

特 集

食品中のアクリルアミド

堤内 要^{1,2)}, 神戸真理子²⁾, 岡嶋直子²⁾, 高村基治^{1,2)}岡田鉦彦^{1,2)}, 三輪錠司^{1,2)}, 谷口 肇³⁾¹⁾ 中部大学応用生物学部, ²⁾ 中部大学生物機能開発研究所, ³⁾ 石川県立大学食品科学科

要 旨

近年、食品の新たなリスクとして汎用化学物質であるアクリルアミド (AA) が登場した。『ヒトに対して恐らく発がん性がある』とされていた AA が、加熱加工した多様な食品から 5-4000 ng/g の濃度で検出されたのである。この発見をきっかけに世界中で食品中 AA 関連研究が行われた。本稿では、これらの中から食品中 AA の定量分析および生成機構について、我々の知見も交えて解説した。分析法については LC/MS/MS, GC/MS を中心に研究が進められ、簡便で高感度な定量が可能となっている。AA 含有量の調査研究では、馬鈴薯を原料とした加工食品で高い AA 濃度となる傾向が各国で認められ、世界共通の問題であることが認識された。また、家庭でポテトチップスやフライドポテトを調理した場合、比較的高い AA 濃度となることも判明し、家庭調理の諸条件と AA 生成との相関を把握する必要性が感じられた。生成機構も活発に研究され、食品中の遊離なアスパラギンと還元糖との Maillard 反応により AA が生成することが解明された。さらに、還元糖が存在しない条件でも AA の生成する例が見出され、新たな生成経路の存在が示唆された。

キーワード: アクリルアミド, 食品, 定量分析, 生成機構, Maillard 反応

1. はじめに

アクリルアミド (AA) は $\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$ という分子構造をもつ化学物質であり、単離したものは白色結晶 (融点 85°C) となる。水、エタノール、アセトン、酢酸エチル、クロロホルムに可溶、ベンゼンに難溶、ヘプタンに不溶な溶解性を示す。工業的には酸触媒を用いたアクリロニトリルの水和反応により合成され、紙力増強剤、水処理用凝集剤、土壌改良剤などに用いるポリアクリルアミドの原料として利用される (Budavari et al., 2001)。毒性については、動物実験から神経毒性、発がん性、遺伝毒性、生殖・発生毒性を持つことが知られており、国際がん研究機関 (IARC) では『ヒトに対して恐らく発がん性がある』というグループ 2A に分類されている (IARC, 1994)。その他、毒物及び劇物取締法では劇物、化学物質管理促進法 (PRTR 法) では第一種指定化学物質 No.2 に指定され、世界保健機関 (WHO) では水道水基準のガイドラインが $0.5 \mu\text{g/L}$ に設定されている。

食品中の有害化学物質として AA が認識されたのは、2002 年のことである。AA を用いたトンネル工事の汚染調査をきっかけに、人体から AA-ヘモグロビン付加物が広く検出されることが判明し (Bergmark et al., 1997)、その起源を追究した結果、加熱加工食品における AA の発見となった (Tareke et al., 2002; Rozen et al., 2002)。世界中の人々を暴露対象としてしまう、この極めて衝撃的な事実は、研究者らを大いに刺激し、研究へと駆り立てた。中部大学でも『ゲノミクス、プロテオミクス、およびエフェクトミクスによる食の安全評価システム開発のための基礎研究』の一環として、食品中 AA の分析、調査、生成機構、毒性評価、バイオセンサーなどに関する研究が行われ、いくつかの興味深い知見を得ている (Hasegawa et al., 2004; 特願 2006-203595)。本稿では、食品中 AA の定量分析や食品中濃度、および生成機構について、我々の研究を紹介しながら解説する。

2. 食品中 AA の分析法

前述したように, ヒトへの健康被害が明確な AA は, その重合体であるポリアクリルアミドが水処理用凝集剤などに利用されていたこともあり, 20 年ほど前に GC/MS を用いた AA の高感度定量法が開発された (Cutie et al., 1986). しかし, それらは AA を臭素化するなど煩雑な操作を伴うものであったため, 2002 年の食品中 AA の発見以降, さらなる分析法の開発が行われた (Castle et al., 2005). 丁度 LC/MS/MS が普及してきたこともあり, 現在では筆者らの開発した方法を含め比較的簡便な前処理で高感度分析できる LC/MS/MS を用いた分析法が主流となっている様子だが (Tsutsumiuchi et al., 2004), 他にもカラムスイッチング法を用いた LC/MS や LC/UV などによる分析法が報告されている (Takatsuki et al., 2003; 寺田ら, 2003). 英国 Central Science Laboratory が行った Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS) の技能試験では, LC および GC の分析精度に有意差はなく, 前処理方法や内部標準の有無によって精度に差が生じる傾向が認められている (Owen et al., 2005). 上記試験に参加すると, 統計処理の結果の 1 つ

として, 絶対値が 2 以内であればその分析結果は『満足』, 2 より大きく 3 未満であれば『疑わしい』, 3 以上であれば『不満足』という z-スコアを知ることができる. 筆者らもこれまでに 3 度参加し, それぞれ 0.3, -0.4, -0.8 という z-スコアを得た (http://stu.isc.chubu.ac.jp/bio/Bio-Chem/labo/tsutsumiuchi_lab/index.htm). 現在, 食品中 AA の分析について公定法は制定されていないが, 上記のような技能試験に参加して, 分析値の妥当性が確認できれば問題ないという認識が広がっている.

3. AA 含有量の調査研究

食品中の AA 含有量については, 世界中で調査研究が進められ報告されている (Ono et al., 2003; Konings et al., 2003; Becalski et al., 2003; Leung et al., 2003; Croft et al., 2004; Senyuva et al., 2005; Ariseto et al., 2006; Susanna et al., 2007). 我々もイオントラップ型 LC/MS/MS を用いた AA 定量法を開発した際, 市販加工食品の実態調査を行った. その結果, 図 1 のようにポテトスナックから最高 3570 ng/g の AA を検出したほか, 熱処理した多くの食品から AA を検出した.

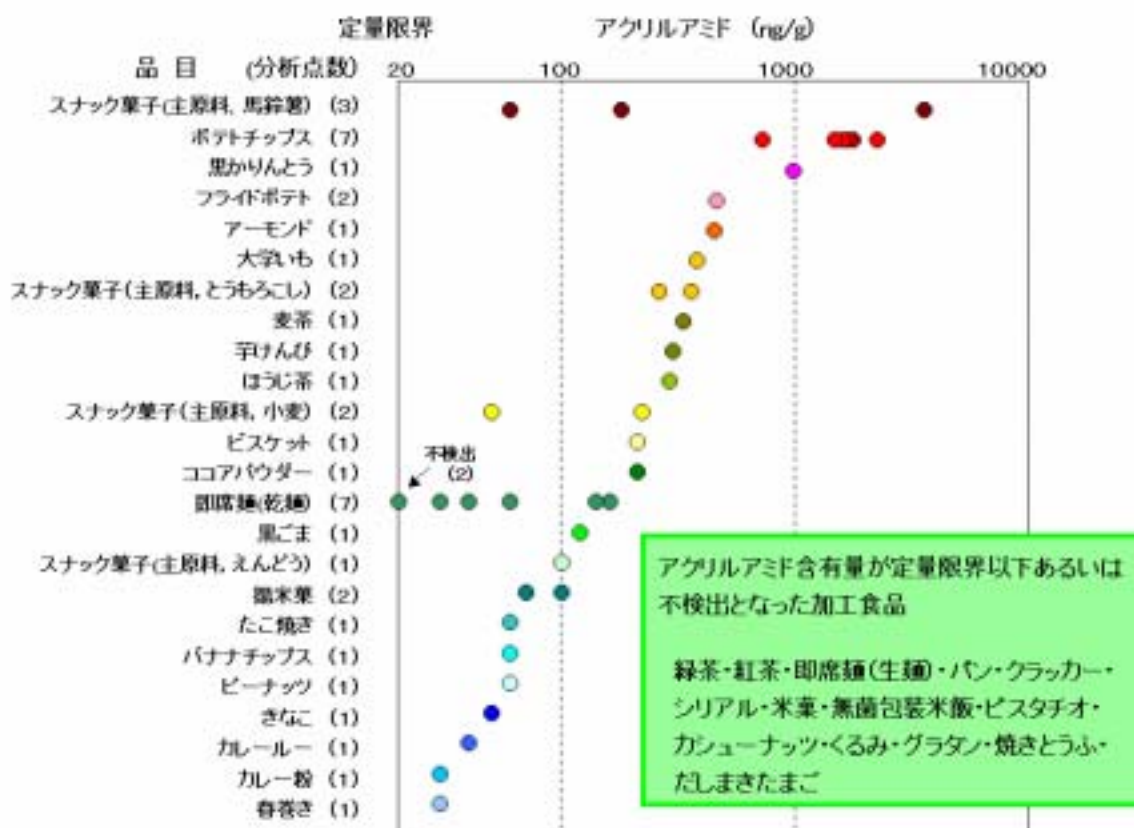


図 1. 市販加工食品における AA 含有量の調査結果 (2003 年, 愛知県)

馬鈴薯を原料とした加工食品で AA 含有量が多いのは各国で共通の知見である。AA の主な生成機構はアスパラギンと還元糖との Maillard 反応、いわゆる褐変反応であることから、馬鈴薯にアスパラギンと還元糖が多く含まれていることが、高い AA 濃度の原因と考えられている (Friedman, 2003)。しかし、馬鈴薯を用いた加工食品についていえば、市販のポテトチップスなどはむしろ褐変を抑えるための対策が十分になされているため、同様の料理を家庭で行ったものと比較すれば、随分と AA 含有量が少ない。実際、我々が食料品店で購入した馬鈴薯を用いて調理したポテトチップスの AA 濃度は 3000 ng/g から 4000 ng/g と厚生労働省の発表する市販品の最高値を凌ぎ、ポテトチップスの平均値 (1570 ng/g) の 2 倍かそれ以上の値を示した。また、AA 問題が明らかとなった後の企業努力も認められる。複数の会社の製品について AA 含有量が 2003 年に 60 ng/g と 1470 ng/g であった製品を 2007 年に再調査したところ、それぞれ 10 ng/g と 1030 ng/g まで低減化されていた。あまり知られていないことであるが、馬鈴薯を加工している企業はしっかりと対策を進めていたのである。

ピーマン、カボチャ、タマネギなどのスライスを一般家庭で行うようにホットプレートで加熱調理した場合も、加工食品とほぼ同程度の AA が確認される (古賀, 2006)。どのように調理すると、どれだけの AA が生成するのか、今後は市民向けのより詳細な情報提供も行ってゆかなければならないであろう。

4. AA 生成機構

前にも少し触れたが、AA は食品中の遊離なアスパラギンと還元糖との Maillard 反応によって生成する。はじめにアスパラギンと還元糖との反応でシッフ塩基が形成され、その後、脱炭酸した化合物からイミンなどが脱離することにより AA が生成する (Zyzak et al., 2003)。結果として、AA はアスパラギンから二酸化炭素とアンモニアが脱離した分解生成物とみなすことができる。一方、アスパラギンのみを加熱した場合には、脱水環化反応および脱アンモニア反応がおり、主にマレイン酸イミドが生成する。従って、アスパラギンとシッフ塩基を形成する還元糖などの存在が AA 生成に大きな意味をもつ。ただし、還

元糖とシッフ塩基を形成しても、脱炭酸をする前にアマドリ転移をしてしまうとコハク酸イミドを生成することが判明し、食品中ではこれらの反応が競争的におこっていると考えられている (Yaylayan et al., 2003)。

AA の生成が活発になるのは 120℃からで、温度が高くなるほど生成速度が速くなる。一方、生成した AA は高い反応性を有するため、さらなる反応に消費される。従って、食品中の AA 濃度は加熱に伴う AA の生成と消費の結果を反映したものとなる。実際、食品の加熱に伴う AA 濃度の変化を調べると、はじめは単純に増加するがやがて極大値を示し、さらに加熱を続けると減少するようになる (Rydberg et al., 2003)。食品中ではこれらの反応が、pH や含水率、組成比、反応阻害剤の有無などの諸因子によって影響を受ける。

我々も、単糖や二糖、そして糖アルコールなど 22 種類の糖質を用いた食品モデルを用いて、AA 生成に及ぼす糖質の影響を調べた (Tsutsumiuchi et al., 2005)。糖質としてグルコースを用いた実験では、加熱時間 15 分で AA 量が最大値を示し、30 分でその 3 分の 1 以下となる挙動が認められた。この挙動は pH 3—8.5 で変化なく、また単糖や二糖を通じてほぼ同じであった。興味深いことに、生成した AA の濃度は、アルドースとケトースの違いに大きく影響され、ケトースを用いた場合のほうが高い AA 濃度となることが確認された。一方、還元性の有無による AA 濃度の変化は二糖を用いて検討され、還元性の糖質が非還元性のものより高い AA 濃度を示すことが確認されたが、その影響はアルドース/ケトースの場合と比較して小さいものであった。

驚いたことに、還元性のない糖アルコールを用いた場合も、グルコースの場合と比較して 10 分の 1 ほどと少ないものの、いずれの試料からも AA が確認された。さらに、還元性をほとんど無視できるデンプンやシクロデキストリンを用いた場合では、15 分過ぎから AA 量が増加し始め、約 50 分後にグルコースの最大値とほぼ同じ水準となり、その後、50 分間以上高い AA 値を持続するという挙動が認められた。同様の挙動はセルロースやデキストラン、カードランといった多糖にも認められ、遊離なアスパラギンと還元糖との Maillard 反応以外にも、AA の生成経路が存在することが示唆された。最近では、多糖を用いた食

品モデルから加熱によりアルデヒド類が生成し, それらとアスパラギンとの反応により AA が生成することも見出されている (堤内ら, 2006)。

5. おわりに

本稿では, 食品中 AA の定量分析および生成機構について解説した. 分析法については LC/MS/MS, GC/MS を中心に様々な方法が提案された. AA の臭素化を必要としない LC/MS/MS 法が好まれる傾向が認められるが, GC/MS 法でも同水準の分析精度が確保されており, これらが AA 分析の主流となっている.

AA 含有量の調査研究では, 馬鈴薯を原料とした加工食品で高い AA 濃度となる傾向が各国で認められ, 世界共通の問題であることが認識された. また, 家庭でポテトチップスやフライドポテトを作成した場合, 比較的高い AA 濃度となることも判明し, 家庭調理の諸条件と AA 生成との相関を把握する必要性が感じられた.

生成機構も活発に研究され, 食品中の遊離なアスパラギンと還元糖との Maillard 反応により AA が生成することが明らかにされた. さらに, シッフ塩基形成に続いて脱炭酸する経路が重要であり, 共存するその他の反応と競争的に進行することも解明された. 還元糖が存在しない条件でも AA の生成する例が見出され, 新たな生成経路の存在が示唆された. 生成経路の理解は食品中 AA の低減化法を開発する上で非常に重要であることは言うまでもない (堤内, 2005). これらの研究が発展し, 新規低減化法の開発に繋がることを期待したい.

引用文献

Arisseto, A. P., Figueiredo Toledo, M. C., Govaert, Y., Van Loco, J., Fraselle, S., Weverbergh, E., Degroot, J. M. 2006. Determination of acrylamide in Brazilian foods by LC-MS/MS. *Toxicol. Lett.*, 164: S268-S269.

Becalski, A., Lau, B. P.-Y., Lewis, D., Seaman, S. W. 2003. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *J. Agric. Food Chem.*, 51 (3): 802-808.

Bergmark, E. 1997. Hemoglobin adducts of acrylamide and

acrylonitrile in laboratory workers, smokers and nonsmokers. *Chem. Res. Toxicol.*, 10: 78-84.

Budavari, S. et al. edit, 2001. "Acrylamide", The Merck Index 13th edition. Merck & Co., Inc., New Jersey, pp. 24.

Castle, L., Eriksson, S. 2005. Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. *J. AOAC Int.*, 88 (1): 274-284.

中部大学, 応用生物学部, 堤内研究室ホームページ, 研究紹介. http://stu.isc.chubu.ac.jp/bio/Bio_Chem/labo/tsumiuchi_lab/index.htm

Croft, M., Tong, P., Fuentes, D., Hambridge, T. 2004. Australian survey of acrylamide in carbohydrate-based foods. *Food Addit. Contam.*, 21 (8): 721-236.

Cutie, S. S., Kallos, G. J. 1986. Determination of acrylamide in sugar by thermo spray liquid chromatography / mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 58: 2425-2428.

Friedman, M. 2003. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (16): 4504-4526.

Hasegawa, K., Miwa, S., Tsutsumiuchi, K., Taniguchi, H., Miwa, J. 2004. Extremely low dose of acrylamide decreases lifespan in *Caenorhabditis elegans*, *Toxicol. Lett.*, 152 (2): 183-189.

IARC (International Agency for Research on Cancer), 1994. "Some industrial chemicals", IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans. IARC, Lyon, vol. 60, pp. 389-433.

古賀秀徳. 2006. アクリルアミドの分析法, 実体, 低減法, 食品検査とリスク回避のための防御技術. シーエム

シー, 東京都, pp. 240-249.

- Konings, E. J. M., Baars, A. J., van Klaveren, J. D., Spanjer, M. C., Rensend, P. M., Hiemstrad, M., van Kooije, J. A., Peters, P. W. J. 2003. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks. *Food Chem. Toxicol.*, 41 (11): 1569-1579.
- Leung, K. S., Lin, A., Tsang, C. K., Yeung, S. T. K. 2003. Acrylamide in Asian foods in Hong Kong. *Food Addit. Contam.*, 20 (12): 1105-1113.
- Ono, H., Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M., Yada, H., Ishizaka, M., Kobayashi, H., Yoshida, M. 2003. Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. *Food Addit. Contam.*, 20 (3): 215-220.
- Owen, L. M., Castle, L., Kelly, J., Wilson, L., Lloyd, A. S. 2005. Acrylamide analysis: assessment of results from six rounds of food analysis performance assessment scheme (FAPAS) proficiency testing. *J. AOAC Int.*, 88 (1): 285-291.
- Rydberg, P., Eriksson, S., Tareke, E., Karlsson, P., Ehrenberg, L., Törnqvist, M. 2003. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (24): 7012-7018.
- Senyuva, H. Z., Gokmen, V. 2005. Survey of acrylamide in Turkish foods by an in-house validated LC-MS method. *Food Addit. Contam.*, 22 (3): 204-209.
- Susanna, E., Koen, H., Anja, H., Kimmo, P. 2007. Acrylamide levels in Finnish foodstuffs analysed with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51 (2): 239-247.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Törnqvist, M. 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (17): 4998-5006.
- Takatsuki, S., Nemoto, S., Sasaki, K., Maitani, T. 2003. Determination of acrylamide in processed foods by LC/MS using column switching. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 44 (2): 89-95.
- 寺田久屋, 田村征男. 2003. カラムスイッチング HPLC を利用した UV 検出による加工食品中アクリルアミドの定量, *日本食品衛生学会誌*, 44 (6): 303-309.
- Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J., Taniguchi, H. 2004. Application of ion-trap LC/MS/MS for determination of acrylamide in processed foods, *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 45 (2): 95-99.
- Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Okajima, N., Okada, M., Miwa, J., Taniguchi, H. 2005. Effect of carbohydrates on formation of acrylamide in cooked food models, *J. Appl. Glycosci.*, 52 (3): 219-224.
- 堤内 要. 2005. 加工食品中のアクリルアミドモノマーの低減化法について, *食品衛生学雑誌*, 46 (6): J-335-J-337.
- 堤内 要, 渡邊美玲, 渡邊裕介, 神戸真理子, 岡嶋直子, 岡田鉦彦, 三輪錠司, 谷口 肇. 2006. 加熱食品モデルで生じるアルデヒド類とアスパラギンとの反応によるアクリルアミドの生成. *日本食品衛生学会第92回学術講演会講演要旨集*: 109.
- Rosén, J., Hellenäs, K.-E. 2002. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Analyst*, 127: 880-882.

Yaylayan, V. A., Wnorowski, A., Locas, C. P. 2003. Why asparagines needs carbohydrates to generate acrylamide, J. Agric. Food Chem., 51 (6): 1753-1757.

Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., Gruber, D. C., Morsch, T. R., Strothers, M. A., Rizzi, G. P., Villagran, M. D. 2003. Acrylamide formation mechanism in heated foods, J. Agric. Food Chem., 51 (16): 4782-4787.

Title : Acrylamide in foods

Authors : Kaname Tsutsumiuchi^{1,2)}, Mariko Kambe²⁾, Naoko Okajima²⁾, Motoharu Takamura^{1,2)}, Masahiko Okada^{1,2)}, Johji Miwa^{1,2)}, Hajime Taniguchi³⁾

Addresses : ¹⁾ College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University. ²⁾ Research Institute for Biological Function, Chubu University. ³⁾ Department of Food Science, Ishikawa Prefectural University.

Keywords : Acrylamide, Food, Quantitative analysis, Formation mechanism, Maillard reaction

Summary

Acrylamide in foods

Kaname Tsutsumiuchi^{1,2)}, Mariko Kambe²⁾, Naoko Okajima²⁾, Motoharu Takamura^{1,2)}, Masahiko Okada^{1,2)}, Johji Miwa^{1,2)}, Hajime Taniguchi³⁾

1) College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University.

2) Institute for Biological Function, Chubu University.

3) Department of Food Science, Ishikawa Prefectural University

Acrylamide (AA) is a commodity chemical and a suspected human carcinogen; however, recent findings of AA (5-4000 ng/g) in heated foodstuffs have focused worldwide attention. Significant progress has been made in the research field about AA over the past 5 years. This review summarizes the findings specifically on quantitative analysis and formation mechanism of AA. A number of methods for determination of AA have been developed mainly using either LC/MS/MS or GC/MS. They made it possible to measure AA levels in foods all over the world. Consequently, it was recognized that the dietary exposures of AA was worldwide. Additionally, it was found that the AA levels in homemade potato chips and French fries tended to be higher than those of commercial ones. On the mechanism of AA formation in foods, it is generally accepted that the Maillard reaction between reducing sugars and amino acids is the key pathway. Interestingly, it was suspected that there are other pathways to produce AA, because significant levels of AA were detected in some food models without reducing sugars.