

令和元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・容器包装等の 安全性確保に資する研究

総括・分担研究報告書

令和2(2020)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・容器包装等の安全性確保に資する研究 六鹿元雄	・・・1
II. 分担研究報告書	
1. 規格試験法の性能に関する研究 六鹿元雄	・・・11
<その1> 器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験 に係わる試験法の性能評価 片岡洋平、阿部 裕、四柳道代、六鹿元雄	・・・14
別添 平成31年度 試験室間共同試験 計画書	・・・36
<その2> 器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験 に係わる試験法の改良等の検討 片岡洋平、四柳道代、阿部 裕、六鹿元雄	・・・46
2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究 阿部 裕	・・・58
<その1> 窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS による ジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認 阿部 裕、山口未来、大野浩之、六鹿元雄	・・・60
<その2> 窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS の フタル酸エステル試験への適用 阿部 裕、山口未来、六鹿元雄	・・・67
<その3> 食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討 六鹿元雄、阿部 裕、片岡洋平、山口未来、安藤百合	・・・78
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・97

## 食品用器具・容器包装等に使用され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 食品添加物部 室長

### 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、製品の多様化、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。さらに近年では、食品の安全性に関する関心が高まり、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。そこで本研究では、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性確保及び向上を目的として、規格試験法の性能に関する研究ではビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究では窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験法への適用及び食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

ビスフェノール A 溶出試験法について、23 試験所が参加する室間共同実験を実施した。室間共同実験により得られた分析結果を、国際的なハーモナイズドガイドラインに沿って統計的に解析した。その結果として推定された  $RSD_R$  と Horwitz/Thompson 式を用いて計算される  $PRSD_R$  から算出される HorRat 値を指標として評価した結果、浸出用液が水、4% 酢酸、20% エタノールの試料を分析する場合は、Codex 委員会が分析法承認のために設定している性能規準の指標値を満たしており、告示試験法の妥当性が確認された。しかし、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、Codex 委員会が示す分析法の性能規準の指標値を満たさない場合があり、告示試験法の妥当性は確認されなかった。また、クロマトグラムにおける各分析対象物質のピーク形状の対称性も悪いことが確認された。以上の結果から、浸出用液がヘプタンの場合の告示試験法については、改良の必要性が考えられた。

ビスフェノール A 溶出試験法への LC-MS 法または LC-MS/MS 法の適用性を 23 試験所が参加する共同実験により検証した。その結果、共同実験の計画書で設定した  $RSD_r$ 、 $RSD_R$  を満たすことができない場合や真度を満たさない試験所が多数あったことから、現状では規格試験への適用が難しいことが示唆され、さらなる検討が必要であることが明らかとなった。また、浸出用液がヘプタンである場合について改良法を作成した。本改良法は規格の適否判定を行うための分析法として適切な水準にある可能性が期待された。さらに、紫外吸光度検出器に代わる検出器として蛍光検出器の適用を検討した結果、4 種すべての浸

出用液の場合で、蛍光検出器による分析と定量が可能であることが確認され、代替法として活用可能であることが示唆された。今後は、これら2つの分析法について性能を評価し、規格の適否判定を行うための分析法としての妥当性を確認するために、室間共同実験等の実施が必要である。

ジブチルスズ化合物試験法において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかった。一方、ヘリウムと比べて窒素における感度は約25%の減少し、さらにバックグラウンドのノイズが増加した。そのため、S/Nは1/10以下に低下した。しかし、限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能と考えられる性能を有していた。

GC-MSを用いたフタル酸エステル試験において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかったが、ピーク面積値は10~50%減少した。そこで、カラムサイズを細く短いものに変更し、流速を下げて測定した。その結果、S/Nは10~20倍に改善した。一方、DNOP、DINP及びDIDPについては感度が不十分だったため、大量に含有されている場合は適否判定を行う事は出来ると推測されたが、規格値相当含有されている場合は適否判定を行うことができる水準ではなかった。しかしながら他の可塑剤が共存していてもこれらのPAEsを含有している可能性のある試料を選別することは可能であると考えられた。

日本、米国及び欧州連合における酸性食品の区分とその食品擬似溶媒は整合化されておらず、器具・容器包装の輸出入時の規格適合性確認、並びに新規物質の健康影響評価の円滑な運用を妨げる可能性がある。そこで、器具・容器包装の規格基準における酸性食品の区分と溶出試験で用いる浸出用液の検討を行った。その結果、食品の製造基準ではボツリヌス食中毒の発生防止という観点からpH4.6を指標としており、器具・容器包装の規格においても酸性食品の指標となるpH値を現行の5から4.6へ変更することが望ましいと考えられた。さらに、3%酢酸と4%酢酸について浸出用液としての同等性を検証したが、物質の分配係数によって溶出傾向が異なることから、これらを同等と見なすことができなかった。各種飲料への溶出量を対照として食品擬似溶媒としての妥当性を検証したところ、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。

#### 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、製品の多様化、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。さらに近年では、食品の安全性に関する関心が高まり、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。そこで本研究では、器具・容器包装等の安全性に対する信頼性確保及び向上を目的として、規格試験法の性能に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究を実施した。

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が定められている。しかし、多くの試験法については、その性能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。そこで、そこで、器具・容器包装の規格試験に対する信頼性確保及び向上を目的として、ビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究を実施した。

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る。製品には原料、添加剤、不純物等の様々な化学物質が残存し、これらの化学物質は食品や唾液を介してヒトを曝露する可能性がある。したがって、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やその溶出量を把握することが重要である。また、これらの化学物質には分析法がないものや、分析法があっても改良すべき課題を有するものがあるため、これらを解決するための検討も必要である。さらに、近年ヘリウムガスの供給不足が度々発生しており、今後ヘリウムガスの入手が困難となった場合に対応するため、使用実態がほとんどない窒素キャリアーガスの適用性を確認しておく必要がある。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、窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS によるフタル酸エステル試験法の検討、食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

## B. 研究方法

### 1. 規格試験法の性能に関する研究

## 1) 器具・容器包装におけるビスフェノール

### A 溶出試験に係わる試験法の性能評価

#### ①共同試験

共同試験には、民間の登録検査機関の 10 試験所と公的な衛生研究所などの 11 試験所が参加した。

検体としてビスフェノール A、フェノール及び *p*-tert-ブチルフェノールを含む 8 種の溶液を参加機関に濃度非明示で配付し、1 検体につき 2 回の試験を実施した。

#### ②結果の解析

参加試験所から報告された室間共同実験結果は Codex 分析・サンプリング部会の関連文書である CXG64-1995 に示されたプロトコールにしたがい、Microsoft Excel 2019 を使用して解析した。解析で併行相対標準偏差( $RSD_r$  %)、室間再現相対標準偏差( $RSD_R$  %)及び  $RSD_R$  と Horwitz/Tompson 式で予測される室間再現相対標準偏差( $PRSD_R$  %)の比である HorRat 値を算出した。なお、 $PRSD_R$  は各検体の濃度に対応する Horwitz/ Tompson 式である  $PRSD_R \% = 2C^{-0.1505}$  ( $C$ : 検体濃度)から算出した。また、HorRat 値による分析法の性能評価における性能規準の指標として Codex 委員会の手順書を参照した。この手順書では、分析法の性能規準として、HorRat 値が 2 以下を設定している。

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

$RSD_r$  : 10%以下

$RSD_R$  : 25%以下

真度 80%~110%

なお、真度は、各試験所の分析値の平均値と検体濃度の比の百分率で算出した。

## 2) 器具・容器包装におけるビスフェノール

### A 溶出試験に係わる試験法の改良等の検討

#### ①共同試験及び結果の解析

1) と同じ

#### ②改良法

試料 25 mL を分液漏斗に移し、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、アセトニトリル層を 100 mL のナスフラスコに移した。ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のナスフラスコに合わせた。次いでナスフラスコにキーパーとして 2% ジエチレングリコール-アセトン溶液 0.5 mL を添加し、40°C の水浴で加温しつつ、エバポレーターにより溶媒を留去した。これに 50% アセトニトリルで 25 mL に定容して測定溶液とした。

検量線用測定溶液は、試料の浸出用液の種類（ただし、試料 7 及び試料 8 は 50% アセトニトリル）に対応する 10 mg/L の標準溶液を正確に 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL 及び 5 mL をとり、それぞれの浸出用液を用いて正確に 20 mL とした（0.5 mg/L、1 mg/L、1.5 mg/L、2 mg/L、2.5 mg/L）。また、0 mg/L としてそれぞれの浸出用液を用いた。

## 2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究

### 1) 窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認

#### ① 試験溶液及び測定溶液の調製

試験溶液の調製は公定法にしたがった。すなわち、細切した試料 0.5 g を共栓付きフラスコに採り、アセトン・ヘキサン混液 (3:7) 20 mL 及び塩酸 50 µL を加え、密栓をして約 40°C の恒温槽内で一晩放置した。冷後、この液をろ紙（定量 5C）ろ過し、ろ液及びアセトン・ヘキサン混液 (3:7) による洗液を合わせ、減圧濃縮器を用いて 40°C 以下で約 1 mL まで濃縮した。次いで、ヘキサンを用いて 25 mL のメスフラスコに移し、さらにヘキサンを加えて 25 mL に定容した。毎分 2500 回転で約 10 分間遠心分離を行い、上澄液を試験溶液とした。

試験溶液 2 mL をとり、酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 5 mL 及びテトラエチルホウ酸ナトリウム試液 1 mL を加えて直ちに密栓し 20 分間激しく振り混ぜた（振とう速度：300 回/分）。これを室温で約 1 時間静置した後、上澄液を採取し測定溶液とした。

#### ② 測定条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 µm, Agilent Technologies 社製)

カラム温度：45°C (4 分間保持) -15°C/min (昇温) -300°C (10 分間保持)

注入口温度：250°C

注入モード：スプリットレス

注入量：1 µL

キャリアガス及び流量：He 0.8 mL/min、N<sub>2</sub> 0.8 mL/min (定流量)

トランスファーライン温度：280°C

イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

測定モード：SIM

定量イオン (*m/z*)：263

確認イオン (*m/z*)：261 及び 259

### 2) 窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験への適用

#### ① 試料及び試験溶液の調製

試料は PAEs の含有が確認されなかった軟質 PVC 製おもちゃ 27 検体を用いた。

細切した試料 0.5 g を精秤して 50 mL 容の三角フラスコにとり、アセトン・ヘキサン混液 (3:7) 30 mL を加えて振り混ぜた後、密栓をして約 40°C の恒温槽内で一晩静置した。冷後ろ紙ろ過し、アセトンで三角フラスコ及び漏斗を洗い、得られたろ液及び洗液を合わせアセトンで 50 mL に定容した。この液を試料抽出液とした。

DBP、BBP、DEHP 及び DNOP 標準原液各 0.5 mL を 50 mL 容の三角フラスコにとり、試料抽出液を加えて 50 mL としたものを 4 種混合 PAEs 添加試験溶液とした。また、DNOP

標準原液を除く 3 種の標準原液を用いて上記と同様に調製したものを 3 種混合 PAEs 添加試験溶液とした。また、DINP または DIDP 標準原液を用いて同様の操作を行ったものをそれぞれ DINP 添加試験溶液及び DIDP 添加試験溶液とした。

#### ②GC/MS 条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d.×30 m、膜厚 0.25 μm、Agilent Technologies 社製)

カラム温度：100°C-15°C/min (昇温) -300°C (10 分間保持)

注入口温度：250°C

注入モード：スプリットレス

注入量：1 μL

キャリアガス及び流量：He 0.8 mL/min、N<sub>2</sub> 0.8 mL/min (定流量)

トランスファーライン温度：280°C

イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

測定モード：SIM

### 3) 食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討

#### ①食品の pH 測定

食品・土壌用の突き刺し型 pH 計 (YK-21PH、株式会社佐藤商事) を用いた。試料は室温 (約 25°C) になるまでしばらく放置した。液体の場合は電極を試料に浸し、個体の場合は電極を試料に押し付けるようにして測定した。

#### ②溶出試験

試料を 2 cm×5 cm (10 cm<sup>2</sup>、両面 20 cm<sup>2</sup>) に切断し、あらかじめ試験温度まで加熱した浸出用液 40 mL に入れ、30 分間加熱した。浸出用液から試料を取り出し、室温まで冷却したものを試験溶液とした。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 規格試験法の性能に関する研究

#### 1) 器具・容器包装におけるビスフェノール

##### A 溶出試験に係わる試験法の性能評価

全 23 試験所のうち 4 試験所については、規定の注入量を満たす分析機器を所持していないなど、分析環境の制約により計画書にしたがった分析が行えなかった。このため、19 試験所から報告された各検体の分析結果を解析した。

各検体について外れ値を検定したところ、最大 3 試験所の分析結果が外れ値に該当した。ただし、検体 7 から調製した試料の分析結果からは、試験所間でのばらつきが比較的大きいことが主要因となり、外れ値が検出されなかった。性能パラメーターはこれらの外れ値を除外して推定した。

性能パラメーターを推定した結果、RSD<sub>r</sub> は 0.14~4.4%、RSD<sub>R</sub> は 2.5~36%であった。このうち、浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノールとした検体 1~6 の分析の場合では、RSD<sub>r</sub> は 0.14~0.57%、RSD<sub>R</sub> は 2.5~4.6%であったのに対し、浸出用液をヘプタンとした検体 7 及び検体 8 の分析では、RSD<sub>r</sub> は 1.2~3.5%、RSD<sub>R</sub> は 7.5~36%であり、試験所内、試験所間での分析結果のばらつきが大きかった。また、浸出用液がヘプタンの場合は、クロマトグラムにおける分析対象物質のピーク形状が対称とならずに崩れる場合があった。

浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノールとした検体 1~検体 6 の分析での HorRat 値は、0.17~0.28 の範囲にあり、Codex 委員会の指標値 2 を下回っていた。浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールである場合の分析では、HPLC により測定するだけの分析工程が単純であるため、分析値のばらつきが小さくなったことが推察された。

一方、浸出用液をヘプタンとした検体 7 及び検体 8 の分析での HorRat 値は、0.54~2.5 の範囲にあった。このうち高濃度の試料 7 では、HorRat 値は、分析対象化合物を通じ 0.54~2.5 の範囲にあり、特に、ビスフェノールの分析では HorRat 値が 2.5 と Codex 委員会が示す性能規準の指標値 2 を上回っていた。

各性能パラメーターの目標値と比較したとこ

ろ、 $RSD_R$  は、浸出用液がヘプタンのビスフェノール A 分析では目標値(25%以下)を満たさなかった。真度は、浸出用液が水、20%エタノール、4%酢酸のフェノール分析で目標値(80%~110%)を満たさない試験所が 1 試験所あり、浸出用液がヘプタンの場合のビスフェノール A 分析では、約 50%の試験所で目標値を満たさず、フェノール分析、*p-tert*-ブチルフェノール分析でも、それぞれ約 30%、約 20%の試験所で目標値を満たさなかった。

以上の結果から、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、告示試験法の性能が妥当といえる水準にあることが期待されなかったことから、告示試験法の改良を検討する必要があると考えられた。

## 2) 器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる試験法の改良等の検討

### ①LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同実験

LC-MS 法及び LC-MS/MS 法による分析結果を解析したところ、 $RSD_r$  は浸出用液がヘプタンの検体 8 で LC-MS 分析で目標値(10%以下)を満たさなかった。 $RSD_R$  は、浸出用液が 20%エタノールの検体 6 と浸出用液がヘプタンの検体 7 の LC-MS 分析、ならびに浸出用液がヘプタンの検体 7 と検体 8 の LC-MS/MS 分析で目標値(25%以下)を満たさなかった。真度は、検体 1 の LC-MS/MS 分析以外では目標値を満たさない試験所が多数あった。特に、浸出用液がヘプタンの検体 7、検体 8 の分析では、約半数以上の試験所で目標値を満たさなかった。

以上の結果と前章の告示試験法の結果と比較すると、LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の性能は告示試験法よりも低く、規格を判定する分析法として妥当な水準にないことが示唆された。

### ②告示試験法の改良

告示試験法の測定溶液はアセトニトリルであるため、各分析対象化合物のピーク形状が対

称とならずに崩れる現象が見られた。そこで、測定溶液のアセトニトリルの割合を 50%に低下させたところ、ピーク形状が改善した。

測定溶液の調製法について、ヘプタンから転溶後のアセトニトリルを留去し、改めて 50%アセトニトリルで定容することを検討した。キーパーを入れずにアセトニトリルを留去したところ、真度はフェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールでそれぞれ 90%未満となり、これらの蒸発が疑われた。そのため、キーパーとして 2%ジエチレングリコール-アセトン溶液を 0.5 mL 添加した。その結果、すべての分析対象化合物で真度が改善し、ほぼ 100%となった。以上の結果から、測定溶液の調製法は、ヘプタンの溶出液をアセトニトリルに転溶後、2%ジエチレングリコール-アセトン溶液 0.5 mL を添加し、エバポレーターでアセトニトリルを留去後、50%アセトニトリルで 25 mL に定容することとした。

告示試験法の検量線用測定溶液は水で調製することになっており、測定溶液と異なる。このため、測定の際の吸光度に違いが生じ、分析値に影響を及ぼすと考えられた。そこで、検量線用測定溶液のアセトニトリルの割合についても 50%とし、調製では 50%アセトニトリルを用いることにした。

改良分析法の性能評価を行った結果、併行精度( $RSD\%$ )は 0.9~1.3%、真度 98~100%であり、ビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを公定法よりも優れた性能で定量可能であることが示唆された。

### ③HPLC-FL 法の検討

蛍光検出器による分析法の適用性を検証した。各浸出用液における検量線用測定溶液及び測定溶液を蛍光検出器により分析した結果、各分析対象化合物のクロマトグラムにおけるピーク形状は対称かつシャープであり、またピークの近傍に定量を著しく妨害するようなピークは見られなかった。性能評価を行った結果、併行精度は 0.1~2.9%、真度は 94~102%であり、



HPLC-FL 法はビスフェノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを分析時に大きな支障をきたすことなく定量可能な分析法であり、公定法の代替法としての活用が期待できると考えられた。

## 2. 市販製品に残存する化学物質に関する研究

### 1) 窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認

#### ①ヘリウムキャリアーと窒素キャリアーの比較

ジブチルスズ化合物標準溶液を誘導体化した標準測定溶液を用いて、ヘリウム及び窒素キャリアーの比較を行った。その結果、ジブチルスズ化合物誘導体の保持時間及びピーク形状は、いずれもヘリウムの場合とほぼ同じであった。また、得られたマススペクトルを比較したところ、窒素キャリアーではヘリウムキャリアーと比べてバックグラウンドに由来するイオンが高く検出された。しかし、ジブチルスズ化合物誘導体に由来するイオンやこれらの強度比に大きな差はなかった。一方、ピーク面積値は約 20%減少した。さらに、窒素キャリアーの場合はノイズレベルが高いため S/N が 1/10 以下に大きく低下した。しかし、適否判定は可能と考え、適用性に問題ないと判断した。

#### ②妥当性確認

限度分析法としての妥当性を確認した結果、標準測定溶液におけるジブチルスズ化合物誘導体のピーク面積値 ( $SI_{\text{standard}}$ ) の平均値に対する添加試料の分析により得られたピーク面積値 ( $SI_{\text{sample}}$ ) の平均値の比 ( $SI_{\text{ratio}}$ ) は試料 1 では 0.96、試料 2 では 0.94 であった。また、 $SI_{\text{standard}}$  の相対標準偏差 ( $S_{\text{standard}}$ ) は 4.9、 $SI_{\text{sample}}$  の相対標準偏差 ( $S_{\text{sample}}$ ) は 5.4 及び 4.2 であり、限度試験の目標値 ( $SI_{\text{ratio}} : 0.9-1.0$ 、 $S_{\text{standard}} : < 5$ 、 $S_{\text{sample}} : < 15$ ) を満たしており、本法の

性能は限度分析法として妥当であると判断した。

定量分析法としての妥当性を確認した結果、真度は 99.4 及び 98.8%、併行精度は 3.1 及び 6.3%、室内精度は 6.1 及び 9.9%であった。真度は CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL (Twenty-Seventh edition) が定めるサンプル濃度 100 mg/kg における目標値 (90-107%) を満たした。また  $RSD_r$  及び  $RSD_R$  は、GUIDELINES ON GOOD LABORATORY PRACTICE IN PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS (CAC/GL 40) が定める試験室内妥当性確認の基準 (サンプル濃度 > 1 mg/kg の場合の  $RSD_r : 10\%$  及び  $RSD_R : 16\%$ ) を満たした。以上の結果から本法の性能は定量分析法として妥当であると判断した。

### 2) 窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験への適用

#### ①ヘリウムキャリアーと窒素キャリアーの比較

標準溶液を用いて、ヘリウム及び窒素キャリアーの比較を行った。その結果、保持時間は大きく変わらずピーク形状も良好であった。また、得られたマススペクトルを比較したところ、窒素キャリアーではヘリウムキャリアーと比べてバックグラウンドに由来するイオンが高く検出された。しかし、PAEs に由来するイオンやこれらの強度比に大きな差はなかった。一方、ピーク面積値は 10~50%減少し、S/N は大幅に低下し、窒素キャリアーでは適否判定は困難と考えられた。

#### ②カラムサイズの変更

MSD に導入される窒素ガスの絶対量を減らしてノイズを低減し、結果として S/N の改善が期待される。しかし同一のカラムでは窒素の流量を下げると十分なカラム圧力及び注入口圧力が得られず、さらに保持時間が遅くなる。そこで、機器メーカーが推奨するカラ

ムサイズに変更し（内径：0.25 mm → 0.18 mm、長さ：30 m → 20 m）、さらに流速は最適線速度となるように調整し 0.25 mL/min とし測定した。その結果、DEHP の保持時間は 11.6 分となり、公定法で指定された保持時間と比べ 1 分以上遅くなったが、ピーク面積値はほぼ同程度であったが、S/N は 10~20 倍と大きく改善した。一方、DNOP、DINP 及び DIDP の S/N が 100 未満であり、カラムサイズを変更しても適否判定を行うことは難しいと考えられた。

### ③妥当性確認

DBP、BBP 及び DEHP の 3 種類を対象として限度分析法としての妥当性を確認した結果、 $S_{\text{standard}}$  及び  $S_{\text{sample}}$  はそれぞれ 3.0~4.6% 及び 1.9~7.3% であり、全て目標値（< 5% 及び < 15%）を満たした。一方、 $SI_{\text{ratio}}$  は 1.14~1.63 であり、全て目標値（0.9~1.0）を満たさなかった。これは試験溶液中の塩ビオリゴマーのマトリックス及び大量に共存する他の可塑剤による増感効果が原因であると考えられた。また、この溶液を 2 倍に希釈して測定したところ、 $SI_{\text{ratio}}$  は 1.03~1.20% となった。試験溶液の希釈により一部は改善されたが、規格試験法としては十分な性能が得られなかった。しかし、DBP、BBP 及び DEHP の重水素体（d 体）を内部標準として用いた内標法の場合は  $SI_{\text{ratio}}$  は 1.00~1.04、 $S_{\text{standard}}$  は 0.6~1.6%、 $S_{\text{sample}}$  は 1.0~1.6% であり、全て目標値を満たした。

DNOP、DINP 及び DIDP については、含有可塑剤の種類及び量が多種多様な 27 種類の PVC 玩具から得られた試料抽出液に DNOP、DINP 及び DIDP 添加した溶液を測定し、DNOP、DINP 及び DIDP を含有する試料を選別することが可能かどうか検討した。

その結果、DNOP、DINP 及び DIDP を含有しているかどうかの判断は可能であると考えられた。しかし DNOP と DEHP は装置によっては保持時間が他の繁用可塑剤と完全に重複する可能性があるため、標準品などを用い

てこれらがわずかでも分離することを事前に確認しておく必要がある。

## 3) 食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討

### ①日米欧における食品分類と食品擬似溶媒の違い

米国では、pH 5.0 を超えるものが「I 非酸性水溶性食品」に分類されることから、「II 酸性水溶性食品」の pH 5.0 以下の食品が「酸性食品」に該当する。また、これらの食品擬似溶媒として 10% エタノールを用いることが推奨されている。一方、欧州連合では pH 4.5 未満の食品を「acidic foods」としており、食品擬似溶媒として 3% 酢酸を用いる。日本の食品衛生法では、油脂及び脂肪性食品（油性食品）並びに酒類以外の食品で pH 5 を超えるものを「酸性食品」に分類し、浸出用液（食品擬似溶媒）として 4% 酢酸を用いる。しかし、食品健康影響評価指針では、pH 4.6 以下の食品を酸性食品としている。このように日米欧では酸性食品の範囲とその食品擬似溶媒が異なっている。

食品衛生法の「食品、添加物等の規格基準第 1 食品 D 各条」において、「○清涼飲料水」及び「○容器包装詰加圧加熱殺菌食品」では、ボツリヌス食中毒の発生を未然に防止するための指標として pH 4.6 で殺菌条件を区分している。容器包装においても、食品の pH が 4.6 以上の場合には pH 4.6 未満の場合と比べてより高温で殺菌しなければならず、耐熱性や密封性が求められる。また、低温での保存を要する場合においては耐寒性も必要となる。そのため、器具・容器包装において酸性食品の指標となる pH 値と食品において低酸性食品の指標となる pH 値を一致させることが望ましいと考えられた。

### ②食品の pH 値

酸性食品の実態を確認するため、代表的な食品の pH を測定した。その結果、食品の一

部で pH 4.6~5.0 に該当するものが存在したがその割合は少なく、油脂含量が低い調味料類に限定的と考えられた。そのため、酸性食品の指標となる pH 値を 5 以下から 4.6 以下に変更してもその影響は小さいと考えられた。

### ③食品擬似溶媒に関する検討

各種試料を用いた溶出試験により、3%酢酸と 4%酢酸の食品擬似溶媒としての同等性を確認した。有機物の溶出量を比較した結果、検出されたいずれの有機物においても酢酸濃度に応じて溶出量が増加する傾向が見られ、分配係数が 4.3~6.9 のやや親油性を有する物質についてはその傾向が顕著であった。一方、無機物では、酢酸濃度と溶出量に相関はみられなかった。以上のことから、有機物に対しては、3%酢酸と 4%酢酸では溶出傾向が異なっており、同等と見なすことはできないと考えられた。

3%酢酸及び 4%酢酸と飲料への溶出量と比較し、3%酢酸及び 4%酢酸の食品擬似溶媒としての妥当性を検証した。分配係数が 1.7~4.3 の親水性が高い物質の溶出量は飲料の種類や pH に関連せず、ほぼ同程度であったが、3%酢酸及び 4%酢酸の溶出量と比較すると、飲料への溶出量は 4%酢酸と比べて同等またはそれ以下であった。一方、3%酢酸の溶出量と比べると、一部の物質の溶出量は 3%酢酸よりも飲料が多かった。分配係数が 5.7 及び 6.9 のやや親油性を有する物質については、炭酸飲料への溶出量は 4%酢酸もしくは 3%酢酸と同程度であったが、その他の飲料は 4%酢酸よりも溶出量が多かった。

以上のことから、保守的な管理という観点では、4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。しかし、3%酢酸または 4%酢酸のいずれを食品擬似溶媒とする場合であっても、個々の物質に対して溶出量の規格を設定

する際は、その物質の物性等を考慮して実際の食品への移行量と同程度の溶出量が得られる食品擬似溶媒（浸出用液）を設定すべきと考えられる。

### D. 結論

規格試験法の性能に関する研究ではビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究、市販製品に残存する化学物質に関する研究では窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認、窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験への適用、食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

ビスフェノール A 溶出試験法について、23 試験所が参加する室間共同実験を実施した。その結果、浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールの試料を分析する場合は、告示試験法の妥当性が確認された。しかし、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、告示試験法の妥当性は確認されなかった。以上の結果から、浸出用液がヘプタンの場合の告示試験法については、改良の必要性が考えられた。

ビスフェノール A 溶出試験法への LC-MS 法または LC-MS/MS 法の適用性を検証した。その結果、規格試験への適用が難しいことが示唆された。また、浸出用液がヘプタンである場合について改良法を作成した。本改良法は規格の適否判定を行うための分析法として妥当な水準にある可能性が期待された。さらに、紫外吸光度検出器に代わる検出器として蛍光検出器の適用を検討した結果、代替法として活用可能であることが示唆された。

ジブチルスズ化合物試験法において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかった。一方、ヘリウムと比べて窒素

では感度が減少した。しかし、限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能と考えられる性能を有していた。

GC-MS を用いたフタル酸エステル試験において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかったが、ピーク面積値は減少した。そこで、カラムサイズを細く短いものに変更し、流速を下げた測定した。その結果、S/N は 10~20 倍に改善し、DBP、BBP 及び DEHP については規格試験として適用可能と考えられた。一方、DNOP、DINP 及び DIDP については適否判定を行うことができる水準ではなかったが、他の可塑剤が共存していてもこれらの PAEs を含有している可能性のある試料を選別することは可能であると考えられた。

器具・容器包装の規格基準における酸性食品の区分と溶出試験で用いる浸出用液の検討を行った。その結果、酸性食品の指標となる pH 値を現行の 5 から 4.6 へ変更することが望ましいと考えられた。各種飲料への溶出量を対照として 3%酢酸と 4%酢酸の食品擬似溶媒としての妥当性を検証したところ、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる 4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。

## E. 健康被害情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 尾崎麻子ら、ヘッドスペース-GC/MS による食品用ラミネートフィルム中の残留有機溶剤の分析、食品衛生学雑誌、60、73-81 (2019)
- 2) 河村葉子ら、油脂および脂肪性食品用合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物試験に関する考察、食品衛生学雑誌、60、82-87 (2019)

### 2. 講演、学会発表等

- 1) 六鹿元雄、食品用器具・容器包装におけるポジティブリスト制度の導入について、第 92 回日本産業衛生学会シンポジウム (2019.5)
- 2) 大野浩之、鈴木昌子、山口未来、六鹿元雄；蒸発残留物試験における蒸発乾固後の乾燥操作に関する検討、第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (2019.10)
- 3) 尾崎麻子ら、合成樹脂製の器具・容器包装における溶出試験の精度の検証、第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (2019.10)
- 4) 六鹿元雄、器具・容器包装におけるポジティブリスト制度の最新情報、日本食品衛生学会第 22 回特別シンポジウム (2020.2)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 規格試験法の性能に関する研究

研究代表者 六鹿 元雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 室長

### 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、その試験法及び試験結果に対する信頼性の確保も重要な課題となっている。そこで、器具・容器包装の規格試験に対する信頼性確保及び向上を目的として、ビスフェノール A 溶出試験法の性能評価、並びにビスフェノール A 試験法の改良に関する研究を実施した。

ビスフェノール A 溶出試験法について、23 試験所が参加する室間共同実験を実施した。室間共同実験により得られた分析結果を、国際的なハーモナイズドガイドラインに沿って統計的に解析した。その結果として推定された  $RSD_R$  と Horwitz/Thompson 式を用いて計算される  $PRSD_R$  から算出される HorRat 値を指標として評価した結果、浸出用液が水、4%酢酸、20%エタノールの試料を分析する場合は、Codex 委員会が分析法承認のために設定している性能規準の指標値を満たしており、告示試験法の妥当性が確認された。しかし、浸出用液がヘプタンである試料を分析する場合は、Codex 委員会が示す分析法の性能規準の指標値を満たさない場合があり、告示試験法の妥当性は確認されなかった。また、クロマトグラムにおける各分析対象物質のピーク形状の対称性も悪いことが確認された。以上の結果から、浸出用液がヘプタンの場合の告示試験法については、改良の必要性が考えられた。

ビスフェノール A 溶出試験法への LC-MS 法または LC-MS/MS 法の適用性を 23 試験所が参加する共同実験により検証した。その結果、共同実験の計画書で設定した  $RSD_D$ 、 $RSD_R$  を満たすことができない場合や真度を満たさない試験所が多数あったことから、現状では規格試験への適用が難しいことが示唆され、さらなる検討が必要であることが明らかとなった。また、浸出用液がヘプタンである場合について改良法を作成した。本改良法は規格の適否判定を行うための分析法として妥当な水準にある可能性が期待された。さらに、紫外吸光度検出器に代わる検出器として蛍光検出器の適用を検討した結果、4 種すべての浸出用液の場合で、蛍光検出器による分析と定量が可能であることが確認され、代替法として活用可能であることが示唆された。今後は、これら 2 つの分析法について性能を評価し、規格の適否判定を行うための分析法としての妥当性を確認するために、室間共同実験等の実施が必要である。

## 研究協力者

阿部 裕：国立医薬品食品衛生研究所  
片岡洋平：国立医薬品食品衛生研究所  
四柳道代：国立医薬品食品衛生研究所

阿部智之：(公社) 日本食品衛生協会  
安藤景子：長野県環境保全研究所  
安藤百合：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  
市川義多加：愛知県衛生研究所  
岩越景子：東京都健康安全研究センター  
牛山温子：川崎市健康安全研究所  
内山陽介：神奈川県衛生研究所  
大坂郁恵：埼玉県衛生研究所  
大野浩之：名古屋市衛生研究所  
大橋公泰：(一財) 日本文化用品安全試験所  
大畑昌輝：国立研究開発法人 産業技術  
総合研究所  
大森清美：神奈川県衛生研究所  
大脇進治：(一財) 食品分析開発センター  
SUNATEC  
尾崎麻子：(地独) 大阪健康安全基盤研究所  
風間貴充：(一財) 日本食品分析センター  
河村葉子：国立医薬品食品衛生研究所  
岸 映里：(地独) 大阪健康安全基盤研究所  
木村亜莉沙：静岡市環境保健研究所  
桑原千雅子：神奈川県衛生研究所  
小林千恵：静岡県環境衛生科学研究所  
近藤貴英：さいたま市健康科学研究  
センター  
齋藤直樹：静岡市環境保健研究所  
佐々木達也：埼玉県衛生研究所  
佐藤恭子：国立医薬品食品衛生研究所  
佐藤 環：福岡県保健環境研究所  
柴田 博：(一財) 東京顕微鏡院  
鈴木昌子：名古屋市衛生研究所  
高坂典子：(一財) 食品薬品安全センター

高島秀夫：(一財) 化学研究評価機構  
高橋良幸：(一財) 千葉県薬剤師会  
検査センター

武田勝久：(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：国立研究開発法人 産業技術  
総合研究所  
田中佑典：川崎市健康安全研究所  
棚橋高志：愛知県衛生研究所  
谷 拓哉：(一財) 日本穀物検定協会  
照井善光：(一財) 日本食品検査  
外岡大幸：さいたま市健康科学研究  
センター  
永井慎一郎：(一財) 東京顕微鏡院  
中西 徹：(一財) 日本食品分析センター  
野村千枝：大阪健康安全基盤研究所  
八田淳司：(一財) 日本食品検査  
花澤耕太郎：(一財) 食品環境検査協会  
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  
平林尚之：(一財) 食品薬品安全センター  
藤吉智治：(一財) 食品分析開発センター  
SUNATEC  
堀田沙希：愛知県衛生研究所  
三浦俊彦：(一財) 日本食品検査  
水口智晴：(地独) 大阪健康安全基盤研究所  
宮川弘之：東京都健康安全研究センター  
村山悠子：さいたま市健康科学研究  
センター  
藪谷充孝：名古屋市衛生研究所  
山口未来：国立医薬品食品衛生研究所  
山田恭平：さいたま市健康科学研究  
センター  
山元梨津子：埼玉県衛生研究所  
吉川光英：東京都健康安全研究センター  
渡辺一成：(一財) 化学研究評価機構

## 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 講演、学会発表等

- 1) 大野浩之，鈴木昌子，山口未来，六鹿元雄；蒸発残留物試験における蒸発乾固後の乾燥操作に関する検討、第 115 回日本食品衛生学会学術講演会（2019.10）

## 健康危害情報

なし

## 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

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

### A. 研究目的

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

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

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

プタン、20%エタノール、水、4%酢酸とすることが規定されている。

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

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

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

### B. 研究方法

#### 1. 試薬、試液等

##### 1) 試料の調製

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



上富士フィルム和光純薬製

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## 2) 検体の均質性及び安定性の確認

以下に示すもの以外は、①配布試料の調製に示すものを用いた。

水：オルガノ社製超純水装置ピューリック ω で精製した超純水

アセトニトリル：LC-MS 用、関東化学製

エタノール：残留農薬・PCB 試験用、富士フィルム和光純薬製

酢酸：精密分析用、シグマアルドリッチジャパン社製

ヘプタン：特級、富士フィルム和光純薬製

ジエチレングリコール：>99.5%、東京化成工業製

アセトン：残留農薬・PCB 分析用、シグマアルドリッチジャパン社製

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

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

## 2. 試料の概要

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

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

表 1 検体の各分析対象化合物濃度

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

括弧内は検体から調製した試験溶液の濃度

### 3. 試料の調製

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

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

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

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

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

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

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

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

### 4. 検体の送付

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

て、濃度非明示で令和元年 9 月 17 日に共同試験の参加機関に発送した。

### 5. 参加機関

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

### 6. 検体の均質性及び安定性の確認

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

#### 1) 装置等

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

#### 2) 測定溶液の調製

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

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

### 3) 検量線用測定溶液の調製

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

### 4) 測定条件

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

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

注入量：100 µL

### 5) 定量

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

### 6) 検体の分析と結果の評価

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

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

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

$s_{sam}$  : 試料間標準偏差

$\chi^2$  :  $\chi^2$  値

$\sigma_R$  : 室間再現標準偏差の予測値

F : F 値

$s_{an}$  : 試料内標準偏差

安定性は ISO 13528 : 2015<sup>3)</sup> Annex B により示されている統計的手法を用いて分析

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

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

$X_{max}$  : 検証期間中に取得した分析結果の平均値の最大値

$X_{min}$  : 検証期間中に取得した分析結果の平均値の最小値

## 6. 告示試験法

### 1) 試験溶液の調製

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

### 2) 定量

#### ①操作条件

カラム充てん剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム温度：40°C

検出器：紫外吸収検出器 217 nm

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

#### ②検量線の作成

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

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

### ③分析

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

## 7. 共同試験の実施と結果の解析

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

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

参加機関から報告された共同試験結果は Codex 分析・サンプリング部会の関連文書である CXG64-1995<sup>4)</sup>に示されたプロトコールにしたがい、Microsoft Excel 2019 を使用して解析した。解析で併行相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub> %)、室間再現相対標準偏差 (RSD<sub>R</sub> %) 及び RSD<sub>R</sub> と Horwitz/Tompson 式で予測される室間再現相対標準偏差 (PRSD<sub>R</sub> %) の比である HorRat 値を算出した。なお、PRSD<sub>R</sub> は各検体の濃度に対応する Horwitz/ Tompson 式である PRSD<sub>R</sub> % = 2C<sup>-0.1505</sup> (C: 検体濃度) から算出した。また、HorRat 値による分析法の性能評価における性能規準の指標として Codex 委員会の手順書<sup>5)</sup>を参照した。この手順書では、分

析法の性能規準として、HorRat 値が 2 以下を設定している。

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

RSD<sub>r</sub> : 10%以下、

RSD<sub>R</sub> : 25%以下

真度 : 80%~110%

なお、真度は、各機関の分析値の平均値の検体濃度に対する百分率で算出した。

### C. 研究結果及び考察

#### 1. 検体の均質性及び安定性

検体の均質性については、0 日目に分析

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

表 3-1 90 日目の検体の分析結果と安定性の解析結果（浸出用液：水）

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

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

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

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

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

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

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

## 2. 共同試験で取得された分析結果の解析

### 1) 分析結果の選択

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

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

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

表 4-1 共同試験による分析結果（浸出用液：水）

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

表 4-2 共同試験による分析結果（浸出用液：4%酢酸）

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



表 4-3 共同試験による分析結果（浸出用液：20%エタノール）

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

表 4-4 共同試験による分析結果（浸出用液：ヘプタン）

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

\*1 分析結果の解析から除外した機関

\*2 Cochran検定とGrubbs検定の結果の外れ値

## 2) 外れ値の検定

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

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

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

## 3) 分析結果の解析

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

表 5-1 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：水）

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

表 5-2 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：4%酢酸）

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

表 5-3 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：20%エタノール）

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

表 5-4 分析法性能の推定結果（初期推定、浸出用液：ヘプタン）

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

表 6-1 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：水）

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

表 6-2 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：4%酢酸）

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

表 6-3 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：20%エタノール）

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

表 6-4 分析法性能の推定結果（最終推定、浸出用液：ヘプタン）

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

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

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

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

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

浸出用液を水、4%酢酸、20%エタノール

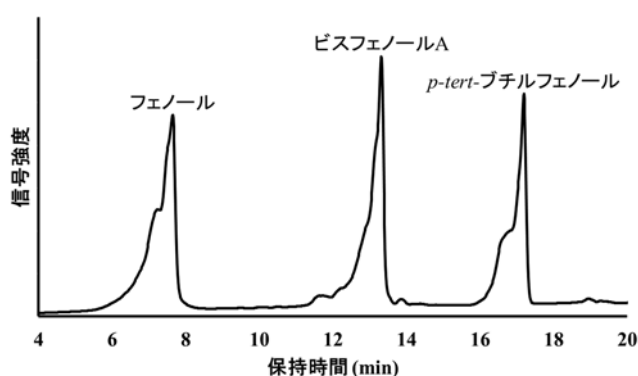


図 1 ヘプタンを浸出用液とする溶出試験の HPLC のクロマトグラムの問題例

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

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

#### 4) 解析結果の目標値との比較

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

RSD<sub>r</sub> は 4 種類全ての浸出用液において目標値 (10%以下) を満たした。

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

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

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

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

表 7-1 分析法性能パラメーターの目標値との比較結果 (浸出用液：水)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## D. 結論

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

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

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

## E. 参考文献

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

<別添>

令和元年度 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  
規格試験法の性能に関する研究

令和元年度  
試験室間共同試験  
計画書

ビスフェノール A 溶出試験

令和元年 9 月 13 日

## A 目的

ビスフェノールA (2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane) は、ポリカーボネートの原料モノマーであり、フェノールおよび*p-tert*-ブチルフェノールはポリカーボネート製造時に添加される重合調節剤である。ビスフェノールAは、ポリカーボネートの酸化分解によっても生成するため、ポリカーボネートの材質中には、未重合体または分解物としてビスフェノールAが多少存在する。

我が国では、2008年7月、厚生労働省は食品安全委員会にビスフェノールAの食品健康影響評価を依頼し、2010年6月、食品安全委員会は中間取りまとめを行った結果、知見が不十分のためTDIの設定が保留された。今後の食品安全委員会による食品健康影響評価の結果によっては規制値等が改正される可能性が考えられる。食品衛生法では、ポリカーボネート製器具及び容器・包装について、ビスフェノールAの溶出量を 2.5 µg/mL以下、ビスフェノールA (フェノールおよび*p-tert*-ブチルフェノールを含む) の含有量を 500 µg/g 以下としており、同時に規制値への適合を判定するための試験法が告示されている (以下、告示試験法)。しかし、告示試験法における定量下限値や精度等の性能は不明である。そこで、本研究では器具・容器包装におけるビスフェノールAの試験について、告示試験法の試験室間共同試験を行い、改めて現行の告示試験法の性能を確認するとともに、規格試験法としての適用性を検証する。

また、ビスフェノールAをLC-MS又はLC-MS/MSで分析するための基礎的検討を同時に行う。

## 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  
↓  
(7月上旬)  
検体の調製・・・・・・・・(一財)食品薬品安全センター  
↓  
検体の配付・・・・・・・・(一財)食品薬品安全センター⇒各試験機関  
↓  
(9月中旬に配付)  
各試験機関で試験・・・・・・・・(検体配付後2ヶ月間)  
↓  
結果の報告・・・・・・・・各試験機関⇒研究代表者⇒解析者  
↓  
(11月中旬まで)  
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(1月予定)  
報告書の作成・・・・・・・・研究代表者・解析者(1月～)

## C 試験の実施に関する要件

試験を実施する際は以下の要件を満たすこと。

### ①試験に用いる機器及び器具は、規格試験を実施する際に使用するものであること。

試験に用いる機器及び器具類は、実際に食品衛生法の規格試験を実施する際に使用しているもの、または今後の使用が見込まれるものであること。ただし、長期間使用していない機器及び器具類を用いる場合は、事前に整備等の確認を行うこと。



②試験は、その試験法に関する経験・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。

試験は、規格試験を実施した経験のある者による実施が望ましい。経験が無いものが実施する場合は、事前に操作法、注意点等を確認しておくこと。

③試験は検体受領後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。

予定している試験は可能な限り実施すること。

突発的な他業務の遂行による遅延、機器の故障、特段の事情により試験の実施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。

試験は「I 試験手順」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。

試験に関する測定データ等は令和3年3月末日まで保存すること。

## D 解析者

国立医薬品食品衛生研究所 片岡 洋平

**【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。

## 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、さいたま市健康科学研究センター、神奈川県衛生研究所、川崎市健康安全研究所、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、大阪健康安全基盤研究所、福岡県保健環境研究所、国立医薬品食品衛生研究所、国立研究開発法人 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(東京事業所及び大阪事業所)、(一財)日本食品分析センター(多摩研究所及び彩都研究所)、(一財)食品環境検査協会、(一財)日本食品検査、(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

**【注意】** 試験を実施しない試験機関も含む。

### ②機関コード

試験を実施する機関には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。

結果シートは、各機関の担当者から研究代表者を經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。

### ③試験を実施する試験機関

機関コード	測定機器			機関コード	測定機器		
	UV/PDA	MS	MS/MS		UV/PDA	MS	MS/MS
A	○			M	○		
B				N	○		
C	○		○	O	○		
D	○	○	○	P	○		○
E	○	○	○	Q	○		
F	○	○		R	○		
G	○			S	○		
H	○			T	○	○	○
I	○	○		U	○		
J	○	○	○	V	○		
K	○		○	W	○		○
L	○	○	○	X	○	○	

#### F 検体の調製及び配付

検体の調製及び配付は (一財) 食品薬品安全センターが行う。

#### 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検体中の成分を測定し、そのピーク面積等を用いて確認する。

##### ②安定性確認

溶出試験の検体については、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とその 3 ヶ月後に検体中の成分を測定し、そのピーク面積等を用いて確認する。

#### 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、試薬の購入等の準備を適宜行うこと。

##### ②配付する検体

溶出試験用（水、4%酢酸、20%エタノール、ヘプタン）：各 2 検体（計 8 検体）

ブランク溶液（水、4%酢酸、20%エタノール、ヘプタン）：各 1 検体（計 4 検体）

##### ③検体の確認

検体受領後はただちに検体数、溶媒・検体 No の判別、検体の状態を確認し、問題があれば至急連絡すること。

#### ④検体の保管及び管理

検体は冷蔵庫等（10℃以下）で保管し、分析時に室温に戻して使用する。

**【注意】** 検体は冷蔵で送付する。

#### 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 試験手順

#### ①試験溶液の調製

○LC-UV（もしくはLC-PDA）の場合：

- ・水、4%酢酸、20%エタノール：検体をそのまま試験溶液とする。
- ・ヘプタン：検体は20倍の濃度で配布するので、各機関においてヘプタンで20倍希釈したものを用いる。すなわち、検体5 mLを100 mL容のメスフラスコに採り、ヘプタンを加え100 mLとしたものを、公定法における溶出試験後の溶液とする。以降の操作は公定法に従い、この液25 mLを分液漏斗に移し、アセトニトリル10 mLを加え、5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を25 mL容のメスフラスコに移す。ヘプタン層にアセトニトリル10 mLを加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のメスフラスコに合わせる。次いでアセトニトリルを加えて25 mLとする。これを試験溶液とする。同様に、送付するヘプタンも各機関においてヘプタンで20倍希釈し、空試験を2回実施する。この試験溶液をヘプタンのブランク試料とする。

○LC-MS および LC-MS/MS の場合：

LC-UV（もしくはLC-PDA）の場合の試験溶液（ブランク試料を含む）を「④試験溶液の定量」で指定する検量線に内挿して定量可能な濃度に水で希釈した溶液を試験溶液とする。

**【注意】** ヘプタンについては空試験を実施すること。

**【注意】** 試験溶液のフィルターろ過については、公定法にフィルター使用の記載がないため、本計画書でもフィルター使用について記載していないが、その使用を妨げるものではない。また、LC-UV法、LC-MS法、LC-MS/MS法で試験溶液のフィルターろ過した場合は「結果報告シート1 3. 使用した試薬等」に使用したフィルター等のメーカー名と製品名を記載する。

#### ②検量線用標準溶液の調製

○LC-UV（もしくはLC-PDA）の場合：

公定法に従う。すなわち、100 mLのメスフラスコにビスフェノールA、フェノールおよび*p-tert*-ブチルフェノールそれぞれ約10 mgを精密に採り、メタノールを加えて100 mLとする（各100 µg/mL）。この溶液1 mL、2 mL、3 mL、4 mLおよび5 mLを採り、それぞれ20 mLのメスフラスコに入れ、水を加えて20 mLとする（各5、10、15、20および25 µg/mL）。これらの溶液2 mLずつを採り、それぞれ20 mLのメスフラスコに入れ、水を加えて20 mLとしたもの（各0.5、1.0、1.5、2.0および2.5 µg/mL）をUV用検量線用標準溶液Aとする。また、0.5、1.0および2.5 µg/mLのUV用検量線用標準溶液Aの溶液2 mLずつを採り、それぞれ20 mLのメスフラスコに入れ、水を加えて20 mLとしたものを標準溶液①と

する（各 0.05、0.1、および 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ）。標準溶液①の 0.1、および 0.25  $\mu\text{g/mL}$  の溶液 2 mL ずつを採り、それぞれ 20 mL のメスフラスコに入れ、水を加えて 20 mL としたものを標準溶液②とする（各 0.01、0.025  $\mu\text{g/mL}$ ）。標準溶液①と標準溶液②を UV 用検量線用標準溶液 B（各 0.01、0.025、0.05、0.1、および 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ）とする。

○LC-MS および LC-MS/MS の場合：

100 mL のメスフラスコにビスフェノール A 10 mg を精密に採り、メタノールを加えて 100 mL とする（各 100  $\mu\text{g/mL}$ ）。この溶液 2 mL を採り、水を加えて 20 mL とする（10  $\mu\text{g/mL}$ ）。さらにこの溶液 5 mL を採り、水を加えて 100 mL とする（0.5  $\mu\text{g/mL}$ ）。この溶液 5 mL 採り、水を加えて 50 mL としたものを標準溶液③とする（0.05  $\mu\text{g/mL}$ ）。標準溶液③を 2 mL、3 mL、4 mL、および 10 mL 採り、それぞれ 20 mL のメスフラスコに入れ、水を加えて 20 mL としたものを標準溶液④とする（0.005、0.0075、0.01、0.025  $\mu\text{g/mL}$ ）。標準溶液④の 0.005、0.01 および 0.025  $\mu\text{g/mL}$  溶液 2 mL ずつを採り、それぞれ 20 mL のメスフラスコに入れ、水を加えて 20 mL としたものを標準溶液⑤とする（0.0005、0.001、0.0025  $\mu\text{g/mL}$ ）。標準溶液⑤の溶液 2 mL ずつを採り、それぞれ 20 mL のメスフラスコに入れ、水を加えて 20 mL としたものを標準溶液⑥とする（0.00005、0.0001、0.00025  $\mu\text{g/mL}$ ）。

標準溶液③と標準溶液④を MS 用検量線用標準溶液 A（0.005、0.075、0.01、0.025、および 0.05  $\mu\text{g/mL}$ ）とし、標準溶液⑤と標準溶液⑥を MS 用検量線用標準溶液 B（0.00005、0.0001、0.00025、0.0005、0.001、および 0.0025  $\mu\text{g/mL}$ ）とする。

**【注意】** 検量線用標準溶液の濃度点は変更しないこと。

### ③操作条件

○LC-UV（もしくは LC-PDA）の場合：公定法に従う。

ただし、測定の順番は以下とする。

水（ブランク溶液：0  $\mu\text{g/mL}$ ）→UV 用検量線溶液 B（低濃度から高濃度の順）→UV 用検量線溶液 A（低濃度から高濃度の順）→ブランク試料（水；2 回測定）→試験溶液（水；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（4%酢酸；2 回測定）→試験溶液（4%酢酸；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（20%エタノール；2 回測定）→試験溶液（20%エタノール；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（ヘプタン；空試験 1 と空試験 2 の測定溶液を測定）→試験溶液（ヘプタン；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→UV 用検量線溶液 A（高濃度から低濃度の順）→UV 用検量線溶液 B（高濃度から低濃度の順）

**【注意】** 各ブランク試料も 2 回測定する。

○LC-MS の場合：以下に従う。（※測定例を最後のページに示した。）

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

カラム温度 40°C

移動相 水及びアセトニトリルの混液(7:3)から(0:10)までの濃度勾配で行い、(0:10)で保持する。

イオン化モード：ESI（－）

主なイオン ( $m/z$ )

対象化合物	$m/z$
ビスフェノール A	227

ただし、測定の順番は以下とする。

水（ブランク溶液：0 µg/mL）→MS 用検量線溶液 B（低濃度から高濃度の順）→MS 用検量線溶液 A（低濃度から高濃度の順）→ブランク試料（水；2 回測定）→試験溶液（水；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（20%エタノール；2 回測定）→試験溶液（20%エタノール；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（ヘプタン；空試験 1 と空試験 2 の測定溶液を測定）→試験溶液（ヘプタン；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→MS 用検量線溶液 A（高濃度から低濃度の順）→MS 用検量線溶液 B（高濃度から低濃度の順）

【注意】各ブランク試料も2回測定する。

○LC-MS/MS の場合：以下に従う。（※測定例を最後のページに示した。）

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

カラム温度 40°C

移動相 水及びアセトニトリルの混液(7:3)から(0:10)までの濃度勾配で行い、(0:10)で保持する。

イオン化モード：ESI（－）

主なイオン（ $m/z$ ）

対象化合物	プリカーサーイオン	プロダクトイオン
ビスフェノール A	227	212 or 133

ただし、測定の順番は以下とする（LC-MS と同様）。

水（ブランク溶液：0 µg/mL）→MS 用検量線溶液 B（低濃度から高濃度の順）→MS 用検量線溶液 A（低濃度から高濃度の順）→ブランク試料（水；2 回測定）→試験溶液（水；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（20%エタノール；2 回測定）→試験溶液（20%エタノール；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→ブランク試料（ヘプタン；空試験 1 と空試験 2 の測定溶液を測定）→試験溶液（ヘプタン；試料 1 を 2 回測定、試料 2 を 2 回測定）→MS 用検量線溶液 A（高濃度から低濃度の順）→MS 用検量線溶液 B（高濃度から低濃度の順）

【注意】各ブランク試料も2回測定する。

#### ④試験溶液の定量

○1 検体につき、2 回の試験を実施する。ヘプタンの場合は、**検体を 20 倍に希釈した以降の操作を 2 回別々に同時に行うこと。同じ試験溶液を 2 回測定するわけではない。**

○公定法の場合には UV 用検量線用標準溶液 A（各 0.5、1.0、1.5、2.0 および 2.5 µg/mL）の測定結果を検量線として定量する。LC-MS 法、LC-MS/MS 法の場合には、MS 用検量線用標準溶液 A（0.005、0.075、0.01、0.025 および 0.05 µg/mL）の測定結果を検量線として定量する。

○絶対検量線法の一次回帰式により定量する。

○定量は 2 回の検量線溶液の測定のどちらを用いてもよい。

○報告する結果は検体中の濃度（溶出試験：µg/mL）とする。

ただし、LC-MS 法、LC-MS/MS 法では溶媒が水、20%エタノール、ヘプタンの結果を報告する。

○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「<0.5」（0.5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】**  $\mu\text{g/mL}$  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  $\text{ng/mL}$  単位で検量線を作成するとよい。

#### ⑤ 検量線の確認

○②操作条件にしたがって測定した2回の検量線データについて、面積値、又は高さを報告する。

○面積値、又は高さの値は整数値を報告する。（小数点以下は四捨五入し、有効数字等を考慮する必要はない）

#### ⑥ 選択性の確認

妨害となるピーク等が検出されないことを確認する。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2は検体の溶媒ごとに記入する。（報告シートへの記入例を参考に示す）  
試験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。

#### 【報告シートの内容】

報告シート1…試薬等の情報、感想など

報告シート2…測定条件

報告シート3…定量結果

報告シート4…検量線データ

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。

### K 目標値

食品衛生法の規格試験としての妥当性を確認するにあたり、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：評価の対象としない

真度：80～110%（溶出試験）

併行精度（ $\text{RSD}_r$ ）：10%以下

室間再現精度（ $\text{RSD}_R$ ）：25%以下



## ○LC-MS の測定条件例

- 装置: Waters UPLC-TQD
- カラム: Inertsil ODS4 内径 3.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$
- カラム温度 40°C
- 移動相 水及びアセトニトリルの混液(7:3)から(0:10)までの濃度勾配 35 分間で行い、(0:10)で 10 分間保持する。
- 流量: 0.2 mL/min
- イオン化モード: ESI (-)
- キャピラリー電圧: 3000 V
- コーン電圧: 44 V
- ソース温度: 150°C
- 脱溶媒温度: 400°C
- コーンガス流量: 50 L/hr
- 脱溶媒ガス流量: 700 L/hr
- 注入量: 20  $\mu\text{L}$

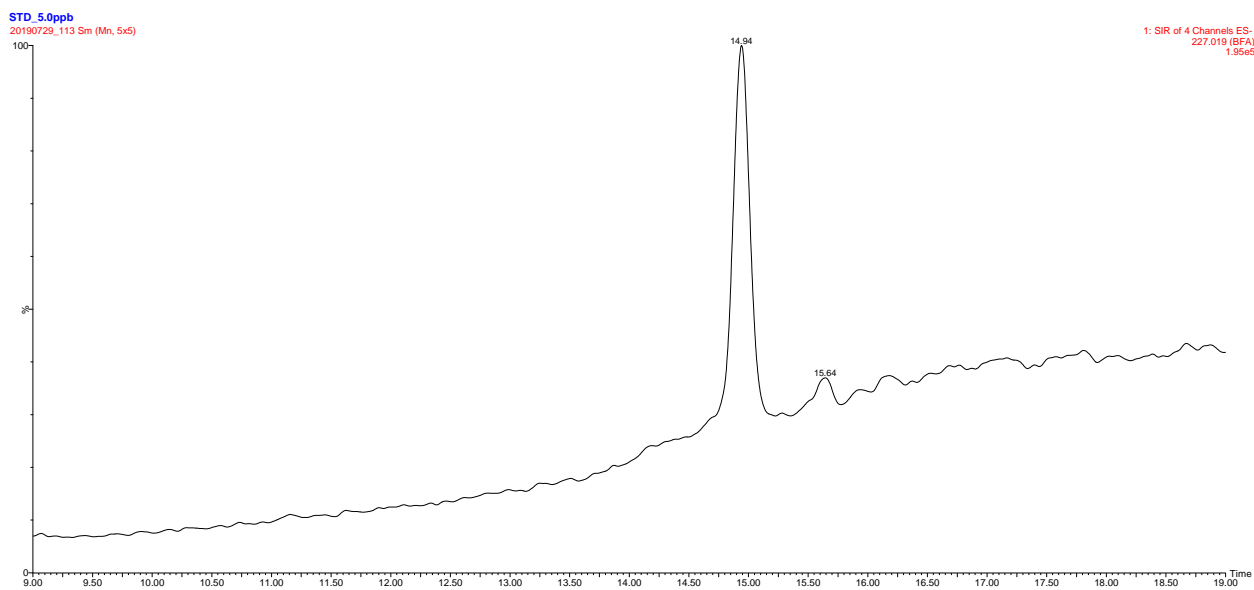
### 主なイオン ( $m/z$ )

対象化合物	$m/z$
ビスフェノール A	227

(クロマトグラム例)

ビスフェノール A

(濃度: 0.005  $\mu\text{g/mL}$ )



## OLC-MS/MS の測定条件例

- 装置: Waters UPLC-TQD
- カラム: Inertsil ODS4 内径 3.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu$ m
- カラム温度 40°C
- 移動相 水及びアセトニトリルの混液(7:3)から(0:10)までの濃度勾配 35 分間で行い、(0:10)で 10 分間保持する。
- 流量: 0.2 mL/min
- イオン化モード: ESI (-)
- キャピラリー電圧: 3000 V
- ソース温度: 150°C
- 脱溶媒温度: 400°C
- コーンガス流量: 50 L/hr
- 脱溶媒ガス流量: 700 L/hr
- コリジョンガス流量: 0.13 mL/min
- 注入量: 20  $\mu$ L

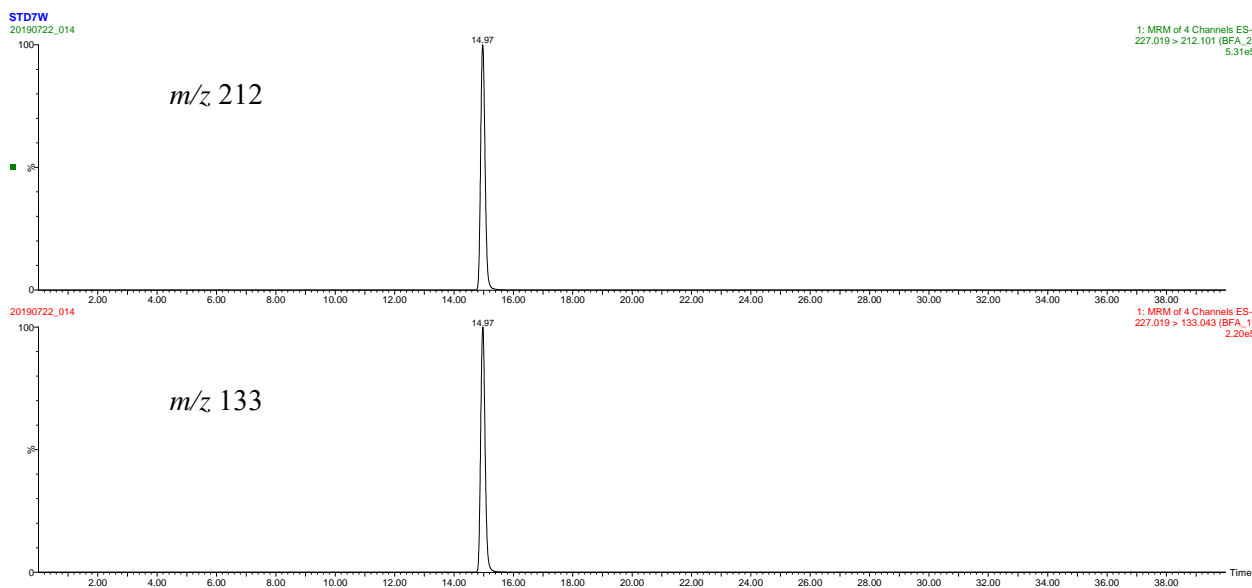
### 主なイオン ( $m/z$ )

対象化合物	コーン電圧	プリカーサーイオン	コリジョンエネルギー	プロダクトイオン
ビスフェノール A	44	227	18	212
			26	133

(クロマトグラム例)

ビスフェノール A

(濃度: 0.005  $\mu$ g/mL)





## ＜その2＞ 器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる分析法の検討

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

### A. 研究目的

食品衛生法では、ポリカーボネート(PC)を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装に対してビスフェノール A (フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを含む。)の規格が設定されている。その規格値は 3 化合物の溶出量の合算値として 2.5 µg/mL 以下とされており、規格に適合していることを判定するための試験法(以下、告示試験法)も定められている。

告示試験法では、PC 製器具・容器包装を用いる食品の区分によって 4 種類の浸出用液を用いた溶出操作が設定されており、この操作で得られた試験溶液を液体クロマトグラフ(LC)に注入し、試験溶液中の 3 化合物を C18 カラムにより分離後、それらの紫外吸光度を測定して定量する。一方、近年では HPLC の検出器として紫外吸光度等と比べ高い感度と高い選択性が得られる質量分析計(MS)やタンデム型質量分析計(MS/MS)の利用が普及している。

そこで本研究では、前章で実施した本告示試験法の性能評価を目的とした共同試験において、浸出用液がヘプタンの場合の問題点が明らかになったことから、新たにビスフェノール A 分析法を検討した。

また、共同試験の参加機関からの情報提供をもとに、蛍光検出器による分析法(HPLC-FL 法)の適用性についても検討した。

さらに、告示試験法に LC-MS 及び LC-

MS/MS を導入するための共同試験による基礎的検討を実施し、LC-MS 法又は LC-MS/MS 法の適用性を検証した。

### B. 研究方法

#### 1. 試薬、試液等

##### 1) ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

水：オルガノ社製超純水装置ピューリック ω で精製した超純水

アセトニトリル：LC-MS 用、関東化学社製  
ヘプタン：環境分析用、富士フィルム和光純薬社製

ビスフェノール A 標準品：環境分析用、関東化学社製

フェノール標準品：特級、関東化学社製

*p-tert*-ブチルフェノール標準品：環境分析用、関東化学社製

ジエチレングリコール：>99.5%、東京化成工業社製

アセトン：残留農薬・PCB 分析用、シグマアルドリッチ社製

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

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

1000 µg/mL ビスフェノール A 標準原液：ビスフェノール A 標準品 100 mg をとり、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL

とした。

1000 µg/mL フェノール標準原液：フェノール標準品 100 mg をとり、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。

1000 µg/mL *p*-tert-ブチルフェノール標準原液：*p*-tert-ブチルフェノール標準品 100 mg をとり、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。

10 µg/mL 混合標準溶液：ビスフェノール A 標準原液、フェノール標準原液及び *p*-tert-ブチルフェノール標準原液各 1 mL を正確にとり、50%アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。

## 2) HPLC-FL 法の検討

以下に示すもの以外は、①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討と同じものを用いた。

エタノール：環境分析用、富士フィルム和光製薬社製

酢酸：特級、富士フィルム和光製薬社製

4%酢酸：酢酸 40 mL を量り、水を加えて 1000 mL とした。

20%エタノール：エタノール 200 mL を量り、水を加えて 1000 mL とした。

10 µg/mL 混合標準溶液 A：ビスフェノール A 標準原液、フェノール標準原液及び *p*-tert-ブチルフェノール標準原液を各 1 mL を正確にとり、水を加えて正確に 100 mL とした。

10 µg/mL 混合標準溶液 B：ビスフェノール A 標準原液、フェノール標準原液及び *p*-tert-ブチルフェノール標準原液を各 1 mL を正確にとり、4%酢酸を加えて正確に 100 mL とした。

10 µg/mL 混合標準溶液 C：ビスフェノール A 標準原液、フェノール標準原液及び *p*-tert-ブチルフェノール標準原液を各 1 mL を正確にとり、20%エタノールを加えて正確に 100 mL とした。

10 µg/mL 混合標準溶液 D：ビスフェノール A 標準原液、フェノール標準原液及び *p*-tert-ブチルフェノール標準原液を各 1 mL を正確にとり、50%アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。

## 2. 検体及び試料

### 1) ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

前章「器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる試験法の性能評価」の検体 1~8 をのうち、検体 1~6 はそのまま試料 1~6 とし、検体 7 及び 8 は、ヘプタンで 20 倍希釈したものを試料 7 及び 8 とした。

### 2) HPLC-FL 法の検討

1) ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討 に同じ。

### 3) LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

前章「器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる試験法の性能評価」の検体 1~2 及び 5~8 に同じ。

## 3. 分析方法

### 1) 測定溶液及び試験溶液の調製

#### ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

試料 25 mL を分液漏斗にとり、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、アセトニトリル層を 100 mL のナスフラスコに移した。ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のナスフラスコに合わせた。次いでナスフラスコにキーパーとして 2%ジエチレングリコールアセトン溶液 0.5 mL を添加し、40°Cの水

浴で加温しつつ、エバポレーターにより溶媒を留去した。これを 50%アセトニトリルで 25 mL に定容して測定溶液とした。

### ②HPLC-FL 法の検討

試料 1～試料 6 はそのまま測定溶液とした。試料 7 及び試料 8 は ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討 に示す方法で調製した溶液を測定溶液とした。

### ③LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

浸出用液として水、20%エタノールを用いた場合は、検体を水で 25～200 倍希釈した溶液を試験溶液とした。浸出用液としてヘプタンを用いた場合は、まず検体をヘプタンで 20 倍希釈した溶液 25 mL を分液漏斗に移し、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を 25 mL 容のメスフラスコに移した。ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のメスフラスコに合わせた。次いでアセトニトリルを加えて 25 mL とし、これを水で 25～200 倍希釈した溶液を試験溶液とした。

## 2) 検量線用測定溶液及び検量線用標準溶液の調製

### ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

10 µg/mL 混合標準溶液を 1、2、3、4 及び 5 mL を正確にとり、それぞれ 50%アセトニトリルを用いて正確に 20 mL とした (0.5、1、1.5、2 及び 2.5 µg/mL)。また、0 µg/mL として 50%アセトニトリルを用いた。

### ②HPLC-FL 法の検討

試料の浸出用液の種類 (ただし、試料 7 及び試料 8 は 50%アセトニトリル) に対応する 10 µg/mL 混合標準溶液 (A～D) を 1、

2、3、4 及び 5 mL を正確にとり、それぞれの浸出用液を用いて正確に 20 mL とした (0.5、1、1.5、2 及び 2.5 µg/mL)。また、0 µg/mL としてそれぞれの浸出用液 (ただし、ヘプタンを浸出用液とする試料では 50%アセトニトリル) を用いた。

### ③LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

ビスフェノール A をそれぞれ 0.005、0.075、0.01、0.025 及び 0.05 µg/mL 含む検量線用標準溶液を水で調製した。

## 3) 装置等

### ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

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

### ②HPLC-FL 法の検討

HPLC : Prominence LC システム、島津製作所社製

蛍光検出器 : RF-10AXL、島津製作所社製

### ③LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

共同試験に参加する機関が所有する、以下の機器を用いた。

HPLC :

①Acquity UPLC システム、日本ウォータース社製

②NexeraXR システム、島津製作所社製

③Exion AC システム、AB SCIEX 社製

④Agilent シリーズ、Agilent Technologies 社製

MS 及び MS/MS :

①TQD 又は Xevo TQ 又は TQ-XS、日本ウォータース社製

②LCMS-2010 又は LCMS-2020、島津製作所社製

③API 4000 又は Triple Quad 4500、AB SCIEX 社製

④ Agilent 6460 Triple Quad、Agilent

Technologies 社製

#### 4) 分析条件

##### ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

- ・カラム: TSKgel ODS-80Ts、内径: 4.6 mm、長さ: 250 mm、粒子径: 5  $\mu\text{m}$ 、Tosoh Bioscience 社製
- ・流速: 1 mL/min
- ・カラム温度: 40°C
- ・注入量: 100  $\mu\text{L}$
- ・移動相 A: アセトニトリル、移動相 B: 水 A/B: 30:70-100:0 (0-35 min)- 100:0 (35-45 min)- 30:70 (45-55 min)
- ・測定波長: 217 nm

##### ②HPLC-FL 法の検討

以下に示すもの以外は、①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討と同じ。

- ・励起波長: 230 nm
- ・蛍光波長: 316 nm

##### ③LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

###### HPLC 条件

以下に示すもの以外は、①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討と同じ。

・カラムは共同試験に参加する機関が所有する、以下のカラムを用いた。

- ①Inertsil ODS4、内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、GL サイエンス社製
- ②Inertsil ODS4、内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、GL サイエンス社製
- ③Inertsil ODS4、内径 3.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、GL サイエンス社製
- ④Shim-pack XR-ODS、内径 3.0 mm、長

さ 100 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、島津製作所社製

- ⑤L-Column2 ODS、内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、化学物質評価研究機構社製

- ⑥Cadenza CD-C18、内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ 、Imtakt 社製

- ・注入量: 20  $\mu\text{L}$
- ・流速: 0.2 mL/min 又は 0.124 mL/min

###### MS 条件

以下に示す条件以外は各測定機器により最適化した。

- ・イオン化法: ESI (-)
- ・測定イオン  $m/z$  227

###### MS/MS 条件

以下に示す以外は MS 条件と同じ。

- ・プリカーサーイオン  $m/z$  227
- ・プロダクトイオン  $m/z$  212、133

#### 5) 定量

##### ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

検量線用測定溶液を HPLC に注入し、各分析対象化合物の信号強度（ピーク面積又は高さ）と濃度との 1 次回帰式を求め、各分析対象化合物の検量線を作成した。各試料 10 点から調製した測定溶液をランダムで測定し、作成した各検量線に測定溶液の各分析対象化合物の信号強度を内挿して分析値を算出した。

##### ②HPLC-FL 法の検討

①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討と同じ。

##### ③LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討と同じ。ただし、測定では各検体の試験溶液 2 点を併行分析した。

## 6) 分析結果の解析

### ①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

解析は Microsoft Excel 2019 を使用し、得られた分析値から併行精度 (RSD%) と真度を推定した。なお、試料濃度に対する各分析対象化合物の併行分析の分析値の平均値との比を真度として求めた。

### ②HPLC-FL 法の検討

①ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討と同じ。

### ③LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

解析は Microsoft Excel 2019 を使用し、報告された分析結果について外れ値検定を行わずに一元配置の分散分析により、併行相対標準偏差 ( $RSD_r$ %) と室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ %) を推定し、分析法の計画書で設定した分析法の性能パラメーターの目標値との比較を行った。設定した目標値は以下の通りである。

$RSD_r$ : 10%以下

$RSD_R$ : 25%以下

真度: 80%~110%

なお、真度は、各機関の分析値の平均値と検体濃度の比の百分率として算出した。

## 4. LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

### 1) 参加機関

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の 10 機関と公的な衛生研究所などの 11 機関が参加した。このうち登録検査機関の 2 機関はそれぞれ異なる 2 つの機関で試験を実施したため、今回はこれらをすべて別機関として扱い、23 機関が参加した。このうち LC-MS 法の共同試験の実施に 8 機関、LC-MS/MS 法の共同試験の実施に 9 機関が参加した。

## 2) 検体の均質性及び安定性の確認

前章「器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる試験法の性能評価」に同じ。

## 3) 共同試験の実施と解析

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

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

## C. 研究結果及び考察

### 1. ヘプタンを浸出用液とする溶出試験のビスフェノール A 分析法の検討

#### 1) 測定溶液のアセトニトリルの割合の検討

告示試験法の測定溶液の調製法は、まず、溶出試験後の溶液 25 mL を分液漏斗に移し、アセトニトリル 10 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を 25 mL 容のメスフラスコに移す。次に、ヘプタン層にアセトニトリル 10 mL を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のメスフラスコに合わせ、アセトニトリルを加えて 25 mL に定容することになっている。このように、告示試験法の測定溶液はアセトニトリルであるため、各分析対象化合物のピーク形状が対称とならずに崩れる現象が見られることがあった。そこで、測定溶液のアセトニト

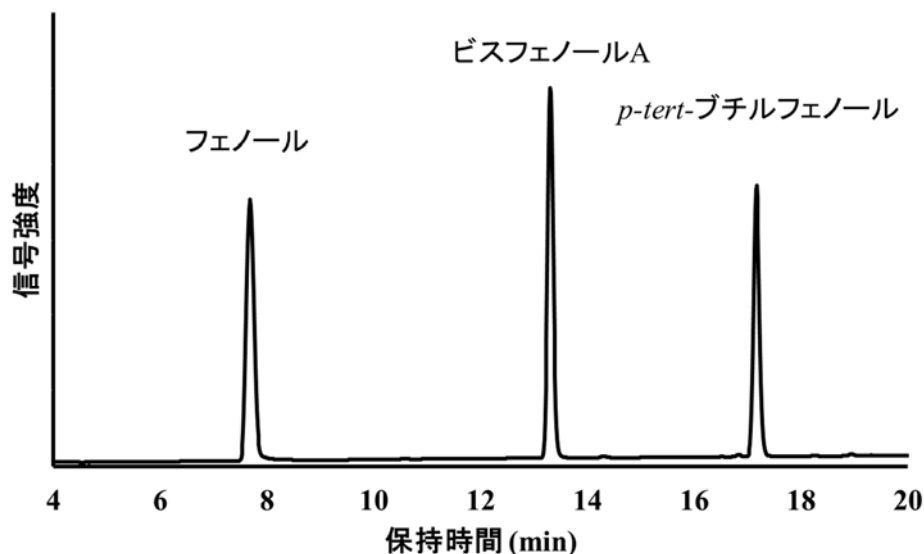


図1 測定溶液の組成が50%アセトニトリルの場合のHPLCのクロマトグラム例

リルと水の割合とピーク形状の関係を標準溶液で検討したところ、アセトニトリルの割合を低下させることで、ピーク形状の対称性が改善した。測定溶液のアセトニトリルの割合を100%から50%にすることで、ピーク形状が対称かつシャープになった(図1)。

## 2) 測定溶液の調製法の検討

測定溶液のアセトニトリルの割合を50%にするため、ヘプタンから転溶後のアセトニトリルを留去し、改めて50%アセトニトリルで定容することを検討した。標準溶液を用いてアセトニトリルを留去操作する5併行分析を行い、標準溶液の濃度に対する5併行分析の分析値の平均値の百分率を真度として求めた。キーパーを入れずにアセトニトリルを留去したところ、真度はフェノール及び*p-tert*-ブチルフェノールでそれぞれ90%未満となり、これらの蒸発が疑われた。そのため、残留農薬の分析法などでエバポレーターでの溶媒留去の際にキーパーとして使用されるジエチレングリコールの使用を検討し、2%ジエチレングリコール-アセトン溶液を0.5 mL添加

した<sup>1)</sup>。また、参考にした分析法にならない、エバポレーターの水浴の温度は最大でも40°Cとした。ただし、アセトニトリルを留去後の窒素パージによる乾固の操作はフェノールの揮発性を考慮して、行わないことにした。これらの分析条件で検討した結果、すべての分析対象化合物で真度が改善し、ほぼ100%となった(図2)。

以上の結果から、測定溶液の調製は、ヘプタンの溶出液をアセトニトリルに転溶後、2%ジエチレングリコール-アセトン溶液0.5 mLを添加し、エバポレーターでアセトニトリルを留去後、50%アセトニトリルで25 mLに定容することとした。

## 3) 検量線用測定溶液の検討

告示試験法の検量線用測定溶液は水で調製することになっており、測定溶液とはアセトニトリルの含有量に違いがある。このため、測定の際の吸光度に違いが生じ、分析機器の性能によっては分析値に影響を及ぼすと考えられた(図3)。そこで、検量線用測定溶液のアセトニトリルの割合についても50%とし、調製では50%アセトニトリルを用いることにした。

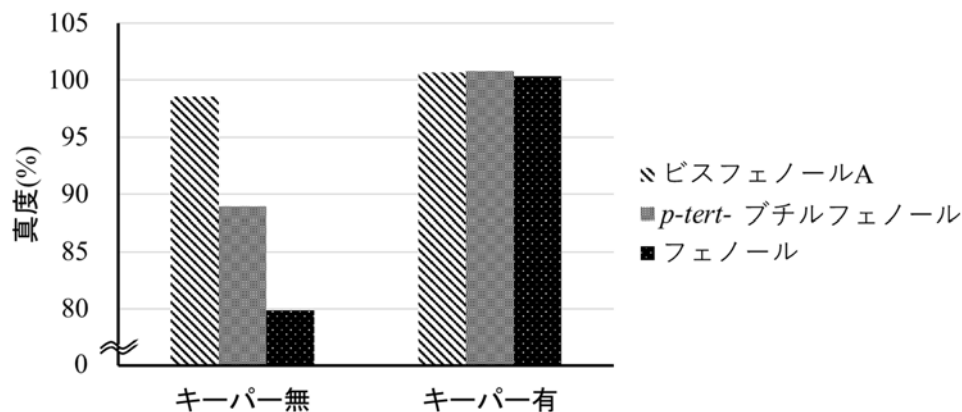


図 2 キーパー添加の有無による分析の真度の推定結果

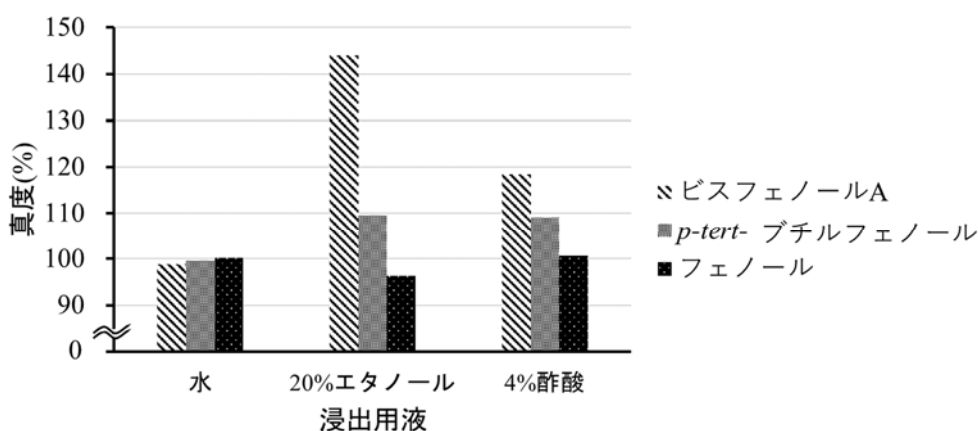


図 3 告示試験法を用いた試料分析の真度の推定結果

#### 4) HPLC への注入量の検討

前章の共同試験の結果とともに機関 E より、測定溶液の注入量を減らすことで、各分析対象化合物のピーク形状が改善される旨の情報が提供された。そこで、告示試験法の注入量 100  $\mu$ L からの変更を検討した。その結果、測定溶液の組成がアセトニトリルであっても、注入量が 20  $\mu$ L 程度まで減らすことでピーク形状が改善することを確認した (図 4)。

しかし、分析機器の感度等を考慮して、注入量は 100  $\mu$ L のままとした。

#### 5) 構築したビスフェノール A 分析法の性能評価

試料 7 及び 8 をそれぞれ 10 併行分析した結果を表 1 に示した。併行精度 (RSD %) は 0.9~1.3%、真度 98~100%であった。

以上の結果より、構築した分析法はビスフェノール A、フェノール及び p-tert-ブチルフェノールを公定法よりも優れた性能で定量可能であることが示唆された。

表 1 構築したビスフェノール A 分析法の性能評価結果

試料	試料濃度 (μg/mL)	分析対象化合物	濃度 (μg/mL)					平均値 (μg/mL)	併行精度 (RSD%)	真度 (%)
試料7	2.4	ビスフェノールA	2.36	2.39	2.35	2.41	2.38	2.38	1.0	99
			2.39	2.41	2.36	2.34	2.40			
		フェノール	2.43	2.43	2.36	2.42	2.40	2.41	1.0	100
			2.41	2.42	2.40	2.45	2.39			
		<i>p</i> -tert-ブチルフェノール	2.42	2.46	2.40	2.39	2.37	2.39	1.2	100
			2.38	2.38	2.39	2.38	2.37			
試料8	0.8	ビスフェノールA	0.789	0.787	0.802	0.786	0.790	0.788	0.9	99
			0.787	0.794	0.782	0.790	0.776			
		フェノール	0.798	0.785	0.787	0.764	0.791	0.783	1.3	98
			0.787	0.785	0.788	0.771	0.776			
		<i>p</i> -tert-ブチルフェノール	0.796	0.793	0.797	0.785	0.797	0.789	0.9	99
			0.788	0.785	0.793	0.787	0.773			

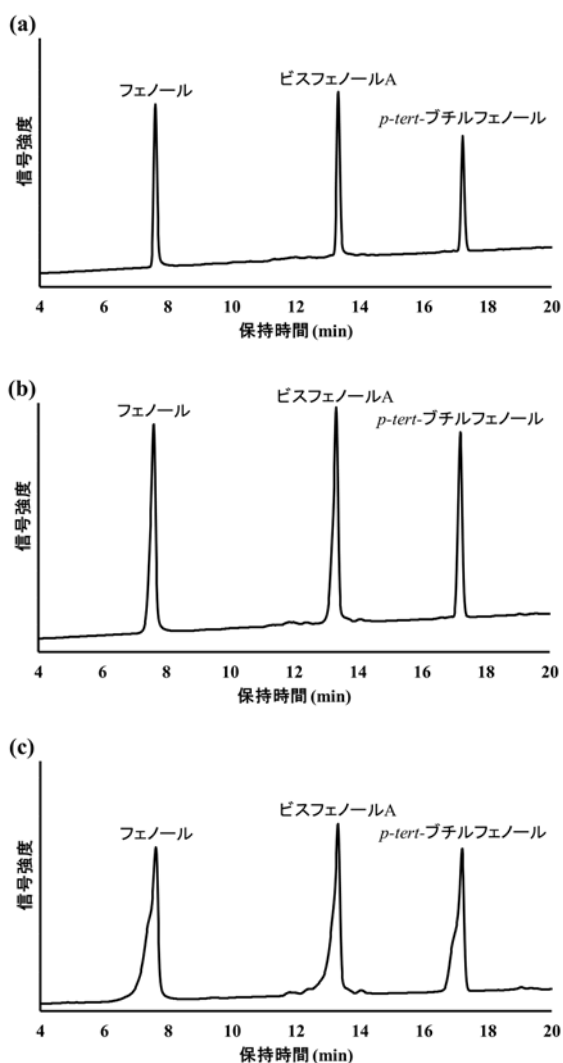


図 4 ヘプタンを浸出用液とする溶出試験の注入量の違いによる HPLC のクロマトグラムの例  
 注入量:(a) 10 μL (b) 20 μL (c) 50 μL

## 2. HPLC-FL 法の検討

前章の共同試験の結果とともに機関 S より、ビスフェノール A、フェノール及び *p*-tert-ブチルフェノールを蛍光検出器により分析可能である旨の情報が提供された。そこで、機関 S から提供された蛍光検出器の励起波長と蛍光波長を用いて検討した。

各浸出用液における検量線用測定溶液及び測定溶液を蛍光検出器により分析した結果、各分析対象化合物のクロマトグラムにおけるピーク形状は対称かつシャープであり、またピークの近傍に定量を著しく妨害するようなピークは見られなかった(図 5)。このため、蛍光検出器による分析でも各分析対象化合物の定量は可能であることを確認した。

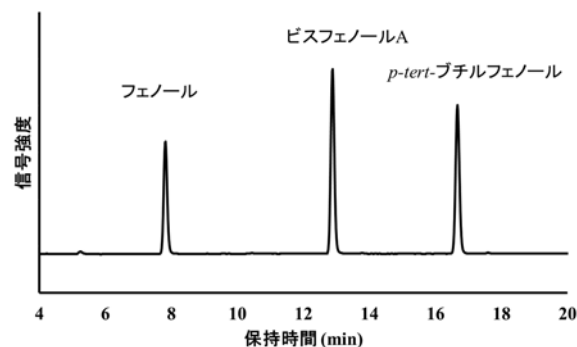


図 5 HPLC-FL 法のクロマトグラム例



蛍光検出器を用いた試料 1～試料 8 の各 10 点の分析結果を表 2 に示した。各試料をとおして、併行精度は 0.1～2.9%、真度は 94～102%であった。

以上の結果より、HPLC-FL 法はビスフェ

ノール A、フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを分析時に大きな支障をきたすことなく定量可能な分析法であり、公定法の代替法としての活用が期待できると考えられた。

表 2 HPLC-FL 法の性能評価結果

試料	試料濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	分析対象化合物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )					平均値 ( $\mu\text{g/mL}$ )	併行精度 (RSD%)	真度 (%)
試料1	2.3	ビスフェノールA	2.27	2.28	2.29	2.29	2.29	2.28	0.4	99
			2.27	2.28	2.28	2.27	2.29			
		フェノール	2.31	2.31	2.32	2.29	2.33	2.31	0.6	100
			2.29	2.30	2.30	2.32	2.29			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	2.28	2.28	2.28	2.31	2.26	2.28	0.8	99
			2.29	2.25	2.30	2.28	2.30			
試料2	0.9	ビスフェノールA	0.845	0.862	0.852	0.880	0.857	0.860	1.7	96
			0.881	0.840	0.855	0.850	0.877			
		フェノール	0.932	0.906	0.919	0.920	0.908	0.913	2.0	101
			0.917	0.937	0.878	0.923	0.889			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	0.903	0.918	0.902	0.885	0.853	0.893	1.9	99
			0.892	0.887	0.895	0.892	0.899			
試料3	2.4	ビスフェノールA	2.44	2.43	2.43	2.44	2.43	2.44	0.2	102
			2.45	2.43	2.44	2.44	2.44			
		フェノール	2.37	2.41	2.39	2.36	2.40	2.39	0.7	99
			2.40	2.39	2.40	2.37	2.37			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	2.40	2.39	2.40	2.41	2.39	2.40	0.3	100
			2.40	2.39	2.39	2.40	2.40			
試料4	0.9	ビスフェノールA	0.924	0.925	0.920	0.921	0.922	0.918	0.6	102
			0.915	0.911	0.917	0.910	0.914			
		フェノール	0.876	0.881	0.871	0.877	0.880	0.880	0.8	98
			0.878	0.885	0.893	0.873	0.888			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	0.911	0.909	0.904	0.904	0.903	0.906	0.4	101
			0.911	0.905	0.902	0.902	0.907			
試料5	2.3	ビスフェノールA	2.28	2.31	2.32	2.34	2.31	2.31	0.6	101
			2.32	2.32	2.32	2.31	2.31			
		フェノール	2.28	2.28	2.27	2.28	2.26	2.27	0.3	99
			2.26	2.27	2.26	2.26	2.26			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	2.30	2.30	2.30	2.30	2.31	2.30	0.1	100
			2.30	2.30	2.31	2.30	2.30			
試料6	0.8	ビスフェノールA	0.794	0.794	0.797	0.805	0.793	0.797	0.5	100
			0.793	0.797	0.796	0.804	0.795			
		フェノール	0.802	0.800	0.797	0.800	0.806	0.802	0.5	100
			0.801	0.810	0.805	0.802	0.802			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	0.799	0.798	0.802	0.807	0.800	0.803	0.5	100
			0.809	0.808	0.802	0.801	0.805			
試料7	2.4	ビスフェノールA	2.43	2.44	2.43	2.44	2.45	2.44	0.6	102
			2.45	2.43	2.44	2.41	2.46			
		フェノール	2.37	2.38	2.36	2.37	2.43	2.37	0.9	99
			2.38	2.36	2.37	2.35	2.36			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	2.38	2.38	2.36	2.39	2.40	2.39	0.6	99
			2.40	2.39	2.40	2.37	2.37			
試料8	0.8	ビスフェノールA	0.781	0.790	0.789	0.763	0.714	0.772	2.9	97
			0.779	0.781	0.784	0.767	0.776			
		フェノール	0.754	0.730	0.740	0.733	0.744	0.754	2.2	94
			0.760	0.761	0.764	0.775	0.778			
		<i>p-tert</i> -ブチルフェノール	0.751	0.746	0.759	0.753	0.754	0.757	0.8	95
			0.758	0.759	0.763	0.765	0.761			

### 3. LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の共同試験

#### 1) 検体の均質性及び安定性

前章「器具・容器包装におけるビスフェノール A 溶出試験に係わる試験法の性能評価」の結果に同じ。

#### 2) 分析結果の解析と目標値との比較

共同試験の分析は 10 月 1 日から 11 月 20 日までに実施され、計画書の実施期間内に完了した。

LC-MS 法による 7 機関の分析及び解析結果を表 3、LC-MS/MS 法による 9 機関の結果を表 4 に示した。なお、LC-MS 法による参加の 8 機関のうち機関 I については全ての検体をとおして添加濃度と分析値の乖離が大きかったため、分析が適当な条件で実施できなかった可能性が考えられたことから、結果の解析からは除いた。

$RSD_r$  は浸出用液がヘプタンである検体 8 の LC-MS 分析で目標値 (10%以下) を満たさなかったが、LC-MS/MS 法での分析を含め、その他の分析では目標値を満たした。

$RSD_R$  は、浸出用液が 20%エタノールである検体 6 と浸出用液がヘプタンである検体 7 の LC-MS 分析、ならびに浸出用液がヘプタンである検体 7 と検体 8 の LC-MS/MS 分析で目標値 (25%以下) を満たさなかったが、その他の分析では目標値を満たした。

真度は、浸出用液が水である検体 1 の LC-MS/MS 分析のみ全ての機関で目標値 (80%~110%) を満たしたが、それ以外の分析では目標値を満たさない機関が多数あった。特に、浸出用液がヘプタンである検体 7 と検体 8 の分析では、約半数以上の機関で目標値を満たさなかった。

以上の結果と前章の結果と比較すると、LC-MS 法及び LC-MS/MS 法の性能は告示

試験法よりも低いことが考えられ、現状では規格を判定する分析法として妥当な水準にないことが示唆された。

#### D. 結論

告示試験法の浸出用液がヘプタンである場合の分析法を新たに構築した。その結果、規格の適否判定を行うための分析法として、妥当な水準にある可能性が期待された。

さらに、告示試験法での紫外吸光度検出器に代わる検出器として蛍光検出器の適用を検討した結果、4 種すべての浸出用液の場合で、蛍光検出器による分析と定量が可能であることが確認され、告示試験法の代替法として活用可能であることが示唆された。今後は、これら 2 つの分析法について室間共同試験による性能評価より、分析法としての妥当性を確認する予定である。

また、告示試験法のビスフェノール A 溶出試験法への LC-MS 法または LC-MS/MS 法の適用性を検証するため、23 機関が参加する共同試験による基礎的検討を実施した。このうち共同試験には、LC-MS 法に 8 機関、LC-MS/MS 法に 9 機関が参加し、共同試験により得られた分析結果を、統計的に解析した。結果として、共同試験の計画書で設定した  $RSD_r$ 、 $RSD_R$  を満たすことができない場合や真度を満たさない機関が多数あったことから、現状では告示試験法への適用は難しいことが示唆され、さらなる検討が必要であることが明らかとなった。

#### E. 参考文献

- 1) 厚生労働省 食品に残留する農薬等の試験法 「シフルメトフェン試験法(農産物)」

表 3 LC-MS 法の性能パラメーターの解析結果と目標値との比較

機関	ビスフェノールA濃度(μg/mL)											
	検体1		検体2		検体5		検体6		検体7		検体8	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
D	1.79	1.86	0.765	0.723	2.07	1.93	0.673	0.703	1.92	1.87	0.700	0.743
E	2.01	2.10	0.843	0.852	2.08	2.14	0.821	0.798	1.91	1.87	0.723	0.720
F	2.65	2.65	1.130	1.140	2.82	2.99	1.430	1.240	2.69	2.84	0.930	1.320
J	2.58	2.54	0.949	0.951	2.68	2.81	0.894	0.894	0.97	0.98	0.796	0.891
L	2.04	2.04	0.878	0.883	2.14	2.07	0.794	0.729	0.92	1.05	0.920	0.941
T	2.02	1.98	0.677	0.690	1.85	1.92	0.678	0.645	4.28	4.15	0.921	0.928
X	2.21	2.22	0.868	0.862	2.22	2.19	0.777	0.797	2.21	2.19	0.791	0.785
機関数	7		7		7		7		7		7	
平均値 (μg/mL)	2.19		0.872		2.28		0.848		2.13		0.865	
併行相対標準偏差 RSD <sub>r</sub> (%)	1.6		1.4		3.3		6.6		3.1		12	
目標値(併行精度)との適合性*1	+		+		+		+		+		-	
室間再現相対標準偏差 RSD <sub>R</sub> (%)	14		17		17		27		53		19	
目標値(室間精度)との適合性*2	+		+		+		-		-		+	
外れ値(真度)*3になった機関数	3		2		2		2		6		3	
外れ値(真度)率*4 (%)	43		29		29		29		86		43	

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

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

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

\*4 外れ値(真度)率：[外れ値(真度)になった機関数 / 機関数(7機関)] × 100 (%)

表 4 LC-MS/MS 法の性能パラメーターの解析結果と目標値との比較

機関	ビスフェノールA濃度(μg/mL)											
	検体1		検体2		検体5		検体6		検体7		検体8	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
C	2.33	2.21	0.882	0.861	2.22	2.21	0.816	0.798	1.92	2.01	0.602	0.664
D	2.28	2.36	0.888	0.850	2.17	2.25	0.770	0.778	1.97	1.97	0.663	0.755
E	2.03	1.96	0.711	0.726	2.14	2.33	0.841	0.869	2.29	2.11	0.814	0.786
J	1.82	1.88	0.534	0.543	2.02	1.84	0.467	0.423	0.46	0.48	0.337	0.455
K	2.28	2.26	0.893	0.855	2.47	2.38	0.872	0.880	3.61	3.44	1.050	1.050
L	1.98	1.95	1.160	1.190	3.03	3.16	1.000	0.812	1.77	1.76	1.340	1.430
P	2.20	2.21	0.876	0.894	2.31	2.30	0.861	0.856	2.80	2.90	1.270	1.330
T	1.90	1.95	0.666	0.651	1.88	1.87	0.636	0.657	4.51	4.47	1.680	1.690
W	2.14	1.95	0.688	0.690	2.41	2.56	0.577	0.642	2.64	2.96	0.840	0.845
機関数	9		9		9		9		9		9	
平均値 (μg/mL)	2.09		0.809		2.31		0.753		2.45		0.978	
併行相対標準偏差 RSD <sub>r</sub> (%)	3.0		2.1		3.6		6.5		4.1		4.7	
目標値(併行精度)との適合性*1	+		+		+		+		+		+	
室間再現相対標準偏差 RSD <sub>R</sub> (%)	8.6		23		16		21		47		42	
目標値(室間精度)との適合性*2	+		+		+		+		-		-	
外れ値(真度)*3になった機関数	0		5		1		3		6		6	
外れ値(真度)率*4 (%)	0		56		11		33		67		67	

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

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

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

\*4 外れ値(真度)率：[外れ値(真度)になった機関数 / 機関数(9機関)] × 100 (%)

## 市販製品に残存する化学物質に関する研究

研究分担者 阿部 裕 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官

### 研究要旨

器具・容器包装及び乳幼児用玩具（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る。製品には原料、添加剤、不純物等の様々な化学物質が残存し、これらの化学物質は食品や唾液を介してヒトを曝露する可能性がある。したがって、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及び食品等へ移行する化学物質の種類や量を把握することが重要である。また、これらの化学物質には分析法がないものや、分析法があっても改良すべき課題を有するものがあるため、これらを解決するための検討も必要である。さらに、近年ヘリウムガスの供給不足が度々発生しており、今後ヘリウムガスの入手が困難となった場合に対応するため、使用実態がほとんどない窒素キャリアガスの適用性を確認しておく必要がある。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、窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認及び窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験法への適用、食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討を実施した。

ジブチルスズ化合物試験法において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかった。一方、ヘリウムと比べて窒素における感度は約 25%の減少となり、さらにバックグラウンドのノイズが増加した。そのため、S/N は 1/10 以下に低下した。しかし、限度分析法及び定量分析法のいずれにおいても規格試験として適用可能と考えられる性能を有していた。

GC-MS を用いたフタル酸エステル試験において、キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更した結果、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかったが、ピーク面積値は 10～50%減少した。そこで、カラムサイズを細く短いものに変更し、流速を下げた測定した。その結果、S/N は 10～20 倍に改善した。一方、DNOP、DINP 及び DIDP については感度が不十分だったため、大量に含有されている場合は適否判定を行う事は出来ると推測されたが、規格値相当含有されている場合は適否判定を行うことができる水準ではなかった。しかしながら他の可塑剤が共存していてもこれらの PAEs を含有している可能性のある試料を選別することは可能であると考えられた。

日本、米国及び欧州連合における酸性食品の区分とその食品擬似溶媒は整合化されておらず、器具・容器包装の輸出入時の規格適合性確認、並びに新規物質の健康影響評価の円滑な運用を妨げる可能性がある。そこで、器具・容器包装の規格基準におけ

る酸性食品の区分と溶出試験で用いる浸出用液の検討を行った。その結果、食品の製造基準ではボツリヌス食中毒の発生防止という観点から pH 4.6 を指標としており、器具・容器包装の規格においても酸性食品の指標となる pH 値を現行の 5 から 4.6 へ変更することが望ましいと考えられた。さらに、3%酢酸と 4%酢酸について浸出用液としての同等性を検証したが、物質の分配係数によって溶出傾向が異なることから、これらを同等と見なすことができなかった。各種飲料への溶出量を対照として食品擬似溶媒としての妥当性を検証したところ、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる 4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。

## 研究協力者

安藤百合：国立医薬品食品衛生研究所  
大野浩之：名古屋市衛生研究所  
片岡洋平：国立医薬品食品衛生研究所  
六鹿元雄：国立医薬品食品衛生研究所  
山口未来：国立医薬品食品衛生研究所  
四柳道代：国立医薬品食品衛生研究所

## 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 尾崎麻子ら、ヘッドスペース-GC/MS による食品用ラミネートフィルム中の残留有機溶剤の分析、食品衛生学雑誌、60、73-81 (2019)
- 2) 河村葉子ら、油脂および脂肪性食品用合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物試験に関する考察、食品衛生学雑誌、60、82-87 (2019)

### 2. 講演、学会発表等

- 1) 六鹿元雄、食品用器具・容器包装におけるポジティブリスト制度の導入について、第 92 回日本産業衛生学会シンポジウム (2019.5)
- 2) 尾崎麻子ら、合成樹脂製の器具・容器包装における溶出試験の精度の検証、第 115 回日本食品衛生学会学術講演会 (2019.10)
- 3) 六鹿元雄、器具・容器包装におけるポジティブリスト制度の最新情報、日本食品衛生学会第 22 回特別シンポジウム (2020.2)

### 健康危害情報

なし

### 知的財産権の出願・登録状況

なし

## ＜その1＞ 窒素をキャリアーガスに用いたガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認

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	山口 未来	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	大野 浩之	名古屋市衛生研究所
研究協力者	片岡 洋平	国立医薬品食品衛生研究所
研究代表者	六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所

### A. 研究目的

食品衛生法では器具・容器包装、おもちゃ等の告示もしくは通知試験法においてガスクロマトグラフ-水素炎イオン化検出器 (GC-FID)、GC-アルカリ熱イオン化検出器 (FTD)、GC-高感度窒素・リン酸検出器 (NPD) もしくは GC-質量分析計 (MS) を用いる試験法が示されている。これらの大部分ではキャリアーガスとしてヘリウムもしくは窒素が規定されているが、多くの試験機関がヘリウムを用いてきた。しかし、近年ヘリウムガスの供給不足が度々発生しており、今後も同様の問題が起こることが予想される。そのため、ヘリウムガスの入手が困難となった場合に対応するため、使用実態がほとんどない窒素キャリアーガスの適用性を確認しておく必要がある。

器具・容器包装、おもちゃ等の試験法のうち、GC-FID もしくは GC-NPD を用いる揮発性物質試験、塩化ビニル試験などについては、平成26年度の厚生労働科学研究において、キャリアーガスを窒素に変更した場合の検討を行い、いずれの試験においても大きな影響なく使用可能であることを報告している。

一方ジブチルスズ化合物の告示試験においては GC-MS を使用することとされており、キャリアーガスはヘリウムのみが規定されている。GC-MS では、キャリアーガスをヘリウムから窒素へ変更することによって、感度の低

下、保持時間の変化などが予想されるが、規格試験法としての窒素キャリアーガスの適用性については検証されていない。そこで本研究では、窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性を確認した。

### B. 研究方法

#### 1. 試料

予備検討においてジブチルスズ化合物の含有が確認されなかった軟質 PVC 製おもちゃ2検体 (ボール及び空気注入玩具) を用いた。これらは神奈川県内の玩具店で2019年に購入した。

#### 2. 試薬、試液及び標準溶液

##### 1) 試薬

二塩化ジブチルスズ : >97.0%、酢酸ナトリウム : 98.5%、以上東京化成工業株式会社製  
テトラエチルホウ酸ナトリウム : 98%、STREM CHEMICALS 社製

アセトン : 残留農薬・PCB 分析用、酢酸 : 精密分析用、以上シグマアルドリッチジャパン社製

ヘキサン : 残留農薬・PCB 分析用、塩酸 : 特級、以上富士フィルム和光純薬工業株式会社製

超純水 : PURELAB flex (ELGA 社製)で精製

した水

## 2) 試液

酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液：酢酸 12 g に水 100 mL を加えた液を第 1 液、酢酸ナトリウム 16.4 g に水 100 mL を加えた液を第 2 液とし、第 1 液と第 2 液を 3:7 の割合で混合した。

テトラエチルホウ酸ナトリウム試液：テトラエチルホウ酸ナトリウム 0.4 g を超純水に溶かして 20 mL とした。本試液は用時調製した。

## 3) 標準溶液

ニ塩化ジブチルスズ 100 mg にアセトン及び塩酸 100  $\mu$ L を加えて溶かした後、アセトンを加えて 100 mL とした。この液を、0.01%塩酸含有ヘキサン溶液で適宜希釈したものをジブチルスズ化合物標準溶液とした。

## 3. 装置

GC-MS：ガスクロマトグラフ 7890 GC、質量分析計 5975C MSD、Agilent Technologies 社製（ただし、イオン源への吸着を抑制するため<sup>2)</sup>、ドローアウトプレートは通常穴径 3 mm のものから 6 mm のものへ変更したもの）を用

いた（図 1）。

恒温槽：NTT-2400、EYELA 社製

遠心機：H-80R、KOKUSAN 社製

振とう機：RECIPRO SHAKER SR-2w、TAITEC 社製

エバポレーター：ROTARY VACUUM EVAPORATOR N-N SERIES、EYERA 社製

## 4. 測定条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d.  $\times$  30 m, 膜厚 0.25  $\mu$ m, Agilent Technologies 社製)

カラム温度：45 $^{\circ}$ C (4 分間保持)  $-$  15 $^{\circ}$ C/min (昇温)  $-$  300 $^{\circ}$ C (10 分間保持)

注入口温度：250 $^{\circ}$ C

注入モード：スプリットレス

注入量：1  $\mu$ L

キャリアーガス及び流量：He 0.8 mL/min、N<sub>2</sub> 0.8 mL/min (定流量)

トランスファーライン温度：280 $^{\circ}$ C

イオン源温度：230 $^{\circ}$ C

四重極温度：150 $^{\circ}$ C

測定モード：SIM

定量イオン ( $m/z$ )：263

確認イオン ( $m/z$ )：261 及び 259

### ① イオン源



### ② 分解図

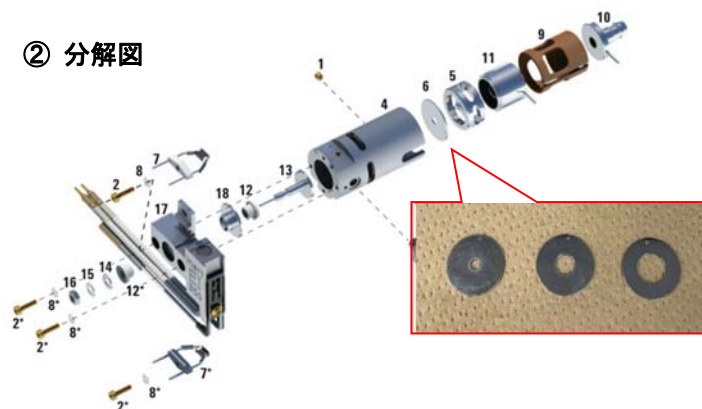


図1 GC/MS イオン源(本研究で用いた Agilent Technologies 社製のもの)

① イオン源、② 分解図 枠内がドローアウトプレート(穴径 左:3 mm, 中:6 mm, 右:9 mm)



## 5. 試験溶液及び測定溶液の調製

### 1) 試験溶液の調製

試験溶液の調製は公定法にしたがった。すなわち、細切した試料 0.5 g を共栓付きフラスコに採り、アセトン・ヘキサン混液 (3:7) 20 mL 及び塩酸 50  $\mu$ L を加え、密栓をして約 40°C の恒温槽内で一晩放置した。冷後、この液をろ紙 (定量 5C) ろ過し、ろ液及びアセトン・ヘキサン混液 (3:7) による洗液を合わせ、減圧濃縮器を用いて 40°C 以下で約 1 mL まで濃縮した。次いで、ヘキサンを用いて 25 mL のメスフラスコに移し、さらにヘキサンを加えて 25 mL に定容した。毎分 2500 回転で約 10 分間遠心分離を行い、上澄液を試験溶液とした。

### 2) 測定溶液の調製

試験溶液 2 mL をとり、酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 5 mL 及びテトラエチルホウ酸ナトリウム試液 1 mL を加えて直ちに密栓し 20 分間激しく振り混ぜた (振とう速度:300 回/分)。これを室温で約 1 時間静置した後、上澄液を採取し測定溶液とした。

## 6. 標準測定溶液の調製

各濃度のジブチルスズ化合物標準溶液 2 mL をとり、2) 測定溶液の調製と同様に操作し、得られた上澄液を標準測定溶液とした。

## 7. 定量

標準測定溶液から得られた定量イオンのピーク面積を用いて絶対検量線法で検量線を作成し、測定溶液中のジブチルスズ化合物を定量した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. 保持時間及びマススペクトルの比較

ジブチルスズ化合物標準溶液 (50  $\mu$ g/mL) を誘導体化した標準測定溶液を用いて、ヘリウ

ム及び窒素キャリアーでの保持時間及びマススペクトルを比較した。

### 1) 保持時間

公定法では GC/MS の操作条件でジブチルスズ化合物誘導体が約 13 分で流出する流速に調整することとされているが、ヘリウムキャリアーの場合、流速 0.8 mL/min (線速度:32.52 cm/sec) でジブチルスズ化合物誘導体の保持時間が 12.9 分であった (図 2-1)。一方、窒素キャリアーの場合は、最適線速度は 10-20 cm/sec とされており、流速をさらに遅くするかカラム内径を細くするなどの対応が必要である。しかし、流速の制御が難しくなるだけでなく、公定法で指定された測定条件から逸脱することとなる。そこで、窒素キャリアーにおいてもヘリウムと同じ流速で測定した。その結果、ジブチルスズ化合物誘導体の保持時間及びピーク形状は、いずれもヘリウムの場合とほぼ同じであった。そのため、本検討では流速を 0.8 mL/min として以降の検討を行った。

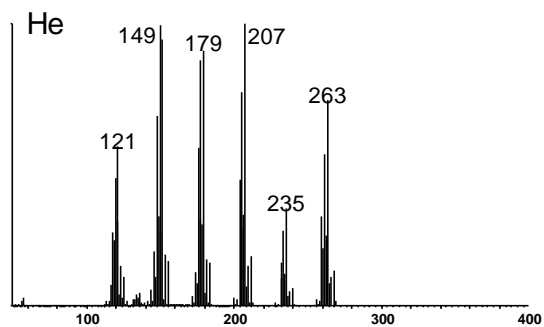
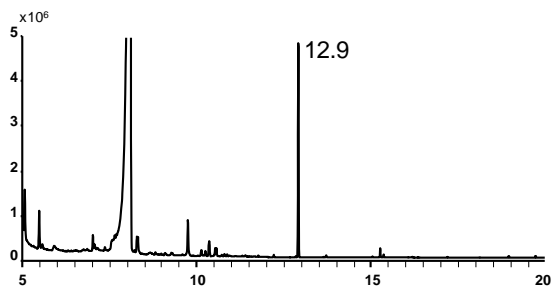
### 2) マススペクトル

ヘリウムキャリアーと窒素キャリアーによって得られたマススペクトルを比較したところ、窒素キャリアーではヘリウムキャリアーと比べてバックグラウンドに由来するイオンが高く検出された。しかし、ジブチルスズ化合物誘導体に由来するイオンやこれらの強度比に大きな差はなかった (図 2-2)。

### 2. イオン強度の比較

ジブチルスズ化合物の規格値である 50  $\mu$ g/g に相当する 1  $\mu$ g/mL のジブチルスズ化合物標準溶液を誘導体化した標準測定溶液を用いて、イオン強度を比較した。ヘリウム及び窒素キャリアーでの  $m/z$  263 における抽出イオン (SIM) クロマトグラフを図 3 に、繰り返し 5 回測定したときの SIM モードでのピーク面積

He (流速: 0.8 mL/min)



N2 (流速: 0.8 mL/min)

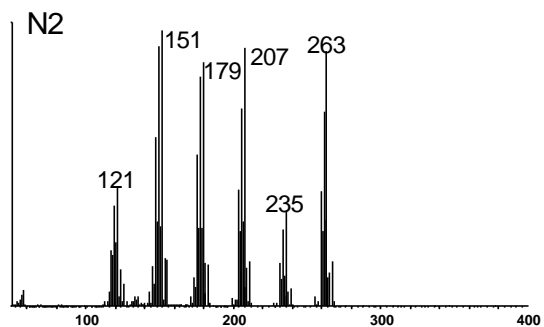
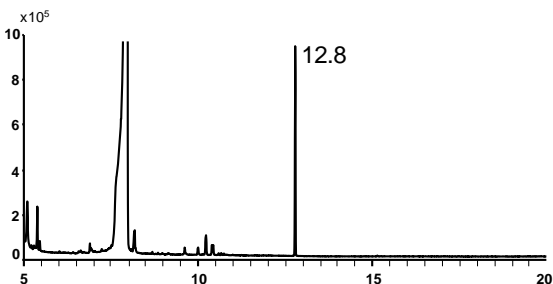


図2-1 標準測定溶液のクロマトグラム  
(濃度: 50 µg/mL、SCAN 範囲: 40-800)

図2-2 標準測定溶液のマススペクトル  
(濃度: 50 µg/mL)

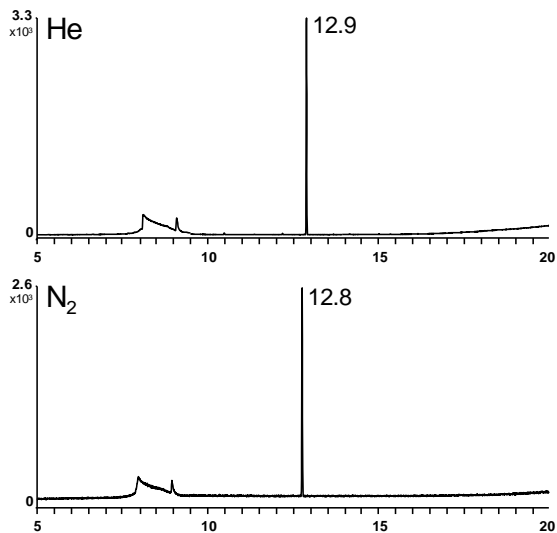


図3 ヘリウム及び窒素キャリアーでの SIM クロマトグラム  
(濃度: 1 µg/mL、イオン:  $m/z$  263)

値及び S/N を表 1 にまとめた。

ピーク面積値は、ヘリウムでは約 3,600、窒素では約 2,800 であり、約 20% 減少した。一方 S/N は、それぞれ約 1,400 及び約 120 であり、前述のように窒素キャリアーの場合はノイズレベルが高いため S/N は 10 以下に大きく低下した。しかし、S/N が 100 以上であれば、適否判定は可能と考え、適用に問題はないと判断した。

表 1 ピーク面積値と S/N の比較

Trial	Peak area		S/N	
	He	N <sub>2</sub>	He	N <sub>2</sub>
1	3584	2840	1500	129
2	3568	2763	1050	121
3	3591	2731	1510	135
4	3694	2727	1530	106
5	3673	2817	1510	112
Ave	3622	2776	1420	121

### 3. ジブチルスズ化合物試験法の妥当性確認

#### 1) 限度分析法の妥当性確認

告示におけるジブチルスズ化合物試験は、試験溶液と標準溶液におけるジブチルスズ化合物誘導体のピーク面積値を比較して適否判定を行う限度試験である。そこで、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」（食安発 1222 第 8 号 平成 26 年 12 月 22 日）<sup>3)</sup>を参考に、本法の妥当性確認を行った。

ジブチルスズ化合物を含まない PVC 製玩具 2 検体（試料 1 及び試料 2）を用いて試験溶液を調製し、これに規格値 1 µg/mL 相当となるようにジブチルスズ化合物標準溶液を添加した。この液を添加試料とし、それぞれ 5 併行で測定溶液を調製し、各 1 回ずつ測定した。また、規格値 1 µg/mL のジブチルスズ化合物標準溶液から 1 併行で標準測定溶液を調製し、

5 回繰り返し測定した。

標準測定溶液におけるジブチルスズ化合物誘導体のピーク面積値 (SI<sub>standard</sub>) の平均値に対する添加試料の分析により得られたピーク面積値 (SI<sub>sample</sub>) の平均値の比 (SI<sub>ratio</sub>) は、試料 1 では 0.96、試料 2 では 0.94 であった。また、SI<sub>standard</sub> の相対標準偏差 (S<sub>standard</sub>) は 4.9、SI<sub>sample</sub> の相対標準偏差 (S<sub>sample</sub>) は 5.4 及び 4.2 であった (表 2)。いずれも「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」における限度試験の目標値 (SI<sub>ratio</sub> : 0.9-1.0、S<sub>standard</sub> : < 5、S<sub>sample</sub> : < 15) を満たしており、本法の性能は限度分析法として妥当であると判断した。

#### 2) 定量分析法の妥当性確認

試料 1 及び試料 2 から得られた測定溶液を、それぞれ試験者 2 名が 1 日 2 併行で定量し、その定量値を用いて定量分析法としての妥当性確認を行った。得られたジブチルスズ化合物誘導体の真度 (%) から一元配置の分散分析により併行精度 (RSD<sub>F</sub>%) 及び室内精度 (RSD<sub>R</sub>%) を求めた。ただし、室内精度には日間及び実施者が異なることも要因として含む (表 3)<sup>4)</sup>。それぞれの試料における真度は 99.4 及び 98.8%、併行精度は 3.1 及び 6.3%、室内精度は 6.1 及び 9.9% であった。真度は CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL (Twenty-Seventh edition)<sup>5)</sup> が定めるサンプル濃度 100 mg/kg における目標値 (90-107%) を満たした。また RSD<sub>F</sub> 及び RSD<sub>R</sub> は、GUIDELINES ON GOOD LABORATORY PRACTICE IN PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS (CAC/GL 40)<sup>6)</sup> が定める試験室内妥当性確認の基準 (サンプル濃度 > 1 mg/kg の場合の RSD<sub>F</sub> : 10% 及び RSD<sub>R</sub> : 16%) を満たした。以上から本法の性能は定量分析法として妥当であると判断した。

表2 限度試験の妥当性確認における結果と性能パラメーター

Trial	Peak area		
	SI <sub>standard</sub>	SI <sub>sample 1</sub>	SI <sub>sample 2</sub>
1	3279	3122	3118
2	3522	3303	3371
3	3641	3504	3383
4	3747	3542	3505
5	3539	3522	3310
Ave	3546	3399	3337
SI <sub>ratio</sub>	-	0.96	0.94
S <sub>standard</sub> or S <sub>sample</sub>	4.9	5.4	4.2

SI: ピーク面積値、SI<sub>ratio</sub>: 標準測定溶液と測定溶液のピーク面積値の比、  
s: ピーク面積値の相対標準偏差 (n=5)

表3 定量試験の妥当性確認における結果と性能パラメーター

Sample	Trial	Operator 1			Operator 2			Trueness (%)	RSD <sub>r</sub> (%)	RSD <sub>R</sub> (%)
		1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd			
1	1	95.7	93.6	103.0	95.5	104.0	97.0	99.4	3.1	6.1
	2	93.5	96.7	101.0	100.8	110.9	101.0			
2	1	95.1	95.3	97.0	102.0	114.1	83.0	98.8	6.3	9.9
	2	93.1	100.3	103.0	98.7	103.8	100.0			

ただし、RSD<sub>R</sub>には日間及び実施者が異なることも要因として含む。

#### D. 結論

窒素をキャリアガスに用いた GC-MS によるジブチルスズ化合物試験法の妥当性を確認した。キャリアガスをヘリウムから窒素へ変更しても、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかった。ただし、ヘリウムと比べて窒素では感度は約 25%の減少となり、バックグラウンドのノイズも増加した。そのため、S/N は 1/10 以下に低下した。しかし、限度分析法及び定量分析法のいずれにおいて

も規格試験として適用可能な性能を有していた。

#### E. 参考文献

- 1) 羽石奈穂子：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 統括・分担研究報告書 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アガスの変更による

- 影響、95-111 (2015)
- 2) Agilent5977 シリーズEI イオン源 セレクション ガイド ([https://www.chem-agilent.com/pdf/low\\_5991-2106JAJp.pdf](https://www.chem-agilent.com/pdf/low_5991-2106JAJp.pdf), 最終アクセス日 令和2年5月12日)
  - 3) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知 (平成26年12月22日食安発1222第8号) 食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて (2014)
  - 4) 渡邊敬浩・松田りえ子：食品分析結果のただしさ～信頼性保証の実践とその意味～ (ISBN 4-939027-25-2)、林純薬工業株式会社、p.127 (2011)
  - 5) CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL (Twenty-Seventh edition) (ISSN 1020-8070), Joint FAO/WHO Food Standards Programme (2019)
  - 6) GUIDELINES ON GOOD LABORATORY PRACTICE IN PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS, CAC/GL 40-1993

## ＜その2＞ 窒素をキャリアガスに用いたガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) のフタル酸エステル試験への適用

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	山口 未来	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	片岡 洋平	国立医薬品食品衛生研究所
研究代表者	六鹿 元雄	国立医薬品食品衛生研究所

### A. 研究目的

合成樹脂の可塑剤として使用されるフタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) やフタル酸ジイソノニル (DINP) などのフタル酸エステル類 (Phthalic acid esters, PAEs) は生殖毒性や発生毒性などを有することが疑われ<sup>1-3)</sup>、さらに食品や唾液を介してヒトへ移行する可能性が指摘された<sup>4)</sup>。そのため、食品衛生法においては、油脂又は脂肪性食品を含有する食品に接触する器具又は容器包装には DEHP を原材料として用いた PVC を主成分とする合成樹脂を原材料としてはならないとして使用を制限している(ただし、溶出等しないように加工されている場合を除く)。また、主に乳幼児を対象としたおもちゃに対しては、可塑剤が使用された材質への DEHP、フタル酸ジブチル (DBP) 及びフタル酸ベンジルブチル (BBP) の含有量がそれぞれ 0.1% 以下、口に接触することを本質とするおもちゃのうち、口に接触する部分の可塑剤が使用された材質への DINP、フタル酸ジ-*n*-オクチル (DNOP) 及びフタル酸ジイソデシル (DIDP) の含有量がそれぞれ 0.1% 以下でなくてはならないとしている。

PAEs の試験や測定には、主に GC-MS が用いられることが多く、通知試験法においては、キャリアガスとしてヘリウムもしくは窒素が指定されている。しかし、多くの試験機関で

はヘリウムをキャリアガスとして用いているため、ヘリウムガス不足時に試験が困難になる可能性がある。我々は平成 25 年度の厚生労働科学研究においてヘリウムガスを用いない分析法として液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた分析法の開発を行った<sup>5)</sup>。本法はヘリウム不足への対応として有効であることを示したが、日常的に LC-MS/MS を使用可能な機関は多くない。そこで本検討では、窒素をキャリアガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験法への適用について検討するとともに、その妥当性を確認した。

### B. 研究方法

#### 1. 試料

以前の研究<sup>6)</sup> において可塑剤含有量を調査し、PAEs の含有が確認されなかった軟質 PVC 製おもちゃ 27 検体を用いた。これらは 2014 年に都内の玩具店等で購入した。それぞれの含有可塑剤の種類及び含有量を表 1 に示した。

#### 2. 試薬、標準品及び標準溶液

##### 1) 試薬

アセトン：残留農薬・PCB 分析用、シグマアルドリッチジャパン社製

ヘキササン：残留農薬・PCB 分析用、富士フイルム和光純薬工業株式会社製

表1 試料中の含有可塑剤

試料 No.	含有可塑剤(含有量, %)	検出の可否		
		DNOP (保持時間)	DINP	DIDP
1	DINCH (37)	○ (12.26)	○	○
2	ATBC (19), TMPD (2.0)	○ (12.23)	○	○
3	DEHTP (14), ATBC (5.5)	○ (12.23)	○	○
4	TMPD (13), DINCH (4.3)	○ (12.22)	○	○
5	DINCH (39)	○ (12.31)	○	○
6	DEHTP (23)	△ (12.23)	○	○
7	DINCH (35), TMPD (0.5)	○ (12.30)	○	○
8	ATBC (13), DINA (13)	○ (12.24)	○	○
9	TBC (14), TMPD (1.2)	○ (12.22)	○	○
10	DEHTP (14), DINCH (10)	△ (12.27)	○	○
11	DEHTP (15), DINA (0.3), TEHTM (0.2)	△ (12.23)	○	○
12	TMPD (9.1), DINCH (3.0)	○ (12.24)	○	○
13	DINCH (11), TMPD (4.8), DEHTP (0.2)	○ (12.28)	○	○
14	DINA (16), ATBC (13), TMPD (0.4), DBS (0.2)	○ (12.24)	○	○
15	ASP (56), DEHTP (2.4)	○ (12.25)	○	○
16	DEHTP (15)	△ (12.23)	○	○
17	ASP (61), DEHTP (3.7)	○ (12.26)	○	○
18	DEHTP (24), TEHTM (3.8)	△ (12.22)	○	○
19	TBC (31), DEHTP (0.9)	○ (12.22)	○	○
20	DIBP (34)	○ (12.21)	○	○
21	TBC (22), DIBP (1.7)	○ (12.22)	○	○
22	DINCH (24), TMPD (0.1)	○ (12.30)	○	○
23	DEHTP (16), TBC (1.4)	△ (12.22)	○	○
24	DINCH (15)	○ (12.30)	○	○
25	DEHA (21), DINA (1.6), ATBC (0.5)	○ (12.22)	○	○
26	DEHTP (15), ATBC (5.4)	△ (12.22)	○	○
27	DEHTP (8.5), ATBC (5.8), DINA (0.2)	△ (12.23)	○	○

○:検出、△:DEHTPと重複するが確認は可能

[ DINCH: Diisononyl cyclohexyl 1,2-dicarboxylate, ATBC: *o*-acetyl tributyl citrate, TMPD: trimethyl pentanediol diisobutylate, DEHTP: di(2-ethylhexyl) terephthalate, DINA: diisononyl adipate, TEHTM: tri(2-ethylhexyl) trimalitate, TBC: tributyl citrate, DBS: dibutyl sebacate, ASP: phenyl alkyl sulfonate, DEHA: di(2-ethylhexyl) adipate ]

## 2) 標準品

本研究に用いた PAEs の標準品及び内標準物質を表 2 に示した。なお、DINP には CAS No.28553-12-0 と 68515-48-0 の 2 種類があるが、本研究では主に流通している CAS No.28553-12-0 を用いた。

## 3) 標準溶液

PAEs 標準原液：各 PAE 標準品をそれぞれ 100 mg とり、アセトンを加えて各 100 mL とした (各 1,000 µg/mL)。

内標準物質標準原液：各内標準物質をそれぞれ 10 mg とり、アセトンを加えて各 10 mL とした (各 1,000 µg/mL)。

3 種混合 PAEs 標準溶液：DBP、BBP 及び DEHP 標準原液を混合し、アセトンで適宜希釈した。

4 種混合 PAEs 標準溶液：DBP、BBP、DEHP 及び DNOP 標準原液を混合し、アセトンで適宜希釈した。

DINP 標準溶液：DINP 標準原液をアセトンで適宜希釈した。

DIDP 標準溶液：DIDP 標準原液をアセトンで適宜希釈した。

内標準物質混合溶液：各内標準物質標準原液 1 mL をとり、アセトニトリルを加えて 10 mL とした (各 100 µg/mL)。

## 3. 装置

GC-MS：ガスクロマトグラフ 7890 GC、質量分析計 5975C MSD、Agilent Technologies 社製 (ただし、イオン源への吸着を抑制するため<sup>7)</sup>、ドローアウトプレートは通常穴径 3 mm から 6 mm へ変更したものをを用いた (その 1 ジブチルスズ化合物と同じ))

恒温槽：NTT-2400、EYELA 社製

## 4. 測定条件

カラム：DB-5MS (0.25 mm i.d.×30 m、膜厚 0.25 µm、Agilent Technologies 社製)

カラム温度：100°C－15°C/min (昇温)－300°C (10 分間保持)

注入口温度：250°C

注入モード：スプリットレス

注入量：1 µL

キャリアーガス及び流量：He 0.8 mL/min、N<sub>2</sub> 0.8 mL/min (定流量)

トランスファーライン温度：280°C

イオン源温度：230°C

四重極温度：150°C

測定モード：SIM

定量イオン及び確認イオン (*m/z*)：表 2

## 5. PAEs 添加試験溶液の調製

細切した試料 0.5 g を精秤して 50 mL 容の三角フラスコにとり、アセトン・ヘキサン混液 (3:7) 30 mL を加えて振り混ぜた後、密栓をして約 40°C の恒温槽内で一晩静置した。冷後ろ紙 (No.5C 125 mm もしくは 185 mm) を用いてろ過し、アセトンで三角フラスコ及び漏斗を洗い、得られたろ液及び洗液を合わせアセトンで 50 mL に定容した。この液を試料抽出液とした。

DBP、BBP、DEHP 及び DNOP 標準原液各 0.5 mL を 50 mL 容のメスフラスコにとり、試料抽出液を加えて 50 mL としたものを 4 種混合 PAEs 添加試験溶液とした。また、DNOP 標準原液を除く 3 種の標準原液を用いて上記と同様に調製したものを 3 種混合 PAEs 添加試験溶液とした。また、DINP または DIDP 標準原液を用いて同様の操作を行ったものをそれぞれ DINP 添加試験溶液及び DIDP 添加試験溶液とした。なお、添加試験溶液中の PAEs の濃度は 10 µg/mL であり、材質あたりの残存量に換算すると規格値である 0.1% となる。



表2 標準品及び内標準物質

化合物名	略号	用途	純度	定量イオン ( <i>m/z</i> )	確認イオン ( <i>m/z</i> )	保持時間(分)		
						He*	N <sub>2</sub> *	N <sub>2</sub> **
フタル酸エステル標準品								
フタル酸ジブチル	DBP	PAE 試験用	99.5%以上	149	223	7.7	7.8	9.0
フタル酸ベンジルブチル	BBP	PAE 試験用	99.0%以上	149	91, 206	9.5	9.6	10.9
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)	DEHP	PAE 試験用	99.5%以上	149	167	10.3	10.3	11.6
フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル	DNOP	PAE 試験用	98.0%以上	279	149	11.0	11.1	12.7
フタル酸ジイソノニル	DINP	PAE 試験用	98.0%以上	293	149	10.6-12.1	10.6-12.0	12.3-14.0
フタル酸ジイソデシル	DIDP	PAE 試験用	98.0%以上	307	149	11.0-13.0	11.2-12.6	13.0-15.1
内標準物質								
フタル酸ジブチル-d <sub>4</sub>	DBP-d <sub>4</sub>	環境分析用	98.0%以上	153	227	7.7	7.8	9.0
フタル酸ベンジルブチル-d <sub>4</sub>	BBP-d <sub>4</sub>	環境分析用	98.0%以上	153	91, 210	9.5	9.6	10.9
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)-d <sub>4</sub>	DEHP-d <sub>4</sub>	環境分析用	98.0%以上	153	283	10.3	10.3	11.6

上記は全て富士フイルム和光純薬工業株式会社製

\*: カラム長さ 30 m、\*\*: カラム長さ 20 m

## C. 研究結果及び考察

### 1. 保持時間及びマススペクトルの比較

公定法の測定条件における標準溶液 (DBP、BBP、DEHP、DNOP : 1 µg/mL、DINP、DIDP :

10 µg/mL) のクロマトグラム (SIM) を図 1-1、代表的なマススペクトルとして DBP、DEHP (各 5, 100 µg/mL) 及び DINP : (20, 100 µg/mL) を図 1-2 に示した。

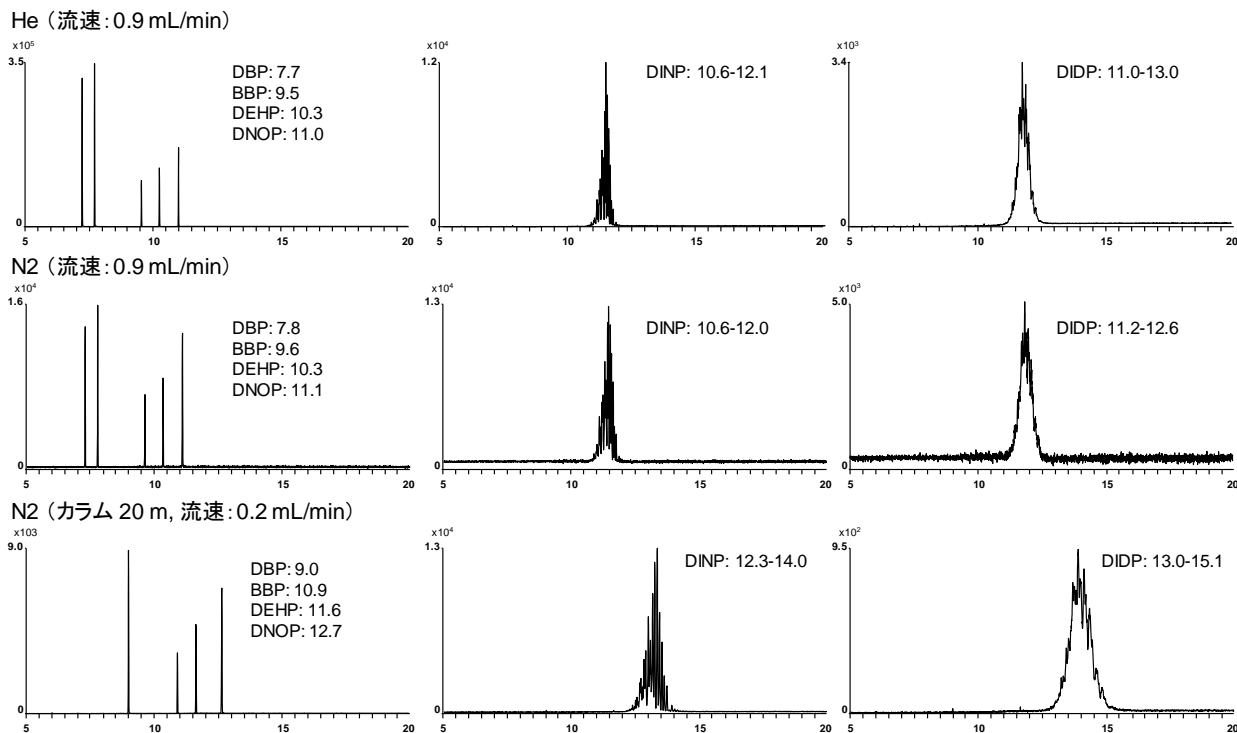


図1-1 フタル酸エステル標準溶液 (1 or 10 µg/mL) の SIM クロマトグラム ( $m/z$  149)

上段: He, 30 m カラム、流速 0.9 mL/min

中段: N<sub>2</sub>, 30 m カラム、流速 0.9 mL/min

下段: N<sub>2</sub>, 20 m カラム、流速 0.25 mL/min

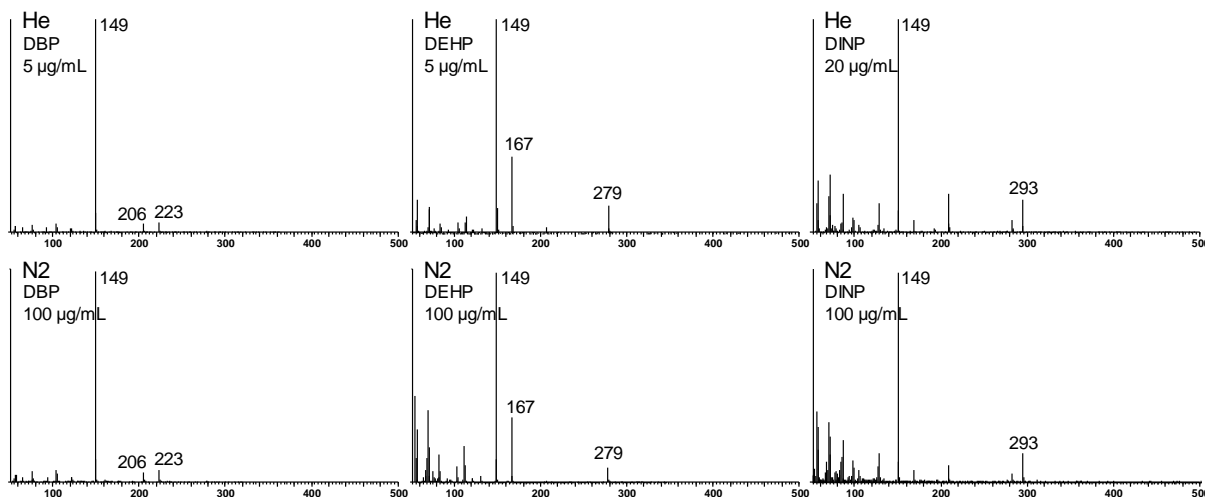


図1-2 DBP, DEHP 及び DINP のマススペクトル

上段: He, 下段: N<sub>2</sub>

(DBP & DEHP: 5 or 100 µg/mL; DINP: 20 or 100 µg/mL)

## 1) 保持時間

公定法ではGC/MSの測定条件としてDEHPが約10分で流出する流速に調整することとされている。キャリアーガスをヘリウムとした場合、流速0.9 mL/minでDEHPの保持時間が10.3分となった(図1-1)。またその他のPAEsの保持時間は、DBP:7.7分、BBP:9.5分、DNOP:11.0分、DINP:10.6~12.1分及びDIDP:11.0~13.0分であった。

次にキャリアーガスを窒素に変更し、同じ流速でのPAEsの保持時間を比較した。その結果、DBP:7.8分、BBP:9.6分、DEHP:10.3分、DNOP:11.1分、DINP:10.6~12.0分及びDIDP:11.2~12.6分となり、保持時間はほぼ変わらずピーク形状も良好であった。

## 2) マススペクトル

ヘリウムキャリアーと窒素キャリアーによって得られたマススペクトルを比較したところ、窒素キャリアーではヘリウムキャリアーと比べてバックグラウンドに由来するイオンが高く検出された。しかし、PAEsに由来するイオンやこれらの強度比に大きな差はなかった。

## 2. イオン強度及びシグナルノイズ比(S/N)の比較

### 1) 公定法での比較

GC-MS測定においては塩化ビニルオリゴマーや共存可塑剤によるマトリックス効果や装置の汚染を極力抑える目的で、試験溶液を10倍に希釈したのちに装置に注入する。そこで、DBP、BBP、DEHP及びDNOPについては試験溶液を10倍希釈した濃度に相当する1 µg/mLの溶液を用いてヘリウム及び窒素キャリアーを用いたときのイオン強度を比較した。一方、DINP及びDIDPについては、1 µg/mLでは感度が不十分であったため試験溶液に相当する10 µg/mLの標準溶液を用いた。それぞれの定量イオンのピーク面積値及びS/Nを表3にまとめた。なお、DINP及びDIDPは複数の異性体の混合物でありピーク群として検出される。そのため、ピーク強度が最大のピークに対してS/Nを算出した。

窒素キャリアーでは、ピーク面積値は10~50%減少した。またS/Nは1/50~1/100と大幅に低下し、最大でも100程度、一部は10未満であった。以上の結果から、窒素キャリアーを用いた本測定条件では十分なS/Nが得られず、適否判定は困難と考えられた。

表3 PAEsのピーク面積値及びS/N

PAEs	定量イオン (m/z)	Peak area			S/N		
		He, 30 m*	N <sub>2</sub> , 30 m*	N <sub>2</sub> , 20 m*	He, 30 m*	N <sub>2</sub> , 30 m*	N <sub>2</sub> , 20 m*
DBP	149	35200	16100	15000	6300	110	1350
BBP	149	10300	7760	4800	1530	34	580
DEHP	149	13000	10500	8160	1360	40	510
DNOP	279	840	650	790	160	3	75
DINP	293	13300	8000	8340	330	4	80
DIDP	307	14500	7790	7360	170	2	25

\*キャリアーガス、カラム長さを示した

## 2) カラムサイズを変更したときの比較

MSD に導入される窒素ガスの絶対量を減らすことでノイズが低減し、結果として S/N の改善が期待される。しかし同一のカラムでは窒素の流量を下げると十分なカラム圧力及び注入口圧力が得られず、さらに保持時間が遅くなる。そこで、機器メーカーが推奨するカラムサイズに変更し（内径：0.25 mm → 0.18 mm、長さ：30 m → 20 m）、さらに流速は最適線速度となるように調整し 0.25 mL/min とし測定した。その時のクロマトグラムを図 1-1 に、標準溶液（DBP、BBP、DEHP 及び DNOP: 1 µg/mL, DINP 及び DIDP: 10 µg/mL）のピーク面積値と S/N を表 3 に示した。

DEHP の保持時間は 11.6 分となり、公定法で指定された保持時間と比べ 1 分以上遅くなった。しかし、ピーク面積値及び S/N は 30 m カラムで窒素キャリアーガスを用いた結果と比較して、ピーク面積値はほぼ同程度であったが、S/N は 10~20 倍と大きく改善した。特に DBP、BBP 及び DEHP の S/N は 500 以上であり、カラムサイズを変更することにより適否判定が可能と考えられた。一方、DNOP、DINP 及び DIDP は定量イオンに指定されている  $m/z$  279、293 及び 307 の S/N が 100 未満であり、カラムサイズを変更しても高濃度の場合以外は適否判定を行うことは難しいと考えられた。

## 3. 分析法の適用性の確認

窒素キャリアーでもカラムサイズを変更することにより DBP、BBP 及び DEHP の適否判定を行うことが出来ると考えられた。そこで、これらの PAEs に対しては限度分析法として適用可能であるか妥当性を評価した。一方 DNOP、DINP 及び DIDP に対しては、カラムサイズを変更しても十分なピーク強度が得られなかった。そのため、適否判定への適用ではなく、これらの PAEs を含有する試料を見逃す

ことなく選別することが可能かどうか検証した。

### 1) 限度分析法の妥当性確認

PAEs の試験法は、試験溶液と標準溶液における PAEs のピーク面積値を比較して適否判定を行う限度分析法である。そこで、「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」<sup>8)</sup>を参考に、窒素キャリアーを用い、カラムを変更した分析法の妥当性確認を行った。ただし、対象は DBP、BBP 及び DEHP の 3 種類とした。

DEHP や DINCH などの汎用可塑剤を含有し PAEs を含有しない PVC 製玩具 3 検体（試料 1、試料 2 及び試料 3）を試料とした。これらの試料から公定法に従い得られた溶液に DBP、BBP 及び DEHP を規格値相当（10 µg/mL）となるように添加し、添加試験溶液を調製した。この液をさらにアセトンで 10 倍に希釈して測定した。なお希釈操作は 5 併行で行い、各 1 回測定した。また、1 µg/mL の 3 種混合 PAEs 標準溶液（規格値 10 µg/mL の 10 倍希釈の濃度）を 5 回繰り返し測定した。

標準溶液における PAEs のピーク面積値 ( $SI_{\text{standard}}$ ) の平均値に対する添加試験溶液の分析により得られたピーク面積値 ( $SI_{\text{sample}}$ ) の平均値の比 ( $SI_{\text{ratio}}$ )、 $SI_{\text{standard}}$  の相対標準偏差 ( $S_{\text{standard}}$ ) 及び  $SI_{\text{sample}}$  の相対標準偏差 ( $S_{\text{sample}}$ ) を表 4 にまとめた。

$S_{\text{standard}}$  及び  $S_{\text{sample}}$  はそれぞれ 3.0~4.6% 及び 1.9~7.3% であり、全て目標値 (<5% 及び <15%) を満たした。一方、 $SI_{\text{ratio}}$  は 1.14~1.63 であり、全て目標値 (0.9~1.0) を満たさなかった。これは試験溶液中の塩ビオリゴマーのマトリックス及び大量に共存する他の可塑剤による増感効果が原因であると考えられた。また、この溶液を 2 倍に希釈して測定したところ、 $SI_{\text{ratio}}$  は 1.03~1.20% となった。試験溶液の希釈により一部は改善されたが、規格試験法としては十

分な性能が得られなかった。

## 2) 内標準物質を用いた限度分析法の妥当性確認

マトリックスや共存可塑剤による増感効果を内標準物質で補正可能かどうか検証した。内標準物質にはDBP、BBP及びDEHPの重水素体(d体)を用いた。1) 限度分析法の妥当性確認と同様に添加試験溶液をアセトンで希釈し、この溶液に内標準物質の濃度が1 µg/mLとなるように内標準物質混合溶液を添加した溶液を5併行で調製し、GC/MSで各1回測定した。また、1 µg/mLの3種混合PAEs標準溶液にも同濃度となるように内標準物質混合溶液を添加した溶液を調製し、5回繰り返し測定した。

し測定した。

標準溶液におけるPAEsとd体の定量イオンのピーク面積比を $SI_{standard}$ 、このピーク面積比の平均値に対する添加試験溶液におけるPAEsとd体の定量イオンのピーク面積比を $SI_{sample}$ 、この平均値の比( $SI_{sample}/SI_{standard}$ )を $SI_{ratio}$ とした。 $S_{standard}$ 及び $S_{sample}$ は1) 限度分析法の妥当性確認と同様に求め表5にまとめた。

$SI_{ratio}$ は1.00~1.04、 $S_{standard}$ は0.6~1.6%、 $S_{sample}$ は1.0~1.6%であり、全て目標値を満たした。このように内標準物質によりマトリックス等による増感効果を補正可能であることが示された。また、この結果から内標準物質を用いた本分析法の性能が妥当であると判断した。

表4 限度分析法の性能パラメータ

PAEs	Parameter	Standard	Sample 1	Sample 2	Sample 3
DBP	$SI_{ratio}$	-	1.18	1.14	1.14
	$S_{standard}$ Or $S_{sample}$	4.6	4.8	7.3	5.5
BBP	$SI_{ratio}$	-	1.63	1.50	1.33
	$S_{standard}$ Or $S_{sample}$	3.0	1.9	6.3	3.9
DEHP	$SI_{ratio}$	-	1.36	1.31	1.23
	$S_{standard}$ Or $S_{sample}$	3.1	3.0	5.6	3.3

$SI_{ratio}$ : 標準測定溶液におけるPAEsとd体の面積比と、添加試験溶液におけるPAEsとd体の面積比の比、s:ピーク面積比の相対標準偏差(n=5)

表5 内標準物質を用いた限度分析法の性能パラメータ

PAEs	Parameter	Standard	Sample 1	Sample 2	Sample 3
DBP	$SI_{ratio}$	-	1.01	1.04	1.01
	$S_{standard}$ Or $S_{sample}$	1.6	1.0	1.1	1.3
BBP	$SI_{ratio}$	-	1.01	1.04	1.01
	$S_{standard}$ Or $S_{sample}$	1.6	1.6	1.5	1.6
DEHP	$SI_{ratio}$	-	1.00	1.04	1.02
	$S_{standard}$ Or $S_{sample}$	0.6	1.3	1.3	1.5

$SI_{ratio}$ : 標準測定溶液におけるPAEsとd体の面積比と、添加試験溶液におけるPAEsとd体の面積比の比、s:ピーク面積比の相対標準偏差(n=5)

#### 4. DNOP、DINP 及び DIDP への適用

DNOP、DINP 及び DIDP については、20 m カラムで窒素キャリアガスを用いた場合に、これらを含む試料を選別することが可能かどうか検討した。すなわち、含有可塑剤の種類及び量が多種多様な 27 種類の PVC 玩具から得られた試料抽出液を用いて DNOP、DINP 及び DIDP 添加試験溶液をそれぞれ調製し GC/MS で測定した。保持時間、ピーク形状等を比較しこれらの PAEs が検出されるかどうか確認した。各 PAEs の代表的な SIM クロマトグラム

を図 2 に示した。

DNOP は DEHTP と保持時間がわずかに重なった。しかし、DNOP を含む場合は DEHTP のピーク形状が明らかに異なり、ショルダーピークのような DNOP 由来のピークが検出された (図 3)。また DINCH と完全に重複したが、DINCH は  $m/z$  279 のイオンをほとんど有していないため DNOP の検出に影響はなかった。ただし、保持時間は約 0.1 分遅くなる場合があった。

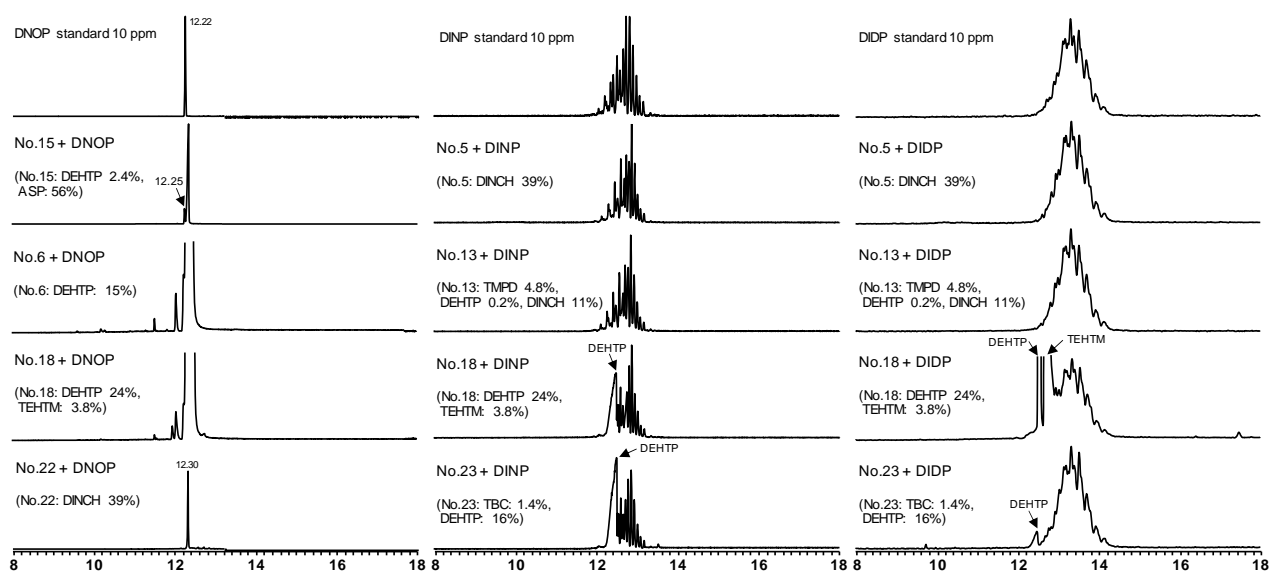


図2 添加試験溶液の SIM クロマトグラム  
(DNOP:  $m/z$  279、DINP:  $m/z$  293、DIDP:  $m/z$  307)

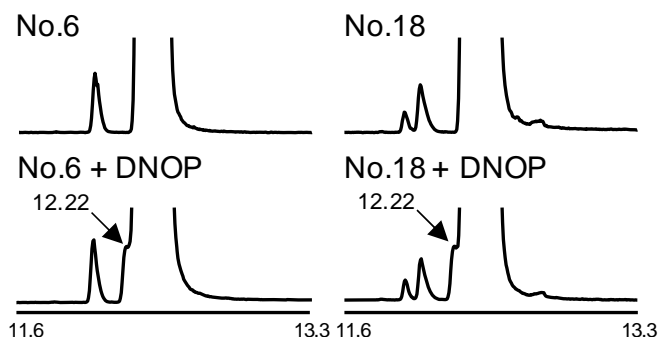


図3 DNOP と DEHTP の重複  
上段: No.6 及び No.18 の試料抽出液の SIM クロマトグラム ( $m/z$  279)  
下段: No.6 及び No.18 の添加試験溶液 SIM クロマトグラム ( $m/z$  279)

DINP は DINCH、DEHTP 及び TEHTM と保持時間が重複した。しかし DINCH と TEHTM は  $m/z$  293 のイオンをほとんど有していない、もしくは  $m/z$  293 のイオン強度が極めて低いため、DINP のピーク形状はほぼ変わらず検出することができた。DEHTP とは DINP の前半部分が重複していたが、後半部分のピーク形状から含有している可能性があるかと判断可能であった。

DIDP は DINCH 及び TEHTM と保持時間が重複した。しかし DINCH は  $m/z$  307 のイオンをほとんど有していないため DINP のピーク形状はほぼ変わらず検出可能であった。一方 TEHTM とは DIDP の前半部分でのみ重複しており後半部分のピーク形状から判断することが可能であった。また DEHTP とはほとんど重複していなかったため DIDP の検出に影響はなかった。

その他の可塑剤とは DNOP、DINP 及び DIDP いずれも重複しなかったため、全て検出可能であった。

以上のように、窒素キャリアーガス及び 20 m カラムを用いた場合であっても DNOP、DINP 及び DIDP を含有しているかどうかの判断は可能であると考えられた。しかし DNOP と DEHTP は装置によっては保持時間が完全に重複する可能性があるため、標準品などを用いてこれらがわずかでも分離することを事前に確認しておく必要がある。

#### D. 結論

窒素をキャリアーガスに用いた GC-MS のフタル酸エステル試験法への適用について検討するとともに、その妥当性を確認した。キャリアーガスをヘリウムから窒素へ変更したところ、保持時間及びマススペクトルは大きく変わらなかったが、ピーク面積値は 10~50%減少した。また、バックグラウンドの

ノイズが増加したため、S/N は 1/100~1/50 に低下した。

質量分析計に導入する窒素ガスの絶対量を減らしてバックグラウンドノイズを下げるため、カラムサイズを細く短いものに変更し、流速を下げた。その結果、ピーク面積値はカラムの変更前後で大きく変わらなかったが、S/N は 10~20 倍に改善が認められ、DBP、BBP 及び DEHP の S/N は 500 以上となった。一方 DNOP、DINP 及び DIDP についても S/N は大幅に改善したが、適否判定を行うことができる水準ではなかった。

DBP、BBP 及び DEHP について、限度分析法の妥当性確認を行った結果、内標準物質を用いた場合において目標値を満たしており、本分析法の性能が妥当であると判断した。

一方 DNOP、DINP 及び DIDP については感度が不足しており適否判定は困難であったが、他の可塑剤が共存していてもこれらの PAEs を規格値以上含有する可能性のある試料を選別することは可能であった。したがって、このような場合は He をキャリアーガスに用いた GC-MS や、LC-MS/MS などを用いて適否判定を行う必要がある。

#### E. 参考文献

- 1) Arcadi, FA, Costa, C, Imperatore, C, Marchese, A, Rapisarda, A, Salemi, M, Trimarch, GR, Costa, G. Oral toxicity of bis(2-ethylhexyl) phthalate during pregnancy and suckling in the long-event rat, *Food and Chemical Toxicology*, 36, 963-970 (1998)
- 2) Waterman, SJ, Ambroso, JL, Keller, LH, Trimmer, GW, Nikiforov, AI, Harris, SB. Developmental toxicity of di-isodecyl and diisononyl phthalates in rats, *Reproductive Toxicology*, 13, 131-136 (1999)
- 3) Nagao, T, Ohta, R, Marumo, H, Shindo, T,

- Yoshimura, S, Ono, H. Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation reproductive study, *Reproductive Toxicology*, 14, 513-532 (2000)
- 4) 杉田たき子、河村葉子、谷村雅子、松田りえ子、新野竜大、石橋 亨、平林尚之、松木容彦、山田 隆、米谷民雄：乳幼児用軟質ポリ塩化ビニル製玩具からのフタル酸エステル暴露量の推定、*食品衛生学雑誌*、44, 96-102 (2003)
- 5) 阿部 裕：ポリ塩化ビニル製玩具のフタル酸エステル測定における共存可塑剤の影響と LC/MS/MS を用いた測定法の検討、平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 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 (2014)
- 6) 阿部 裕、木嶋麻乃、山口未来、伊藤裕才、六鹿元雄、穂山 浩、佐藤恭子：ポリ塩化ビニル製おもちゃに使用される可塑剤の実態の変化、*食品衛生学雑誌*、60, 38-44 (2019)
- 7) Agilent5977 シリーズ EI イオン源 セレクション ガイド ([https://www.chem-agilent.com/pdf/low\\_5991-2106JAJP.pdf](https://www.chem-agilent.com/pdf/low_5991-2106JAJP.pdf), 最終アクセス日 令和 2 年 5 月 12 日)
- 8) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知 (平成 26 年 12 月 22 日食安発 1222 第 8 号) 食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて (2014)



### <その3> 食品衛生法における酸性食品の食品区分とその擬似溶媒に関する検討

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	片岡 洋平	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	山口 未来	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	安藤 百合	国立医薬品食品衛生研究所

#### A. 研究目的

食品衛生法における器具・容器包装の規格基準の溶出試験では、pH 5以下の食品（油脂及び脂肪性食品並びに酒類を除く）に接触して使用する器具・容器包装については、浸出用液として主に4%酢酸を用いて試験溶液を調製することとされている。「酸性食品」という食品区分の名称は、食品衛生法では規定されておらず、便宜上使用されているものである。一方、2019年5月に食品安全委員会より示された「食品用器具及び容器包装に関する食品健康影響評価指針」<sup>1)</sup>では、対象となる材質は合成樹脂のみではあるが、食品中または食品表面のpHが4.6以下の食品を「酸性食品」とし、食品擬似溶媒として4%酢酸を用いて溶出試験を行うこととしている。このpH 4.6は、食品衛生法の「食品、添加物等の規格基準 第1食品 D 各条」における清涼飲料水及び容器包装詰加圧加熱殺菌食品の殺菌条件の区分に合わせて設定された。

欧州連合では、REGULATION (EU) No 10/2011<sup>2)</sup>により、pH 4.5未満の食品を「acidic foods」とし、その食品擬似溶媒として3%酢酸を規定している。一方、米国においては新規物質の申請に関するガイドライン<sup>3)</sup>では、「pH 5.0未満の水溶性食品」の食品擬似溶媒として10%エタノールを規定しているが、食品の酸性度により10%エタノールよりも溶出量が高くなることが予想される場合、ポリ

マーや補助剤が酸の影響を受けやすい場合、またはエタノール溶液中でエステル交換が起こる場合においては、水と3%酢酸を用いることとされている。

このように、酸性食品を区別するための指標となるpH値については、日本、欧州連合、米国で異なっており、さらに、国内においても食品衛生法の規格基準と食品健康影響評価指針とで異なっている。また、溶出試験に用いる食品擬似溶媒についても日本、欧州連合、米国とで整合性を欠いている。そのため、器具・容器包装の輸出入時の規格適合性確認、並びに新規物質の健康影響評価の円滑な運用を妨げる可能性がある。そこで、適切な酸性食品を区別するための指標となるpH値を検討したうえで、市販食品のpHを調査した。さらに、3%酢酸、4%酢酸及び5%酢酸、並びに市販の飲料への溶出量を比較し、国際整合性などを考慮して適切な酸性食品の食品擬似溶媒の検討を行った。

#### B. 研究方法

##### 1. 試料

食品は、市販の飲料等 27 試料、果実及び果実等加工品 15 試料、畜産物加工品 10 試料、調味料 27 試料を用いた。合成樹脂シートは、共通の 8~10 種類の物質を約 0.5%または 1%配合して作製した高密度ポリエチレン (HDPE)、ポリプロピレン (PP)、耐衝撃

性ポリスチレン (HIPS)、ポリアミド (PA) 及び軟質ポリ塩化ビニル (PVC) 製のシートを用いた。各物質の含有量を表 1 に示した。レジ袋、水素化ニトリルブタジエンゴム (HNBR) シート、フッ素ゴムシートは市販のものを用いた。ペットボトルは市販のミネラルウォーターのボトルを用いた。

## 2. 試薬、標準溶液等

### 1) 試薬等

酢酸：精密分析用、アセトン：残留農薬・PCB 分析用、以上 Sigma-Aldrich 社製

ギ酸：純度約 99%、LC-MS/MS 用、富士フイルム和光純薬工業株式会社製

ギ酸アンモニウム：純度 95%、特級、富士フイルム和光純薬工業株式会社製

メタノール：LC/MS 用、メタノール-Plus-、アセトニトリル：LC/MS 用、アセトニトリル-Plus-、以上、関東化学株式会社製

水：PURELAB flex (ELGA 社製) で精製した超純水

### 2) 標準溶液等

標準原液 (LC-MS/MS 用)：表 1 に示す物質 1~10 を、それぞれアセトンに溶解し、20,000 µg/mL としたもの

Mg、Ca、Zn、Ge、Sb、Ga、Sc、In、Y 標準原液：ICP-MS 用の 1,000 µg/mL 標準溶液 (PlasmaCAL)、GL サイエンス社製

混合標準溶液 (LC-MS/MS 用)：各 LC-MS/MS 用標準原液をアセトンで希釈して 1,000 µg/mL とした。これらを混合し、0.1%ギ酸含有 90%メタノールまたはアセトニトリルで適宜希釈して 1~500 ng/mL としたもの

内標準物質溶液：大阪市立環境科学研究センター浅川大地博士より供与された、表 1 に示す物質 1'、4'及び 7'の 100 µg/mL のアセトン溶液

内標準物質混合溶液：各内標準物質溶液を適宜混合し、アセトニトリルで希釈して 10 µg/mL (DMP-d4) 及び 1 µg/mL (ATBC-d3 及び DEHA-d8) としたもの

内部標準元素混合溶液 A：Sc 標準原液 0.05 mL、Ga 標準原液 5 mL 及び Y 標準原液 1 mL を量りとり、4%酢酸で 100 mL に定容した (Sc : 0.5 µg/mL、Ga : 50 µg/mL、Y : 10 µg/mL)。

内部標準元素混合溶液 B：Ga 標準原液 0.2 mL 及び In 標準原液 0.01 mL を量りとり、4%酢酸で 100 mL に定容した (Ga : 2 µg/mL、In : 0.1 µg/mL)。

## 3. 装置

pH 計：食品・土壌用の突き刺し型 YK-21PH、株式会社佐藤商事製

超高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS)：LC Acquity H-class、タンデム質量分析計 Xevo TQD、Waters 社製

水浴：OIL BATH SOS273-D、株式会社三商製

ICP-MS：Agilent 7800 ICP-MS、Agilent Technologies 社製

## 4. 食品の pH 測定

試料を室温 (約 25°C) に戻した後、液体の場合は電極を試料に浸し、固体の場合は電極を試料に押し付けて測定した。

表1 合成樹脂シートに含まれる物質とその含有量

No	物質	CAS	分子量	分配係数	含有量 (%)				MS1	MS2	コーン電圧	コリジョンエネルギー	内標準	
					HDPE	PP	HIPS	PA						軟質PVC
1	dimethyl isophthalate	1459-93-4	194	1.7	0.33	0.35	0.42	0.26	0.60	195.2	105	35	12	1'
2	diphenyl sulphone	127-63-9	218	2.6	0.39	0.40	0.45	0.41	0.96	219.2	77	40	20	1'
3	benzophenone	119-61-9	182	3.2	0.31	0.34	0.45	0.40	0.73	183.3	105	30	14	1'
4	acetyl tributyl citrate	77-90-7	402	4.3	0.47	0.43	0.45	-	21	403.2	129	30	28	4'
5	4-tert-butylphenyl salicylate	87-18-3	270	5.7	0.28	0.17	0.22	-	0.89	271.3	121	25	20	4'
6	2-ethylhexyl 2-cyano-3,3-diphenylacrylate	6197-30-4	361	6.9	0.58	0.58	0.45	0.35	-	362.4	250	35	8	4'
7	bis(2-ethylhexyl) adipate	103-23-1	370	8.1	0.48	0.47	0.46	0.35	1.1	371.3	129	30	16	7'
8	4,4'-thiobis(6-tert-butyl-3-methylphenol)	96-69-5	358	8.2	0.36	0.31	0.30	0.25	0.78	359.4	344	45	20	4'
9	thiodiethanol bis(3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxy phenyl)propionate)	41484-35-9	642	10.4	0.52	0.49	0.43	0.24	0.97	660.1	193	45	40	7'
10	octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	2082-79-3	530	13.4	0.67	0.61	0.56	0.30	0.99	548.8	167	20	18	7'
1'	dimethyl isophthalate-d4		198							199	109	28	20	
4'	acetyl tributyl citrate-d3		405							406	185	20	18	
7'	bis(2-ethylhexyl) adipate-d8		378							379	137	24	18	

-: 未配合または0.002%未満

1~10は東京化成工業(株)製、1',4'および7'はCDN Isotopes社製

## 5. 溶出試験

合成樹脂シートを約 2 cm×5 cm (10 cm<sup>2</sup>、両面 20 cm<sup>2</sup>) に切断し、使用するまで冷蔵庫内で保管した。あらかじめ試験温度に加温した浸出用液 40 mL に試料を入れ、30 分間加温した。試料を取り出し、室温まで冷却したものを試験溶液とした。

## 6. ICP-MS による金属の定量

### 1) 装置及び測定条件

測定モード：He モード

コリジョンガス：He

測定対象元素/内部標準：<sup>24</sup>Mg/<sup>89</sup>Y、<sup>44</sup>Ca/<sup>45</sup>Sc、<sup>66</sup>Zn/<sup>71</sup>Ga、<sup>72</sup>Ge/<sup>71</sup>Ga、<sup>121</sup>Sb/<sup>115</sup>In

その他の測定条件は、機器の制御ソフトにより最適化した。

### 2) 測定溶液の調製

#### ①検量線用測定溶液の調製

試料がゴムシートの場合は、Ca 及び Zn 標準原液を適量採取後、内部標準元素混合溶液 A を 0.5 mL 添加し、4%酢酸で 50 mL に定容した (0、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 µg/mL)。

試料が PET ボトルの場合は、Ge 及び Sb 標準原液を適量採取後、内部標準元素混合溶液 B を 0.5 mL 添加し、4%酢酸で 50 mL に定容した (0、0.1、0.25、0.5、0.75、1、1.5 µg/mL)。

試料がレジ袋の場合は、Mg 標準原液を適量採取後、内部標準元素混合溶液 A を 0.5 mL 添加し、4%酢酸で 50 mL に定容した (0、0.01、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 µg/mL)。

#### ②試料用測定溶液の調製

試料がゴムシートの場合は、試験溶液 10 mL に内部標準元素混合溶液 A を 0.1 mL 添加し、よく混合した。

試料が PET ボトルの場合は、試験溶液 10 mL に内部標準元素混合溶液 B を 0.1 mL 添加し、よく混合した、または試験溶液を 4%酢酸

で 10 倍希釈した溶液 10 mL に内部標準元素混合溶液 B を 0.1 mL 添加し、よく混合した。

試料がレジ袋の場合は、試験溶液 10 mL に内部標準元素混合溶液 A を 0.1 mL 添加し、よく混合した。

### 3) 定量及び溶出量の算出

検量線用測定溶液を ICP-MS に注入し、測定条件に挙げた各分析対象元素と内部標準元素との信号強度比と濃度との 1 次回帰式を求め検量線を作成した。定量値は作成した検量線に各分析対象元素と内部標準元素との信号強度比を内挿し算出した。定量値に各試料用測定溶液の希釈倍率を掛けて溶出量とした。

## 7. LC-MS/MS による有機物の定量

### 1) 装置及び測定条件

カラム：ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1×100 mm, 1.7 µm, Waters 社製)

カラム温度：40°C

移動相 A：0.1%ギ酸 1 mM ギ酸アンモニウム含有水

移動相 B：0.1%ギ酸 1 mM ギ酸アンモニウム含有メタノール

グラジエント：B75% (5 分間保持) → 直線グラジエント (5 分間) → B100% (6.5 分間保持)

流速：0.25 mL/min

注入量：3 µL

イオン化法：ESI (ポジティブ)

測定モード：MRM

定量イオン：表 1

コーン電圧及びコリジョンエネルギー：表 1

### 2) 定量及び溶出量の算出

#### ①酢酸溶液

試験溶液を 0.1%ギ酸含有メタノールで 10

倍希釈し、さらに希釈が必要な場合は0.1%ギ酸含有90%メタノールで適宜希釈し、この液1 mLに内標準物質混合溶液10 µLを加え測定溶液とした。また、0.1%ギ酸含有90%メタノールで調製した混合標準溶液1 mLに内標準物質混合溶液10 µLを加え検量線用測定溶液とした。これらをLC-MS/MSで測定し、得られたピーク面積値から内標準法により定量し、その定量値を溶出量とした。

## ②飲料

試験溶液をアセトニトリルで10倍希釈し、15分間激しく振とうしたのち、2500回転/分で5分間遠心分離し、上清を測定溶液とした。さらに希釈が必要な場合はアセトニトリルで適宜希釈した。この液1 mLに内標準物質混合溶液10 µLを加え測定溶液とした。また、アセトニトリルで調製した混合標準溶液1 mLに内標準物質混合溶液10 µLを加え検量線用測定溶液とした。これらをLC-MS/MSで測定し、得られたピーク面積値から内標準法により定量した。得られた定量値を回収率で補正した値を溶出量とした。

## 3) 添加回収試験

各飲料に混合標準溶液を100 µg/mLとなるように添加した溶液を調製した。この溶液を用いて3回試行で飲料試料中の物質を定量し、添加量と定量値から回収率を算出した。

## C. 研究結果及び考察

### 1) 日米欧における食品分類と食品擬似溶媒の違い

米国では個別届出制度を採用しており、溶出試験は主に最終製品のリスク評価を目的としている。そのため、まずはその製品が使用される食品を分類する必要がある。このような理由から、食品を分類したうえで、その分類ご

とに溶出試験に用いる食品擬似溶媒を設定している。具体的には、21CFR 176.170 (c) で食品分類がなされており(表2)<sup>4)</sup>、pH 5.0を超えるものが「I 非酸性水溶性食品」に分類されることから、「II 酸性水溶性食品」のpH 5.0以下の食品が日本の「酸性食品」に該当すると考えられる。食品分類は具体的な判断基準が示されていないものが多いが、日本よりも細かく分かれている。新規物質の申請に関するガイドライン<sup>3)</sup>では、その分類に従った食品擬似溶媒の使用が推奨されており、主に10%エタノール、50%エタノール及び食用油(HB307、Miglyol)の3種類が推奨されている。ただし、食品の酸性度により10%エタノールよりも溶出量が高くなることが予想される場合、ポリマーや補助剤が酸の影響を受けやすい場合、エタノール溶液中でエステル交換が起こる場合においては、水と3%酢酸を用いることとされている。

一方、欧州連合ではポジティブリスト収載物質は原則としてすべての食品接触用途のplasticに使用可能となるため、ポジティブリスト収載物質に対して食品への移行量の制限を課している。そのため、溶出試験は物質ごとのリスク評価とリスク管理を目的としている。このような理由から、食品への移行量が推定可能となる溶出条件(食品擬似溶媒、溶出温度、溶出時間等)を設定したうえで、食品ごとに対応する食品擬似溶媒を示している。具体的には、COMMISSION REGULATION (EU) No 10/2011<sup>2)</sup>において、溶出試験に用いる食品擬似溶媒を規定しており、Food simulant Bの3%酢酸が適用される食品は、「acidic foods (pH 4.5未満の食品)」であることを示している(表3)。さらに、食品カテゴリーに対する食品擬似溶媒を示しており、食品によっては複数の食品擬似溶媒での試験が必要とされている(表4)。

表2 米国における食品分類と推奨される食品擬似溶媒

分類	食品	食品擬似溶媒
I	非酸性水溶性食品 (pH 5.0を超える)	10%エタノール*
II	酸性水溶性食品	
III	遊離の油脂を含有する酸性及び非酸性水溶性食品	食用油、HB307、Miglyol
	乳製品及びその変性物	—
IV	A 油中水型エマルジョン	食用油、HB307、Miglyol
	B 水中油型エマルジョン	10%エタノール
V	低水分の油脂	食用油、HB307、Miglyol
	飲料	—
VI	A アルコール分8%以下	10%エタノールまたは50%エタノール
	B ノンアルコール	10%エタノール
	C アルコール分8%超	10%エタノールまたは50%エタノール
	パン・菓子類	—
VII	A 表面に油脂を含む湿性	食用油、HB307、Miglyol
	B 表面に油脂を含まない湿性	10%エタノール
VIII	表面に油脂を含まない乾燥固形食品	試験不要
IX	表面に油脂を含む乾燥固形食品	食用油、HB307、Miglyol

\*：食品の酸性度により10%エタノールよりも溶出量が高くなることが予想される場合、ポリマーや補助剤が酸の影響を受けやすい場合、エタノール溶液中でエステル交換が起こる場合においては、水と3%酢酸を用いる

表3 欧州連合における食品擬似溶媒とその食品擬似溶媒が適用される食品

食品擬似溶媒	略称	食品擬似溶媒が適用される食品
10%エタノール	Food simulant A	親水性の食品
3%酢酸	Food simulant B	親水性の食品 (pH 4.5未満)
20%エタノール	Food simulant C	酒類及びアルコール性食品 (アルコール分20%以下)
		酒類及びアルコール性食品 (アルコール分20%超)
50%エタノール	Food simulant D1	水中油型エマルジョン
植物油	Food simulant D2	表面に遊離油脂を含む食品
PPO	Food simulant E	乾燥食品

PPO : poly(2,6-diphenyl-p-phenylene oxide)

表4 10/2011における食品カテゴリーと食品擬似溶媒（酸性食品に関連する部分を抜粋）

No	Description of food	Food simulants					
		A	B	C	D1	D2	E
<b>01</b>	<b>飲料</b>						
01.01	ノンアルコール飲料またはアルコール度数6%以下のアルコール飲料： A. 清涼飲料：水、コーヒー、お茶、ビール、ソフトドリンク、エナジードリンクなど B. 濁った飲料：果肉を含むジュース、液体チョコレートなど		X <sup>*1</sup>	X			
01.04	その他：未変性エタノール		X <sup>*1</sup>			X <sup>*3</sup>	
<b>04</b>	<b>果物、野菜およびそれらの加工品</b>						
04.02	加工された果物： A. 丸ごと、スライス、細粒状または粉末状の乾燥または脱水された果物 B. ピューレ、ジャム、ペースト、砂糖シロップ漬の果物など C. 液中に保存された果物 I. 油性液中 II. アルコール中		X <sup>*1</sup>	X		X	X
04.05	加工された野菜： A. 丸ごと、スライス、細粒状または粉末状の乾燥または脱水された野菜 B. 皮をむいたまたはカットされた新鮮な野菜 C. ピューレ、ジャム、ペーストまたはジュース漬（漬物と塩水を含む）の野菜 D. 保存加工された野菜 I. 油性液中 II. アルコール中	X	X <sup>*1</sup>	X		X	X
<b>06</b>	<b>畜産物及び卵</b>						
06.01	魚： A. 新鮮、冷蔵、加工、塩漬または燻製（魚卵を含む） B. 保存された魚 I. 油性液中 II. 水性液中	X				X/3 <sup>*2</sup>	
06.02	甲殻類および軟体動物（カキ、ムール貝、カタツムリを含む）： A. 新鮮な（殻付き）もの B. 殻の除去、加工、保存または殻のまま調理されたもの I. 油性液中 II. 水性液中	X	X <sup>*1</sup>	X		X	
06.04	保存加工された肉： A. 脂肪または油性液中 B. 水性液中	X	X <sup>*1</sup>		X	X/3	
<b>07</b>	<b>乳製品</b>						
07.02	ヨーグルト、バターミルクなどの発酵乳		X <sup>*1</sup>		X		
07.03	クリーム及びサワークリーム		X <sup>*1</sup>		X		
07.04	チーズ： A. 非食用の外皮を有する全体 B. 外皮を取り除いたまたは食用の外皮を有するもの（ゴーダ、カマンベールなど） C. プロセスチーズ（ソフトチーズ、カッテージチーズなど） D. 保存加工されたチーズ： I. 油性液中 II. 水性液中（フェタチーズ、モッツアレラチーズなど）		X <sup>*1</sup>	X		X/3 <sup>*2</sup>	X
<b>08</b>	<b>その他の加工品</b>						
08.01	酢		X				
08.03	液体、固体または粉末状の調理用スープ、ブロス、ソースなど： A. 粉末または乾燥： I. 脂肪性 II. その他 B. 粉末または乾燥以外： I. 脂肪性 II. その他					X/5	X
08.04	ソース： A. 水溶性 B. 脂肪性及び油／水混合物	X	X <sup>*1</sup>	X		X/3	
08.05	マスタード（粉末化されたマスタードを除く）	X	X <sup>*1</sup>			X/3 <sup>*2</sup>	
08.10	アルコール度数6%以上の濃縮エキス		X <sup>*1</sup>		X		

\*1: pH 4.5を超える場合は省略できる

\*2: 合成樹脂が油脂と接触しない場合は省略できる

\*3: 95%エタノールで代替

日本の食品衛生法における溶出試験は、主に最終製品のリスク管理を目的としている。そのため、米国と同様に、食品を分類したうえでそれぞれの食品擬似溶媒を設定している。食品分類については、まず油脂及び脂肪性食品（油性食品）並びに酒類を特定し、これら以外の食品で pH 5 以下のものを「酸性食品」に分類している。そのため、pH が 5 以下であっても油性食品や酒類に該当する食品は酸性食品に分類されない。食品擬似溶媒については、大部分の溶出試験の規格では、油性食品にはヘプタン、酒類には 20%エタノール、酸性食品には 4%酢酸、それ以外の食品には水が浸出用液として規定されている。この 4%酢酸は食酢よりもやや高い濃度として設定されたようであるが、その根拠データや設定の経緯は示されていない。また、牛乳、乳酸菌飲料、発酵乳（ヨーグルト）等の容器包装は、「乳及び乳製品の成分等に関する省令」の規格基準にも適合する必要がある、溶出試験では pH に関わ

りなく 4%酢酸を主な浸出用液とすることが規定されている。

一方、食品健康影響評価指針における溶出試験は、物質ごとのリスク管理を踏まえたリスク評価を目的としている。そのため、食品分類と食品擬似溶媒（浸出用液）は、食品衛生法を前提として設定されている。ただし、リスク評価には実態に近い溶出量を得る必要があるため、乾燥食品と乳・乳製品の分類を増設し、油性食品では植物油を食品擬似溶媒として採用している。また、酸性食品の区分については、安全性の面からボツリヌス菌の増殖を防止できる pH 4.6 以下の食品を酸性食品としている。

日本、米国及び欧州連合における酸性食品の区分とその食品擬似溶媒を表 5 にまとめた。このように日米欧では酸性食品の範囲とその食品擬似溶媒が異なっている。また、欧州連合は物質ごとの食品への移行量を主としたリスク管理手法を採用していることから、各食品に対応する食品擬似溶媒を提示している。

表 5 日本、米国及び欧州連合における酸性食品の区分と食品擬似溶媒

国または地域	日本		米国	欧州連合
	食品衛生法規格基準	健康影響評価指針		
酸性食品の区分	pH 5以下	pH 4.6以下	pH 5.0以下	pH 4.5以下
食品擬似溶媒	4%酢酸	4%酢酸	10%エタノール (水及び3%酢酸)	3%酢酸
食品に対応する食品擬似溶媒の提示	無	無	無	有



## 2) 酸性食品の指標に関する検討

### ①食品の殺菌条件及び保存条件の区分における指標

食品衛生法の「食品、添加物等の規格基準 第1食品 D 各条」において、「○清涼飲料水」の「2 清涼飲料水の製造基準」では、(1) ミネラルウォーター類、冷凍果実飲料及び原料用果汁以外の清涼飲料の殺菌条件を飲料の pH で区別して定めている(表6)。一方、容器包装内の二酸化炭素圧力が20°Cで98 kPa以上であり、かつ、動植物の組織成分を含有しないものにあつては、殺菌及び除菌を要しないが、このうち表6のcに該当するものは、「3 清涼飲料水の保存基準」により10°C以下で保存しなければならないとされている。また、「○容器包装詰加圧加熱殺菌食品」の「2 容器包装詰加圧加熱殺菌食品の製造基準」では、pHが4.6を超え、かつ、水分活性が0.94を超えるものは、中心部の温度を120°Cで4分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で殺菌しなければならないとされている。これらの指標として用いられるpH4.6は、ボツリヌス菌の増殖を防止できるpHであり、食肉製品、魚肉練り製品の保存基準においてもpH4.6を指標として用いている<sup>5)</sup>。さらに、気密

性のある容器包装詰め<sup>6)</sup>の要冷蔵食品が原因と疑われるボツリヌス食中毒の発生事例から、容器包装詰低酸性食品(容器包装に密封した常温流通食品のうち、pHが4.6を超え、かつ、水分活性が0.94を超えるものであつて、120°C4分間に満たない条件で殺菌を行ったもの。)についても、ボツリヌス食中毒の防止対策として、通知により殺菌方法の指導がなされている<sup>6)</sup>。

上記のようにpH4.6という値は、ボツリヌス食中毒の発生を未然に防止するための重要な指標となっている。容器包装においても、食品のpHが4.6以上の場合はpH4.6未満の場合と比べてより高温で殺菌しなければならないと、耐熱性や密封性が求められる。また、低温での保存を要する場合においては耐寒性も必要となる。このように容器包装は食品の殺菌条件や保存条件等に対して耐久性を有するものが使用される。そのため、器具・容器包装において酸性食品の指標となるpH値と食品において低酸性食品の指標となるpH値を一致させることが望ましい。そこで、器具・容器包装における酸性食品の指標となるpH値を5以下から4.6以下に変更した場合の影響について検討した。

表6 清涼飲料水の製造基準におけるミネラルウォーター等の殺菌条件

分類	殺菌条件
a pH 4.0未満のもの	中心部の温度を65°Cで10分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。
b pH 4.0以上のもの(pH 4.6以上で、かつ、水分活性が0.94を超えるものを除く。)	中心部の温度を85°Cで30分間加熱する方法又はこれと同等以上の効力を有する方法で行うこと。
c pH 4.6以上で、かつ、水分活性が0.94を超えるもの	原材料等に由来して当該食品中に存在し、かつ、発育し得る微生物を死滅させるのに十分な効力を有する方法又はbに定める方法で行うこと。

## ②食品の pH 値

酸性食品の実態を確認するため、代表的な食品の pH を測定した。その結果を表 7～10 に示した。

飲料、乳、発酵乳等では、食品衛生法の対象外となる指定医薬部外品も参考として測定した。その結果、27 試料中 22 試料が pH 4.6 以下であった。一方、炭酸や果汁等を含まないコーヒー、お茶、牛乳等の 5 試料は pH 5.0 を超えていた。そのため、pH 4.6～5.0 に該当するものがなかった(表 7)。同様に果実及び果実・野菜等加工品についても 15 試料の測定を行ったが、pH 4.6～5.0 に該当するものはなく、果実または果汁を含むものはすべて pH 4.6 以下であった(表 8)。また、畜産物加工品については 10 試料すべてが pH 5.0 以上であった(表 9)。一方、調味料等について 27 試料の測定を行ったところ、大部分の試料が pH 4.6 以下であったが、pH 4.6～5.0 に該当するものが 3 試料存在した(表 10)。食品衛生法では、pH 値に関わらず食品中または食品表面の油脂含量が概ね 20%以上の食品は油脂及び脂肪性食品に分類されるが、これら 3 試料は油脂及び脂肪性食品に該当しない。そのため、酸性食品の指標となる pH 値を 4.6 とした場合、これらは酸性食品の範囲から外れることになる。また、調味料等の pH 値は、配合された食酢や果汁等の酸性成分の種類や量に依存すると考えられることから、pH 値は製品ごとに大きく異なることが予想された。

このように、食品の一部で pH 4.6～5.0 に該当するものが存在したがその割合は少なく、油脂含量が低い調味料類に限定的と考えられた。そのため、酸性食品の指標となる pH 値を 5 以下から 4.6 以下に変更してもその影響は小さいと考えられた。

表 7 清涼飲料水、乳、発酵乳等の pH

No	分類	飲料等の種類	炭酸	pH
B1	清涼飲料水	果汁飲料		2.11
B2	清涼飲料水	果汁飲料		2.32
B3	清涼飲料水	炭酸飲料	○	2.35
B4	指定医薬部外品 <sup>*1</sup>	栄養ドリンク		2.54
B5	清涼飲料水	炭酸飲料	○	2.74
B6	清涼飲料水	炭酸飲料	○	3.14
B7	清涼飲料水	乳清飲料		3.44
B8	清涼飲料水	スポーツドリンク		3.49
B9	乳酸菌飲料 <sup>*2</sup>	乳酸菌飲料		3.53
B10	清涼飲料水	炭酸飲料	○	3.54
B11	乳酸菌飲料	乳酸菌飲料		3.74
B12	清涼飲料水	果汁飲料		3.74
B13	清涼飲料水	果汁飲料		3.94
B14	清涼飲料水	果汁飲料		3.96
B15	清涼飲料水	紅茶飲料		3.97
B16	清涼飲料水	野菜飲料		4.06
B17	発酵乳 <sup>*2</sup>	ヨーグルト飲料		4.07
B18	発酵乳 <sup>*2</sup>	ヨーグルト		4.17
B19	指定医薬部外品 <sup>*1</sup>	栄養ドリンク		4.19
B20	清涼飲料水	野菜飲料		4.22
B21	清涼飲料水	炭酸水	○	4.41
B22	清涼飲料水	炭酸飲料	○	4.46
B23	清涼飲料水	紅茶飲料		5.54
B24	清涼飲料水	コーヒー		5.96
B25	清涼飲料水	緑茶飲料		6.55
B26	清涼飲料水	ココア飲料		6.73
B27	乳 <sup>*2</sup>	牛乳		6.87

数値は3回試行の平均値

\*1：指定医薬部外品（食品衛生法の適用外）

\*2：乳等省令の対象

表8 果実及び果実・野菜等加工品のpH

No	分類	食品の種類	pH
F1	果実加工品	梅肉	1.59
F2	果実	イチゴ	3.37
F3	果実	パイナップル	3.54
F4	果実加工品	フルーツゼリー	3.59
F5	果実加工品	フルーツゼリー	3.70
F6	果実加工品	フルーツゼリー	3.70
F7	果実	ブドウ	3.72
F8	果実加工品	フルーツゼリー	3.73
F9	果実加工品	フルーツゼリー	3.76
F10	果実加工品	寒天ゼリー	3.79
F11	果実	オレンジ	4.04
F12	野菜等加工品	春雨サラダ	4.30
F13	果実	リンゴ	4.48
F14	野菜等加工品	ポテトサラダ	5.13
F15	野菜等加工品	豆乳加工品	6.15

数値は3回試行の平均値

表9 畜産物加工食品のpH

No	分類	食品の種類	pH
A1	乳加工食品*	チーズ	5.50
A2	肉加工食品	焼売	5.91
A3	魚介加工食品	カニみそ	5.94
A4	肉加工食品*	ウインナー	6.06
A5	肉加工食品	ハンバーグ	6.10
A6	肉加工食品	コンビーフ	6.10
A7	肉加工食品*	ベーコン	6.18
A8	魚介加工食品	魚肉ソーセージ	6.41
A9	肉加工食品*	唐揚げ	6.54
A10	卵加工食品	プリン	7.02

数値は3回試行の平均値

食品中または食品表面の油脂含量が概ね20%以上の食品は油脂及び脂肪性食品に該当

表10 調味料等のpH

No	分類	食品の種類	pH
S1	調味料等	からし	2.69
S2	調味料等	穀物酢	2.73
S3	調味料等	ドレッシング	3.29
S4	調味料等	ソース	3.31
S5	調味料等	しょうが	3.32
S6	調味料等	ドレッシング	3.34
S7	調味料等	わさび	3.53
S8	調味料等	ケチャップ	3.64
S9	調味料等	コチュジャン	3.71
S10	調味料等	ドレッシング	3.76
S11	調味料等	合わせ酢	3.86
S12	調味料等	マスタード	3.79
S13	調味料等	ドレッシング	3.92
S14	調味料等	ドレッシング	3.94
S15	調味料等	合わせ調味料	4.07
S16	調味料等	マヨネーズ	4.08
S17	調味料等	ドレッシング	4.19
S18	調味料等	ソース	4.34
S19	調味料等	合わせ調味料	4.43
S20	調味料等	合わせ調味料	4.43
S21	調味料等	豆板醤	4.57
S22	調味料等	醤油	4.57
S23	調味料等	合わせ調味料	4.84
S24	調味料等	ドレッシング	4.90
S25	調味料等	合わせ調味料	4.92
S26	調味料等	ソース	5.41
S27	調味料等	合わせ調味料	6.28

数値は3回試行の平均値

食品中または食品表面の油脂含量が概ね20%以上の食品は油脂及び脂肪性食品に該当

### 3) 食品擬似溶媒に関する検討

#### ①3%酢酸と4%酢酸の同等性に関する検証

前述のように日米欧では酸性食品の食品擬似溶媒が異なっている。そのため、器具・容器包装の輸出入時の規格適合性確認、並びに新規物質の健康影響評価の円滑な運用を妨げる可能性がある。しかし、米国において推奨されている10%エタノールは、食品衛生法の4%酢酸とは性質が異なるため、溶出物やその溶出量も全く異なると予想される。そのため、酸性食品の食品擬似溶媒を10%エタノールに変更した場合は、既に上市されている製品について規格適合性の再確認が必要となるなど大きな混乱を招く懸念がある。また、ボツリヌス食中毒の発生防止の対策を食品のpH値により区分しているという観点から、食品擬似溶媒には酸溶媒を用いることが望ましいと考えられる。一方、欧州連合で用いられる3%酢酸は食品衛生法の4%酢酸と性質が類似しており、実際にこれらのpHを測定したところ、pH2.47及びpH2.39であり、その違いはわずかであった。そのため、3%酢酸と4%酢酸の食品擬似溶媒としての同等性が確認できれば、日欧の整合化は不要である。

そこで、欧州連合の3%酢酸と現行の4%酢酸に酢酸濃度による溶出傾向を確認するための比較対象として5%酢酸を加えた3種の食品擬似溶媒による溶出量を比較して、3%酢酸と4%酢酸の酸性食品の食品擬似溶媒としての同等性を検討した。

まず、有機物の溶出量を比較した。共通の物

質を含有するHDPE、PP、HIPS、PA、軟質PVCシートを試料として溶出試験を行い、溶出した有機物の溶出量を比較した。60°C30分間の溶出試験を行ったところ、大部分の試料から物質1~4の溶出が確認できたが、その量は少なく、十分な検証を行うことができなかった。そこで、95°C30分間の溶出試験を行った。各シートにおける溶出量を表1-1に示した。物質7~9はいずれの試料も定量限界以下(0.1 µg/mL)であり、物質10は1試料から検出されたが、併行試験によるばらつきが大きく相対標準偏差が20%を超えていた。そのため、物質1~6の溶出量を用いて比較検討を行うこととした。

4%酢酸での溶出量に対する3%酢酸及び5%酢酸の溶出量比を図1に示した。物質1~3は親水性が高く溶出量も多いため、酢酸濃度による影響を受けにくいと考えられたが、物質1及び3については大部分の試料、物質2においては半数程度の試料で酢酸濃度に応じて溶出量が増加する傾向が見られた。一方、分配係数が4.3~6.9のやや親油性を有する物質4~6については、物質1~3と比較して溶出量が少ないため、溶出量の変化はわずかであったが、検出された試料の半数程度で酢酸濃度に応じて溶出量が増加する傾向が見られた。このことから、有機物に対しては、3%酢酸と4%酢酸では溶出傾向が異なっており、酸性食品の食品擬似溶媒として同等と見なすことはできないと考えられた。

表 1 1 酢酸濃度による有機物の溶出量の比較

試料	物質	溶出量 (µg/mL)			
		3%酢酸	4%酢酸	5%酢酸	
HDPE	1	24.1 ± 4.4	25.9 ± 3.0	26.3 ± 3.3	
	2	24.8 ± 0.8	24.7 ± 0.8	25.8 ± 2.2	
	3	13.3 ± 2.3	14.4 ± 0.6	15.4 ± 1.4	
	4	1.5 ± 0.0	1.7 ± 0.1	1.9 ± 0.06	
	5	0.19 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.24 ± 0.01	
	6	0.11 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.16 ± 0.00	
	7~9	< 0.1	< 0.1	< 0.1	
	10	< 0.1	< 0.1	(0.16 ± 0.04)	
	PP	1	26.2 ± 1.1	26.0 ± 0.9	28.5 ± 1.9
		2	26.3 ± 1.5	24.2 ± 0.4	24.9 ± 1.3
3		16.8 ± 0.8	17.6 ± 0.8	19.6 ± 1.1	
4		1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.2	
5		0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.02	
6~10		< 0.1	< 0.1	< 0.1	
HIPS	1	0.71 ± 0.04	0.79 ± 0.08	0.90 ± 0.03	
	2	0.65 ± 0.06	0.72 ± 0.06	0.68 ± 0.05	
	3	0.70 ± 0.02	0.78 ± 0.07	0.82 ± 0.03	
	4	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.00	0.14 ± 0.00	
	5~10	< 0.1	< 0.1	< 0.1	
PA	1	15.0 ± 1.0	15.5 ± 0.8	16.3 ± 0.2	
	2	21.4 ± 1.2	21.7 ± 0.6	23.9 ± 1.0	
	3	18.2 ± 0.9	18.5 ± 0.9	19.8 ± 0.5	
	4及び5	—	—	—	
	6	0.20 ± 0.01	0.22 ± 0.00	0.26 ± 0.02	
	7~10	< 0.1	< 0.1	< 0.1	
軟質PVC	1	28.3 ± 1.2	31.5 ± 1.8	32.9 ± 0.5	
	2	22.8 ± 0.7	25.6 ± 1.2	27.1 ± 0.8	
	3	9.8 ± 0.1	11.3 ± 0.5	12.5 ± 0.3	
	4	10.0 ± 0.2	11.8 ± 0.5	14.4 ± 0.5	
	5	0.23 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.31 ± 0.01	
	6	—	—	—	
	7~9	< 0.1	< 0.1	< 0.1	
	10	0.4 ± 0.08	(0.65 ± 0.21)	(0.46 ± 0.12)	

— : 未配合、溶出条件 : 95℃ 30分間

数値は 3 回試行の平均値±SD、( ) は相対標準偏差が20%を超えたもの

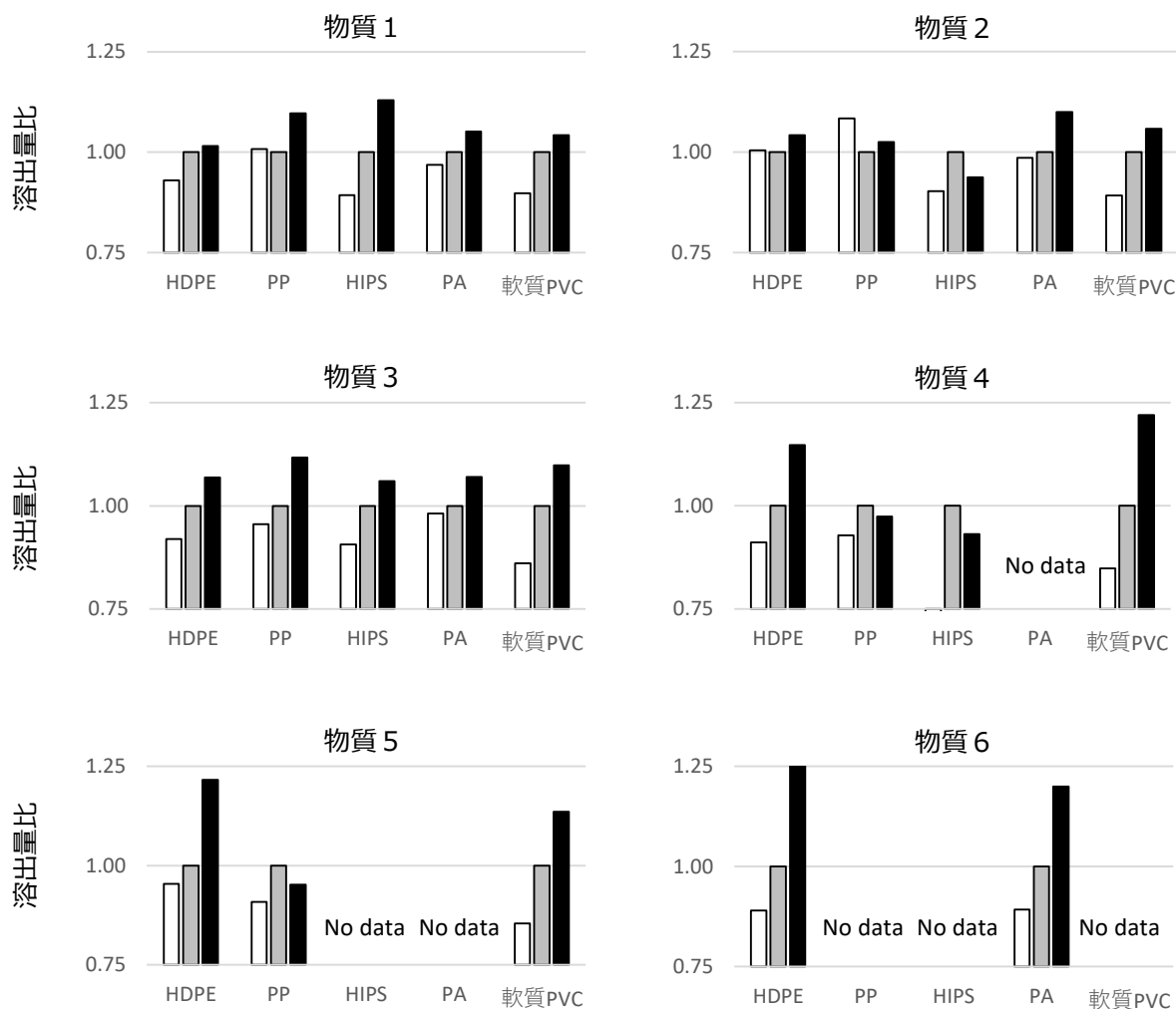


図1 4%酢酸の溶出量に対する3%酢酸及び5%酢酸の溶出量比  
(縦軸は4%酢酸の溶出量を1としたときの相対値)

□ : 3%酢酸、■ : 4%酢酸、■ : 5%酢酸

次いで、無機物の溶出量を比較した。ゴムシート、PET ボトル等を試料として3%酢酸、4%酢酸及び5%酢酸で60°C30分間の溶出試験を行い、溶出したMg、Ca、Zn、Ge及びSbの溶出量を測定した。その結果を表1-2に示した。一部の結果では相対標準偏差が20%を超えていたが、試料内の含有量のばらつきに由来するものと考えられたことから、これらは参考値とした。各溶媒における溶出量を比較した結果、Geでは酢酸濃度に応じ

て増加する傾向が見られたが、それぞれの相対標準偏差は16~19%とやや大きく、有意な変化とは考えられなかった。一方、その他の元素においては酢酸濃度と溶出量に相関はみられなかった。3%酢酸、4%酢酸、5%酢酸のpH値はそれぞれ、pH 2.47、pH 2.39及びpH 2.33であり、その差はわずかであることから、無機物の溶出量は酢酸濃度によって大きく異なることはないと考えられた。

表 1 2 酢酸濃度による各元素の溶出量の比較

元素	試料	溶出量 (ng/mL) および相対標準偏差 (%)					
		3%酢酸		4%酢酸		5%酢酸	
		Ave	RSD	Ave	RSD	Ave	RSD
Mg	レジ袋	$1.0 \times 10^{-1}$	9	$1.0 \times 10^{-1}$	8	$1.1 \times 10^{-1}$	6
Ca	HNBRシート	$1.4 \times 10^3$	14	$1.3 \times 10^3$	6	$1.7 \times 10^3$	31
	フッ素ゴムシート	$1.1 \times 10^3$	6	$1.2 \times 10^3$	4	$1.1 \times 10^3$	11
Zn	HNBRシート	$2.0 \times 10^3$	5	$2.0 \times 10^3$	3	$2.0 \times 10^3$	4
	フッ素ゴムシート	$7.2 \times 10^2$	8	$7.3 \times 10^2$	10	$7.0 \times 10^2$	13
Ge	PETボトル 1	$1.8 \times 10^0$	19	$1.9 \times 10^0$	17	$2.1 \times 10^0$	12
Sb	PETボトル 2	$1.5 \times 10^{-1}$	39	$2.3 \times 10^{-1}$	42	$1.9 \times 10^{-1}$	16

溶出条件：60℃ 30分間

表 1 3 各飲料における添加回収試験の結果

物質	B5		B7		B8		B12		B13		B15		B22	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
1	101.4	2.6	96.5	3.1	103.0	5.5	108.7	3.5	106.0	6.2	101.0	4.4	96.9	2.0
2	97.3	4.3	94.0	1.4	92.4	1.9	94.9	0.8	89.1	1.2	93.4	0.8	84.8	2.2
3	88.5	4.9	88.8	1.7	89.6	1.7	94.1	1.4	91.1	2.9	87.6	3.5	80.1	2.4
4	67.6	1.9	86.1	3.0	74.6	2.0	81.9	2.1	70.3	3.1	67.3	2.3	81.5	6.4
5	64.9	4.0	91.3	7.9	77.9	4.9	83.4	3.2	73.1	3.1	68.3	5.0	76.9	3.7
6	62.6	1.1	86.7	4.2	69.5	1.1	83.3	2.7	71.5	2.3	64.8	1.6	70.7	4.0
7	63.6	2.1	84.3	2.7	65.7	2.1	81.1	2.4	66.9	2.3	63.3	1.8	76.4	2.1
8	67.1	3.9	89.5	3.2	68.3	4.0	78.4	2.8	68.8	6.2	64.3	3.7	84.8	2.1
9	61.8	0.9	80.8	1.8	61.6	1.6	79.2	1.9	63.6	2.1	63.5	2.3	74.3	2.3
10	58.7	2.1	66.0	7.3	55.6	4.5	64.3	2.7	52.0	2.0	58.8	1.2	71.7	5.6

値 (%) は 3 回試行の結果

以上のことから、有機物に対しては、3%酢酸と4%酢酸では溶出傾向が異なっており、同等と見なすことはできなかったが、無機物に対しては、3%酢酸と4%酢酸の溶出量は同等と見なすことが可能と考えられた。

## ②飲料と食品擬似溶媒の溶出量比較

酸性食品の区分である pH (4.5~5) と食品擬似溶媒の pH (2.39 及び 2.47) には大きな差があるため、食品擬似溶媒への溶出量が実態と乖離している可能性があると考えられた。そこで、HDPE、PA 及び軟質 PVC シートを試料として、pH 5 以下の飲料 7 種 (B5、B7、B8、B12、B13、B15 及び B22) への溶出量を測定し、3%酢酸及び4%酢酸への溶出量と比較し、

3%酢酸及び4%酢酸の食品擬似溶媒としての妥当性を検証した。

まず、飲料中に移行した各物質の定量精度を検証した。各飲料に 100 µg/mL となるように物質 1~10 を添加し、アセトニトリルで適宜希釈後、LC-MS/MS で測定して回収率を算出した。それぞれの飲料における各物質の回収率を表 1 3 に示した。物質 1~3 については、すべての飲料で回収率が 80%以上であり、相対標準偏差も 5%以下と良好であった。しかし、物質 4~10 については、多くの回収率が 80%未満であり、一部では相対標準偏差が 5%を超えるものも存在した。そこで、物質 4~10 については参考値としたうえで、飲料への溶出

量は溶出試験後の飲料中の各物質の定量値を回収率で補正した値とし、4%酢酸の溶出量を1としたときの各飲料の溶出量の比を算出した。各飲料及び物質の溶出量比を図2に示した。ただし、親油性が高い物質7~10について

ては、多くの試料または飲料で溶出が見られなかったこと、回収率が不十分であり溶出量の信頼性が確保できなかったことから、今回の検証にはこれらの溶出量を使用できなかった。

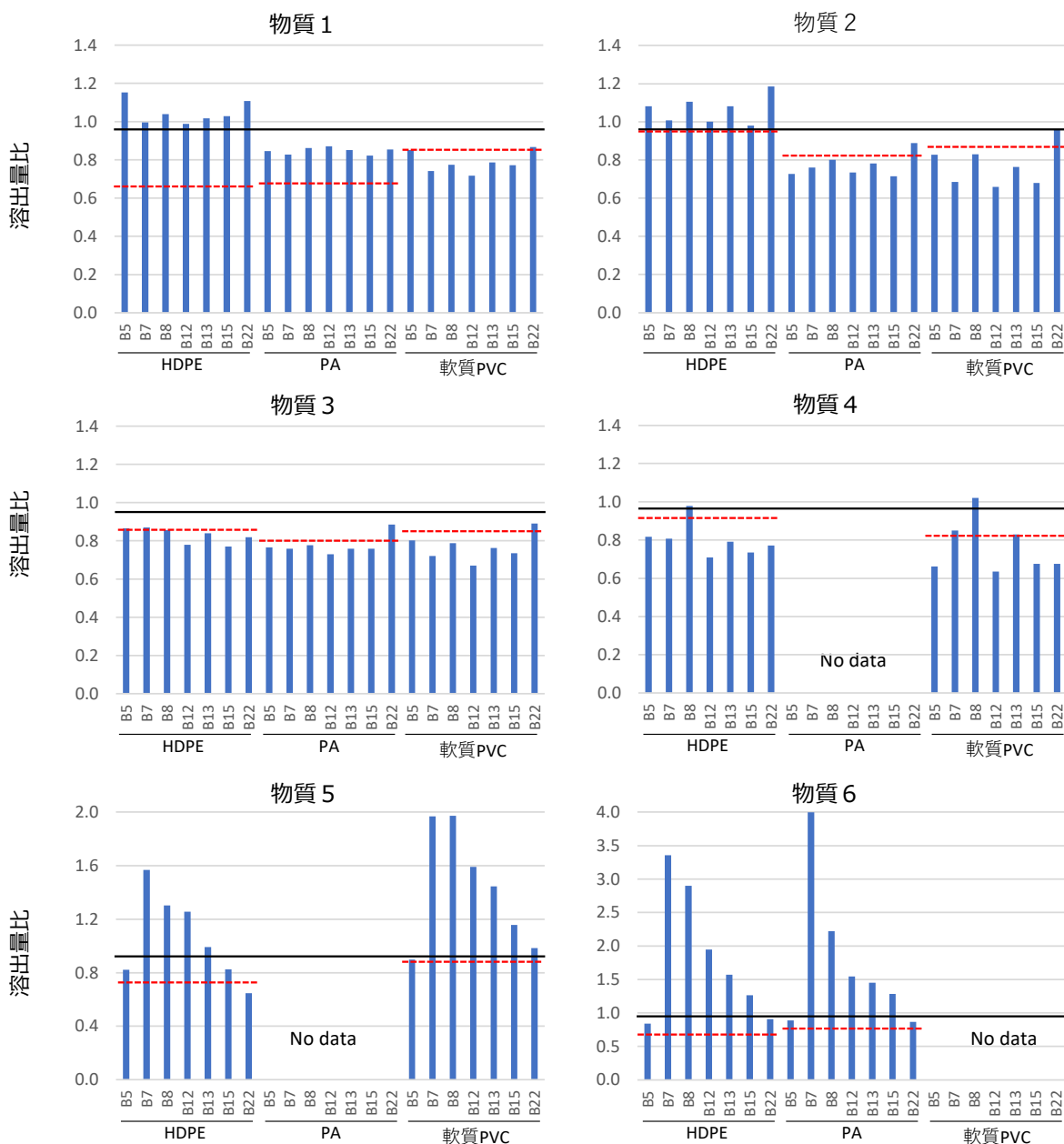


図2 4%酢酸の溶出量に対する各飲料の溶出量比  
 (試料番号は表7と共通)  
 (縦軸は4%酢酸の溶出量を1としたときの相対値、物質4~6は参考値)  
 ----- : 3%酢酸、————— : 4%酢酸



分配係数が 1.7~4.3 の親水性が高い物質 1~4 の溶出量は飲料の種類や pH に関連せず、ほぼ同程度であった。3%酢酸及び 4%酢酸の溶出量と比較した結果、飲料への溶出量は 4%酢酸と比べて同等またはそれ以下であった。一方、3%酢酸の溶出量と比べると、物質 2~4 は飲料と 3%酢酸で同程度であったが、物質 1 の HDPE 及び PA の溶出量は 3%酢酸よりも飲料が多かった。

今回の結果では参考値となるが、分配係数が 5.7 及び 6.9 のやや親油性を有する物質 5 及び 6 については、溶出量は少なかったが、B5 を除くと pH 値が低いほど溶出量が多かった。B5 は炭酸飲料であり、その溶出量は同じ炭酸飲料である B22 とほぼ同じであった。そのため、分配係数が 6 程度の物質の溶出量は、有機酸による pH 値の影響を受けるが、炭酸ガスに由来する pH 値の影響は受けないと推察された。3%酢酸及び 4%酢酸の溶出量と比較した結果、炭酸飲料である B5 及び B22 への溶出量は 4%酢酸もしくは 3%酢酸と同程度であったが、その他の飲料は 4%酢酸よりも溶出量が多かった。

### ③食品擬似溶媒の選択

食品衛生法において 4%酢酸を用いる溶出試験項目を表 1 4 に示した。今回は、Cd または Pb を含む試料を用いた検証ができなかったが、Mg、Ca、Zn、Ge 及び Sb については、3%酢酸と 4%酢酸で溶出量に差は見られなかった。さらに、3%酢酸と 4%酢酸の pH は 2.39 及び 2.47 であり、大部分の食品と比べて低い。そのため、これらが主な溶出物である場合は、いずれを食品擬似溶媒としても十分保守的な管理が可能と考えられた。

また、蒸発残留物試験においては、金属類と有機物が対象となる。有機物については、食品擬似溶媒としての 3%酢酸と 4%酢酸の同等性を検証した結果、物質の分配係数によって溶出傾向が異なることから、同等と見なすことができなかった。そこで、pH 4.5~5 の飲料への溶出量と 3%酢酸及び 4%酢酸への溶出量を比較したところ、3%酢酸は溶出量が多い親水性の物質に対しては各種飲料と同程度の溶出量であったが、一部では過小評価となる場合があった。また、親油性を有する物質に対してはほとんどの場合で過小評価となった。一方、4%酢酸は親水性の物質に対しては各種飲料と同等以上の溶出量が得られたが、親油性を有する物質に対しては 3%酢酸と同様に過小評価となる場合が多かった。しかし、親油性を有する物質の 4%酢酸への溶出量は親水性の物質と比べて 1/100~1/10 程度と明らかに少なく、蒸発残留物試験の結果に対する影響は小さいこと、4%酢酸は親水性の物質に対して実際よりも多い溶出量を得られることから、総合的にみると保守的な管理が可能と考えられた。

一方、ポリカーボネート製品のビスフェノール A (フェノール及び *p-tert*-ブチルフェノールを含む。) 溶出試験においては、ビスフェノール A の分配係数が 3.32 (*p-tert*-ブチルフェノールも同程度) であることから、その溶出挙動は物質 3 と同じと予想された。そのため、本規格においては 3%酢酸が実際の溶出量と近く、4%酢酸ではやや保守的な溶出量となると推察されたが、今後これらを含む試料を用いて検証する必要がある。

表 1 4 4%酢酸を浸出用液とする溶出試験を要する規格

対象となる物質	対象となる材質
重金属	合成樹脂 ゴム
Cd及びPb	ガラス、陶磁器、ホウロウ引き
Sb	ポリエチレンテレフタレート
Ge	ポリエチレンテレフタレート ポリエチレンナフタレート
Zn	ゴム（ほ乳器具を除く）
蒸発残留物	合成樹脂（個別規格*2） ゴム（ほ乳器具を除く） 金属缶
ビスフェノールA*1	ポリカーボネート

\*1：フェノール及びtert-p-ブチルフェノールを含む

\*2：個別規格が設定されている合成樹脂。ただし、ホルムアルデヒドを製造原料とする合成樹脂を除く

以上のことから、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。しかし、親水性の物質に対しては過大評価、親油性の物質に対しては過小評価となる場合があるため、3%酢酸または4%酢酸のいずれを食品擬似溶媒とする場合であっても、個々の物質に対して溶出量の規格を設定する際は、その物質の物性等を考慮して実際の食品への移行量と同程度の溶出量が得られる食品擬似溶媒（浸出用液）を設定すべきと考えられる。

#### D. 結論

日本、米国及び欧州連合における酸性食品の区分とその食品擬似溶媒は整合化されておらず、器具・容器包装の輸出入時の規格適合性

確認、並びに新規物質の健康影響評価の円滑な運用を妨げる可能性がある。そこで、食品衛生法の器具・容器包装の規格基準における酸性食品の区分と溶出試験で用いる浸出用液の検討を行った。

食品の製造基準ではボツリヌス食中毒の発生防止という観点からpH 4.6を指標として殺菌条件及び保存条件を区分している。容器包装について規定の殺菌条件や保存条件等に対して耐久性を有するものを選択して使用する必要があるため、酸性食品の指標となるpH値を現行の5から4.6へ変更することが望ましいと考えられた。その際、pH 4.6～5.0の食品はその区分が変わるが、該当する食品は油脂含量が低い調味料類に限定的であり、影響は小さいと考えられた。

食品擬似溶媒の国際整合化を目的として、3%酢酸と4%酢酸の同等性を検証したが、物質の分配係数によって溶出傾向が異なることから、これらを同等と見なすことができな

った。各種飲料への溶出量を対照として食品擬似溶媒としての妥当性を検証したところ、保守的な管理という観点では、大部分の物質に対して実際よりも多い溶出量が得られる4%酢酸が酸性食品の食品擬似溶媒として妥当と考えられた。一方、国際整合性及び現実的な溶出量による管理という観点では、3%酢酸を食品擬似溶媒とすることも可能と考えられた。しかし、いずれの場合であっても、個別の物質に対して溶出量の規格を設定する際は、その物質の物性等を考慮して実際の食品への移行量と同程度の溶出量が得られる食品擬似溶媒（浸出用液）を設定すべきと考えられる。

#### E. 参考文献

- 1) 食品安全委員会、食品用器具及び容器包装に関する食品健康影響評価指針、2019年5月
- 2) European Commission, COMMISSION REGULATION (EU) No 10/2011 on plastic

materials and articles intended to come into contact with food (2011)

- 3) U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition, Guidance for Industry: Preparation of Premarket Submissions for Food Contact Substances: Chemistry Recommendations (2007)
- 4) U.S. Food and Drug Administration, 21CFR 176.170 Components of paper and paperboard in contact with aqueous and fatty foods (2019)
- 5) 厚生労働省医薬局食品保健部基準課長、監視安全課長通知、容器包装詰食品に関するボツリヌス食中毒対策について（食基発第0630002号、食監発第0630004号、平成15年6月30日）
- 6) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知、容器包装詰低酸性食品に関するボツリヌス食中毒対策について（食安基発第0617003号、食安監発第0617003号、平成20年6月17日）

## 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
尾崎麻子、岸映里、大嶋智子、角谷直哉、阿部裕、六鹿元雄、山野哲夫	ヘッドスペース-GC-MSによる食品用ラミネートフィルム中の残留有機溶剤の分析	食品衛生学 雑誌	60	73-81	2019
河村葉子、和田岳成、山口未来、六鹿元雄	油脂および脂肪性食品用合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物試験に関する考察	食品衛生学 雑誌	60	82-87	2019

令和2年3月27日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田 晴宏 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 食品用器具・容器包装等の安全性確保に資する研究 (19KA1003)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品添加物部 第三室長  
(氏名・フリガナ) 六鹿 元雄 (ムツガ モトオ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。



厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所  
 所属研究機関長 職名 所長  
 氏名 奥田 晴宏 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 食品用器具・容器包装等の安全性確保に資する研究 (19KA1003)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品添加物部 主任研究官  
 (氏名・フリガナ) 阿部 裕 (アベ ユタカ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
 ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。