

平成 27 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性能検証の結果
(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 製品の全量をフードプロセッサー、ホモジナイザー等の適切な器具を用いて粉砕、混合し、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 (パン類は 20 g) にサロゲート物質溶液 (アクリルアミド $^{13}\text{C}_3$ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を 30 μL 、水 15 mL、アセトン 50 mL を加えた後、1 分間ホモジナイズ抽出を行いました。ホモジナイズ後、セライトをしいたろ紙で吸引ろ過を行い、ろ紙上の残留物はアセトン 10 mL で 3 回洗浄し、洗浄液もろ液に合わせました。ろ液をロータリーエバポレータにより、40°C 以下で溶液が 15 mL 以下になるまで減圧濃縮しました。

そして、ジクロロメタン 20 mL 添加、1 分間振とう、遠心分離 (3,000 rpm、5 分間)、ジクロロメタン除去を 2 度行い、液液抽出をしました。

Bond Elut C18 と Bond Elut SCX を連結したカラム (あらかじめメタノール 10 mL、水 10 mL でコンディショニングしたもの。) に調製液を 5 mL 負荷させ、流出液を得ました。さらに精製水 2 mL で 2 回カラムを洗い、その洗浄液を流出液に合わせました。流出液を 10 mL に定容し、試験溶液とし、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) で定量しました。LC-MS/MS の条件は表 1 の通りです。

表 1 アクリルアミド分析における LC-MS/MS の条件

機種	LC: Waters Alliance2695 (Waters) MS/MS: Waters Quattro micro (Waters)
HPLC カラム	SUPELCO Discovery C18 4.6 mm i.d. × 250 mm 粒径 5 μm
カラム温度	40 °C
移動相	アセトニトリル/0.1%ギ酸 (2/98)
流量	0.2 mL/min
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: 2V 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 アクリルアミド $^{13}\text{C}_3$ ：74.8 > 57.9

(2) 性能の検証結果

(ア) 検出限界及び定量限界

定量限界付近のアクリルアミドを含むフライドポテト、含みつ糖及びパンについて、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。パン類について、試料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。なお、ポテトスナックは、フライドポテトを用いて算出した値を、それぞれの検出限界及び定量限界としました。

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、パン類	0.008	0.03
含みつ糖	0.005	0.02

(イ) 標準添加回収率

試料（フライドポテト、含みつ糖、パン類）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て分析する操作を、それぞれの濃度で3回ずつ行い、それぞれの濃度における回収率及び相対標準偏差（ RSD_r ）を算出しました。平均回収率は許容できる範囲であ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 (%)	RSD_r %
フライドポテト	0.07	103 - 105	104	0.9
	0.5	101 - 102	101	0.8
含みつ糖	0.03	99 - 103	101	1.8
	0.5	98 - 100	99	0.9
パン類	0.03	94 - 108	102	7.0
	0.3	99 - 102	101	1.5

(ウ) 測定の不確かさ

試料（フライドポテト、含みつ糖、パン類）に、アクリルアミド標準液を添加し、表4に示した2濃度に相当する量のアクリルアミドを含む試料を調製し、それぞれ7回の繰り返し試験を異なる3日間に実施し、室内再現精度（RSD_i）を算出しました。RSD_iは許容できる範囲であ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	濃度(mg/kg)	RSD _i (%)
フライドポテト	0.06	1.9
	0.5	1.2
含みつ糖	0.04	2.0
	0.5	1.2
パン類	0.03	4.0
	0.3	2.8