ | × | × | × |
| G | × | × | × | × |
| H | ○ | × | × | ○ |
| I | ○ | ○ | × | × |
| J | × | × | × | × |
| K | ○ | × | ○ | × |
| L | × | × | × | × |
| M | ○ | ○ | ○ | × |
| N | ○ | ○ | ○ | × |
| O | ○ | × | × | × |
| P | ○ | × | ○ | × |
| Q | ○ | × | ○ | × |
| R | ○ | × | ○ | × |
| S | ○ | × | ○ | × |
| T | × | × | ○ | × |
| U | ○ | × | ○ | × |
| V | ○ | × | × | × |
| W | × | × | × | ○ |
| X | ○ | ○ | × | ○ |
| Y | ○ | × | × | × |
| Z | × | × | × | × |

**【注意】ヘッドスペース**-GC-FID **法（**HS-GC-FID**）は、衛生試験法・注解** 2010（p 618）**の方法またはその変法を指す。ジクロロベンゼンを用いた公定法（シンジオタクチック** PS **用）ではないので注意する。**

**G　試料の均質性及び安定性の確認**

**①均質性確認**

国立医薬品食品衛生研究所にて、各検体 10 検体を検体受領直後に公定法に準じて測定し、その定量値を用いて確認する。

**②安定性確認**

国立医薬品食品衛生研究所にて､検体を受領した約 2 ヶ月後に均質性確認と同様に測定し、内標準法による定量値を用いて確認する。

**H　検体の配付及び保管**

**①検体配付時期の連絡**

検体の配付予定時期は約 1 ヶ月前に、発送日はその 1 週間前に参加機関に連絡する。各試験機関は検体保管場所の確保、必要な器具類の購入、装置の動作確認、試薬の購入、標準原液の調製等の準備を適宜行うこと。

**②配付する検体**

ポリスチレン、AS 樹脂、ABS 樹脂のペレット、各 1 検体（約 10 g）

**③検体の確認**

セット数、検体数を確認し、問題があれば至急連絡すること。

**④検体の保管及び管理**

検体は冷蔵庫内で保管する。

【注意】試験操作は、検体を室温まで戻してから行うこと。

**⑤検体の不足**

何らかの事情により検体が不足して予定する試験が不可能となった場合は速やかに研究代表者に連絡すること。

**I　測定方法**

**①試験溶液の調製**

1 検体から 2 つの試験溶液を調製する。

**②測定条件等**

GC-FID のうち､食品衛生法で規定される測定条件で試験を行ったものを GC-FID（公定法）、いずれかの条件を変更して試験を行ったものを GC-FID（公定法変法）として扱う。

GC-FID（公定法）の場合

食品衛生法に準拠。ただし、検量線溶液は市販の標準液を使用して調製してもよい。食品衛生法で規定されていない条件は任意とする。

【注意】試験の際の検体の採取量は 0.450〜0.550 g（約 0.5 g）とする。0.5 g＝30 粒程度（1 粒＝0.017g）なので､粒単位で調整することが可能｡切断して調整する必要はない。

GC-FID（公定法変法）の場合

HS-GC-FID 以外の GC-FID を用いた方法で測定する。試験溶液の注入量、操作条件は任意とする。

GC/MS、HS-GC-FID 及び HS-GC/MS の場合

GC-MS､HS-GC-FID または HS-GC-MS を用いて測定する｡すべての条件は任意とする。

**③定量範囲**

検体中の揮発性物質 2.5〜125 µg/mL を定量可能な範囲で検量線を作成する。

【注意】食品衛生法における検量線範囲は 25〜125 µg/mL だが、その 1/10 まで定量できるように検量線を作成する。検量線の作成方法は【参考 1】を参考にしてもよい。

【注意】今回の検体は濃度が低いので、高い濃度点を除いた検量線を作成し、定量してもよい。

定量に用いる検量線は 3 点以上の濃度点数により作成する。濃度及び間隔等は任意とする。

定量範囲の濃度を測定するために複数の検量線を用いてもよい（低濃度と高濃度で検量線を分けて定量してもよい)。

定量下限値が定量範囲に含まれる場合は、定量下限値を検量線の最低濃度としてよい。

定量上限値が定量範囲に含まれる場合であって、検体の濃度が定量上限値を超える場合は検体を適宜希釈して定量する。

**③定量法**

測定法ごとに 1 検体につき 2 回の定量を行い、それぞれの定量値を報告する。

【注意】1 検体から 2 つの試験溶液を調製して測定する。同じ試験溶液を 2 回測定するわけではない。

【注意】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、その原因が明らかな場合は再測定または再定量を行う。

報告する定量値は検体の濃度とする。

希釈して測定する場合は、原則として検体と同じ溶媒を用いて希釈する。

検量線、検体の測定順、洗浄用サンプルや校正用サンプルの測定の有無は任意とする。

検体の濃度が検量線の濃度範囲（または定量下限値）よりも低い場合は、濃縮して測定する必要はない。この場合、定量値は「< 0.1」(0.1 は定量下限値）のように記載して報告する。

定量値は 3 桁の数値を報告する。(4 桁目を四捨五入、機器の精度、有効数字等を考慮する必要はなく、検量線と希釈（または濃縮）倍率から算出された濃度でよい）

【注意】mg/mL の単位で定量すると、小数点以下の濃度となるため、解析ソフトによっては 2 桁しか表示されない場合がある。また、検量線の近似式の傾き及び切片の桁数にも注意し、これらの桁数が 3 桁以上であることを確認する。十分な桁数が得られない場合はµg/mL 単位で検量線を作成するとよい。

【注意】各成分の合計量は、「ND（定量下限値未満)」を「0（ゼロ)」として求める。

**④選択性の確認**

方法は特に指定しない。通常実施している確認法があればその方法を用いてよい。確認法及び得られた知見があればその内容を報告する。

**J　結果の報告**

報告シート 3 は測定法ごとに記入する（報告シートへの記入例を【参考 2】に示す)。

測定中に機器のトラブル等の問題が発生した場合は必ず記載すること。

諸事情により期限までに報告できない場合は事前に連絡すること。

その他、不明な点があれば可能な限り試験実施前に連絡すること。

試験終了後は速やかに結果等を報告シートに記入し、電子ファイル（E-mail）にて研究代

表者へ提出する。さらに後日、結果報告書として書面にて研究代表者に提出する。

【報告シートの内容】
・報告シート3…測定機器、試薬等の情報、感想など
・報告シート4…定量結果

## K　目標値

食品衛生法の規格試験としての妥当性を評価するにあたり、各性能パラメーターに対して下記の目標値を設定する。

・選択性：妨害となるピーク等が検出されないこと
・真度：70～120%
・併行精度：10%以下
・室間再現精度：25%以下

## 【参考1】
## 揮発性物質試験における検量線溶液の調製法の一例

100 mLのメスフラスコにテトラヒドロフラン約90 mLを入れ、スチレン、トルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン及びプロピルベンゼンそれぞれ約50 mgを精密に量って加え、テトラヒドロフランを更に加えて100 mLとし、これを標準原液（500 μg/mL）とする。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、ジエチルベンゼン試液1 mLを加えた後テトラヒドロフランを加えて20 mLとし、これらを標準溶液（25～125 μg/mL）とする。

さらに、標準原液2 mLを採り、それぞれ20 mLのメスフラスコに入れ、テトラヒドロフランを加えて20 mLとする（50 μg/mL）。この溶液1 mL、2 mL、4 mL、6 mL及び8 mLを採り、それぞれ20 mLのメスフラスコに入れ、ジエチルベンゼン試液1 mLを加えた後テトラヒドロフランを加えて20 mLとし、これらを検量線溶液（2.5～20 μg/mL）とする。

標準溶液及び検量線溶液をそれぞれ1 μLずつ用いて、次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行い、得られたガスクロマトグラムからスチレン、トルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン及びプロピルベンゼンの各ピーク面積とジエチルベンゼンのピーク面積との比を求め、それぞれの検量線を作成する。

【参考 2】

H26「揮発性物質試験」結果報告シート1
（検体・機器・試薬の情報）

1．試験コード、検体及び測定法

| 機関コード *1 | セットNo. *2 | 測定法 *3 |
|---|---|---|
| **F** | **1** | **GC-FID**（変） |
| | **1** | **GC/MS** |

2. 使用した機器

| 機器 *4 | メーカー | 型式 | 開示の可否 *5 | |
|---|---|---|---|---|
| **GC-FID** | **Agilent Technologies** | **6890** | **可** | |
| **GC/MS** | **Agilent Technologies** | **6890/5973** | **否** | |
| | | | | |

3. 使用した試薬

| 試薬 *6*7 | メーカー | Grade | 純度 (%)または濃度 |
|---|---|---|---|
| スチレン | **関東化学** | **揮発性物質混合標準液（5種）食品分析用** | **各1000mg/L THF溶液** |
| トルエン | | | |
| エチルベンゼン | | | |
| イソプロピルベンゼン | | | |
| プロピルベンゼン | | | |
| ジエチルベンゼン | **関東化学** | **食品分析用** | **1000mg/L THF溶液** |
| テトラヒドロフラン | | | |
| ヘリウムガス | | | |
| 窒素ガス | **—** | | |

4. 検体の保存

| 検体の保存方法 | **冷蔵庫内で保管** |
|---|---|

5. 試験全体に対しての感想・コメントなど

| |
|---|
| |

H26「揮発性物質試験」結果報告シート２
（測定条件）

機関コード F

1．測定条件①

| | | | |
|---|---|---|---|
| 測定法 *8 | GC/MS | | |
| カラムの種類、サイズ *8 | DB-WAX, 0.25mm, 30m, 0.5㎜ | | |
| キャリヤーガス | He | | |
| カラム温度 *8 | | | |
| キャリヤーガス流量 | 1.5 mL/min（定圧） | | |
| 注入口温度 *8 | 220℃ | 検出器温度 *8 | 220℃ |
| その他の条件 *9 | イオン源温度：300℃ | | |
| | イオン化電圧：2kV | | |
| 内標準物質名 | ジエチルベンゼン | 測定時の内標準濃度 *10 | |
| 内標準の添加方法 *10 | | | |

2．測定条件②*11

| | | | |
|---|---|---|---|
| 測定法 *8 | HS-GC | | |
| カラムの種類、サイズ *8 | | | |
| キャリヤーガス | | | |
| カラム温度 *8 | | | |
| キャリヤーガス流量 | | | |
| 注入口温度 *8 | | 検出器温度 *8 | |
| その他の条件 *9 | | | |
| | | | |
| 内標準物質名 | | 測定時の内標準濃度 *10 | |
| 内標準の添加方法 *10 | | | |

H26「揮発性物質試験」結果報告シート３*12

（定量結果）

| 機関コード | F | セットNo | 1 | 測定法 | GC-FID（変） |
|---|---|---|---|---|---|
| 受領日 | 5/10 | 測定日 | 5/26 | | |

１．定量結果

| 検体No | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 試料量（mg）*13 | 502 | 485 | 475 | 512 | 503 | 499 |
| トルエン（μg/g）*14 | ND | | | | | |
| エチルベンゼン（μg/g） | 0.854 | | | | | |
| イソプロピルベンゼン（μg/g） | ND | | | | | |
| プロピルベンゼン（μg/g） | ND | | | | | |
| スチレン（μg/g） | 1.56 | | | | | |
| 合計（μg/g）*15 | 2.414 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 適否判定（濃度）*16 | 適 | 適 | 適 | 適 | 否 | 否 |
| 使用した検量線 *17 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |

２．対象物の検出条件

| 成分 | 保持時間（分） | 定量用イオン *18 | 確認用イオン *18 |
|---|---|---|---|
| トルエン | 5.12 | | |
| エチルベンゼン | 6.77 | | |
| イソプロピルベンゼン | 7.55 | | |
| プロピルベンゼン | 8.24 | | |
| スチレン | 10.0 | | |
| ジエチルベンゼン | 11.2 | | |

３．検量線情報

検量線①

| 濃度点（μg/mL） | 25, 50, 75, 100, 125（5点） | 回数 *19 | 前後2回 |
|---|---|---|---|
| 定量下限（μg/mL）*20 | 5 mg/mL | 形状 | 1次直線 |
| 成分 | 回帰式（検量線式） | 相関係数（R） *21 | 残差 *22 |
| トルエン | y=2.354x+0.0255 | 0.99953 | |
| エチルベンゼン | y=2.354x+0.0255 | 0.99953 | |
| イソプロピルベンゼン | y=2.354x+0.0255 | 0.99953 | |
| プロピルベンゼン | y=2.354x+0.0255 | 0.99953 | |
| スチレン | y=2.354x+0.0255 | 0.99953 | |

検量線② *23

| 濃度点（μg/mL） | 2.5, 5, 10, 15, 20, 25（6点） | 回数 *19 | 前後2回 |
|---|---|---|---|
| 定量下限（μg/mL）*20 | 2.5 | 形状 | 1次直線 |
| 成分 | 回帰式（検量線式） | 相関係数（R） *21 | 残差 *22 |
| トルエン | | | |
| エチルベンゼン | | | |
| イソプロピルベンゼン | | | |
| プロピルベンゼン | | | |
| スチレン | | | |

４．その他

| |
|---|
| 選択性の確認方法及びその知見 |
| |
| 公定法と異なる試験溶液の調製操作 |
| |
| 気になった点、測定中のトラブルなど |
| |

*1　コードのみを記入、機関名は記入しない
*2　検体に記載のセット番号を記入
*3　1 セットにつき 1 測定法で定量する
*4　測定に使用した機種すべてを記入。
*5　開示してもよいかどうか条件があれば記載
*6　他に使用した試薬があれば行を追加して記入
*7　市販の混合標準液を使用した場合はまとめて記載
*8　公定法と同じであっても記入する。
*9　その他のパラメーター名とその数値を記入。必要な項目については後日確認するので、代表的なパラメーターのみでよい。
*10　内標準については、公定法と同じ場合は記入不要。
*11　複数の測定法で行う場合のみ使用。3 つ以上の場合はシートをコピーして作成
*12　測定法ごとに別シートとして作成する。
*13　試験に使用した検体の量（mg）を記入。3 桁（4 桁目を四捨五入）
*14　検体当たりの濃度（µg/g）を記入。3 桁（4 桁目を四捨五入）
*15　うまく計算されない場合は手入力、4 桁となってもよい。「ND」は「0」として計算する。
*16　合計値より適否判定を行った際の判定結果を記入
*17　３．検量線情報の検量線番号を記入
*18　GC/MS,の場合のみ記入
*19　検量線を作成するための標準溶液の測定回数
*20　定量下限は、S/N などから適宜判断する。厳密な数値を求める必要はない。
*21　R2 ではなく R で記入。3 桁以上記入
*22　検量線の残差は、ソフトで自動的に検量線を計算している場合、「s^2」「Se」「SRES^2」などという表記で記載されることが多い。不明であれば記入しなくてもよい。
*23　濃度範囲で検量線を分けた場合に使用する。1 つの検量線ですべての検体を定量した場合は不要

# ＜その２＞ナイロン製器具・容器包装における<br>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[1), 2)]、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[3)]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 [4), 5)]。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 [6- 14)]。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、その原因が明らかな場合は再測定を認めた。

試薬、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 [15] 及びJIS Z 8402-2 [16] 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[17] 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 [6), 7), 14), 18)]、数〜数十 μg/mL 溶出する [8-12]。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 (μg/mL) | 受領直後 定量値① (μg/mL) | 受領直後 分散比 (F値) | 測定期限後 定量値② (μg/mL) | 測定期限後 分散比 (F値) | 濃度比 ②／① |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 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†† | 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** | 12.9, 11.5†† | 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** | 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* | 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** | 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 | 8.10, 7.69†† | 9.87, 8.83† | 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 | 9.13, 8.72 | 12.5, 11.9 | 13.7, 13.9 |
| | N | 8.14, 8.23 | 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 | 15.1, 17.8 | 25.2, 16.7** | 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 | 18.7, 19.2 | 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%未満または 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**

**①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ヤ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 | キャリヤーガス | キャリヤーガス流量 | 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 | $N_2$ | 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 | $N_2$ | 1.3 mL/min (定圧) | 1 | 10：1 | 5.4 | 6.6 |
| N | DB-1 | $N_2$ | 4.75 mL/min (定圧) | 1 | 50：1 | 1.6[*4] | 2.0 |
| O | DB-1 | $N_2$ | 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[*1*2] | $N_2$ | 2.7 mL/min (定圧) | 1 | スプリットレス | 9.6[*4] | 13.7 |
| Y | DB-1 | $N_2$ | 1.7 mL/min (定圧) | 2[*3] | 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

**キャリヤーガスについては、いずれの試験機関も公定法に準拠したHe及び$N_2$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機関のキャリヤーガス流量は、0.7～1.99 mL/minであった。キャリヤ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。**

**②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）*2 | **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*1 | 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*1 | 検体 0.9 mL に IS (0.2 mg/mL) 100 μL を添加 | **約**20 | 1.5 |
| Y*1 | 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**

*1：**公定法変法**

*2：**測定溶液中の濃度**

**③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%、$RSD_r$ 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%、$RSD_r$ 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[*2b] | 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[*2a] | 12.9, 11.5[*2b] | 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[*2a] | 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 |
| $RSD_r$（%） | 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[*1] | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/15 | 0/15 |
| 外れ値（精度）数[*2] | 1/15 | 2/15 | 0/15 | 1/15 | 0/15 | 0/15 |

$RSD_r$：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。

**④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**

**①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。

キャリヤーガスはいずれの試験機関も He を使用しており、キャリヤーガス流量は、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ヤ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）<br>及びカラム温度 | キャリヤーガス<br>流量 | スプリット<br>比 | カプロ<br>ラクタム | ヘプタ<br>ラクタム |
| A | DB-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>200°C(1 min)-2°C/min-220°C(5 min) | He<br>1.2 mL/min | 30：1 | 4.2 | 5.2 |
| D | DB-1 (0.25 mm, 30 m, 1 μm)<br>100°C-10°C/min-240°C(5 min) | He<br>1.2 mL/min | 50：1 | 7.5 | 8.9 |
| F | DB-1 (0.32 mm, 30 m, 5 μm)<br>70°C(1 min)-20°C/min-300°C | He<br>1.66 mL/min | 10：1 | 5.2 | 5.9 |
| H | VF-1ms (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>75°C(0.5 min)-10°C/min-180°C-25°C/min-310°C(10 min) | He<br>1.5 mL/min | 20：1 | 6.5 | 7.8 |
| I | DB-5 (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>100°C(1 min)-15°C/min-180°C-50°C/min-300°C(1 min) | He<br>1.0 mL/min | 30：1 | 4.7 | 5.6 |
| K | DB-5ms (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>80°C(1 min)-10°C/min-300°C | He<br>1.0 mL/min | 10：1 | 7.8 | 9.3 |
| M | DB-1 (0.32 mm, 30 m, 5 μm)<br>240°C | He<br>1.0 mL/min[*2] | 10：1 | 4.7 | 5.9 |
| N | DB-1 (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>240°C | He<br>1.32 mL/min[*2] | 100：1 | 2.4 | 2.5 |
| P | DB-5ms (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>120°C-10°C/min-240°C-30°C/min-300°C(1 min) | He<br>0.8 mL/min | 20：1 | 3.9 | 4.9 |
| Q | DB-1 (0.32 mm, 30 m, 5 μm)<br>240°C | He<br>0.8 mL/min | 5：1 | 4.4 | 5.5 |
| S | TC-WAX (0.25 mm, 30 m, 0.25 μm)<br>75°C(0.5 min)-10°C/min-230°C(10 min) | He<br>1.0 mL/min | 30：1 | 12.8 | 13.8 |
| W | DB-1 (0.25 mm, 30 m, 1 μm)<br>150°C(2 min)-30°C/min-240°C(1 min) | He<br>1.5 mL/min | 10：1 | 4.1 | 4.7 |
| X | VF-1ms (0.25 mm, 60 m, 1 μm)<br>150°C-10°C/min-250°C(10 min) | He<br>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 |

**②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。

**③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%、$RSD_r$ は 6.7～14.4%、$RSD_R$ は 16.8～21.7%であり、検体 1 の RSDr 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%、$RSD_r$ は 2.0～4.4%、$RSD_R$ 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、キャリー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１０　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* (μg/mL) | 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 |
| D | 検体 1 mL に IS (1 mg/mL) 15 μL を添加 | 約15 | 5 |
| F | 検体 10 mL にIS (3 mg/mL) 150 μL を添加 | 約45 | 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 | 検体 2 mL に IS (0.6 mg/mL) 50 μL を添加 | 約15 | 3 |
| P | IS (1 mg/mL) 30 μL に検体を添加し 2 mL に定容 | 15 | 3 |
| Q | 検体 1 mL に IS (30 μg/mL) 1 mL を添加 | 約15 | 3 |
| S | 検体 2 mL に IS (1.5 mg/mL) 20 μL を添加 | 約15 | 1.5 |
| W | 検体 1 mL に IS (30 μg/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 μg/mL) 0.5 mL を添加 | 約10 | 1.5 |

IS：内標準（ヘプタラクタム）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１１　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（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 | 10.8, 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[*1,2a] | 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[*1] | 8.10, 7.69[*1,2b] | 9.87, 8.83[*1] | 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[*1] | 9.13, 8.72 | 12.5, 11.9 | 13.7, 13.9 |
| N | 8.14, 8.23[*1] | 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[*1] | 15.1, 17.8 | 25.2, 16.7[*1,2a] | 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[*1] | 11.4, 11.6 | 15.7, 16.1 | 18.3, 18.2 |
| 平均値（μg/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 |
| $RSD_r$（%） | 14.4 | 6.7 | 11.7 | 4.4 | 3.0 | 2.0 |
| $RSD_R$（%） | 21.7 | 16.8 | 19.8 | 9.4 | 7.9 | 7.0 |
| 外れ値（真度）数[*1] | 4/13 | 1/13 | 4/13 | 0/13 | 0/13 | 0/13 |
| 外れ値（精度）数[*2] | 1/13 | 1/13 | 1/13 | 0/13 | 0/13 | 0/13 |

RSDr：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%）

## 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１２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ー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ヤ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ー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ー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１２　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 (%) | $RSD_r$ (%) | $RSD_R$ (%) | 外れ値数 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 真度[*1] | 精度[*2] |
| 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 |

RSDr：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) Kraijnik 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

＜別添２＞

平成 26 年度　厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

# 分担研究課題
# 規格試験法の性能評価に関する研究

# 平成 26 年度
# 試験室間共同試験
# 計画書

## ナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム試験

平成 26 年 5 月 7 日

**A 目的**

ナイロンを主成分とする合成樹脂製の器具・容器包装ではモノマー試験としてカプロラクタムの溶出量が規制されている。その試験法は規定の溶出条件により得られた試験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）で測定し、得られたピーク面積カプロラクタム標準溶液(15 μg/mL)と比較して適否判定を行うこととしている。

しかし、本試験法については、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。また近年では、ガスクロマトグラフ・質量分析装置（GC-MS）や液体クロマトグラフ・質量分析装置（LC-MS）の普及が進み、これらを用いたカプロラクタム測定法が報告されている。

そこで、ナイロン製器具・容器包装のカプロラクタム溶出試験について試験室間共同試験を行い、試験法の性能を評価するとともに、汎用性が高いガスクロマトグラフ・質量分析法（GC/MS）について、代替法としての妥当性を確認することとした。

**B　スケジュール**

実験計画の立案と調整・・・・・・・・・・研究代表者・解析者⇔各試験機関、第 1 回班会議
↓　（4 月～5 月中旬）
検体の調製・・・・・・・・・・・・・・・食品薬品安全センター
↓
検体の配付・・・・・・・・・・・・・・・食品薬品安全センター⇒各試験機関
↓　（6 月ごろに配付）
各試験機関で定量・・・・・・・・・・・・（検体配付後 2 ヶ間）
↓
個々の結果の報告・・・・・・・・・・・・各試験機関⇒研究代表者⇒解析者
↓
全体の結果を集約及び報告・・・・・・・解析者による解析
↓　第 2 回班会議（平成 26 年 11 月ごろ）
報告書の作成・・・・・・・・・・・・・・研究代表者・解析者（平成 26 年 11 月～）

**C　測定に関する要件**

検体の測定は以下の要件を満たす測定法または条件により実施すること。

①試験に用いる測定法または機器は、規格試験を実施可能なものであること。

試験に用いる測定法または機器は、食品衛生法の規格試験が可能（定量下限値が規格値以下）であること。通常の業務で使用していない場合は概ね可能かどうかの判断でよいが、測定前に定量下限と検量線の確認を行うこと。

検体の測定は、通常の業務（他の化合物の試験等でもよい）で使用している機器または今後の使用が見込まれる機器を用いて行うこと。ただし、長期間使用していない機器を用いる場合は、測定前に整備及び感度等の確認を行うこと。

②試験は、その測定法に関する経験・知識を有する者またはその者から指導を受けた者が行

うこと。
経験がある者（他の化合物の測定経験でも可）による測定の実施が望ましい。
経験が無いものが測定を実施する場合は、事前に操作法などを確認しておくこと。

③検体の測定は検体受領後 2 ヶ月以内に実施すること。
可能であれば検体受領後 1 週間以内の実施が望ましい。
予定していた試験は可能な限り実施すること。
多数の測定法による試験を実施、突発的な他業務の遂行による遅延、機器の故障など、特段の事情により測定作業が遅延または試験が不可能となった場合は速やかに連絡すること。

④試験は本計画書に従って行うこと。
測定及び定量は「Ⅰ　測定方法」に従って行うこと。ただし、記載のない条件等については任意とする。

⑤試験結果は研究終了後、1 年間保存すること。
測定条件、検量線及び検体の測定データは平成 28 年 3 月末まで保存すること。

D　解析者

（一財）化学研究評価機構　高分子試験・評価センター・大阪事業所　渡辺　一成

【注意】研究代表者及び解析者は、本研究で知り得た各試験機関の情報・結果について守秘義務を負うものとする。また、研究代表者及び解析者本人は試験を実施しない。

E　参加機関及び機関コード

①参加機関

東京都健康安全研究センター　埼玉県衛生研究所　神奈川県衛生研究所
長野県環境保全研究所　静岡県環境衛生科学研究所　静岡市環境保健研究所
愛知県衛生研究所　名古屋市衛生研究所　大阪府立公衆衛生研究所
大阪市立環境科学研究所　さいたま市健康科学研究センター
国立医薬品食品衛生研究所　（独）産業技術総合研究所
（一財）化学研究評価機構　高分子試験・評価センター・東京事業所
（一財）化学研究評価機構　高分子試験・評価センター・大阪事業所
（一財）日本食品分析センター　多摩研究所
（一財）日本食品分析センター　彩都研究所
（一財）食品環境検査協会　（一財）日本冷凍食品検査協会
（公社）日本食品衛生協会　（一財）東京顕微鏡院
（一財）日本文化用品安全試験所　（一財）日本穀物検定協会
（一社）日本海事検定協会　（一財）千葉県薬剤師会検査センター
（一財）食品分析開発センターSUNATEC　（一財）食品薬品安全センター

合計 27 機関

【注意】試験を実施しない試験機関も含む

**②機関コード**

**すべての参加機関に機関コードを交付する。**

**機関名と機関コードの対応は非公開とする。**

**機関コードにより実施する試験項目、測定法を確認する。**

**結果シートには機関コードのみを記載し、機関名は記入しない。**

**結果シートは、各機関の担当者から研究代表者を経由して解析者へ提出する。**

**【注意】機関コードは他機関や解析者に知られないよう注意すること。**

**F　各試験機関で実施する試験項目と測定法**

| 機関コード | GC-FID | GC/MS | 機関コード | GC-FID | GC/MS |
|---|---|---|---|---|---|
| A | ○ | ○ | N | ○ | ○ |
| B | ○ | × | O | ○ | × |
| C | ○ | × | P | ○ | ○ |
| D | × | ○ | Q | ○ | ○ |
| E | × | × | R | ○ | × |
| F | ○ | ○ | S | ○ | ○ |
| G | × | × | T | ○ | × |
| H | ○ | ○ | U | ○ | × |
| I | ○ | ○ | V | × | × |
| J | × | × | W | × | ○ |
| K | ○ | ○ | X | ○ | ○ |
| L | × | × | Y | ○ | × |
| M | ○ | ○ | Z | × | × |

LC **及び** LC/MS **による試験を希望する試験機関は無し。**

**G　検体の均質性及び安定性の確認**

**①均質性確認**

**国立医薬品食品衛生研究所にて、各検体** 10 **検体を検体受領直後に公定法により測定し、その定量値を用いて確認する。**

**②安定性確認**

**国立医薬品食品衛生研究所にて、検体を受領した約** 2 **ヶ月後に均質性確認と同様に測定し、内標準法による定量値を用いて確認する。**

**H　検体の配付及び保管**

**①検体配付時期の連絡**

**検体の配付予定時期は約** 1 **ヶ月前に、発送日はその** 1 **週間前に参加機関に連絡する。各試験機関は検体保管場所の確保、必要な器具類の購入、装置の動作確認、試薬の購入、標準原液の調製等の準備を適宜行うこと。**

②配付する検体

カプロラクタムの 20%エタノール溶液、3 検体（各 10 mL）、ブランク溶液（各 10 mL）

③検体の確認

セット数、検体数、溶媒・検体 No の判別、液漏れの有無を確認し、問題があれば至急連絡すること。

④検体の保管及び管理

検体は冷蔵庫内で保管する。

【注意】試験操作は、検体を室温まで戻してから行うこと。

⑤検体の不足

何らかの事情により検体が不足して予定する試験が不可能となった場合は速やかに研究代表者に連絡すること。

I　検体の測定及び定量

①測定溶液の調製

1 検体から 2 つの測定溶液を調製する。

検体を希釈して測定する場合の希釈溶媒の種類及び希釈倍率は任意とする。

内標準はヘプタラクタムを用い、その添加方法及び濃度は任意とする。

測定溶液…検体を測定または定量可能な状態としたもの（希釈、バイアルへの分注等）

【注意】ヘプタラクタムは国立医薬品食品衛生研究所で購入して配布する。

②測定条件等

GC-FID（公定法）の場合

食品衛生法に準拠して測定する。ただし、内標準の添加に関する操作はこの限りでない。食品衛生法で規定されていない条件は任意とする。

GC-FID（公定法変法）の場合

公定法で規定されている GC-FID の操作条件を変更したものを用いる。変更する操作条件は任意とする。ただし、検出器は FID を用いる。

GC/MS の場合

GC-MS を用いて測定する。すべての条件は任意とする。

③定量範囲

検体中のカプロラクタム 1.5〜30 μg/mL を定量可能な範囲で検量線を作成する。

定量に用いる検量線は 3 点以上の濃度点数により作成する。濃度及び間隔等は任意とする。ただし、規格値の濃度点（検体当たり 15 μg/mL）は必ず含むこととする。

定量範囲の濃度を測定するために複数の検量線を用いてもよい。（低濃度と高濃度で検量線を分けて定量してもよい）

定量下限値が定量範囲に含まれる場合は、定量下限値を検量線の最低濃度としてよい。

定量上限値が定量範囲に含まれる場合であって、検体の濃度が定量上限値を超える場合は検体を適宜希釈して定量する。

**④定量**

測定法ごとに 1 検体につき 2 回の測定及び定量を行い、それぞれの定量値を報告する。

【注意】1 検体から 2 つの測定溶液を調製して測定する。同じ測定溶液を 2 回測定するわけではない。

【注意】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、その原因が明らかな場合は再測定または再定量を行う。

定量は絶対検量線法と内標準法で行う。同じ測定結果を用いてそれぞれの定量値を求めてもよい。

報告する定量値は検体の濃度（測定溶液の定量値ではない）とする。

希釈して測定する場合は、原則として検体と同じ溶媒を用いて希釈する。

検量線、検体の測定順、洗浄用サンプルや校正用サンプルの測定の有無は任意とする。

検体の濃度が検量線の濃度範囲（または定量下限値）よりも低い場合は、濃縮して測定する必要はない。この場合、定量値は「< 0.1」（0.1 は定量下限値）のように記載して報告する。

定量値は 3 桁の数値を報告する。（4 桁目を四捨五入、機器の精度、有効数字等を考慮する必要はなく、検量線と希釈倍率から算出された濃度でよい）

【注意】mg/mL の単位で定量すると、小数点以下の濃度となるため、解析ソフトによっては 2 桁しか表示されない場合がある。また、検量線の近似式の傾き及び切片の桁数にも注意し、これらの桁数が 3 桁以上であることを確認する。十分な桁数が得られない場合はμg/mL 単位で検量線を作成するとよい。

**⑤適否の判定**

測定または定量結果から各検体が食品衛生法に適合しているか否かを以下の 2 つの方法で判定する。

濃度…定量値による判定

ピーク…カプロラクタム標準溶液（または規格値相当濃度のカプロラクタム溶液）と検体のピーク面積の比較による判定

【注意】ピーク面積比（内標準法）ではなく、ピーク面積（絶対検量線法）で比較を行う。

**⑥選択性の確認**

方法は特に指定しない。通常実施している確認法があればその方法を用いてよい。確認法及び得られた知見があればその内容を報告する。

**J　結果の報告**

報告シート 3 は測定法ごとに記入する。（報告シートへの記入例を【参考】に示す）

測定中に機器のトラブル等の問題が発生した場合は必ず記載すること。

諸事情により期限までに報告できない場合は事前に連絡すること。

その他、不明な点があれば可能な限り試験実施前に連絡すること。

試験終了後は速やかに結果等を報告シートに記入し、電子ファイル（E-mail）にて研究代表者へ提出する。さらに後日、結果報告書として書面にて研究代表者に提出する。

【報告シートの内容】

報告シート 1…測定機器、試薬等の情報、感想など

報告シート 2…定量結果

**K　目標値**

**食品衛生法の規格試験としての妥当性を評価するにあたり、各性能パラメーターに対して下記の目標値を設定する。**

**選択性：妨害となるピーク等が検出されないこと**

**真度：**80〜110%

**併行精度：**10%**以下**

**室間再現精度：**25%**以下**

**【参考】**

H26「カプロラクタム試験」結果報告シート１

（検体･機器･試薬の情報）

1．試験コード、検体及び測定法

| 機関コード *1 | セットNo. *2 | 測定法 *3 |
|---|---|---|
| **T** | **1** | **GC-FID（変）** |
| | **3** | **GC/MS** |

2. 使用した機器

| 機器 *4 | メーカー | 型式 | 開示の可否 *5 | |
|---|---|---|---|---|
| **GC-FID** | **Agilent technologies** | **6890** | **可** | |
| | | | **一部可** | **クロマトのみ不可** |
| | | | **否** | |

3. 使用した試薬

| 試薬 *6 | メーカー | Grade | 純度（%)または濃度 |
|---|---|---|---|
| カプロラクタム | **和光純薬** | **特級** | **＞99.5%** |
| エタノール | | | |
| 水 | | **MilliQ** | |
| ヘリウムガス | - | **純ヘリウム** | **99.9999%** |
| 窒素ガス | | | |

4. 検体の保存

| 検体の保存方法 | **冷蔵庫内で保管** |
|---|---|

5．試験全体に対しての感想･コメントなど

| |
|---|
| |

H26「カプロラクタム試験」結果報告シート２
（測定条件）

機関コード T

1．測定条件①

| | | | |
|---|---|---|---|
| 測定法 *7 | GC-FID（変法） | | |
| カラムの種類、サイズ *7 | DB-1, 30m, 0.32mm, 5µm | | |
| キャリヤーガス | He | | |
| カラム温度 *7 | | | |
| キャリヤーガス（移動相）の流量 | 1.0 mL/min（定圧） | | |
| 注入口温度 *7 | 240℃ | 検出器温度 *7 | 240℃ |
| その他の条件 *8 | メイクアップガス：N2 | | |
| | | | |
| 内標準物質名 | ヘプタラクタム | 測定時の内標準濃度 | 15 mg/mL |
| 内標準の添加方法 | 検体10 mLにヘプタクタム溶液（1 mg/mL）を150 µL添加 | | |

2．測定条件②*9

| | | | |
|---|---|---|---|
| 測定法 *7 | | | |
| カラムの種類、サイズ *7 | | | |
| キャリヤーガス | | | |
| カラム温度 *7 | | | |
| キャリヤーガス（移動相）の流量 | | | |
| 注入口温度 *7 | | 検出器温度 *7 | |
| その他の条件 *8 | | | |
| | | | |
| 内標準物質名 | ヘプタラクタム | 測定時の内標準濃度 | |
| 内標準の添加方法 | | | |

H26「カプロラクタム試験」結果報告シート３ *10

（定量結果）

| 機関コード | T | セットNo | 1 | 測定法 | GC-FID（変） |
|---|---|---|---|---|---|

| 受領日 | 5/10 | 測定日 | 5/26 |
|---|---|---|---|

## １．定量結果

| 検体No | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 定量値（μg/mL）（絶対）*11 | 12.3 | 11.5 | 8.23 | 7.56 | 16.7 | 17.2 |
| 定量値（μg/mL）（内標）*11 | 12.3 | 11.9 | 8.00 | 8.03 | 15.2 | 15.1 |
| 使用した検量線 *12 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 適否判定（濃度）*13 | 適 | 適 | 適 | 適 | 否 | 否 |
| 適否判定（ピーク）*14 | 適 | 適 | 適 | 適 | 適 | 適 |
| 検体の希釈倍率 *15 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

## ２．対象物の検出条件

| 成分 | 保持時間 | 定量用イオン *16 | 確認用イオン *16 |
|---|---|---|---|
| カプロラクタム | 5.21 | | |
| ヘプタラクタム | 6.53 | | |

## ３．検量線情報

検量線①

| 濃度点（μg/mL） | 0, 5, 10, 15, 20, 30（6点） | | 回数 *17 | 前後2回 |
|---|---|---|---|---|
| 定量下限（μg/mL）*18 | 5 μg/mL | | 形状 | 1次直線 |
| 回帰式（検量線式） | （絶対） | y=2.354x+0.0255 | 残差 *20 | |
| | （内標） | y=2.354x+0.0255 | 残差 *20 | |
| 相関係数（R） *19 | （絶対） | 0.99952 | （内標） | 0.99953 |

検量線② *21

| 濃度点（μg/mL） | | | 回数 *17 | |
|---|---|---|---|---|
| 定量下限（μg/mL）*18 | | | 形状 | |
| 回帰式（検量線式） | （絶対） | | 残差 *20 | |
| | （内標） | | 残差 *20 | |
| 相関係数（R） *19 | （絶対） | | （内標） | |

## ４．その他

| 選択性の確認方法及びその知見 |
|---|
| |

| 気になった点、測定中のトラブルなど |
|---|
| |

*1 コードのみを記入、機関名は記入しない

*2 検体に記載のセット番号を記入

*3 1 セットにつき 1 測定法で定量する

*4 測定に使用した機種すべてを記入。

*5 開示してもよいかどうか条件があれば記載

*6 他に使用した試薬があれば行を追加して記入

*7 公定法と同じであっても記入する。

*8 その他のパラメーター名とその数値を記入。必要な項目については後日確認するので、代表的なパラメーターのみでよい。

*9 複数の測定法で行う場合のみ使用。3 つ以上の場合はシートをコピーして作成

*10 測定法ごとに別シートとして作成する。

*11 検体当たりの濃度を記入。3 桁（4 桁目を四捨五入）

*12 ３．検量線情報の検量線番号を記入

*13 定量値（絶対法）より適否判定を行った際の判定結果を記入

*14 ピーク面積により適否判定を行った際の判定結果を記入

*15 そのまま測定した場合は『1』、10 倍希釈して測定した場合は『10』

*16 GC/MS の場合のみ記入

*17 検量線を作成するための標準溶液の測定回数

*18 定量下限は、S/N などから判断。厳密な数値を求める必要はない

*19 R2 ではなく R で記入。3 桁以上記入

*20 検量線の残差は、ソフトで自動的に検量線を計算している場合、「s^2」「Se」「SRES^2」などという表記で記載されることが多い。不明であれば記入しなくてもよい。

*21 濃度範囲で検量線を分けた場合に使用する。1 つの検量線ですべての検体を定量した場合は不要

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

# 市販製品に残存する化学物質に関する研究

研究代表者　六鹿　元雄　国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者　阿部　　裕　国立医薬品食品衛生研究所

**研究要旨**

器具・容器包装及び玩具（以下、器具・容器包装等）は合成樹脂、ゴム、金属など多種多様な材質で製造され、製品には原料や添加剤等の様々な化学物質が残存する可能性がある。これらの化学物質は食品や唾液を介してヒトに暴露される可能性があることから、器具・容器包装等の安全性を確保するためには製品に残存する化学物質の残存量及び溶出量を把握する必要がある。しかしながら、規格基準が設定されていない物質については、分析法が確立されていないものや残存量・溶出量等の実態が明らかでないものが多い。また、試験法や分析法の中には問題を有するものがある。そこで本年度は、植物油総溶出物量試験法の改良、ガスクロマトグラフィーを用いる試験法におけるキャリヤーガスの変更による影響及びアンチモン（Sb）及びゲルマニウム（Ge）溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発に関する研究を行った。

合成樹脂及びゴム製器具・容器包装のうち、油脂及び脂肪性食品と接触して使用される製品の総溶出量試験である植物油総溶出物量試験法について改良を行った。この試験法のもととなったオリブ油総溶出物量試験法は、欧州連合の合成樹脂製器具及び容器包装の規格試験法として採用されており、試験法は欧州標準規格 EN 1186-2 に収載されている。しかし、試験法は極めて煩雑で長時間を要し、しかも有害試薬を使用するなど問題が多い。そこで、昨年度は試料の恒量化と植物油のメチルエステル化について検討した。今年度は試料中の残存植物油の抽出法について検討を行った。その結果、内標準を加えたシクロヘキサンに浸漬し、40℃で 120 分間の振とう抽出を 1 回行うという簡便な抽出法で、残存植物油量を求められることを明らかにした。以上の検討結果をもとに、操作が簡便でしかも有害試薬を使用しない植物油総溶出物量試験法の改良法を確立した。さらに、本試験法と EN 法の同等性を検証するため、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリ塩化ビニル、シリコーンゴム及び天然ゴムの 6 種類の材質について、両試験法により植物油総溶出物量試験を行った。その結果、両試験法により得られた植物油総溶出物量及びその標準偏差は極めて良く一致し、改良法は EN 法と同等の試験法であることが確認された。

食品衛生法における器具・容器包装の規格試験のうち、GC-FID 及び GC-NPD を用いる試験法について、キャリヤーガスとして He 及び $N_2$ を用い、同一装置、同一条件で測定を行い、キャリヤーガスの違いによる影響を確認した。GC-FID を用いる揮発性物質、塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチル、カプロラクタム及びエピクロルヒドリン試験

においては、$N_2$をキャリヤーガスとして用いると揮発性物質試験ではピークのテーリングが、カプロラクタム試験ではピークのリーディングが認められたが、適否判定に支障をきたすほどの変化ではなかった。一方、塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチル及びエピクロロルヒドリン試験では、キャリヤーガスによる違いは認められなかった。これらの試験法においては、いずれのキャリヤーガスを用いても規格試験法として十分な性能が得られた。一方、GC-NPD を用いるアミン類試験では、キャリヤーガスに$N_2$が規定されていない。この試験法ではキャリヤーガスの変更による各成分の保持時間の変化はなく、いずれにおいても性能パラメーターの値は目標値を満たしており、代替試験法として$N_2$キャリヤーガスが適用可能であった。しかし、ベースラインの形状が変化し、ブランク溶液ではトリエチルアミンの保持時間付近に複数のピークが認められたことから、慎重に定性を行う必要があった。

公定法によるアンチモン（Sb）及びゲルマニウム（Ge）試験において、ICP-OES を用いると半数以上の試験機関で装置の定量下限値が高く、試験することができない。そこで、代替法として、試験溶液を濃縮して測定する蒸発乾固法及びキレート法、試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法について検討し、その適用性を検証した。試験溶液を蒸発させて乾固する蒸発乾固法では、Sb 及び Ge の揮散を防ぐ方策を見出すことができなかった。試験溶液中の Sb 及び Ge をキレート繊維に吸着させて濃縮するキレート法は代替法として十分な性能を有していたが、公定法では使用していないキレート繊維や試薬・試液が必要であった。また、これらの試験溶液を濃縮する方法に共通する問題点として、試験溶液中の Sb 及び Ge の化学形態によっては回収できない場合があると考えられた。一方、試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法は代替法として十分な性能を有していた。これらは特別な試薬や装置を必要とせず、大部分の試験機関で実施することが可能なため代替法として有用であると考えられた。ただし、標準添加法は共存物質の影響を考慮する必要がないが、バックグラウンド補正が不適切であった場合は正確な定量値が得られないため、測定条件の設定を慎重に行う必要があった。既知量添加法は公定法と同様に標準溶液と試験溶液の発光強度を比較して適否判定を行うことができるが、内標準法を用いる場合はその発光強度の安定性にも注意を払う必要があった。

**研究協力者**

河村葉子：国立医薬品食品衛生研究所
中西　徹：（一財）日本食品分析センター
渡邊雄一：（一財）日本食品分析センター
城市　香：（一財）日本食品分析センター
川口寿之：（一財）日本食品分析センター
羽石奈穂子：東京都健康安全研究センター
田中秀幸：（独）産業技術総合研究所
城野克広：（独）産業技術総合研究所
穐山　浩：国立医薬品食品衛生研究所
阿部　孝：（一財）日本食品分析センター
阿部智之：（公社）日本食品衛生協会
石原絹代：（一財）日本食品分析センター
伊藤禎啓：（公社）日本食品衛生協会
大坂郁恵：埼玉県衛生研究所
大野春香：愛知県衛生研究所
大野浩之：名古屋市衛生研究所
大野雄一郎：（一財）千葉県薬剤師会検査センター
大坪昌広：静岡県環境衛生科学研究所
大畑昌輝：（独）産業技術総合研究所
大森清美：神奈川県衛生研究所
荻本真美：東京都健康安全研究センター
尾崎麻子：大阪市立環境科学研究所
柿原芳輝：（一財）日本穀物検定協会
神邊友宏：静岡市環境保健研究所
菊地　優：東京都健康安全研究センター
岸　映里：大阪市立環境科学研究所
小林　尚：（一財）食品分析開発センターSUNATEC
近藤貴英：さいたま市健康科学研究センター
齋藤敬之：（一財）食品環境検査協会
櫻木大志：名古屋市衛生研究所
柴田　博：（一財）東京顕微鏡院
清水　碧：神奈川県衛生研究所
鈴木公美：東京都健康安全研究センター
清木達生：（一社）日本海事検定協会
関戸晴子：神奈川県衛生研究所
薗部博則：（一財）日本文化用品安全試験所
高坂典子：（一財）食品薬品安全センター
竹内温教：（一財）食品分析開発センターSUNATEC
竹中　佑：（一財）日本文化用品安全試験所
但馬吉保：（一財）食品環境検査協会
田中　葵：（一社）日本海事検定協会
外岡大幸：さいたま市健康科学研究センター
冨田浩嗣：愛知県衛生研究所
早川雅人：（一財）化学研究評価機構
原　貴彦：（一財）食品環境検査協会
疋田晃典：長野県環境保全研究所
平川佳則：（一財）食品環境検査協会
松山重倫：（独）産業技術総合研究所
三浦俊彦：（一財）日本冷凍食品検査協会
水野会美：（一財）食品分析開発センターSUNATEC
村上　亮：（公社）日本食品衛生協会
山口未来：国立医薬品食品衛生研究所
若山貴成：名古屋市衛生研究所
渡辺一成：（一財）化学研究評価機構

**健康危害情報**

なし

**研究発表**

**1．論文発表**

なし

**2．講演、学会発表等**

1) 阿部　裕ら：GC/MS を用いたフタル酸エステル測定における共存可塑剤の影響、第 51 回全国衛生化学技術協議会年会 (2014. 11)
2) 中西　徹ら：植物油総溶出量試験法の改良 その 1　植物油定量法、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
3) 城市　香ら：植物油総溶出量試験法の改良 その 2 試料の恒量化、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)
4) 阿部　裕ら：LC/MS/MS を用いたポリ塩化ビニル中のフタル酸エステル分析法、第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014. 12)

**知的財産権の出願・登録状況**

なし

# ＜その１＞ 植物油総溶出物量試験法の改良
# 植物油抽出法の検討及び改良試験法の検証

研究協力者　河村　葉子　　国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者　中西　徹、渡邊　雄一、城市　香、川口　寿之
(一財)日本食品分析センター

## A. 研究目的

オリブ油総溶出物量試験（Overall Migration Test into Olive Oil）は、器具・容器包装などの食品接触物質からの溶出物の総量を測定する試験（Overall Migration Test、我が国の蒸発残留物試験にほぼ相当）の一つであり、油脂及び脂肪性食品に使用される食品接触物質に適用される。欧州連合では規格試験として採用され、その試験法は欧州標準規格 EN 1186-2（EN 法）[1] に収載されている。

オリブ油総溶出物量試験は合成樹脂やゴム製器具・容器包装の油脂及び脂肪性食品への溶出傾向を明らかにし、またそれらに対応する蒸発残留物試験の代替溶媒や試験条件を設定するために必須である。平成 19～21 年度厚生労働科学研究「食品用器具・容器包装、乳幼児用玩具及び洗浄剤の安全性確保に関する研究」及び平成 22～24 年度厚生労働科学研究「食品用器具・容器包装及び乳幼児用玩具の安全性向上に関する研究」において、油脂及び脂肪性食品用の合成樹脂及びゴム製器具・容器包装の蒸発残留物試験の見直しを行い、EN 法を用いてオリブ油総溶出物量を求め、それをもとに適切な代替溶媒及び試験条件の設定を行った。

しかし、EN 法は操作が極めて煩雑で長時間を要し、試験には熟練した技術が求められる。しかも、有害試薬である三フッ化ホウ素メタノールを使用する。そのため、我が国では実施できる試験機関が限られている。

そこで本研究では、EN 法をもとに、より精度が高く、安全で、しかも簡便な試験法に改良し、多くの試験機関で実施できる試験法として確立することを目的とした。一方、試験にはオリブ油以外の植物油も使用することから、試験法の名称を植物油総溶出物量試験法に変更し、オリブ油以外の植物油も使用可能であることを明確にした。

昨年度の本研究では、植物油総溶出物量試験法のうち試料の恒量化及び試料中に残存する植物油の定量法について検討を行った。試料の恒量化では、43％硫酸デシケーター（温度 20℃、相対湿度 50％）を用いて試料を安定化することにより、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ナイロン、シリコーンゴム、天然ゴムのいずれの試料でも、短期間で恒量化することができた。また、試料中に残存する植物油の定量法では、ガスクロマトグラフィーの測定条件を検討するとともに、メチルエステル化法として、還流下での煩雑な操作や有害試薬を用いる三フッ化ホウ素メタノール法からナトリウムメトキシド法への変更を検討し、有害試薬を用いずしかも室温下での簡便な試験法を確立した。

今年度は、ガスクロマトグラフィーによる植物油メチルエステル体測定時の定量限界及び検量線についてさらに検討を行った。さらに、溶出操作後の試料中に残存する植物油の抽出法について検討を行い、簡便な抽出条件を見出した。これにより改良法の全操作を確立した。そこで、今回確立した改良法と EN 法を用いて各種試料の植物油総溶出物量を求

め、これらの同等性について検証した。これらの研究成果について報告する。

## B．研究方法

### 1．試料

市販のポリエチレンシート（厚さ 0.1 mm)、ポリプロピレンフィルム（厚さ 0.03 mm)、ポリ塩化ビニルフィルム（厚さ 0.009 mm)、ナイロンシート（厚さ 0.3 mm)、シリコーンゴムシート（厚さ 0.5 mm)、天然ゴムシート（厚さ 0.5 mm）の 6 試料

### 2．試薬及び試液

95%硫酸、水酸化カリウム、硫酸ナトリウム：試薬特級、小宗化学薬品(株)製

43%硫酸：水 547 g に 95%硫酸 453 g を少量ずつ混和して調製した。

オリブ油：和光純薬工業(株)製

サフラワー油：リノール酸 71%、オレイン酸 16%、Sigma-Aldrich 社製

シクロヘキサン、ヘプタン、酢酸：特級、関東化学(株)製

ヘキサン、エタノール(99.5)、メタノール：残留農薬試験・PCB 試験用（5000 倍濃縮)、関東化学(株)製

ペンタン：鹿特級、関東化学(株)製

ナトリウムメトキシド溶液：28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液、和光純薬工業(株)製

トリヘプタデカノイン：純度 99%以上、Sigma-Aldrich 社製

内標準溶液：トリヘプタデカノイン 200 mg に抽出溶媒と同じ溶媒を加えて溶解し、100 ml に定容した（濃度 2 mg/ml)。

三フッ化ホウ素メタノール溶液：14%三フッ化ホウ素メタノール錯体メタノール溶液、和光純薬工業(株)製

水酸化カリウムメタノール溶液：水酸化カリウム 11 g をメタノールに溶解して 1000 ml に定容した（濃度 11 g/L)。

飽和硫酸ナトリウム溶液：硫酸ナトリウム 200 g に水 800 ml を加え、約 70℃で加温溶解後冷却し上清を用いた。

### 3．器具及び装置

硫酸デシケーター：43%硫酸を入れ 20±1℃で平衡状態にしたデシケーター(相対湿度 50±2%)

電子天秤：XS204 または XSE204（いずれも最小表示 0.1 mg)、以上メトラー・トレド(株)製

恒温振とう水槽：T-N22S、トーマス科学器械(株)製

水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ（GC-FID)：6890N、Agilent Technologies 社製

### 4．植物油総溶出物量試験法

#### 1）改良法

##### ① 予試験

試料（10 cm×10 cm または所定のサイズ）を用いてあらかじめ以下の⑤～⑦の操作を行い、ガスクロマトグラム上に植物油の定量を妨げるピークが存在しないことを確認した。植物油としてオリブ油を使用し、その定量用ピークにはオレイン酸メチルを用いた。ただし、試料由来の妨害ピークにより定量できない場合には、植物油としてサフラワー油を用い、定量用ピークにはリノール酸メチルを用いた。

##### ② 溶出前の試料恒量の測定

試料（10 cm×10 cm、表面積 200 $cm^2$）は質量を測定し、硫酸デシケーターに静置した。24 時間以上間隔をあけて試料を取り出し、質量を測定して前回測定した質量との質量差を求めた。質量差が 0.5 mg 以下になるまでこの

操作を繰り返し、最後に得られた質量を溶出前の試料恒量（$W_a$ mg）とした。ただし、天然ゴムの抽出法の検討及び検証では 3 cm×3 cm の試料（表面積 18 $cm^2$）を使用した。

③ 植物油への溶出

試料の表面積 1 $cm^2$ あたり 2 ml の植物油を所定温度に加温して試料を浸漬し、所定温度に保ちながら所定時間静置したのち試料を取り出した。今回の試験法の検証では、植物油としてオリブ油（ポリ塩化ビニルはサフラワー油）を用いた。その後、試料に付着した植物油をろ紙、キムワイプなどで除去し、さらに試料をろ紙などに挟んで約 10 kg の重しをのせ数時間静置する操作を、ろ紙などに植物油が付着しなくなるまで繰り返した。

なお、今回の検討では、溶出条件として、シリコーンゴム及び天然ゴムは 60℃30 分間、ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンは 80℃60 分間、ポリ塩化ビニルは 40℃30 分間を用いた。

④ 溶出後の試料恒量の測定

植物油を十分に除去した試料は、質量を測定し硫酸デシケーターに静置した。②溶出前の試料恒量の測定と同様に操作し、最後に得られた質量を溶出後の試料恒量（$W_b$ mg）とした。

⑤ 試料中の残存植物油の抽出

試料を広口びんに入れ、シクロヘキサン 190 ml 及び内標準溶液 10 ml を加えて密栓した。40℃の恒温振とう水槽で振とうしながら 120 分間抽出した。抽出液をナスフラスコに移し、ロータリーエバポレーターで濃縮し窒素気流下で乾固した。

⑥ 植物油のメチルエステル化

残渣にヘプタン 10 ml を加えて溶解し、ナトリウムメトキシド溶液 0.5 ml 及びメタノール 2 ml を加え、室温で 15 分間緩やかに振とうした。これに水 5 ml 及び酢酸 0.5 ml を加えて振とうしたのち静置した。

⑦ 植物油の定量

ヘプタン層を GC-FID に注入し、得られたガスクロマトグラムから植物油の定量用ピークと内標準ピークの面積を求め、内標準法により試料中に残存する植物油量（$W_c$ mg）を求めた。検量線は植物油（0～1500 mg）に内標準溶液 10 ml を加えて⑥及び⑦の操作を行って作成した。

**GC-FID 測定条件**

カラム：Polyethylene glycol 系（0.25 mm i.d.×30 m，膜厚 0.5 μm）

カラム温度：100℃（2 min），100～250℃（20℃/min，昇温），250℃（5 min）

注入口温度：250℃

検出器温度：250℃

スプリット比：1:50

キャリアガス流量：ヘリウム 2.0 ml/min

検出器：水素炎イオン化検出器（FID）

⑧ 植物油総溶出物量の算出

植物油総溶出物量（μg/$cm^2$）は下式により算出した。ただし、S は試料の表面積（$cm^2$）とした。

$$\text{植物油総溶出物量} = \frac{W_a - (W_b - W_c)}{S} \times 1000$$

$$= \frac{W_a - W_b + W_c}{S} \times 1000$$

2）EN 法

EN 1186-2 に準じた。試料は１）改良法の①～④と同様に操作して $W_a$ 及び $W_b$ mg を求めたのち、以下の操作を行った。

⑤ 試料中の残存植物油の抽出

試料を細切しソックスレー抽出器に入れ、ナスフラスコに内標準溶液 10 ml 及びペンタン 200 ml を加え 7 時間抽出した。抽出液はロータリーエバポレーターで濃縮後、窒素気流

下で乾固した。上記の抽出操作を植物油が定量限界以下になるまで繰り返した。

⑥ 植物油のメチルエステル化

乾固した残渣にヘプタン 10 ml を加えて溶解し、水酸化カリウムメタノール溶液 10 ml を加え、冷却管を付けて 10 分間還流した。冷却管の上部から三フッ化ホウ素メタノール溶液 5 ml を加え 2 分間還流した。冷後、飽和硫酸ナトリウム溶液 20 ml を加えて 5 分間振とうし、50 ml ネスラー管に移し静置した。

⑦ 植物油の定量

１）改良法の⑦と同様の条件でガスクロマトグラフィーを行い、内標準法で試料中の残存植物油量（$W_c$ mg）を求めた。

⑧ 植物油総溶出物量の算出

１）改良法の⑧と同じ式を用いて植物油総溶出物量（μg/cm$^2$）を算出した。

## ５．試料中の残存植物油の抽出法の検討

### １）抽出試験用試料の調製

試料は 10 cm×10 cm（天然ゴムは 3 cm×3 cm）に切断し、４．１）②～④に従い抽出試験用試料を調製した。試料は検体ごとに溶出前の試料恒量（$W_a$ mg）、溶出後の試料恒量（$W_b$ mg）を求め、溶出前後の質量差（$W_b$－$W_a$ mg）を算出した。調製した試料は質量差の分布がほぼ同等になるように 3 検体ずつ 1 組とし、抽出条件の比較に用いた。ただし、抽出溶媒の検討は 1 検体ずつのため、得られたオリブ油濃度を溶出前後の質量差（$W_b$－$W_a$ mg）で補正した。

植物油への溶出において、植物油としてポリ塩化ビニルはサフラワー油、それ以外の試料はオリブ油を用いた。また溶出条件は、シリコーンゴム及び天然ゴムは 60℃30 分間、ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンは 80℃60 分間、ポリ塩化ビニルは 40℃30 分間とした。

### ２）シリコーンゴムの抽出条件の検討

① 抽出溶媒

シリコーンゴムの抽出試験用試料に、ヘキサン、ヘキサン：エタノール(95:5)またはシクロヘキサン 190 ml と内標準溶液 10 ml を加えて、40℃で振とう抽出を行った。なお、ヘキサンは 60℃でも行った。0、60、120、240 及び 360 分後に抽出液を各 4 ml 採取し、絶対検量線法で抽出液中のオリブ油濃度を定量した。

② 抽出時間

シリコーンゴムの抽出試験用試料にシクロヘキサン 190 ml と内標準溶液 10 ml を加えて、40℃で振とう抽出を行った。0、15、30、60、120、240 及び 360 分後に抽出液を各 4 ml 採取し、絶対検量線法および内標準法によりオリブ油量を定量した。

③ 抽出回数

シリコーンゴムの抽出試験用試料にシクロヘキサン 190 ml 及び内標準溶液 10 ml を加え 40℃120 分間振とうして抽出液を全量採取したのち、新たなシクロヘキサン 200 ml を用いて 40℃60 分間の振とう抽出をさらに 3 回繰り返した。1～4 回目の各抽出液、1 回目と 2 回目を合わせた抽出液、1～3 回目を合わせた抽出液中のオリブ油量を絶対検量線法により定量した。また、1 回目の抽出液と各混液については内標準法でも定量した。

### ３）その他の材質試料の抽出条件の検討

シリコーンゴム以外の材質の抽出試験用試料にシクロヘキサン 190 ml 及び内標準溶液 10 ml を加え、以下２）③と同様に操作した。ただし、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリ塩化ビニルの追加抽出は 2 回とし、1～3 回目を合わせた抽出液は測定しなかった。

## ６．改良法と EN 法の同等性の検証

ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、

ポリ塩化ビニル、シリコーンゴム及び天然ゴム製の 6 種類の試料各 3 検体を用いて、４．１）に示した改良法及び４．２）に示した EN 法に従って操作した。検体ごとに溶出前後の質量差（$W_b$－$W_a$ mg)、試料中に残存する植物油量（$W_c$ mg)、試料あたりの溶出物量（$W_a$－$W_b$＋$W_c$ mg)及び植物油総溶出物量を求め、それぞれの値の平均値と標準偏差を比較して同等性を検証した。

## C．研究結果及び考察

### １．植物油の定量限界及び検量線の検討

#### １）オリブ油の定量限界と検量線

昨年度は 0.5～1500 mg のオリブ油をメチルエステル化し、主脂肪酸であるオレイン酸のメチルエステル体（オレイン酸メチル）を定量用ピークとして絶対検量線法で検量線を作成した。その結果、全範囲で極めて良好な直線性が得られ、定量限界を 0.5 mg とした。しかし、そのガスクロマトグラムからはさらに低濃度でも定量可能と推測された。

そこで、定量限界を再検討するためにオリブ油 0、0.05、0.1 及び 0.5 mg をメチルエステル化して GC-FID で測定した（図１）。昨年度定量限界としたオリブ油 0.5 mg ではオレイン酸メチル（保持時間 11.0 分）の S/N 比は 100 以上であった。一方、オリブ油 0.1 及び 0.05 mg では、S/N 比は約 20 及び 10 でピーク形状も良好であった。また、ブランクに妨害は認められなかった。そこで、S/N 比約 10 のオリブ油 0.05 mg を定量限界とした。

次に、オリブ油 0.05～1500 mg に内標準を加えて測定を行い、絶対検量線法及び内標準法により検量線を作成した（図２）。検量線は両法とも極めて良好な直線性を示した。なかでも、内標準法の $R^2$ は 0.9999 であり、絶対検量線法の 0.9974 よりさらに良好な直線性を示した。

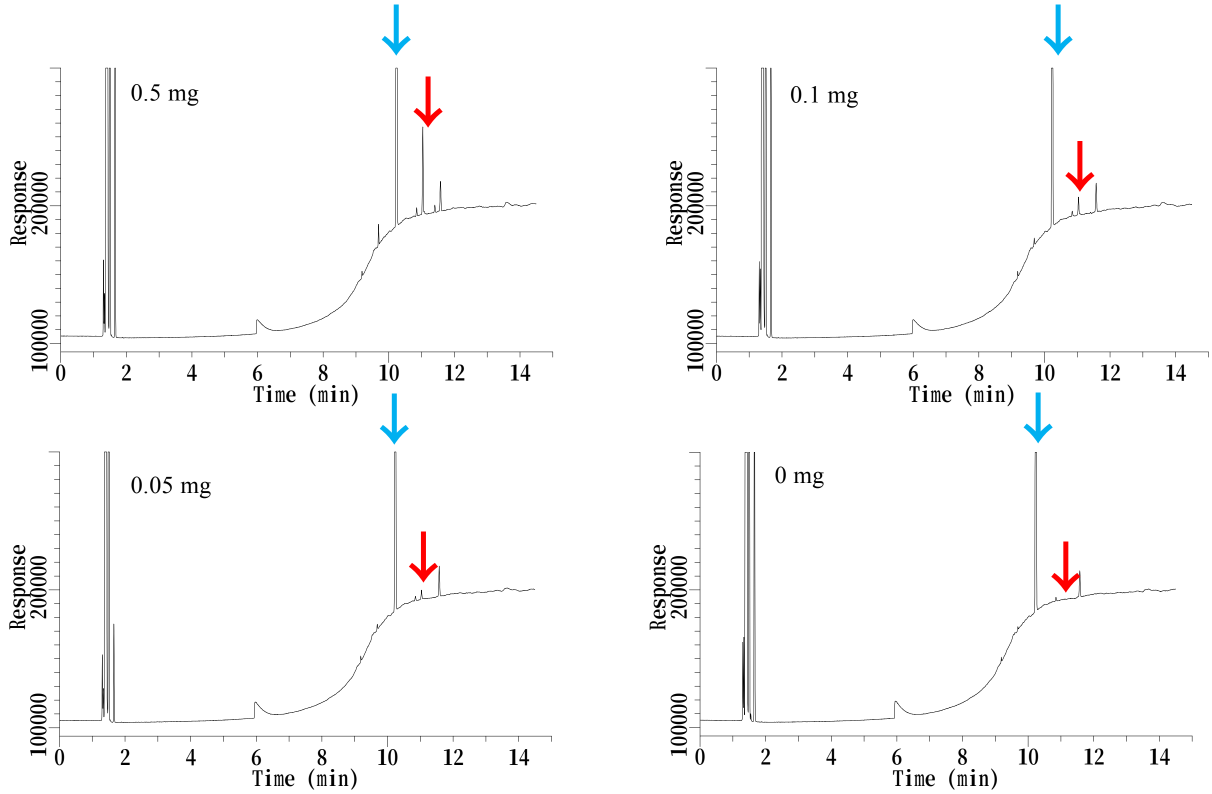



**図１ オリブ油（0, 0.05, 0.1 及び 0.5 mg）のガスクロマトグラム**
**保持時間：内標準** 10.2 min, **オレイン酸メチル** 11.0 min

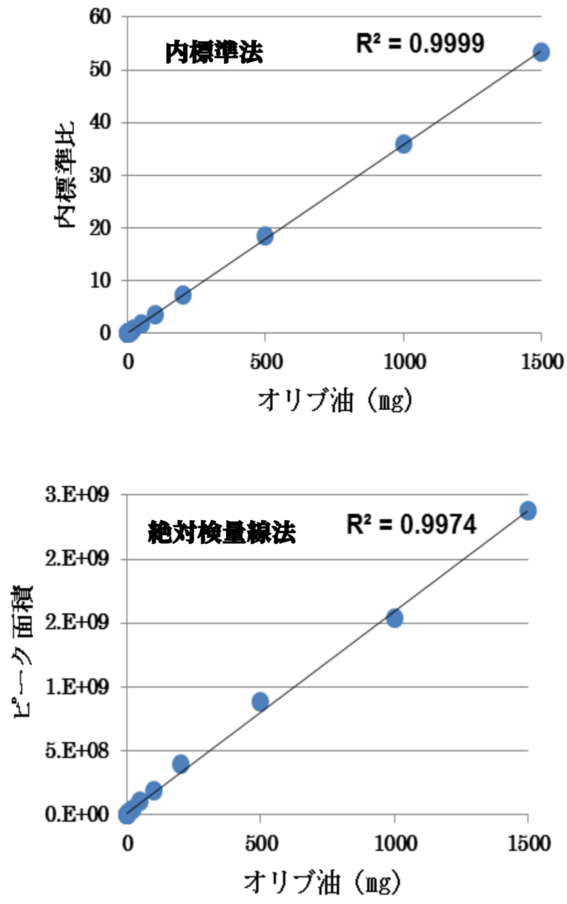


**図２　オリブ油検量線(0.05～1500 mg)**

以上のように、内標準法、絶対検量線法ともオリブ油の定量限界は 0.05 mg であり、0.05～1500 mg の範囲で良好な直線性を示し定量可能であった。また、内標準法による検量線は、絶対検量線法よりもさらに直線性にすぐれていた。

**２）サフラワー油の定量限界と検量線**

溶出前試料のガスクロマトグラムにおいて、オレイン酸メチルの位置に試料由来の妨害ピークが存在する場合には、それ以外のピークを定量に用いる必要がある。オリブ油の脂肪酸組成はオレイン酸 77.3%、パルミチン酸 10.4%、リノール酸 7.0%である [2)]。パルミチン酸メチルやリノール酸メチルの位置に妨害ピークがなければ、オリブ油のこれらを定量用ピークとすることも可能であるが、ピークが小さいため定量感度が低下する。

一方、サフラワー油（ベニバナ油、高リノール酸）の脂肪酸組成はリノール酸 75.7%、オレイン酸 13.5%である [2)]。そのため、サフラワー油を用いて溶出を行い、リノール酸メチルを定量用ピークとすれば、オリブ油のオレイン酸メチルと同程度の定量感度が期待できる。そこで、サフラワー油による定量限界及び検量線について検討した。

サフラワー油 0.05 mg のガスクロマトグラムを図３に示した。リノール酸メチルのピーク（保持時間 11.3 分）は S/N 比が約 10 であり、ピーク形状も良好であった。そこで、サフラワー油の定量限界はオリブ油と同じ 0.05 mg とした。

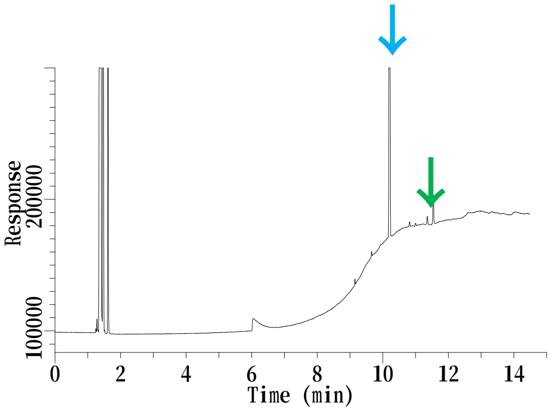


**図３ サフラワー油(0.05 mg)のガスクロマトグラム　保持時間：内標準** 10.2 min, **リノール酸メチル** 11.3 min

次に、サフラワー油 0.05～1500 mg の検量線を絶対検量線法で作成したところ、$R^2$ は 0.9948 と良好な直線が得られた。さらに、内標準法で検量線を作成したところ、$R^2$ は 0.9999 であり、極めて良好な直線性を示した（図４）。

以上のようにサフラワー油における定量限界は 0.05 mg、定量範囲は 0.05～1500 mg であり、植物油としてサフラワー油を用いてもオリブ油と感度や定量性に差がないことが示された。

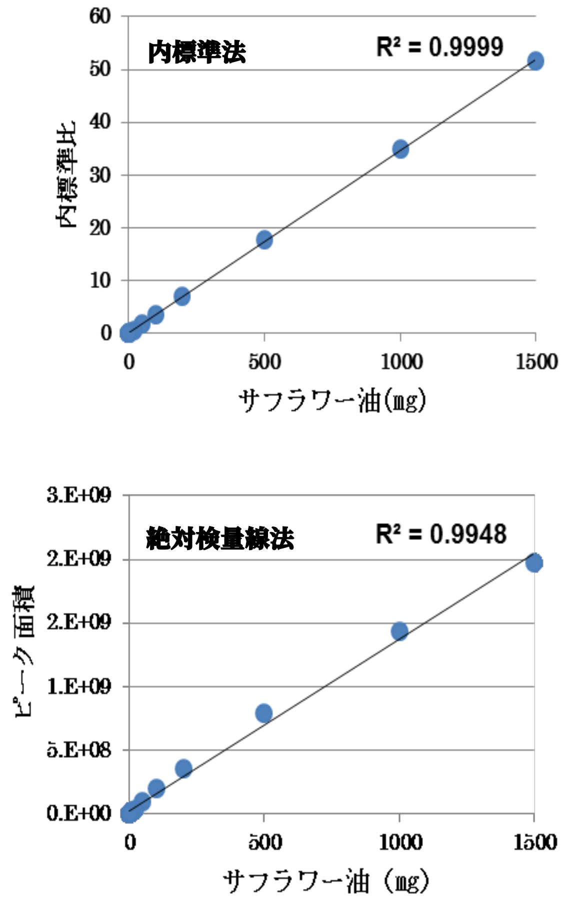



**図４　サフラワー油検量線（0.05～1500 mg）**

## ２．試料中の残存植物油の抽出法の検討

### １）シリコーンゴムにおける抽出条件の検討

EN 法ではソックスレー抽出器を用いて 7 時間抽出を行い、その後植物油が検出されなくなるまで 7 時間の抽出を繰り返すように定めている。そのため、最低でも 7 時間の抽出を 2 回、試料によってはそれを何度も繰り返す必要があり、試験時間が長くなる要因の一つである。

試料に残存する植物油は、加温した溶媒に浸漬するという簡便な方法によっても抽出可能である。抽出時に植物油と化学構造が類似した内標準を加えることにより、両者の分布が平衡に達すれば抽出液中の存在比から試料中に残存していた植物油量を算出できると考えられる。そうであれば試料中の植物油を全量抽出する必要はなく、抽出に要する時間を大幅に削減することができる。

そこで、試料に植物油が大量に残存しやすく、しかも抽出時に溶媒を吸収して膨潤し、植物油の抽出に時間を要するシリコーンゴムを用いて、浸漬法による植物油の抽出を試み、抽出溶媒、抽出温度、抽出時間、抽出回数などを検討した。

**① 抽出試験用試料**

試料中の残存植物油の抽出条件を比較検討するために、植物油をほぼ一定量含有する試料を調製する必要があった。予試験の結果、シリコーンゴムシートはガスクロマトグラム上にオリブ油の定量を妨げるピークが存在しなかったことから、植物油としてオリブ油を使用し、その定量用ピークとしてオレイン酸メチルを用いた。また、溶出条件は食品衛生法で規定されている一般的な条件である 60℃30 分間とした。シリコーンゴムシート 10 cm×10 cm（表面積 200 $cm^2$）を用い、以上の条件で４）②～④に従って操作し、抽出試験用試料を調製した。

**② 抽出溶媒**

植物油の抽出溶媒としてクロロホルム・メタノール混液が汎用されるが [3]、クロロホルムはその有害性から望ましくない。一方、EN 法ではソックスレー抽出の溶媒としてペンタン、極性の高い樹脂にはペンタン・エタノール(95:5)を使用している。しかし、ペンタンは沸点が 36.1℃と低いため、操作中に揮散するおそれがある。

そこで、植物油の溶解性がペンタンと同様に高く、しかも沸点は 68℃とペンタンより揮散しにくいヘキサン、これにエタノールを添加したヘキサン・エタノール(95:5)、著者らが合成樹脂やゴム中の添加剤の抽出に混液としてしばしば使用するシクロヘキサン [4-7] を検討対象の溶媒とした。抽出温度は揮散が少な

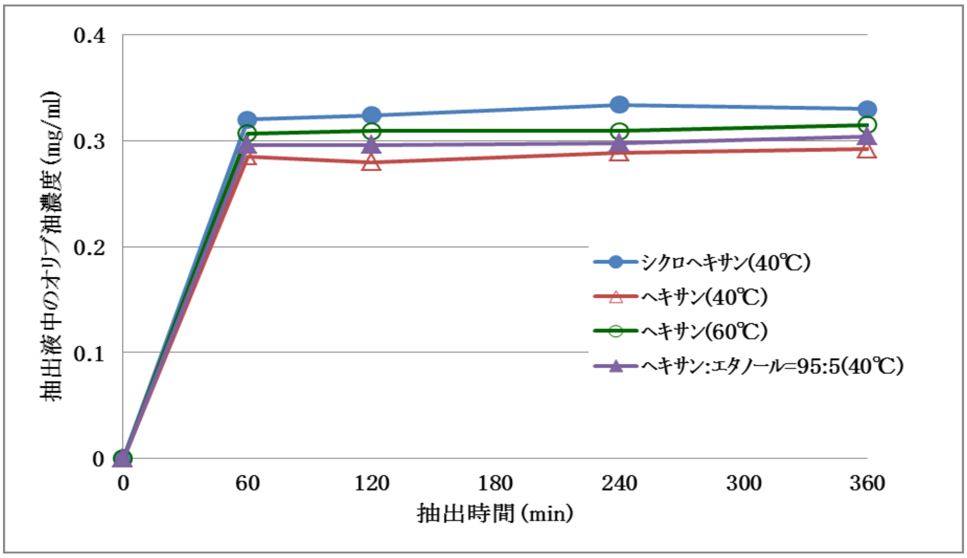



**図５　各抽出条件における抽出液中のオリブ油濃度の経時変化**

く操作も簡便な 40℃とし、ヘキサンでは 60℃も試みた。抽出操作開始後、0、60、120、240、360 分後に抽出液を採取してオリブ油濃度を測定した（図５）。抽出液中のオリブ油濃度は、いずれの抽出溶媒でも 60 分間ですでにほぼ平衡に達しており、その濃度も同程度であった。その中でもシクロヘキサンが最も濃度が高く、次いでヘキサン（60℃）、ヘキサン・エタノール(95:5)であり、ヘキサン（40℃）が最も低かった。

シクロヘキサンは抽出力が強いだけでなく、沸点が 80.7℃であるため 40℃で 6 時間加温してもほとんど揮散しなかった。そこで、抽出溶媒としてシクロヘキサンを選択した。

③ 抽出時間

次に、シクロヘキサンを用いた場合の抽出時間を検討するため、40℃で 0～360 分間の振とう抽出を行い、絶対検量線法により求めた抽出液中のオリブ油濃度から抽出されたオリブ油量を算出した。また、内標準法によりオリブ油と内標準の存在比から

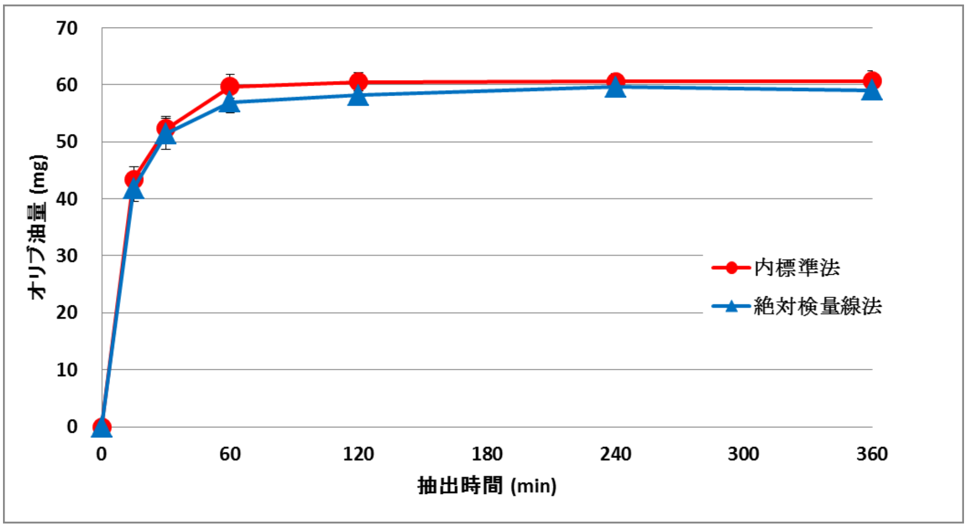



**図６　シクロヘキサン 40℃におけるオリブ油量の経時変化**

オリブ油量を算出した。それらの経時変化を図６に示した。

絶対検量線法により求めた抽出液中のオリブ油量は 60 分間でほぼプラトーに達し、その後わずかに増加しながら 240 分後には 59.6 mg に達した。一方、内標準法によるオリブ油量は、60 分後にプラトーに達し、その後はほぼ 60.5 mg で一定であった。

以上のように、抽出されたオリブ油量は 60 分間でほぼ平衡に達しており、しかも絶対検量線法と内標準法で求められたオリブ油量がほぼ一致していることから、試料中のオリブ油は 60 分間でほぼ全量抽出されたと推測された。

④ 抽出回数

シクロヘキサン 40℃120 分間の振とう抽出により完全に抽出されているか確認するため、40℃で 120 分間振とう抽出後、新たなシクロヘキサン 200 ml を加えて 60 分間の振とう抽出を 3 回繰り返し、各抽出液中のオリブ油量を絶対検量線法で測定した（表１）。

抽出されたオリブ油量は、1 回目で 53.16 mg （合計量の 96.6%）であった。さらに、2 回目で 1.70 mg（3.1%）、3 回目で 0.15 mg（0.2%）抽出され、4 回目で定量限界未満となった。EN 法では抽出液中の植物油量が定量限界以下になるまで抽出を繰り返すように規定している。それに準ずるならば 3 回以上抽出を行う必要がある。

次に、１回目の抽出液、1 回目と 2 回目を合わせた抽出液、1～3 回目を合わせた抽出液をそれぞれ GC-FID で測定し、絶対検量線法と内標準法でオリブ油量を定量した（表２）。

絶対検量線法では抽出回数が増えると抽出量は増加し、1～3 回を合わせた抽出液では 57.15 mg に達した。一方、内標準法では 1 回目のみでも抽出回数を増やしてもオリブ油量は 57.76 ～57.95 mg で変化がなかった。

すなわち、内標準を用いれば、1 回の抽出で全オリブ油量が算出でき、それ以上抽出を行う必要がないことが示された。さらに、内標準法では抽出時から内標準を添加するため、抽出効率の差も補正される。そのため、定量値の標準偏差も小さくなっており、より精度の高い定量が可能と考えられる。

以上のことから、シリコーンゴム試料に残存するオリブ油は、シクロヘキサンを用いて 40℃120 分間の振とう抽出を 1 回のみ行い、定量は内標準法で行うこととした。

表1　シリコーンゴムを 4 回抽出時の各抽出液中のオリブ油量

| | 抽出 1 回目 | 抽出 2 回目 | 抽出 3 回目 | 抽出 4 回目 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|
| オリブ油量(mg) | 53.16±1.03 | 1.70±0.05 | 0.15±0.01 | ND | 55.01±1.05 |
| オリブ油量(%) | 96.6 | 3.1 | 0.3 | 0 | 100 |

各 3 試行で試験を行い、平均値±標準偏差で記載した。ND < 0.05 mg

表2　シリコーンゴム抽出液を合わせた時のオリブ油量

| 定量法 | オリブ油量 (mg) | | |
|---|---|---|---|
| | 抽出 1 回目 | 抽出 1＋2 回 | 抽出 1～3 回 |
| 絶対検量線法 | 53.16±1.03 | 56.17±0.54 | 57.15±0.56 |
| 内標準法 | 57.95±0.33 | 57.76±0.27 | 57.91±0.08 |

各 3 試行で試験を行い、平均値±標準偏差で記載した。

**2）ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンにおける抽出条件の検討**

**① 抽出試験用試料の調製**

ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンの抽出条件を検討するため、まず、これらの抽出試験用試料を作成した。

予試験の結果、これらの試料はガスクロマトグラム上にオリブ油の定量を妨げるピークは存在しなかったことから、植物油としてオリブ油を使用した。

オリブ油への溶出条件については、これらの材質の植物油残存量がそれほど多くないと予想されたことから、残存オリブ油量が多くなるように溶出温度はやや高めの 80℃とし、溶出時間も長めの 60 分間とした。

**② 抽出条件の検討**

シリコーンゴムで確立した抽出条件及び定量法が、ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンにも適用可能か検討した。抽出試験用試料に内標準溶液 10 ml とシクロヘキサン 190 ml を加え、40℃の恒温振とう水槽で 120 分間振とう抽出した後、新たなシクロヘキサン 200 ml を用いて 40℃60 分間の抽出操作を 2 回繰り返し、オリブ油抽出量を測定した。

その結果、表３に示すようにポリエチレン及びポリプロピレンでは、1 回目に 16.58 及び 10.50 mg のオリブ油が抽出されたが、2 回目以降は定量限界未満となり、1 回でほぼ全量抽出されていた。一方、ナイロンでは 1～3 回の抽出ではいずれも定量限界未満であり、試料中にオリブ油がほとんど残存していないことが確認された。

次に、1 回目の抽出液、1 回目と 2 回目を合わせた抽出液について絶対検量線法と内標準法でオリブ油量を定量した（表３）。絶対検量線法では、ポリエチレンとポリプロピレンの 1 回目と 2 回目を合わせた抽出液はいずれも 1 回目の抽出液より若干増加しており、2 回目の抽出液は定量限界未満ではあったものの、さらに抽出されることが示された。そこで、絶対検量線法で測定するならば、抽出回数は 2 回以上が望ましいと考えられた。

一方、内標準法ではいずれの抽出液ともオリブ油量はほぼ一定であった。シリコーンゴムと同様に、抽出液中のオリブ油と内標準の存在比は 120 分間で平衡に達しており、これらの試料についても 1 回の抽出操作でオリブ油の全量が求められたと考えられる。

ナイロンについては、いずれの抽出液も定量限界未満であり抽出条件を確認することはできなかったが、オリブ油が残存していればポリエチレンやポリプロピレンと同様に抽出可能と推察された。

**表3 ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンにおける抽出回数とオリブ油量**

| 材質 | 定量法 | オリブ油量 (mg) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 抽出 1 回目 | 抽出 2 回目 | 抽出 3 回目 | 抽出 1＋2 回目 |
| ポリエチレン | 絶対検量線法 | 16.58±0.41 | ND | ND | 16.87±0.34 |
| | 内標準法 | 16.32±0.48 | ー | ー | 16.30±0.48 |
| ポリプロピレン | 絶対検量線法 | 10.50±0.26 | ND | ND | 10.66±0.27 |
| | 内標準法 | 11.06±0.34 | ー | ー | 11.02±0.32 |
| ナイロン | 絶対検量線法 | ND | ND | ND | ND |
| | 内標準法 | ND | ー | ー | ND |

各 3 試行で試験を行い、平均値±標準偏差で記載した。ND < 0.05 mg

### 3）天然ゴムにおける抽出条件の検討

#### ① 抽出試験用試料の調製

天然ゴムの抽出条件を検討するため、抽出試験用試料を作成した。これまでの経験から、EN 法による天然ゴムの試験において試料中の残存オリブ油量が 500 mg を超過することがしばしばあった。EN 法では、残存オリブ油量が 500 mg を超えると定量できないため、試料サイズを小さくして試験をやりなおすように定めている。今回の改良法では 1500 mg まで定量可能であるが、両試験法の比較を行う際には同一サイズの試料を使用することが

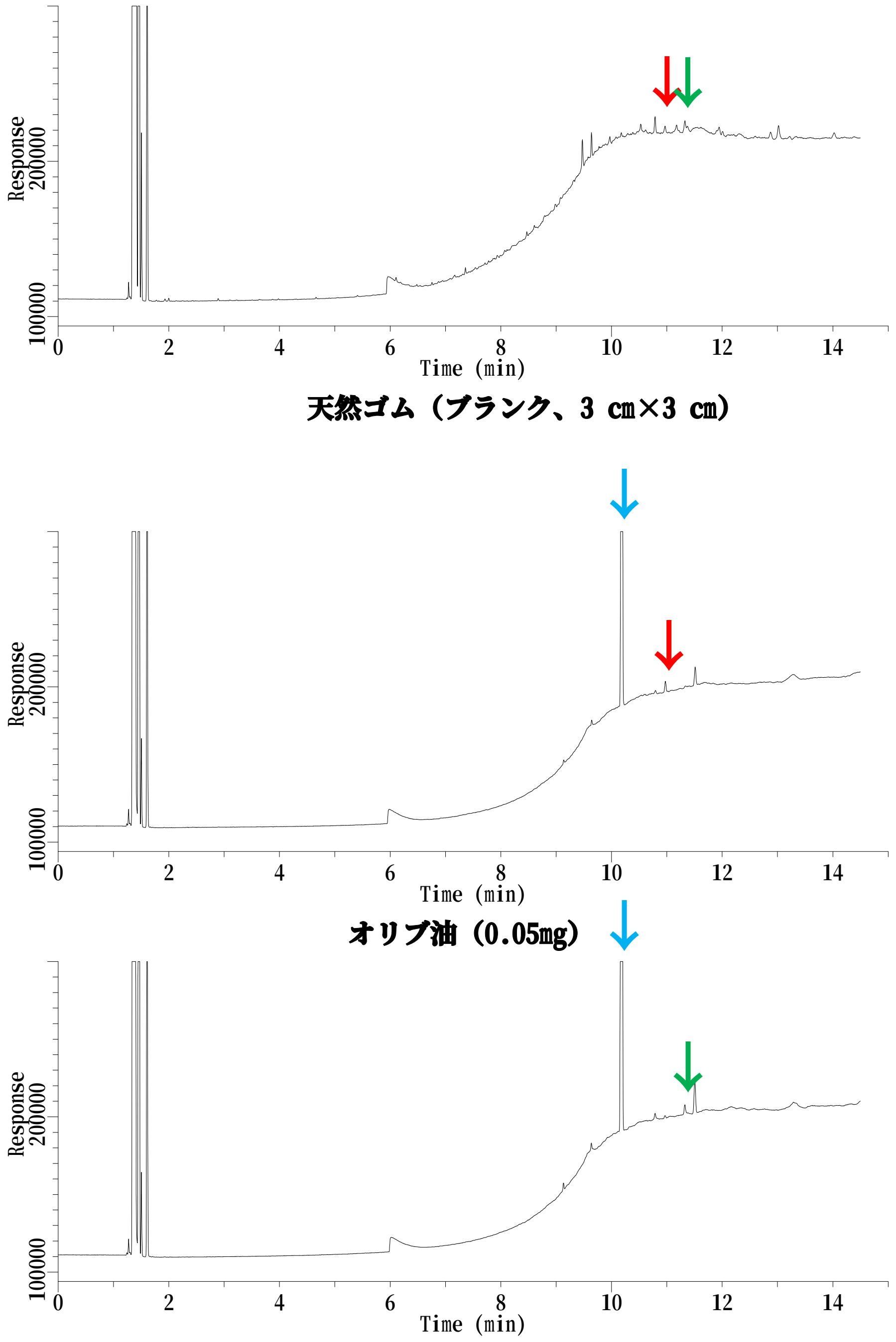



**図7　天然ゴム試料ブランク、オリブ油及びサフラワー油（各 0.05 mg）のガスクロマトグラム**

**保持時間：内標準** 10.2 min、**オレイン酸メチル** 11.0 min、**リノール酸メチル** 11.3 min

望ましい。そこで、天然ゴムでは他の材質の約 1/10 である 3 cm×3 cm（表面積 18 $cm^2$）の試料を用いて抽出用試料を調製することとした。

予試験として、この試料をシクロヘキサン 40℃120 分間で抽出したところ、図７に示すようにそれほど大きくはないが多数のピークが検出された。オリブ油の定量用ピークであるオレイン酸メチル（保持時間 11.0 分）の位置にも妨害ピークが検出され、この面積はオリブ油約 0.03 mg に相当した。一方、サフラワー油の定量用ピークであるリノール酸メチル（11.3 分）の位置にもサフラワー油約 0.05 mg に相当する妨害ピークが見られた。いずれの妨害ピークもそれほど大きくなかったが、オレイン酸メチルの位置の方が小さく、定量限界の 0.05 mg 未満であることから、植物油としてオリブ油を使用することとした。

オリブ油を用いて食品衛生法の溶出条件である 60℃30 分間で抽出用試料を調製したところ、残存オリブ油量は約 50 mg であり EN 法の規定内であった。また、妨害ピーク約 0.03 mg は残存オリブ油量の 0.06％に過ぎず、定量には影響がないことが確認された。

以上のことから、天然ゴムの抽出試験用試料はサイズを 3 cm×3 cm とし、オリブ油を用いて 60℃30 分間の浸漬により調製した。

② 抽出条件の適用性の検討

シリコーンゴムで確立した抽出条件が天然ゴムにも適用できるか検討を行った。天然ゴムの抽出試験用試料に内標準溶液 10 ml とシクロヘキサン 190 ml を加え、40℃の恒温振とう水槽で 120 分間振とう抽出した後、新たなシクロヘキサン 200 ml を用いて 40℃60 分間の振とう抽出を 3 回繰り返し、オリブ油量を測定した（表４）。

その結果、絶対検量線法では抽出 1 回目で 48.06 mg、2 回目で 0.55 mg 抽出されたが、3 及び 4 回目では定量限界未満となった。また、1 回目と 2 回目を合わせた抽出液では 49.15 mg、1～3 回目を合わせた抽出液では 50.60 mg であった。このことから、絶対量としてオリブ油量を求めるならば、2 回以上の抽出が望ましいと考えられた。

一方、オリブ油量を内標準法で定量したところ、抽出 1 回目、1 及び 2 回目を合わせた抽出液、1～3 回目を合わせた抽出液はいずれも 49.65～49.82 mg とよく一致していた。この値は絶対検量線法の抽出液 1～3 回のオリブ油量 50.60 mg よりやや低いものの近似していた。すなわち、天然ゴムにおいても抽出 1 回目で試料に残存していたオリブ油と内標準は平衡に達しており、内標準法を用いることにより、抽出は 1 回で十分であることが確認された。

以上のことから、天然ゴムにおける残存植物油の抽出は、これまでの材質と同様に、シクロヘキサンを用いて 40℃120 分間の振とう抽出 1 回のみとし、内標準法で定量することとした。

表４　天然ゴムにおける抽出回数と得られたオリブ油量

| 定量法 | オリブ油量 (mg) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 抽出 1 回目 | 抽出 2 回目 | 抽出 3 回目 | 抽出4回目 | 抽出 1＋2 回 | 抽出 1～3 回 |
| 絶対検量線法 | 48.06±0.64 | 0.55±0.24 | ND | ND | 49.15±0.44 | 50.60±0.18 |
| 内標準法 | 49.65±0.37 | － | － | － | 49.82±0.24 | 49.81±0.23 |

各 3 試行で試験を行い平均値±標準偏差で記載した。ND < 0.05 mg

**5）ポリ塩化ビニルにおける抽出条件の検討**

**①　抽出試験用試料の調製**

**ポリ塩化ビニルの抽出条件を検討するため、抽出試験用試料を調製した。**

**植物油溶出を行っていないポリ塩化ビニル試料について予試験を行ったところ、図８に示すようにオリブ油の定量用ピークであるオレイン酸メチルの保持時間に妨害ピークが検出され、ピーク面積はオリブ油約** 0.8 mg **に相当した。一方、サフラワー油の定量用ピークであるリノール酸メチルの保持時間にも妨害ピークが見られたが、そのピークは小さく、サフラワー油約** 0.07 mg **相当であった。そのため、サフラワー油を用いて抽出用試料を調製することとした。**

**サフラワー油を用いてポリエチレン等と同様に** 80℃60 **分間の溶出を行ったところ、サフラワー油含有量は** 0.5 mg **で試料の収縮が見られた。試料が変形する条件での溶出は好ましくないことから、**60℃30 **分間,** 40℃30 **分間,** 40℃1 **時間の溶出条件で溶出を試みたところ、サフラワー油含有量はそれぞれ** 4mg、10mg、11mg **であり、**80℃60 **分間より残存量は多かった。また、**60℃30 **分間では若干収縮が認められたが、**40℃**では収縮は認められず、溶出時間による差もわずかであった。以上より、溶出条件は** 40℃30 **分間とした。**

**この条件における試料中のサフラワー油残存量は** 10 mg **であるが、試料由来の妨害ピークは** 0.07 mg **相当で** 0.7**%に過ぎず、特に減算処理を行わなくても定量可能と判断された。**

**以上のことから、ポリ塩化ビニルの抽出試験用試料は、サフラワー油を用いて** 40℃30 **分間の浸漬により調製した。**

**②　抽出条件の適用性の検討**

**シリコーンゴムで確立した抽出条件及び定量法がポリ塩化ビニルでも適用できるか検討した。ポリ塩化ビニルの抽出試験用試料に内標準溶液** 10 ml **とシクロヘキサン** 190 ml **を加え、**40℃**の恒温振とう水槽で** 120 **分間抽出した後、新たなシクロヘキサン** 200 ml **を用いて** 40℃60 **分間の振とう抽出の操作を** 2 **回繰り返し、サフラワー油量を測定した（表５）。**

**その結果、絶対検量線法による抽出サフラワー油量は、抽出** 1 **回目で** 10.98 mg **であったが** 2 **回目、**3 **回目では定量限界未満であった。**1 **回でほぼ全量抽出されているものの、抽出** 1 **回目と** 2 **回目を合わせた抽出液は** 1 **回目の抽出液より若干増加しており、絶対検量線法で測定するならば、抽出回数は** 2 **回以上が望ましいと考えられた。**

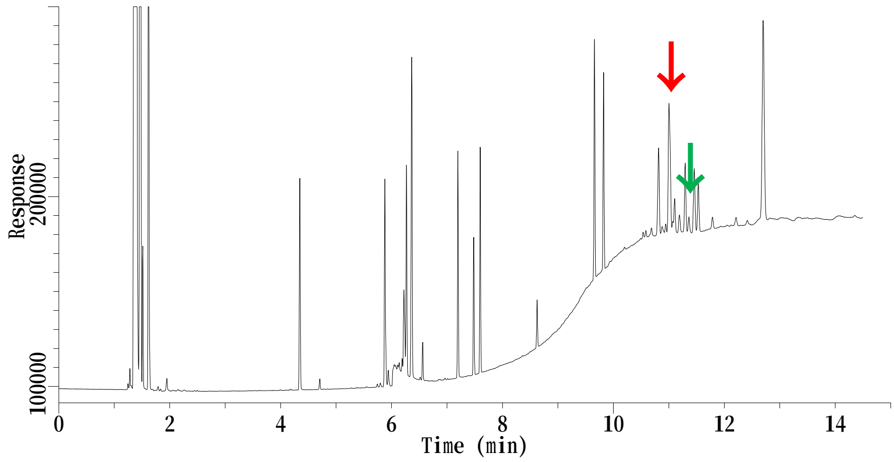
**一方、内標準法では１回目の抽出液も１回目と２回目を合わせた抽出液もサフラワー油量は** 11.26 **及び** 11.29 mg **とよく一致していた。すなわち、ポリ塩化ビニルにおいても抽出** 1 **回目で試料に残存していたサフラワー油と内標準は平衡に達しており、内標準法であれば、抽出は** 1 **回で十分であることが示された。**

**以上のことから、ポリ塩化ビニルにおける残存植物油の抽出も、シクロヘキサンを用いて** 40℃120 **分間の振とう抽出** 1 **回とし、内標準法で定量することとした。**

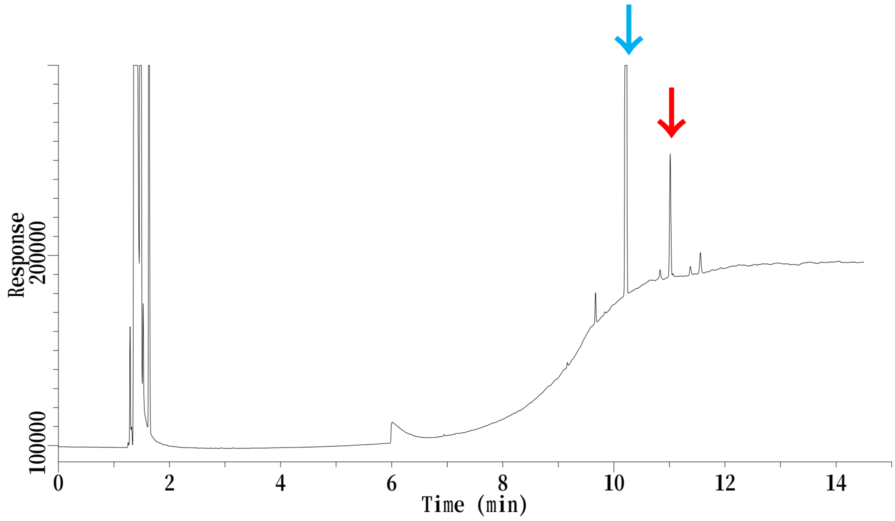
**表５　ポリ塩化ビニルにおける抽出回数と得られたサフラワー油量**

| **定量法** | **サフラワー油量** (mg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **抽出** 1 **回目** | **抽出** 2 **回目** | **抽出** 3 **回目** | **抽出** 1＋2 **回** |
| **絶対検量線法** | 10.98±0.07 | ND | ND | 11.11±0.22 |
| **内標準法** | 11.26±0.12 | － | － | 11.29±0.15 |

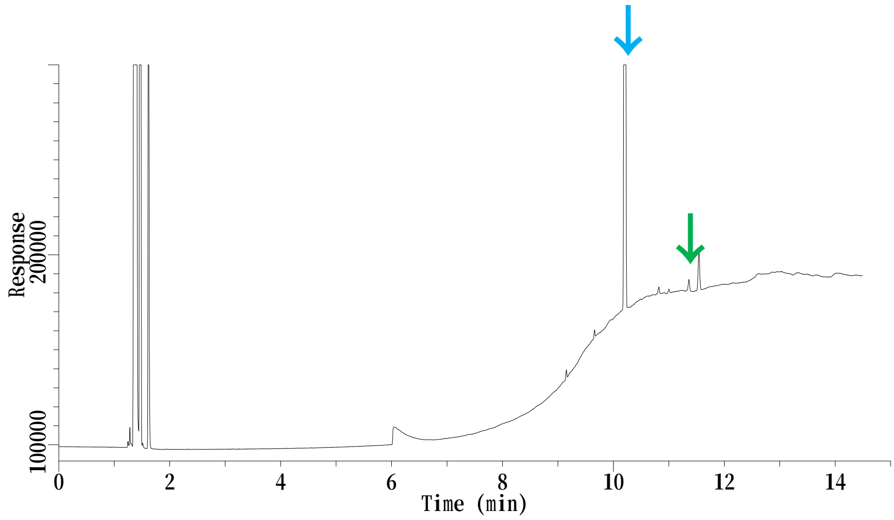
**各** 3 **試行で試験を行い平均値±標準偏差で記載した。**ND < 0.05 mg




**ポリ塩化ビニル（ブランク）**




**オリブ油（0.5mg）**




**サフラワー油（0.05mg）**

**図8　ポリ塩化ビニルブランク、オリブ油(0.5 mg)及びサフラワー油(0.05 mg)のガスクロマトグラム**

**保持時間：内標準** 10.2 min、**オレイン酸メチル** 11.0 min、**リノール酸メチル** 11.3 min

**３．改良法とEN法の同等性に関する検証**

昨年度及び今年度実施した本研究の成果をもとに、Ｂ．４．１）に示す改良法を確立した。本法はEN法と比較して、有害試薬を用いず、しかもはるかに簡便な試験法である。そこで、改良法とEN法の同等性を検証するため、両法を用いてポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリ塩化ビニル、シリコーンゴム及び天然ゴム製試料の植物油総溶出物量を求め、試験結果を比較した（表６）。

植物油への溶出は、抽出試験用試料の調製と同様に以下の条件で行った。植物油として5試料はオリブ油を使用したが、ポリ塩化ビニルは妨害ピークの影響を避けるためサフラワー油を使用した。植物油への溶出条件は、ポリエチレン、ポリプロピレン及びナイロンは80℃60分間、シリコーンゴム及び天然ゴムは60℃30分間、ポリ塩化ビニルは40℃30分間とした。また、試料サイズは10 cm×10 cm（表面積200cm$^2$）としたが、天然ゴムは植物油残存量が高いとEN法では測定できないことから3 cm×3 cm（表面積18 cm$^2$）とした。また、各試験は3試行で行った。

試験結果はそれぞれ検体毎に計算を行い、溶出前後の質量差（$W_b$－$W_a$ mg）、残存植物油量（$W_c$ mg）、試料あたりの溶出物量（$W_a$－$W_b$＋$W_c$ mg）及び植物油総溶出物量（μg/cm$^2$）について、それぞれの平均値及び標準偏差で記載した。なお、ポリプロピレン及びナイロンの植物油総溶出物量は定量限界（5μg/cm$^2$）未満であったが、両試験法の比較を行うために得られた数値を記載した。

大部分の試料では残存した植物油のため溶出前よりも溶出後の方が大きな質量となったが、ポリ塩化ビニルでは溶出前の質量の方が大きく質量差（$W_b$－$W_a$ mg）はマイナスで表した。

いずれの材質においても、改良法とEN法で得られた試料あたりの溶出物量（$W_a$－$W_b$＋$W_c$ mg）及び植物油総溶出物量は極めてよく一致していた。また、いずれの標準偏差もほぼ同じレベルで十分に小さかった。

ポリプロピレン及びナイロンの植物油総溶出物量は定量限界（5 μg/cm$^2$）未満であったため、平均値に対して標準偏差が大きくなったが、それでも両試験法による測定結果は十分に近似した数値と考えられる。

以上のように、改良法とEN法により得られた植物油総溶出物量は極めて良く一致しており、しかも標準偏差も十分に低くほぼ同等であった。このことから改良法はEN法と同等の試験結果を得ることができ、その試験精度もほぼ同等であることが検証された。

**Ｄ．結論**

合成樹脂及びゴム製器具・容器包装のうち、油脂及び脂肪性食品と接触して使用される製品の総量試験である植物油総溶出物量試験法について改良を行った。

この試験法のもととなったオリブ油総溶出物量試験法は、欧州連合の合成樹脂製器具及び容器包装の規格として採用されており、試験法は欧州標準規格EN 1186-2に収載されている。しかし、試験法は極めて煩雑で長時間を要し有害試薬を使用するなど問題が多い。

そこで、昨年度は試料の恒量化と植物油のメチルエステル化について改良を行った。今年度はガスクロマトグラフィーによる植物油のメチルエステル体測定時の定量限界及び検量線について改めて検討を行うとともに、試料中の残存植物油の抽出法について検討を行った。その結果、内標準を加えたシクロヘキサンに浸漬し、40℃で120分間の振とう抽出1回のみという簡便な抽出法で、試料に残存する植物油量を正しく求められることが判明した。これらの検討結果をもとに、操作が簡

**表６　改良法と EN 法による植物油総溶出物量の比較**

| 材質 | 試料表面積 (cm$^2$) | 植物油 | 溶出条件 | 試験法 | $W_b-W_a$ (mg) | $W_c$ (mg) | $W_a-W_b+W_c$ (mg) | 植物油総溶出物量 (µg/cm$^2$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ポリエチレン | 200 | オリブ油 | 80℃60 分 | 改良法 | 6.3±0.3 | 16.3±0.5 | 10.1±0.2 | 50.3±0.9 |
| | | | | EN 法 | 5.9±0.4 | 16.5±0.3 | 10.5±0.1 | 52.7±0.7 |
| ポリプロピレン | 200 | オリブ油 | 80℃60 分 | 改良法 | 11.0±0.1 | 11.1±0.3 | 0.1±0.3 | 0.3±1.3 |
| | | | | EN 法 | 11.0±0.2 | 11.2±0.1 | 0.2±0.1 | 1.1±0.5 |
| ナイロン | 200 | オリブ油 | 80℃60 分 | 改良法 | 0.3±0.2 | ND | 0.3±0.2 | 1.5±1.1 |
| | | | | EN 法 | 0.3±0.2 | 0.1±0.1 | 0.4±0.3 | 2.0±1.4 |
| ポリ塩化ビニル | 200 | サフラワー油 | 40℃30 分 | 改良法 | −8.3±0.5 | 11.3±0.1 | 19.5±0.4 | 97.6±2.0 |
| | | | | EN 法 | −8.2±0.5 | 10.6±0.1 | 18.8±0.4 | 94.2±1.9 |
| シリコーンゴム | 200 | オリブ油 | 60℃30 分 | 改良法 | 29.5±0.7 | 57.9±0.3 | 28.5±0.4 | 142.4±1.8 |
| | | | | EN 法 | 31.2±0.4 | 59.6±0.7 | 28.4±0.9 | 142.1±4.5 |
| 天然ゴム | 18 | オリブ油 | 60℃30 分 | 改良法 | 27.6±0.6 | 49.6±0.4 | 22.0±0.8 | 1,223 ±44 |
| | | | | EN 法 | 27.7±0.6 | 49.9±0.7 | 22.2±0.5 | 1,235 ±28 |

各 3 試行で試験及び計算を行い、項目毎に平均値±標準偏差で記載した。

ND < 0.05 mg、それ以降の計算では ND は 0 mg とした。

便でしかも有害試薬を使用しない植物油総溶出物量試験法の改良法を確立した。

本試験法と EN 法の同等性を検証するため、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリ塩化ビニル、シリコーンゴム及び天然ゴムの 6 種類の試料を用いて、両試験法により植物油総溶出物量試験を行い、試験結果を比較検討した。その結果、両試験法により得られた植物油総溶出物量及びその標準偏差は極めて良く一致しており、両者は同等の試験法であると結論された。

今回確立した改良法は、EN 法と同等の試験精度を持ちながら、その操作は大幅に簡便化され、しかも有害試薬を用いない優れた試験法である。そのため、今後、多くの試験機関で実施されることを期待する。そこで、来年度はいくつかの試験機関の協力を得て、改良法の共同試験を実施し、その操作性と妥当性を評価する予定である。

## E．参考文献


1) EN 1186-2:2002 Materials and articles in contact with foodstuffs-Plastics Part 2: Test methods for overall migration into olive oil by total immersion (2002).
2) 文部科学省：五訂増補日本食品標準成分表脂肪酸成分表編第 2 章第 1 表(2005). (http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu3/toushin/05031801/003.htm)
3) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2010, p.216-7, 金原出版 (2010).
4) 河村ら：HPLC によるポリエチレン中の酸化防止剤及び紫外線吸収剤の一斉分析法，食衛誌，37，272-280 (1996).
5) 河村ら：ポリ塩化ビニル製品中の添加剤の一斉分析法, 食衛誌, 40, 189-197 (1999).
6) 河村ら：食品用ポリプロピレン製品中の添加剤の分析, 食衛誌, 41, 54-161 (2000).
7) 河村ら：食品用シリコーンゴム製品中の残存化学物質, 食衛誌, 42, 316-321 (2001).

# <その２>ガスクロマトグラフィーを用いる試験法における キャリヤーガスの変更による影響

研究協力者　羽石　奈穂子　東京都健康安全研究センター

**A. 研究目的**

ヘリウム（He）は天然ガスの副産物として生成さるガスで GC のキャリヤーガスとして汎用されている。2012 年以前は大部分を米国から輸入していたが、2012 年に米国の製造プラントのメンテナンス等の影響により、He の供給不足が問題視されるようになった。2013 年になって輸入先の変更などにより He の供給不足は一時解消されたものの、価格は上昇した。また、今後同様の供給不足が起こることも危惧されている。

食品衛生法では、ポリスチレンの揮発性物質、ポリ塩化ビニルの塩化ビニルおよびポリ塩化ビニリデンの塩化ビニリデン材質試験、ポリメタクリル酸メチルのメタクリル酸メチル、ナイロンのカプロラクタムおよび金属缶からのエピクロルヒドリンの溶出試験では、水素炎イオン化検出器を用いたガスクロマトグラフィー（GC-FID）が規定されている。

いずれの試験においても GC-FID のキャリヤーガスは、窒素（$N_2$）または He と規定されているが、$N_2$ は He と比べて安価であるが、最適線速度が小さいうえ、最適流速域が狭く、最適な条件となるような流量の調整が He よりもやや難しい。そのため大部分の機関ではキャリヤーガスに He を使用している。

一方、食品衛生法のポリカーボネート中のアミン類材質試験については窒素・リン検出器（NPD）または熱イオン化検出器（FTD）を用いた GC が規定されており、キャリヤーガスは He のみが規定されている。しかし、これらの検出器の構造および原理は FID と類似したものであるため、キャリヤーガスとして $N_2$ を適用することが可能である。

近年の He の供給不安定化と価格の上昇により、GC メーカーでは He の代替として、安価で安定した供給が可能な $N_2$ または水素（$H_2$）の使用を推奨している。しかし、$H_2$ は引火等により爆発しやすいことから、安全性を確保するための配慮や設備が必要である。そのため、GC による試験において He から $N_2$ へのキャリヤーガスの切替を検討している試験機関も少なくない。$N_2$ を使用した GC はかつて広く使用されていたが、近年は実績が乏しく、その性能について He と $N_2$ を比較した評価はほとんど行われていない。

そこで、GC-FID および GC-NPD を使用する試験法について、同一装置、同一条件を用いキャリヤーガスのみを He と $N_2$ に換えて測定を行い、試験対象物質の保持時間、感度等のクロマトグラムの変化、検量線の範囲および直線性を比較するとともに、それぞれの試験法としての真度および精度を求め、性能を評価した。

**B. 実験方法**

**１．装置**

GC-FID、GC-NPD：HP7890、ヘッドスペースサンプラー：HSS 7697A　以上 Agilent Technologies 社製

**２．各試験法における試験溶液の調製　および測定条件**

**１）揮発性物質試験**

**①試料**

市販のポリスチレン製コップ

②試薬・試液等

揮発性物質混合標準液（5 種）：スチレン、トルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼンおよびプロピルベンゼン各 1000 mg/L テトラヒドロフラン溶液、1,4-ジエチルベンゼン標準液：1000 mg/L テトラヒドロフラン溶液、以上、関東化学（株）製

テトラヒドロフラン：特級、和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

テトラヒドロフラン約 1 mL に揮発性物質混合標準液 50、100、150、200、250 µL を加えたのち、各々に 1,4-ジエチルベンゼン標準液 100 µL を加え、テトラヒドロフランで 2 mL とした（揮発性物質各 25、50、75、100、125 µg/mL、1,4-ジエチルベンゼン 50 µg/mL）。

今回は、標準溶液及び試験溶液の調製に市販の揮発性物質混合標準液（5 種）（各 1000 mg/L）および 1,4-ジエチルベンゼン標準液（1000 mg/L）を使用したため、これらの調製法や 1,4-ジエチルベンゼン（内標準）の濃度が食品衛生法とは異なる。しかし、今年度の「規格試験法の性能評価に関する研究　＜その１＞ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験の性能評価」において、これらの違いは本試験法の性能に対してほとんど影響がないことが判明している。

④ブランク溶液および添加溶液

試料を細切し、その 0.5 g を量り、20 mL のメスフラスコに採り、テトラヒドロフランを適当量加えた。試料が溶けた後、1,4-ジエチルベンゼン標準液 1 mL を加え、次にテトラヒドロフランを加え 20 mL とした。これをブランク溶液として GC-FID で測定した。また、試料 0.5 g を適当量のテトラヒドロフランで溶解し、揮発性物質混合標準液および 1,4-ジエチルベンゼン標準液をそれぞれ 1 mL 加え、テトラヒドロフランで 20 mL としたものを添加溶液（各 50 µg/mL）とした。

⑤測定条件

カラム：DB-WAX (0.25 mm×30 m、膜厚 0.5 µm)、カラム温度：60℃ (0 min) - 4℃/min - 100℃(0 min) -10℃/min-150℃、注入量：1 µL（スプリット比 1:30)、注入口温度：220℃、検出器温度：220℃、キャリヤーガス：He または $N_2$、1.6 mL/min、検出器：FID

２）塩化ビニル試験

①試料

市販のポリ塩化ビニル製ラップフィルム

②試薬・試液等

塩化ビニル標準液：10 mg/L エタノール溶液、関東化学（株）製

*N,N*-ジメチルアセトアミド：特級、和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

*N,N*-ジメチルアセトアミド 2.5 mL に塩化ビニル標準液 10、25、50、100、250 µL を加えた（材質濃度 0.2、0.5、1、2、5 µg/g 相当）。

④ブランク溶液および添加溶液

試料を細切し、その 0.5 g を量り、20 mL のセプタムキャップ付きのガラス瓶に入れた。次いで、*N,N*-ジメチルアセトアミド 2.5 mL を加えただちに密封した。これをブランク溶液とし、ヘッドスペースサンプラーを用いて GC-FID で測定した。さらに、ブランク溶液 2.5 mL に塩化ビニル標準溶液 50 µL を添加したものを添加溶液（試料あたり 1 µg/g）とした。

⑤測定条件

<u>GC 条件</u>　カラム：CP-PorabondQ (0.25 mm×25 m、膜厚 3 µm)、カラム温度：80℃ (1min) - 10℃/min - 250℃（10 min)、注入量：0.5 mL（スプリット比 1:10)、注入口温度：200℃、検出器温度：250℃、キャリヤーガス：He または $N_2$、2.0 mL/min、検出器：FID

<u>ヘッドスペース条件</u>　オーブン温度：90℃、

ループ温度：100℃、トランスファーライン：110℃、バイアル平衡化時間：60 分、注入時間：0.5 分

3）塩化ビニリデン試験

①試料

市販のポリ塩化ビニリデン製ラップフィルム

②試薬・試液等

塩化ビニリデン：1,1-ジクロルエチレン（シリンダー入り）、東京化成工業（株）製

*N,N*-ジメチルアセトアミド：特級、和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

塩化ビニリデン 25 µL に *N,N*-ジメチルアセトアミドを加え 10 mL とし、これを 0.1 mL とり 5 mL としたものを標準原液（60 µg/mL）とした。*N,N*-ジメチルアセトアミド 2.5 mL に塩化ビニリデン標準原液 5、10、25、50、100、200 µL を加えた（材質濃度 0.6、1.2、3、6、12、24 µg/g 相当）。

④ブランク溶液および添加溶液

試料を細切し、その 0.5 g を量り、20 mLのセプタムキャップ付きのガラス瓶に入れた。次いで、*N,N*-ジメチルアセトアミド 2.5 mL を加えた。これをブランク溶液とし、ヘッドスペースサンプラーを用いて GC-FID で測定した。さらに、ブランク溶液 2.5 mL に塩化ビニリデン標準溶液 50 µL を添加したものを添加溶液（試料あたり 6 µg/g）とした。

⑤測定条件

塩化ビニルと同様の条件を用いた。

4）メタクリル酸メチル試験

①試料

市販のポリメタクリル酸メチル製調味料入れ

②試液・試薬等

メタクリル酸メチル、エタノール：以上、特級、和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

メタクリル酸メチル 100 mg に 20%エタノールを加えて溶かし 100 mL としたものを標準原液（1000 µg/mL）とした。これを 20%エタノールで希釈して 2、5、10、15、20 µg/mL とした。

④ブランク溶液および添加溶液

試料の表面積 1 $cm^2$ につき 2 mL の割合の 20%エタノールを 60℃に加温して試料に加え、60℃に保ちながら 30 分間放置した。この溶出液をブランク溶液として GC-FID で測定した。さらに、ブランク溶液 10 mL にメタクリル酸メチル標準原液 150 µL を添加したものを添加溶液（15 µg/mL）とした。

⑤測定条件

カラム：DB-1 (0.32 mm×30 m、膜厚 5 µm)、カラム温度：120℃ (1 min) - 5℃/min - 170℃、注入量：1 µL（スプリット比 1:10）、注入口温度：200℃、検出器温度：200℃、キャリヤーガス：He または $N_2$、1.55 mL/min、検出器：FID

5）カプロラクタム試験

①試料

市販のナイロン製杓子

②試薬・試液等

カプロラクタム、エタノール：以上、特級、和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

カプロラクタム 100 mg に 20%エタノールを加えて溶かし 100 mL としたものを標準原液（1000 µg/mL）とした。これを 20%エタノールで希釈して 5、10、15、20、25、30 µg/mL とした。

④ブランク溶液および添加溶液

試料の表面積 1 $cm^2$ につき 2 mL の割合の 20%エタノールを 60℃に加温して試料に加え、60℃に保ちながら 30 分間放置した。この溶出液をブランク溶液として GC-FID で測

定した。さらに、ブランク溶液 10 mL にカプロラクタム標準原液 150 μL を添加したものを添加溶液（15 μg/mL）とした。

⑤測定条件

カラム：DB-1 (0.32 mm×30 m、膜厚 5 μm)、カラム温度：240℃、注入量：1 μL（スプリット比 1:10)、注入口温度：240℃、検出器温度：240℃、キャリヤーガス：He または $N_2$、1.4 mL/min、検出器：FID

6）エピクロルヒドリン試験

①試料

未使用のエポキシ樹脂塗装金属缶

②試薬・試液等

エピクロルヒドリン、ペンタン：以上、特級、和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

エピクロルヒドリン 100 mg にペンタンを加え 100 mL としたものを標準原液（1000 μg/mL）とした。これをペンタンで希釈し、0.25、0.5、1、2.5、5 μg/mL とした。

④ブランク溶液および添加溶液

試料にペンタンを満たし、25℃で一時間放置した。この溶出液を試験ブランクとして GC-FID で測定した。さらに、ブランク溶液 10 mL にエピクロルヒドリン標準原液 5 μL を添加したものを添加溶液（0.5 μg/mL）とした。

⑤測定条件

カラム：DB-WAX (0.53 mm×30 m、膜厚 1 μm )、カラム温度：50℃ (5min) - 10℃/min - 100℃、注入量：5 μL（スプリット比 1:10)、注入口温度：220℃、検出器温度：220℃、キャリヤーガス：He または $N_2$、15 mL/min、検出器：FID

7）アミン類試験

①試料

市販のポリカーボネート製計量カップ

②試薬・試液等

トリエチルアミン、トリブチルアミン、アセトン、ジクロロメタン：以上、特級、　和光純薬工業（株）製

③検量線溶液

トリエチルアミンおよびトリブチルアミン 100 mg それぞれにジクロロメタンを加え 100 mL としたものを各標準原液（1000 μg/mL）とした。それらを等量混合し、ジクロロメタンで希釈して 0.2、0.4、0.6、0.8、1 μg/mL とした。

④ブランク溶液および添加溶液

試料を細切し、その 1.0 g を 200 mL の三角フラスコに入れ、ジクロロメタン 20 mL を加えた。試料が溶けた後、よくかき混ぜながらアセトン 100 mL を滴加し、毎分 3,000 回転で約 10 分間遠心分離を行なった。上澄液を減圧濃縮器を用いて約 1 mL に濃縮した後、ジクロロメタンを加えて 2 mL とした。これをブランク溶液として GC-FID で測定した。さらに、ブランク溶液 2 mL にトリエチルアミンおよびトリブチルアミン標準溶液（10 μg/mL）を 100 μL 添加したものを添加溶液（各 0.5 μg/mL）とした。

⑤測定条件

カラム：DB-1 (0.32 mm×30 m、膜厚 5 μm)、カラム温度：150℃ (5 min) - 20/min - 250℃（5 min)、注入量：1 μL（スプリット比 1:15)、注入口温度：200℃、検出器温度：250℃、キャリヤーガス：He または $N_2$、 1.2 mL/min、検出器：Blos NPD

## 4．性能評価

### 1）クロマトグラム

各測定条件において、キャリヤーガスとして He を用いた場合を He 法、$N_2$ を用いた場合を $N_2$ 法とした。キャリアーガス流量は He 法で調整し、$N_2$ 法はキャリヤーガスのみを $N_2$

に変更した。

揮発性物質試験においては 50 μg/mL の濃度の検量線溶液、アミン類試験においては 1 μg/mL の検量線溶液から調製した標準溶液（0.5 μg/mL）、その他の試験においては規格値の濃度に相当する検量線溶液を He 法および $N_2$ 法で測定し、得られたクロマトグラムから試験対象物質の保持時間、ピーク形状、ピーク面積（揮発性物質試験においてはピーク面積比）を求めて比較した。

さらに、ブランク溶液を He 法および $N_2$ 法で測定し、選択性を比較した。選択性は試験対象物質に対する妨害ピークの有無により判断した。

２）検量線

検量線溶液を He 法および $N_2$ 法の両法で測定し、試験対象物質のピーク面積（揮発性物質試験においてはピーク面積比）から検量線を作成した。それぞれの定量可能範囲および検量線の濃度、直線性および近似式を比較した。

３）真度および精度

同一の添加溶液を He 法および $N_2$ 法によりそれぞれ 1 日 2 試行で 5 日間測定し、真度、併行精度（$RSD_r$）および室内再現精度（$RSD_i$）を比較した。真度、$RSD_r$ および $RSD_i$ は、添加溶液中の試験対象物質の濃度を定量し、「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」[1)]に従って、一元配置の分散分析により求めた。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 70~120%、$RSD_r$ は 10%以下、$RSD_i$ は 15%以下とした。

## C. 結果と考察

### １．揮発性物質試験の性能評価

１）クロマトグラム

揮発性物質標準溶液（各 50 μg/mL）およびブランク溶液を He 法および $N_2$ 法で測定し、各成分の保持時間、ピーク形状、面積比を比較するとともに選択性を確認した。両法のガスクロマトグラムを図１に示した。

He 法に比べ $N_2$ 法では、すべてのピークがややテーリングしていたが、各成分のピークの分離に問題はなく、保持時間およびピーク面積比はほぼ同じであった。

揮発性物質試験では、すべての成分が検出されない試料を入手することができなかったため、スチレンを含有する試料を用いてブランク試料を調製し、選択性を確認した。He 法、$N_2$ 法ともにブランク溶液ではスチレン以外のピークは認められず、すべての成分において、試験の支障となるような妨害ピークは存在しなかった。

２）検量線

各法を用いて作成した検量線を図２に示した。He 法に比べ $N_2$ 法では、検量線の傾きがやや大きくなったが、いずれの検量線も 25～125 μg/mL の範囲で良好な直線性（$R^2$ = 0.9992～0.9999）を示した。また、各成分とも 25 μg/mL まで定量可能であった。

３）真度および精度

He 法および $N_2$ 法により添加溶液を 1 日 2 試行で 5 日間測定した時のそれぞれの定量値および解析結果を表１に示した。ただし、スチレンの定量値は添加溶液からブランク溶液の定量値を差し引いて求めた。

He 法、$N_2$ 法ともに、いずれの成分においても真度は 100.6～103.5%と良好であった。併行精度は 0.1～0.6%といずれも小さくキャリヤーガスによる差はみられなかった。一方、トルエン、エチルベンゼン、およびスチレンの室内再現精度は He 法よりも $N_2$ 法でやや大きかった。しかし、目標値は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た。

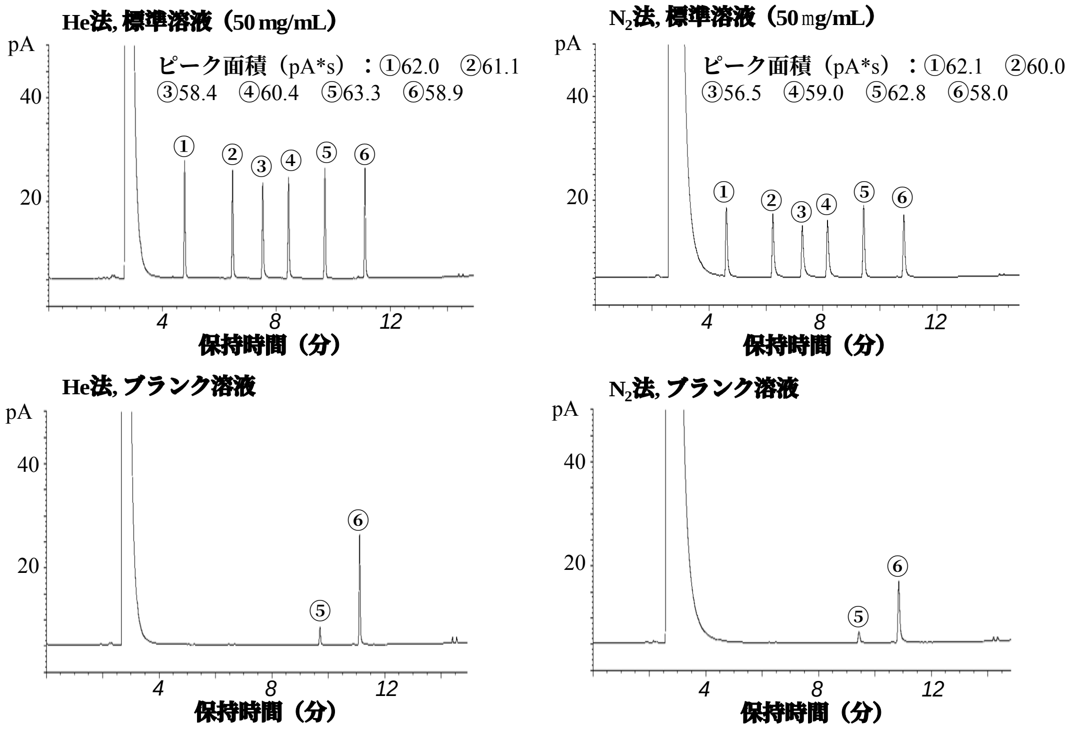



**図１　揮発性物質試験のGC-FIDクロマトグラム**
**①トルエン、②エチルベンゼン、③イソプロピルベンゼン**
**④プロピルベンゼン、⑤スチレン、⑥1,4-ジエチルベンゼン**

**表１　揮発性物質試験のGC-FID測定における各成分の真度および精度**

| 物質 | 試験法 | 定量値（μg/mL） | | | | | 真度（%） | $RSD_r$（%） | $RSD_i$（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 | | | |
| TO | He法 | 50.7 | 50.7 | 50.8 | 50.6 | 50.8 | 101.6 | 0.3 | 0.3 |
| | | 50.9 | 50.8 | 50.9 | 51.0 | 51.1 | | | |
| | $N_2$法 | 50.7 | 50.5 | 52.8 | 50.6 | 50.8 | 102.0 | 0.3 | 2.1 |
| | | 50.5 | 50.4 | 53.0 | 50.4 | 50.6 | | | |
| EB | He法 | 50.7 | 50.8 | 50.9 | 51.0 | 51.0 | 101.9 | 0.2 | 0.3 |
| | | 51.0 | 50.8 | 50.9 | 51.0 | 51.2 | | | |
| | $N_2$法 | 53.1 | 52.0 | 51.9 | 50.9 | 51.1 | 103.5 | 0.2 | 1.7 |
| | | 53.0 | 51.9 | 51.9 | 50.7 | 51.0 | | | |
| iPB | He法 | 50.3 | 50.6 | 50.2 | 50.3 | 50.5 | 100.6 | 0.2 | 0.5 |
| | | 50.4 | 50.6 | 49.9 | 50.1 | 50.4 | | | |
| | $N_2$法 | 50.5 | 50.5 | 50.9 | 50.6 | 51.1 | 101.3 | 0.6 | 0.6 |
| | | 50.9 | 50.5 | 50.0 | 50.7 | 50.9 | | | |
| PB | He法 | 50.6 | 50.6 | 50.5 | 50.4 | 50.8 | 101.1 | 0.1 | 0.2 |
| | | 50.4 | 50.6 | 50.5 | 50.5 | 50.6 | | | |
| | $N_2$法 | 50.6 | 51.1 | 51.1 | 50.5 | 50.9 | 101.5 | 0.3 | 0.5 |
| | | 50.7 | 50.9 | 50.8 | 50.4 | 50.7 | | | |
| ST | He法 | 50.4 | 50.5 | 50.9 | 50.8 | 50.9 | 101.6 | 0.3 | 0.5 |
| | | 50.7 | 50.4 | 51.0 | 51.2 | 51.0 | | | |
| | $N_2$法 | 50.7 | 50.5 | 52.8 | 50.6 | 50.8 | 102.0 | 0.3 | 2.1 |
| | | 50.5 | 50.4 | 53.0 | 50.4 | 50.6 | | | |

TO：トルエン、EB：エチルベンゼン、iPB：イソプロピルベンゼン、
PB：プロピルベンゼン、ST：スチレン、
$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

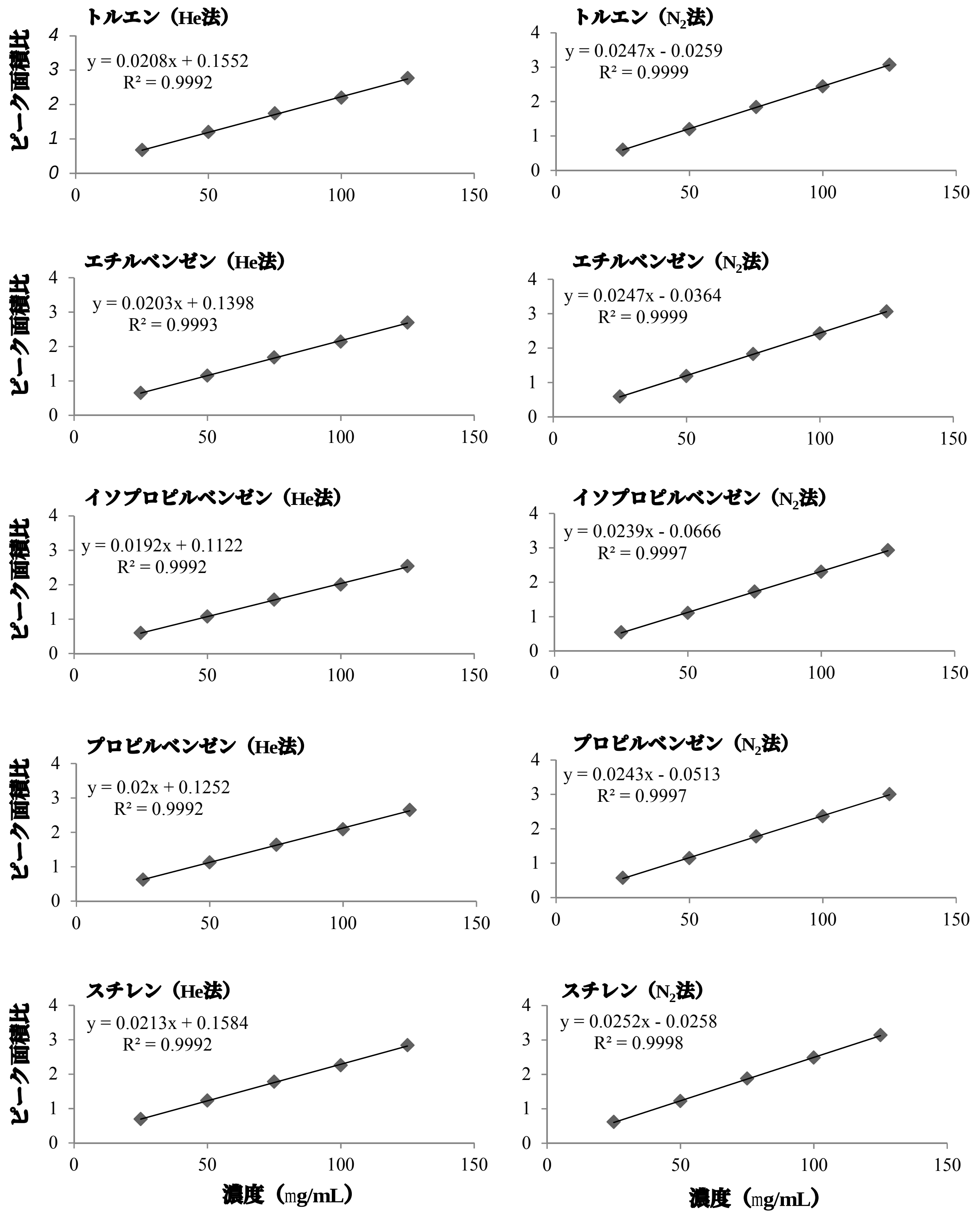



**図２　揮発性物質試験における各成分の検量線**

## ２．塩化ビニル試験の性能評価

### １）クロマトグラム

塩化ビニル標準溶液（1 μg/g 相当）およびブランク溶液を He 法および $N_2$ 法で測定した。それらのクロマトグラムを図３に示した。両法ともに、ピーク形状およびピークの分離も良好で、保持時間およびピーク面積に大きな違いはなかった。また、ブランク溶液では、いずれのキャリヤーガスにおいても試験の支障となるような妨害ピークは存在しなかった。

### ２）検量線

各法を用いて作成した検量線を図４に示した。両法ともに、検量線は、0.2〜5 μg/g（標準原液添加量 10〜250 μL）の範囲で良好な直線性（$R^2$ = 0.999 および 0.9998）を示した。また、両法とも規格値（1 μg/g）の 1/5 の濃度である 0.2 μg/g まで定量可能であった。

### ３）真度および精度

1 日 2 試行で 5 日間測定した時の定量値および解析結果を表２に示した。He 法および $N_2$ 法の真度はそれぞれ 94.9 および 96.7%と良好であった。また、$RSD_r$ は 5.6 および 3.9%、$RSD_i$ は 6.8 および 5.2%であり、キャリヤーガスによる差はなく、いずれも目標値を満たしていた。

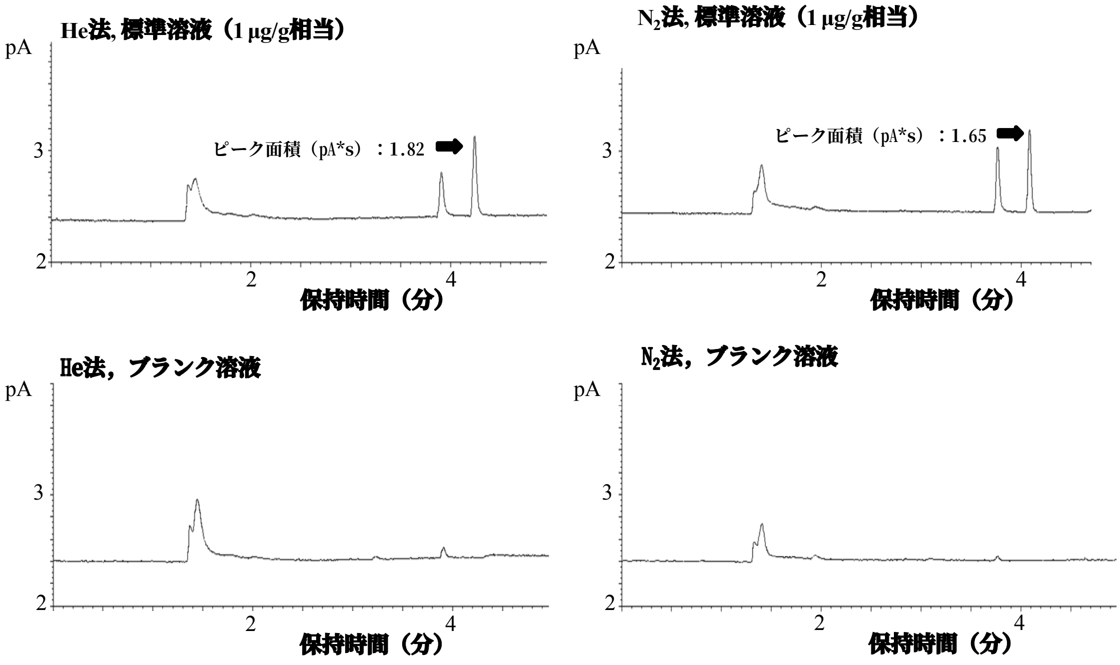



図３　塩化ビニルのGC-FIDクロマトグラム

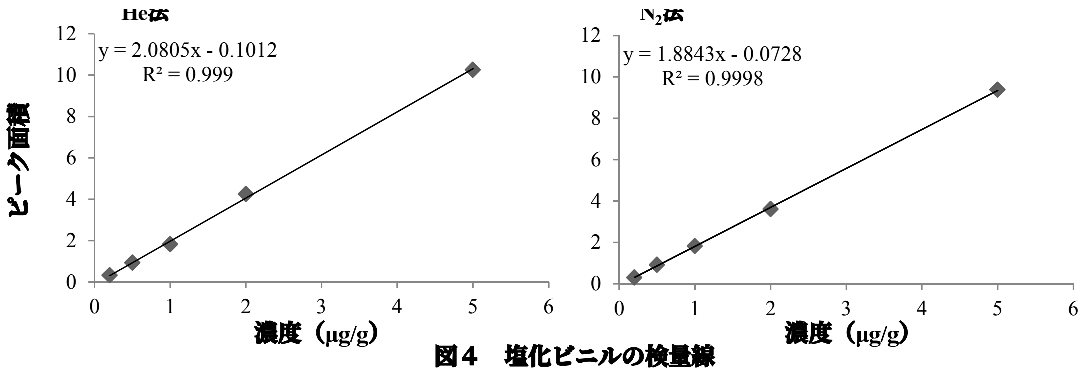



図４　塩化ビニルの検量線

表２　塩化ビニル試験のGC-FID測定における各成分の真度および精度

| 試験法 | 定量値（μg/mL） | | | | | 真度（%） | $RSD_r$（%） | $RSD_i$（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 日目 | 2 日目 | 3 日目 | 4 日目 | 5 日目 | | | |
| He法 | 0.86 | 0.94 | 1.05 | 1.02 | 0.96 | 94.9 | 5.6 | 6.8 |
| | 0.86 | 1.00 | 0.91 | 0.94 | 0.96 | | | |
| $N_2$法 | 1.00 | 1.00 | 1.06 | 0.90 | 0.94 | 96.7 | 3.9 | 5.2 |
| | 0.96 | 1.01 | 0.94 | 0.90 | 0.95 | | | |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

### 3．塩化ビニリデン試験の性能評価

#### 1）クロマトグラム

塩化ビニリデン標準溶液（6 μg/g 相当）およびブランク溶液を He 法および $N_2$ 法で測定した。それらのクロマトグラムを図５に示した。

両法ともに、ピーク形状およびピークの分離は良好で、保持時間およびピーク面積に大きな違いはなかった。ブランク溶液では、いずれのキャリヤーガスにおいても試験の支障となるような妨害ピークは存在しなかった。

#### 2）検量線

各法を用いて作成した検量線を図６に示した。両法ともに、検量線は 0.6 ～ 24 μg/g（標準原液添加量 5～200 μL）の範囲で良好な直線性（$R^2$ = 0.9995 および 0.9993）を示した。また、両法とも規格値（6 μg/g）の 1/10 の濃度である 0.6 μg/g まで定量可能であった。

#### 3）真度および精度

1 日 2 試行で 5 日間測定した時の定量値および解析結果を表３に示した。He 法および $N_2$ 法の真度は 102.2 および 103.0%と良好であった。また、$RSD_r$ は 8.0 および 8.1%、$RSD_i$ は 10.9 および 9.0%であり、両法ともに塩化ビニル試験の値と比べるとやや大きかったが、キャリヤーガスの違いによる差は認められず、目標値を満たしていた。

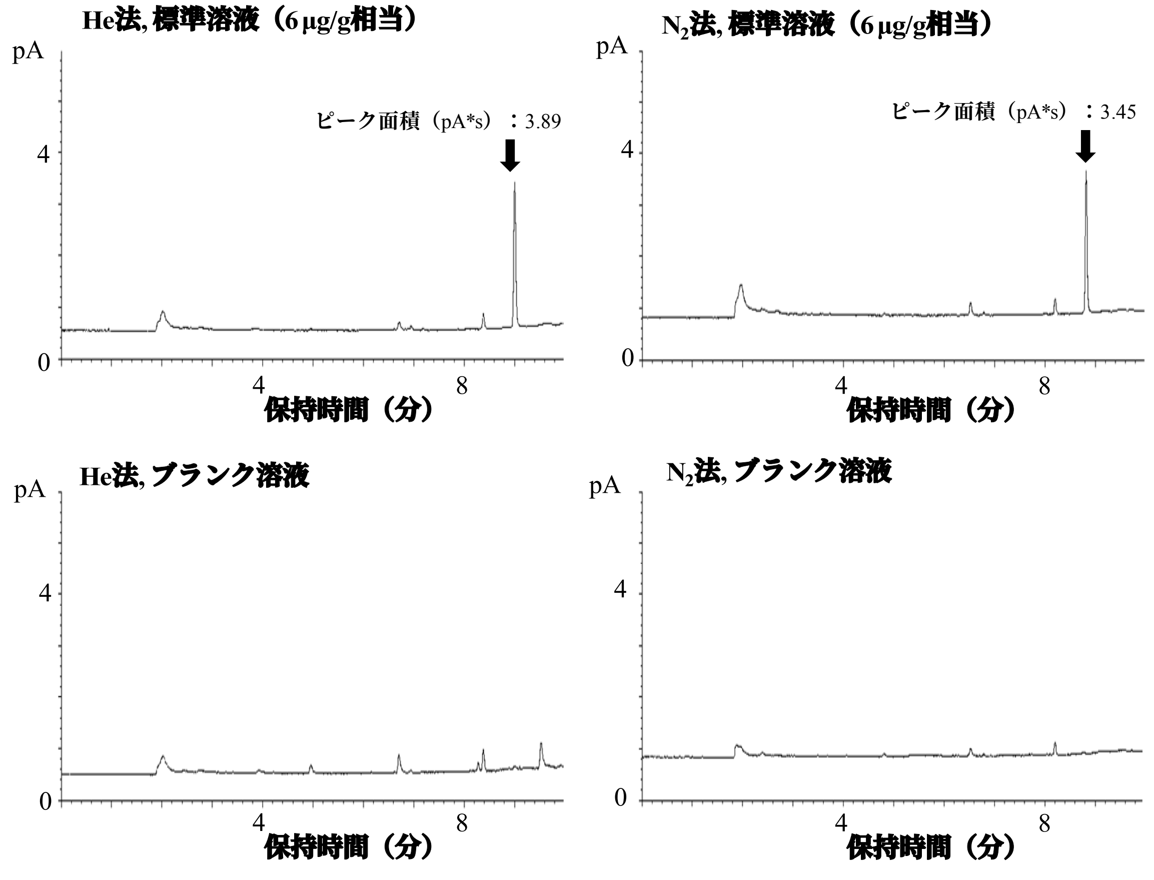



図5　塩化ビニリデン試験のGC-FIDクロマトグラム

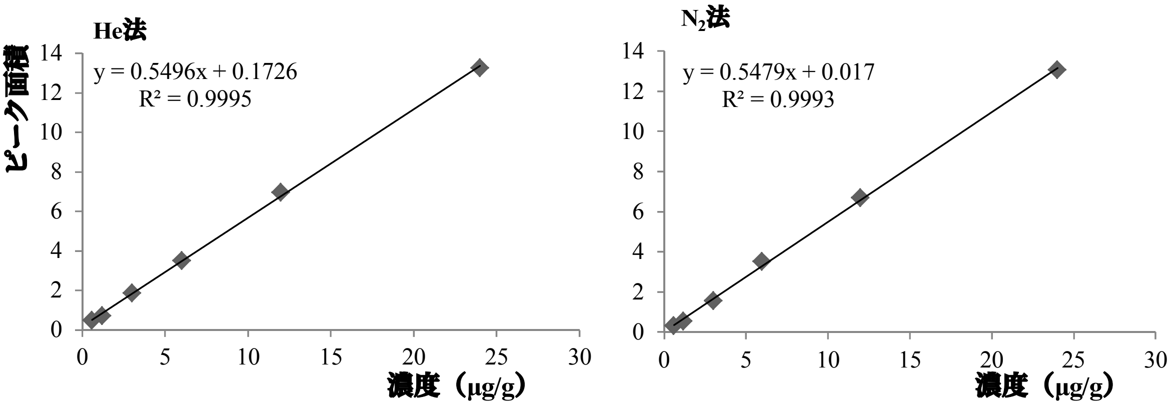



**図6　塩化ビニリデンの検量線**

**表3　塩化ビニリデン試験のGC-FID測定における各成分の真度および精度**

| 試験法 | 定量値（μg/mL） | | | | | 真度（%） | $RSD_r$（%） | $RSD_i$（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 | | | |
| He法 | 5.85 | 7.31 | 5.64 | 6.19 | 5.85 | 102.2 | 8.0 | 10.9 |
| | 6.55 | 6.71 | 5.46 | 5.19 | 6.55 | | | |
| $N_2$法 | 6.68 | 6.14 | 5.82 | 5.74 | 5.88 | 103.0 | 8.1 | 9.0 |
| | 6.85 | 5.67 | 5.49 | 7.09 | 6.43 | | | |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

## 4．メタクリル酸メチル試験の性能評価

### 1）クロマトグラム

メタクリル酸メチル標準溶液（15 μg/mL）およびブランク溶液をHe法および$N_2$法で測定した。それらのクロマトグラムを図7に示した。

両法ともに、ピーク形状は良好で、保持時間に違いはなかった。また、今回の条件では分離できたが、$N_2$法ではメタクリル酸メチルピーク直前に検出されるピークがブロードとなったため、カラムやガス流量等によっては分離しない可能性がある。また、ピーク面積はHe法に比べ$N_2$法でやや大きくなった。

ブランク溶液では、いずれのキャリヤーガスにおいても試験の支障となるような妨害ピークは存在しなかった。

### 2）検量線

各法を用いて作成した検量線を図8に示した。両法ともに、検量線は2～20 μg/mLの範囲で良好な直線性（$R^2$ = 0.999および0.9991）を示した。両法とも規格値（15 μg/mL）の2/15の濃度である2 μg/mLまで定量可能であったが、$N_2$法はHe法と比べてピーク面積が大きくなるため、検量線の傾きもやや大きかった。そのため、より低い濃度まで定量することが可能と推定されたが、2 μg/mL未満では定量性は得られなかった。

### 3）真度および精度

1日2試行で5日間測定した時の定量値および解析結果を表4に示した。いずれの性能パラメーターの値も目標値を十分に満たしていたが、$N_2$法はHe法よりも良好な値を示した。

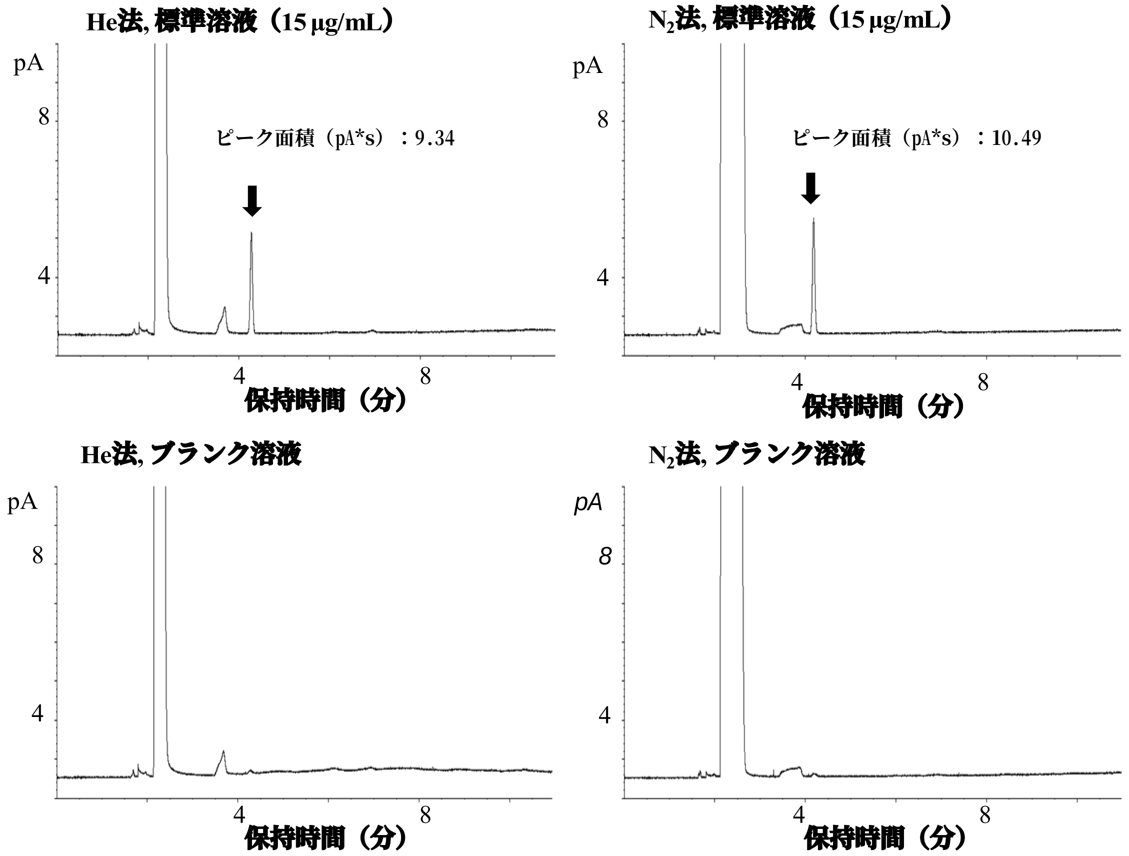



**図７　メタクリル酸メチル試験のGC-FIDクロマトグラム**

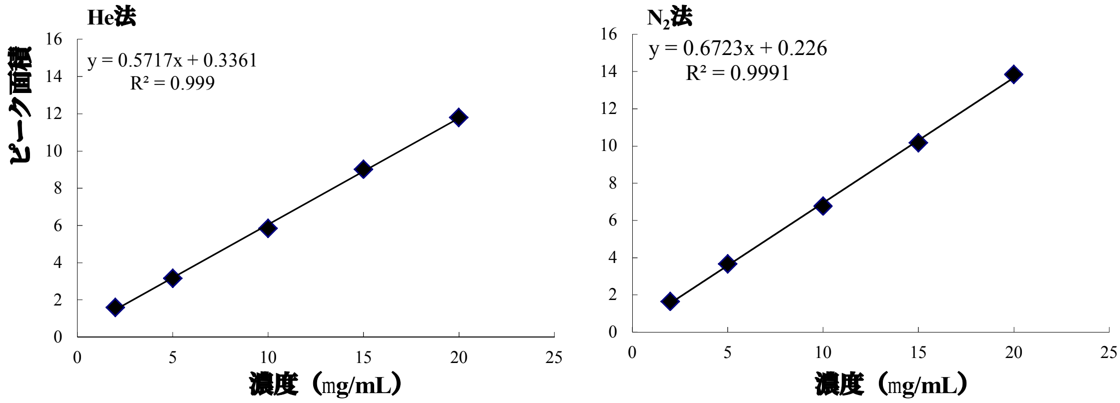



**図８　メタクリル酸メチルの検量線**

**表４　メタクリル酸メチル試験のGC-FID測定における各成分の真度および精度**

| 試験法 | 定量値（µg/mL） | | | | | 真度（%） | $RSD_r$（%） | $RSD_i$（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 日目 | 2 日目 | 3 日目 | 4 日目 | 5 日目 | | | |
| He法 | 14.4 | 14.9 | 15.0 | 14.6 | 14.4 | 96.5 | 3.5 | 3.5 |
| | 14.4 | 13.5 | 14.3 | 15.0 | 14.3 | | | |
| N$_2$法 | 14.6 | 14.6 | 14.6 | 15.2 | 15.1 | 99.2 | 1.7 | 1.7 |
| | 14.8 | 14.8 | 15.3 | 15.0 | 14.8 | | | |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

## ５．カプロラクタム試験の性能比較

### １）クロマトグラム

カプロラクタム標準溶液（15 μg/mL）およびブランク溶液を He 法および $N_2$ 法で測定した。それらのクロマトグラムを図９に示した。

$N_2$ 法では、ピークにリーディングがみられ、ピーク面積がやや小さかったが、保持時間はほぼ同じであった。ブランク溶液では、試料由来と考えられる微小なカプロラクタムのピークが確認されたが、その他の試験の支障となるような妨害ピークは存在しなかった。

### ２）検量線

各法を用いて作成した検量線を図１０に示した。両法ともに、検量線は 5〜30 μg/mL の範囲で良好な直線性（$R^2$ = 0.9994 および 0.9995）を示した。また、両法とも規格値（15 μg/mL）の 1/3 の濃度である 5 μg/mL まで定量可能であった。

### ３）真度および精度

1 日 2 試行で 5 日間測定した時の定量値および解析結果を表５に示した。He 法および $N_2$ 法の性能パラメーターの値はいずれも目標値を満たしていたが、$N_2$ 法では He 法より劣っていた。特に、真度は 107.3%とやや高く、全体的に定量値は添加量より約 1~2 μg/mL 高かった。カプロラクタムの真度は、添加溶液からブランク溶液のピークを差し引いて算出したが、ブランク溶液のピーク面積は定量下限値の 1/2 以下であるため定量性が低く、真度に影響を及ぼしたと推察された。

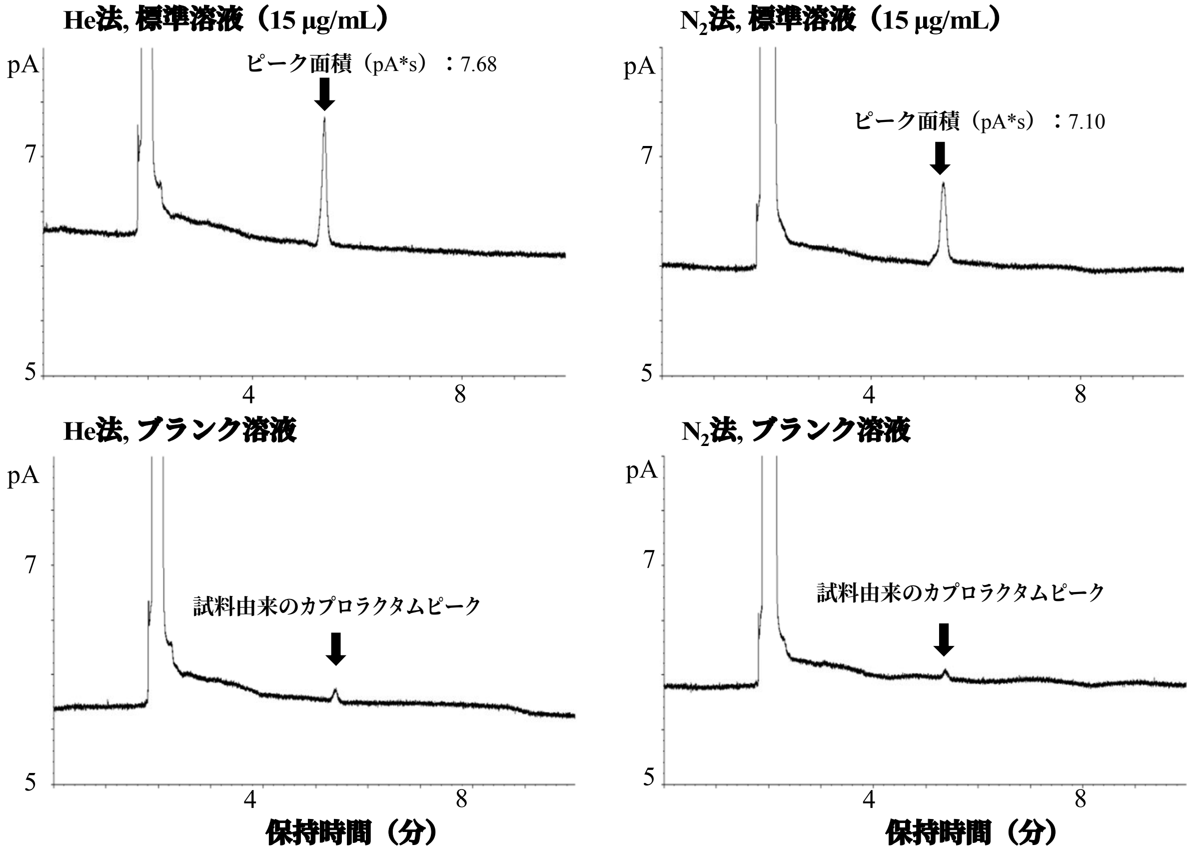



図９　カプロラクタムのGC-FIDクロマトグラム

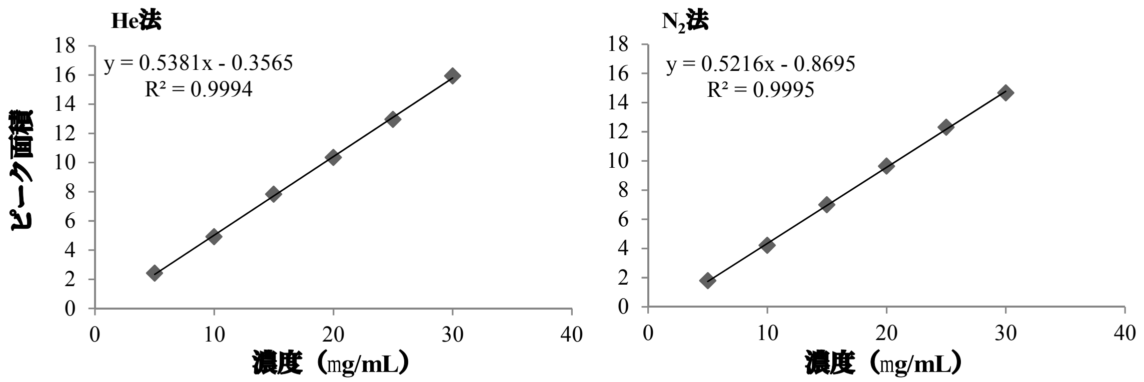



**図１０　カプロラクタムの検量線**

**表５　カプロラクタム試験のGC-FID測定における各成分の真度および精度**

| 試験法 | 定量値（μg/mL） | | | | | 真度 | $RSD_r$ | $RSD_i$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 | (%) | (%) | (%) |
| He法 | 15.5 | 15.1 | 14.7 | 15.7 | 15.1 | 100.4 | 1.5 | 2.8 |
| | 15.3 | 14.9 | 14.5 | 15.3 | 14.6 | | | |
| $N_2$法 | 16.9 | 15.6 | 14.4 | 16.6 | 15.6 | 107.2 | 2.8 | 6.3 |
| | 17.3 | 15.9 | 14.9 | 17.0 | 16.7 | | | |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

## ６．エピクロルヒドリン試験の性能評価

### １）クロマトグラム

エピクロルヒドリン標準溶液（0.5 μg/mL）およびブランク溶液をHe法および$N_2$法で測定した。それらのクロマトグラムを図１１に示した。

保持時間およびピーク面積に違いはなかったが、$N_2$法ではややブロードなピークとなった。ブランク溶液では、いずれのキャリヤーガスにおいても試験の支障となるような妨害ピークは存在しなかった。

### ２）検量線

各法を用いて作成した検量線を図１２に示した。両法ともに、検量線は 0.25〜5 μg/mL の範囲で良好な直線性（$R^2$ = 0.9997 および 0.9996）を示した。また、両法とも規格値（0.5 μg/mL）の 1/2 の濃度である 0.25μg/mL まで定量可能であった。

### ３）真度および精度

1日2試行で5日間測定した時の定量値および解析結果を表６に示した。He法の性能パラメーターの値はいずれも良好で目標値を十分満たしていた。$N_2$法についても目標値を満たしていたが、真度、精度ともにHe法より劣っていた。

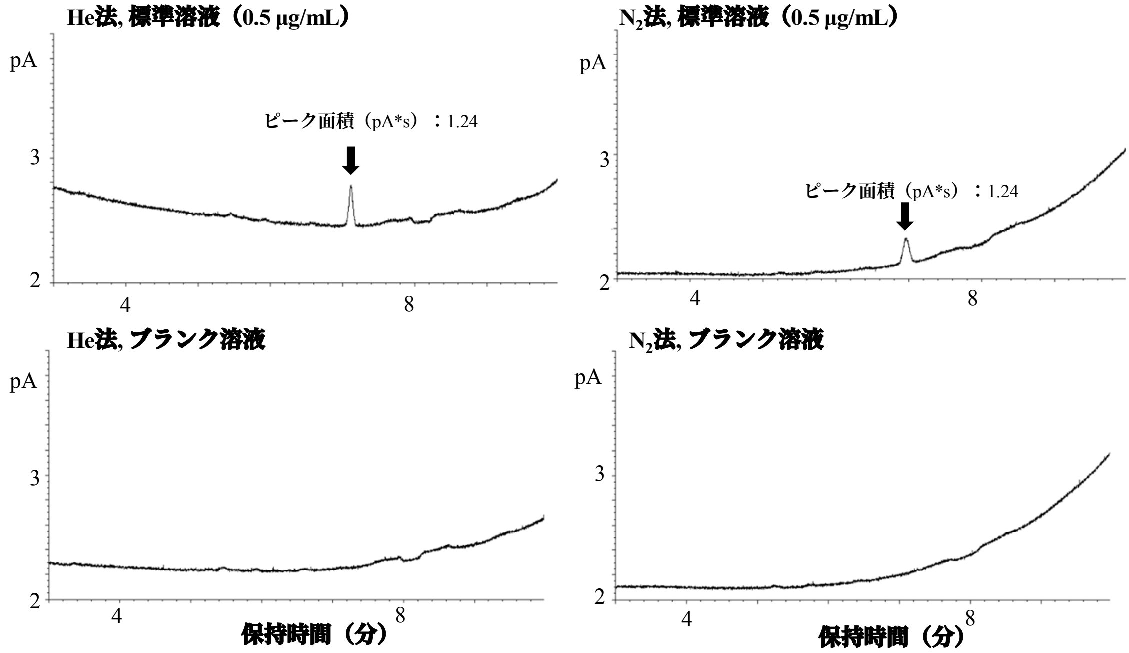



**図１１　エピクロルヒドリンのGC-NPDクロマトグラム**

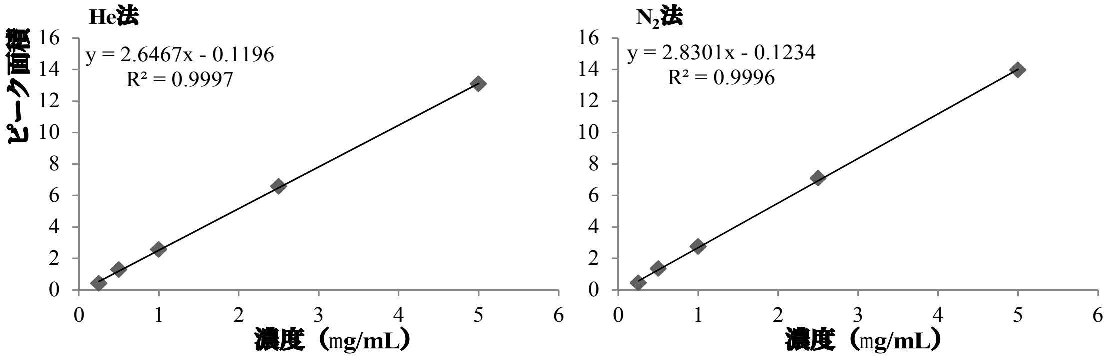



**図１２　エピクロルヒドリンの検量線**

**表６　エピクロルヒドリン試験のGC-FID測定における各成分の真度および精度**

| 試験法 | 定量値（µg/mL） | | | | | 真度（%） | $RSD_r$（%） | $RSD_i$（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 | | | |
| He法 | 0.52 | 0.44 | 0.56 | 0.49 | 0.54 | 100.0 | 3.5 | 6.0 |
| | 0.48 | 0.46 | 0.48 | 0.50 | 0.52 | | | |
| $N_2$法 | 0.46 | 0.42 | 0.57 | 0.51 | 0.52 | 96.6 | 5.5 | 10.3 |
| | 0.44 | 0.43 | 0.50 | 0.48 | 0.51 | | | |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

**7．アミン類試験の性能評価**

**1）クロマトグラム**

アミン類標準溶液（0.5 μg/mL）およびブランク溶液のクロマトグラムを図１３に示した。

各成分の保持時間およびピーク形状に大きな違いはなかったが、$N_2$法におけるピーク面積は、He法と比べてそれぞれ1.5および2倍に増加した。またHe法と$N_2$法では、ベースラインの形状が異なっていた。

ブランク溶液のクロマトグラムから両法の選択性を確認したところ、いずれの方法でもトリエチルアミンの保持時間付近に複数のピークが認められた。また、$N_2$法ではベースラインが標準溶液と大きく異なっていた。このため、いずれのキャリヤーガスにおいてもトリエチルアミンの定性は注意深く行う必要があった。

**2）検量線**

各法を用いて作成した検量線を図１４に示した。He法では 0.2〜1 μg/mL の範囲でほぼ良好な直線性（$R^2$ = 0.9998 および 0.9962）を示した。$N_2$法の検量線はHe法に比べ傾きが大きかったが、直線性は 0.9931 および 0.9956 であり、He法よりやや悪かった。しかし、両法とも 0.2 μg/mL まで定量可能であった。

**3）真度および精度**

1日2試行で5日間測定した時の定量値および解析結果を表７に示した。$N_2$法は、He法と比べて定量値がやや高い傾向がみられた。しかし、それ以外はキャリヤーガスによる違いはなく、両法ともに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。

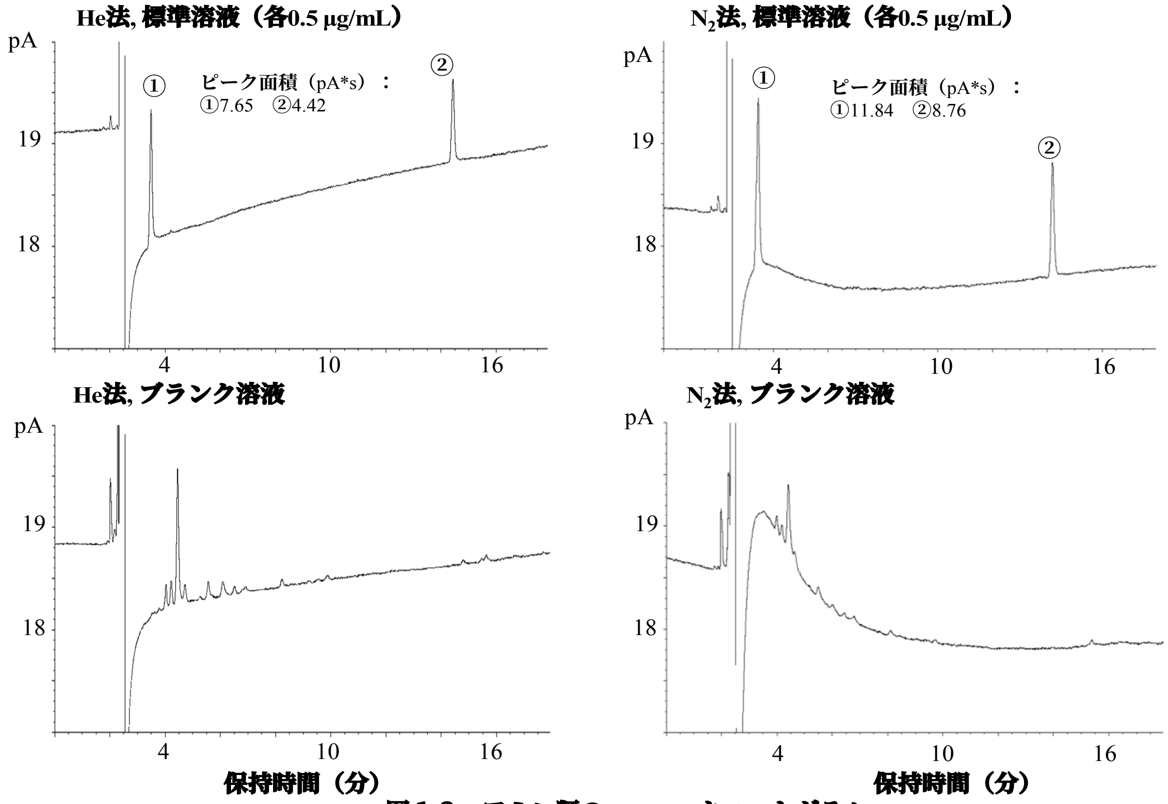



**図１３ アミン類のGC-NPDクロマトグラム**
**①トリエチルアミン ②トリブチルアミン**

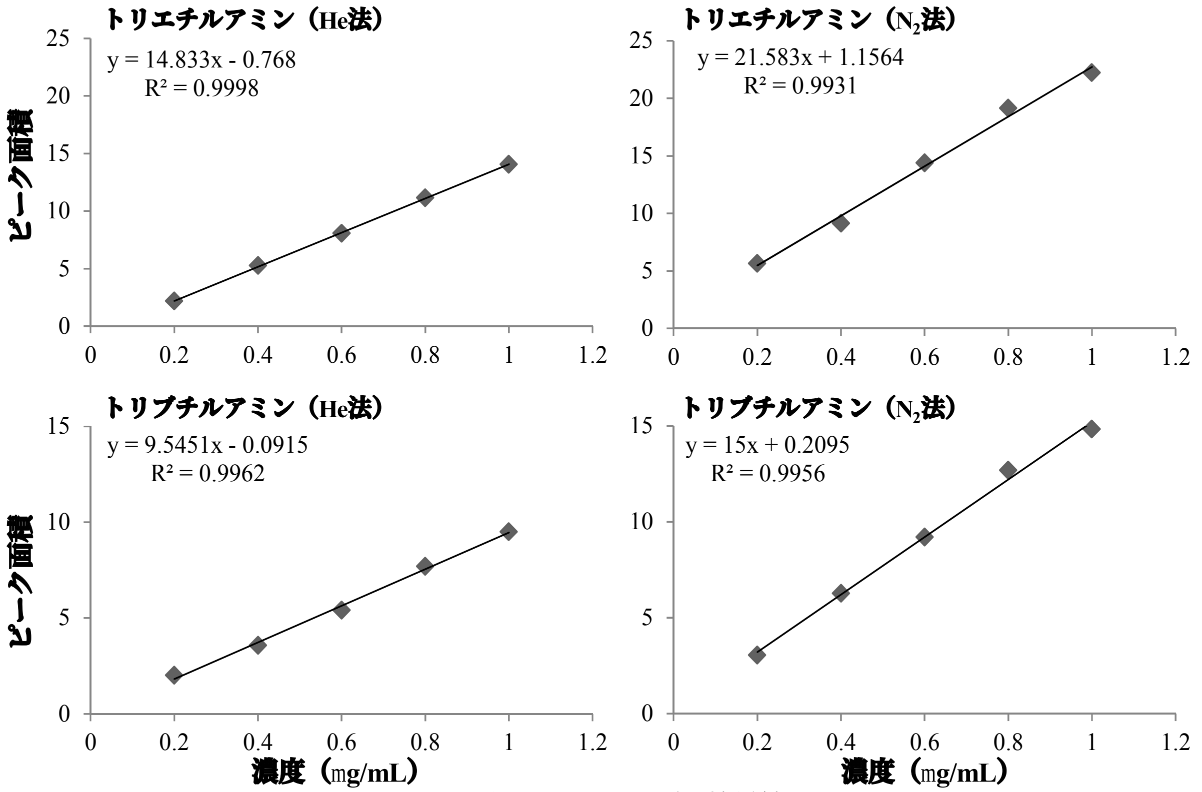



**図１４　アミン類の検量線**

**表７　アミン類試験のGC-NPD測定における各成分の真度および精度**

| 物質 | 試験法 | 定量値（μg/mL） | | | | | 真度（%） | $RSD_r$（%） | $RSD_i$（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1日目 | 2日目 | 3日目 | 4日目 | 5日目 | | | |
| TEA | He法 | 0.51 | 0.48 | 0.47 | 0.52 | 0.46 | 97.4 | 1.9 | 4.3 |
| | | 0.49 | 0.48 | 0.47 | 0.51 | 0.48 | | | |
| | $N_2$法 | 0.53 | 0.51 | 0.50 | 0.48 | 0.53 | 101.6 | 2.9 | 4.5 |
| | | 0.53 | 0.48 | 0.48 | 0.51 | 0.53 | | | |
| TBA | He法 | 0.51 | 0.50 | 0.50 | 0.47 | 0.47 | 98.6 | 3.1 | 4.7 |
| | | 0.52 | 0.53 | 0.47 | 0.47 | 0.49 | | | |
| | $N_2$法 | 0.54 | 0.52 | 0.52 | 0.55 | 0.50 | 104.0 | 3.4 | 4.6 |
| | | 0.55 | 0.53 | 0.51 | 0.50 | 0.48 | | | |

TEA：トリエチルアミン、TBA：トリブチルアミン
$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

## D. 結論

食品衛生法における器具・容器包装の規格試験法のうち、GC-FID および GC-NPD を用いる試験について、キャリヤーガスとして He および $N_2$ を用い、同一装置、同一条件で測定を行い、キャリヤーガスの違いによる影響を確認した。

GC-FID を用いる揮発性物質、塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチル、カプロラクタムおよびエピクロルヒドリン試験においては、$N_2$ をキャリヤーガスとして用いると揮発性物質試験ではピークのテーリングが、カプロラクタム試験ではピークのリーディングが認められたが、適否判定に支障をきたすほどの変化ではなかった。一方、塩化ビニル、塩化ビニリデン、メタクリル酸メチルおよびエピクロルヒドリン試験では、キャリヤーガスによる違いは認められなかった。ブランク溶液を用いて選択性を確認した結果、いずれの試験においてもクロマトグラムに大きな変化はなく、妨害ピークも検出されなかった。また、各試験法について性能評価を行ったところ、いずれもキャリヤーガスに関わらず、規格試験法として十分な性能を示した。

一方、キャリヤーガスに $N_2$ が規定されていない GC-NPD を用いたアミン類試験では、各成分の保持時間に違いはなかったが、ベースラインの形状が異なり、ブランク溶液でトリエチルアミンの保持時間付近に複数のピークが認められたため、慎重に定性を行う必要があった。一方、いずれのキャリヤーガスにおいても性能パラメーターは目標値を満たしており、$N_2$ を用いた GC-NPD はアミン類の定性試験の代替試験法として適用可能であると考えられた。

以上のことから、ヘリウムの供給不足が再発した際には、大部分の試験法では、キャリヤーガスをヘリウムから窒素に変更してもその性能に大きな変化はなく、その他の測定条件を変更せずに試験を実施することが可能であると考えられた。ただし、アミン類試験では、NPD のビーズとして今回用いた Blos ビーズ以外にアルカリビーズやセラミックビーズがあり、また、熱イオン化検出器（FTD）も使用可能である。これらに関しては今回検討を行っていないため、これらの方法においてキャリヤーガスとして $N_2$ を使用する際にはその性能を確認する必要がある。

## E. 参考文献


1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知（平成 20 年 9 月 26 日食安発第 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 (2008)


## F. 健康危害情報

なし

# ＜その３＞アンチモン及びゲルマニウム溶出試験における ICP-OES を用いた代替試験法の開発

研究代表者　六鹿　元雄　国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者　阿部　　裕　国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者　田中　秀幸　（独）産業技術総合研究所
研究協力者　城野　克広　（独）産業技術総合研究所

## A. 研究目的

食品衛生法ではポリエチレンテレフタレート（PET）を主成分とする合成樹脂製の器具・容器包装に対して、アンチモン（Sb）及びゲルマニウム（Ge）の溶出量がそれぞれ 0.05 及び 0.1 μg/mL 以下と規制されている。その試験法は、4%酢酸を浸出用液として得た溶出液を試験溶液とし、その試験溶液中の濃度をフレーム方式原子吸光光度法（AAS）、電気加熱方式原子吸光光度法（GF-AAS）または誘導結合プラズマ発光強度測定法（ICP-OES）で測定し、吸光度または発光強度をそれぞれの標準溶液と比較して適否判定を行うこととされている。このうち、ICP-OES は多くの試験機関が所有しており、Sb と Ge を逐次分析することが可能であるため利便性がよい。しかし、一般的な Sb 及び Ge の定量下限値は規格値と同程度であるため[1, 2]、装置によっては試験に用いることができない場合がある。このような場合は水素化物発生装置または超音波ネブライザーを併用することにより必要な感度を得ることが可能であるが、これらの付属装置を所有する試験機関やこれらを用いた試験を希望する試験機関は少ない。

平成 25 年度の厚生労働科学研究[3]において、13 機関で ICP-OES による Sb 及び Ge 試験について試験室間共同試験を行ったが、直接導入による Sb 及び Ge の試験が実施可能であった試験機関は 5 機関のみであった（表１）。そのため、残りの試験機関では、代替法として試験溶液を蒸発乾固させたのち、4%酢酸に再溶解して 10 倍濃縮とし、ICP-OES で測定する方法（蒸発乾固法）により試験を実施した。しかし、半数以上の試験機関が Sb 及び Ge を十分に回収することができず、正確な定量値を得ることができなかった。

また、特定の金属イオンを選択して吸着または除去するためキレート剤を結合させた樹脂や繊維、またはこれらを充填した固相カラムの中には Ge、As、Se、Sn、Sb などの半金属を選択的に吸着するものもあり、キレート繊維を用いた水道水中の微量 Sb の分析法が南澤らにより報告されている[4]。そこで、試験溶液を濃縮する方法または操作法（濃縮法）

表１　各試験機関における ICP-OES による Sb 及び Ge の定量下限値

| 試験機関 | 定量下限値（μg/mL） | |
|---|---|---|
| | Sb | Ge |
| 1 | 0.1 | 0.1 |
| 2 | 0.1 | 0.1 |
| 3 | 0.5 | 0.5 |
| 4 | 0.1 | 0.1 |
| 5 | 0.1 | 0.1 |
| 9 | ー | 0.5 |
| 10* | 0.025 | 0.025 |
| 11* | 0.02 | 0.02 |
| 12* | 0.025 | 0.05 |
| 13 | 0.2 | 0.2 |
| 14* | 0.05 | 0.1 |
| 15 | 0.05 | 0.05 |
| 16* | 0.025 | 0.04 |

*：直接導入による試験を実施した試験機関

として、蒸発乾固法及びキレート剤を用いた濃縮法（キレート法）の検討を行い、PET 製器具・容器包装の Sb 及び Ge 溶出試験の ICP-OES を用いた代替法として、これら濃縮法の適用性や問題点を検証した。

一方、大部分の試験機関における ICP-OES の Sb 及び Ge の定量下限値は、規格値に近い値であったため、測定条件や定量法の変更によって試験溶液中の Sb 及び Ge の定量下限値を 1/3～1/2 程度に低減することができれば、ほとんどの試験機関で試験を実施することが可能となる。そこで、試験溶液に Sb 及び Ge の標準溶液を添加して定量する方法(添加法)として、標準添加法及び既知量添加法について検討し､代替法としての適用性を検証した。

## B. 研究方法

### １．試薬等

酢酸、アンモニア水（25%）：精密分析用、以上 シグマアルドリッチジャパン（株）製

硝酸：有害金属測定用、純度 60%、比重 1.38、シグマアルドリッチジャパン（株）製

重酢酸（酢酸-$d_4$）：D 含有量 99.96 atom%以上 ISOTEC 社製

水：Milli-Q Gradient A10（ミリポア社製）により精製した超純水

L (+)-酒石酸：試薬特級、和光純薬工業（株）製

Sb 標準液、Ge 標準液、イットリウム（Y）標準液：1000 µg/mL、以上 和光純薬工業（株）製

キレート繊維：MetaSEP CH-2、ジーエルサイエンス（株）製

フリット付エンプティリザーバー：60 及び 10 mL、ジーエルサイエンス（株）製

シリンジフィルター：ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）製、0.45 µm、ADVANTEC 製

標準溶液：Sb 標準液及び Ge 標準液を混合し 4%酢酸で適宜希釈して、Sb 及び Ge 濃度がそれぞれ 0.050 及び 0.10 µg/mL となるように調製したもの

検量線溶液：Sb 標準液及び Ge 標準液を混合し 4%酢酸で適宜希釈したもの

### ２．装置等

ホットプレート：DigiPREP HP SCP、Science 社製

誘導結合プラズマ発光分析計：SPS3500、SII ナノテクノロジー（株）製

誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）：7500c、Agilent Technologies 社製

ヘッドスペース-GC/MS（HS-GC/MS）：7890A GC System、5975C inert XL MSD、7697A Headspace Sampler、以上 Agilent Technologies 社製

### ３．測定条件

#### １）ICP-OES

高周波出力：1.2 kW、キャリヤーガス流量：Ar 0.35 L/min、プラズマガス流量：Ar 17 L/min、補助ガス流量：Ar 0.6 L/min、観察方向：横方向、測定波長：206.833 及び 217.581 nm（Sb）、209.426 及び 265.118 nm（Ge）、224.306 nm（Y）

#### ２）ICP-MS

高周波出力：1.3 kW、キャリヤーガス流量：Ar 0.7 L/min、プラズマガス流量：Ar 15 L/min、補助ガス流量：Ar 0.2 L/min、測定イオン：*m/z* 74（Ge）、*m/z* 89（Y）、*m/z* 121（Sb）

#### ３）HS-GC/MS

①ヘッドスペース条件

オーブン温度：90℃、加熱時間：30 分、サンプルループ温度：150℃、トランスファーライン温度：200℃、注入時間：0.5 分、導入量：1 µL

②GC/MS 条件

カラム：DB-FFAP (30 m×0.25 mm, 0.5 µm)、オーブン温度：50℃(2 分)-10℃/分-150℃-20℃/分-250℃（5 分）、注入口温度：280℃、注入モード：スプリット（100：1）、キャリヤーガ

ス：He 1.2 mL/分、トランスファーライン温度：250℃、測定モード：SIM、定量イオン：*m/z* 60（HOAc）、63（HOAc-$d_4$）、確認イオン：*m/z* 43（HOAc）、46（HOAc-$d_4$）

**4．試験溶液の調製**

PET製使い捨てカップ（400 mL容）を試料とし、食品衛生法に従い、4%酢酸で60℃ 30分間の溶出試験を行い、得られた溶出液をブランク溶液とした。ブランク溶液にSb標準液及びGe標準液を添加し、各濃度の試験溶液を調製した。ブランク溶液のSb及びGe濃度はYを内標準としてICP-MSにより定量した。表２にブランク溶液及び試験溶液 1～3のSb及びGe濃度示した。

**5．濃縮法**

**1）蒸発乾固法**

**①測定溶液の調製**

標準溶液200 mLを結晶皿またはビーカーに採取し、100℃に設定したホットプレート上でほとんど溶媒がなくなるまで加熱した。ビーカーをホットプレートからおろし、余熱で乾固した後、残差に適量の4%酢酸を加えて溶解した。この液に4%酢酸を加えて10 mLに定容し測定溶液とした。

**②Sb及びGe濃度の定量**

測定溶液及び検量線溶液をICP-OESで測定し、検量線溶液から得られた各元素の発光強度により検量線を作成し、絶対検量線法で測定溶液中のSb及びGe濃度を定量し、試験溶液中の濃度を求めた。

**2）キレート法**

**①測定溶液の調製**

試験溶液200 mLにアンモニア水（25%）約11 mLを添加しpHを7.5～8に調整した。キレート繊維1 gを加え、30分間撹拌（500 rpm）したのち、フリット付エンプティリザーバー（60 mL）を用いて吸引もしくは加圧方式によりろ過し、キレート繊維を回収した。このキレート繊維を50 mLのPP製遠心チューブに移した後、10%硝酸・10%酒石酸（1：1）混液20 mLを加え、10分間撹拌（500 rpm）し、フリット付エンプティリザーバー（10 mL）を用いて吸引もしくは加圧方式によりろ過した。さらに、ろ液をシリンジフィルターでろ過したものを測定溶液とした。

**②Sb及びGe濃度の定量**

測定溶液及び検量線溶液10 mLに内標準溶液（Y、40 μg/mL）50 μLを加えICP-OESで測定し、得られた発光強度から絶対検量線法と内標準法の両法により測定溶液中のSb及びGe濃度を定量し、試験溶液中の濃度を求めた。

**6．添加法**

**1）標準添加法**

Sb及びGe標準液を4%酢酸に添加して、10、15、20、25及び30 μg/mLの溶液（標準液A～Eを調製した。これらの溶液100 μLを試験溶液10 mLに添加し測定溶液A～Eとした（表３）。各測定溶液をICP-OESで測定し、添加した濃度xと各測定溶液から得られた発光強度yから検量線を作成し、標準添加法により試験溶液中のSb及びGe濃度を定量した。

**表２　性能評価に用いたブランク溶液及び試験溶液1～3のSb及びGe濃度**

| 元素 | 濃度（μg/mL）* | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ブランク溶液 | 試験溶液1 | 試験溶液2 | 試験溶液3 |
| Sb | ＜0.005 | 0.04 | 0.05 | 0.06 |
| Ge | ＜0.001 | 0.08 | 0.10 | 0.12 |

*：ブランク溶液の濃度はICP-MSによる実測値（定量下限値未満）

**表３　標準添加法において各測定溶液に添加した Sb 及び Ge 濃度**

| 測定溶液 | 添加した標準液 | 添加濃度 x（μg/mL）* |
|---|---|---|
| 測定溶液 A | 標準液 A（各 10 μg/mL） | 各 0.10 |
| 測定溶液 B | 標準液 B（各 15 μg/mL） | 各 0.15 |
| 測定溶液 C | 標準液 C（各 20 μg/mL） | 各 0.20 |
| 測定溶液 D | 標準液 D（各 25 μg/mL） | 各 0.25 |
| 測定溶液 E | 標準液 E（各 30 μg/mL） | 各 0.30 |

*：測定溶液中の濃度として

**２）既知量添加法**

Sb、Ge 及び Y 標準液を 4%酢酸に添加して、表４に示す濃度の溶液（標準液 a～c）を調製した。試験溶液及び検量線溶液（Sb：0、0.025、0.050、0.075、0.10 μg/mL、Ge：0、0.05、0.10、0.15、0.20 μg/mL）に標準液 100 μL を添加し ICP-OES で測定した。絶対検量線法と内標準法により検量線溶液の濃度 x（添加前の濃度）とその発光強度（または発光強度比）y から検量線を作成し、測定溶液から得られた発光強度（または発光強度比）により試験溶液中の Sb 及び Ge 濃度を定量した。

## ７．代替法の性能評価

**１）性能評価**

試験溶液 1～3 を用い、試験溶液中の Sb 及び Ge 濃度を 1 日 2 併行で日を変えて 5 回測定した。各試験溶液の真度、併行精度（$RSD_r$ %）及び室内再現精度（$RSD_i$ %）の性能パラメーターの値は、「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」[5) ]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 80～120%、$RSD_r$ は 15%未満、$RSD_i$ は 20%未満とした。また、各定量値が添加濃度の 80～110% の範囲から外れたものを外れ値とした。さらに、既知量添加法の試験溶液 1 及び 3 の結果については、得られた発光強度と規格値濃度の検量線溶液の発光強度を比較して判定を行い、その判定の正誤を確認した。

**２）誤判定発生率の算出**

１）性能評価において得られた発光強度について、試験溶液 1 及び 3 に対する規格値濃度の検量線溶液の発光強度比（＝試験溶液の発光強度／試験溶液と同日に測定した標準溶液の発光強度）を算出した。これらの発光強度比から、一元配置の分散分析により標準偏差（$SD_R$：併行＋日間）を求めた。この $SD_R$ と理論上の発光強度比（理論値：濃度比）（表５）を平均値とした正規分布により、試験溶液 1 では発光強度比が 1 より大きい値、試験溶液3では1より小さい値となる確率を求め、これを誤判定の発生率とした（図１）[6)]。

**表４　既知量添加法に用いた標準液 A～C の Sb、Ge 及び Y 濃度と添加した濃度**

| 測定法 | 添加した標準液 | 標準液の濃度（μg/mL） | | 添加濃度（μg/mL）* | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Sb 及び Ge | Y | Sb 及び Ge | Y |
| 既知量添加法（0.1 μg/mL 添加） | 標準液 a | 各10 | 20 | 各0.1 | 0.2 |
| 既知量添加法（0.2 μg/mL 添加） | 標準液 b | 各20 | 20 | 各0.2 | 0.2 |
| 既知量添加法（0.5 μg/mL 添加） | 標準液 c | 各50 | 20 | 各0.5 | 0.2 |

*：測定溶液中の濃度として

**表５　既知量添加法における測定時の濃度と理論値上の発光強度比**

| 試験溶液 | 測定法 | 元素 | 試験溶液の測定時の濃度（µg/mL） | 標準溶液の測定時の濃度（µg/mL） | 理論上の発光強度比（理論値） |
|---|---|---|---|---|---|
| 試験溶液 1（Sb：0.04 µg/mL）（Ge：0.08 µg/mL） | 0.1 µg/mL 添加 | Sb | 0.14 | 0.15 | 0.933 |
| | | Ge | 0.18 | 0.2 | 0.900 |
| | 0.2 µg/mL 添加 | Sb | 0.24 | 0.25 | 0.960 |
| | | Ge | 0.28 | 0.3 | 0.933 |
| | 0.5 µg/mL 添加 | Sb | 0.54 | 0.55 | 0.982 |
| | | Ge | 0.58 | 0.6 | 0.967 |
| 試験溶液 3（Sb：0.06 µg/mL）（Ge：0.12 µg/mL） | 0.1 µg/mL 添加 | Sb | 0.16 | 0.15 | 1.067 |
| | | Ge | 0.22 | 0.2 | 1.100 |
| | 0.2 µg/mL 添加 | Sb | 0.26 | 0.25 | 1.040 |
| | | Ge | 0.32 | 0.3 | 1.067 |
| | 0.5 µg/mL 添加 | Sb | 0.56 | 0.55 | 1.018 |
| | | Ge | 0.62 | 0.6 | 1.033 |

発光強度比（理論値）＝試験溶液測定時の濃度／標準溶液の測定時の濃度

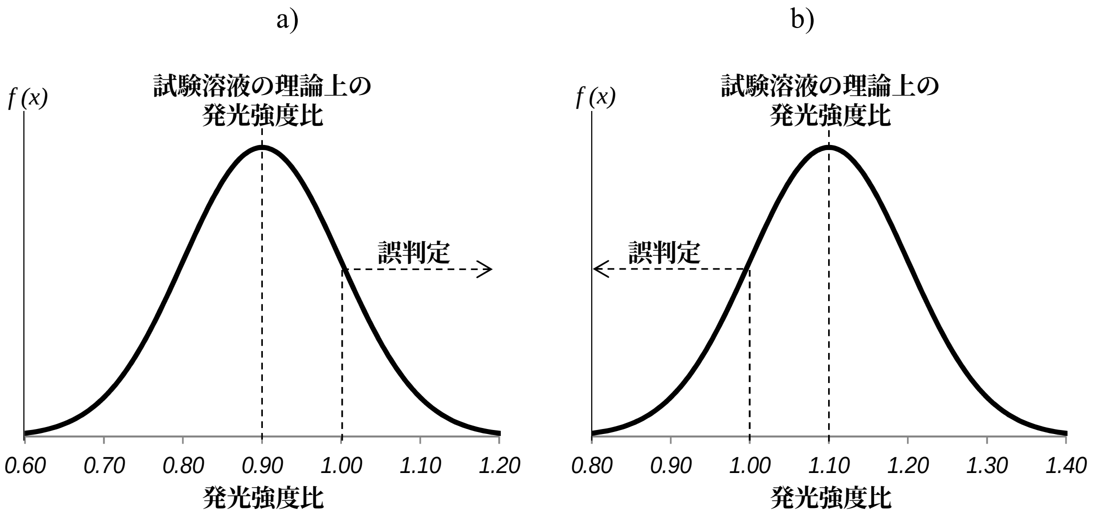



**図１　正規分布の一例**

a) 試験溶液の濃度が規格値よりも小さい場合（例　平均値：0.9, 標準偏差 0.1）

b) 試験溶液の濃度が規格値よりも大きい場合（例　平均値：1.1, 標準偏差 0.1）

## C. 研究結果及び考察

### 1．濃縮法の検討

#### 1）蒸発乾固法

平成25年度の厚生労働科学研究において、7または8機関で試験溶液200 mLを蒸発乾固させたのち、4%酢酸 20 mL に再溶解してICP-OESで測定する方法（蒸発乾固法）により試験を実施したが、半数以上の試験機関ではSb及びGeを十分に回収することができなかった[3)]。この原因として、Sb及びGeがガラス製容器に吸着したか、乾固時に揮散したためと考えられた。

そこで、標準溶液を、ガラス製結晶皿、ステンレス製、ポリプロピレン（PP）製、ポリメチルペンテン（PMP）製、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）製及びテトラフルオロエチレン・パーフルオロアルキルビニルエーテル共重合体（PFA）製ビーカーに入れ、蒸発乾固法により試験溶液を 20 倍濃縮して回収率を確認した（表6）。その結果、容器の材質の違いで回収率に若干の差は見られたが、改善はされなかった。このことから Sb 及び Ge は乾固時に揮散した可能性が高いと考えられた。

**表6　蒸発乾固法の容器の材質による Sb及びGeの回収率**

| 容器の材質 | Sb | Ge |
|---|---|---|
| ガラス | 89.1 ± 2.9 | 19.4 ± 1.3 |
| ステンレス | 69.6 ± 3.9 | 21.5 ± 5.4 |
| PP | 30.6 ± 3.1 | 0.4 ± 1.3 |
| PMP | 50.3 ± 7.9 | 21.1 ± 5.2 |
| PTFE | 64.4 ± 9.0 | 12.8 ± 5.9 |
| PFA | 47.2 ± 24.1 | 9.0 ± 2.6 |

平均値 ± SD（%），n=4 or 5

PP：ポリプロピレン、PMP：ポリメチルペンテン、PTFE：ポリテトラフルオロエチレン、PFA：テトラフルオロエチレン・パーフルオロアルキルビニルエーテル共重合体

次に、試験溶液にアンモニア水を添加して中和し、試験溶液中のSb及びGeの化学形態を変化させ、揮散を抑制させる方法を試みた。その結果、回収率はSbで約65%、Geで約87%と改善はみられたが、中和により大量の酢酸アンモニウムが生成し、ネブライザーの詰まり、測定波長への干渉等の問題が生じた。

以上から、蒸発乾固法については有用な代替法を確立することはできなかった。

#### 2）キレート法

近年、特定の金属イオンを選択して吸着または除去する用途として、キレート剤を結合させた樹脂や繊維、またはこれらを充填した固相カラムが様々な分野で使用さている。その中には Ge、As、Se、Sn、Sb などの半金属を選択的に吸着するものもある。南澤らはキレート繊維を用いた水道水中の Sb の濃縮法を報告している[4)]。そこで、この方法を参考に試験溶液中の Sb 及び Ge を濃縮する方法（キレート法）を検討した。

##### ①測定溶液の調製

標準溶液を用い、南澤らの方法[4)] を参考にして試験溶液の pH 調整、キレート繊維への吸着時間、吸着した Sb 及び Ge の溶出溶媒について検討し、それぞれの最適な条件を設定した。その結果、まず試験溶液の pH をアンモニアで 7.5～8 に調整したのち、キレート繊維 1 g を加え、30 分間撹拌し、Sb 及び Ge を繊維に吸着させた。フィルターを装着したリザーバーを用いて繊維を採取し、50 mL の PP 製遠心チューブに移した後、10%硝酸・10%酒石酸（1：1）混液 20 mL を加えた。10 分間撹拌し、フィルターを装着したリザーバーを用いて Sb 及び Ge を溶出させた。シリンジフィルターでろ過して得られた溶液を測定溶液として Sb 及び Ge を測定し、試験溶液中の濃度を求めた。

試験溶液から測定溶液を調製する一連の操作を 1 時間以内に行うことができ、蒸発濃縮法と比べて試験時間を大幅に短縮できた。

**②性能評価**

試験溶液 2 を用いて本法の性能評価を行った。内標準として Y を添加後（最終濃度：0.2 μg/mL）、ICP-OES で測定し、絶対検量線法と内標準法の両法で定量した。その定量値、真度、精度を表７に示した。Sb の真度は絶対検量線法で 71.8%、内標準法で 83.0%であり、絶対検量線法ではすべての定量値が外れ値に該当し、真度は目標値を満たさなかった。一方、Ge の真度は絶対検量線法で 85.2%、内標準法で 98.4%であり、いずれの定量値も外れ値に該当せず、真度は目標値を満たしていた。一方、$RSD_r$ 及び $RSD_i$ はそれぞれ 0.8〜1.3%、1.4〜3.9%と良好で目標値を十分満たしていた。

このようにキレート法は蒸発濃縮法と比べて短時間で試験を行うことが可能であり、使用するキレート繊維の量を調整することでより高い倍率で濃縮することも可能である。しかし、Sb の真度が低い、他の試験では使用しないキレート繊維や酒石酸が必要といった欠点があった。

**4）濃縮法の適用性と問題点**

Sb 及び Ge の溶出試験法の代替法として、蒸発乾固法の改良を試みたが、Sb や Ge の揮散により回収率が低下し、有用な代替法を確立できなかった。

一方、キレート法は加熱操作を必要としないため、Sb 及び Ge を揮散させずに濃縮することが可能である。さらに濃縮操作に要する時間も 1 時間程度と蒸発濃縮法と比べて短い。しかし、Sb の真度がやや低い、他の試験では使用しないキレート繊維や酒石酸が必要といった欠点がある。

また、これら濃縮法に共通した問題点として、規格試験法では試験溶液をそのまま GF-AAS または ICP-OES に導入して測定するため、試験溶液中の Sb 及び Ge の化学形態（酸化物、塩化物、有機錯体など）に関わらず、試験溶液中に存在するすべての Sb 及び Ge を測定しているが、濃縮法では Sb 及び Ge の化学形態によっては回収できない場合がある。すなわち、蒸発乾固法及び蒸発濃縮法では濃縮時に揮発性が高い化学形態の Sb 及び

**表７　キレート法による定量値、真度及び精度**

| 測定日 | Sb 定量値（μg/mL） | | Ge 定量値（μg/mL） | |
|---|---|---|---|---|
| | 絶対検量線法 | 内標準法 | 絶対検量線法 | 内標準法 |
| 1 | 0.34*, 0.34* | 0.41, 0.41 | 0.84, 0.84 | 1.00, 1.00 |
| 2 | 0.36*, 0.36* | 0.42, 0.43 | 0.87, 0.87 | 1.00, 0.97 |
| 3 | 0.36*, 0.36* | 0.41, 0.42 | 0.86, 0.86 | 0.98, 0.99 |
| 4 | 0.37*, 0.38* | 0.43, 0.44 | 0.86, 0.84 | 0.99, 0.97 |
| 5 | 0.36*, 0.35* | 0.39*, 0.39* | 0.84, 0.85 | 0.97, 0.97 |
| 平均値（μg/mL） | 0.36 | 0.41 | 0.85 | 0.98 |
| 真度（%） | 71.8 | 83.0 | 85.2 | 98.4 |
| $RSD_r$（%） | 1.0 | 1.3 | 0.8 | 1.3 |
| $RSD_i$（%） | 3.4 | 3.9 | 1.4 | 1.5 |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

*：外れ値（試験溶液濃度の 80〜110%の範囲から外れた定量値）

Ge は揮散し、キレート法では有機錯体などの形態の Sb 及び Ge はキレート繊維に保持されない可能性がある。今回は試験溶液として、Sb 及び Ge 標準液から調製した溶液を用いたが、実際の製品の製造業者は製造に使用する触媒などの重合助剤を公表していない。そのため、Sb 及び Ge がどのような化学形態で製品中に存在しているのか把握できず、試験溶液中の化学形態についても確認できていない。さらに、我が国では合成樹脂製品の製造に用いる物質等に関して、ポジティブリスト制度を採用していないため、重合助剤以外の添加剤等についても Sb または Ge を含有する化合物の使用の有無を把握できていない。このように、現在の我が国の規制では製品の製造に用いられる Sb または Ge 化合物が限定されていないため、試験溶液中に存在する Sb または Ge の化学形態を特定することができず、蒸発濃縮法及びキレート法で回収できない化学形態の Sb 及び Ge 化合物が存在する可能性を否定できない。そのため、これらの方法を代替法として使用する場合には、製品の製造に使用された添加剤等についても注意する必要がある。

### 2．添加法の検討

#### 1）測定条件の検討

規格試験法は、Sb 及び Ge の化学形態に関わらず、試験溶液中に存在するすべての Sb 及び Ge を対象とした試験であるため、代替法は、公定法と同様に試験溶液をそのまま測定する方法が望ましい。大部分の試験機関における ICP-OES の Sb 及び Ge の定量下限値は、規格値に近い値であったことから（表１）、測定条件や定量法を変更することで対応が可能となるのではないかと考えた。

検討に用いる測定波長として、Ge は最も発光強度が高く、ピーク形状も良好である 265.118 nm を選択した。Sb については、主な測定波長は 206.833 と 217.581 nm であり、平成 25 年度の試験室間共同試験[3] でも 12 機関中 8 機関が 206.833 nm、4 機関が 217.581 nm を使用していた。これらの発光強度は同程度であったが、206.833 nm では近傍に高いピークが存在したため、217.581 nm を選択した。今回用いた装置における 0〜0.6 μg/mL の Sb（217.581 nm）及び Ge（265.118 nm）のスペクトルを図２に示した。Sb 及び Ge は発光強度が比較的弱く、最も発光強度が高い測定波

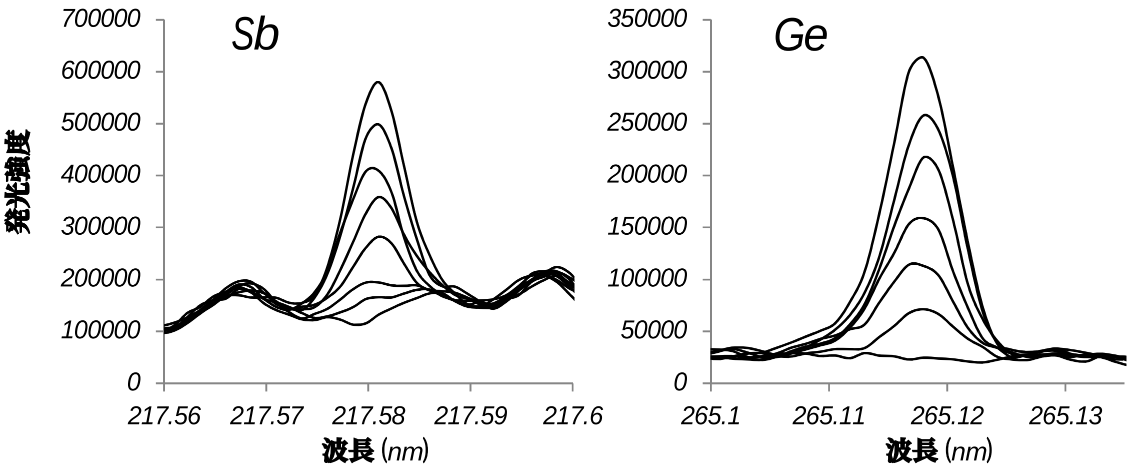



**図２　ICP-OES における Sb（217.581 nm）及び Ge（265.118nm）のスペクトル**

Sb 濃度：0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 μg/mL　　Ge 濃度：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 μg/mL

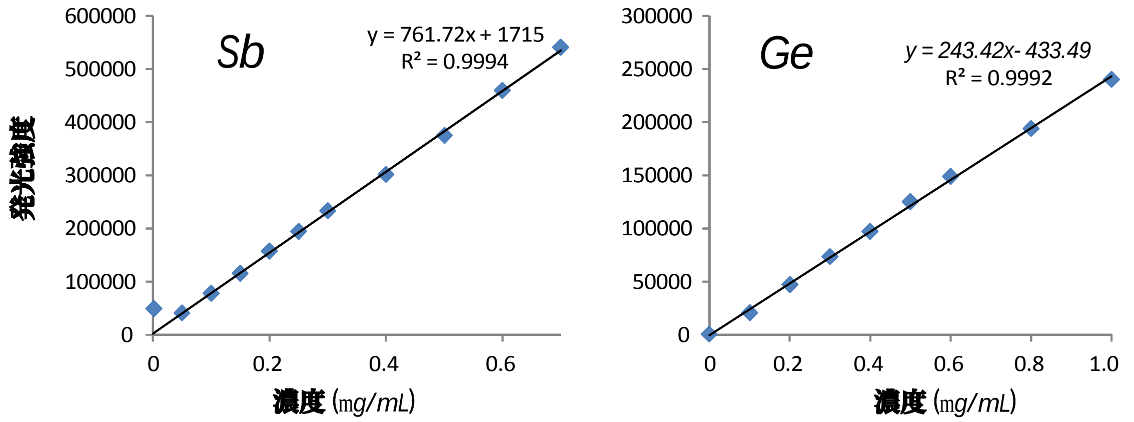



**図３　ICP-OES による Sb 及び Ge の検量線**

長においても標準溶液では、かろうじてピークと認識できる程度であった。また、Sb（217.581 nm）については、規格値の Sb よりも大きいピークが両側に存在するため、バックグラウンド（BG）補正のための測定波長の設定を慎重に行う必要があると考えられた。

選択した測定波長を用いて得られた発光強度からそれぞれの検量線を作成した。ただし、今回はピークサーチモード（PSM）で測定したため、0 μg/mL の Sb では、217.581 nm の発光強度ではなく、妨害ピークの発光強度を測定していた。そのため、Sb については 0 μg/mL の点を外して検量線を作成した。いずれの検量線も規格値付近の濃度から規格値の 5 倍程度の濃度まで広範囲で良好な直線性を有していた（図３）。さらに、これらの検量線は原点の近くを通ることから、BG 補正は適切に行われていると判断された。

このように ICP-OES では広範囲の濃度で良好な直線性を有する検量線が得られることから、既知量の Sb 及び Ge を試験溶液に添加して定量し、試験溶液中の濃度を求める方法（添加法）を用いれば、公定法と同様に試験溶液中に存在するすべての Sb 及び Ge を測定することが可能と考えた。そこで、添加法として標準添加法、並びに試験溶液及び検量線溶液に一定量の Sb 及び Ge を添加して測定する方法（既知量添加法）について検証を行い、代替法としての適用性を確認した。

**２）標準添加法**

標準添加法は、試験溶液に濃度の異なる測定対象物を添加して調製した測定溶液を測定し、測定対象物の添加濃度と各測定溶液から得られた発光強度により検量線を作成し、その検量線の切片と傾きから元の試験溶液の濃度を求める定量法である。そのため、定量下限値以上の濃度となるように測定対象物を添加すれば、絶対検量線法で定量下限値未満の試験溶液を定量することが可能である。また、標準添加法ではすべての測定溶液が同じマトリックスの溶液となるため、得られた定量値については共存物質によるマトリックス効果を考慮する必要がない。そこで、PET 製使い捨てカップを試料として得られた溶出液に Sb 及び Ge を各濃度で添加した試験溶液 1～3 を用いて標準添加法の性能を評価した。

Sb 及び Ge の検量線の一例を図４、各試験溶液の真度、$RSD_r$、$RSD_i$ 等を表８に示した。Sb の真度は 102.5～105.0%、$RSD_r$ は 2.9～6.5%、$RSD_i$ は 5.0～7.4%、Ge の真度は 94.1～99.6%、$RSD_r$ は 2.3～7.4%、$RSD_i$ は 3.9～9.5%であり、いずれも目標値を満たしていた。また、試験溶液 1 及び 3 については誤判定となる結果は存在せず、いずれも正しく適否判定を行うことができた。

一方、外れ値が Sb では 4 つ、Ge では 1 つ

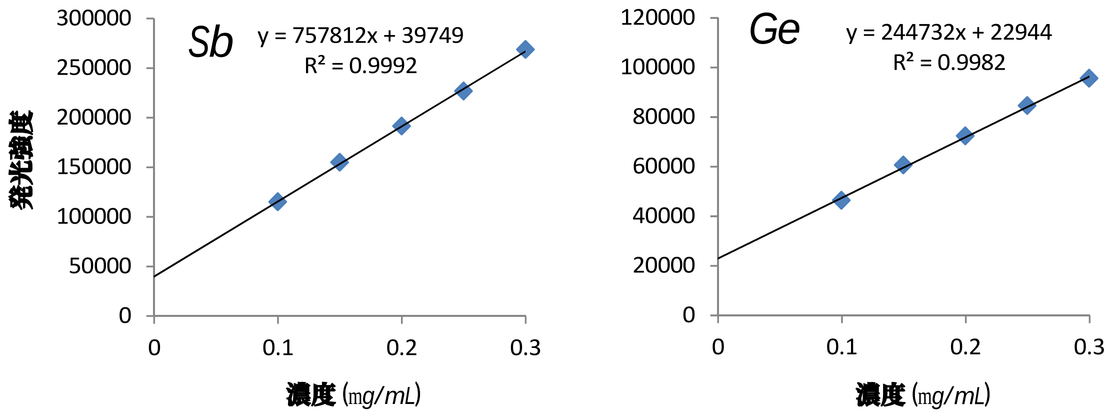



**図４　標準添加法による試験溶液 2 の Sb 及び Ge の検量線**

**表８　標準添加法における定量値、真度、精度**

| 測定日 | Sb 定量値（μg/mL） | | | Ge 定量値（μg/mL） | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 |
| 1 | 0.046[*1] | 0.051 | 0.062 | 0.084 | 0.092 | 0.116 |
| | 0.043 | 0.054 | 0.059 | 0.078 | 0.098 | 0.118 |
| 2 | 0.044 | 0.049 | 0.068[*1] | 0.086 | 0.098 | 0.112 |
| | 0.045[*1] | 0.052 | 0.065 | 0.070 | 0.085 | 0.106 |
| 3 | 0.043 | 0.053 | 0.056 | 0.078 | 0.094 | 0.115 |
| | 0.045[*1] | 0.053 | 0.063 | 0.080 | 0.095 | 0.115 |
| 4 | 0.037 | 0.053 | 0.064 | 0.069 | 0.093 | 0.132 |
| | 0.039 | 0.055 | 0.062 | 0.069 | 0.096 | 0.138[*1] |
| 5 | 0.039 | 0.050 | 0.064 | 0.088 | 0.098 | 0.121 |
| | 0.040 | 0.047 | 0.055 | 0.084 | 0.092 | 0.122 |
| 平均値（μg/mL） | 0.042 | 0.052 | 0.062 | 0.079 | 0.094 | 0.120 |
| 真度（%） | 105.0 | 103.3 | 102.5 | 98.3 | 94.1 | 99.6 |
| $RSD_r$（%） | 2.9 | 3.8 | 6.5 | 7.4 | 5.2 | 2.3 |
| $RSD_i$（%） | 7.4 | 5.0 | 6.9 | 9.5 | 3.9 | 8.5 |
| 外れ値数[*1] | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 誤判定数[*2] | 0 | ー | 0 | 0 | ー | 0 |

$RSD_r$：併行精度、$RSD_i$：室内再現精度

[*1]：外れ値（試験溶液濃度の 80～110%の範囲から外れた定量値）

[*2]：誤判定（試験溶液 1：規格値濃度より高い、試験溶液 3：規格値濃度より低い）となる結果

存在した。これらはいずれも添加量に対して110%を超えたためであった。標準添加法を用いて定量するには、通常の検量線溶液により作成した検量線が原点を通る直線でなければならない。そのため、正確なBG補正が求められるが、Sbでは測定波長の近傍にピークが存在するため正確に補正することが困難であり、定量値が真値よりも数ng/mL程度ずれることがある。また、この方法では元の試験溶液濃度が定量下限値未満となるため、x = 0の点を検量線に含めることができず、検量線の低濃度側の信頼性がやや低くなる。これらの理由から、Sbでは正確な定量値が得られない場合がある。

以上から、標準添加法は代替法として十分な性能を有していた。しかし、Sb及びGeのピーク形状、測定波長付近の妨害ピークの有無、BG値の安定性などにより適切なBG補正ができない場合は正確な定量値が得られないことがある。

### ３）既知量添加法

既知量添加法は、試験溶液に一定量の測定対象物を添加して調製した測定溶液を測定し、検量線溶液の濃度と発光強度から作成した検量線を用いて測定溶液の定量を行った後、その定量値から添加した濃度を差し引いて試験溶液の濃度を求める定量法である。そのため、絶対検量線法で定量下限値未満であった試験溶液についても、定量下限値以上の測定対象物を試験溶液に添加すれば、定量可能となる。公定法では標準溶液と試験溶液の発光強度の比較により適否判定を行うため、今回は公定法の代替法として標準溶液にも試験溶液と同じ量のSb及びGeを添加し、それぞれの発光強度を比較して適否判定を行う方法として検討した。そのため、試験溶液の定量を行う場合は、検量線溶液に試験溶液と同じ量のSb及びGeを添加し、添加前の検量線溶液の濃度をx、その発光強度（または発光強度比）をyとして検量線を作成し、測定溶液の発光強度から直接試験溶液の濃度を求めることとした。

#### ①性能評価

試験溶液1〜3を用いて既知量添加法の性能を評価した。検量線溶液及び試験溶液に添加する濃度は各試験機関の定量下限値を考慮し、0.1、0.2及び0.5 μg/mLの3濃度で行った。以下、それぞれを既知量添加法（0.1 μg/mL添加）、既知量添加法（0.2 μg/mL添加）及び既知量添加法（0.5 μg/mL添加）とした。また、定量は絶対検量線法と内標準法の両法で行った。Sb及びGeの検量線の一例を図５、各添加濃度におけるそれぞれの試験溶液の真度、$RSD_r$、$RSD_i$等を表９〜１１に示した。

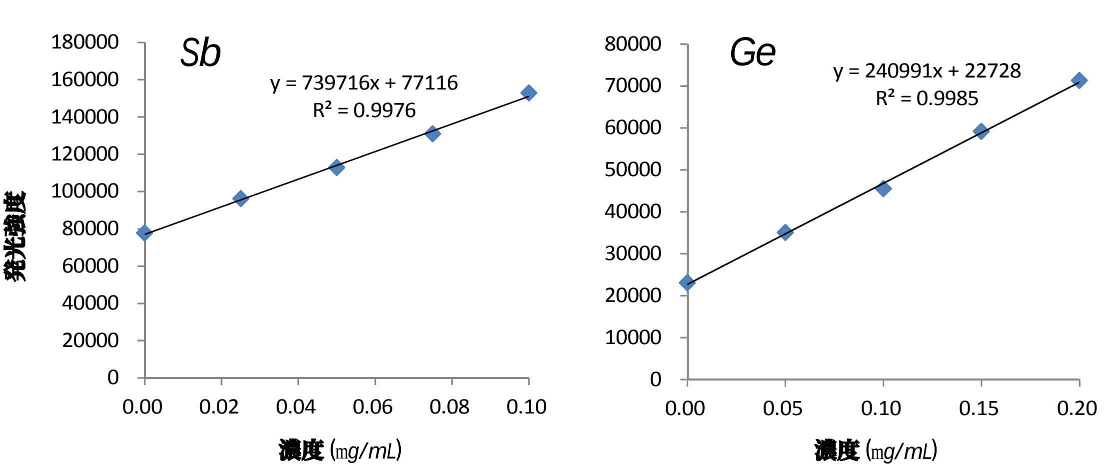



**図５　既知量添加法（0.1 μg/mL 添加）における Sb 及び Ge の検量線**

表９　既知量添加法（0.1 μg/mL 添加）における定量値、真度及び精度

| 測定日 | | 絶体検量線法（μg/mL） | | | 内標準法（μg/mL） | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 |
| Sb | 1 | 0.043, 0.041 | 0.052, 0.052 | 0.062, 0.064 | 0.040, 0.038 | 0.044, 0.053 | 0.062, 0.064 |
| | 2 | 0.043, 0.043 | 0.053, 0.051 | 0.062, 0.064 | 0.045[*1], 0.041 | 0.053, 0.053 | 0.071[*1], 0.063 |
| | 3 | 0.042, 0.044 | 0.055, 0.050 | 0.060, 0.062 | 0.040, 0.042 | 0.057[*1], 0.054 | 0.058, 0.064 |
| | 4 | 0.040, 0.043 | 0.049, 0.050 | 0.060, 0.056 | 0.038, 0.048[*1] | 0.044, 0.050 | 0.055, 0.047[*1, 2] |
| | 5 | 0.045[*1], 0.044 | 0.051, 0.056[*1] | 0.064, 0.062 | 0.043, 0.046[*1] | 0.058[*1], 0.052 | 0.058, 0.061 |
| | 平均値（μg/mL） | 0.043 | 0.052 | 0.062 | 0.042 | 0.052 | 0.060 |
| | 真度（%） | 107.1 | 103.7 | 102.6 | 105.3 | 103.9 | 100.4 |
| | $RSD_r$（%） | 3.0 | 4.4 | 3.2 | 9.5 | 7.9 | 7.5 |
| | $RSD_i$（%） | 3.7 | 4.4 | 4.4 | 9.5 | 9.6 | 11.1 |
| | 外れ値の数[*1, 3] | 1 (0) | 1 | 0 (0) | 3 (0) | 2 | 2 (1) |
| Ge | 1 | 0.076, 0.088 | 0.109, 0.108 | 0.122, 0.122 | 0.072, 0.083 | 0.096, 0.110 | 0.121, 0.121 |
| | 2 | 0.085, 0.081 | 0.098, 0.100 | 0.122, 0.122 | 0.088, 0.078 | 0.099, 0.103 | 0.135[*1], 0.121 |
| | 3 | 0.081, 0.085 | 0.093, 0.098 | 0.113, 0.124 | 0.078, 0.083 | 0.096,0.103 | 0.111, 0.127 |
| | 4 | 0.072, 0.084 | 0.101, 0.093 | 0.122, 0.117 | 0.069, 0.091[*1] | 0.093, 0.092 | 0.115, 0.105 |
| | 5 | 0.088, 0.082 | 0.103, 0.103 | 0.121, 0.122 | 0.085, 0.085 | 0.113[*1], 0.099 | 0.112, 0.121 |
| | 平均値（μg/mL） | 0.082 | 0.100 | 0.121 | 0.081 | 0.100 | 0.119 |
| | 真度（%） | 102.5 | 100.4 | 100.6 | 101.5 | 100.4 | 99.0 |
| | $RSD_r$（%） | 7.3 | 3.0 | 3.1 | 10.5 | 6.8 | 6.8 |
| | $RSD_i$（%） | 7.3 | 5.7 | 3.1 | 10.5 | 6.9 | 7.3 |
| | 外れ値の数[*1, 3] | 0 (0) | 0 | 0 (0) | 1 (0) | 1 | 1 (0) |

[*1]：試験溶液濃度の 80～110%の範囲から外れた定量値、[*2]：誤判定（試験溶液 1：規格値濃度より高い、試験溶液 3：規格値濃度より低い）となった定量値

[*3]：(　) 内は誤判定となった数

**表１０　既知量添加法（0.2 μg/mL 添加）における定量値、真度及び精度**

| | 測定日 | 絶体検量線法（μg/mL） | | | 内標準法（μg/mL） | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 |
| Sb | 1 | 0.038, 0.039 | 0.051, 0.050 | 0.060, 0.063 | 0.039, 0.032 | 0.048, 0.051 | 0.060, 0.057 |
| | 2 | 0.041, 0.043 | 0.050, 0.053 | 0.061, 0.065 | 0.035, 0.034 | 0.036*1, 0.040 | 0.045*1,2, 0.048*2 |
| | 3 | 0.038, 0.038 | 0.048, 0.050 | 0.060, 0.060 | 0.031*1, 0.036 | 0.054, 0.049 | 0.070*1, 0.086*1 |
| | 4 | 0.038, 0.039 | 0.056*1, 0.054 | 0.063, 0.063 | 0.041, 0.045 | 0.068*1, 0.048 | 0.066, 0.067*1 |
| | 5 | 0.043, 0.047*1 | 0.050, 0.056*1 | 0.058, 0.059 | 0.032, 0.041 | 0.049, 0.048 | 0.051, 0.055 |
| | **平均値**（μg/mL） | 0.040 | 0.052 | 0.061 | 0.037 | 0.049 | 0.061 |
| | **真度**（%） | 101.1 | 103.7 | 101.9 | 91.6 | 98.0 | 100.9 |
| | $RSD_r$（%） | 4.1 | 4.5 | 2.5 | 11.3 | 13.7 | 9.0 |
| | $RSD_i$（%） | 7.7 | 5.3 | 3.9 | 13.0 | 17.2 | 21.1 |
| | **外れ値の数**[*1, 3] | 1 (0) | 2 | 0 (0) | 1 (0) | 2 | 4 (2) |
| Ge | 1 | 0.089*1, 0.089*1 | 0.097, 0.107 | 0.118, 0.126 | 0.077, 0.073 | 0.090, 0.106 | 0.118, 0.121 |
| | 2 | 0.083, 0.080 | 0.095, 0.101 | 0.121, 0.126 | 0.077, 0.071 | 0.079*1, 0.086 | 0.103, 0.106 |
| | 3 | 0.082, 0.081 | 0.100, 0.108 | 0.122, 0.127 | 0.077, 0.081 | 0.108, 0.110 | 0.134*1, 0.157*1 |
| | 4 | 0.078, 0.080 | 0.096, 0.101 | 0.126, 0.119 | 0.081, 0.087 | 0.109, 0.093 | 0.129, 0.123 |
| | 5 | 0.086, 0.083 | 0.104, 0.108 | 0.128, 0.127 | 0.072, 0.076 | 0.102, 0.098 | 0.118, 0.121 |
| | **平均値**（μg/mL） | 0.083 | 0.102 | 0.124 | 0.077 | 0.098 | 0.123 |
| | **真度**（%） | 103.9 | 101.7 | 103.3 | 96.5 | 98.1 | 102.5 |
| | $RSD_r$（%） | 1.9 | 4.8 | 3.3 | 4.5 | 7.6 | 6.4 |
| | $RSD_i$（%） | 4.7 | 4.8 | 3.3 | 6.5 | 11.1 | 12.9 |
| | **外れ値の数**[*1, 3] | 2 (0) | 0 | 0 (0) | 0 (0) | 1 | 2 (0) |

[*1]：試験溶液濃度の 80～110%の範囲から外れた定量値、[*2]：誤判定（試験溶液 1：規格値濃度より高い、試験溶液 3：規格値濃度より低い）となった定量値

[*3]：(　) 内は誤判定となった数

**表１１　既知量添加法（0.5 μg/mL 添加）における定量値、真度及び精度**

| | 測定日 | 絶体検量線法（μg/mL） | | | 内標準法（μg/mL） | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 | 試験溶液 1 | 試験溶液 2 | 試験溶液 3 |
| Sb | 1 | 0.036, 0.032 | 0.034[*1], 0.041 | 0.062, 0.058 | 0.077[*1,2], 0.113[*1,2] | 0.098[*1], 0.057[*1] | 0.059, 0.037[*1,2] |
| | 2 | 0.061[*1,2], 0.050[*1] | 0.057[*1], 0.056[*1] | 0.070[*1], 0.076[*1] | 0.054[*1,2], 0.059[*1,2] | 0.050, 0.053 | 0.069[*1], 0.070[*1] |
| | 3 | 0.034, 0.042 | 0.047, 0.050 | 0.058, 0.061 | 0.039, 0.040 | 0.084[*1], 0.044 | 0.072[*1], 0.070[*1] |
| | 4 | 0.046[*1], 0.041 | 0.058[*1], 0.056[*1] | 0.066, 0.065 | 0.038, 0.020[*1] | 0.044, 0.040 | 0.057, 0.043[*1,2] |
| | 5 | 0.052[*1,2], 0.038 | 0.057[*1], 0.053 | 0.065, 0.061 | 0.032, 0.026[*1] | 0.061[*1], 0.051 | 0.058, 0.079[*1] |
| | **平均値**（μg/mL） | 0.043 | 0.051 | 0.064 | 0.050 | 0.058 | 0.061 |
| | **真度**（%） | 107.9 | 101.8 | 107.3 | 124.6 | 116.0 | 102.3 |
| | $RSD_r$（%） | 14.9 | 5.8 | 4.2 | 26.0 | 31.7 | 17.5 |
| | $RSD_i$（%） | 21.5 | 16.6 | 9.0 | 58.3 | 32.3 | 22.5 |
| | **外れ値の数**[*1, 3] | 4 (2) | 6 | 2 (0) | 6 (4) | 4 | 7 (2) |
| Ge | 1 | 0.073, 0.082 | 0.108, 0.103 | 0.134[*1], 0.117 | 0.111[*1,2], 0.074 | 0.186[*1], 0.123[*1] | 0.132, 0.093[*1,2] |
| | 2 | 0.073, 0.090[*1] | 0.108, 0.102 | 0.118, 0.143[*1] | 0.072, 0.104[*1] | 0.098, 0.098 | 0.120, 0.135[*1] |
| | 3 | 0.078, 0.085 | 0.102, 0.098 | 0.123, 0.114 | 0.082, 0.083 | 0.144[*1], 0.090 | 0.138[*1], 0.125 |
| | 4 | 0.094[*1], 0.093[*1] | 0.111[*1], 0.110 | 0.131, 0.131 | 0.085, 0.068 | 0.095, 0.090 | 0.119, 0.104 |
| | 5 | 0.081, 0.084 | 0.106, 0.097 | 0.125, 0.121 | 0.057[*1], 0.071 | 0.111[*1], 0.094 | 0.117, 0.143[*1] |
| | **平均値**（μg/mL） | 0.083 | 0.105 | 0.126 | 0.081 | 0.113 | 0.123 |
| | **真度**（%） | 104.3 | 104.5 | 104.8 | 100.7 | 113.0 | 102.1 |
| | $RSD_r$（%） | 7.9 | 3.7 | 8.1 | 21.2 | 23.5 | 13.6 |
| | $RSD_i$（%） | 9.0 | 4.8 | 8.1 | 21.2 | 27.6 | 13.6 |
| | **外れ値の数**[*1, 3] | 3 (0) | 1 | 2 (0) | 3 (1) | 4 | 4 (1) |

[*1]：試験溶液濃度の 80～110%の範囲から外れた定量値、[*2]：誤判定（試験溶液 1：規格値濃度より高い、試験溶液 3：規格値濃度より低い）となった定量値

[*3]：( ) 内は誤判定となった数

既知量添加法（0.1 μg/mL 添加）における絶対検量線法での Sb の真度は 102.6〜107.1%、$RSD_r$ は 3.0〜4.4%、$RSD_i$ は 3.7〜4.4%、Ge の真度は 100.4〜102.5%、$RSD_r$ は 3.0〜7.3%、$RSD_i$ は 3.1〜7.3%であり、いずれも目標値を満たしていた。外れ値は Sb で 2 つ存在したが、Ge では存在せず、試験溶液 1 及び 3 については誤判定となる結果は存在しなかった。一方、内標準法では $RSD_r$、$RSD_i$ ともに絶対検量線法と比べて大きく、一部は目標値から外れた。外れ値の数も増加し、Sb では誤判定となる結果が 1 つ存在した。

既知量添加法（0.2 μg/mL 添加）における絶対検量線法での真度、$RSD_r$、$RSD_i$ は Sb、Ge ともに添加量 0.1 μg/mL とほぼ同じであり、誤判定の結果は存在しなかった。一方、内標準法による Sb の結果では、$RSD_r$ 及び $RSD_i$ の値も目標値から外れており、外れ値の数が増加し、誤判定となる結果も 2 つ存在した。

既知量添加法（0.5 μg/mL 添加）では、絶対検量線法において Sb の $RSD_r$ 及び $RSD_i$ が目標値から外れ、結果の半数近くが外れ値に該当した。Ge では外れ値が 6 つ存在したが、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。一方、内標準法では Sb、Ge ともに大部分のパラメーターの値が目標値から外れており、誤判定となる結果も多くみられた。

このように、既知量添加法では試験溶液の濃度に対して添加した濃度が高いほど正確な定量値が得られなかったが、添加量が規格値の 2 倍程度であれば代替法として十分な性能を有することが示された。また、既知量添加法は測定溶液の調製操作が簡便であり、特別な試薬・試液も必要としない。さらに、標準添加法とは異なり、公定法と同様に標準溶液と発光強度の比較を行うのみで適否判定が可能である。

一方で、本法の内標準法は絶対検量線法よりも性能が劣っていた。一般的な定量法では内標準法を用いることにより測定誤差を補正することができる。しかし、既知量添加法では測定溶液の発光強度（元の試験溶液の発光強度＋添加した分の発光強度）に対して内標準の補正がかかるため、内標準の発光強度に測定誤差が存在すると、試験溶液の発光強度に対して通常の内標準補正よりも大きな影響を与えてしまう。特に今回は Y の測定波長として、Sb 及び Ge の測定波長に近い 224.306 nm を用いたが、この波長は感度が低いため測定誤差も大きいと考えられた。そのため、内標準法を用いて定量する場合は内標準の発光強度の安定性にも注意を払う必要があると考えられた。

また、既知量添加法では標準添加法と異なり共存物質の影響を無視することができないが、これは公定法も同じである。さらに、PET 製品では添加剤の使用が少ないため、溶出液中に共存物質はほとんど存在しないことから、共存物質により問題が生じることはほとんどないと考えられた。

**②誤判定が発生する確率の推定**

既知量添加法では、公定法と同様に標準溶液と試験溶液の発光強度を比較することで、判定を行うことができる。そこで、性能評価により得られた試験溶液 1 及び 3 と標準溶液（Sb：0.05 μg/mL、Ge：0.1 μg/mL の検量線溶液）の発光強度を用い、本法による試験において、試験溶液 1 及び 3 を試験した際に結果が誤判定となる確率を推定した（表１２）。

その結果、既知量添加法（0.1 μg/mL 添加）の場合の誤判定の発生率は、Sb で 0.0008 及び 0.044%、Ge で 0.033 及び 0.025%となり、誤判定が発生する割合は 1/2000 回以下であった。既知量添加法（0.2 μg/mL 添加）の場合は、Sb で 0.13 及び 0.055%、Ge で 0.20 及び 0.014%であり、1/500 回以下の発生率であることが判明した。一方、既知量添加法（0.5 μg/mL 添加）の場合は、Sb で 14 及び 6.3%、Ge で 3.3%となり、規格値の±20%の濃度の試験溶液の適否判定は困難と考えられた。

**表１２　既知量添加法における試験溶液 1 及び 3 の試験時の誤判定の発生率**

| | 測定日 | 既知量添加法（0.1 µg/mL 添加）における発光強度比 | | 既知量添加法（0.2 µg/mL 添加）における発光強度比 | | 既知量添加法（0.5 µg/mL 添加）における発光強度比 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 試験溶液 1 | 試験溶液 3 | 試験溶液 1 | 試験溶液 3 | 試験溶液 1 | 試験溶液 3 |
| Sb | 1 | 0.94, 0.93 | 1.07, 1.09 | 0.96, 0.97 | 1.05, 1.06 | 0.97, 0.97 | 1.02, 1.02 |
| | 2 | 0.96, 0.96 | 1.09, 1.10 | 0.97, 0.98 | 1.06, 1.08 | 1.02, 0.99 | 1.04, 1.05 |
| | 3 | 0.96, 0.97 | 1.08, 1.09 | 0.96, 0.96 | 1.05, 1.05 | 0.97, 0.98 | 1.01, 1.02 |
| | 4 | 0.93, 0.95 | 1.06, 1.03 | 0.95, 0.95 | 1.05, 1.05 | 1.00, 0.99 | 1.04, 1.04 |
| | 5 | 0.97, 0.96 | 1.09, 1.07 | 0.97, 0.99 | 1.03, 1.04 | 1.01, 0.98 | 1.03, 1.03 |
| | 理論上の発光強度比* | 0.933 | 1.067 | 0.960 | 1.040 | 0.982 | 1.018 |
| | 標準偏差 | 0.015 | 0.020 | 0.013 | 0.012 | 0.017 | 0.012 |
| | 1 以下となる割合 | > 0.999 | < 0.001 | 0.999 | < 0.001 | 0.859 | 0.0632 |
| | 誤判定の発生率（%） | 0.0008 | 0.044 | 0.13 | 0.055 | 14 | 6.3 |
| Ge | 1 | 0.89, 0.95 | 1.12, 1.12 | 0.96, 0.97 | 1.06, 1.09 | 0.96, 0.97 | 1.06, 1.03 |
| | 2 | 0.95, 0.92 | 1.14, 1.14 | 0.91, 0.90 | 1.04, 1.06 | 0.94, 0.97 | 1.02, 1.06 |
| | 3 | 0.93, 0.95 | 1.10, 1.16 | 0.94, 0.93 | 1.07, 1.09 | 0.96, 0.97 | 1.04, 1.02 |
| | 4 | 0.87, 0.93 | 1.11, 1.09 | 0.91, 0.92 | 1.06, 1.04 | 1.00, 1.00 | 1.06, 1.06 |
| | 5 | 0.91, 0.89 | 1.07, 1.08 | 0.95, 0.94 | 1.08, 1.08 | 0.98, 0.99 | 1.06, 1.05 |
| | 理論上の発光強度比* | 0.900 | 1.100 | 0.933 | 1.067 | 0.967 | 1.033 |
| | 標準偏差 | 0.029 | 0.029 | 0.023 | 0.018 | 0.018 | 0.018 |
| | 1 以下となる割合 | > 0.999 | < 0.001 | 0.998 | < 0.001 | 0.967 | 0.033 |
| | 誤判定の発生率（%） | 0.033 | 0.025 | 0.20 | 0.014 | 3.3 | 3.3 |

*：理論上の発光強度比＝試験溶液の測定時の濃度／標準溶液の測定時の濃度

**5）添加法の適用性と問題点**

試験溶液に化学的または物理的処理を施さずに測定する方法として、標準添加法及び既知量添加法について検討を行った。これらの代替法は、操作が簡便で、使用する試薬・試液、要する時間、装置の条件等は公定法とほぼ同じであるため、すべての試験機関で実施することができるという大きな利点を有していた。

標準添加法の性能パラメーターの値は目標値を満たしており、代替法として十分な性能を有していた。本法は共存物質の影響を考慮する必要がないという利点があるが、適切なBG 補正を要する。そのため、Sb 及び Ge のピーク形状、測定波長付近の妨害ピークの有無、BG 値の安定性などの理由により正確な定量値が得られない場合がある。しかし、今回の性能評価では、誤判定となる結果は存在しなかったことから、試験溶液の濃度が規格値の濃度の 80%以下または 120%以上であれば、正しく適否判定を行うことができる。

既知量添加法においては、添加量が規格値の 2 倍程度であれば代替法として十分な性能を示した。さらに本法は公定法と同様に標準溶液と試験溶液の発光強度を比較して適否判定を行うことができる。しかし、試験溶液の濃度に対して添加した濃度が高いほど正確な定量値が得られにくくなり、添加量が定量濃度の 10 倍になると必要な性能が得られなかった。さらに、内標準法を用いる場合はその発光強度の安定性にも注意を払う必要があった。

**D. 結論**

ICP-OES を用いた公定法による Sb 及び Ge 試験は、半数以上の試験機関では定量下限値が高く、試験溶液をそのまま装置に導入して試験することができない。そこで、代替法として、試験溶液を濃縮して測定する蒸発乾固法及びキレート法、試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法について検討し、その適用性を検証した。

試験溶液を蒸発させて乾固する蒸発乾固法では、Sb 及び Ge の揮散を防ぐ方策を見出すことができず、適用可能な方法を確立できなかった。試験溶液中の Sb 及び Ge をキレート繊維に吸着させて濃縮するキレート法は代替法として十分な性能を有していたが、公定法では使用しないキレート繊維や試薬・試液が必要であった。また、これらの試験溶液を濃縮する方法に共通する問題点として、試験溶液中の Sb 及び Ge の化学形態によっては回収できない場合がある。そのため、これらの試験法を代替法として使用する場合には、製品の製造に使用された添加剤等や製品または試験溶液中の化学形態についても注意を払う必要がある。

試験溶液に Sb 及び Ge を添加し定量可能な濃度として測定する標準添加法及び既知量添加法は代替法として十分な性能を有していた。これらは特別な試薬や装置を必要とせず、大部分の試験機関で実施することが可能なため代替法として有用であると考えられた。ただし、標準添加法は共存物質の影響を考慮する必要がないが、BG 補正が不適切であった場合は正確な定量値が得られないため、測定条件の設定を慎重に行う必要があった。既知量添加法は公定法と同様に標準溶液と試験溶液の発光強度を比較して適否判定を行うことができるが、内標準法を用いる場合はその発光強度の安定性にも注意を払う必要があった。

## E. 参考文献


1) 原口紘炁、ICP 発光分析の基礎と応用（ISBN4-06-139677-3）、講談社サイエンティフィク編、p 282-285 (1986)
2) 衛生試験法・注解 2010、日本薬学会編、金原出版株式会社、p 626-627 (2010)
3) 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業　食品用器具・容器包装に含有される化学物質の分析に関する研究　総括・分担報告書、p 13-32 (2014)
4) 南澤宏明、小嶋智文、斎藤和憲、渋川雅美、朝本紘充、中釜達朗、キレート繊維 GRY を用いた微量アンチモンの誘導結合プラズマ発行分析（ICP-AES）、日本大学生産工学部研究報告 A、43, 1-5 (2010)
5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知（平成 20 年 9 月 26 日食安発第 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 (2008)
6) 田中秀幸、分析・測定データの統計処理 分析化学データの扱い方（ISBN978-4-254-12198-8）、朝倉書店、p 52-64 (2014)


## F. 健康危害情報

なし

# 研究成果の刊行に関する一覧表

## 雑　誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|---|---|---|---|
| 村上　亮、六鹿元雄、阿部　孝、阿部　裕、大坂郁恵、大野春香、大野浩之、大野雄一郎、尾崎麻子、柿原芳輝、河崎裕美、小林　尚、柴田　博、城野克広、関戸晴子、薗部博則、高坂典子、但馬吉保、田中　葵、田中秀幸、野村千枝、羽石奈穂子、疋田晃典、三浦俊彦、渡辺一成、穐山　浩 | ポリエチレンテレフタレート製器具・容器包装におけるアンチモン及びゲルマニウム溶出試験の試験室間共同試験 | 食品衛生学雑誌 | 56 | 印刷中 | 2015 |
| 柴田　博、六鹿元雄、阿部　裕、伊藤禎啓、大坂郁恵、大野春香、大野浩之、大野雄一郎、尾崎麻子、柿原芳輝、小林　尚、城野克広、関戸晴子、薗部博則、高坂典子、但馬吉保、田中　葵、田中秀幸、中西　徹、野村千枝、羽石奈穂子、疋田晃典、三浦俊彦、山口未来、渡辺一成、穐山　浩 | ゴム製器具・容器包装における亜鉛試験の試験室間共同試験 | 食品衛生学雑誌 | 56 | 印刷中 | 2015 |