

平成 28 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、ビスケット類、米菓、乳幼児用菓子類、ほうじ茶 (茶葉)、
 麦茶 (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 1.0 g を遠沈管に量り、サロゲート物質溶液 (200 µg/mL アクリルアミド ¹³C₃ 0.1%ギ酸) 1 mL、水 9 mL を加え、20 分間振とう抽出を行いました。次いで遠心分離 (9,000 rpm、15 分間) を行い、上層の油層と残渣を除き、水層の 5 mL を分取しました。水層が混濁している場合には、その 5 mL を限外ろ過チューブを用いて遠心分離 (9,000 rpm、3 分間) を行いました。得られた水層の 1.5 mL を、あらかじめメタノール 3.5 mL、水 3.5 mL で順次コンディショニングした Oasis HLB カートリッジに負荷し、水 0.5 mL を流したのち、水 1.5 mL で溶出を行いました。さらに得られた溶出液の 1.5 mL を、あらかじめメタノール 2.5 mL、水 2.5 mL で順次コンディショニングした Bond Elut Accucat カートリッジに負荷し、液面が固相上 1 mL の位置に下がるまでの溶出液を捨て、その後の溶出液 0.5 mL を集めました。この試料溶液を高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析 (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	API-4000 (AB SCIEX)
HPLC カラム	Inertsil ODS-3 (ジーエルサイエンス) 2.1 mm i.d. × 100 mm 粒径 3 µm
カラム温度	40 °C
移動相	0.2%酢酸・メタノール (99.5:0.5)
流量	0.2 mL/min
MS/MS	イオン化法 : ESI (ポジティブ) コリジョンエネルギー : アクリルアミド : 15 V (72.1 > 55.2) 17 V (72.1 > 44.3) 内標準物質 : 17 V (75.1 > 58.1)
設定質量数 (m/z)	アクリルアミド : 72.1 > 55.2、72.1 > 44.3 アクリルアミド ¹³ C ₃ : 75.1 > 58.1

(2) 性能の検証結果

(ア) 検出限界及び定量限界

アクリルアミド標準液を、検出限界又は定量限界として設定する濃度に調製し、これらを測定したときのシグナル (S) のノイズ (N) に対する比が、次の値以上であることを確認しました。

検出限界： 3 (S/N の値)

定量限界： 10 (S/N の値)

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、ビスケット類、米菓、乳幼児用菓子類、ほうじ茶(茶葉)、麦茶(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	0.01	0.03

(イ) 標準添加回収率

試料(ポテトスナック、米菓、ほうじ茶、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て分析する操作を、それぞれの濃度で18回(3回/日、3日間、実施者2名)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 %
ポテトチップス	0.03	85 - 117	100	10
	0.50	76 - 110	96	6.5
米菓	0.03	96 - 119	112	4.1
	0.50	82 - 113	101	9.1
ほうじ茶	0.03	83 - 116	110	8.5
	0.50	86 - 116	100	7.2
レトルトカレー	0.03	83 - 110	100	5.4
	0.50	90 - 116	108	6.6

(ウ) 測定の不確かさ

試料（ポテトスナック、米菓、ほうじ茶、レトルトカレー）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 (%)
ポテトスナック	0.03	8.5
	0.5	11
米菓	0.03	6.9
	0.5	5.5
ほうじ茶	0.03	4.5
	0.5	2.9
レトルトカレー	0.03	5.3
	0.5	4.6