

平成 17 年度アクリルアミド含有実態調査で使用した分析法及び妥当性確認の結果
(パン類、ビスケット類、フライドポテト、乳幼児用ビスケット類、アイスコーヒー、
缶コーヒー)

(1) 分析方法

(ア) 試料の調製方法

パン類、ビスケット類、フライドポテト、乳幼児用ビスケット類

1 製品の全量を粉砕機により粉砕・混合して均質化したものを分析用試料としました。食パンは、耳と中心部に分けて調製し、それぞれを分析用試料としました。食パンの中心部は食パン 15 点の中から 5 点をランダムに抽出して分析、食パンの耳は食パン 15 点すべてを分析しました。

アイスコーヒー、缶コーヒー

製品をそのまま分析用試料としました。ファーストフード店で購入したアイスコーヒーは、氷を除いたものを分析用試料としました。

(イ) 分析手順

パン類、ビスケット類、フライドポテト、乳幼児用ビスケット類

分析用試料 3 g に水 100 mL、内標準物質 (アクリルアミド- d_3) 1 μ g 及びヘキサン 20 mL を加え、ホモジナイザーを用いて約 1 分間攪拌しました。

10 分間振とう後、遠心分離 (2,000 rpm、10 分間) しました。水層をガラス繊維ろ紙で吸引ろ過し、ろ液 40 mL を Sep-Pak[®] C18 カートリッジ及び Sep-Pak[®] AC-2 カートリッジを連結したカラムに流速 5 mL/分で通過させ、アクリルアミドを Sep-Pak[®] AC-2 カートリッジに吸着させました。Sep-Pak[®] AC-2 カートリッジを取り外し、窒素ガスを通気して水分を除去した後、メタノール 5 mL でアクリルアミドを溶出させました。溶出液に 10 % (w/v) ジエチレングリコールのメタノール溶液約 0.1 mL を加えて減圧濃縮後、乾固させました。

残留物をメタノール 1 mL に溶解し、5 % (w/v) キサントヒドロールのメタノール溶液 0.1 mL 及び 0.3 mol/L の塩酸メタノール溶液 0.1 mL を加え、40 °C の水浴中で 2 時間放置し誘導体化を行いました。

反応液を減圧下乾固し、水 5 mL 及び塩化ナトリウム約 2 g を加え、酢酸エチル 2 mL で抽出し、試験溶液としました。

試験溶液 1 μ L をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) に供し、定量しました。GC/MS の条件は、表 1 のとおりです。

表 1 アクリルアミド分析における GC/MS の条件

機種	6890/5973N (Agilent Technologies, Inc.)
カラム	DB-5 (Agilent Technologies, Inc.) 0.25 mm i.d. × 30 m, 膜厚 0.25 μ m

注入方法	スプリットレス
温度	試料導入口 250 °C カラム 40 °C(2 分保持)→ 20 °C/分昇温 → 300 °C
ガス流量	ヘリウム、1 mL/分
イオン化法	EI イオン源温度 230 °C イオン化電圧: 70 eV
設定質量数 (m/z)	アクリルアミド誘導体化物: 251, 234 内標準物質誘導体化物: 254

アイスコーヒー、缶コーヒー

分析用試料 30 g に水 70 mL 及び内標準物質（アクリルアミド- d_3 ）1 μg を加えました。

これ以降の抽出・前処理・誘導体化は、パン類等の場合と同様に操作しました。ただし、ホモジナイザーによる攪拌操作は行わず、振とう及び遠心分離以降を同様に操作しました。

(2) 妥当性確認の結果

(ア) 検出限界及び定量限界

予想される定量限界相当の濃度のアクリルアミドを含んでいる試料（ロールパン、ビスケット、アイスコーヒー）について、7 回繰り返し測定をしたときの測定値の標準偏差から次式により算出しました。

$$\text{検出限界} = 2 \times t(n-1, 0.05) \times \text{標準偏差}$$

$$\text{定量限界} = 10 \times \text{標準偏差}$$

$t(n-1, 0.05)$: 自由度 $n-1$ のときの危険率 5% (片側) の t-分布表の値 (=1.943)

表 2 検出限界及び定量限界

調査対象食品	検出限界 (mg/kg)	定量限界 (mg/kg)
パン類		
食パン (中心部)	0.005	0.02
食パン (耳)	0.005	0.02
ロールパン	0.005	0.02
ビスケット類	0.005	0.02
フライドポテト	0.005	0.02
アイスコーヒー	0.0006	0.002
缶コーヒー	0.0006	0.002
乳幼児用ビスケット類	0.005	0.02

(イ) 標準添加回収率

試料（ロールパン、ビスケット、フライドポテト、乳幼児用ビスケット、アイスコーヒー）に、表 3 に示した 2 濃度に相当する量のアクリルアミド標準液を添加し、それぞれの濃度で 3 回分析し、それぞれの濃度における回収率及び標準偏差 (SDr) を算出しました。その結果、回収率が分析法の性能規準に関する国際的なガイドラインに示されている値を概ね満たしていることを確認しました。

表 3 標準添加回収試験の結果

調査対象食品	添加濃度 (mg/kg)	回収率の範囲(%)	平均回収率 (%)	回収率の標準偏差 (SDr)
ロールパン	0.020	87 - 101	94	7.7
	0.10	90 - 95	93	3.3
ビスケット	0.02	99 - 113	105	6.8
	2.3	84 - 87	86	1.8
乳幼児用ビスケット	3.3	93 - 98	95	2.6
フライドポテト	0.12	79 - 85	83	4.0
	1.6	91 - 95	93	2.4
アイスコーヒー	0.003	114 - 120	117	2.2
	0.033	96 - 100	98	2.0

(ウ) 測定の不確かさ

各調査品目について、表 4 に示した 2 濃度のアクリルアミドを含む試料を、それぞれ 7 回繰り返し試験し、併行精度(RSDr)を算出しました。ロールパンについては、全試料が定量限界未満だったため、試料に表 4 に示した 2 濃度に相当する量のアクリルアミド標準液を添加し、試験をしました。

その結果、RSDr は、分析法の性能基準に関する国際的なガイドラインに示されている値を満たしていることを確認しました。

表4 繰り返し試験から算出した併行精度 (RSDr)

調査対象食品	試料中の濃度(mg/kg)	RSDr(%)
ロールパン	0.02 (添加)	5.5
	0.20 (添加)	2.5
ビスケット類	0.03	5.0
	0.21	3.4
ベビーフード	0.30	3.7
フライドポテト	0.12	8.4
	0.46	2.6
アイスコーヒー	0.003	2.3
	0.033	3.6