

# 信頼性の高い有害化学物質分析データを 提供するために

平成26年7月11日（大阪）、18日（東京）  
FAMIC有害物質等分析調査統括チーム 原 弘幸

# 本日の講演内容

---

- ▶ FAMICについて
- ▶ 試験データの信頼性保証
- ▶ ISO/IEC 17025 設備の管理
- ▶ 有害化学物質試験法の適用性検証とSOP作成
- ▶ 麦中のかび毒(トリコテセン類)試験
  - 試料の取扱い
  - 内部品質管理
- ▶ アクリルアミド試験法



# FAMICについて

# FAMIC:農林水産消費安全技術センター 沿革

- ▶ 農林水産省所管の3つの独立行政法人を統合



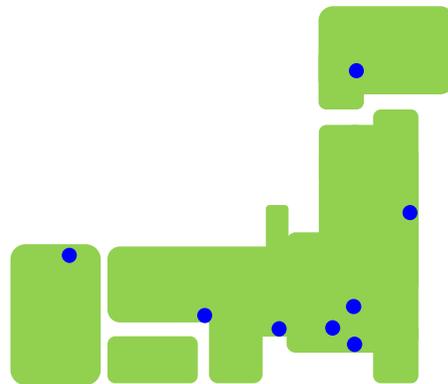
Food and Agricultural Materials Inspection Center

<http://www.famic.go.jp/>



平成19年4月設立

農林水産消費安全  
技術センター  
FAMIC



札幌センター(札幌市)  
仙台センター(仙台市)  
さいたま本部(さいたま市)  
横浜事務所(横浜市)

農薬検査部(東京都小平市)  
名古屋センター(名古屋市)  
神戸センター(神戸市)  
福岡センター(福岡市)



# FAMICの行動理念

---

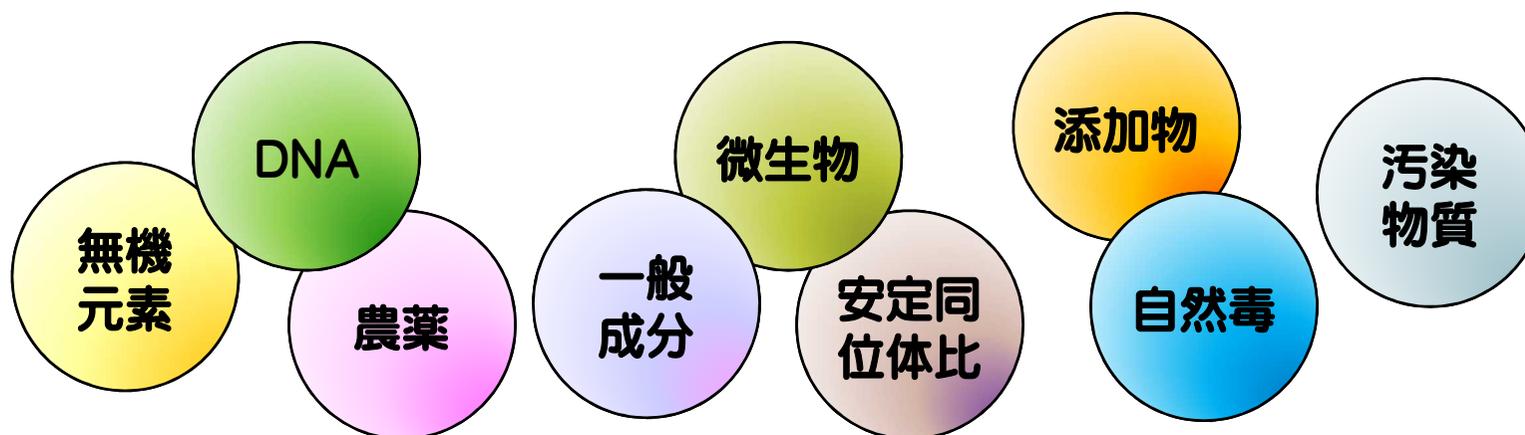
- ▶ 私たち農林水産消費技術センター（FAMIC）は、科学的手法による検査・分析により農場から食卓までのフードチェーンを通じた食の安全と消費者の信頼の確保に技術で貢献することを使命とします。
- ▶ このため、FAMICは
  - 食品や生産資材の検査・分析を法令に基づいて的確に実施します。
  - 検査・分析で得た情報をもとに、食の安全などに関する情報を分かりやすく提供します。
  - また、法令遵守を徹底し、高い使命感と倫理観を持って行動します。



# 法令に基づく検査と政策に基づく調査

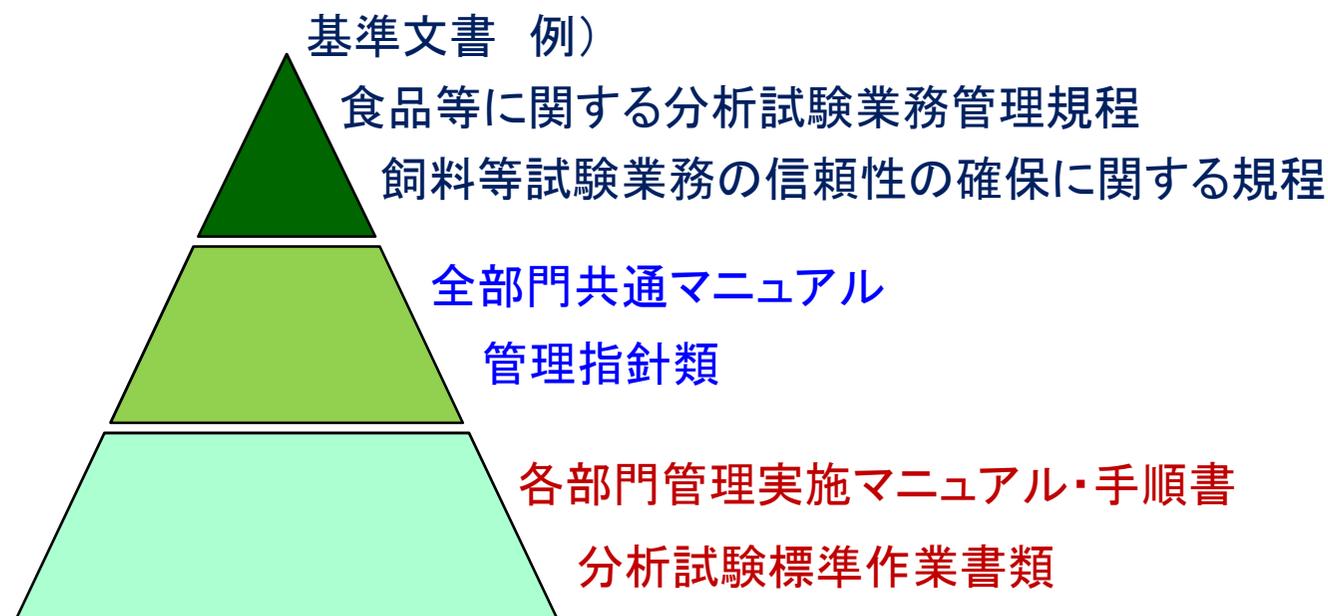
## ▶ FAMICの多岐にわたる分析試験分野

- ▶ **肥料**の安全性と品質の確保
- ▶ **飼料等**の安全性確保と品質改善
- ▶ **農薬**登録制度上の安全性、品質の確保
- ▶ **ペットフード**の安全性の確保
- ▶ **食品**表示の適正化
- ▶ **加工食品**のJAS規格関係検査
- ▶ 農林水産省が行う**食品**安全に関するリスク管理への協力



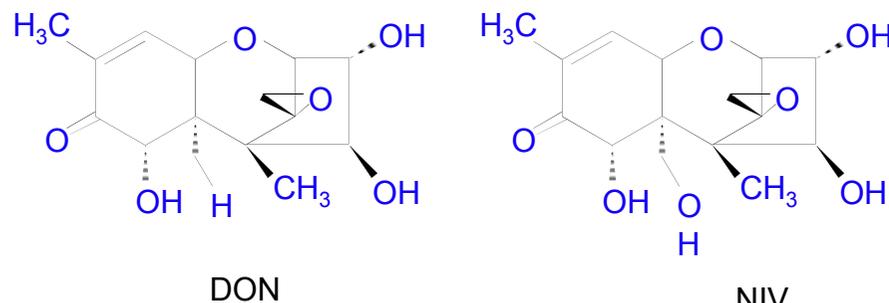
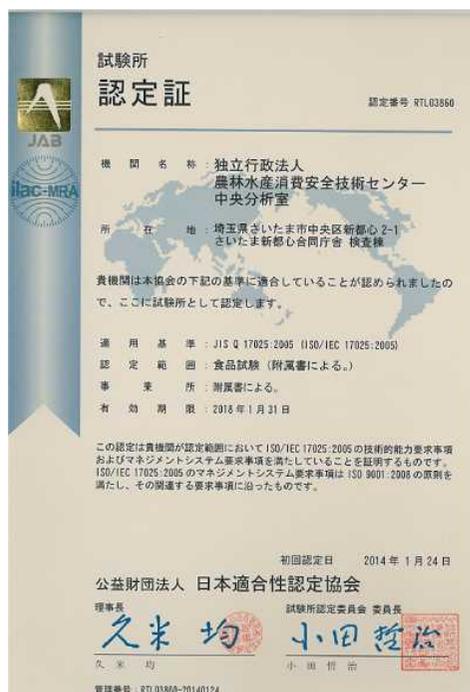
# 分析試験の信頼性確保の取り組み

- ▶ 品質保証部門を設置し、基準文書の作成、運営
- ▶ 各部門で検査・分析業務の管理を規定
- ▶ 機器、施設、試薬等の管理を規定
- ▶ 分析試験は手順書、作業書に基づいて実施



# 有害物質等分析調査統括チーム

- ▶ 本部(さいたま市)、神戸センターに設置(25年4月)
- ▶ ISO/IEC 17025認定試験所の試験実施部門(本部)
- ▶ 農林水産省のリスク管理に協力



「GC-MSによるDON、NIV等の定量試験」  
JAB:RTL03860



Central Analytical Laboratory of FAMIC



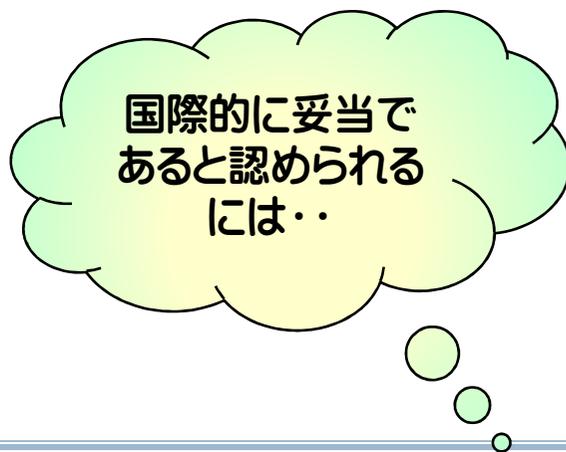
# 試験データの信頼性を保証する

有害物質等分析調査統括チームの具体的な取り組み  
客観的な評価指標

# 試験データの品質保証の必要性

## 行政にかかわる分析機関

- ◆ FAMICの提供する試験データが最終的に規制措置の根拠として用いられる可能性がある
- ◆ 国際的なリスク評価や基準値の検討が行われる場合には、試験データを国際機関に提出することがある



# 食品の輸出入規制にかかわる試験所の能力評価に関するガイドライン (翻訳：農林水産省)

CAC/GL 27

GUIDELINES FOR THE  
ASSESSMENT OF THE COMPETENCE OF TESTING LABORATORIES  
INVOLVED IN THE IMPORT AND EXPORT CONTROL OF FOOD  
CAC/GL 27-1997

- ▶ **食品の輸出入規制にかかわる試験所では、以下の質規準が採用されているべきである。**
- ① **ISO/IEC Guide 17025:1999**「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」に定められた試験所のための一般規準の遵守
- ② 「(化学)分析試験所の技能試験に関する国際的なハーモナイズドプロトコール」 Pure & Appl. Chem. 78 (2006) 145-196 に定められた要求事項に適合する食品分析の適切な**技能試験プログラム**への参加



# 食品の輸出入規制にかかわる試験所の能力評価に関するガイドライン (翻訳：農林水産省)

- ③ コーデックス委員会が定めた原則に従って**妥当性確認された分析法**が使用可能な場合は、その分析法を使用
- ④「化学分析試験所の内部質管理に関するハーモナイズドガイドライン」  
Pure & Appl. Chem. 67 (1995) 649-666 に記載されているような**内部質管理**の手順の使用

**以上を評価する機関は試験所認定に関する一般規準に適合すべき**  
(ISO/IEC Guide 58:1999)

## ガイドラインへのFAMICの対応

- ① ISO/IEC 17025:2005 **かび毒試験での認定取得**
  - ② **技能試験** **ISO/IEC 17043適合PTプログラムに参加**
  - ③ **妥当な試験法** **妥当性の確認された分析法の採用**
  - ④ **内部質管理** **適切な内部品質管理の実施**
- ISO/IEC 17011:2004に適合した認定機関から認定を受ける



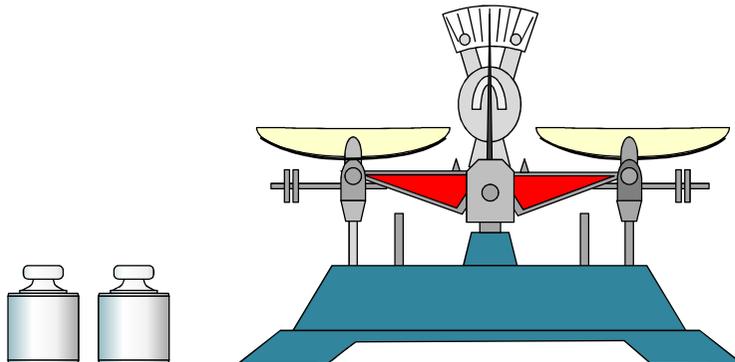
# ISO/IEC 17025の技術的要求

## ▶ 信頼性の保証のための7つの要件 + 品質保証

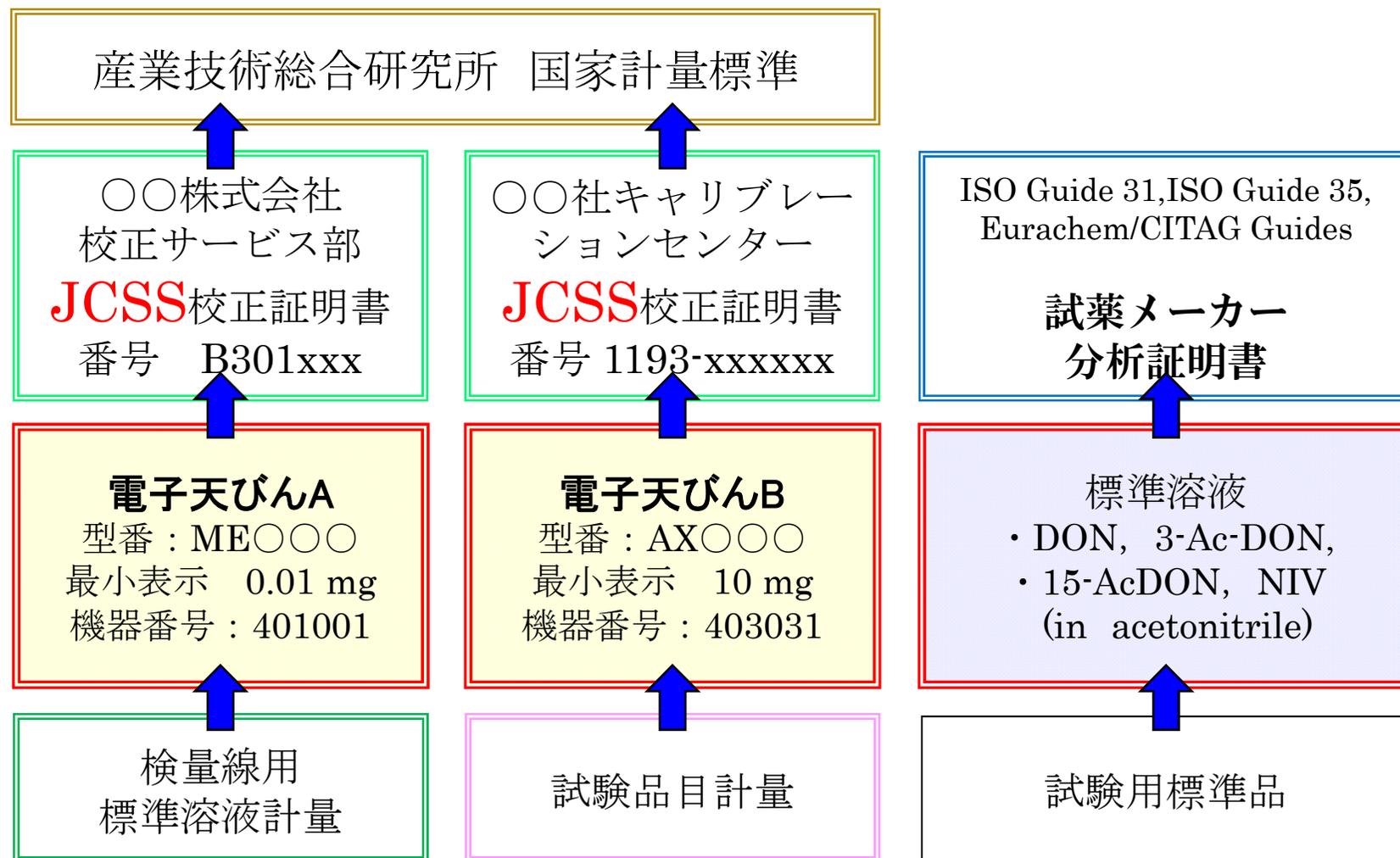


# 測定のトレーサビリティ ・設備の管理

ISO/IEC 17025認定試験関係について



# トレーサビリティ体系図



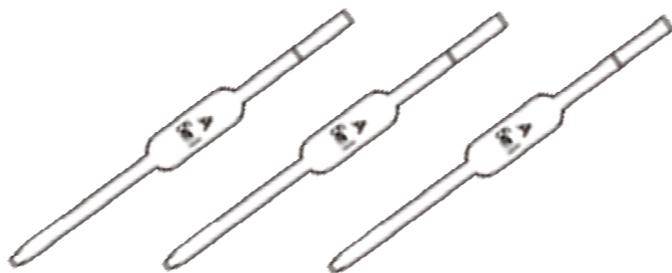
# 天秤

- ▶ 使用日ごと職員が管理分銅(実用分銅)で日常点検。
- ▶ FAMICで保有する参照標準で実用分銅を値付け。
- ▶ JCSS校正は毎年1回。
- ▶ 清掃の励行



# ガラス体積計

- ▶ 使用する器具すべてについて、容量がJIS R3505:1994のCLASS-A許容誤差内にあることを確認。
- ▶ 許容誤差内に入らないものは返品・交換、廃棄。
- ▶ ホールピペットは、標準的な使い方を規定。



# JIS R3505 実体積の測定

$$V_{20} \doteq W + V_n (Z - 1) \quad \text{常温・大気圧で試験を行うときの近似式}$$

$$Z: \left[ \frac{1}{\rho_W - \rho_A} \right] \times \left[ 1 - \frac{\rho_A}{\rho_B} \right] \times \left[ 1 - 3\gamma(t - 20) \right]$$

$V_{20}$ : 20°Cでの実体積(ml)

$W$ : 容器内の水の重量(g)

$V_n$ : 体積計の表す体積

$t$ : 測定に用いた水の温度(°C)

$\rho_W$ :  $t$ °Cの水の密度(g/cm<sup>3</sup>)

$\rho_A$ : 周囲の空気密度(g/cm<sup>3</sup>)

$\rho_B$ : 校正分銅の密度(g/cm<sup>3</sup>)

$\gamma$ : 体積計の線膨張係数(°C<sup>-1</sup>)

- ▶ 校正された天秤を使用
- ▶ 精製水を室温にして使用



# ピストン式ピペット

- ▶ 定期点検またはメーカー校正は年2回以上。
- ▶ 系統誤差と偶然誤差で管理。

## ①系統誤差試験(可変容量)※

$$es(\%) = \frac{V - V_s}{V_0} \times 100$$

V=10回の排出容量の平均値

V<sub>s</sub>=設定容量

V<sub>0</sub>=最大設定容量

基準: 1000 μlでは±0.8%以内

## ②偶然誤差※

10回測定 of 相対標準偏差

基準: 1000 μlでは±0.3%以内



※試験方法は、JIS K0970:2013  
に規定される方法で実施



# 分析用標準品の受入検査

- ▶ 標準品溶液（メーカーの分析証明書付き）で購入。
- ▶ 現在使用している標準品調製液と同じ手順で希釈した新しく納品された標準調製液をGC-MS、LC-MS/MSで打ち比べをする。
- ▶ 管理基準は、  
85～115%



3. Certified values and their uncertainties

Mycotoxin Mix 2 (B-Trichothecenes)		
Compound	Mass concentration <sup>a</sup>	
	Certified value <sup>b</sup>	Uncertainty <sup>c</sup>
Deoxynivalenol	100.4 µg/mL	± 0.8 µg/mL
Nivalenol	100.3 µg/mL	± 2.0 µg/mL
3-Acetyldeoxynivalenol	100.0 µg/mL	± 1.4 µg/mL
15-Acetyldeoxynivalenol	100.0 µg/mL	± 2.7 µg/mL

<sup>a</sup> Values are based on preparation data and confirmed experimentally by HPLC-UV analysis  
<sup>b</sup> Mass concentration based on weighed amount, purity and dilution step  
<sup>c</sup> Expanded uncertainty U (k = 2) of the value u<sub>i</sub>, according to GUM [3]

3.1 Calculation of uncertainty  
 The uncertainty of each certification value was calculated on the basis of preparation [6]

実濃度→1.000 mg/Lに換算した場合の内標準とのレスポンス比(6回測定の平均値)

		DON	3-Ac-DON	15-Ac-DON	NIV	4-Ac-NIV		
従前	R <sub>pre</sub> /C <sub>pre</sub>	18.388	16.438	41.509	19.485	21.068...	α	
新規ロット	R <sub>new</sub> /C <sub>new</sub>	17.927	16.103	42.615	19.598	20.219...	β	
	β/α	97.5%	98.0%	102.7%	100.6%	96.0%		
	判定	○	○	○	○	○		



# 有害化学物質の分析法の適用性検証と SOP作成

分析法の妥当性確認



CALF No.21

CALF No.21

# 有害化学物質の分析体制の確立

---

- ▶ **農林水産省が行う食品安全に関するリスク管理への協力**
- ▶ **優先度の高い有害化学物質について標準分析手順書の整備**

## 手順

- ①国際規格、地域規格、国家規格、主要貿易対象国が採用している試験方法等を候補。
- ②試験対象となる食品群と試験法に求める性能要件の検討。
  - ・選択性、真度、精度(併行、室内)、検出限界、定量下限・上限等
- ③詳細な操作手順等を定め、手順書案にまとめる
- ④手順書案をもとに単一試験室でのバリデーションを実施
  - ・Harmonized Guideline for single-laboratory Validation of Method of Analysis (IUPAC 2002)等を参考
- ⑤必要に応じてコラボレーション試験で妥当性確認の実施。

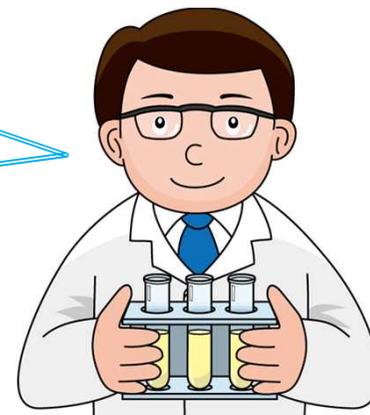
**十分に検証されており、確実に分析できる分析法であること**



# 試験法の妥当性評価

- ▶ 試験法の妥当性評価は、その目的によって評価方法を検討。  
例えば) 低い濃度が見込まれる  
対象濃度範囲が非常に広い  
一定の基準値に対しての適否を知りたい
  - ▶ 妥当性評価はその目的に沿っているかを実証するプロセス
- ※ 単一試験室バリデーションは、試験法の評価でもあり、試験所の評価でもある。

その試験法を用いたとき、これくらいの濃度範囲内で、これくらいの精度で、不確かさで分析することができるという客観的な証拠です。



# 妥当性を評価するパラメータ

---

- ▶ 単一試験室での妥当性評価において  
確認する試験法の性能パラメータ

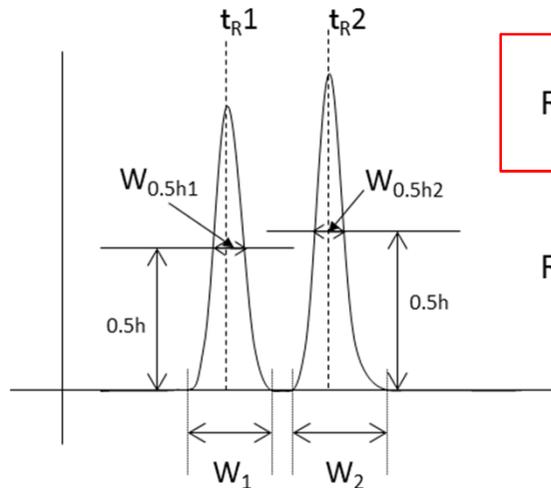
- ① 選択性
- ② 真度
- ③ 精度(併行精度、室内精度)
- ④ 検出限界、定量下限、定量上限(範囲)
- ⑤ 検量線の直線性
- ⑥ 不確かさ
- ⑦ 堅牢性

参考文書: HARMONIZED GUIDELINES FOR SINGLE LABORATORY VALIDATION  
OF METHODS OF ANALYSIS  
Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 5, pp. 835–855, 2002.



# 選択性

1. 対象とする食品群でのブランク試験溶液を調製して、クロマトグラムを得る。
2. 定量下限付近の濃度に調製した標準品溶液測定し、クロマトグラム上でピークを確認。
3. 妨害無く測定できることを確認。
4. 妨害がある場合には、分離度 $R_s$ が1.5以上であることを確認。



$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

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

$t_{R1}$ 、 $t_{R2}$  : 各ピークの保持時間  
 $W_{0.5h1}$ 、 $W_{0.5h2}$  : 各ピークの半値幅  
 $W_1$ 、 $W_2$  : 各ピークの幅



# 真度の評価基準

## 回収率の許容範囲(真度の目標値)

濃度 μg/kg(ppb)	AOAC Guidelines※	Codex Alimentarius “PROCEDURAL MANUAL” 22nd ed. (2014)	厚生労働省 食品中に残留する農薬 等に関する試験法の妥 当性評価ガイドライン
1000	75 - 120%	80 - 110%	70 - 120%
100		80 - 110%	70 - 120%
10	70 - 125%	65 - 115%	70 - 120%
1		40 - 120%	70 - 120%

※AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods  
for Dietary Supplements and Botanicals(2002)



# 精度の評価基準

---

室間再現精度: **reproducibility**

▶ **Horwitz式**

$$\sigma = 0.02C^{0.8495} \quad RSD_R (\%) = 2C^{-0.1505}$$

C: 質量分率 (1ppmなら $10^{-6}$ 、1ppbなら $10^{-9}$ ) を含む濃度平均値

2式の関係の参照 McClure, F, D and Lee, J, k, Computation of HORRAT Values. J.AOAC Int., Vol.86, No.5, 1056-1058, (2003)

▶ **Horwitz式の修正式 (Thompson 式\*)**

$$\begin{aligned} \sigma &= 0.01C^{0.5} & RSD_R (\%) &= C^{-0.5} & (C > 0.138) \\ \sigma &= 0.02C^{0.8495} & RSD_R (\%) &= 2C^{-0.1505} & (1.2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0.138) \\ \sigma &= 0.22C & RSD_R (\%) &= 22 & (C < 1.2 \times 10^{-7}) \end{aligned}$$

\* Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, Analyst, 125, 385–386 (2000).



# 精度の評価基準（室間再現精度、併行再現精度）

濃度 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb)	Horwitz式 $\times 0.66^*$		Thompson式 $\times 0.66^*$		厚生労働省 ガイドライン	
	RSD <sub>R</sub>	RSD <sub>r</sub>	RSD <sub>R</sub>	RSD <sub>r</sub>	室内精度	併行精度
1000(1ppm)	16%	10%	16%	10%	15%	10%
100	22%	15%	22%	15%	20%	15%
10	32%	21%	22%	15%	30%	25%
1	44%	30%	22%	15%	35%	30%
0.1	63%	42%	22%	15%		

※ 併行再現精度 (repeatability) の換算  $RSD_r = RSD_R \times 0.66$

CODEX STAN 193-1995: CODEX GENERAL STANDARD FOR CONTAMINANTS AND TOXINS IN FOOD AND FEED  
SAMPLING PLAN FOR TOTAL AFLATOXINS IN PEANUTS INTENDED FOR FURTHER PROCESSING INTRODUCTION



# 真度、精度の評価方法

- ▶ 標準添加回収試験を繰り返し実施
- ▶ 定量下限付近とその10倍以上の濃度、必要に応じてさらに高い濃度で各2併行を日を変えて5回以上行う
- ▶ 原則としてマトリックス(食品群)ごとに実施。
- ▶ これらの結果から、真度、精度を評価する

		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
食品群 1	低濃度	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○
	高濃度	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●
食品群 2	低濃度	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○
	高濃度	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●

食品群 3

...

...

真度 = 平均値  
 併行精度  $\sigma_r$  = グループ内の分散の平方根  
 (各回の母平均の標準偏差 =  $\sigma_d$ )  
 室内精度 =  $\sqrt{(\sigma_r^2 + \sigma_d^2)}$

食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン  
 食安発第1115001号(H19.11.15)より



## 範囲（検量線と直線性）

- ▶ 定量下限から必要と思われる上限濃度まで、6点以上検量点をたてて直線性を確認する。
- ▶ 相関  $R^2=0.995$ 以上が確保できる範囲で設定。
- ▶ 濃度範囲が広い場合には、2レベル以上で確認。

### 検量線と直線性について

- 最低6点以上の濃度で作成する
- 標準試料の濃度は、検量線を作成しようとする濃度範囲において等間隔に設定する。
- 測定で想定される濃度に対し、0-150%又は50-150%の濃度範囲を含める
- 各濃度の標準試料について、最低2回以上、可能であれば3回以上の繰り返し分析を、ランダムな順番で行う。

HARMONIZED GUIDELINES FOR SINGLE LABORATORY VALIDATION OF METHODS OF ANALYSIS

Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 5, pp. 835-855, 2002.



# 検出限界

---

- ▶ 定量下限付近濃度の調製液(マトリックス入り)を自由度が20以上となるよう連続分析。
  - ▶ 試料中濃度に換算した後、その標準偏差に3.29を乗じて求める。(IUPAC、ISO)
- 



ここまでは試験法の評価。

日常試験法としての運用は？

- ▶ MS検出器では、限界値は変動することが少なくないことから、**一定の値**をLODに設定、実際には、それ以下であることを定期的を確認するよう運用

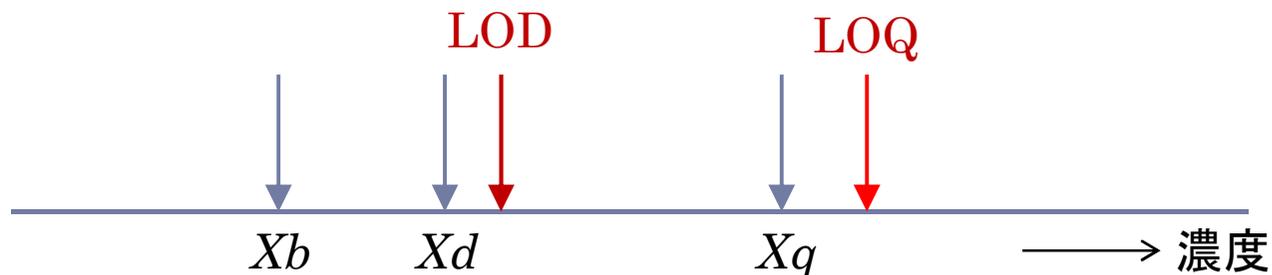
→ **一定の値**: 検出器の変動の上限がカバーできる範囲で

もう一つの理由: 試験報告で、毎回、限界値が異なるのはどうか？



# 定量下限

- ▶ 定量下限付近濃度の調製液(マトリックス入り)を自由度が20以上となるよう連続分析。
- ▶ 試料中濃度に換算した後、その標準偏差に10を乗じて求める。
- ▶  $LOQ = STDEV(A1:A21) * 10$
- ▶ 定量下限も計算で求めた標準偏差の10倍以上を確保し、適切に管理できる濃度を設定。



# 不確かさ

---

- ▶ 食品分析は操作が多い＝変動要因が多い。
- ▶ 最後まで（機器分析まで）終わらないと判断できない工程がある。
  - 抽出効率は？
  - 精製効果やロスは？
  
- ☑ トップダウンで、妥当性評価のデータも利用し、繰り返し分析の室内再現標準偏差から不確かさを求める
  
- ▶ 技量の要素が高い要因は不確かさを確認しておく
  - ・ピペッティング
  - ・ガラス体積計での定容
  - ・機器分析の変動など

注) サンプルングを行っていないためサンプルングの不確かさは取扱わない。



# 25年度の有害化学物質分析法の取組状況

---

- ▶ **アフラトキシン (B1, B2, G1, G2)** (玄米、落花生)  
飼料分析基準 LC-MS/MS及びHPLC-FLD
- ▶ **ゼアラレノン** (とうもろこし加工品)  
飼料分析基準 LC-MS/MS
- ▶ **フザリウムかび毒 (DON, NIV等及びT-2, HT-2, ゼアラレノン)** (玄米)  
食品総合研究所開発法 LC-MS/MS
- ▶ **Cd、総As、Pb、Hg** (玄米)  
EN15763:2009法 ICP-MS
- ▶ **アクリルアミド** (ポテトスナック、ビスケット)  
実態調査法 GC-MS



# 26年度以降に取り組む有害化学物質

---

## ▶ マスクドマイコトキシン

存在が報告されているが、含有実態データが不足。まずは、麦類のDONの配糖体 (Deoxynivalenol 3-glucoside) を対象に分析能力を構築

## ▶ 貝毒

下痢性貝毒 (オカダ酸、ジノフィシストキシン) の分析法については、国際的に機器分析へ移行する方向。現段階では、国内で対応できる機関が少ないことからFAMICとしても分析能力を構築

## ▶ ピロリジジナルカロイド類

植物に含まれるアルカロイドで肝毒性を持つ。国際的なリスク評価機関 (JECFA) における優先評価の対象。我が国の食品中の実態を調査するための分析法について、まずはコンフリー等を用いて検討を開始

## ▶ 形態別ヒ素

無機ヒ素で毒性が高いことが知られる。第8回コーデックス委員会汚染物質部会は、精米中の無機ヒ素の最大基準値案 0.2 mg/kg を最終採択するよう総会に勧告することに合意



# 麦中のかび毒（トリコテセン類）試験 試料の取扱い

小麦・大麦

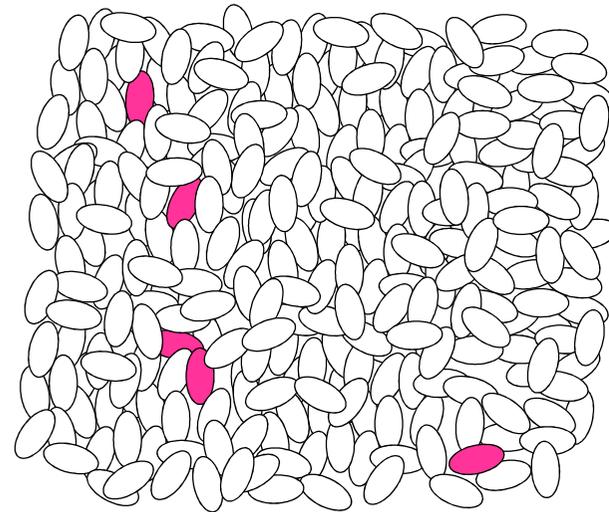


# 試料の取扱い

- ▶ 受領したサンプルは直ちに情報、性状確認  
採取地、重量、到着時の外観（写真記録）、異物など
- ▶ 識別（調査番号を採番、表示）して直ちに調製、もしくは一時冷蔵、冷凍保管



赤かび病が発生した小麦  
農林水産省ウェブサイトより



罹病麦粒の偏在が想定される



# 試料の均質化

- ▶ 試料は送付された全量（1 kg以上）を粉砕

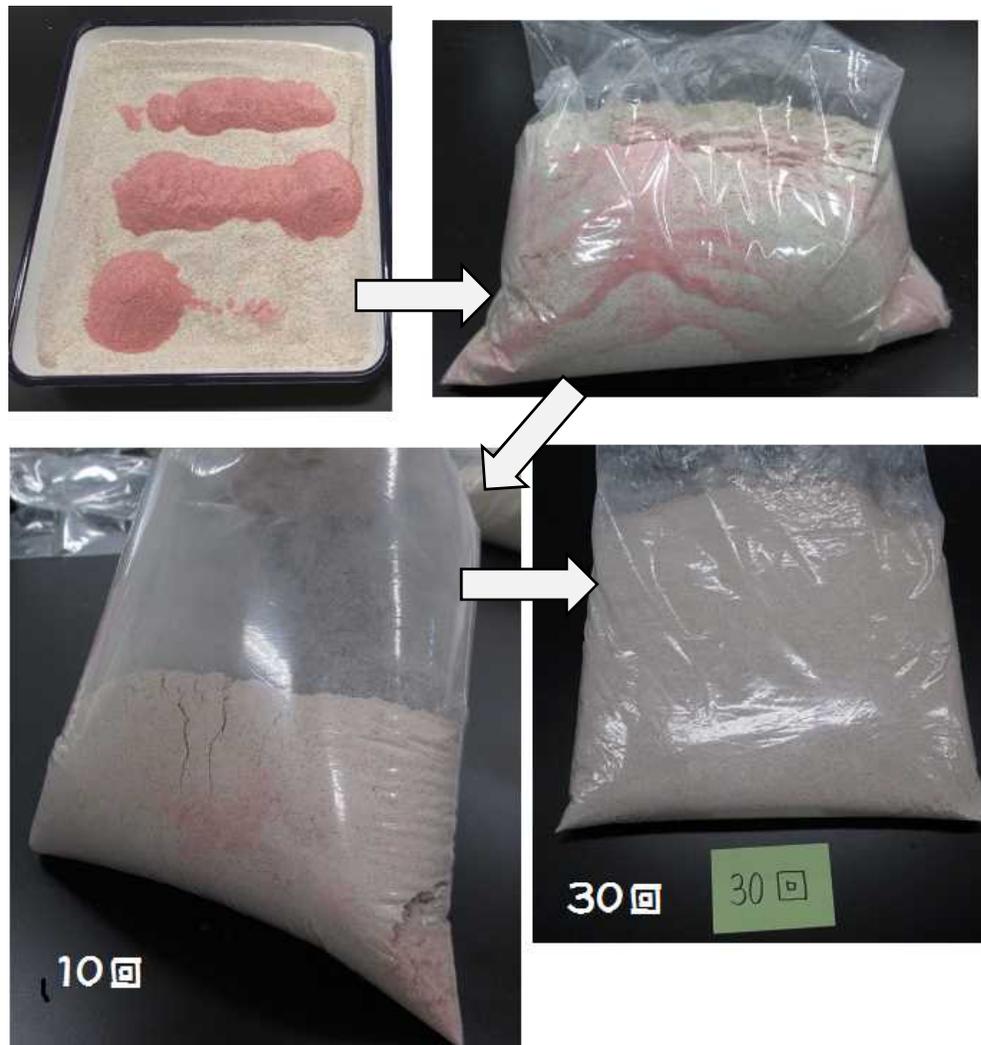


- ▶ 粉砕した全量を30回以上激しく振とうし良く混合する。



# 混合確認試験

- ▶ 粉碎した小麦を食紅で着色。
- ▶ ポリ袋に入れ、空隙をつくって激しく振る。
- ▶ 規定した30回の振とうで全体が均質に混合されたことを視認。
- ▶ この他、管理試料を同様に調製し、分析して均一性を確認。



# 麦中のかび毒（トリコテセン類）試験 内部品質管理

Harmonized Guidelines for Internal Quality Control  
in Analytical Chemistry Laboratories

# 管理試料とブランクの作成

---

## ▶ 認証標準物質 (certified reference material, CRM)

高コストなので日常の管理には使用できない

外部技能試験に参加できない場合などの管理用に使用

## ▶ 管理試料 (house reference material, HRM)

目的の分析対象が検出されなかった試料、または、検出されたものの低濃度であった試料を用いて、標準試薬を既知濃度添加した試料 (粉碎した麦)

同じ分析方法で測定した自然汚染試料をHRMとするのは好ましくない

ある程度まとまった量を作成し、よく混合して冷凍保管

## ▶ ブランク試料

かび毒が検出限界未満であった試料。あらかじめかび毒を含まないことを確認した同じ食品群、または近似した性質の食品群。用意できなければ、ブランク試料を使用しない。

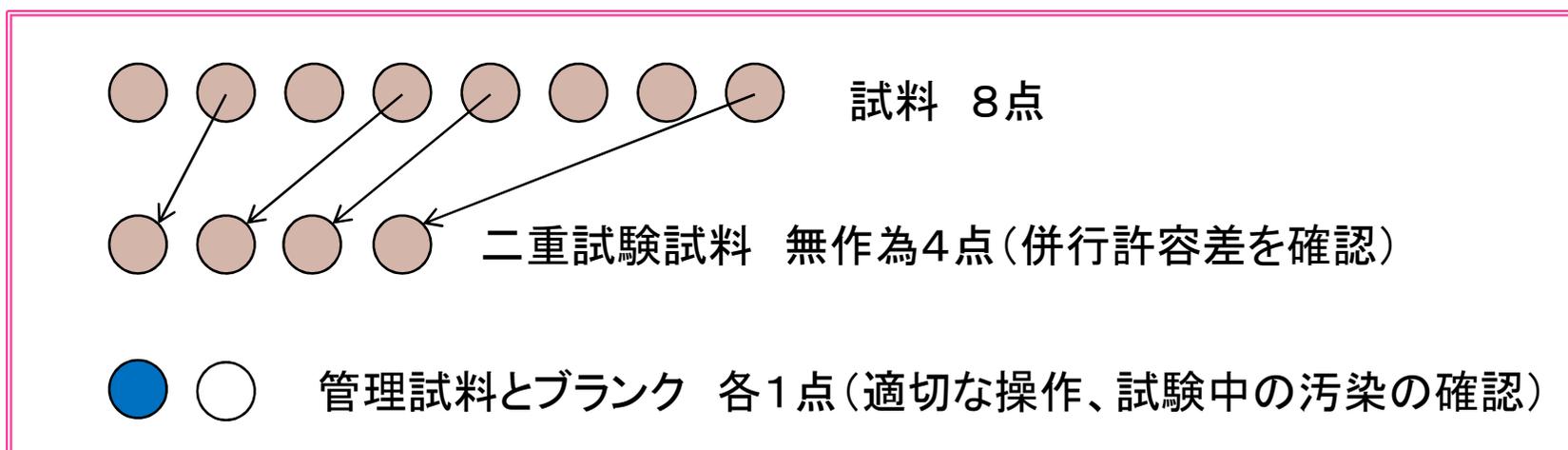
小麦 (粉碎したもの) → 小麦粉 → でんぷん



# 分析ランの設定

- ▶ 同時に行う分析(分析ラン)では、  
試料の1/2以上を二重分析+管理試料+ブランク

例えば、8件の試料を同時に分析するときには以下に設定



計 14分析を行う



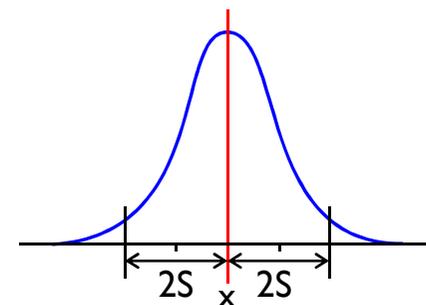
# 目標値の設定と管理試料での試験評価

## ▶ 目標値

- ① 以前の経験値を考慮し、繰り返し試験を行い得られた管理試料の分析値の平均値( $\bar{x}$ )
- ② 繰り返し試験で得られた標準偏差( $s$ )

## ▶ 評価

分析ランごとに行う管理試料の分析値( $x_i$ )からZ-scoreを求める。



$$Z = (x_i - \bar{x}) / s$$

- ▶ **管理基準**  $-2 \leq Z \leq 2$  (95%) かつ  $0.7 \leq x_a / \bar{x} \leq 1.1$

### 内部品質管理での管理試料の測定結果例

#### 2 管理試料の測定結果

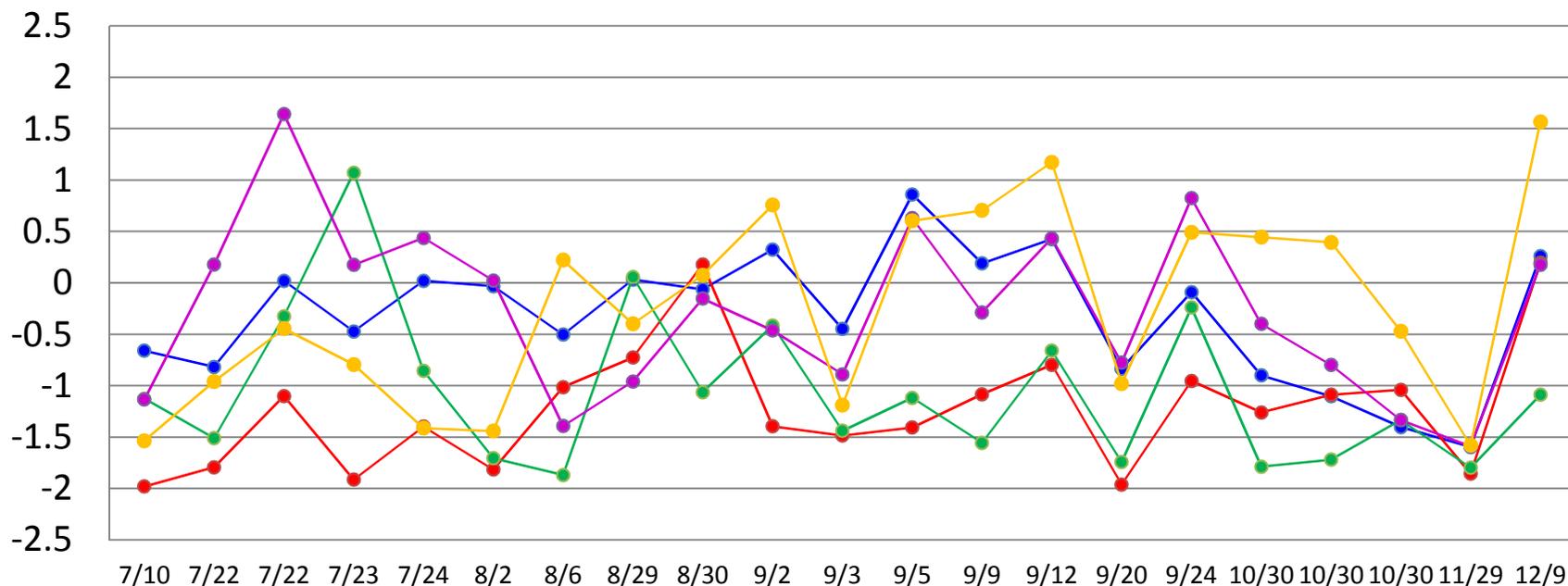
管理試料採取量(g)		25.00		付与量 ( $\mu\text{g/g}$ )	測定値 ( $\mu\text{g/g}$ )	回収率 (%)	z スコア	評価	
分析種		x	s						
1	DON	79.8	7.0	0.10412	0.09406	90.3	1.5	適	否
2	3-Ac-DON	95.0	7.7	0.10222	0.09782	95.7	0.1	適	否
3	15-Ac-DON	87.6	9.3	0.09992	0.07517	75.2	-1.3	適	否
4	NIV	79.0	5.9	0.10002	0.08673	86.7	1.3	適	否
5	4-Ac-NIV	91.2	6.7	0.09961	0.09947	99.9	1.3	適	否



# 試験結果の傾向を把握

➡ 分析ランごとに行う管理試料の測定結果を管理図で把握

## 小麦(Z-score)



# 併行許容差

---

- ▶ 二重試験の結果を評価
- ▶ 基準: 室間標準偏差から併行標準偏差を推定し、二重試験の差がそれ以内にあること

- ▶ **併行許容差 =  $2.8\sigma \times 0.66$**

- ▶ 2.8:  $1.96$  (95%信頼区間のk)  $\times \sqrt{2}$
- ▶ 0.66: 室間標準偏差から室内標準偏差を推定する係数
- ▶ 室間標準偏差

$$\sigma = 0.02C^{0.8495} / mr \quad (\text{Horwitzの近似式})$$

C: 2重試験の平均値

mr: 質量比 (1ppmであれば  $10^{-6}$ )

$C \leq 0.12\text{ppm}$  の場合は必要に応じて、 $\sigma = 0.22$  でも評価



# 併行許容差 判定例

---

- ▶ 例1) 試料A ① 0.14 (mg/kg)  
② 0.12

$$\sigma = 0.02 \times (((0.14 \times 10^{-6} + 0.12 \times 10^{-6}) / 2))^{0.8495} / 10^{-6} = 0.02827$$

$$\text{併行許容差} = 2.8 \times 0.02827 \times 0.66 = 0.052$$

$$\text{判定 } 0.14 - 0.12 = 0.02 \quad 0.02 < 0.052 \quad \text{○(適合)}$$

$$= 2.8 * (0.02 * (\text{average}(B1:B2) * 1e-6)^{0.8495} / 1e-6) * 0.66$$

- 
- ▶ 例2) 試料B ① 0.037 (mg/kg)  
② 0.027

$$\sigma = 0.22 \times (0.037 + 0.027) / 2 = 0.00704$$

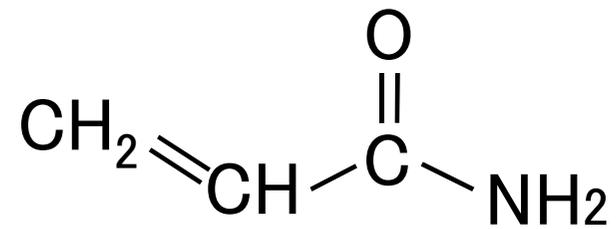
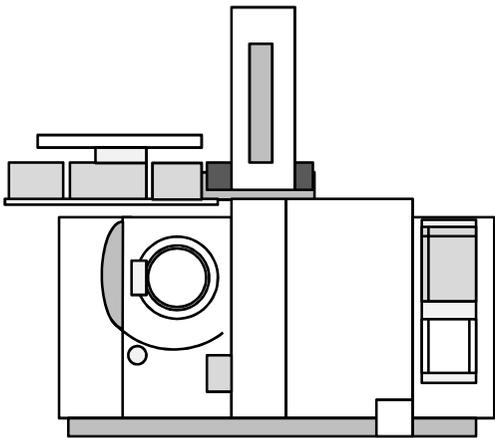
$$\text{併行許容差} = 2.8 \times 0.00704 \times 0.66 = 0.013$$

$$\text{判定 } 0.037 - 0.027 = 0.010 \quad 0.010 < 0.013 \quad \text{○(適合)}$$

$$= 2.8 * (0.22 * (\text{average}(C1:C2) * 0.66))$$



# アクリルアミド試験法



# アクリルアミドについて

---

## 食品中のアクリルアミドについて

- ▶ 2002年4月:スウェーデン食品庁、ストックホルム大学が高温調理した馬鈴薯や穀物加工品に含まれることを発表
- ▶ 食品中のアスパラギンと還元糖が高温の調理によるアミノカルボニル反応で生成するのが主要な生成経路と考えられるが、その他にも複数の生成経路が報告されている
- ▶ 農林水産省が、これまで実態調査やウェブサイトでの情報提供を実施。また、農林水産省は2013年に食品事業者を対象としたアクリルアミド低減のための指針を公表。

## 化学的特徴

- ▶ きわめて水溶性が高い。UV、蛍光等での検出は困難。
- ▶ 溶解度 204g/100ml(水、25°C)、 $\log P_{ow} = -0.67$   
※参考:ショ糖 211.5g/100ml(水、20°C)、 $\log P_{ow} = -3.67$



# アクリルアミド試験法（抽出）

粉碎試料 3g ブレンダーカップへ採取

アクリルアミド-d3 1  $\mu\text{g}$ の濃度で添加

ヘキサン 20 ml

水 100 ml

ブレンダーで磨砕 1min

全量を三角フラスコに移し振とう抽出 10 min

抽出液水層 約50 ml を遠心管に採取

遠心分離 ポテトスナック 3000  $\times$  g

                  ビスケット 2000  $\times$  g

吸引ろ過(ガラス繊維濾紙)、

必要に応じて予備ろ過\*(JIS 5A)

ろ液



## アクリルアミド試験法（注意）

---

- ▶ 生いもから作られたポテトチップなどは、アルファー化でんぷんが溶け出すためか、抽出液がのりを溶かしたような性状に
- ▶ ろ過が非常に困難だが、次の操作で固相抽出操作があるため、できるだけ固形分を除去したい
- ▶ このため、一度、粗大沈殿用ろ紙(5A)で予備ろ過した後、ガラス繊維ろ紙で再度ろ過することにした
- ▶ のり状の高粘度液体でも簡単にろ過できるフィルター、方法を模索中



# アクリルアミド試験法（精製）

ろ液 40ml

固相抽出 ODS(360mg) + 活性炭(400mg)

活性炭(400mg)

通過液

ODS(360mg)

窒素ガス 通気乾燥

メタノール 5mlで溶出

溶出液(10ml試験管)

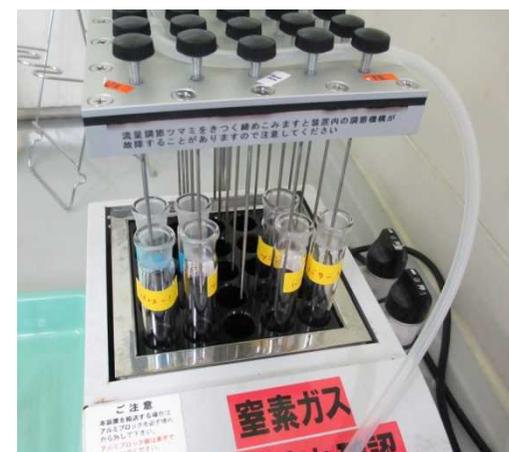
活性炭(400mg)

10%ジエチレングリコール・メタノール溶液 0.1ml

40℃以下、窒素吹きつけにより溶媒を除去

メタノール1mlに溶解

メタノール溶液



# アクリルアミド試験法（誘導体化）

## メタノール溶液

0.3mol/L塩酸メタノール 0.1ml

10%キサントヒドロールメタノール溶液 0.1ml

ボルテックスミキサーでかくはん

誘導体化反応 40℃、2hr

40℃以下、窒素吹きつけにより溶媒を除去

酢酸エチル 2ml、水 5ml、塩化ナトリウム 2g

振とう抽出 5min

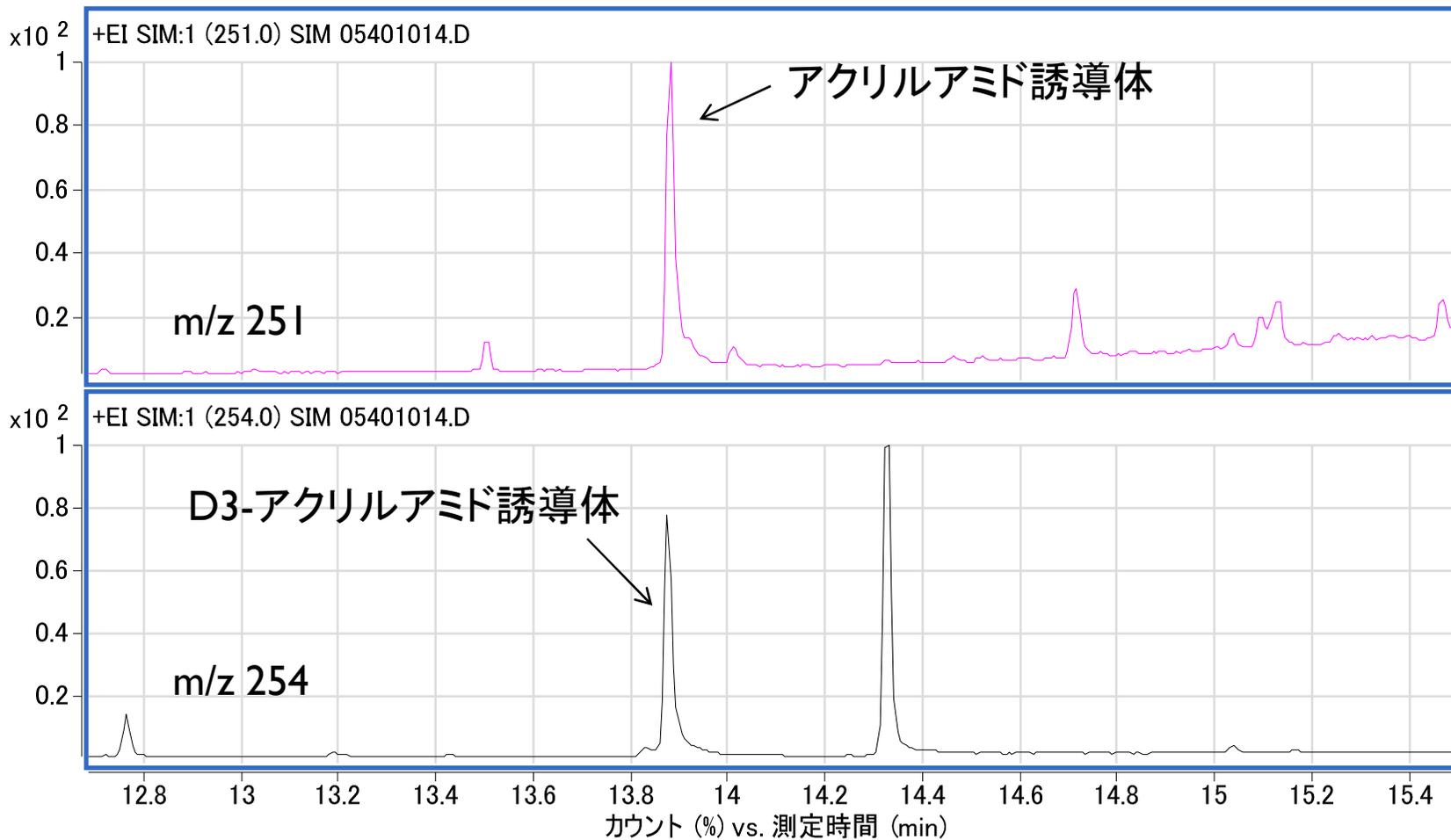
## 酢酸エチル層

水層

## GC-MS 試験溶液



# GC-MS SIMクロマトグラム



試料中濃度 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ポテトスナック)



# アクリルアミド試験法の性能

## ポテトスナック中のアクリルアミド試験法

- ▶ LOD 4 $\mu$ g/kg
- ▶ LOQ 12 $\mu$ g/kg
- ▶ 範囲 12–2500 $\mu$ g/kg
- ▶ 直線性  $R^2=0.9996$  (12–250 $\mu$ g/kg)、 $R^2=0.9993$  (250–2500 $\mu$ g/kg)
- ▶ 真度 100.9% (LOQ付近)、95.3% (LOQ $\times$ 10付近)
- ▶ 併行精度 RSDr=2.4% (LOQ付近)  
RSDr=0.9% (LOD $\times$ 10)
- ▶ 室内精度 RDSi=6.1% (LOQ付近)  
RSDi=6.5% (LOD $\times$ 10)



分析法参考：農林水産省，有害化学物質含有実態調査結果データ集（平成15～22年度）  
URL：[http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk\\_analysis/survei/pdf/chem15-22.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/survei/pdf/chem15-22.pdf)

