

平成 20 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
(含みつ糖)

(1) 分析方法

(ア) 試料の調製方法

1 製品の全量をホモジナイザーにより粉砕・混合して均質化したものを分析用試料としました。

(イ) 分析手順

分析用試料 10 g に 1 ng/mL の内標準物質 (アクリルアミド- 1,2,3-¹³C₃) 標準溶液を 30 μL 添加し、水 15 mL を加え湿潤させた後、アセトン 50 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。

セライトをひいたろ紙で吸引ろ過を行い、ろ紙上の残留物をアセトン 10 mL で 3 回洗浄し、洗浄液もろ液に合わせ、これを 15 mL になるまで 40 ° C 以下で減圧濃縮しました。

減圧濃縮した抽出液及びナスフラスコの壁面の洗浄液 (ジクロロメタン 10 mL で 2 回洗い込み) を遠沈管に移し、1 分間振とう後、遠心分離 (3,000 rpm、5 分間) しました。ジクロロメタン層を除去し、再度ジクロロメタン 20 mL を加え、1 分間振とう後、遠心分離 (3,000 rpm、5 分間) しました。ジクロロメタン層を除去した後、精製水で 15 mL に定容しました(この溶液を、以下で「調製液」とします。)

Bond Elut[®] C18 カートリッジを上側に、Bond Elut[®] SCX カートリッジを下側にしてカラムを連結し、メタノール 10 mL、精製水 10 mL を順次注入してコンディショニングした後、調製液を 5 mL 負荷し、この流下液及び精製水 2 mL でカラムを洗浄 (2 回) した流下液とを合わせ、水で 10 mL に定容し、試験溶液としました。

試験溶液 10 μL を高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC/MS/MS) に供し、定量しました。LC/MS/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 LC/MS/MS の条件

機種	Alliance 2695 + Quattro micro (Waters)
HPLC カラム (連結)	SunFire C18 (Waters) 2.1 mm i.d. × 150 mm, 粒径 3.5 μm Develosil C30-UG-5 (野村化学) 2.0 mm i.d. × 150 mm
カラム温度	40 °C
移動相	アセトニトリル/ 0.1%ギ酸 (10/90)
流速	0.2 mL/分

MS/MS	イオン化法:ESI (ポジティブ) キャピラリー電圧:3 kV エクストラクター電圧:2 V RFレンズ電圧:0.1 V イオン源温度:120 °C 脱溶媒ガス温度:450 °C コーンガス流量:50 L/h 脱溶媒ガス流量:600 L/h
設定質量数 (m/z)	アクリルアミド:71.7、54.8 内標準物質:74.8、57.9

(2) 妥当性確認の結果

(ア) 検出限界及び定量限界

試料（黒糖）にアクリルアミド標準液を、検出限界付近の濃度となるよう添加し、7回繰り返し分析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。

検出限界 = $3 \times$ 標準偏差

定量限界 = $10 \times$ 標準偏差

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)
黒糖	0.008	0.027

(イ) 標準添加回収率

試料（黒糖）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7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)
含みつ糖	0.03	93 - 121	105	8.6
	0.6	104 - 112	107	2.4

(ウ) 測定の不確かさ

試料（黒糖）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、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、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 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	添加濃度(mg/kg)	RSDi(%)
含みつ糖	0.03	6.4
	0.6	4.1