

平成 25 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、含みつ糖、パン類)

(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) 分析方法

分析用試料 10 g (パン類の場合 20 g) に 100 µg/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 1 分間攪拌しました。

セライトをひいたろ紙で吸引ろ過し、ろ紙上の残留物をアセトン 10 mL で 3 回洗浄し、洗浄液もろ液にあわせました。ロータリーエバポレーターを用いて、15 mL 以下になるまで 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 分間振とうした後、遠心分離 (3000 rpm、5 分間) しました。ジクロロメタン層 (下層) を除去し、再度、ジクロロメタン 20 mL を加えて 1 分間振とうした後、遠心分離 (3000 rpm、5 分間) しました。ジクロロメタン層 (下層) を除去し、精製水で 15 mL に定容しました。

Bond Elut® C18 カラムを上側に、Bond Elut® SCX カラムを下側にして連結した後、メタノール 10 mL、精製水 10 mL を順次注入して洗浄しました。15 mL にメスアップした調製液 5 mL をカラムに負荷し、この流下液及び精製水 2 mL でカラムを洗浄 (2 回) した流下液を合わせ、精製水で 10 mL に定容し、試験溶液としました。

試験溶液 10 µL (黒糖の場合) または 20 µL (ポテト系スナック菓子、フライドポテト、パンの場合) を高速液体クロマトグラフータンデム質量分析計 (LC/MS/MS) に供し、定量しました。LC/MS/MS の測定条件は表 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	Alliance2695 + Quattro micro (Waters)
HPLC カラム	<p><黒糖の場合></p> <p>SunFire C18 (Waters)</p> <p>2.1 mm i.d. × 150 mm 膜厚 3.5 µm</p> <p>Develosil C30-UG-5 (野村化学)</p> <p>2.0 mm i.d. × 150 mm</p>

	<ポテト系スナック菓子、フライドポテト、パンの場合> Discovery C18 (SUPELCO) 4.6 mm i.d. × 250 mm 膜厚 5 μm
カラム温度	40 °C
移動相	<黒糖の場合> アセトニトリル：0.1%ギ酸=10：90 <ポテト系スナック菓子、フライドポテト、パンの場合> アセトニトリル：0.1%ギ酸=2：98
流速	0.2 mL/min
MS/MS	イオン化法：ESI (+) 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：150 °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（フライドポテト、食パン、黒糖）にアクリルアミド標準液を、定量限界付近の濃度となるよう添加し、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。

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)
ポテトスナック・フライドポテト	0.008	0.03
パン類	0.002	0.007
含みつ糖	0.002	0.007

(イ) 標準添加回収率

試料（フライドポテト、食パン、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)
フライドポテト	0.15	90 - 93	92	1.5
	0.6	102 - 103	103	0.44
食パン	0.015	103 - 117	109	4.1
	0.3	101 - 109	104	2.7
黒糖	0.03	111 - 118	115	1.9
	0.6	88 - 92	90	1.7

(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（フライドポテト、食パン、黒糖）、又は表 4 に示した濃度のアクリルアミドが含まれる試料について、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_i）を算出しました。

その結果、RSD_i 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_i）

調査対象食品	添加濃度(mg/kg)	RSD _i (%)
フライドポテト	0.2（無添加）	1.3
	0.6	3.7
食パン	0.015	3.4
	0.3	3.7
黒糖	0.03	1.6
	0.6	3.5