

令和4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
(砂糖類、糖類、糖みつ、飴菓子類)

(1) 分析方法 (フローシート)

分析試料 1.0 g [50 mL 遠心管]

←水 9 mL

←アクリルアミド $^{13}\text{C}_3$ 200 ng

振とう 20 分間

遠心分離 (8,000 rpm、20 分間、4°C)

水層分取

抽出液 3~5 mL 分取

フィルターろ過 (0.45 μm PVDF)

遠心分離 (8,000 rpm、5 分間、4°C)

精製 [OASIS HLB ミニカラム]

(あらかじめメタノール 3.5 mL、水 3.5 mL でコンディショニング)

抽出溶液 1.5 mL を負荷

水 0.5 mL を流下 (流出液は捨てる)

水 1.5 mL で溶出

精製 [Bond Elut-Accucat ミニカラム]

(あらかじめ 2.5 mL、水 2.5 mL でコンディショニング)

1 つ目のミニカラムの溶出液を流下 (吸着剤の上部 1 mL の目印線までの溶出液は捨て、それ以降の溶出液を回収し、試験溶液とする)

試験溶液

測定 LC-MS/MS (条件は表 1 の通り)

表 1 アクリルアミド分析における LC-MS/MS の条件

使用機器	LC: UPLC Acquity (Waters) MS: Xevo TQ (Waters)
HPLC カラム	Hydro-RP 80A ϕ 2 mm \times 250 mm、粒径 4 μm (Phenomenex)
カラム温度	26 °C
移動相	0.1%酢酸:メタノール=99.5:0.5
流量	0.2 mL/min
注入量	10 μL
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、72 > 27 アクリルアミド $^{13}\text{C}_3$: 75 > 58

(2) 性能の検証結果

(ア) 検出下限及び定量下限

ラムネ菓子について、アクリルアミド 0.01 mg/kg に相当する濃度を添加し、7回の繰り返し試験を行い、測定値の標準偏差から次式により算出しました。

計算式 検出下限=3.3 × 標準偏差

定量下限=10 × 標準偏差

表 2 検出下限及び定量下限 (mg/kg)

マトリックス	検出下限(mg/kg)	定量下限(mg/kg)
ラムネ菓子	0.002	0.005

(イ) 標準添加回収率

ラムネ菓子について表 3 に示した濃度のアクリルアミドを添加し、それぞれの濃度で 7 回ずつ添加回収試験を行い、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

マトリックス	添加濃度 (mg/kg)	回収率の範囲 (%)	平均回収率 (%)	RSD _r (%)
ラムネ菓子	0.01	102 – 112	107	4.3
	1.5	90.8 – 92.7	91.5	0.7

(ウ) 測定の不確かさ

ラムネ菓子について表 4 に示した濃度のアクリルアミドを添加した試料を用い、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)

マトリックス	添加濃度(mg/kg)	RSD _i (%)
ラムネ菓子	0.01	4.4
	1.5	1.4