

<その2> 洗浄剤におけるメタノール分析法の室間共同実験

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	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

食品衛生法では食品の安全性確保のため、食品、添加物、食品用器具・容器包装のみならず、洗浄剤に対しても規格を設定している。洗浄剤には、専ら飲食器の洗浄の用に供されることが目的とされているものを除き、ヒ素、重金属、メタノール (MeOH) および液性の規格が設定されている。MeOH は安定剤として添加されるエタノール (EtOH) やその他の成分の溶剤または不純物として混入するおそれがある。そのため、MeOH の食品への混入を防ぐことを目的として、液状の洗浄剤のみを対象とした規格が設定されている。

洗浄剤の MeOH の告示試験法の概要は以下の通りである。試料 100 g に内部標準物質としてイソプロピルアルコール (2-プロパノール、2-PrOH) 10 g を加えて混和したものを試験溶液とし、別に水で 1000 倍に希釈した MeOH 100 mL に 2-PrOH 10 g を加えて混和したものを標準溶液とする。試験溶液および標準溶液のそれぞれ 1 μ L について、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ (GC-FID) で分析し、MeOH と 2-PrOH の面積比を求め、試験溶液および標準溶液の面積比を比較して判定する。これは規格値として MeOH 1 μ L/g に相当する。

本試験法では、洗浄剤を希釈せずに直接 GC-FID に注入するため装置を汚染しやすいうえ、内部標準物質の添加量が最

適ではない、現在ではあまり使用されないパックドカラムを用いるといった問題点が指摘されている^{1,2)}。また、JIS K3370 台所用合成洗剤においては、MeOH 含有量は 1 mg/g 以下と規定されており、食品衛生法と JIS では単位が異なる。

このような現行の試験法および規格の問題点を解消するため、六鹿らは改良分析法を検討し報告した^{1,2)}。改良分析法では、試料に内部標準物質を添加し、水で希釈したものを試験溶液とし、これを加温して発生したヘッドスペースガスを GC-FID で分析する。また、現在の試験環境に合わせカラムにはキャピラリーカラムを用いる。この分析法は回収率および精度が良好であった。また、試料を水で希釈したうえ直接 GC-FID に注入しないため装置を汚染しにくい。また、ヘッドスペースサンプラ (HSS) を用いることができれば、注入の自動化も容易である。そのため、告示試験法の改良法として適していると考えられた。

本研究では、六鹿らの改良分析法の一部を変更した分析法の室間共同試験を実施し、その性能を評価した。

B. 研究方法

1. 配付試料

1) 試薬等

ブランク試料：台所用合成洗剤 (形態：液状、用途：食器・調理用具、液性：弱アルカリ性、界面活性剤：32%)

MeOH：試薬特級、富士フイルム和光純薬製

2) 調製

試料原液 (MeOH 濃度：10 mg/g)：MeOH 1.00 g をねじ口ガラス瓶に量りとり、洗浄剤数十 g を加え混和し、さらに洗浄剤を加え 100 g とした。蓋をして良く混和したものを原液とした。

低濃度試料：原液 9.00 g をねじ口ガラス瓶に量りとり、洗浄剤を加えて 300 g とした。蓋をして良く混和したものを低濃度試料 (MeOH 濃度：0.300 mg/g) とした。

高濃度試料：原液 30.0 g をねじ口ガラス瓶に量りとり、洗浄剤を加えて 300 g とした。蓋をして良く混和したものを高濃度試料 (MeOH 濃度：1.00 mg/g) とした。

3) 配付

低濃度試料を試料 1 および試料 3、高濃度試料を試料 2 および試料 4 とし、それぞれ約 1.5 g を容量約 1.5 mL のねじ口褐色ガラス瓶に分注し、濃度非明示で令和 2 年 9 月 16 日にクール便で室間共同実験の参加試験所に配付した。また、ブランク試料についても試料 1~4 と同様にガラス瓶に分注して配付した。

4) 均質性および安定性の確認

原則として「<別添 1>令和 2 年度 室間共同実験 計画書」(以下、計画書)にしたがい実施したがった。詳細は以下の通り。

①試薬、標準原液等

MeOH：試薬特級、2-PrOH：高速液体クロマトグラフ用、富士フイルム和光純薬製

MeOH 標準原液 (MeOH 濃度：1000 µg/mL)：メタノール 1.00 g を量りとり、水で 1 L に定容した。

2-PrOH 標準原液 (2-PrOH 濃度：1000 µg/mL)：2-PrOH 1.00 g を量りとり、水で 1 L とした。

内部標準溶液 (2-PrOH 濃度：250 µg/mL)：2-PrOH 標準原液を 5 mL 量りと

り、水で 20 mL に定容した。

②分析装置

HSS 付き GC-FID：7890A GC System および 7697A Headspace Sampler (アジレントテクノロジー社製)

③測定溶液の調製

試料 0.5 g を量りとり、内部標準溶液 (2-PrOH 濃度：250 µg/mL) 1 mL を添加後、水を加えて 10 mL としたものを測定溶液とした。

測定溶液は、試料配付後 0 日目 (試料配付直後) と 90 日目 (試料配付の約 3 か月後) に、低濃度試料、高濃度試料およびブランク試料のそれぞれ 10 試料ずつを用いて調製した。

④検量線用測定溶液の調製

MeOH 標準原液 (MeOH 濃度：1000 µg/mL) を各 0.05 mL、0.1 mL、0.25 mL、0.5 mL、0.75 mL、1 mL 量りとり、内部標準溶液 (2-PrOH 濃度：250 µg/mL) 1 mL を加え、水で 10 mL に定容した (濃度は 5 µg/mL、10 µg/mL、25 µg/mL、50 µg/mL、75 µg/mL、100 µg/mL)。また、内部標準溶液 (2-PrOH 濃度：250 µg/mL) を水で 10 mL に定容した溶液を 0 µg/mL 検量線用測定溶液とした。

⑤分析操作

試料測定溶液または検量線用測定溶液測定溶液 5 mL を 10 mL 容のヘッドスペース用バイアルに量りとり、密封後、60°C に保ちながら 30 分間加熱した。加熱後、気相 1 mL を GC-FID に注入した。

⑥測定条件

カラム：DB624 (0.32 mm×60 m、膜厚 1.8 µm、アジレントテクノロジー社製)

カラム温度：70°C (7 分保持) -15°C/分 -220°C (5 分保持)

注入口温度：220°C

注入方法：スプリット (スプリット比 50:1)

キャリアーガス：He

流速：2 mL/min

検出器温度：220℃

⑦定量

検量線用測定溶液の 2-PrOH に対する MeOH の信号強度(ピーク面積値またはピーク高さ)比と濃度との一次回帰線を求め、MeOH の検量線を作成した。作成した検量線に試料測定溶液の 2-PrOH に対する MeOH の信号強度比を内挿し、分析値(定量値)を算出した。

⑧均質性の確認

均質性の確認のための分析は国立医薬品食品衛生研究所にて実施した。

試料の均質性は、IUPAC 技能試験のハーモナイズドプロトコールの 2006 年版³⁾ Appendix に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 日目の分析値とその値を下記の判定式 1 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が 10 点であることから、自由度 9 の χ^2 値 (1.88) と F 値 (1.01) を代入した。 σ_R は各検体の濃度に対応する Horwitz/Tompson 式 ($\sigma_R = 0.02C^{0.8495}$ 、C：検体濃度) から算出し代入した。

$$\text{(判定式 1)} \quad S_{\text{sam}}^2 \leq \chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times S_{\text{an}}^2$$

S_{sam} ：試料間標準偏差

χ^2 ： χ^2 値

σ_R ：室間再現標準偏差の予測値

F：F 値

S_{an} ：試料内標準偏差

⑨安定性の確認

安定性確認のための分析は国立医薬品食品衛生研究所にて実施した。

試料の安定性は ISO 13528:2015⁴⁾ Annex B に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 日目および 90 日目の分析値の平均値の最大値と最小値を下記の判定式 2 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。

$$\text{(判定式 2)} \quad X_{\text{max}} - X_{\text{min}} \leq 0.3\sigma_R$$

X_{max} ：検証期間中に取得した 2 併行の分析結果の平均値の最大値

X_{min} ：検証期間中に取得した 2 併行の分析結果の平均値の最小値

σ_R ：90 日目の室間再現標準偏差の予測値

2. 参加試験所

室間共同実験の計画および計画書作成には民間の登録検査機関 14 試験所と公的な衛生研究所など 16 試験所が参加し、このうち室間共同実験の実施には 10 試験所が参加した。なお、同一企業の地域が異なる試験所で実施した場合は別試験所として扱った。

3. 室間共同実験の実施と結果の解析

1) 室間共同試験の実施

室間共同実験は「<別添 1>令和 2 年度 室間共同実験 計画書」(以下、計画書)に従い実施した。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。室間共同実験の分析の実施期間は、検体到着後の 2020 年 9 月 18 日～2020 年 12 月 18 日の約 3 ヶ月間とした。測定溶液に調製、標準測定溶液の調製および分析結果の報告について以下に示した。なお、試薬、分析操作、測定条件等は 4) 均質性および安定性の確認の項と同じである。

①測定溶液の調製

試料 1 g に内標準溶液 (500 µg/mL の 2-PrOH 溶液) 1 mL を加え、水で 20 mL に定容したものを測定溶液とした。

②標準測定溶液の調製

MeOH 標準原液 (MeOH 濃度 : 1000 µg/mL) を各 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1 mL、1.5 mL、2 mL 量りとり、内部標準溶液 (500 µg/mL の 2-PrOH 溶液) 1 mL を加え、水で 20 mL に定容した (MeOH の濃度は 5 µg/mL、10 µg/mL、25 µg/mL、50 µg/mL、75 µg/mL、100 µg/mL)。また、0 µg/mL 検量線用測定溶液として内部標準溶液 (500 µg/mL の 2-PrOH 溶液) 1 mL を水で 20 mL で定容した溶液を用いた。

③分析結果の報告

Microsoft Excel を使って作成した結果報告シートを配付し、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試験所に依頼した。

2) 結果の解析

参加試験所から報告された試料 1 および試料 3 の定量値を低濃度試料の併行分析、試料 2 および試料 4 の定量値を高濃度試料の 2 併行分析の結果として、Codex 分析・サンプリング部会の関連文書である CXG64-1995⁵⁾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_F %)、室間再現相対標準偏差 (RSD_R %) および RSD_R と Horwitz/Thompson 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/Thompson 式である PRSD_R % = 2C^{-0.1505} (C : 検体濃度) から算出した。また、HorRat 値による分析法の性能評価に

おける性能規準の指標として Codex 委員会の手順書⁵⁾を参照した。なおこの手順書では、分析法の性能規準として、HorRat 値 2 以下を設定している。

C. 研究結果及び考察

1. 分析法の検討

六鹿らによる改良分析法^{1,2)}を基に、室間共同実験で用いる分析法を検討した。以下の検討結果から、分析カラムと内部標準物質の添加量を変更した分析法を用いることとした。

1) 分析カラム


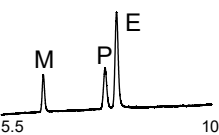
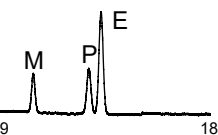
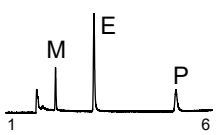
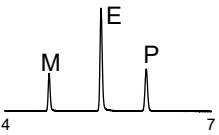
六鹿らの方法では分析カラムとして Aquatic-2 (ジーエルサイエンス株式会社) を用いている。Aquatic-2 は固定相 (液相) に 25%ジフェニル-75%ジメチルポリシロキサンが塗布されたキャピラリーカラムであり、Aquatic (ジーエルサイエンス株式会社) の最高耐熱温度を 260°C まで高めたものである。これらは有機溶媒^{6,7)}や揮発性物質⁸⁾の分析に用いられるが、同じ固定相のキャピラリーカラムは他のメーカーからは販売されていない。そこで汎用性を考慮し、MeOH 分析が可能で、かつ他の規格試験に使用されているカラムの中から適用可能なものを選択した。

検討に用いたカラム、昇温条件およびクロマトグラム例を表 1 にまとめた。

食品用器具・容器包装 (器具容器等) の揮発性物質試験およびエピクロルヒドリン試験に用いられる DB-WAX カラム (液相 : ポリエチレングリコール、アジレントテクノロジー社製) では、安定化剤等として洗浄剤に添加された EtOH と内標準物質である 2-PrOH の保持時間が非常に近かった。

器具容器等の塩化ビニルおよび塩化ビニリデンのモノマー試験に用いられる CP PoraBOND Q (液相 : スチレンジビニ

表1 カラムの違いによるクロマトグラムの違い

カラム (サイズ*)	Aquatic-2 (60 m × 0.25 mm, 1.4 μm)	WAX (30 m × 0.25 mm, 0.5 μm)	WAX (30 m × 0.53 mm, 1 μm)	CP PoraBOND Q (25 m × 0.25mm, 3 μm)	624 (60 m × 0.32 mm, 1.8 μm)
オープン 昇温条件	45°C (15 min)	35°C (8 min保持)-15°C/min昇 温-220°C (5 min保持)	40°C (25 min)	130°C (5 min保持)-15°C/min昇 温-250°C (5 min保持)	70°C (7 min保持)-15°C/min昇 温-220°C (5 min保持)
クロマトグラム**					
使用される試験	六鹿らの改良分析法 ^{1,2)}	揮発性物質試験法	エピクロルヒドリン試験法	塩化ビニルモノマー試験法および塩化ビニリデンモノマー試験法	本研究

* 長さ × 内径, 膜厚

** M: MeOH, E: EtOH, P: 2-PrOH

ルベンゼン、アジレントテクノロジー社製)では、分離は良好であったが MeOH の保持が弱く、共存物質の保持時間と重複する可能性があった。

ミネラルウォーター類中の揮発性有機化合物一斉試験法に用いられる DB-624 カラム (液相: 6%シアノプロピルフェニル-94%ジメチルポリシロキサン、アジレントテクノロジー社製)では分離およびピーク形状ともに良好であった。

以上の結果から、分離およびピーク形状も良好で、かつ複数メーカーで製造・販売されている 624 系のカラムを用いることとした。

2) 内部標準物質

添加用の内部標準溶液の濃度は、報告書では 40 μg/mL²⁾、論文では 400 μg/mL¹⁾となっており、齟齬が生じていた。報告書における内部標準原液濃度の計算に誤りがあり、400 μg/mL が正しいと判明したが、改めて最適な濃度を検証した。

内部標準物質の濃度は一般的に検量線の最高濃度点と同等の面積値が得られる濃度が良いとされている。本研究における検量線範囲は、規格値相当の測定溶液 (50 μg/mL) の 1/10~2 倍としたため、検

量線の最高濃度は 100 μg/mL となる。MeOH 100 μg/mL と 2-PrOH の面積比 (MeOH/2-PrOH) は、内部標準溶液を 400 μg/mL としたときに 0.74、500 μg/mL としたときに 0.93 となった。以上の結果から、内部標準溶液の濃度は 500 μg/mL に変更した。なお、この濃度の内部標準溶液を用いて測定溶液を調製したときの測定溶液中の内部標準の濃度は 25 μg/mL となる。

2. 室間共同実験試料

1) ブランク試料の選択

洗浄剤には安定化剤等として EtOH が含まれることがあり、EtOH はクロマトグラム上で MeOH と 2-PrOH の間に検出される。そこで、EtOH の影響を検証する必要があることから、室間共同試料用のブランク試料は EtOH がある程度検出され、かつ分析対象である MeOH がほとんど検出されないものを選択することとした。

そこで、洗浄剤 24 種類を入手し、本法に従い分析した。これらの洗浄剤の中から MeOH のピークが検出されず、かつ EtOH のピーク高さが 2-PrOH の約 40 倍の高さで検出された洗浄剤を室間共同実

験用のブランク試料として用いた。

2) 試料濃度

現行の規格基準では規格相当値は 1 $\mu\text{L/g}$ であるが、JIS 規格では 1 mg/g であり、単位が異なる。六鹿らは試験操作や器具・容器包装の規格から判断し、JIS 規格の mg/g の方が適切としているため、本検討においても mg/g の単位を用いた。なお単位を mg/g にすると、規格基準における規格値は MeOH の比重から換算し約 0.8 mg/g となる。

一方、過去の実態調査¹⁾によると、市販の洗浄剤 14 検体中 2 検体から MeOH が検出され、最高濃度は 0.27 mg/g であった。

以上のことから、JIS 規格である 1 mg/g を高濃度試料、市販品で検出されうる濃度かつ規格基準の規格値の約 1/3 に相当する 0.3 mg/g を低濃度試料とした 2 濃度の試料により共同実験を実施することとした。

3. 試料の均質性および安定性

均質性および安定性の確認のために求めた各 10 試料の分析値とその解析結果を表 2 に示した。

均質性、安定性ともに、いずれの試料についても判定式が成立した。したがって、配布した試料は均質であり、計画書に記載の分析実施期間における安定性にも問題は無いと判断した。

4. 共同実験で取得された分析結果の解析

1) 実施された室間共同試験の概要

室間共同実験の分析は令和 2 年 9 月 23 日から 12 月 1 日までに実施され、計画書の実施期間内に完了した。

全 10 試験所が使用した装置および測定条件を表 3 にまとめた。使用した装置については、5 試験所は HSS を使用したが、残り 5 試験所では HSS を使用せずに手動注入により試験を実施した。測定条件では、試験所 A では HSS の仕様により注入口温度は設定できないため設定しない状態で使用した。また、試験所 K においては、オープン温度の最後の洗浄時間を 5 分延長したプログラムを使用した。いずれの場合も本計画書に示された分析条件を大きく逸脱していないとみなすことができることから、これらを本計画書にしたがった分析法として扱い、得られた全ての分析値を以降の解析に用いた。

表2 0日目および90日目の試料の分析結果と均質性および安定性の解析結果

試料 No.	低濃度試料				高濃度試料			
	0 日目濃度 (mg/g)		90 日目濃度 (mg/g)		0 日目濃度 (mg/g)		90 日目濃度 (mg/g)	
	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	0.299	0.299	0.299	0.301	0.99	1.00	0.99	1.00
2	0.300	0.301	0.297	0.298	1.01	1.00	0.99	1.00
3	0.300	0.300	0.297	0.300	1.00	1.00	1.00	0.99
4	0.302	0.301	0.299	0.299	0.98	1.00	1.00	1.00
5	0.304	0.302	0.298	0.300	0.99	1.00	0.99	1.00
6	0.301	0.300	0.298	0.300	1.00	1.00	0.99	0.99
7	0.301	0.301	0.299	0.299	0.99	0.99	1.00	1.00
8	0.301	0.300	0.300	0.299	1.00	1.00	0.99	0.99
9	0.301	0.301	0.299	0.300	1.00	1.00	1.00	1.00
10	0.299	0.300	0.299	0.299	0.99	0.99	1.00	1.00
S^2_{sam}	0.000000893		-		0.0000104		-	
$\chi^2 \times (0.3\sigma_R) + F \times S^2_{\text{an}}$	0.0000708		-		0.000560		-	
$X_{\text{max}} - X_{\text{min}}$			0.00491				0.0145	
$0.3\sigma_R$			0.00610				0.0169	

表3 各機関の測定条件

試験所コード			計画書			ア		イ		ウ		エ		オ	
HSS使用の有無			指定しない			有		無		無		有		無	
カラム名(サイズ)			DB-624 (60 m × 0.32 mm, 膜厚 1.8 μm)			○		○		○		○		○	
オープン温度			70 °C(7分保持)-15 °C/分-220 °C(5分保持)			○		○		○		○		○	
注入口温度			220°C			HSサンプラーから注入口を介さず, カラムにつなぐタイプのため注入口 温度は設定なし		○		○		○		○	
注入方法(スプリットなど)			スプリット			○		○		○		○		○	
スプリット比(スプリットの場合)			50:1			○		○		○		○		○	
キャリアガス	流速 (mL/min)		He または N ₂ , 2 mL/min			○ (He)		○ (N ₂)		○ (N ₂)		○ (He)		○ (He)	
ヘッドスペース(HS)加熱温度			60°C			○		○		○		○		○	
HS 加熱時間			30分			○		○		○		○		○	
HS ニードル温度			指定しない			設定なし		- ¹		- ¹		70		- ¹	
HS トランスファーライン温度			指定しない			200 °C		- ¹		- ¹		90		- ¹	
注入量			1 mL			○		○		○		○		○	
保持時間(分)	MeOH	2-PrOH	-			4.9	6.5	4.4	5.8	4.5	5.9	4.6	6.1	4.6	6.1
試験所コード			計画書			カ		キ		ク		ケ		コ	
HSS使用の有無			指定しない			有		無		有		有		無	
カラム名(サイズ)			DB-624 (60 m × 0.32 mm, 膜厚 1.8 μm)			○		○		○		○		○	
オープン温度			70 °C(7分保持)-15 °C/分-220 °C(5分保持)			○		○		70°C(7分保持)-15°C/分- 220°C(10分保持)		○		○	
注入口温度			220°C			○		○		○		○		○	
注入方法(スプリットなど)			スプリット			○		○		○		○		○	
スプリット比(スプリットの場合)			50:1			○		○		○		○		○	
キャリアガス	流速 (mL/min)		He または N ₂ , 2 mL/min			○ (He)		○ (He)		○ (N ₂)		○ (He)		○ (N ₂)	
ヘッドスペース(HS)加熱温度			60°C			○		○		○		○		○	
HS 加熱時間			30分			○		○		○		○		○	
HS ニードル温度			指定しない			70°C		- ¹		60°C		95°C		- ¹	
HS トランスファーライン温度			指定しない			90°C		- ¹		60°C		95°C		- ¹	
注入量			1 mL			○		○		○		○		○	
保持時間(分)	MeOH	2-PrOH	-			4.6	6.0	4.5	6.0	4.5	5.9	4.3	5.6	4.5	5.9

○: 計画書通り

¹: 手動注入のため設定せず

2) 外れ値検定

全 10 機関から報告された各試料の分析結果を表 4 に示した。ただし、ブランク試料については全ての機関において 0.1 mg/g 未満であったため省略した。CXG64-1995 で示された Cochran 検定と Grubbs 検定を実施した。その結果、低濃度試料 (MeOH 濃度 : 0.300 mg/g) では、2 試験所の分析結果が外れ値に該当した。高濃度試料 (MeOH 濃度 : 1.00 mg/g) では外れ値は存在しなかった。

詳細な計画書を策定することで室間共同実験の可能な限りの管理を行ったが、得られた分析結果には、分析を実施した各試験所がもつ分析環境等の要因を受けたと推察される外れ値が確認された。外れ値となった 2 試験所はいずれも手動注入であり、内部標準物質である 2-PrOH の面積値のばらつきが大きかった。洗浄剤には界面活性剤が含まれており測定溶液にはやや粘性があるため、これら 2 試験所ではバイアル加温時の攪拌が不十分であり、試料間で含有成分の揮発効率に差が生じた可能性があったと推測された。

表4 各試験所の分析結果

試験所 コード	メタノール濃度 (mg/g)			
	低濃度試料		高濃度試料	
	併行分析1	併行分析2	併行分析1	併行分析2
ア	0.270	0.267	0.85	0.83
イ	0.300	0.295	1.02	1.04
ウ	0.296*	0.349*	0.99	1.16
エ	0.304	0.305	1.00	1.01
オ	0.319	0.302	0.99	1.06
カ	0.299	0.291	0.99	0.99
キ	0.277	0.281	0.96	0.91
ク	0.290	0.294	0.96	0.96
ケ	0.305	0.314	0.98	1.01
コ	0.399*	0.293*	1.26	1.17

*Cochran 検定による外れ値

3) 精度指標の評価

外れ値を除外せずに全データで解析した全体の推定を初期推定、外れ値を除い

たデータで解析した推定を最終推定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 及び表 6 に示した。

表5 分析法性能の初期推定結果*

試験所数	低濃度試料	高濃度試料
	10	
平均値 (mg/g)	0.303	1.007
併行標準偏差 (s_r , mg/g)	0.027	0.048
併行許容値 ($2.8s_r$, mg/g)	0.076	0.134
併行相対標準偏差 (RSD_r , %)	8.9	4.7
室間再現標準偏差 (s_R , mg/g)	0.029	0.103
室間再現許容差 ($2.8s_R$, mg/g)	0.081	0.288
室間再現相対標準偏差 (RSD_R , %)	9.6	10.2

*外れ値を除外する前の全分析結果による推定結果

表6 分析法性能の最終推定結果*

試験所数	低濃度試料	高濃度試料
	10	
データ解析に有効な試験所数	8	10
平均値 (mg/g)	0.295	1.01
併行標準偏差 (s_r , mg/g)	0.006	0.05
併行許容値 ($2.8s_r$, mg/g)	0.016	0.13
併行相対標準偏差 (RSD_r , %)	1.9	4.7
室間再現標準偏差 (s_R , mg/g)	0.015	0.10
室間再現許容差 ($2.8s_R$, mg/g)	0.043	0.29
室間再現相対標準偏差 (RSD_R , %)	5.2	10.2
HorRat	0.8	1.8

*外れ値を除外した分析結果による推定結果

低濃度試料 (MeOH 濃度 : 0.300 mg/g) では、2 試験所の結果が外れ値と判定された。Codex 分析・サンプリング部会の関連文書である CXG64-1995⁵⁾によれば、除外するデータセットが 2/9 以下であれば次の解析に進むことを認めていることから、これら 2 試験所の分析値を除外することは妥当であるとし、除外後の分析値を用いて最終推定を行った。その結果、併行相対標準偏差 (RSD_r , %) は 1.9%、室間再現相対標準偏差 (RSD_R , %) は 5.2%となった。また、分析値の平均値は 0.295 mg/g となり、調製濃度 (0.300 mg/g) と非常に近い数値が得られた。

高濃度試料 (MeOH 濃度 : 1.00 mg/g) の最終推定の結果、 RSD_r は 4.7%、 RSD_R は 10.2%であった。また、分析値の平均値

は 1.01 mg/g となり、調製濃度 (1.00 mg/g) と非常に近い数値が得られた。

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本共同試験で用いた MeOH 分析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。

低濃度試料および高濃度試料の分析における HorRat 値は、それぞれ 0.8 および 1.8 であり、いずれも Codex 委員会の指標値 2 を下回っていた。

以上の解析結果より、本共同試験で用いた MeOH 分析法は、精確な分析法であると考えられた。

4) HSS と手動注入の精度の比較

HSS による結果と手動注入による精度を比較するため、それぞれ 5 試験所の分析値から相対標準偏差 (RSD%) を求めた。その結果、HSS では低濃度試料で 5.2%、高濃度試料で 6.7%であったのに対し、手動注入ではそれぞれ 12.5%および 10.4%となった。一方、前項において手動注入で外れ値となった 2 つの試験所の結果を除外した RSD はそれぞれ 5.2%および 5.7%となり、HSS と同等となった。

D. 結論

洗浄剤中の MeOH 分析法について、10 試験所が参加する共同実験を実施し、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 式により計算される PRSD_R から HorRat 値を算出した。得られた HorRat 値を指標として分析法を評価した結果、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、分析法として妥当な水準にあることが確認された。また、手動注入でも注意深く操作することで HSS と同等の精度で分析可能であると考えられた。

したがって、本共同試験で用いた分析法は、規格の判定を行う分析法として期待できる性能を有すると判断した。

E. 参考文献

- 1) 六鹿元雄、建部千絵、平原嘉親、河村葉子：洗浄剤中のメタノール試験法、食品衛生学雑誌、53, 28-32 (2012).
- 2) 六鹿元雄：平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品用器具・容器包装、乳幼児用玩具及び洗浄剤の安全性確保に関する研究 統括・分担研究報告書 洗浄剤のメタノール試験法の検討、169-175 (2010).
- 3) 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).
- 4) ISO, E. 13528:2015. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. ISO 13528 (2015).
- 5) Horwitz, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies: Revised 1994 (Technical Report). Pure Appl. Chem., **67**, 331-343 (1995).
- 6) 佐藤恭子、植松洋子、伊佐川聡、立場秀樹、富澤政仁、大崎和彦、長谷部昭雄、渋谷三郎、仁井皓迪、仲 隆治、渡部一郎、山崎 壮、棚元憲一、米谷民雄：標準添加法を用いたヘッドスペース

- GC による天然香料中残留溶媒分析、
食品衛生学雑誌、45, 302-306 (2004).
- 7) 建部千絵、河崎裕美、久保田浩樹、佐藤恭子、棚元憲一、河村葉子：標準添加法を用いたヘッドスペースガスクロマトグラフィー法による増粘安定剤中の残留溶媒の分析、日本食品化学学会誌、16, 78-83 (2009).
- 8) 西原伸江、藤原正方、小笠原光憲、金本 昭、大瀬戸光明、井上博雄：ページ・トラップ GC/MS 法による揮発性有機化合物及びかび臭物質の同時分析、愛媛県立衛生環境研究所年報、7, 28-32 (2004).