

平成 21 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
(米菓せんべい、あられ・おかき、焙煎コーヒー豆、粉末飲料、乾燥果実)

(1) 分析方法

(ア) 試料の調製方法

1 製品の全量をフードミル(TML17 TESCO)で粉碎・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 1.0 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 50 μL、0.1%ギ酸 1 mL 及び水 9 mL を加えました。

これを 20 分間振とう後、遠心分離 (12,000 rpm、15 分間) しました。遠心上清の中間層 5 mL を分取し、分取液のうち約 2 mL を限外濾過チューブにとり、遠心分離 (9,000 rpm、4 分間以上) して分離濾過しました。このとき、限外濾過チューブを通りにくい場合は、メンブランフィルター (0.45 μm) で濾過しました。

Oasis[®] HLB カートリッジをメタノール 3.5 mL 及び水 3.5 mL で洗浄した後、上記ろ過液 1.5 mL を正確に分取し、固相カラムに負荷しました。水 0.5 mL で洗浄後、水 1.5 mL でアクリルアミドを溶出させました。

この溶出液のうち 0.5 mL を、メタノール 2.5 mL 及び水 2.5 mL で洗浄した Bond Elut[®] AccuCat カートリッジに負荷し、流下液を捨て、先の固相カラム Oasis[®] HLB の残りの溶出液 1.0 mL で負荷した溶出液を全量回収し、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	LC/MS/MS API4000 QTRAP (AB SCIEX)
HPLC カラム	Atlantis dC18 (Waters) 2.1 mm i.d. ×150 mm, 粒径 3 μm ガードカラム Cartridge Guard Column (Waters) 2.1 mm i.d. × 20 mm
カラム温度	40 °C
移動相	0.1%酢酸/メタノール (99.5/0.5)
流速	0.2 mL/分

MS/MS	イオン化法:ESI (ポジティブ) イオンスプレー電圧:5500V イオン源温度:600 °C デクラスタリング電位:51 V(アクリルアミド)、46 V(内標準物質) コリジョンエネルギー:17 V(アクリルアミド、内標準物質)
設定質量数 (m/z)	アクリルアミド:72、55 内標準物質:75、58

(2) 妥当性確認の結果

(ア) 検出限界及び定量限界

アクリルアミド標準液を添加していない低濃度試料（米菓せんべい、あられ・おかき（焼いたもの、揚げたもの）、コーヒー豆、乾燥果実）を7回繰り返し測定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=3.3×標準偏差

定量限界=10×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)
米菓せんべい、あられ・おかき（焼いた物）	0.003	0.007
米菓せんべい、あられ・おかき（揚げた物）	0.010	0.028
コーヒー豆	0.003	0.008
粉末飲料	0.002	0.004
乾燥果実	0.003	0.007

(イ) 標準添加回収率

試料（米菓せんべい、あられ・おかき（焼いたもの、揚げたもの）、コーヒー豆、粉末飲料、乾燥果実）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)
米菓せんべい、あられ・おかき (焼いた物)	0.010	95 - 109	105	4.4
	5.0	111 - 113	112	0.8
米菓せんべい、あられ・おかき (揚げた物)	0.050	77 - 92	86	6.3
	5.0	83 - 92	87	4.0
コーヒー豆	0.020	75 - 102	85	13
	5.0	108 - 114	111	1.9
粉末飲料	0.010	84 - 90	88	2.1
	5.0	105 - 111	108	1.7
乾燥果実	0.010	91 - 108	101	5.7
	5.0	89 - 96	94	2.8

(ウ) 測定の不確かさ

各調査食品について、アクリルアミドを表 4 に示した 2 濃度を添加した試料を、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、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(%)
米菓せんべい、あられ・おかき (焼いた物)	0.010	8.1
	5.0	1.1
米菓せんべい、あられ・おかき (揚げた物)	0.050	7.2
	5.0	6.2
コーヒー豆	0.020	7.2
	5.0	6.3
粉末飲料	0.010	2.3
	5.0	1.8
乾燥果実	0.010	6.6
	5.0	7.4