

食品中のアクリルアミドの分析

松岡 智郁、宇野 美奈子、堀田 大樹、熊谷 哲

社会システム環境学大講座

Analysis of acrylamide in the foods.

Tomofumi Matsuoka, Minako Uno, Daiju Hotta, Tetsu Kumagai

Laboratory of Environment for Social System,

School of Human Science and Environment,

University of Hyogo

In April 2002, it was announced that a substance called acrylamide was produced by heating and manufacturing the foods containing many carbohydrates at high temperature. According to the International Cancer Research Organization (IARC), acrylamide is classified as "The substance which has the possibility of showing carcinogenesis in the person". In this study, we determined quantity of acrylamide contained in commercial food using LC/MS-MS. Moreover, we investigated about generation of the acrylamide in a potato using the machine for cooking.

The result showed that acrylamide above 1,000 μ g/kg was detected from potato chips. Additionally, acrylamide above 100 μ g/kg was detected from fried potato and fried noodle.

In the study about the generation of the acrylamide by heating potatoes, acrylamide increased from a critical point rapidly. This showed that there was a temperature region in generation. Acrylamide of approximately 10,000 μ g/kg was detected by using the microwave oven under the highest heating conditions.

1. 1 はじめに

近年、食品業界では食品中に含まれる人体に有害な物質が問題となっている。その中でも食品を起源とする発ガンリスクの解明は極めて重要である。2002年4月、スウェーデン食品庁が、炭水化物を多く含む食材を高温加熱して製造した食品（ポテトチップスやフライドポテトなど）にアクリルアミドが含まれていると世界で初めて発表し、注目を浴びた。その生成機構はアミノ酸と還元糖を加熱するとおこる褐色現象（メイラード反応）に関わっており、メイラード反応によりジカルボニル化合物が生成し、そこにアミノ酸が結合する^(1,2)。その後、脱水やストレッカー分解によりストレッカーアルデヒドが生成される。Fig.1に示したアルデヒドのZ置はアミノ酸の種類によって異なり、ここにアスパラギンが結合したものがアクリルアミドとなる。国際ガン研究機関（IARC）によるとアクリルアミドは「人に発ガン性を示す可能性のある物質」として分類されている。このため世界各国でアクリルアミドの生体への影響、許容摂取量、発ガン性、生成機構などに関する研究が進められている。しかし、現段階では分析数そのものが少なく、データとしての信頼性が乏しい。そこで本研究では市販の食品に含有するアクリルアミドを液体クロマトグラフィー質量分析器（LC/MS-MS）を用いて定量することを目的とした。また、ポテトチップスメーカーなどによるアクリルアミドの生成に関する報告はあるが、各家庭にある調理器を用いて検討している報告はない。そこで本研究では家庭用調理器を使用し、ジャガイモにおけるアクリルアミドの生成についても検討したので併せて報告する。

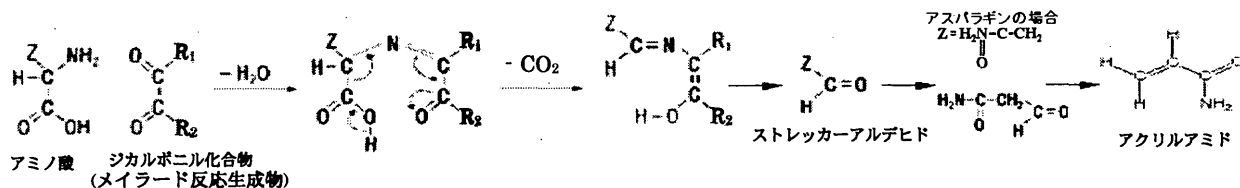


Fig.1 アクリルアミド生成機構 (独立行政法人 食品総合研究所)

1. 2 アクリルアミド

アクリルアミド [CH₂:CHCONH₂ 分子量 71.08] (Fig.2) は食品中に生成されるが、工業的にも製造されており、凝集剤、土壌改良剤、繊維の改質、樹脂加工、接着剤、石油回収剤などの目的で使用されている。加熱や紫外線の影響で重合してポリアクリルアミドとなることがあり、その際に火災や爆発の危険を伴う場合があるので日本では劇物として指定されている。環境中での分解性は好气的条件で良分解であり、土壌吸着性もない。生体内における濃縮性も0.86~1.12倍となっており濃縮はほとんどないとされている (Hazardous Substances Data Bank (HSDB) 1998)。

。一方で、ヒトに対する急性毒性が認められており、中枢神経および末梢神経障害などが挙げられる。短期暴露では皮膚、気道を刺激し中枢神経に影響を与えることがある。長期暴露では言語障害、歩行困難、記憶障害などが確認されている。



Fig.2 アクリルアミドの構造式

沸点: 87℃ 融点: 84.5℃ 引火点: 138℃ 発火点: 424℃
オクタノール水分配係数: -1.65

2. 実験方法

2. 1 試料

市販食品のサンプルは主成分にジャガイモを多く使用しているもので、ポテトチップスは3検体、他のスナック菓子やフライドポテト、シリアル、揚げ物などは各1検体ずつ測定を行った。サンプルは購入後、研究室に持ち帰りすぐに分析した。また温度変化や調理時間によるアクリルアミドの生成に関する実験には生のジャガイモ (男爵芋) を用いた。市販食品は 2g、生のジャガイモは加熱による重量減少を予想して4~7gを分析に使用した。

2. 2 加熱によるアクリルアミドの生成に関する検討

ジャガイモを生、茹で、オーブントースターによる加熱、電子レンジによる加熱の4グループに分け、アクリルアミドの生成について検討を行った。茹でる試料は沸騰させた湯に入れて5分後に取り出した。オーブントースターは出力一定のもので、その中にジャガイモを入れ1~10分まで時間を変えて各設定時間加熱した。電子レンジのものは時間一定 (2分) で出力を100~500Wまで変えて加熱した。さらに出力一定 (300W) で加熱時間を0.5~4分に変え加熱を行った。

2. 3 アクリルアミド濃度測定の前処理法

試料に超純水 39.6ml、内標準物質 (¹³C₃アクリルアミド) 0.4ml を加え、ホモジナイズした。超音波抽出を10分行った後、遠心分離 (2,500rpm、20分) を行い、分取した上澄

みを冷凍保存した。遠沈管内が完全に凍結した後、融解させ、そのまま冷却遠心分離 (4℃、12,000rpm、20分) を行った。あらかじめアセトニトリル 1ml と水 4ml でコンディショニングしていたカートリッジ (Sep-Pak plus C18) に上澄み試料を通し、最初の 1ml は捨て残りを回収した。続いて 0.2μm のフィルター (syringe driven Filter Unit) を用いてろ過した。さらに分子量 3000 以下の viva spin を用いて限外ろ過 (14,000g、1時間) を行った。それをバイアル瓶に移し LC/MS-MS に導入した。

2. 4 LC/MS-MS 測定条件

Instrument: Agilent1100

Applied Biosystems API3000

Precursor ion: アクリルアミド m/z=71.8

¹³C₃アクリルアミド m/z=74.7

Product ion: アクリルアミド m/z=55.1

¹³C₃アクリルアミド m/z=57.9

Column name: ODS-SR-5 (2×150mm)

Flow rate: 100 μl/min

Solvent A: H₂O

Solvent B: MeOH

Isocratic: A 90% B 10%

Injection Volume: 10 μl

3. 結果

3. 1 市販食品中アクリルアミド濃度

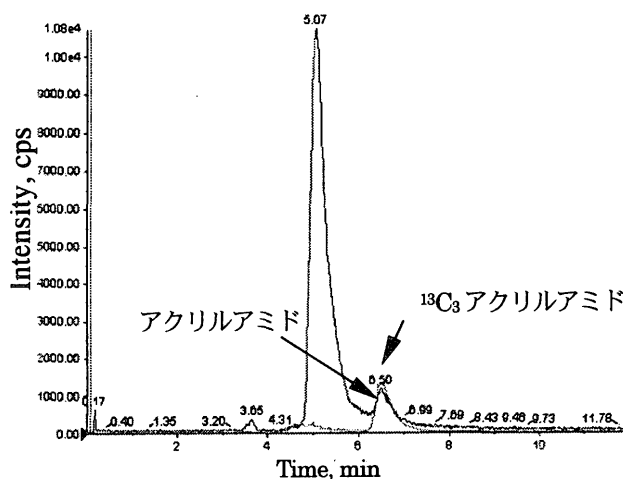


Fig.3-1 ポテトチップスの LC/MS クロマトグラム

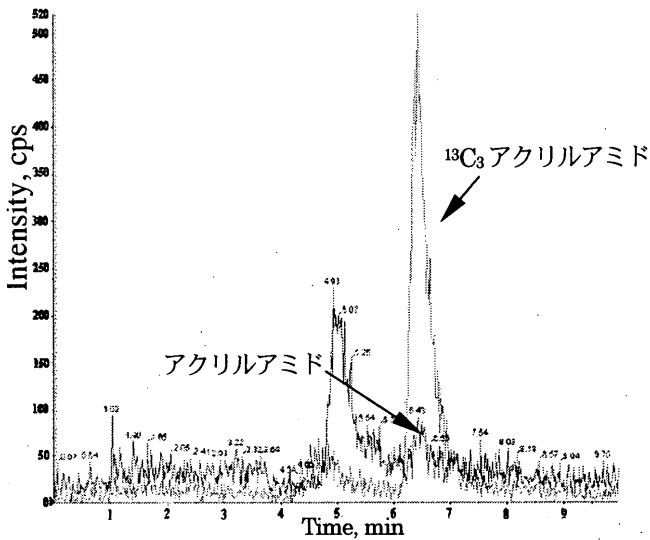


Fig.3-2 イカフライのLCMS クロマトグラム

Fig.3-1 のポテトチップスを、Fig.3-2 にイカフライを測定した時のクロマトグラムを示す。6分後半にアクリルアミドと $^{13}\text{C}_3$ アクリルアミドのピークが得られた。S/N=3 以下を検出限界以下 (N.D) とした。

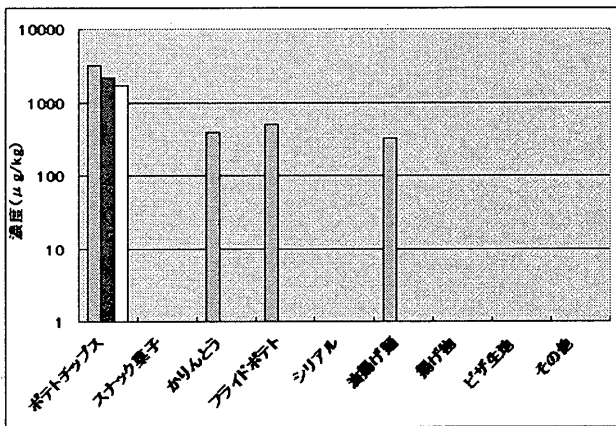


Fig.4 食品中アクリルアミド

Fig.4 に市販食品中のアクリルアミド濃度を示す。ポテトチップスはメーカーの違うもの3検体について調べたが、全て $1,000 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上のアクリルアミドが検出された。またフライドポテトで $499 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、かりんとうで $387 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、油揚げ麺で $321 \mu\text{g}/\text{kg}$ と、 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の値が検出された。それ以外は検出限界以下だった。タンパク質が多く含まれるハンバーグとフランクフルト、大学いもを分類する上でその他に表記した。

3. 2 加熱によるアクリルアミドの生成に関する検討

沸騰した湯にジャガイモを入れ 5 分間茹でたものからはアクリルアミドは検出されなかった。

電子レンジを用いて時間一定 (2 分) で出力を $100 \sim 500\text{W}$ まで変えて加熱した結果を Fig.5 に、出力一定 (300W) で加熱時間を $0.5 \sim 4$ 分に変え加熱した結果を Fig.6 に示す。さらにオーブントースターを用いて出力一定で加熱した結果を Fig.6 に示す。また、各条件における加熱による重量減少率も Table1~3 に示す。

Table1 加熱による重量減少率 (電子レンジ 出力変化)

	加熱前(g)	加熱後(g)	減少率(%)
0W	4.87	4.43	8.9
100W	5.25	3.62	31.1
200W	6.13	2.75	55.1
300W	4.77	1.02	78.7
500W	5.13	0.91	82.3

Table 1 は電子レンジの出力を変化させてジャガイモを加熱したときの加熱前後のジャガイモの重量と重量減少率を示している。出力が大きくなるにつれて減少率も大きくなり、 500W では 80% 以上減少した。

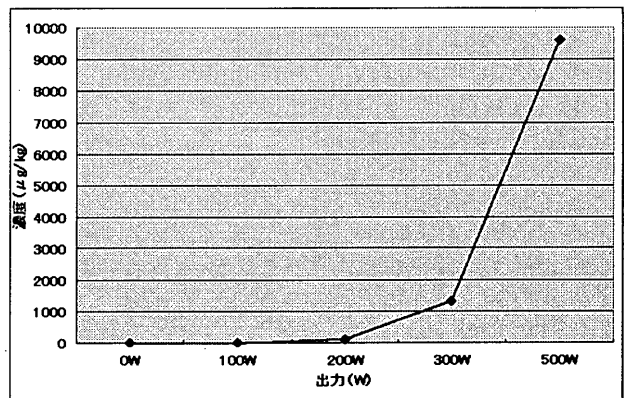


Fig.5 出力変化によるアクリルアミドの生成 (電子レンジ)

Fig.5 に示すように電子レンジの出力変化によるアクリルアミドの生成を検討したところ、 200W でアクリルアミドが生成し始め、 200W 以上では急激に増加した。 500W では $10,000 \mu\text{g}/\text{kg}$ 近いアクリルアミドが検出された。

Table2 加熱による重量減少率 (電子レンジ 時間変化)

	加熱前(g)	加熱後(g)	減少率(%)
0.5分	5.30	4.14	21.9
1分	5.78	3.00	48.2
2分	6.10	1.50	75.4
3分	5.89	1.24	79.0
4分	5.48	0.92	83.2

Table 2 は電子レンジの加熱時間を変化させてジャガイモを加熱したときの加熱前後のジャガイモの重量と重量減少率を示している。加熱時間が長くなるにつれて減少率も大きくなり、2分以上で 80% 近く減少した。

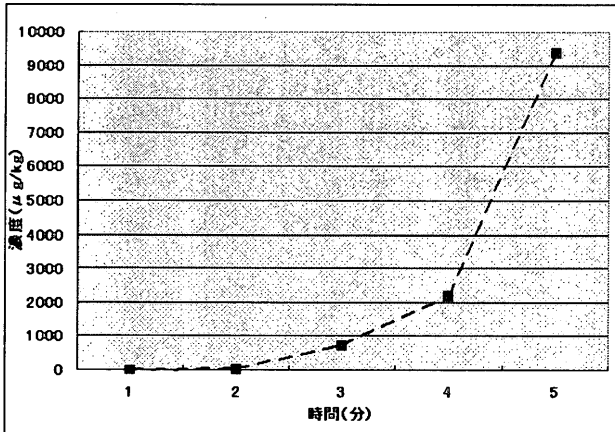


Fig.6 時間変化によるアクリルアミドの生成 (電子レンジ)

Fig.6 に示すように、2分以上加熱するとアクリルアミドが生成し始め、その後は急激に増加した。5分間加熱した場合は500Wで2分間加熱した時と同様に10,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 近いアクリルアミドが生成された。

Table3 加熱による重量減少率 (オープン 時間変化)

	加熱前(g)	加熱後(g)	減少率(%)
1分	5.41	4.72	12.8
3分	5.40	4.50	16.7
6分	5.80	2.97	48.9
10分	4.28	1.16	73.0

Table 3 はオープンの加熱時間を変化させてジャガイモを加熱したときの加熱前後のジャガイモの重量と重量減少率を示している。加熱時間が長くなるにつれて減少率も大きくなり、10分以上で70%近く減少した。

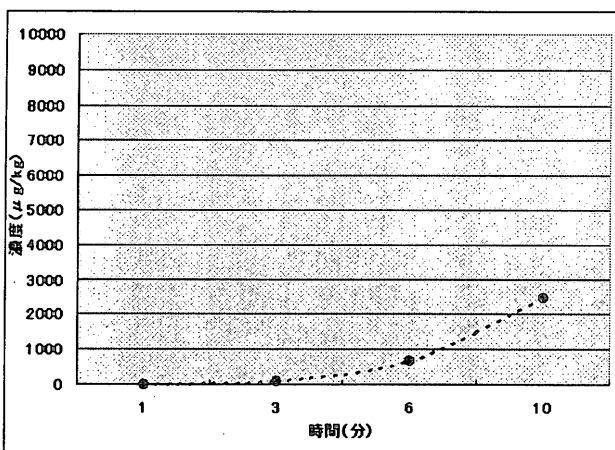


Fig.7 時間変化によるアクリルアミドの生成 (オープン)

一方、オープンで加熱時間を変化させてアクリルアミドの生成を検討したところ (Fig.7)、電子レンジとは対照的に生成するまでの加熱時間も長く、3分以降の増加も緩やかであ

った。10分間加熱したものは約4,500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のアクリルアミドが検出された。

4. 考察

ポテトチップスに関しては3検体全てで1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超え、高濃度のアクリルアミドが含まれていることがわかった。国立医薬品食品衛生研究所食品部による分析結果においても7検体中5検体から1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を越すアクリルアミドが検出されていることから、この値は妥当であり、またフライドポテトなどから400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 前後のアクリルアミドが検出されたが、スウェーデン食品庁によるとフレンチフライ (9検体) やクラッカーなど (14検体) で400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 前後の値が得られていることから、この値も妥当であると思われる。

また、ジャガイモを主成分とするにも関わらず、スナック菓子での濃度が低かったのはジャガイモ以外の成分がメイラード反応を阻害していると考えられた。フライドポテトに関してはポテトチップスよりも厚みがあるので、内部でメイラード反応が行われず、アクリルアミドがそれほど生成されなかったと思われる。

ドイツの行動基準 (ドイツ連邦消費者健康保護・獣医学研究所) では食品1kgあたり1mgとされているので、この基準によるとポテトチップス以外は基準値内であることがわかった⁶⁾。しかし一方で、FDA (米食品医薬品局) では、アクリルアミドの許容摂取量を0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{day}$ と定めている (The updated Exposure Assessment for Acrylamide (2004))。さらにWHOの飲料水の品質に関するガイドライン (The WHO Guidelines for Drinking-water Quality) では、飲料水1リットルあたり0.5 μg を許容範囲としている。また香港で販売されている東アジア食品を中心とした約400検体中のアクリルアミド含量は、米製品・麺類・パン・水溶性小麦粉製品などで60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下だったと報告されている⁷⁾。したがってこれらの基準値や結果と比較すると、本実験の値は範囲を超えることがわかった。

アクリルアミドの生成に関しては、各条件とも出力、加熱時間を上げていくと徐々に検出されるようになり、最も高い加熱条件では1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を超え、電子レンジを用いた条件では10,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 近いアクリルアミドが検出された。またアクリルアミドは出力200W以上あるいは加熱時間3分以上で急激に増加していた。これはジャガイモ内部の温度が条件によって生成される温度まで引き上げられ、その温度を超えるとアクリルアミドが多量に生成されることを示している。

また加熱時間を上げていくたびにいずれのサンプルも重量が軽減していき、中には83%も減少していたものがあった。この失われた成分の大半は水分であると考えられる。電子レンジは食品内の水分に直接働きかけ加熱するので多くの水分が蒸発し、失われる。また内部も同じように温まるので、食品の外部と内部との温度差はほとんどないとされる。それに対しオープンではヒーターを使い、近・遠赤外線によって加

熱するので外部は温まりやすく、内部は温まりにくい。Table1~3 からも、電子レンジの方が重量減少率が大きく、水分が蒸発しやすいことがわかった。また、電子レンジを使用した時の方がアクリルアミドの生成濃度が高いことから、水分減少率もアクリルアミドの生成に関与していると思われる。

5. 総括

本研究において市販食品のうちポテトチップスのアクリルアミドが1,000 μ g/kgを超えた。それ以外の食品ではかりんとうやフライドポテト、油揚げ麺などが100 μ g/kgを超えたが、他は検出限界以下だった。

アクリルアミドの生成に関しては出力200W以上あるいは3分以上の加熱で急激に増加していた。高い加熱条件では1,000 μ g/kgを超え、電子レンジを用いた条件では10,000 μ g/kg近いアクリルアミドが検出された。高温、低水分量でアクリルアミドの生成が促進されると示唆されたので、家庭でのジャガイモの調理を行う際は長時間、高温での加熱に十分注意が必要であると言える。例えば、できる限り水を用いて鍋でゆでてから他の調理器具で調理するなど、加熱時間を少なくする必要があると思われる。

また発ガン性については、F344 ラット雌雄に2.0 mg/kg/day のアクリルアミドを投与した実験で、雌では乳腺・中枢神経・甲状腺・口腔・子宮・陰核腺で、雄では甲状腺と陰嚢で腫瘍の発生率が増加し、0.5 mg/kg/day のアクリルアミドでも雄の陰嚢中皮腫が増加したという報告がある⁽⁴⁾。しかし、ヒトに対する発ガン性のデータは不十分である。

このように、現段階では特にヒトに対するデータが少なく、各国での基準値にも大きな差があり基準の統一が望まれる。

(1) 中村敏郎他：食品の変色とその化学 株式会社光琳書院 223-289 (1967)

(2) 小田求他：食品学総論・各論 朝倉書店 118-121 (1955)

(3) Leung, K.S *et al* : Acrylamide in Asian Foods in HongKong. Food Additives and Contaminants 20(12) : 1105-1113 (2003)

(4) Johnson, K.A. *et al* : Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 85(9) : 154-168 (1986)

(平成 16 年 10 月 4 日受付)