

JAS規格化等のテーマに関する調査事業  
「JAS法改正に即した木材保存剤分析方法の規格化」  
成果報告書

平成30年2月

公益社団法人 日本木材保存協会



## はじめに

農林水産省は、「農林水産業・地域の活力創造プラン」や「未来投資戦略 2017」において、農林水産業・食品産業の競争力強化に向け、戦略的な JAS 規格の活用を位置づけています。JAS 規格を通じて行なうことができる木材の規格・認証は、木材製品の品質、品質を保証する技術などの内容を「見える化」するものであり、国内の消費者のみならず、商慣行が異なる海外市場においても、JAS 木材製品の利用拡大に寄与すると言えます。

平成 29 年 6 月公布の JAS 法改正、平成 30 年 1 月 17 日公布の JAS 法施行令改正により、JAS 規格の対象が、農林物資の品質に加え、生産方法、「試験方法」、事業者による農林物資の取扱方法などにも広がりました。木材の「試験方法」に関しては、JAS 規格に規定された製材品においては、既にジデシルジメチルアンモニウムクロリド剤、銅・N-アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロリド剤、銅・シプロコナゾール剤、シプロコナゾール・イミダクロプリド剤など様々な木材保存剤による保存処理の規定が示され、その試験方法（浸潤度試験と吸収量試験）が定められています。そして、平成 29 年には、集成材、合板、LVL についても、新たに木材保存剤による保存処理の規定が製品毎に示されました。

現在、保存処理に用いられている木材保存剤は上述したように多様化し、国産材利用の進展に伴い使用される樹種も多様化しているため、従来の JAS 規格による「試験方法」では、正確な分析が困難な事例が増加してきています。このような状況から、保存処理木製品の「試験方法」としての新たな JAS 化に当たっては、製品毎に規定されてきた試験方法を、各製品に対応した効率的・高精度な分析方法に統合する事が必要となります。そのため、平成 29 年度「新たな種類の J A S 規格調査委託事業」では、木材保存剤シプロコナゾールを取り上げ、それについて現行試験方法の問題点を示し、その改良に向けた試験を進めてきましたので、得られた成果をここに報告いたします。また、今回の事業で形成したコンソーシアムについては、さらに継続・発展させ、次のステップとして「試験方法」の妥当性を検証していく必要があると判断しています。

本事業の実施にあたっては、ご協力を賜りました委員各位をはじめ、三菱総研の関係各位に対しまして厚く御礼申し上げます。さらに、本成果を踏まえ、保存処理木材の更なる品質向上と性能表示の高度化が図られ、木材の利用拡大がより一層進展することを期待しています。

平成 30 年 2 月 15 日

公益社団法人 日本木材保存協会  
会長 鮫島正浩



## 目 次

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 第1章 事業の概要                           | 1  |
| 1.1 事業の背景                           | 1  |
| 1.2 事業目的                            | 2  |
| 1.3 事業の実施体制                         | 2  |
| 1.4 試験の概要                           | 3  |
| 1.5 事業の経過                           | 3  |
| 第2章 薬剤の分析試験方法の改良と妥当性の検証             | 7  |
| 2.1 分析試験のための試験体の作成                  | 7  |
| 2.2 妥当性確認のための分析試験方法の共同試験の設計         | 7  |
| 2.3 分析試験方法の手順書の作成                   | 15 |
| 2.4 分析試験方法の1試験室での最適化の検証             | 24 |
| 2.5 分析試験方法の妥当性検証の参画試験室による研修的予備試験の実施 | 29 |
| 2.6 まとめと考察                          | 33 |
| 第3章 今後の課題                           | 37 |
| 3.1 共同試験の円滑な推進とスケジュールの具体化           | 37 |
| 3.2 海外情報の把握                         | 38 |

別添 成果報告書のCD



## 第1章 事業の概要

### 1.1 事業の背景

農林水産省は、「農林水産業・地域の活力創造プラン」や「未来投資戦略 2017」において、農林水産業・食品産業の競争力強化に向け、戦略的な JAS 規格の活用を位置づけている。

平成 29 年 6 月 23 日公布の JAS 法改正は、取引の円滑化、ひいては、輸出力の強化に資するよう、JAS 規格を戦略的に制定・活用できる枠組みを整備し、JAS 規格の国際化の推進を図ることを目指している。

これまで、JAS 規格の対象は、モノ（農林水産物・食品）の品質に限定されていたが、モノの「生産方法」（プロセス）、「取扱方法」（サービス等）、「試験方法」などにも拡大したことから、木材に関する JAS に於いても、JAS 本体に組み込まれていた各種の試験方法を「試験方法」として取り出し、試験方法自体の JAS 化が可能となった。さらに、産地・事業者の創意工夫を生かした JAS 規格の活用が図られるよう、(1) JAS 制度の普及、(2) 規格に関する普及・啓発、専門人材の育成・確保及び国際機関・国際的枠組みへの参画等が国、及び独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）の努力義務として明確にされた。この点を受けて、「JAS 規格の制定等に関する手続の進捗状況」（平成 29 年 12 月版 [http://www.maff.go.jp/j/jas/attach/pdf/jassagyo\\_keikaku-2.pdf](http://www.maff.go.jp/j/jas/attach/pdf/jassagyo_keikaku-2.pdf)）には、制定しようとする日本農林規格の内容として、木材の保存処理性能の試験方法が示され検討主体を FAMIC として進められていることが明記され、その作業段階としては、JAS の制定及び改正の検討作業開始となっている。

次に木材利用の観点から背景を眺めてみます。平成 22 年 10 月 1 日に施行された「公共建築物等における木材の利用の促進に関する法律」は、木を使うことにより、森を育て、林業の再生を図ることを理念とし、今後の木造化が期待できる公共建築物にターゲットに、国が率先して木材利用に取り組み、更に地方公共団体・民間事業者を通じ住宅など一般建築物への波及効果を含め、木材需要の拡大を目的として機能して来た。平成 28 年 5 月に 5 年ぶりに改定された森林・林業政策の基本となる「森林・林業基本計画」では、林業の成長産業化、原木の安定供給体制の構築、木材産業の競争力強化と新たな木材需要の創出に向けた取組を推進することが、これからの我が国における森林・林業経営や国産材の利用拡大を通じた地方創生にとって重要なポイントとなることを掲げている。木材利用、或は木材保存に関する記述に注目して「森林・林業基本計画」を見ると、大項目「林産物の供給及び利用の確保に関する施策」の中項目として「新たな木材需要の創出」が、更にその中に小項目「公共建築物・民間非住宅・土木分野等への利用拡大」があり、「高耐久化した木材製品等の活用により、

外構や外装、屋外の簡易施設等への木材利用を推進する。」との文言が盛り込まれている。木材を外構や外装分野に広げて用いる場合には、木材保存が重要であること示していると言えよう。

以上の施策を背景とし、2020 東京オリンピック・パラリンピックでは、大規模な木材利用が進められ、商業施設、工場、コンビニなど非住宅でも木材利用が進んでいる。木材利用を印象付ける目的から、目に見える形で木材を使う（現しと呼ぶ）試みも進み、木材の雨風や腐朽・蟻害への対策も強く求められている。木材の劣化対策としては、JAS 規格に定められた保存処理製品を活用する事が大きく期待されている。

## 1.2 事業目的

本事業は、木材保存剤の分析方法の JAS 化を目的とする。これは、1.1 背景で述べた「JAS 規格の対象が「試験方法」などにも拡大した」ことに拠る。「試験方法」の JAS 規格化には、規定しようとする「試験方法」の科学的な妥当性を評価するため、多機関による共同試験と及び妥当性確認委員会での検討といった作業が見直すことが必須とされている。

従来、JAS 規格に規定されている木材保存剤の試験方法は、必ずしも AOAC（Association of Official Analytical Chemists）の共同試験ガイドラインに沿ったものではないことから、これに従って見直すことが必要となっている。見直しに当たっては、様々な観点から検討が必要であり、その手始めとしてコンソーシアムを形成し、「木材保存剤の試験方法」の JAS 規格化に向けて作業を開始し、次の発展に繋げることを本事業の目的とする。

今後、「木材保存剤の試験方法」が新しく JAS 規格化されれば、新たに整備されるであろう JAS 体系の中で、保存処理を施した各種木材製品がより広く社会的に利用される基盤を形成することになると期待できる。

## 1.3 事業の実施体制

公益社団法人日本木材保存協会を事業本体とし、本協会会長を委員長に、下記の研究機関、認定機関、関係企業の委員からなる委員会を形成し、それを実施体制として事業を推進した。

委員長：鮫島正浩（東京大学 教授）

委員：赤堀裕一（大日本木材防腐株式会社）

池田学（株式会社ザイエンス技術開発部）

榮澤純二（（公財）日本合板検査会）

大村和香子（森林研究・整備機構 森林総合研究所）

神原広平（森林研究・整備機構 森林総合研究所）



佐野敦子（（公財）日本住宅・木材技術センター）  
清水眞長（（一社）全国木材検査・研究協会）  
中井大二郎（兼松サステック株式会社）1月30日辞任  
五十嵐盟（兼松サステック株式会社）1月31日就任  
馬場庸介（住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社）  
宮内輝久（道総研林産試験場）

オブザーバー：横田俊峰

（独立行政法人農林水産消費安全技術センター：以下 FAMIC）

佐藤宏治（農林水産省）

事務局：鈴木昭（日本木材保存協会 事務局長）

山本幸一（日本木材保存協会 参与）

小林理恵（日本木材保存協会 経理事務担当）

#### 1.4 試験の概要

本事業を進めるため、公的研究機関・JAS 認定機関（外部委託機関を含む）、関係する当該製品の製造企業（4 社）の専門家によりコンソーシアムを立ち上げ、委員会活動を進めることとした。この委員会は、本事業開始に先立ち、日本木材保存協会独自の公益事業活動として平成 29 年 5 月 9 日に既に形成された「JAS 法改正に即した木材保存剤分析方法の規格化委員会」を引き継いだものである。

保存処理木製品の試験方法を JAS 化するためには、各種目製品の JAS において個別に規定されてきた試験方法を、各種目製品に対応した効率的かつ高精度な分析方法に統一する必要がある。その第一段階として、木材保存剤シプロコナゾールを取り上げ、その試験方法について、効率的かつ高精度な分析を実施するうえで障害となる可能性がある接着剤の影響を明らかにし、これらを解決するための「試験方法」の改良を行なった。試験方法の手順を手順書（プロトコル）として取り纏めた。更に、手順書に従っての共同試験の枠組みを確定し、第二段階で行う予定である予備試験、本試験に向けて、予備試験のための研修的な試験を数か所の試験機関にて行うことが出来た。

本事業で得られた成果は、次の事業に継続し、木材保存剤の試験方法の JAS 化に繋げることを計画している。

#### 1.5 事業の経過

事業の採択から、成果報告書の完成までを時系列で以下に示す。

平成 29 年 11 月 事業の採択の通知と事業規模（共同試験への参画機関数の増加の必要性に鑑みて）の変更

平成 30 年 1 月 4 日 事業の採択

事業が採択され、事業を進める為の委員会を正式に形成し、打ち合わせを開始しました。検討内容は、共同試験への参画機関数の拡大への対応、実施する分析に必要とする試験試料の種類、スケジュールなどであった。

平成 30 年 1 月 26 日 第 1 回委員会の為の事前打ち合わせ

宮内委員、大村委員は、独立行政法人農林水産消費安全技術センター規格検査部分析調査課を訪ね、浅野正博課長、横田俊峰氏（本事業オブザーバー）と面会し、分析方法の妥当性検証についての情報を得た。

平成 30 年 1 月 31 日 第 1 回委員会開催

三会堂 9F 第二会議室において、13：00～15：15 に開催した。出席者は、鮫島正浩委員長（東京大学教授）以下、委員として 赤堀裕一（大日本木材防腐株）、池田学（株）ザイエンス技術開発部）、榮澤純二（（公財）日本合板検査会）、大村和香子（森林研究・整備機構 森林総合研究所）、神原広平（森林研究・整備機構 森林総合研究所）、佐野敦子（（公財）日本住宅・木材技術センター）、清水眞長（（一社）全国木材検査・研究協会）、中井 大二郎（兼松サステック株式会社）⇒五十嵐氏に交代、馬場庸介（住化エンバイロメンタルサイエンス株式会社）⇒欠、宮内輝久（道総研林産試験場）、オブザーバーとして横田俊峰（独立行政法人農林水産消費安全技術センター）、佐藤宏治（農林水産省）⇒欠、事務局として鈴木昭（日本木材保存協会 事務局長）、山本幸一（日本木材保存協会 参与）であった。

配布資料は、資料 1) スケジュール、資料 2) 手順書例（温州ミカン）＋妥当性試験の報告（温州ミカン）、資料 3) 共同試験（FAMIC 版）、資料 4) 共同試験（木材保存剤暫定版）、資料 5) AOAC ガイダンス抜粋（食総研 HP）、資料 6) JAS 規格化の課題公募、資料 7) 報告書目次であった。

はじめに、鮫島委員長から「規格や木材保存剤の分析方法は、当協会の骨格をなすところであり、本事業の位置付けは非常に重要と認識している。委員長として、本事業の円滑な進行に努力したい」との挨拶があった。

続いて、宮内委員から手順書と共同試験についての概要説明が以下のようにされた。すなわち、「FAMIC 浅野課長から、分析方法の妥当性検証について食品等で実施されている AOAC のガイドラインについて、宮内・大村委員がレクチャーを受け、その際に入手した温州ミカンの手順書を参考に、シプロコナゾール分析方法を手順書として書き直す作業が必要であること、複数機関で分析するための配布試料は、予め均質化を確認しなければならないこと、工場製品から資料を得る場合、その均質化は極めて困難になること、実験室レベルでの添加回

収試験では、粉碎した無処理木材に木材保存剤を添加し、分析用試料とする事例が一般的であること」などが必要であることが指摘された。

その後、議事に入り、以下の論議がなされた。

- ・工場では濃度レベルを正確にした製品は製造できないことから、共同実験に使う分析試料には、工場で製造された保存処理木材を粉碎したものを調製し、これを均質化（混合）したものをを用いることにした。濃度レベルのコントロールは、薬剤が未浸潤の部位や無処理の材料から調製した木粉を混合することで調整することにした。なお、①高濃度レベルの調製、②工場製品の真値試料の調製については要検討とした。

- ・共同試験の項目は、分析試料数が膨大となることから、数を出来る限り絞る必要があることを確認した。そのため、LVLは1～2樹種（ラジアータパイン・スギ）、合板は3～4樹種（ベイマツ・スギ・カラマツ・アカマツ）とし、製材品については、今後の課題とした。

- ・濃度レベルは、製品のK3処理を行い、それを中心に据えて濃度を振ることとしたが、詳細は今後の課題とした。

- ・共同試験の検証を節目・節目で行う妥当性確認委員会は、新たに立ち上げるか、既存の委員会で代用できるか、要検討とした。当該委員会は、共同試験で重要な役目をすることから、事前に食品等の委員会メンバーからアドバイスを受ける事が試験の円滑な推進に必要であることを認識した。

- ・一般的な共同試験のスケジュールでは、10か月の必要期間が見込まれることから、本事業では、時間的に無理のない2019年春のJAS調査会を目標にすることにした。

- ・今後、国際規格との整合性なども検討しなければならないことが予想されるため、諸外国の規格、分析方法の妥当性検証の仕方についての精査が必要であることを認識した。

- ・2月15日提出の報告書では、共同試験の予備試験の事前研修的分析の結果を入れ込むことが必要であるため、参画機関の手間を考慮し簡易な配布試料とすることとした。委員会後に、宮内委員・大村委員・事務局が中心となって意見交換を行い、主査機関（林産試）が無処理のスギ・ヒノキ・カラマツ（2～3樹種）の合板から木粉を作り、溶媒抽出し有効成分（シプロコナゾール）を加えたものを配布試料として参画機関に配布。n=2～3とし、各機関では固相抽出を行い、機器分析を実施する事にした。

- ・第二回JAS規格化課題への応募（2018年3月31日締め切り）は、本事業で①手順書作成、②妥当性検証のための共同機関（8機関以上）の形成、③共同予備試験の準備的試験実施の3項目を進めたことを前提として、行うことにした。課題募集の内容としては、実験項目をメインには盛り込まず、「委員会活動」・「予

備試験の解析」・「海外状況の把握」といったソフト中心で応募することにした。

平成 30 年 2 月 6 日第 2 回委員会開催の打ち合わせ

事務局は、森林総研の大村委員・神原委員を訪ね、林産試験場の宮内委員とのメールを交え、開催の日時や議題について打ち合わせを行なった。種々の制限要因から、特別に第 2 回委員会の日程を組むことが不可能であり、2 月 15 日に事務局、大村委員、宮内委員で打ち合わせを行うことにした。

平成 29 年 2 月 15 日 第 2 回小委員会

事務局・宮内委員・大村委員により第 2 回小委員会を開催した。各参画機関による共同試験における予備試験に備え、研修的な試験の実施方法を確定した。

平成 30 年 2 月 14 日～16 日 国際規格化に必要な国際会議等で通用する専門人材育成研修

事務局山本が参加した。会場は、三菱総研会議室で、研修内容は、①講演：標準化のビジネス効果-工業製品と農業・食品との違い-（江藤学：一橋大）、②講演：ケーススタディ RSP0 認証の活動を通じた経験から（中西宣夫：サラヤ㈱）、③演習：食農分野の世界の規格の策定状況と規格策定のヒント（三菱総研）、④講演：ケーススタディ ISO/TC34（食品）/SC16（分子生物指標の分析に係る横断的手法）（中江裕樹：バイオチップコンソーシアム）、⑤講演：標準化と企業戦略-標準化を活用する企業関係者-（加藤幹夫：元㈱本田技研研究所）であった。

試験項目の規格化に於いての一般論的な注意点として、“全てを明らかに示してしまうと他者による技術開発が可能となってしまう”との話は印象的であった。薬剤分析の試験方法には、この観点からの注意は不要と思われるが、第 3 章に示したアメリカ木材保存協会（AWPA）規格では、重要と思われる個所を曖昧に記載している点があり、何かしらの関連を想起させた。学会で測定法が自然の流れで確定し、規格としてデファクト化する事も有ることから、木材保存剤の分析方法の試験方法の規格化においても、制定プロセスを含め、何らかの簡易化も有りうるのではと感じた。本研修会は、幅広い観点から、規格を捉えることを可能としたことから、参加には意義があった。

平成 30 年 2 月 15 日

様式第 6 号「事業助成金実施報告書」と関連の経理書類を三菱総研㈱社長に提出した。

## 第2章 薬剤の分析試験方法の改良と妥当性の検証

### 2.1 分析試験のための試験体の作成

合板・LVLとして、シプロコナゾールを有効成分として用いている保存剤により処理された製品は、木材樹種として、合板ではスギ・ヒノキ・カラマツ、ベイマツが、LVLではスギ・ヒノキ・カラマツが流通していることから、それぞれの工場に製品の手配を依頼した（図2-1-1）。得られた製品は、木材保存処理を行っている（㈱ザイエンス、兼松サステック㈱、大日本木材防腐(株)）に依頼して加圧注入処理を行った。

図2-1-1 合板およびLVLの試験体提供を依頼した企業

| 製造企業                 | 樹種と製品の種類   |
|----------------------|------------|
| 株式会社オロチ（鳥取県日野郡日南町）   | スギ、ヒノキ LVL |
| 株式会社キーテック（千葉県木更津市）   | カラマツ LVL   |
| 丸玉産業株式会社（北海道網走郡津別町）  | カラマツ 合板    |
| 新栄合板工業株式会社（熊本県水俣市）   | ヒノキ 合板     |
| 新潟合板振興株式会社（新潟県新潟市東区） | スギ 合板      |
| 株式会社日新（鳥取県境港市）       | ベイマツ 合板    |

試験体製品への加圧注入はK3レベルの注入量を目標として行う様に、各企業に依頼を行った。得られた製品試験体は、各工場から道総研林産試験場に送付され、共同試験の為に試料として調整し、共同試験を行う機関に配布した。

### 2.2 妥当性確認のための分析試験方法の共同試験の設計

#### 2.2.1 共同試験における試料・試験項目等の検討

シプロコナゾールの分析方法の共同試験の実施に当たってFAMICが示している共同試験概要に倣い、検討を行うこととした（表2-2-1）。妥当性確認のための分析試験方法の共同試験には、最短で10か月を要するため、期間が限られる本事業では、予備試験の準備までを行うこととした。すなわち、手順書の作成、共同試験への参画機関の確定、1試験室での試験方法の最適化の検証、及び予備試験に備えての研修的な試験の実施の内容である。

表 2-2-1 妥当性試験のための共同試験概要

| 妥当性試験のための共同試験概要 |                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 実施項目及び必要期間      | 実施内容                                                                                                                                                                                              |
| 実施項目の選定         | ・検討する試験方法、対象範囲、対象濃度の決定                                                                                                                                                                            |
| 準備期間<br>1ヶ月     |                                                                                                                                                                                                   |
| 予備検討<br>2ヶ月     | <ul style="list-style-type: none"> <li>・大まかな手順書(プロトコル)と実験計画の作成</li> <li>・一試験所で手順書に基づき実際の分析を実施</li> <li>・本試験を円滑に行うため複数機関での実施が望ましい</li> <li>・試料の作成は2~3マテリアル</li> <li>・予備試験試料の均質性の確認試験が必要</li> </ul> |
| 予備試験の準備         |                                                                                                                                                                                                   |
| 予備試験の実施         |                                                                                                                                                                                                   |
| 予備試験結果の解析       |                                                                                                                                                                                                   |
| 妥当性確認委員会での検討    | ・予備試験結果、手順書、本試験計画について検討される                                                                                                                                                                        |
| 本試験の準備<br>1.5ヶ月 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・本試験試料の作成(5マテリアル以上)</li> <li>・本試験試料の均質性試験(20回繰り返し例:分析用試料10個、併行分析用2個)</li> <li>・共同試験(8試験室以上、10以上が望ましい)</li> </ul>                                           |
| 本試験<br>1~2ヶ月    |                                                                                                                                                                                                   |
| 本試験結果の解析<br>1ヶ月 | ・外れ値検定、HorRat及び拡張不確かさ算出                                                                                                                                                                           |
| 妥当性確認委員会での評価    | ・試験方法の妥当性を評価                                                                                                                                                                                      |

妥当性確認とは、1) 信頼できる結果を得るための手順の能力を評価、2) 信頼できる結果を得ることができる状況を決定、3) 手順の限界を定義するために必要な情報を得るプロセスと言える。妥当性確認の構成は、「事前確認事項」、「予備試験」、「試験室間共同試験：本試験」の3つに分けて考えられるが、本事業では、主として「事前確認事項：予備試験の準備まで」について検討を進めた。

第1回委員会では、複数機関で分析するための配布試料は、予め均質化を確認しなければならないこと、工場製品（実大の注入装置で製品を製造しその一部を試験用試料とする）から試料を得る場合は、その均質化は極めて困難になること、実験室レベルでの添加回収試験では、粉碎した無処理木材に木材保存剤を一定量添加し、分析用試料とする事例が一般的なこと、を共通認識として検討を進めた。

その結果、実際の製品から試料を得ることの説得性を重視することとなった。共同実験に使う分析試料には、工場で製造された保存処理木材を粉碎し、これを均質化（混合）したものを用いることとした。工場では濃度レベルを正確にした製品は製造できないことが判明したことから、濃度レベルのコントロールは、薬剤が未浸潤の部位や無処理の材料から調製した木粉と高濃度の部位からの試料を混合することで調整することとした。より①高濃度レベル(以下に示す K4)の試験体・試料の調製については要検討とした。更に、②工場製品の真

値試料の調製についても要検討とした。

表 2-2-2 共同試験における配布試料調製の検討事項

|         | 項 目         | 共同試験における留意点・検討事項                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | AOAC等の要求事項                                                                          |
|---------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 配布試料の調製 | 材料の製造方法等    | <ul style="list-style-type: none"> <li>・実験室レベルの検討と共同試験に用いる材料は同じ調整法であることが望ましい（実験室は木粉添加、共同試験は工場製品は不適だが、材料として同等であることを示せれば可。）。</li> <li>・必要な場合は木粉添加は均質化しやすく（図1）、回収率の評価に適している（真値に近い値がわかる）。大量の調製に不向き？</li> <li>・工場生産品はどの段階で配布試料にするかで均質化のしやすさが変わる（図2、粉碎後であれば可能←納得してもらうデータが必要？）</li> <li>・工場生産で、狙った濃度レベルをどれほど反映できるか？樹種が異なっても、差が出ない処理は可能か？<br/>⇒実際のところ、難しいと予想され、樹種、基材種の違いにより吸収量（測定値）に差が生じることを説明できるデータを準備する必要あり。樹種による差が出ることの説明に、回収率は同等である実験結果が必要となる可能性がある。</li> </ul> |                                                                                     |
|         | 配布試料の均質性の評価 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・配布用に調製した（2回並行分析を実施するのに必要な量に小分け後した）ものの中からランダムに10個選り、並行2回分析で均質性を評価する（一試験室で実施）</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>・均質性の評価は、外れ値を除いた後、分散分析によるF検定により判定</li> </ul> |

表 2-2-3 共同試験における試験実施項目の検討事項

|         | 項 目      | 共同試験における留意点・検討事項                                                                                                                                                                                                                                                                     | AOAC等の要求事項                                                                                                                      |
|---------|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 実施項目の選定 | 検討する試験方法 | <ul style="list-style-type: none"> <li>・吸収量分析に係る木材保存剤の有効成分の定量分析方法</li> <li>・参加試験室数12室（予定）</li> <li>・各試験室の技能レベルは同意書によって保証</li> </ul>                                                                                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>・外れ値検定後の有効試験室の数が8以上（必要な設備、機器を所有している試験所が限定される場合は5以上）</li> </ul>                           |
|         | 対象範囲     | <ul style="list-style-type: none"> <li>・各木質材料（今回は合板とLVL）のうち、現在流通している樹種を選択（製材も必要？）</li> <li>・樹種×木質材料種×濃度＝材料数</li> <li>・濃度非明示の材料→併行回数2</li> <li>樹種×木質材料種×濃度×2（併行回数）＝分析試料数</li> <li>・例えば、樹種を減らして材料数（マトリクス数）を減らすには、マトリクスが変わっても回収率が同等であることを示すデータが求められる。</li> </ul>                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>・分析法の適用範囲と考えているマトリクス（基材種）を代表する材料数が5以上</li> <li>・各試験所の併行回数は2回（並行標準偏差Srを求めるため）。</li> </ul> |
|         | 対象濃度     | <ul style="list-style-type: none"> <li>・JASの性能区分のうち対象となるレベルとその範囲を包含するレベル（一致するレベルと、それよりも高いレベル、低いレベルの3点が必要になることが想定される）。</li> <li>・LVL、合板のJASではK3の吸収量基準のみなので、K3、それよりもやや高い、低い3レベルを想定。</li> <li>・可能であれば、K3よりもやや高い、低い2レベルでの実施の可能性を模索（濃度レベルによって、回収率に差がないことを検証するデータを求められる可能性がある）。</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・基準値があれば、基準値と同じレベルとそれよりも高いレベルと低いレベルの設定が必要。</li> <li>・食品の場合濃度レベル5で実施。</li> </ul>          |

共同試験の試験実施項目は、分析試料数が膨大となることから、出来るだけ絞る必要がある。単板積層材(LVL: Laminated Veneer Lumber 以下 LVL と略)は1~2 樹種 (ラジアータパイン・スギ)、合板は3~4 樹種 (ベイマツ・スギ・カラマツ・アカマツ) を選定することとした。一方、時間的制約から製材品については今後の検討課題とした。その理由は、木材保存剤の分析試験方法を一元化して JAS 規格化する場合は、主要な木材製品である製材品についての試験データも、後々には必要となる事も想定されるためである。

濃度レベルに関しては、基本的には製品の大半を占める K3 処理を行い、K3 よりも高レベル・低レベルを含む3レベルが必要となれば、説明が可能な手段(K2、K4 の製品を工場で製造することは現実的ではないことから) で濃度を振ることとしたが、詳細はこれから詰めることとした。

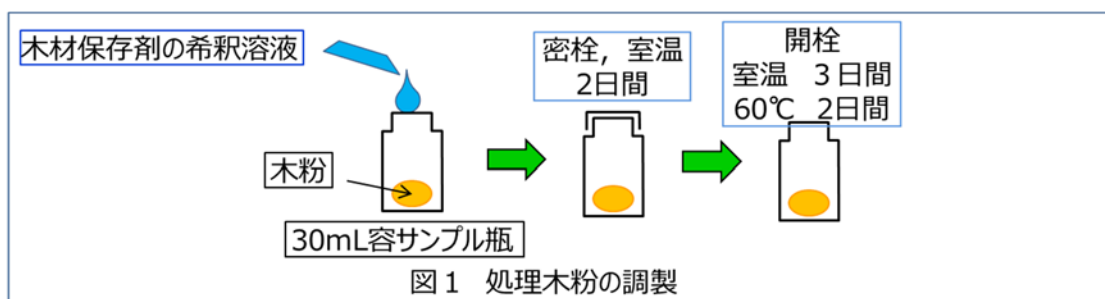


図 2-2-1 木粉に木材保存剤を添加する試料調製方法

木粉（辺材、或は心材、或は辺材・心材が混合の3タイプが考えられるが辺材・心材の混合が現実的である）に、所定量の木材保存剤を添加する試料調製方法は、真値が明確であることから、一般的に重要な試験法として認知されている。

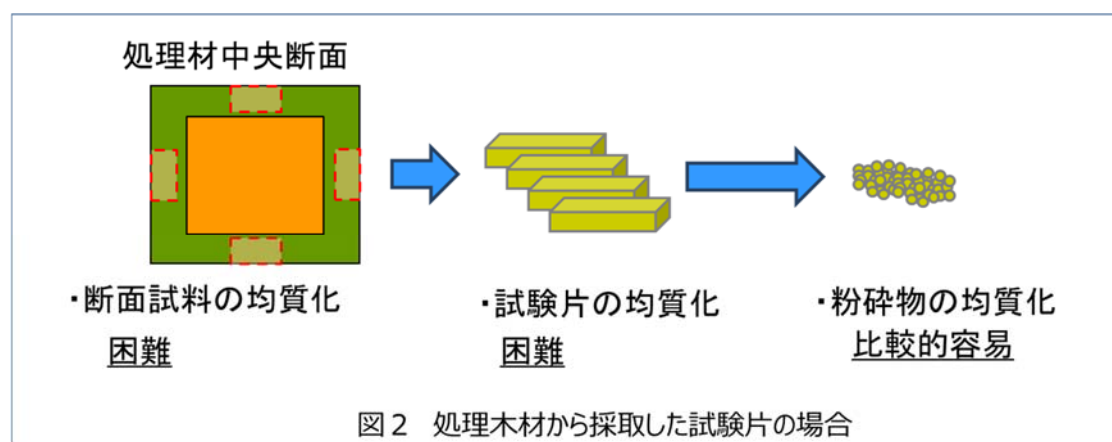


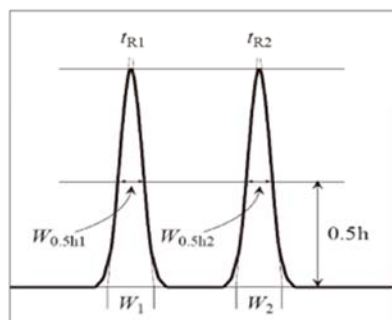
図 2-2-2 JAS 規格に定められた方法で工場製品から行う試料調製方法



分離度 ( $R$ )  $\geq 1.5$

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)} \quad \dots (1)$$

$$R = 1.18 \times \left( \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}} \right) \quad \dots (2)$$

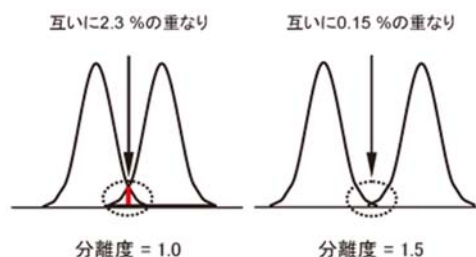


$t_{R1}, t_{R2}$  : 各ピークの保持時間 ( $t_{R1} \leq t_{R2}$ )  
 $W_{0.5h1}, W_{0.5h2}$  : 各ピークの半値幅  
 $W_1, W_2$  : 各ピークのピーク幅

分離度 ( $R$ ) : 2つのピークの保持時間の差をピーク幅の平均値で割ったもの (1式)。

ガウス分布ピークでは、ピーク幅  $W = 4\sigma$  ( $\sigma$  : 標準偏差)、ピーク半値幅  $W_{0.5h} = 2.354\sigma$  だから (1) 式より (2) 式が導ける。

日本薬局方およびJIS 高速液体クロマトグラフィー通則では、分離度は (2) 式で定義。



シプロコナゾールについては固相抽出を実施すれば可能 (要ODSカラム統一)

図 2-2-3 共同試験で要求される分離度について

## 試験室間共同試験での確認事項

### 事前確認事項

- A. 分析する木材と木材保存剤の情報
  - a. 木材樹種の特徴の確認
  - b. 木材製品の種類の確認
  - c. 木材保存剤の情報
- B. 製品における確認事項
- G. 査読と論文発表の必要性

査読を経て論文発表されていることや技術を発表した論文が複数引用されていることによって、専門家から技術的な信頼性が高いことを認められていることになる。そのことから、事業成果は、国内外の木材保存関連の学術誌に意識的に公表して行く必要がある。

### 試験室間共同試験 (再現性の確認)

- A. 再現性を確認する項目

### 予備試験における確認事項

- A. 試験室間共同試験の作業行程の確認
- B. 反復分析

## C. 結果判定能力の確認

### ガイドライン作成段階における検討事項

#### 試験室数の考え方

試験室間共同試験に参加する試験室数は、統計学的には 10 試験室以上であることが望ましいとされているが、共同試験に参加する試験室を確保することが容易ではないと考えられる場合は、柔軟に設定することは可能であると言われていいる。AOAC のガイドライン等の食品分析における化学分析法の妥当性確認では、Internal Validation に相当する作業は検証 (method verification) といい、妥当性確認とは区別している。

#### 分析法の妥当性確認に関する AOAC のガイダンス

(食品総合研究所 HP :

<http://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/yakudachi/datosei/collabo-guideline.htm> より)

#### AOAC とは

AOAC ( Association of Official Analytical Chemists の略) は、米国の民間機関で、分析科学分野で分析法のバリデーション、分析の実務、精度管理等に携わる官民の専門家や組織から構成されている。設立は 1884 年、米国内の肥料検査法統一化組織に遡り、1965 年の AOAC と改称し分野を拡大した。約 90 ヶ国に 3,000 名強の会員で形成されている。AOAC の公認法である Official Methods of Analysis; OMA は、バリデーションの方法自体が、公正・ユニークで信頼度が高いと謳っている。年次総会を開催し、各種分析法の研究発表とシンポジウム、研修会、展示会を行なっている。また、「試験室の信頼性保証」、「ISO 17025 による試験室のマネジメント」、「統計学的手法」、「試験室内での分析法バリデーション」などの研修会を開催している。

#### <AOAC ガイドラインの目次>

### 共同試験の設計に関する AOAC の推奨事項

#### 定量分析の場合の最低必要条件

|      |                                                                           |
|------|---------------------------------------------------------------------------|
| 材料数  | 5 材料以上                                                                    |
|      | 3 材料以上 (単一マトリックスの一つの濃度のみ試験する場合)<br>注) マトリックスとは分析対象成分と共存する他の成分             |
| 試験室数 | 8 以上 (このガイドラインで定めた統計的外れ値検出手順に従った結果、有効なデータと判定された試験室数)                      |
|      | 5 以上 (非常に高額な装置を使用するとか専門の試験室が対象など特別な場合)<br>注) 試験室が減少するほど得られる統計量の信頼区間は広くなる。 |

|      |                                                                  |
|------|------------------------------------------------------------------|
| 反復数  | 1 回（試験室内の併行精度、repeatability が必要ない場合）                             |
|      | 2 回（試験室内の併行精度が必要な場合、非明示の同一試料または Youden ペアの試料によって反復は実施すべきと判断される。） |
| 試験室数 | 10 以上                                                            |
| 試料   | 1 マトリックス当たり 2 濃度、1 濃度当たり 6 試料、<br>1 マトリックス当たり陰性コントロール 6 個        |

## 1. 共同試験を始める前の準備

### 1.1 試験の目的および適用範囲の決定

- ・分析方法を最適化しておかないと共同試験を実施できない。

### 1.2 新規または既存の分析法の最適化

### 1.3 最適化された分析法の単一試験室での検証

- ・単一試験室において測定法の最適化、頑健性、干渉要因に関してできるだけ多くの実験を行う。

- ・同一試料を異なる日に、日毎に検量線を作成し、日毎にオペレータを変えて分析すると、実際の分析時に起きえる分析値の変動に関する多くの情報が得られる。

### 1.4 分析法のプロトコル（手順書）作成

- ・プロトコルは、全試験室が同一条件の分析が実施できるようにステップ毎に分けて明確に記述する。
- ・時間と試料量に余裕があれば 3 試験室で予備試験を実施する。

### 1.5 参加試験室の募集

- ・同じ組織内の異なる試験室において、各々が分析機器、試薬などを所有して独立に運営されているならば、別々の試験室として参加できる。
- ・必要ならば実際の試料を送付する前に、練習用試料をプロトコルと一緒に送付して分析法に習熟してもらう。
- ・プロトコルにはできる限り忠実に従ってもらう。
- ・プロトコルからの逸脱点はどんなに些細な点についても全て報告してもらう。
- ・検量線データを分析データとともに参加試験室に提出してもらう。

### 1.6 試験の説明書および報告様式

- ・参加試験室の分析値を用いて報告のための最終的な平均値および標準偏差を計算するときは、計算途中で四捨五入、切り上げ切り下げのような丸めを行わず、計算機またはコンピュータで直接計算する。
- ・得られた標準偏差の有効数字は 2 桁にする。

### 1.7 練習試料

2. 共同試験の設計
  - 2.1 一般原則
  - 2.2 試験室
  - 2.3 試験材料
  - 2.4 反復
  - 2.5 その他の設計上の注意
3. 共同試験のための材料の準備
  - 3.1 一般原則
  - 3.2 共同試験に適した材料
  - 3.3 ブランク試料
  - 3.4 検出限界および定量限界
  - 3.5 コントロール試料
4. 試料の配付
  - 4.1 共同試験試料の送付
  - 4.2 参加試験室の義務
5. 統計解析
  - 5.1 データのチェック

材料毎に分析値のグラフを作成してデータをチェックする。

#### 5.2 外れ値

- ・外れ値検定で残った valid data のみを統計解析に用いる。
- ・プロトコルに従わなかったなど明らかな棄却理由がない場合に、参加試験室の 2/9 を超えた棄却は通常棄却しすぎと考えられる。試験室数が多い共同試験の場合には棄却率上限の 2/9 はもっと低い方が適している。
- ・最終的にある値を外れ値として除くべきかどうかの決定は統計的に決める性質のものではない。共同試験責任者が、外れ値検定により示された外れ値である確率および関連情報に基づいて判断しなければならない。ただし、外れ値について独自の判断をしたとしても、他の共同試験結果との調和を保つために、ここでの外れ値検出手順に従った結果は報告すべきである。

#### 5.3 個々の結果のバイアス

#### 5.4 精度

#### 5.5 HORRAT

- ・HORRAT は共同試験で得られた化学分析値の室間再現相対標準偏差 (Relative reproducibility Standard Deviation) (RDSR, %) の値が、過去の化学分析の共同試験結果を Horwitz 博士らが解析して得られた室間再現相対標準偏差の経験則の値 (Predicted Relative reproducibility Standard Deviation) (PRSDR, %) と比べてどの程度かを比率で示している。AOAC のガイドラインでは、 $0.5 \leq$

HORRAT  $\leq 2.0$  を許容範囲にしており、共同試験で得られた室間再現相対標準偏差が、過去の実験に基づく室間再現相対標準偏差の予測値に比べて小さすぎても大きすぎても何か実験に問題がないか検討した方が良いことを意味している。

#### 5.6 不正解の値 (False Positive and False Negative Values)

#### 5.7 最終報告書

- ・用いた材料および材料調製に関する情報
  - ・全ての有効データおよび外れ値（外れ値検定で除外された値）を含む表
  - ・反復分析した場合は、平均値ではなく反復毎のデータを表に記載する。
- ただし、微生物の分析法のように平均値を用いると決まっている分析法は除く。
- ・試料の変質、プロトコルからの逸脱、汚染など明らかな理由で異常値と判断したデータは表に記載しない。

- ・謝辞への記載の同意が得られたら参加者の氏名および所属先

- 1) 材料（濃度の昇順に記載）
- 2) 外れ値検定の後に残った試験室数
- 3) 外れ値検定で除外された試験室数
- 4) 平均値（単位）
- 5) 既知ならば真値または設定値
- 6) 併行標準偏差 (repeatability standard deviation, sr)
- 7) 併行相対標準偏差 (RSDr)
- 8) 併行許容差 ( $r=2.8sr$ )
- 9) sr が有効でないときのオプション：総室内標準偏差 (se)
- 10) 室間再現標準偏差 (sR)
- 11) 室間再現相対標準偏差 (RSDR)
- 12) HORRAT（化学分析値の場合）
- 13) 室間再現許容差 ( $R=2.8sR$ )
- 14) 報告可能なら回収率 (% Rec)

## 2.3 分析試験方法の手順書の作成

### 1.1.1 適用範囲

この手順書は、木材・木質材料に加圧注入された木材保存剤の有効成分のうちシプロコナゾールに適用する。

### 1.1.2 測定方法の概要

粉碎した試料にメタノールを加えて抽出し、抽出物を固相抽出により精製する。精製後の抽出物を紫外可視吸光光度検出器付の高速液体クロマトグラフ（以下、「HPLC」という。）を用いて分析し、シプロコナゾールの含有量を測定する。

### 1. 1. 3 注意事項

- (a) 試薬を取り扱う際には、適切な個人用保護具（保護手袋、保護メガネ、有機ガス用マスク、保護面等）を着用し、操作はよく換気された場所で行う。
- (b) メタノール、アセトニトリルは、引火性が高いため、火気に注意する。
- (c) メタノール、アセトニトリルは環境有害性があるため、屋外に放出しない。
- (d) アンモニア水が皮膚に付着した場合は、直ちに多量の水で洗い流す。
- (e) 測定により生じる廃液は、法令の規定に基づき適切に処分する。

### 1. 1. 4 器具及び装置

試験に用いる器具及び装置は、次のとおりとする。

#### 1. 1. 4. 1 器具

- (a) 全量ピペット：JIS R 3505 に規定するクラス A のものまたはそれと同等以上の精度を持つもので、呼び容量、1mL、2mL、3mL、20mL のもの。上端にピペッターを取り付けて使用する。
- (b) メスピペット：JIS R 3505 に規定する呼び容量 5 mL のもので、体積の許容誤差の区分がクラス A のもの又はこれと同等のもの。
- (c) パスツールピペット：長さが 15 cm 程度のもの。
- (d) ピペット吸引器具：前述の全量ピペット、メスピペット及びパスツールピペットに接続可能なもの。
- (e) 全量フラスコ：JIS R 3505 に規定する呼び容量 25 mL 及び 50 mL のもので、体積の許容誤差の区分がクラス A のもの又はこれと同等のもの。
- (f) メスシリンダー：JIS R 3505 に規定する呼び容量 5、20 mL、100 mL、200 mL、250 mL 及び 1 L のもので、体積の許容誤差の区分がクラス A のもの又はこれと同等のもの。
- (g) ねじ口瓶：容量 100 mL、500 mL 及び 1 L のもの。または同等の保存容器。
- (h) 薬包紙：パラフィン製のもの。
- (i) 薬さじ：使用に適した大きさで、清浄な薬さじ又はスパチュラ。
- (j) 電子微量天びん用秤量容器
- (k) 温度計：30 °Cを測定範囲に含むもの。
- (l) タイマー：抽出時間（のべ 2 時間）を計測することができるもの。
- (m) ねじ口サンプル瓶：ガラス製で超音波抽出時の圧力に耐性のあるもので、キャップはメタノールに対する耐性のある素材であるもので、容量 20mL および 30mL のもの。
- (n) 試験管：ガラス製、ポリプロピレン又はメタノール、アセトニトリルに耐性のある樹脂製で、容量 5mL のもの。
- (o) メンブランフィルター：フィルター材質が親水性 PTFE で、孔径が 0.45  $\mu$

- m で、吸引ろ過可能なガラス製のハウジングに装着できるもの。(例：ADVANTEC 製 DISMIC13-HP 。型番 13HP045AN)
- (p) カートリッジ式メンブレンフィルター：フィルター材質が親水性 PTFE で、孔径が  $0.45\ \mu\text{m}$  でシリンジが装着可能なもの。(例：ADVANTEC 製 DISMIC13-HP 。型番 13HP045AN)
- (q) ガラス繊維ろ紙：保持粒子径（JIS Z 8901 で規定された 7 種粉体分散水をろ過した時、90%以上を保持できる粒子径）が  $0.8\mu\text{m}$  以下であり、直径 24～25、厚さ 0.7～0.8 mm のもの。
- (r) ディスポーザブルシリンジ：ポリプロピレン又はメタノールおよびアセトニトリルに耐性のある樹脂製で、カートリッジ式メンブレンフィルターが装着可能で容量 5 mL のもの及び (q) のガラス繊維ろ紙がシリンジ底部に固定可能で容量 30mL のもの。
- (s) ピストン式ピペット：JIS K 0970 又は ISO 8655-2:2002 に規定される性能を満たすもので容量が 200  $\mu\text{L}$  及び 1000  $\mu\text{L}$  のもの。
- (t) ピペットチップ：上記に対応するもの。
- (u) 不活性処理済バイアル：使用する HPLC に適合したもので、透明または褐色ガラス製で容量が 2 mL のもの。
- (v) バイアルの蓋：PTFE 製又は PTFE でコーティングされたセプタム付きで、上記バイアルに対応するもの。必要があれば、プレスリットの入ったセプタム付のもの。

#### 1. 1. 4. 2 装置

- (a) 高速液体クロマトグラフ (HPLC)：JIS K 0124 に規定するもので、2 液混合グラジエントが可能な送液ポンプ、オンライン脱気装置、カラムオーブン、UV 検出器（若しくは PDA 検出器）、データ処理システムを備えたもの。
- (b) 高速液体クロマトグラフ用カラム：C18 逆相カラム（内径 4.6 mm× 長さ 150 mm、粒子径  $3\ \mu\text{m}$ ）で、シプロコナゾールと試料由来のマトリクス成分が十分に分離される性能を有していること（例えば、GL サイエンス社製 Inertsil ODS-3）
- (c) ガードカラム：使用する場合は上記に対応するもの。
- (d) 電子天びん：最小表示桁数が 0.1 mg のものでひょう量（正しく測定できる最大許容質量）が 200 g より大きいもの又はこれと同等以上のもの。
- (e) 電子微量天びん：最小表示桁数が 0.001 mg のもの。
- (f) 恒温水槽：30  $^{\circ}\text{C}$  程度の温度に調節できるもの。
- (g) 減圧濃縮器：メタノール等の溶媒を減圧流去できるロータリーエバポレーターまたは 5mL の試験管がセットできる遠心エバポレーターまたは 5mL の試験管がセットできる窒素吹付式濃縮装置。

- (g) 試験管ミキサー：同等の機能を有するものでも可。
- (h) 超音波洗浄機：ねじ口サンプル瓶が入る大きさのもの。

#### 1. 1. 5 水及び試薬

- (a) シプロコナゾール：異性体混合物でシプロコナゾール純度 99 %以上 (HPLC) のもの。
- (b) 水：JIS K 0557 に規定する A3 以上の品質を有するもの。
- (c) リン酸：JIS K 9005 に規定する濃度 85 %で、特級又は同等以上の品質のもの。
- (d) リン酸ナトリウム二水和物：K 9009 に規定する純度 99%以上のもの。
- (e) アンモニア水：JIS K 8050 に規定する純度 25%で、特級又は同等以上の品質のもの。
- (f) 1 N アンモニア水：JIS K 8050 に規定する純度 25%のアンモニア水を希釈し 1mol/L に調製したもので、特級又は同等以上の品質のもの。
- (g) メタノール：高速液体クロマトグラフ用。
- (h) アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用。

#### 1. 1. 6 試薬の調製

##### 1. 1. 6. 1 メタノール-アンモニア混液 A

- (a) 100mL のメスシリンダーに 1 N アンモニア水を 80mL 量り取り, 500mL のねじ口瓶に移すに。
- (b) 50mL メスシリンダーにメタノール 20mL を量り取り, (a) のねじ口瓶に移す。
- (c) (b) のねじ口瓶に蓋をして、転倒混和等により均一な溶液にする。

##### 1. 1. 6. 2 メタノール-アンモニア混液 B

- (a) 100mL のメスシリンダーにメタノールを 100mL 量り取り, 200mL のねじ口瓶に移すに。
- (b) 5mL メスシリンダーにアンモニア水を 1mL 量り取り, (a) のねじ口瓶に移す。
- (c) (b) のねじ口瓶に蓋をして、均一な溶液にする。

##### 1. 1. 6. 3 移動相

- (a) リン酸水素ナトリウム二水和物 7. 8g を 1L の全量フラスコに移す。
- (b) リン酸を 5mL のメスシリンダーで 3. 4mL 量り取り, (a) の全量フラスコに移す。
- (c) (b) の全量フラスコに水を加え定容した後、よく振り混ぜてりん酸水素ナトリウム二水和物を溶解する。
- (d) 1000mL のメスシリンダーにアセトニトリルを 600mL 量り取り, 1000mL のねじ口瓶に移す。
- (e) 100mL のメスシリンダーに水を 100mL 量り取り, (d) のねじ口瓶に移す。
- (f) 500mL のメスシリンダーに, (c) で調製した溶液を 400mL 量り取り, (e)



のねじ口瓶に移す。

- (g) (f) のねじ口瓶に蓋をして、均一な溶液にする。この溶液の一部または全部をメンブレンフィルターでろ過し、ろ液をねじ口瓶に移し蓋をして、冷暗所で保管する。

#### 1. 1. 7HPLC 用標準溶液の調製

##### 1. 1. 7. 1 100 $\mu$ g/mL 標準原液

- (a) 分析用電子天秤の上にパラフィン紙を置き、風袋引きした後、薬さじでシプロコナゾール 10mg を量り取り、0. 01mg の桁まで秤量し、その値を記録する。
- (b) 採取した試薬を 100mL の全量フラスコに移した後、パラフィン紙を電子天秤の上に置き、0. 01mg の桁まで秤量し、その値を記録する。(a) で秤量した値から、その値をひいたものを秤量した試薬の質量とする。
- (c) 移動相 80mL を (b) の 100mL の全量フラスコに入れ定容した後、よく混ぜてシプロコナゾールを溶解する。シプロコナゾールが溶けにくい場合は水を入れた超音波洗浄器内に全量フラスコを浸けて超音波を発生させ、溶解する。
- (d) (c) で調製した溶液の一部または全部を不活性処理済みのねじ口容器に移し、蓋をした後、5℃以下で保管する。
- (e) 使用前に保管庫から取り出し、室温で 120 分以上静置して、よく混和する。

##### 1. 1. 7. 2 50 $\mu$ g/mL 標準溶液

シプロコナゾール標準原液 (50  $\mu$ g/mL) 500  $\mu$ L を 1000  $\mu$ L ピストン式ピペットで採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、移動相を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 500  $\mu$ L 採り、5 mL 試験管等の容器に入れ、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。得られた溶液の一部、または全部をカートリッジ式メンブレンフィルターが装着された 5 mL ディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を不活性処理済バイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

##### 1. 1. 7. 3 25 $\mu$ g/mL 標準溶液

シプロコナゾール標準原液 (50 $\mu$ g/mL) 250 $\mu$ L を 1000 $\mu$ L ピストン式ピペットで採り、5mL 試験管等の容器に入れる。次に、移動相を 1000 $\mu$ L のピストン式ピペットで 750 $\mu$ L 採り、5mL 試験管等の容器に入れ、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。得られた溶液の一部、または全部をカートリッジ式メンブレンフィルターが装着された 5mL ディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を不活性処理済バイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

##### 1. 1. 7. 4 10 $\mu$ g/mL 標準溶液

シプロコナゾール標準原液 (50  $\mu$ g/mL) 100  $\mu$ L を 200  $\mu$ L ピストン式ピペットで採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、移動相を 1000  $\mu$ L のピストン式ピ

ペットで 800  $\mu$ L 採り、5mL 試験管等の容器に入れ、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。得られた溶液の一部、または全部をカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 5mL ディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を不活性処理済バイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5°C以下の冷蔵庫で保存する。

#### 1. 1. 7. 5 5 $\mu$ g/mL 標準溶液

100  $\mu$ g/mL 標準原液を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 1000  $\mu$ L 採り、10 mL の全量フラスコに入れ、移動相を加えて定容した後よく混ぜる。この溶液を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 500  $\mu$ L 採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、移動相を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 500  $\mu$ L 採り、5 mL 試験管等の容器に入れ、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。得られた溶液の一部、または全部をカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 5 mL ディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を不活性処理済バイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5°C以下の冷蔵庫で保存する。

#### 1. 1. 7. 5 2. 5 $\mu$ g/mL 標準溶液

100  $\mu$ g/mL 標準原液を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 1000  $\mu$ L 採り、10 mL の全量フラスコに入れ、移動相を加えて定容した後よく混ぜる。この溶液を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 250  $\mu$ L 採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、移動相を 1000  $\mu$ L のピストン式ピペットで 750  $\mu$ L 採り、5mL 試験管等の容器に入れ、ボルテックスミキサーでよく攪拌する。得られた溶液の一部、または全部をカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 5 mL ディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を不活性処理済バイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5°C以下の冷蔵庫で保存する。

### 1. 1. 8 試料溶液の調製

#### 1. 1. 8. 1 抽出

- (a) 木材試料 1 g をスクリーキャップにより密栓できる 30 mL 容のサンプル瓶に 0.1 mg の桁まで量り取り、メタノールを 20 mL の全量ピペット等で正確に量り採り加える。
- (b) スクリーキャップをした後、サンプル瓶の重さを量り記録する。
- (c) サンプル瓶を水の入った超音波洗浄機に浸け、超音波を発生させた状態をのべ 2 時間継続することで抽出を行う。この際、水温が 40 度を超えないように管理する（例えば、30 または 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど）。また、抽出中 2～3 回、サンプル瓶を激しく振り混ぜる。
- (d) 抽出後、サンプル瓶を取り出し、表面についた水をふきとった後、サンプル瓶の重さを測り記録する。(c) の記録と比較し抽出前後の変化を確認する
- (e) 測定後、サンプル瓶を一回激しく振り、5 分間静置する。

(f) 静置後、サンプル瓶内の溶液の一部、または全部をφ25 mmのカートリッジメンブレンフィルターまたはガラス繊維ろ紙が取り付けられた30 mLのディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を20 または30 mL 容のサンプル瓶に受け、これを抽出溶液とする。

#### 1. 1. 8. 2 固相抽出（固体抽出カートリッジの製品名）

(a) 固相抽出カートリッジに2 mL のメタノール、2 mL の蒸留水を通液（流速、2 mL/min 程度）する。

(b) 1 mL の抽出溶液を1 mL のメスピペットまたはピストン式ピペットを用いて採り、(a) の固相抽出カートリッジにロードする（流速、2 mL/min 以下）。

(c) 3 mL のメタノールをメスピペットまたはピストン式ピペットを用いて量り採り、(b) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 程度）。

(d) 2 mL のメタノール-アンモニア水混液 A をメスピペットまたはピストン式ピペットを用いて量り採り、(c) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 程度）。

(e) 3 mL のメタノール-アンモニア水混液 B をメスピペットまたはピストン式ピペットを用いて量り採り、(c) の固相抽出カートリッジに通液し、カートリッジからの溶出液を5 mL の試験管に回収する。5 mL のプラスチックシリンジ等を用い、固相抽出カートリッジ内の担体に残留するメタノール-アンモニア水混液 B を可能な限り回収する。

(f) (e) で回収した溶液を減圧濃縮乾固する。

#### 1. 1. 8. 3HPLC 注入用試料溶液の調製

(a) 1 mL の移動相をメスピペットまたはピストン式ピペットを用いて採り、減圧濃縮乾固物の再を解する。不溶物がある場合は、超音波洗浄器を用いて10 秒間程度超音波をかけて溶解させる。

(b) (a) の溶液の一部または全部をカートリッジ式メンブレンフィルターが装着されたシリンジでろ過し、不活性処理済バイアルに入れる。これを HPLC 注入用試料溶液とする。

HPLC 注入用試料溶液は原則として、調製した当日に HPLC による測定を行う。当日に測定を行うことができない場合は、5℃以下で保存し、3 日以内に HPLC による測定を行う。保存した HPLC 注入用試料溶液は、測定日に室温に戻し、転倒混和等によって混合する。

#### 1. 1. 9 高速液体クロマトグラフ（HPLC）による測定

##### 1. 1. 9. 1 測定条件の設定

HPLC の取扱説明書に従い、以下の測定条件を設定する。

##### 測定条件

(a) カラム（HPLC 用）：2. 3. 4. 2 において指定したもの(13)

- (b) 保護カラム (HPLC 用) : 2.3.4.2 において指定したもの
- (c) 移動相 : 2.3.6.3 において指定したもの
- (d) カラム温度 : 40 °C
- (e) 測定波長 : 221 nm
- (f) 流量 : 0.5 mL/min
- (g) 注入量 : 10 µL

\* 冷却機能を持つ自動試料導入装置を使用する場合、設定温度は 20°C とする。

#### 1.1.9.2 HPLC の性能確認

測定は、以下の項目について確認した後に行う。

##### (a) ベースラインの安定性

設定した測定条件で作動させたとき、ベースラインの変動が測定に支障がないことを確認する。

##### (b) 定量限界

2.5 µg/mL 標準溶液を測定したとき、シプロコナゾールのシグナルが、ノイズの 10 倍以上であることを確認する。

ノイズ : ピークの前後におけるベースラインの、ピーク半値幅の 20 倍の間における出力信号の最大値と最小値の差の振れ幅の 1/2 をノイズとする。

シグナル : ノイズの最大値と最小値との中間をベースラインとし、ベースラインからピークトップまでの高さをシグナルとする。JIS K 0124 を参照

#### 1.1.9.3 測定

##### (a) HPLC 用標準溶液の測定

標準溶液 (2.5, 5, 10, 25, 50 µg/mL) を HPLC により測定する。得られたクロマトグラムについて、データ処理装置により積分を行う。データ処理装置の自動積分機能等によりピーク面積を求める場合は、濃度等によりベースラインの引き方やピークの切り方等が異なることがあるため、クロマトグラムの拡大機能等を用いて積分が適切に行われていることを確認する。積分が適切に行われていない場合は、手動により修正する。

##### (b) 検量線の作成

2.3.7 において求めた濃度を横軸 (x) に、(a) において求めた HPLC 用標準溶液のピーク面積を縦軸 (y) にして、原点を含めない直線回帰の検量線 ( $y = a + bx$ ) を作成する。作成した検量線の直線性を目視により確認するとともに、相関係数 (R) が 0.990 以上である場合は適切な検量線であると判断し、試料溶液の濃度の算出に用いる。

##### (c) HPLC 注入用試料溶液の定量

(a) の HPLC 用標準溶液の測定と連続して、HPLC 注入用試料溶液を HPLC により測定する。標準溶液のシプロコナゾールの保持時間と一致したピークを、

シプロコナゾールと同定する。得られたクロマトグラムについてデータ処理装置により積分を行い、シプロコナゾールのピーク面積を求める。(a)の (a)の HPLC 用標準溶液と同様に、積分が適切に行われていることを確認し、必要に応じて修正する。また、分析ランの管理として、試料 5 点ごとに標準液 (10 µg/mL) を 1 回測定し、シプロコナゾールのピーク面積の最小値及び最大値が平均値 (最小値と最大値の和を 2 で除したものの) の 90 ~ 110%であることを確認する。ピーク面積の最小値及び最大値が平均値の 90 ~ 110%の範囲内に入らない場合は、再測定を行う。シプロコナゾールのピークに試料由来の夾雑ピークが近接している場合は、次のとおりとする。

二つのピークの大きさがほぼ等しい場合、ピークの谷から時間軸に下ろした垂線によってベースライン上のピークを二つに分割し、ピーク面積を求める。

大きなピークのテーリング又はリーディングに重なった小さなピークの場合、ピークの谷と大きなピークの裾とを結ぶ接線上の部分をピーク面積とする。

JIS K 0124 を参照。

(b)で作成した検量線を用いて HPLC 注入用試料溶液のシプロコナゾールの濃度 (µg/mL) を求める。このとき、HPLC 注入用試料溶液のシプロコナゾール濃度が、HPLC 標準溶液①の BCR 濃度を超えた場合は、全量ピペットまたはピストン式ピペット及び全量フラスコを用いて HPLC 注入用試料溶液を標準溶液 (50µg/mL) の濃度以下となるように希釈し、再度(a)、(b)及び HPLC 注入用試料溶液の測定を行う。

#### 1.1.10 計算

次式により、木材試料および絶乾木材試料中のシプロコナゾール量 (mg/g) を算出する (小数第 5 位を四捨五入し第 4 位まで求める)。計算はパソコンや電卓を用いて行い、計算途中では数値を丸めない。

$$\text{木材試料中のシプロコナゾール量 (mg/g)} = \frac{X \times 20}{Y \times 1000}$$

$$\text{絶乾木材試料中シプロコナゾール量 (mg/g)} = \frac{X \times 20}{Y \times (1 - \frac{Z}{100}) \times 1000}$$

X : HPLC 注入用試料溶液のシプロコナゾール濃度

Y : 抽出に用いた木材試料の量 (g)

Z : 木材試料の含水率 (%) \*

\*2.3.8 で使用した木粉と同じものを用い、JIS Z 2101 に記載されている方法で測定した含水率。

#### 2.3.11 日本工業規格引用

本手順書において引用された規格は、その最新版 (追補を含む) を適用する。

## 2.4 分析試験方法の1 試験室での最適化の検証

### 2.4.1 概要

これまで、(公社)日本木材保存協会が実施した事業や公設試、民間企業により新たに確立された効率的かつ高精度化された木材保存剤の分析方法は、製材や集成材の JAS に規定された木材保存剤の吸収量の分析方法に採用されている。製材の場合、吸収量分析に供する試験片には、当然のことであるが接着剤が混入することが無い。また、集成材についても、JAS に規定されている試験片の採取方法に従えば、接着剤が混入することは無い。一方、合板や LVL のように単板を積層接着した材料の場合、接着剤を避けて試料採取することが極めて困難であり、試験片には接着剤が混入することになる。上述の、効率化・高精度化された分析方法は、主に製材や集成材を想定したものであり、試験片に接着剤が混入した場合は想定されていない。そのため、接着剤が混入した場合の影響については詳細に検討されていない。合板や LVL の JAS では製材の JAS に記載されている分析方法では、効率化・高精度化が図られていないものが採用されている。しかも、その分析方法は製材を対象としたものであり、接着剤の影響については考慮されていないものと考えられる。

そこで、製材や集成材の JAS で用いられている最新の吸収量分析方法が、合板や LVL に適用可能かどうかを確認するとともに、複数機関での共同実験などによる妥当性の検証を実施することで、製材、集成材、合板、LVL について共通な方法として使用できることを明らかにするための取り組みを行うこととした。本事業では、共同実験に先立ち、最新の方法が接着剤の混入した試験片に適用可能であるかどうかについて検証することとした。本事業では、合板や LVL の JAS に規定されている木材保存剤の有効成分のひとつである、シプロコナゾールを検証の対象とすることとした。

### 2.4.2 実験方法

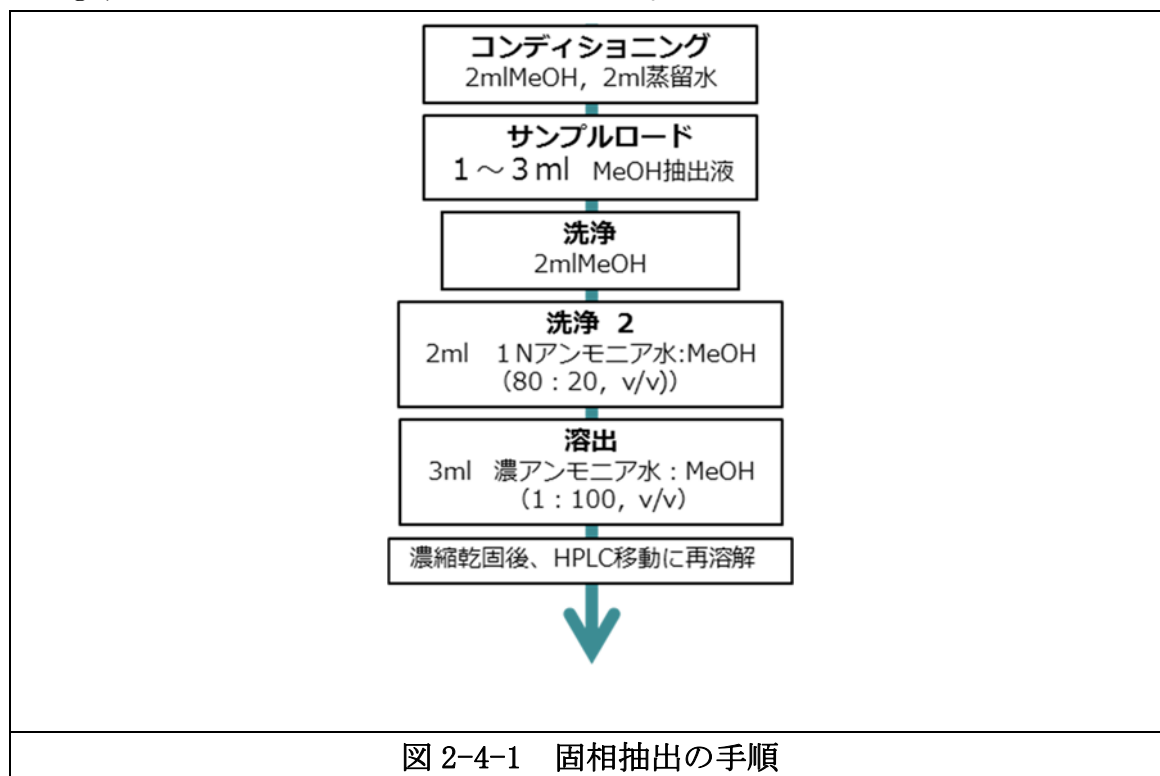
試験片に接着剤が混入した場合の影響を検証する基材として、スギ合板を用いることとした。スギ合板は厚さ 3 mm、30×30 mmの単板を 3ply で構成し、表 2-4-1 に示す 5 種類の接着剤を用いて作成した。

| 表 2-4-1 スギ合板の作成に用いた接着 |                  |
|-----------------------|------------------|
| 記 号                   | 種 類              |
| PF①                   | フェノール樹脂          |
| PF②                   | フェノール樹脂          |
| PF③                   | フェノール樹脂          |
| MUF                   | メラミンユリア樹脂        |
| EPI                   | 水性高分子ーイソシアネート系樹脂 |

各合板のそれぞれ約 2/3 をカッターミルで粉碎し、目開き 2 mm のメッシュを通過したものを試料とした。それぞれの試料 2g を 40mL のメタノールで超音波抽出し、ガラス繊維ろ紙でろ過したものを試験溶液とした。各試験溶液のうち 1mL を減圧濃縮乾固し、高速液体クロマトグラフ (HPLC) に用いる移動相に再溶解した (試験溶液 A)。各試験溶液のうち 1mL を固相抽出に供し、移動相に再溶解した (試験溶液 B)。試験溶液 A、試験溶液 B およびシプロコナゾールとテブコナゾール混合した溶液 (CYPTEB 溶液) を HPLC 分析に供し、得られたクロマトグラフを比較した。各試験溶液に CYP と TEB を添加したものを固相抽出に供したのち定量分析し回収率を確認した。

HPLC 分析は ACQUITY UPLC H-Class (Waters) を用いて行った。カラムは Inertsil ODS3 (粒子径 2.0  $\mu\text{m}$ 、内径 2.1 $\times$ 長さ 100 mm、GL サイエンス) を用い、移動相はアセトニトリル : 蒸留水 : 100 mM リン酸緩衝液 (pH2.1) を容量比 60 : 30 : 10 で混合したものをを用いた。移動相流速は 0.75 mL/min とし、カラムオーブンの温度は 40 $^{\circ}\text{C}$  に設定した。

固相抽出は、3mL 容の Oasis MCX カートリッジ (Waters) を用い (粒子径 30 $\mu\text{m}$ 、60mg)、図 2-4-1 に示す手順により実施した。



#### 2.4.3 結果と考察

各合板から調製した試験溶液 A と CYPTEB 溶液の HPLC 分析結果 (クロマトグラム) を図 2-4-2~4 に示す。CYPTEB 溶液と試験溶液のクロマトグラムを比較す

ると、参考として加えた TEB のピーク付近においては、妨害ピークはほとんど存在しないと考えられた。一方、CYP のピークについては、合板によって程度が異なるものの、付近に妨害ピークが存在することが確認された。これらのピークが合板由来かスギ材由来かは判断することが出来なかったが、合板由来の成分が CYP の定量分析に影響することが示された。

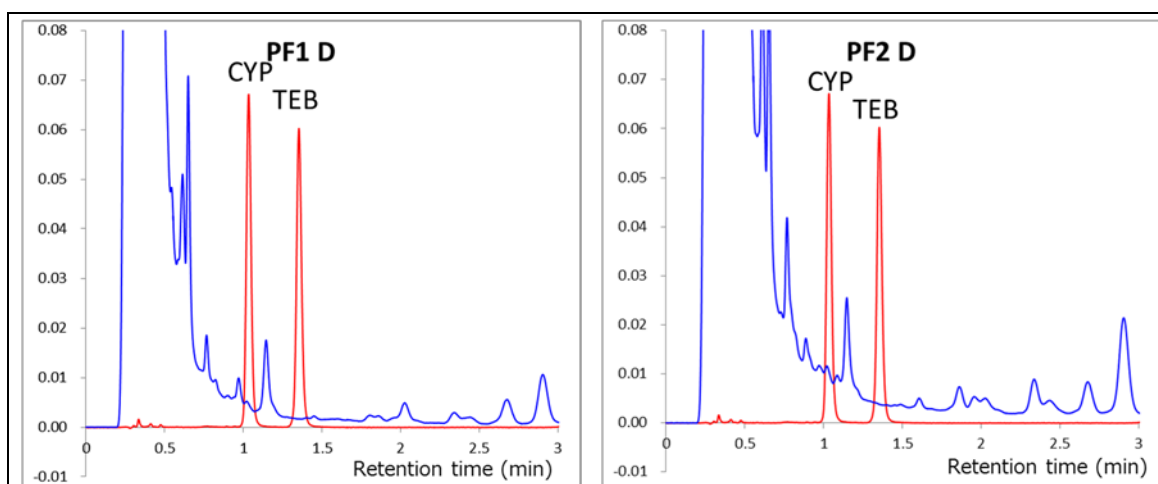


図 2-4-2 試験溶液 A と CYPTEB 溶液のクロマトグラム（記号は表 1 参照）

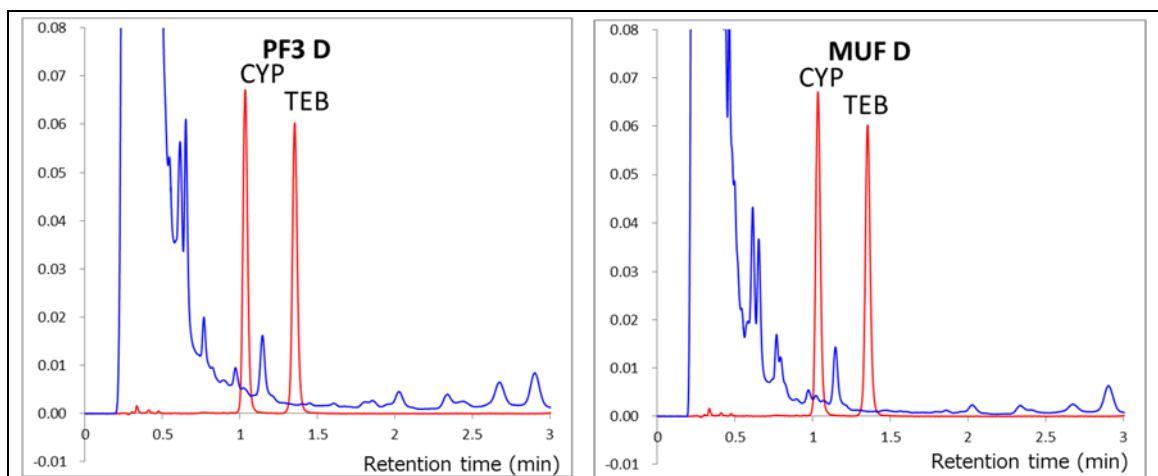


図 2-4-3 試験溶液 A と CYPTEB 溶液のクロマトグラム（記号は表 1 参照）

次に、試験溶液 B と CYPTEB 溶液のクロマトグラフを図 2-4-5～7 に示す。いずれの合板についても固相抽出を行うことで、CYP の定量分析に影響すると考えられるピークを除去できること、その他のピークも大幅に除去することができるため CYP のピークの視認性が上がることが確認された。接着剤が混入した試験片を試料とした場合、接着剤成分が固相抽出による試料精製に影響する可能性も考えられる。そこで、試験溶液 A に既知量の CYPTEB 溶液を加えた後、固相



抽出に供したものを HPLC 分析し、CYP の回収率を調べた結果を表 2-4-2 に示す。

いずれの合板の場合も、高い回収率が得られており、接着剤が混入した試験片を用いた場合でも、固相抽出におよぼす影響はほとんどないことが確認された。以上の結果から、製材の JAS 等で用いられている分析方法は合板等で用いることが可能であることが確認された。

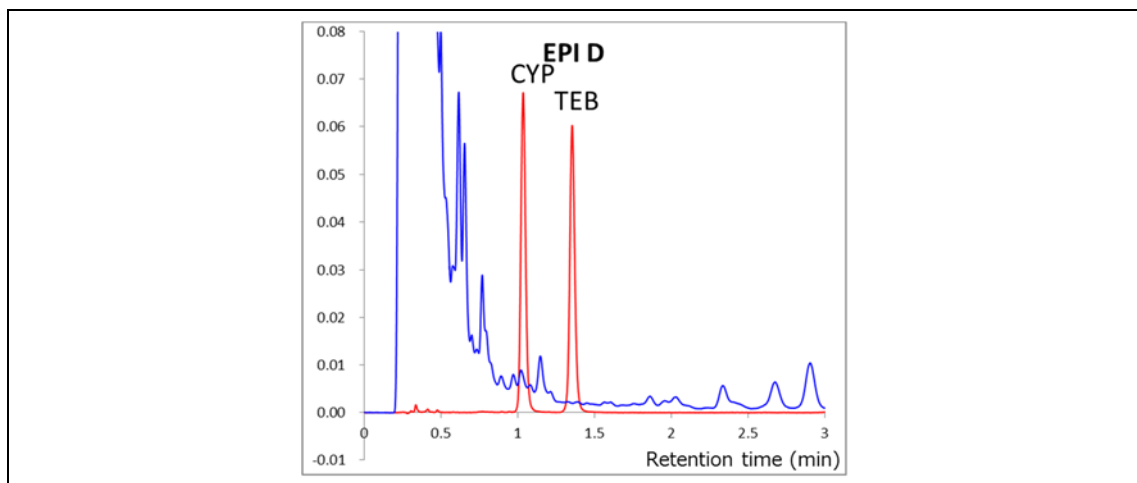


図 2-4-4 試験溶液 A と CYPTEB 溶液のクロマトグラム（記号は表 1 参照）

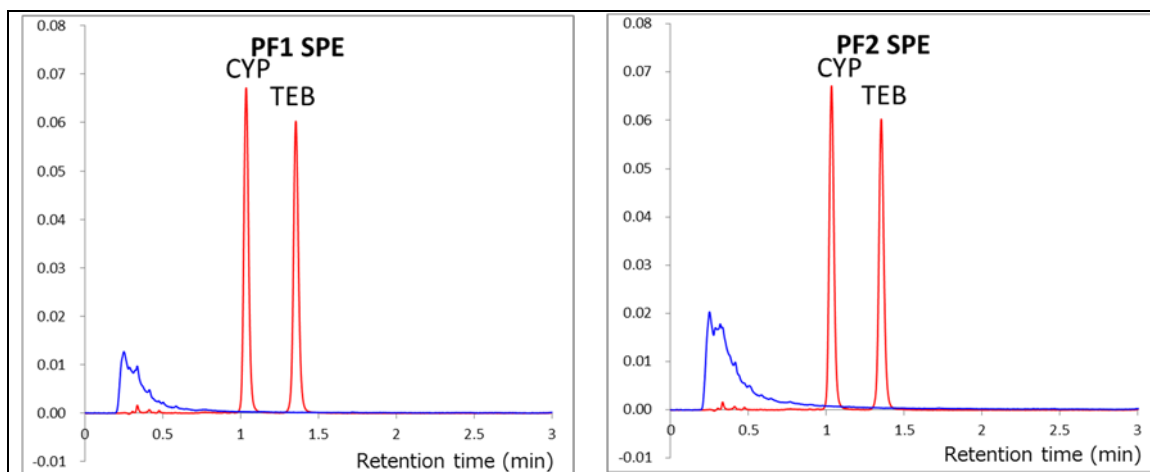


図 2-4-5 試験溶液 B と CYPTEB 溶液のクロマトグラム（記号は表 1 参照）

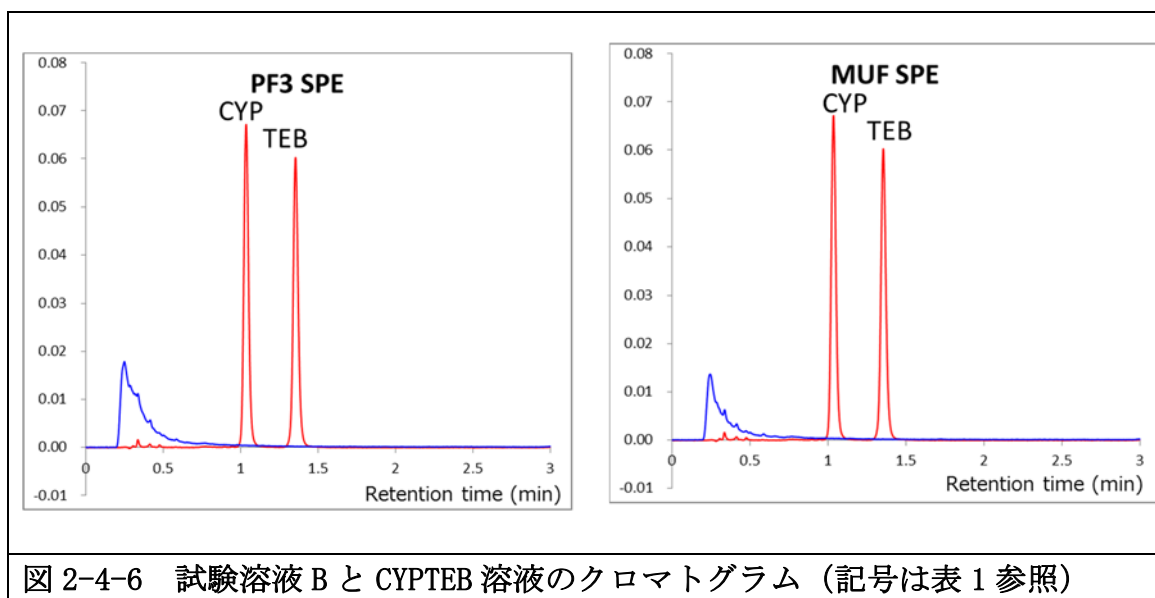


図 2-4-6 試験溶液 B と CYPTEB 溶液のクロマトグラム（記号は表 1 参照）

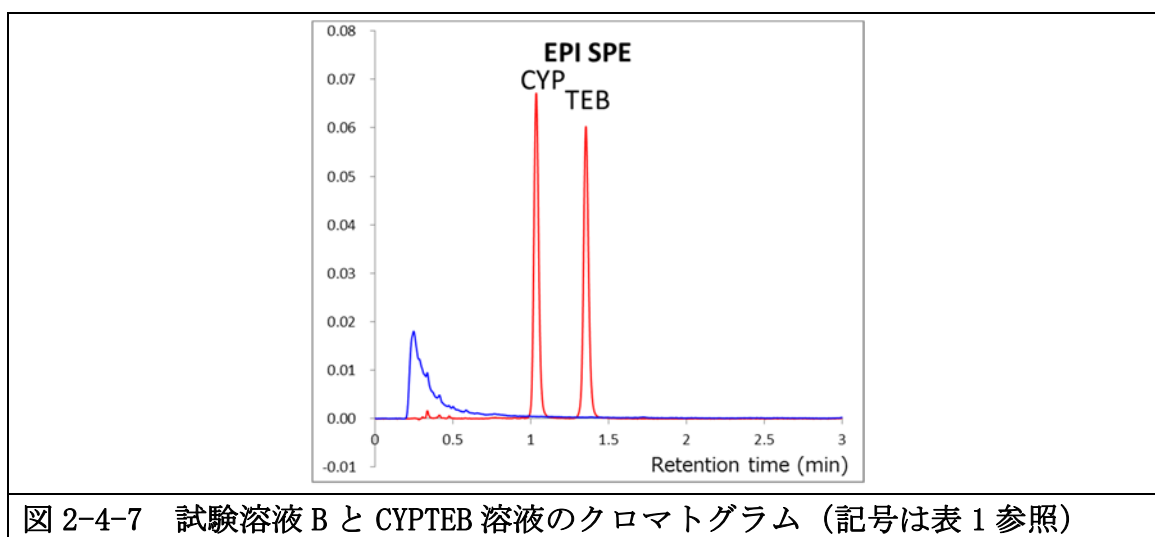


図 2-4-7 試験溶液 B と CYPTEB 溶液のクロマトグラム（記号は表 1 参照）

表 2-4-2 添加回収試験の結果

| 試験体名 | 回収率（％）＊ |       |     |       |
|------|---------|-------|-----|-------|
|      | CYP     |       | TEB |       |
| PF①  | 96      | (2.5) | 96  | (2.5) |
| PF②  | 96      | (2.1) | 96  | (2.0) |
| PF③  | 95      | (1.4) | 95  | (1.6) |
| MUF  | 94      | (1.1) | 95  | (1.1) |
| EPI  | 94      | (1.0) | 94  | (1.0) |

＊n=4 の平均値，（ ）内は相対標準偏差

## 2.5 分析試験方法の妥当性検証の参画試験室による研修的予備試験の実施

分析試験方法の妥当性検証のための共同試験のスケジュール表では、上記で示した試験実施項目の選定、試験準備、予備検討。予備試験準備に続いて、予備試験実施を位置付けている。予備試験は、本試験を円滑に行うために実施するもので、複数機関の参画が望ましいとされており、試料は2～3マテリアルとなっている。

本事業では、共同試験において使用する分析試験方法の問題点等を把握し、手順書のブラッシュアップすることを目的とし、シプロコナゾールを含む薬剤2種で処理されたスギ材木粉について行った予備試験について検証した。なお、予備試験の参画機関数は5機関とした。

### 2.5.1 試験方法

CUAZ または AZN で処理されたスギ材の表層 10 mm の部分を採取し、カッターミルにより粉砕したものを予備試験に用いる試料木粉とした。十分に攪拌した試料木粉から 10g ずつを採取したものを、5 機関（A～E）に配布した。

### 2.5.2 結果と考察

5 機関で実施した分析結果を表 2-5-1～2-5-5 に示す。なお、分析結果は気乾（試験実施時の秤量値）と絶乾（試料木粉の一部から含水率を測定し補正したもの）の 2 種類の結果を表記した。機関 E を除けば、各機関概ね同レベルの値が得られていることが確認された。

これらの結果について、分散分析を行なったところ、CUAZ のシプロコナゾールについては危険率 0.01%、0.05% で機関間の結果に有意差が認められ、AZN の場合は危険率 0.05% で有意差が認められた。

表 2-5-1 シプロコナゾールの分析結果（機関 A）

| No.    | シプロコナゾール量 (mg/g) |       |      |      |
|--------|------------------|-------|------|------|
|        | CUAZ             |       | AZN  |      |
|        | 気乾               | 絶乾    | 気乾   | 絶乾   |
| CUAZ-1 | 0.046            | 0.049 | 0.30 | 0.30 |
| CUAZ-2 | 0.044            | 0.047 | 0.29 | 0.29 |
| CUAZ-3 | 0.043            | 0.047 | 0.31 | 0.32 |
| 平均     | 0.044            | 0.048 | 0.30 | 0.30 |
| 標準偏差   | 0.001            | 0.001 | 0.01 | 0.01 |

表 2-5-2 シプロコナゾールの分析結果（機関 B）

| No.    | シプロコナゾール量 (mg/g) |       |      |      |
|--------|------------------|-------|------|------|
|        | CUAZ             |       | AZN  |      |
|        | 気乾               | 絶乾    | 気乾   | 絶乾   |
| CUAZ-1 | 0.047            | 0.050 | 0.30 | 0.33 |
| CUAZ-2 | 0.047            | 0.051 | 0.29 | 0.31 |
| CUAZ-3 | 0.049            | 0.053 | 0.30 | 0.32 |
| 平均     | 0.048            | 0.051 | 0.30 | 0.32 |
| 標準偏差   | 0.001            | 0.001 | 0.01 | 0.01 |

表 2-5-3 シプロコナゾールの分析結果（機関 C）

| No.    | シプロコナゾール量 (mg/g) |       |      |      |
|--------|------------------|-------|------|------|
|        | CUAZ             |       | AZN  |      |
|        | 気乾               | 絶乾    | 気乾   | 絶乾   |
| CUAZ-1 | 0.044            | 0.047 | 0.31 | 0.33 |
| CUAZ-2 | 0.045            | 0.049 | 0.30 | 0.32 |
| CUAZ-3 | 0.045            | 0.049 | 0.31 | 0.34 |
| 平均     | 0.045            | 0.048 | 0.31 | 0.33 |
| 標準偏差   | 0.001            | 0.001 | 0.01 | 0.01 |

表 2-5-4 シプロコナゾールの分析結果（機関 D）

| No.    | シプロコナゾール量 (mg/g) |       |      |      |
|--------|------------------|-------|------|------|
|        | CUAZ             |       | AZN  |      |
|        | 気乾               | 絶乾    | 気乾   | 絶乾   |
| CUAZ-1 | 0.049            | 0.053 | 0.31 | 0.33 |
| CUAZ-2 | 0.046            | 0.050 | 0.36 | 0.36 |
| CUAZ-3 | 0.047            | 0.051 | 0.36 | 0.36 |
| 平均     | 0.047            | 0.051 | 0.34 | 0.35 |
| 標準偏差   | 0.001            | 0.001 | 0.03 | 0.01 |

表 2-5-5 シプロコナゾールの分析結果（機関 E）

| No.    | シプロコナゾール量 (mg/g) |       |      |      |
|--------|------------------|-------|------|------|
|        | CUAZ             |       | AZN  |      |
|        | 気乾               | 絶乾    | 気乾   | 絶乾   |
| CUAZ-1 | 0.091            | 0.098 | 0.33 | 0.35 |
| CUAZ-2 | 0.102            | 0.110 | 0.39 | 0.41 |
| CUAZ-3 | 0.101            | 0.109 | 0.46 | 0.49 |
| 平均     | 0.098            | 0.106 | 0.39 | 0.42 |
| 標準偏差   | 0.005            | 0.005 | 0.06 | 0.06 |

表 2-5-6 CUAZ で処理された木粉の分析結果の分散分析表

| 変動要因     | 偏差平方和     | 自由度 | 平均平方      | F 値         | P 値    |
|----------|-----------|-----|-----------|-------------|--------|
| 全変動      | 0.0060390 | 14  |           |             |        |
| 群（機関）間変動 | 0.0059622 | 4   | 0.0014906 | 194.1073128 | p<0.01 |
| 誤差変動     | 0.0000768 | 10  | 0.0000077 |             |        |

表 2-5-7 AZN で処理された木粉の分析結果の分散分析表

| 変動要因     | 偏差平方和       | 自由度 | 平均平方     | F 値      | P 値      |
|----------|-------------|-----|----------|----------|----------|
| 全変動      | 0.030429914 | 14  |          |          |          |
| 群（機関）間変動 | 0.019788388 | 4   | 0.004947 | 4.648861 | 0.022236 |
| 誤差変動     | 0.010641525 | 10  | 0.001064 |          |          |

機関 E の CUAZ に含まれるシプロコナゾールの分析結果は、他の機関に比べかなり高い値であった（図 2-5-1）。また、AZN についても、他の機関よりも高い傾向にあり、CUAZ、AZN のいずれも、他の機関よりもバラつきが大きい傾向にあった（図 2-5-2）。機関 D については、CUAZ に含まれるシプロコナゾールの分析結果は、機関 E を除く他の機関とほぼ同じレベルにあったが、AZN に含まれるシプロコナゾールの分析結果はやや高い傾向にあった。本予備試験では、配布資料の均質性の分析を実施していないため、配布試料間のバラツキによる影響が推測されるが、機関 E の分析結果は CUAZ、AZN とともに高い値を示す傾向にあり、何らかのバイアスが影響している可能性が考えられた。バイアスの要因として、固相抽出の実施における各種ハンドリングや精製後の液体ハンドリング、定量に用いる標準品の濃度の正確性などが考えられる。標準品については、純度等の情報を明確化することとし、試料精製や行程についてはより詳細な手順書の作成を行うこととし、必要があれば、研修等の機会を設けることとした。

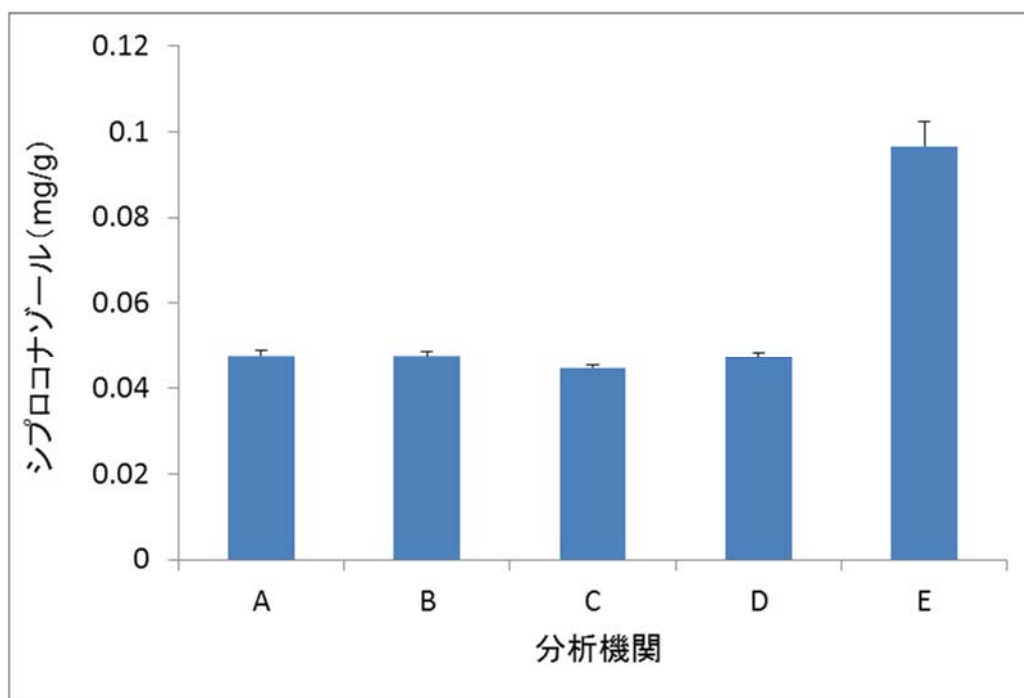


図 2-5-1 CUAZ で処理した木粉中の分析結果

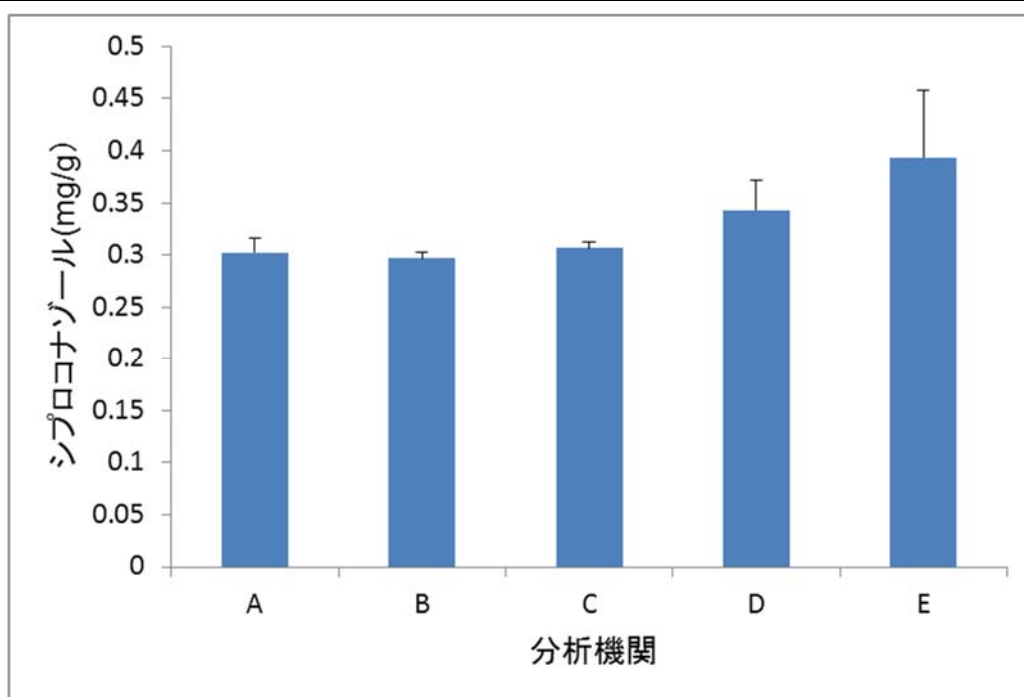


図 2-5-2 CUAZ で処理した木粉中の分析結果

## 2.6 まとめと考察

### 2.6.1 コンソーシアムの形成

このたびの JAS 法改正では、取引の円滑化や輸出力の強化のため、JAS 規格を戦略的に制定・活用する仕組みを整備し、JAS 規格の国際化の推進を図ることを目指している。JAS 規格の対象は「試験方法」にも拡大し、木材製品に関しても JAS 本体に組み込まれていた各種試験方法を「試験方法」として取り出し、試験方法自体の JAS 化が可能となった。以上の活動については、国や独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）の努力義務となり、「JAS 規格の制定等に関する手続の進捗状況」（平成 29 年 12 月版）には、制定しようとする日本農林規格の内容として、“木材の保存処理性能の試験方法”が示されている。

これを受け、今回の事業では、実際の作業を進めるため、公益社団法人日本木材保存協会を事務局とし、公的研究機関として、国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所、地方独立行政法人北海道立総合研究機構森林研究本部 林産試験場、認定機関として、公益財団法人日本合板検査会、公益財団法人日本住宅・木材技術センター、一般社団法人全国木材検査・研究協会、関係企業として、（株）ザイエンス、兼松サステック（株）、住化エンバイロメンタルサイエンス（株）、大日本木材防腐（株）、オブザーバーとして、独立行政法人農林水産消費安全技術センター、農林水産省からなるコンソーシアムを形成した。

### 2.6.2 分析試験のための試験体の作成

本事業では、シプロコナゾールを有効成分とする保存剤処理製品として、合板ではスギ・ヒノキ・カラマツ、ベイマツ、LVL ではスギ・ヒノキ・カラマツを対象に関係 6 工場に製品提供を依頼し、（株）ザイエンス、兼松サステック（株）、大日本木材防腐（株）にて K3 レベルの注入量を目標として加圧注入処理を行ない、試験体を作成した。

### 2.6.3 妥当性確認のための分析試験方法の共同試験の設計

農林水産消費安全技術センター（FAMIC）が示している共同試験概要に倣い、検討を進めたが、妥当性確認のための分析試験方法の共同試験には、最短で 10 か月を要するため、本事業では、「事前確認事項」、「予備試験」、「試験室間共同試験：本試験」の 3 段階に鑑み、「事前確認事項」と「予備試験」の準備までを行うこととした。

共同試験のための試料は、予め均質化を確認しなければならないが、工場製品から試料を得る場合は、その均質化は極めて困難であることを確認した。一方、従来の添加回収試験では、粉碎した無処理木材に木材保存剤を一定量添加し、試料とする事が一般的なことを共通認識として踏まえて共同実験の進め方を検討した。その結果、共同実験に使う試料については、工場製品から同一試料を

得ることに説得性があると判断した。そのため、工場で製造された保存処理木材を粉砕し、均質化した試料に用いることとなった。また、工場では保存処理薬剤の濃度レベルを正確にターゲットとした製品製造は困難であることが判明したため、濃度レベルの調整は、薬剤の未浸潤部位や高濃度部位を混合することで行うこととした。保存処理木材には、主に K3 と K4 の濃度レベルがあるが、K3 と K4 を或は K3 の上下レベルを共同試験の対象とするか否かについては、要検討とした。真値試料の測定に関しては、今後の検討課題とした。試料とする木材樹種については、単板積層材 (LVL) は 1～2 樹種 (スギ・カラマツ)、合板は 3～4 樹種 (ベイマツ・スギ・カラマツ・アカマツ) を選定することとした。一方、製材品については今後の検討課題とした。

#### 2.6.4 シプロコナゾールの吸収量分析の手順書 (案)

手順書は、以下の項目建てを行い、作成した。

- 1.1.1 適用範囲
- 1.1.2 測定方法の概要
- 1.1.3 注意事項
- 1.1.4 器具及び装置
  - 1.1.4.1 器具
  - 1.1.4.2 装置
- 1.1.5 水及び試薬
- 1.1.6 試薬の調製
  - 1.1.6.1 メタノール-アンモニア混液 A
  - 1.1.6.2 メタノール-アンモニア混液 B
- 1.1.7 HPLC 用標準溶液の調製
  - 1.1.7.1 100  $\mu$ g/mL 標準原液
  - 1.1.7.2 50  $\mu$ g/mL 標準溶液
  - 1.1.7.3 25  $\mu$ g/mL 標準溶液
  - 1.1.7.4 10  $\mu$ g/mL 標準溶液
  - 1.1.7.5 5  $\mu$ g/mL 標準溶液
  - 1.1.7.5 2.5  $\mu$ g/mL 標準溶液
- 1.1.8 試料溶液の調製
  - 1.1.8.1 抽出
  - 1.1.8.2 固相抽出
  - 1.1.8.3 HPLC 注入用試料溶液の調製
- 1.1.9 高速液体クロマトグラフ (HPLC) による測定
  - 1.1.9.1 測定条件の設定
  - 1.1.9.2 HPLC の性能確認



#### 1.1.9.3 測定

#### 1.1.10 計算

#### 1.1.11 日本工業規格引用

### 2.6.5 分析試験方法の1試験室での最適化の検証

これまでに確立された効率化・高精度化された木材保存剤の分析方法は、製材や集成材の JAS に規定された木材保存剤の吸収量の分析方法に採用されている。一方、本事業で対象とした合板や LVL では接着剤を避けて試料採取することが極めて困難であり、結果として分析試料には接着剤が混入する。上述の効率化・高精度化された分析方法は、製材や集成材を想定しており分析試料に接着剤が混入した場合は想定されていなかった。現在の合板や LVL の JAS に記載されている分析方法では、接着剤の影響が存在することが危惧されていた。

そこで、本事業では、共同実験に先立ち、開発されたシプロコナゾールの分析方法が、接着剤の混入した試料に対して適用可能であるかどうかについて、1 試験室で検証した。接着剤混入の影響を検証する基材としてスギ合板を用いた。スギ合板試料 2g を 40mL のメタノールで超音波抽出し、ガラス繊維ろ紙でろ過した試験溶液について、シプロコナゾール・テブコナゾール溶液の HPLC 分析のクロマトグラムを比較すると、テブコナゾールのピーク付近において妨害ピークは殆ど存在しないが、シプロコナゾールのピーク付近において妨害ピークが存在することが確認された。合板あるいはスギ材由来の成分がシプロコナゾールの定量分析に影響することが示された。これに対して、試験溶液を固相抽出する事で、シプロコナゾールの定量分析に影響すると考えられるピークを除去でき、その他のピークも大幅に除去することができるためシプロコナゾールのピークの視認性が上がることを示された。接着剤が混入した試料では、接着剤成分が固相抽出による試料の精製に影響する可能性も考えられた。そのため、試験溶液に既知量のシプロコナゾール・テブコナゾール溶液を加え、固相抽出に供したものを HPLC 分析し、シプロコナゾールの回収率を調べた結果、高い回収率が得られた。また、接着剤が混入した試料でも、接着剤が固相抽出におよぼす影響は、殆ど無いことが確認された。さらに、製材の JAS 等で用いられている分析方法は、合板や LVL で用いることが可能であることが 1 試験室において確認された。

### 2.6.6 分析試験方法の妥当性検証の参画試験室による研修的予備試験の実施

共同試験のスケジュール表では、試験準備、予備検討、予備試験準備に続いて、予備試験実施を位置付けている。予備試験は、本試験を円滑に行うために実施するもので、複数機関の参画が望ましいとされている。以上を踏まえて、共同試験において使用する分析試験方法の問題点等の把握や手順書の改良を目的とし、シプロコナゾールを含む薬剤 2 種（CUAZ または AZN）で処理されたス

ギ材木粉について行った 5 機関（A～E）での予備試験を行った。

5 機関で実施した分析の結果では、機関 E を除けば、各機関とも概ね同レベルの値が得られた。分散分析を行なったところ、CUAZ のシプロコナゾールについては危険率 0.01%、0.05% で機関間の結果に有意差が認められ、AZN の場合は危険率 0.05% で有意差が認められた。本試験では、配布試料の均質性の分析を実施していないため、配布試料間のバラツキによる影響が推測されるが、機関 E の分析結果は CUAZ、AZN とともに高い値を示す傾向にあり、何らかのバイアス；固相抽出の実施における各種ハンドリング、精製後の液体ハンドリング、定量に用いる標準品の濃度の正確性の影響が考えられ、その検証が課題として残されている。また、標準品については、純度等の情報の明確化、試料精製や行程については、より詳細な手順書の作成が必要である。次のステップでは、これらのことを踏まえて研修等の機会を設けることとした。

#### 2.6.7 考察

本事業は、妥当性確認のための分析試験方法の共同試験のための試験室数の確認や試験室としての参画決定などについて、時間を要したため、実施期間としては 2018 年 1 月から 2 月までの短期間となった。その間、コンソーシアムの形成と委員会に於ける意見交換や農林水産消費安全技術センターとの打ち合わせ、それらを反映しての分析試験方法のための試験体の作成、妥当性確認のための分析試験方法の共同試験の設計、手順書（案）の作成、1 試験室での最適化の検証、参画試験室による研修的予備試験の実施などを行った。本事業の成果を、第二回 JAS 規格化の事業に引き継ぎ、2019 年春に開催されるであろう JAS 調査会に成果を受け渡す事が重要である。

## 第3章 今後の課題

### 3.1 共同試験の円滑な推進とスケジュールの具体化

従来の木材の「試験方法」に関しては、JAS 規格に規定された製材品においては、既にジデシルジメチルアンモニウムクロリド剤、銅・N-アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロリド剤、銅・シプロコナゾール剤、シプロコナゾール・イミダクロプリド剤など様々な木材保存剤による保存処理の規定が示され、その試験方法（浸潤度試験と吸収量試験）が定められている。また、平成 29 年には、集成材、合板、LVL についても、新たに木材保存剤による保存処理の規定が製品毎に示されたことにより、現在、保存処理に用いられている木材保存剤の製品対象は多様化し、従来の JAS 規格による「試験方法」では、正確な分析が困難な事例が増加していることから、これまで製品毎に規定されてきた「試験方法」を、各製品に対応できる効率的・高精度な分析方法に統合し、その JAS 化に向けた対応を検討していくことが、平成 29 年度「新たな種類の JAS 規格調査委託事業」の位置付けとなっている。その中では、FAMIC が示している JAS 分析方法の妥当性試験のための共同試験概要に準拠すること、さらに今後の保存処理木材製品の輸出等への対応のためには AOCA が求めるガイドラインについても検討課題として考慮することが必要となっている。一方、これらに対応をしていくためには、本事業期間の実質 2 ヶ月とあまりに制約が大きいため、妥当性試験の共同試験概要で求める実施項目の「事前確認と準備」、「予備試験」および「本試験」のうち、「事前確認と準備」の実施するに留めざるを得なかった。従って、「予備実験」および「本実験」を含めた共同試験については、本事業終了後も継続的に推進していくことが必要である。また、JAS 化に向けて 1 年後の 2019 年春に開催されるであろう JAS 調査会までには、これを取り纏めて提出する必要があることから、今後の共同試験の円滑な推進と取り纏めに向けた具体的なスケジュール管理を行っていくことが求められている。また、そのためには、第二回 JAS 規格化のための事業にこれを引き継いでいくことも重要であるが、すでに立ち上げたコンソーシアムを中心に関連企業や機関の自己負担も含めて推進・発展させたいと考えている。

一方、AOAC ガイドラインや FAMIC が示している JAS 分析方法の妥当性試験のための共同試験概要に準拠した JAS 規格化に向けた新たな「木材保存剤の試験方法」の確立においては、数多くのハードルが存在することも事実である。そのハードルとしては、従来の共同試験が AOAC の共同試験ガイドラインに沿っていなかったこと、共同試験では手順書（プロトコル）に従うことが求められているものの従来の試験方法での記述はそこまで詳細には規定されていなかったこと、最低 8 試験室で行うことが求められている共同試験については外れ値の

削除等を考慮すると 12 試験室は欲しいが、その確保は現実的には容易でないこと、共同試験の前には予備試験を 3～4 か所で行うことが必要であるが、それを行う基幹試験室の負担が大きいこと、妥当性を保証するためには樹種×濃度×製品種×繰り返し数の掛け合わせによる試験数が膨大となること、節目節目で受ける外部評価を行う妥当性確認委員会を公正な立場で設置することが求められること等が考えられ、限られた期間内で、これらのハードルをクリアしていくことが必要とされる。しかしながら、これらの条件を整えた「木材保存剤の試験方法」が JAS 規格化されれば、新たに整備されるであろう JAS 体系の中で、保存処理を施した各種木材製品がより広く社会的に利用される基盤を形成することになるため、国内での木材の利用拡大はもとより、国産材の輸出拡大に向けても大きな貢献ができると期待されることから、試験方法の効率化と高精度化を念頭においた上で、コンソーシアムを中心とした共同試験の円滑な推進と取り纏めに至るまでの具体的なスケジュール管理を徹底し、さらに事業を発展させていきたいと考えている。

### 3.2 海外情報の把握

JAS として木材保存剤の分析方法に関する試験方法を統一的に纏めることは、製品の製造者、使用者、市民一般にとって、分かり易い、規格に辿り着きやすいなどのメリットが有ると考えられる。例えば、米国ではこのような規格は、アメリカ木材保存協会（AWPA）の AWPA Book of Standards という 6 百ページ強の冊子に記されており、冊子を購入しなければ内容を知ることが出来ない。その内容も、技術委員会に於いて時々審査され、分析方法の最新情報を得ることは容易ではないと思われる。例えば、AWPA Book of Standards のシプロコナゾールの規定は、現在では削除されており、その詳細が不明な点（図 3-2-1）、シプロコナゾールの規定では、分析条件の記載に“妨害を防ぐためのパラメータの決定が必要である”と記載が有り、その詳細が不明な点（図 3-2-2）など、知るべき情報は多い。

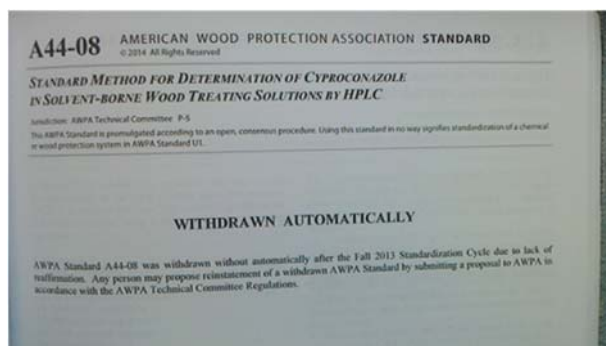


図 3-2-1 AWPA Book of Standards のシプロコナゾールの規定

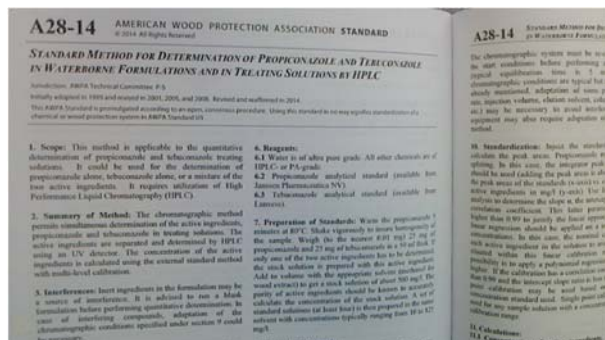


図 3-2-2 AWPA Book of Standards のテブコナゾールの規定

試験方法に関する JAS に規定する分析方法は、米国や欧州で規定されている分析方法一般との、ある程度の整合性を求める必要があると考えられる。日本の木材保存分野に於いては、米国や欧州の分析方法規格についての情報は極めて乏しいのが現状である。その為、木材保存製品、その品質管理、木材保存剤の分析方法（吸収量の分析と保存剤浸潤度の化学的呈色法）に長じた専門家を海外に派遣し、正確な情報を得ることが必要と言える。

## 執筆者一覧

はじめに

鮫島委員長

目次

事務局

第 1 章 事業の概要

1.1～1.4 鮫島委員長

1.1 事業の背景

1.2 事業目的

1.3 実施体制

1.4 試験の概要

1.5 事業の経過

事務局

第 2 章 薬剤の分析試験方法の改良と妥当性の検証 2.1～2.5 宮内委員

2.1 分析試験方法の試験体の作成

2.2 妥当性確認のための分析試験方法の共同試験の設計

2.3 分析試験方法の手順書の作成

2.4 分析試験方法の 1 試験室での最適化の検証

2.5 分析試験方法の妥当性検証の参画試験室による研修的予備試験の実施

2.6 まとめと考察

鮫島委員長

第 3 章 今後の課題

鮫島委員長

3.1 共同試験の円滑な推進とスケジュールの具体化

3.2 海外情報の把握



平成29年度農水省委託事業

J A S規格化等のテーマに関する調査事業  
「J A S法改正に即した木材保存剤分析方法の規格化」  
成果報告書

2018年（平成30年）2月

公益社団法人 日本木材保存協会