

QuEChERS法を用いたポテトチップス中 アクリルアミドのLC-MS/MS分析

Zhi Wei Edwin Ting¹, Yin Ling Chew², Jing Cheng Ng², Jie Xing¹, Zhaoqi Zhan¹

¹ Shimadzu (Asia Pacific) Pte Ltd, Singapore

² Department of Chemistry, Faculty of Science, National University of Singapore

ユーザーベネフィット

- ◆ 加工食品中のアクリルアミド濃度を正確かつ確実に監視可能です。
- ◆ QuEChERS前処理法により、ポテトチップス中アクリルアミドを高回収率で抽出可能です。
- ◆ LC-MS/MSを用いることでポテトチップス中アクリルアミドを高感度に分析できます。

■はじめに

アクリルアミドは神経毒の一種で、人間に対する潜在的な発がん性物質であることが知られています。2002年に、高温（120℃）でのアスパラギンとグルコース（還元糖）のメイラード反応によって、ポテトチップスのような揚げ物の製造工程でアクリルアミドが生成することが判明し^{1,2)}、多くの加工食品に含まれるアクリルアミドの健康リスクが懸念されています³⁾。食品中のアクリルアミドの分析には、主にLC-MS/MSおよびGC-MSをベースとしたさまざまな分析法が確立され、使用されています⁴⁾。本稿ではポテトチップス中アクリルアミドのLC-MS/MS分析例をご紹介します。前処理法にはQuEChERS法を採用し、アクリルアミドを高回収率で抽出する方法に改良しました。

■QuEChERS前処理法

ポテトチップス中アクリルアミドの抽出は、RESTEK製Q-sep Q100/パケット（Original Unbuffered）を、マトリクスの精製は、分散型固相抽出（dSPE）チューブであるRESTEK製Q-sep Q250（AOAC 2007.01）を用いました。ポテトチップス用に改良したQuEChERS法の詳細を図1に示します。ヘキサンを用いてポテトチップスを脱脂し、油分と非極性成分を除去しました。Q-sep Q100/パケット抽出塩（4 g MgSO₄および0.5 g NaClを含む）を用いた抽出工程において、追加で4 gのMgSO₄を加え完全に脱水しました。アクリルアミドは水相と有機相の両方に可溶ですが、この改良により、アクリルアミドを高回収率で抽出できました。これは、抽出液中の水を完全に除去することにより、アクリルアミドの有機相への移行が促進されたためと考えられます。なお、前処理工程でアクリルアミドを分解する可能性のある有機酸を除去するため、PSAのdSPEチューブを選択しました。

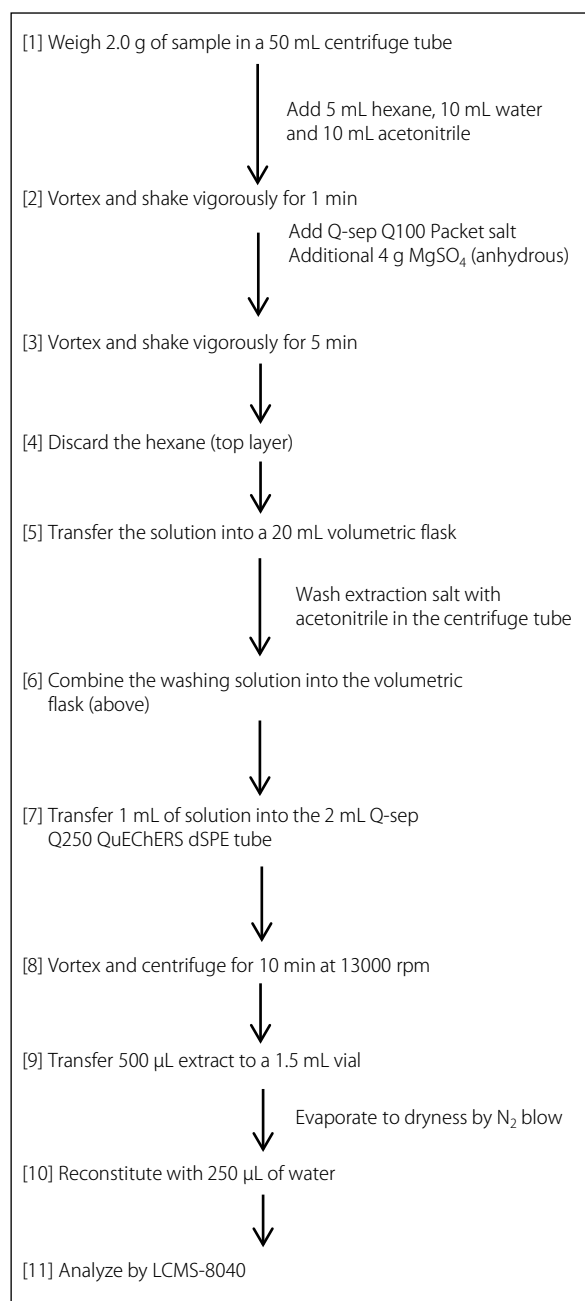


図1 QuEChERS前処理法のフローチャート

■ 分析条件検討

アクリルアミドおよび同位体標識アクリルアミド-d₃ (内部標準、以下IS) はSigma-Aldrichから購入しました。アクリルアミドおよびアクリルアミド-d₃ (IS) の原液および標準溶液は、水で調製しました。分析条件検討と妥当性評価は、前処理後のマトリクス溶液にアクリルアミドを添加したマトリクス標準溶液を用いて実施しました。同位体標識内部標準 (アクリルアミド-d₃) を使用して、システム変動やサンプル調製によるアクリルアミドのピーク面積変動を補正しました。アクリルアミドおよびISのプリカーサーイオンは、それらのプロトン化分子 (*m/z* 72.1および75.1) です。アクリルアミドとアクリルアミド-d₃のそれぞれにおいて、定量イオンおよび確認イオンとして2つのMRMトランジションを選択しました (表2)。

表1 分析条件

| [HPLC conditions] | |
|---------------------|---|
| Column | : Polar Phenyl column (100 mm×2.0 mm I.D., 2.5 μm) |
| Flow rate | : 0.2 mL/min |
| Mobile phase | : A) Water B) 0.1% Formic acid in methanol |
| Time Program | : 1%B (0-1.0 min)→80%B (3.0-4.5 min) →1%B (5.5-10.0 min) |
| Column temp. | : 40 °C |
| Injection volume | : 1 μL |
| [MS conditions] | |
| Interface. | : ESI |
| Mode | : MRM (positive), two transitions each compound |
| Block Temp. | : 400 °C |
| DL Temp. | : 200 °C |
| CID Gas | : Ar (230 kPa) |
| Nebulizing Gas Flow | : N ₂ , 1.5 L/min |
| Drying gas flow | : N ₂ , 10 L/min |

表2 MRMトランジションおよびCID電圧

| Compound | MRM (<i>m/z</i>) | CID Voltage (V) | | |
|---------------------------|--------------------|-----------------|-----|-----|
| | | Q1 | CE | Q3 |
| Acrylamide-d ₃ | 75.1 > 58.0* | -29 | -15 | -22 |
| | 75.1 > 30.1 | -29 | -24 | -30 |
| Acrylamide | 72.1 > 55.0* | -17 | -16 | -24 |
| | 72.1 > 27.1 | -17 | -22 | -30 |

*MRM transition as quantifier

■ 検量線

ポテトチップスのマトリクス溶液は、表3に示すL0 (ブランク) および検量線作成用マトリクス標準溶液の調製に使用しました。L0および各マトリクス標準溶液を3回注入し、得られたピーク面積比の平均を使用しました。本稿で使用したポテトチップスマトリクス溶液中に27.1 ng/mLのアクリルアミドが含まれていましたが、図2に示すように、1~500 ng/mLの濃度範囲において寄与率 (*r*²) は0.9999以上と良好な直線性が得られました。

表3 内部標準法によるマトリクス検量線

| Acrylamide post-spiked | IS post-spiked | Conc. ratio calculated | Area ratio measured* |
|------------------------|----------------|------------------------|----------------------|
| L0, Blank | | 0 | 0.6033 |
| L1, 1 ppb | | 0.02 | 0.6120 |
| L2, 5 ppb | | 0.10 | 0.6786 |
| L3, 10 ppb | 50 ppb | 0.20 | 0.8239 |
| L4, 50 ppb | | 1.00 | 1.7686 |
| L5, 100 ppb | | 2.00 | 2.8196 |
| L6, 500 ppb | | 10.00 | 11.8330 |

* Area (acrylamide) / Area (IS)

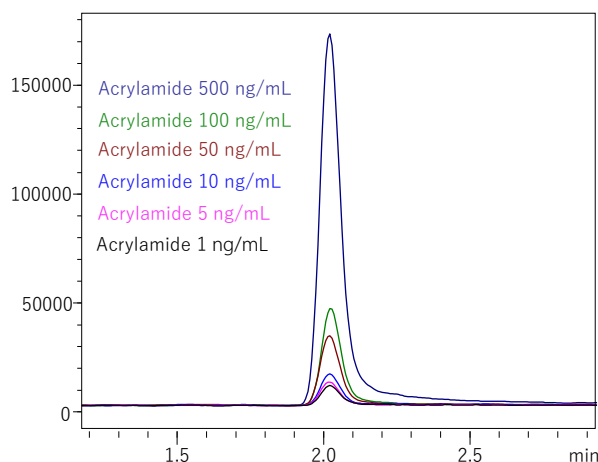
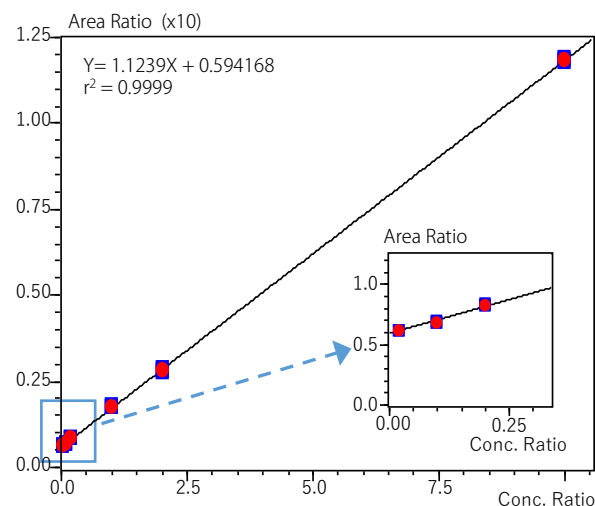


図2 マトリクス検量線 (上段) とMRMクロマトグラム (下段)

アクリルアミド: 1-500 ng/mL, IS: 50 ng/mL

■ 妥当性評価

ブランク (ポテトチップスのマトリクス溶液) 中にアクリルアミド (27.1 ng/mL) が存在するため、分析法の検出限界 (LOD) と定量限界 (LOQ) を算出することはできません。一方で、他の研究者からも報告されているように、実際にはアクリルアミドを含まないポテトチップスを入手することは困難です。実際の濃度を得るには、通常、試験サンプルの測定値から参照として使用されるブランクサンプルのアクリルアミドのバックグラウンド含有量を差し引き、S/N比により計算します。その結果、本分析法におけるアクリルアミドのLODおよびLOQは、それぞれ1 ng/mL、3 ng/mL未満となりました。なお、ポテトチップスマトリクス中にアクリルアミドが27.1 ng/mL含有していましたが、これは、ポテトチップス1 gあたり135.5 ngに相当します。

分析法の再現性は、L2およびL4の濃度を添加したマトリクス標準溶液で評価しました。表4に再現性を、図3にMRMクロマトグラムを示します。アクリルアミドおよびISのピーク面積の相対標準偏差(%RSD)は4%未満でした。50 ng/mLのマトリクス標準溶液を用いて、本分析法の効率(Process efficiency)、抽出効率(Recovery efficiency)およびマトリクス効果(Matrix effect)を評価しました(表5)。また、マトリクス溶液、標準溶液、プレスパイク液およびポストスパイク液のクロマトグラムを図4に示します。

表4 再現性 (n=6)

| Spiked sample | Compound | Conc. (ng/mL) | %RSD |
|---------------|---------------------------|---------------|------|
| L2 | Acrylamide | 5 | 3.5 |
| | Acrylamide-d ₃ | 5 | 3.8 |
| L4 | Acrylamide | 50 | 3.9 |
| | Acrylamide-d ₃ | 50 | 3.6 |

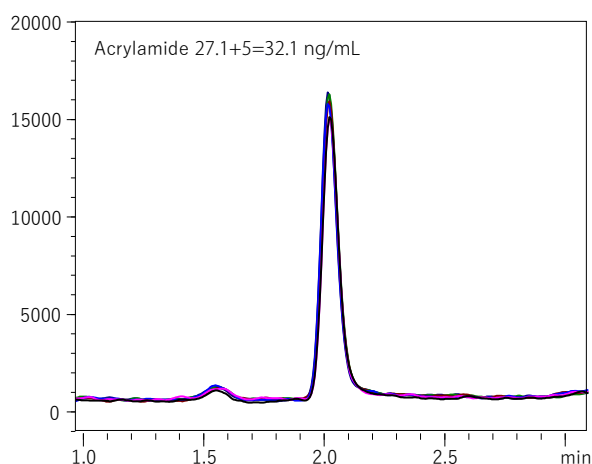


図3 マトリクス標準溶液 (5 ng/mL) のMRMクロマトグラムの重ね書き (n=6)

アクリルアミドの総量: 27.1+5=32.1 ng/mL

表5 分析法の妥当性確認 (アクリルアミド添加濃度: 50 ng/mL)

| Parameter | Method evaluation (%) | | |
|---------------------|-----------------------|-------|---------|
| | Set 1 | Set 2 | Average |
| Process efficiency | 100.8 | 94.5 | 97.6 |
| Recovery efficiency | 104.7 | 112.0 | 108.4 |
| Matrix effect | 96.5 | 84.6 | 90.5 |

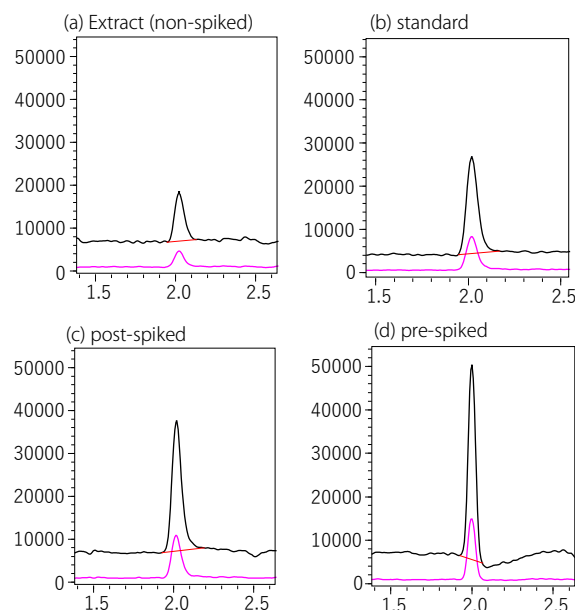


図4 ポテトチップス中のアクリルアミドのMRMピーク

(a) マトリクス溶液、(b) 標準溶液 (50 ng/mL)、(c) 50 ng/mLポストスパイク液、(d) 50 ng/mLプレスパイク液

■まとめ

アクリルアミドは、ポテトチップス、フライドポテト、シリアル、ローストコーヒーなど、高温で調理および加工する際、でんぷんが豊富な食品中にやむを得ず生成します。本稿で確立した分析方法を用いて、加工食品中のアクリルアミドの濃度を正確かつ確実に監視することができました。本方法は少ない注入量で感度良く分析できるため、マトリクス量が多く、マトリクス効果の大きい食品サンプルを分析する場合に有効です。

<参考文献>

- 1) Swedish National Food Administration. "Information about acrylamide in food, 24 April 2002", <http://www.slv.se>
- 2) Mottram, D.S., & Wedzicha, B.L., Nature, 419 (2002), 448-449.
- 3) Ahn, J.S., Castle, J., Clarke, D.B., Lloyd, A.S., Philo, M.R., & Speck, D.R., Food Additives and Contaminants, 19 (2002), 1116-1124.
- 4) Mastovska, K., & Lehotary, S.J., J. Food Chem., 54 (2006), 7001-7998.

<関連アプリケーション>

- 1) Zhi Wei Edwin Ting, Yin Ling Chew, Jing Cheng Ng, Jie Xing, Zhaoqi Zhan, High Sensitivity Analysis of Acrylamide in Potato Chips by LC/MS/MS with Modified QuEChERS Sample Pre-treatment Procedure - [ASMS 2014](#)

LCMSは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。