

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
(米菓)

(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 10.0 g を遠沈管に量り、蒸留水 100 mL と 0.2 µL/mL アクリルアミド安定同位体標準液 200 µL、を加え、1 分間ホモジナイズした後、遠心分離 (3,000 rpm、5 分間) を行いました。得られた上澄み 10 mL を遠沈管に分取し、ジクロロメタン 10 mL を加えた後、1 分間激しく振とうし、遠心分離 (3,000 rpm、5 分間) しました。

得られた上澄み 5 mL を、あらかじめメタノール 4 mL、水 4 mL で順次コンディショニングしたオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) に負荷し、溶出液を採りました。次いで蒸留水 2 mL を流して溶出液を合わせました。得られた溶出液の 3.5 mL を、あらかじめ蒸留水 4 mL コンディショニングしたトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル及びベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲル混合ミニカラム (500 mg) とエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) を連結したカラムに負荷し、溶出液を採りました。次いで、蒸留水 1.5 mL を流して溶出液を合わせて試料溶液としました。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

HPLC カラム	オクタデシルシリル化シリカゲルカラム 例えば、Atlantis T3 粒径 3.0µm 内径 2.1 mm×長さ 150 mm 等
カラム温度	40 °C
移動相	0.1 % 酢酸・メタノール (5:95)
流量	0.15 mL/min
MS/MS	イオン化法:ESI (ポジティブ)
設定質量数 (m/z)	アクリルアミド:72>55 アクリルアミド ¹³ C ₃ :75>58

(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)
米菓	0.005	0.01

(イ) 標準添加回収率

試料 (米菓) 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 21 回 (7 回/日、3 日間) 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 %
米菓	0.01	85 - 117	100	7.1
	5.0	76 - 110	96	1.2

(ウ) 測定の不確かさ

試料 (米菓) 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 (%)
米菓	0.01	7.1
	5.0	2.4