

平成 24 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、ビスケット類、乳幼児用菓子類、ほうじ茶(茶葉)、麦茶用大麦(煎り麦)、  
レギュラーコーヒー(豆)、インスタントコーヒー(固形)、レトルトカレー)

## (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。

### (イ) 分析手順

分析用試料 2.0 g に 100 µg/mL の内標準物質(アクリルアミド-1-<sup>13</sup>C) 溶液 20 µL と水 40 mL を加え、ホモジナイザーを用いて約 2 分間攪拌しました。遠心分離(2,600 rpm、10 分間)した上澄み液を、50 mL の共栓付メスシリンダーに移し水で 40 mL とし、このうち 20 mL (試料 1.0 g 相当) を 50 mL の共栓付遠沈管にとり、ヘキサン 10 mL を加え 5 分間振とう洗浄(2 回)を行いました(エマルジョンが生じた場合には 3,000 rpm で 5 分間遠心分離)。

5 mol/L 硫酸を用いて pH 1 以下とし、臭化カリウム 10 g を加えて完全に溶解したのち、0.1 mol/L 臭素酸カリウム溶液 6 mL を加え、よく混合してから冷蔵庫(4~10 °C)中で 90 分間静置しました。

臭素化後の溶液に 1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液を臭素の黄褐色が消失するまで加え、過剰の臭素を分解しました。酢酸エチル 10 mL を加え 5 分間振とう抽出を 2 回行いました(エマルジョンが生じた場合には 3,000 rpm で 5 分間遠心分離)。

抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水し、減圧濃縮して酢酸エチルを留去しました。残留物を 10%アセトン含有ヘキサン約 2 mL で溶解し、Sep-Pak® PLUS フロリジルカートリッジ(あらかじめヘキサン 10 mL で洗浄したもの)に負荷しました濃縮容器を 10%アセトン含有ヘキサン 1 mL ずつを用いて 2 回洗浄し、その洗液を当該カラムに負荷しました。カラムを 10%アセトン含有ヘキサン 6 mL で洗浄した後、20%アセトン含有ヘキサン 15 mL で溶出した流下液を減圧濃縮後、窒素ガスを吹き付けて溶媒を留去しました。残留物にアセトン 0.5 mL とトリエチルアミン 20 µL を加えて脱臭化水素し、試験溶液としました。

試験溶液 2 µL 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	GCMS-QP2010 Plus (島津製作所)
カラム	TC-WAX (J&W Scientific) 0.25 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μm ガードカラム: 不活性化キャピラリー (J&W Scientific) 0.25 mm i.d. × 2 m
注入方法	スプリットレス
温度	試料導入口 250 °C カラム 50 °C(1 分保持) → 15 °C/分昇温 → 240 °C(11.3 分) トランスファーライン温度 240 °C
ガス流量	ヘリウム、1 mL/分
イオン化法	EI 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: 149, 151 内標準物質誘導体化物: 150, 152

**(2) 妥当性確認の結果**

**(ア) 検出限界及び定量限界**

試料 (乳幼児用穀類加工品、レトルトカレー、レギュラーコーヒー) に定量限界付近濃度となるようアクリルアミド標準液を添加し、7 回繰り返し分析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。

計算式 検出限界=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)
レギュラーコーヒー	0.004	0.02
乳幼児用穀類加工品	0.005	0.02
レトルトカレー	0.004	0.02

**(イ) 標準添加回収率**

試料 (レギュラーコーヒー、乳幼児用穀類加工品、レトルトカレー) 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 7 回の繰り返し試験を異なる 3 日間で実施し、それぞれの濃度における回収率及び標準偏差 (SDi) 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(SDi)
レギュラーコーヒー	0.030	94 - 100	98	1.7
	1.0	101 - 105	103	0.91
乳幼児用穀類加工品	0.030	100 - 107	104	2.0
	1.0	100 - 105	103	1.4
レトルトカレー	0.030	100 - 104	102	1.4
	1.0	100 - 104	103	0.94

**(ウ) 測定の不確かさ**

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た試料(レギュラーコーヒー、乳幼児用穀類加工品、レトルトカレー)について、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(RSD<sub>i</sub>)を算出しました。

その結果、RSD<sub>i</sub>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 (RSD<sub>i</sub>)**

調査対象食品	試料中の濃度(mg/kg)	RSD <sub>i</sub> (%)
レギュラーコーヒー	0.030	1.4
	1.0	0.90
乳幼児用穀類加工品	0.030	2.0
	1.0	1.4
レトルトカレー	0.030	1.4
	1.0	0.94