

乳児用調製乳中のクロロプロパノール類及び関連物質の高感度分析法の開発

背景・目的：クロロプロパノール類及びその関連物質は、3-MCPDやそのエステル体である3-MCPD脂肪酸エステル類（3-MCPDE）、グリシドール脂肪酸エステル類（GE）を含み、油脂の精製工程で主に高温加熱した際に意図せず生成する有害化学物質である。そのため、国内のみならず、諸外国においても関心が非常に高く、中でも精製油や精製油を原料として製造する乳児用調製乳中については、3-MCPDE/GEの濃度を低減するための努力継続が国際的に推奨されており、わが国の関係製造事業者も、食品中の3-MCPDE/GEの低減に努めている。

こうした製造事業者による低減対策の有効性の検証が必要であるが、日本国内において、これら関連物質の基準値設定がなく、また乳児用調製乳中のこれらの物質を十分に低い濃度範囲で精確に定量することが可能な分析法も整備されていない。

そこで、本研究では、AOAC Internationalの合同試験の候補となっている2つの分析法を軸に、乳児用調製粉乳中のこれらの物質の分析法の確立を行い、その分析法をAOAC International 又はEUの定める性能規準と照合して性能評価を行うこととした。

AOAC Internationalの合同試験法

- ①Kuhlmann J. et al. 2019. 2-Monochloropropanediol (2-MCPD), 3-Monochloropropanediol (3-MCPD) and Glycidol in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula: Single-Laboratory Validation, First Action 2018.12. J. AOAC Int. 102 (4) 1205-1220 ⇒ **以下、SGS法**
- ②Dubois M. et al. 2019. Determination of 2- and 3-MCPD as well as 2- and 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters (GE) in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry Method, First Action 2018.03. J. AOAC Int. 102 (3) 903-914 ⇒ **以下、ネスレ法**

両試験法の検証結果

- SGS法**
- ・試料導入部(注入口)にProgrammable Temperature Vaporizer (PTV) 装置を使用。
⇒ **より汎用性の高いスプリット/スプリットレス注入法に代替することが可能。**
 - ・注入口の温度条件によりGEの二次的生成。⇒ **注入口の温度は135℃とすることで回避**
- ネスレ法**
- ・試料抽出時の高速振とう機の汎用性が低い。
 - ・GC-MS/MS使用を想定した測定感度の試験設計。⇒ **ハード面での制限が大きい。**
 - ・試験工程に3-MCPDE/GE未含有のブランクオイルが必要。
⇒ **調達が困難、使用しない方法の検討が必要。**

SGS法を一部変更した方法の検討・開発

研究成果①SGS法（改変）の開発

カラム: DB-17ms ϕ 0.25 mm $\times$ 30 m、膜厚 0.25 μ m
注入方法: **スプリット/スプリットレス注入口、スプリットレス**
温度: **注入口 135℃**
カラム 85℃(0.5 min保持)→6℃/min昇温→150℃→12℃/min昇温→180℃→25℃/min昇温→280℃(8 min保持)
イオン化法及びイオン源温度: EI, 230℃
ガス流量: ヘリウム 1.0 mL/min
パージ流量: 50 mL/min、1分
注入量: **1 μ L**

研究成果②乳児用調製粉乳におけるSGS法(改変)を用いた妥当性確認(7併行、3日間の添加回収試験)結果とAOAC International 又はEUの定める性能規準

分析種	項目	AOAC International規準	EU 規準	SGS法(改変)
3-MCPD又は3-MCPDE (3-MCPD当量)	真度: 回収率(%)	70-125	遊離型: 75-110 結合型: 70-125	遊離型: 82-83 結合型: 114-115
	精度: RSD _r (%)	≤ 22	≤ 15	1.6-5.0
	LOQ (μg/kg)	≤ 25 (遊離型及び結合型の総量)	遊離型: ≤ 14 結合型: ≤ 50	10 (遊離型及び結合型それぞれ)
2-MCPD又は2-MCPDE (2-MCPD当量)	真度: 回収率(%)	70-125	基準なし	遊離型: 94-95 結合型: 93-95
	精度: RSD _r (%)	≤ 22		2.0-4.1
	LOQ (μg/kg)	≤ 25 (遊離型及び結合型の総量)		10 (遊離型及び結合型それぞれ)
GE (グリシドール当量)	真度: 回収率(%)	70-125	70-125	100-103
	精度: RSD _r (%)	≤ 22	≤ 15	4.2-7.6
	LOQ (μg/kg)	≤ 15	≤ 20	10

まとめ

AOAC Internationalの合同試験候補の一つであるSGS法について、GEの二次的生成が確認されたため、注入条件(注入温度)を最適化した。確立した方法「SGS法(改変)」は妥当性確認を実施した結果、AOAC International 又はEUの定める性能規準を十分に満たしており、乳児用調製粉乳中の3-MCPDE 及びGE が十分に低い濃度範囲で精確に定量することができる分析法であると確認された。

研究機関: 一般財団法人日本食品分析センター
研究総括者: 水越 一史