

資料

さつまいも加工品中のアクリルアミド低減化に関する研究

Examination of Acrylamide Reduction in Sweet Potato Processed Foods

前原 香純 吉田 純一¹ 二石 大介

1 はじめに

アクリルアミドはヒトに対する神経毒性・遺伝毒性が確認されており、発がん性についてもIARC（国際がん研究機関）によるリスク評価で、グループ2A“ヒトに対して恐らく発がん性を示す”に分類されている¹⁾。

アクリルアミドは120℃以上の高温調理中に、アミノ酸の一種であるアスパラギンと還元糖がメイラード反応を起こすことで副生成物として生成されることが知られており、ポテトチップやフライドポテト等、芋類の揚げ調理品に多く含有されているという報告²⁾がある。EUでは数種の食品について、アクリルアミド含有量の指標値を設定しており、例えば、フライドポテトでは0.6μg/g以下としている。

鹿児島県はさつまいもの生産量が全国1位であり、約1/3を占める。芋けんぴ等、さつまいも加工品の製造も多く、県内外に広く流通しているが、さつまいも加工品中のアクリルアミドに関する報告は少ない。

そこで、LC-MS/MSを用いたアクリルアミド検査法について検討し、県内産のさつまいも加工品中のアクリルアミド含有量実態調査を行うと共に、その低減化についても検討したので報告する。

2 方法

2.1 試料

分析法の確立のための試料は、アクリルアミドが含まれないことを確認した芋けんぴをフードプロセッサで細切、均一化して使用した。

含有量調査の試料は、鹿児島県内さつまいも加工品(芋けんぴ、芋チップ)をフードプロセッサで細切、均一化して使用した。

2.2 対象化合物

アクリルアミドを対象化合物とした。

2.3 試薬

標準品：アクリルアミド（プロテオミクス用）は和光純薬工業(株)製を用いた。

有機溶媒：アセトン（残留農薬・PCB試験用）はキシダ化学(株)製を、ジクロロメタン（残留農薬・PCB試験用）は和光純薬工業(株)製を、抽出用のアセトニトリル（HPLC用）、メタノール（HPLC用）は関東化学(株)製を、LC-MS/MSの移動相用のアセトニトリル（LC/MS用）はハネウェル社製を用いた。

固相抽出カラム：InertSep Pharma（1g, 6mL）及びInertSep SCX（1g, 6mL）はジーエルサイエンス(株)製を用いた。

その他の試薬等：ギ酸（HPLC用）は和光純薬工業(株)製を用いた。

2.4 標準溶液の作成

アクリルアミド10mgを精製水で100mLに定容した。これを精製水で希釈し、フィルターろ過したものを標準溶液とした。検量線は、1, 2, 5, 10, 50, 100ng/mLの6点とした。

2.5 装置

高速液体クロマトグラフはProminenceシリーズ（(株)島津製作所製）を使用し、送液ポンプはLC-20AD、オートサンプラーはSIL-20ACHT、カラムオーブンはCTO-20ACを用いた。

質量分析装置は4000QTRAP（AB Sciex社製）を使用し、イオンソースはTurb Ion Sprayを用いた。

1 退職（2019年3月）

2. 6 LC/MS/MS測定条件

測定条件は表1のとおりとした。また、アクリルアミドのプリカーサーイオン(Q1)、プロダクトイオン(Q3)、MRMにおけるDP (Declustering Potential)、CE (Collision Energy) 及び保持時間 (RT: Retention Time) を表2に示す。

表1 LC/MS/MSの測定条件

LC条件 (株)島津製作所製Prominenceシリーズ	
分析カラム	: ジーエルサイエンス(株)製 Inertsil ODS-SP PEEKカラム (内径2.1mm, 長さ100mm, 粒径3 μ m)
流速	: 0.2mL/min
注入量	: 10 μ L
カラム温度	: 40 $^{\circ}$ C
移動相	: 0.1%ギ酸:アセトニトリル= 95:5
MS/MS条件 AB sciex社製4000QTRAP	
イオン化法	: ESI法 (ポジティブ)
イオンスプレー電圧	: 5.5kV
イオンソース温度	: 500 $^{\circ}$ C
測定モード	: MRM (Multiple Reaction Monitoring)

表2 MS/MSパラメータ及び保持時間

化合物名	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)	RT (min)
アクリルアミド(定量)	72.0	55.1	36	17	2.1
アクリルアミド(定性)	72.0	53.8	36	15	2.1

2. 7 試験溶液の調製

農林水産省が実施している検査方法³⁾をもとに、図1に示す試験フローのとおり試験溶液の調製を行った。

2. 8 妥当性評価

ブランク試料5.00gに対し、試料中濃度が0.08 μ g/gとなるように標準溶液を添加し、30分間放置したものを妥当性評価試験用試料とした。検査員1名が2併行5日間で実施した。

2. 9 アクリルアミド含有量実態調査

鹿兒島県内で加工された、芋けんぴ5検体及び芋チップ4検体について、アクリルアミドの含有量を調査した。

【抽出】

試料 5.00g

- (添加回収用試験は標準溶液添加: 30min放置)
- 水 15mLで湿潤 (15min放置)
- アセトン 40mL
- ホモジナイズ 7500rpm 1min
- 遠心分離 3000rpm 10min



抽出液
↓
減圧濃縮 (20mL以下まで)

- ジクロロメタン10mLで2回洗い込み
- 振とう 1min
- 遠心分離 3000rpm 5min

上層 (水層) 下層 (ジクロロメタン層)

上層 (水層)

- ジクロロメタン 20mL
- 振とう 1min
- 遠心分離 3000rpm 5min

上層 (水層) 下層 (ジクロロメタン層)

上層 (水層)

- 水で20mLに定容

試料抽出液

【精製】

InertSep Pharma を上側にInertSep SCX を下側にして連結

- メタノール10mLを注入し、コンディショニングをする
- 水10mLを注入し、コンディショニングをする
- 試料抽出液を5mL負荷し、素通り画分を回収する
- 水2mLで2回洗浄し、洗浄液を回収する

溶出液

溶出液

- 水で10mLに定容

試験溶液

LC-MS/MS

図1 試験フロー

2. 10 低減化の検討

2. 10. 1 加熱条件の検討

さつまいも2品種をそれぞれ5~6mm角のスティック状にカットし、初期油温110 $^{\circ}$ C, 130 $^{\circ}$ C, 150 $^{\circ}$ C, 170 $^{\circ}$ C, 190 $^{\circ}$ Cでそれぞれ2度揚げ, 3度揚げをした。加熱時間の合計は、2度揚げで4分, 3度揚げで5分とした。

2. 10. 2 水さらし等の検討

さつまいもを5~6mm角のスティック状にカットし、30分間の水さらし及び90秒間の湯煮をしたのち、初期油温170 $^{\circ}$ Cで3度揚げをした。加熱時間の合計は5分とした。

2. 10. 3 真空加熱の検討

さつまいも2品種を5~6mm角のスティック状にカットし、10分間蒸煮したのち、真空フライヤーを用いて100℃で20分間の加熱を行った。

3 結果及び考察

3. 1 検量線の直線性

検量線は、1~100ng/mLの範囲において相関係数0.999以上の良好な直線性が得られた。定量下限については、検量線の最低濃度である1ng/mLにおいてS/N比 ≥ 10 を満たしたため、0.008 $\mu\text{g/g}$ とした。

3. 2 試験溶液精製方法の検討

精製用カラムについて、逆相系カラム3種類 (InertSep Pharma, InertSep C18, Oasis PRiME HLB)、イオン交換系カラム2種類 (InertSep SCX, InertSep MPC) の比較検討を行った。

逆相系カラムでは、回収率や夾雑成分の除去能力に差は見られなかったが、InertSep Pharmaが通液性に最も優れていたため、採用した。イオン交換系カラムでは、InertSep MPCは夾雑成分の除去能力が不十分であったため、InertSep SCXを採用した。

3. 3 妥当性評価結果

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」⁴⁾ に従い実施した。

選択性を評価するために、ブランク試料を測定し、定量を妨害するピークの有無を確認したところ、ガイドラインの許容範囲を超えたピークは見られなかった。真度、併行精度、室内精度については、それぞれ109.4%、10.0RSD%、12.6RSD%であり、ガイドラインの目標値を満たした。

3. 4 アクリルアミド含有量実態調査結果

結果は表3のとおりであり、9製品中6製品からアクリルアミドが検出された。

No. 3はアクリルアミドを含有すると報告⁵⁾ されている黒糖 (含みつ糖) が糖液の材料として使用されていた。また、定量下限未満となったNo. 4, 5, 6は還元性を示さないグラニュー糖が使用されていた。No. 1, 2, 7, 8, 9の糖液の材料については、“砂糖” としか表示がなく、還元性の有無について確認はできなかった。

当センターのさつまいも加工品中アクリルアミド含有量調査結果は、他機関の測定結果と概ね同様であった。

表3 県内産さつまいも加工品中アクリルアミド含有量

No.	製造者	品名	主原料	糖液原料	測定値($\mu\text{g/g}$)
1	A社	芋けんぴ	品種a	砂糖	0.07
2	A社	芋チップ	品種b	砂糖	0.17
3	B社	芋けんぴ	品種c	黒糖	0.09
4	B社	芋けんぴ	品種d	グラニュー糖	定量下限未満
5	B社	芋チップ	品種d	グラニュー糖	定量下限未満
6	B社	芋チップ	品種d	グラニュー糖	定量下限未満
7	C社	芋チップ	品種a	砂糖	0.14
8	D社	芋けんぴ	品種a	砂糖	0.05
9	E社	芋けんぴ	品種a	砂糖	0.01

(参考) 他機関アクリルアミド含有量測定結果

品名	測定値($\mu\text{g/g}$)
芋けんぴ	0.13~0.22 ⁵⁾
紫芋チップ	0.04~0.55 ⁶⁾
ポテトチップ	0.03~5.50 ⁵⁾
フライドポテト	0.09~1.50 ⁵⁾
含みつ糖	0.04~2.30 ⁵⁾

3. 5 低減化に関する検討結果

3. 5. 1 加熱条件の検討結果

加熱条件の違いによるアクリルアミド生成量への影響を確認した。結果は図2に示すとおりであり、170℃以上の加熱でアクリルアミドが生成した。さらに、加熱温度が高いほど、また、加熱時間が長いほど生成量は増加する傾向が見られた。

品種Iは、品種IIよりアクリルアミド生成量が少なかったが、これは品種Iがアスパラギン含有量の少ない品種である⁷⁾ ためと考えられた。

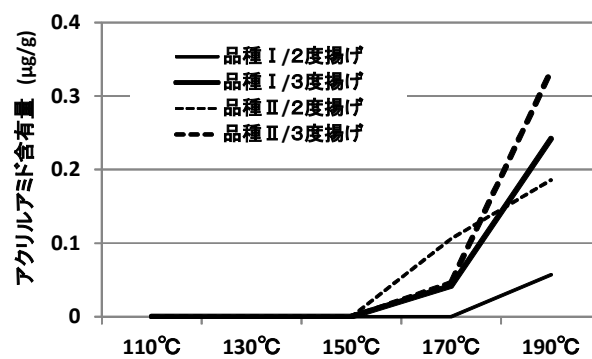


図2 加熱条件による影響

3. 5. 2 水さらし等による検討結果

じゃがいも加工品で有効とされている水さらしや湯煮による⁸⁾ アクリルアミド低減化の検討を行った。結果は図3のとおりであり、低減効果は見られなかった。

じゃがいもは還元糖含有量がアクリルアミド生成量と

相関を示すことから、じゃがいも内の還元糖を水さらしや湯煮で低減することがアクリルアミド低減化に有効であるとされている⁶⁾。しかし、さつまいもは還元糖を多く含有しているため、水さらしや湯煮では還元糖を十分に低減することができず、アクリルアミド低減化の効果が得られなかったと考えられた。また、さつまいもはアスパラギン含有量がアクリルアミド生成量と相関を示すと報告されている⁶⁾ことから、還元糖の低減化ではなくアスパラギンの低減化を図ることがアクリルアミドの低減に有効と考えられた。

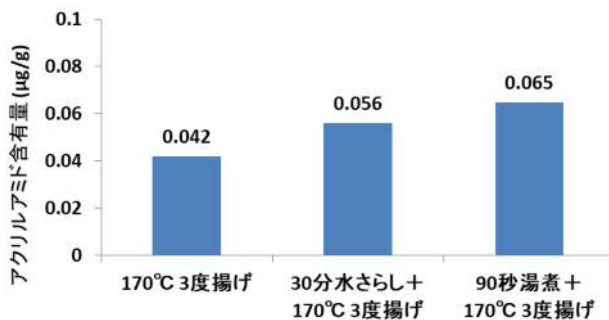


図3 水さらし等の影響

3. 5. 3 真空加熱による検討結果

真空フライヤーを用いて、低温加熱によるアクリルアミドの低減化の検討を行った。

結果は、アクリルアミドは検出されず、低減化に有効であった。

また、常圧下では、初期油温130°C以下で揚げた場合、さつまいもが油を吸ってしまい、芋けんぴ特有のテクスチャーを出すことが出来なかったが、真空フライヤーは低温でのフライが可能であり、テクスチャーを十分に出すことができたと考えられた。

4 今後の課題

- 1) さつまいもの品種によりアスパラギン及び還元糖の含有量が異なることから、品種の違いによるアクリルアミド生成量の比較を行い、アスパラギン及び還元糖含有量が与える影響について検討する。
- 2) アスパラギン量の低減に着目した、アクリルアミド低減化を検討する。
- 3) 色味や食感から、市販製品は150~160°Cほどの低温で揚げていると推測された。本研究の150°Cの加熱条件ではアクリルアミドが検出されなかったが、グラニュー糖以外の糖を使用している製品からアクリルアミドが検出されたことから、糖液にもアクリルアミドが

含有されている可能性が考えられた。そこで、糖液のアクリルアミド含有量実態調査及び材料や加熱条件の違いによるアクリルアミド生成量への影響についても検討する。

5 まとめ

- 1) LC-MS/MSを用いたアクリルアミドの分析法を確立し、分析法の妥当性評価も良好な結果であった。
- 2) 鹿児島県内さつまいも加工品(芋けんぴ、芋チップ)の9製品中6製品から、0.01µg/g~0.17µg/gのアクリルアミドが検出された。
- 3) 糖液の材料は還元性のないものを選択することで、芋けんぴ及び芋チップ中のアクリルアミド低減化につながる可能性が示唆された。
- 4) さつまいも加工品中のアクリルアミド低減には、150°C以下の加熱、加熱時間の短縮及び真空フライが有効であった。
- 5) さつまいもの品種により、アクリルアミド生成量に差がみられた。

参考文献

- 1) 農林水産省；アクリルアミドの健康影響，
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_syosai/about/eikyo.html (2019/3/8アクセス)
- 2) 農林水産省；食品中に含まれているアクリルアミド，
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_kiso/syokuhin.html (2019/3/8アクセス)
- 3) 農林水産省；平成25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妥当性確認の結果，
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_syosai/nousui/ganyu/pdf/aa_bunseki_h25.pdf (2018/8/27アクセス)
- 4) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知；食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について(食安発第1224号1号)，平成22年12月24日
- 5) 農林水産省；食品中のアクリルアミドの含有実態調査，
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_syosai/nousui/ganyu.html (2018/8/27アクセス)
- 6) 奥野成倫，石黒浩二，他；サツマイモ塊根加熱時のアクリルアミド生成量，農研機構研究報告，
<https://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/kar>

c/2005/konarc05-41.html (2019/3/8アクセス)

- 7) Yasuhiro, T *et al* ; Varietal Differences in Crude Protein, and Free and Hydrolyzed Amino Acid Compositions of Sweetpotato Roots, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **42**, 362~268 (1995)
- 8) 中野敦博, 山木一史, 他 ; アクリルアミド生成を抑制するポテトチップ製造法, *北海道立食品加工研究センター報告*, **7**, 51~53 (2007)