

平成 19 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
(ポテトスナック、フライドポテト、ルウ、レトルト食品、調理野菜)

(1) 分析方法

(ア) 試料の調製

フライドポテト、ポテトスナック、ルウ、レトルト食品

1 製品の全量を粉砕機等で粉砕・混合して均質化したものを分析用試料としました。

調理野菜

調理後の試料を冷凍した状態で別の施設に移送・保管後に解凍して、全量をフードプロセッサーにより粉砕・均質化したものを分析用試料としました。

(イ) 分析法

ポテトスナック、フライドポテト

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 塩酸のメタノール溶液 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 1-1 のとおりです。

表 1-1 アクリルアミド分析における GC/MS の条件 1

機種	6890/5973N (Agilent Technologies, Inc.)
カラム	DB-5 MS (Agilent Technologies, Inc.) 0.25 mm i.d. \times 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) \rightarrow 20 °C/分昇温 \rightarrow 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

ルウ、レトルト食品

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、水 20 mL を流速 5 mL/分で通水後、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。

これ以降の誘導体化は、ポテトスナックの場合と同様に操作しました。

調理食品

分析用試料 10 g に水 100 mL と内標準物質（アクリルアミド- d_3 ）2 μ g、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 20 mL 分取し、Extrelut[®] NT 20 に負荷後、室温にて 30 分間放置し、酢酸エチル 150 mL にて溶出させました。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、水 40 mL に残さを溶解しました。Sep-Pak[®] C18 カートリッジと 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 と 0.3 mol/L 塩酸のメタノール溶液 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 と塩化ナトリウム約 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 1-2 のとおりです。

表 1-2 アクリルアミド分析における GC-MS の条件 2

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

(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（ポテトスナック、レトルトカレー、野菜の混合試料（さやいんげん、アスパラガス及びブロッコリーの等重量混合）について、7回繰り返し分析したとき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)
ポテトスナック	0.005	0.020
フライドポテト	0.005	0.020
ルウ、レトルト食品	0.005	0.012
調理野菜	0.005	0.012

(イ) 添加回収率

試料（ポテトスナック、フライドポテト、レトルトカレー、野菜の混合試料（さやいんげん、アスパラガス及びブロッコリーの等重量混合）に、表 3 に示

した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)
ポテトスナック	0.02	88 - 111	100	12
	6.6	95 - 101	99	2.8
フライドポテト	0.33	93 - 102	96	4.8
	6.6	93 - 99	95	3.0
レトルトカレー	0.02	84 - 98	93	8.3
カレールウ	1	99 - 103	101	2.1
たまねぎ	0.02	70 - 85	79	9.8
アスパラガス	1	104 - 109	107	2.3

(ウ) 測定の不確かさ

ポテトスナック及びフライドポテトについて、表 4-1 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 回の繰り返し試験し、併行精度(RSDr)を算出しました。

また、カレールウ、もやし及びアスパラガスについて、表 4-2 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 回の繰り返し試験を異なる 3 日間で実施し、室内再現精度(RSDi)を算出しました。

その結果、RSDr 及び RSDi 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 4-1 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(%)
ポテトスナック	0.0041	5.6
	0.76	4.7
フライドポテト	0.18	7.9
	1.1	3.5
カレールウ	0.14	3.9
	0.45	6.4

表 4-2 繰り返し試験から算出した室内再現精度 (RSDi)

調査対象食品	試料中の濃度(mg/kg)	RSDi(%)
カレールウ	0.14	3.9
	0.45	6.4
もやし	0.07	3.1
アスパラガス	0.23	3.7