速 報

日本で市販されている加工食品中のアクリルアミドの分析

吉田 充[§], 小野裕嗣, 亀山眞由美, 忠田吉弘*, 箭田浩士, 小林秀誉, 石坂眞澄**

Determination of Acrylamide in Processed Foodstuffs in Japan

Mitsuru Yoshida[§], Hiroshi Ono, Mayumi Ohnishi-Kameyama, Yoshihiro Chuda*,
Hiroshi Yada, Hidetaka Kobayashi and Masumi Ishizaka***National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642.***Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services, 1-21-2 Kitabukuro-cho, Saitama 330-9731.****National Institute for Agro-Environmental Sciences, 3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604.*

Acrylamide in processed foodstuffs (32 items, 63 products) sold in supermarkets in Japan was determined by LC-MS/MS and GC-MS methods. The limit of detection and limit of quantification were 0.2 and 0.8 ng/ml, respectively, for the LC-MS/MS method, and those were 12 and 40 ng/ml, respectively, as a brominated derivative for the GC-MS method. Repeatability, given as RSD (%), of the LC-MS/MS method was <5%, and that of the GC-MS was <15%. High correlation ($r^2=0.946$) was observed between values obtained by the two methods. The acrylamide level was 439-1870 $\mu\text{g/kg}$ for potato crisps, 15-3540 $\mu\text{g/kg}$ for fried snacks, 17-303 $\mu\text{g/kg}$ for rice crackers, and 4-54 $\mu\text{g/kg}$ for instant noodles and won-tons.

(Received Sep. 25, 2002 ; Accepted Oct. 4, 2002)

揚げたりオープンで焼いたりして製造された食品中にアクリルアミドが高濃度で検出されることが、最近スウェーデンから発表された¹⁾²⁾。アクリルアミドは生やゆでた食品中には検出されないで、高温調理の際に生成すると考えられるが、その生成機構は未解明である。アクリルアミドは、国際がん研究機関による発がん分類で2A(ヒトに対しておそらく発ガン性がある)に分類されている³⁾。そこで我々は、スウェーデンの研究グループの報告¹⁾²⁾を参考にLC-MS/MS法及びGC-MS法により、日本で市販されている加工食品中のアクリルアミドの分析を行った。

1. 試料及び実験方法

(1) 分析用食品試料

茨城県つくば市内のスーパーマーケットの食品売場で2002年5月31日~6月5日の間に販売されていたものを購入した。

(2) 内標準物質の合成

Raney[®] Copper (Aldrich) 5gにアクリロニトリル- d_3 (99.5% d, C/D/N Isotope Inc.) 水溶液 (1g/30ml)を加え、窒素雰囲気下、80℃で3時間攪拌した。反応液を吸引ろ過し、凍結乾燥し、アクリルアミド- d_3 を無色固体 957 mgとして得た。この一部を昇華精製した純度99%以上の純品を内標準物質として用いた。

独立行政法人食品総合研究所 (〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12)

* 独立行政法人農林水産消費技術センター (〒330-9731 埼玉県さいたま市北袋町 1-21-2)

** 独立行政法人農業環境技術研究所 (〒305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3)

[§] 連絡先 (Corresponding author), mitsuru@affrc.go.jp

(3) 抽出操作

試料をフードプロセッサーで粉碎し、約50gを容量500mlの共栓三角フラスコに精秤し、アクリルアミド- d_3 水溶液500 μ lを添加し、5分間振り混ぜた。水300~400mlを加え、ポリトロン®で内容物が均一になるまで1~3分間破碎した後、粉碎物の一部を容量50mlの遠心管2本に取り、48000 $\times$ gで20分間遠心分離した。遠心上清を2mlずつプラスチックチューブ2本に分注し、-30℃に凍結後、解凍、再遠心(21700 $\times$ g, 10分間)した。その1本から得られた遠心上清全量(約0.5~2ml)を、メタノール1ml、水2mlでコンディショニングした固相抽出カートリッジ (ISOLUTE Multimode™, 500mg, International Sorbent Technology Ltd.) に負荷し、水で溶出を行った。試料負荷後、最初の1mlを捨て、3mlをLC-MS/MS分析用試料溶液とした。残りの1本も同様に処理してGC-MS分析用試料溶液とした。

(4) LC-MS/MSによる測定

分析用試料溶液の一部(0.5ml)を、10分間21700 $\times$ gで遠心し、さらに0.2 μ mのフィルターでろ過後、あらかじめ洗浄したスピナカラム (Microcon YM-3, Millipore) にのせ、50分間14000 $\times$ gで遠心限外ろ過した。この試料2 μ lをLC-MS/MS分析に供した。HPLCはNanospace SI-2 (資生堂) を使い、OptiGuard mini C18 (Optimize Technologies) をガードカラムとして装着したAtlantis dC18 (2.1 $\times$ 150mm, 3 μ m, Waters) カラムを使用して、移動相は10%メタノール水溶液のイソクラティック、40℃、0.1ml/minの条件を用いた。アクリルアミド溶出位置を含む4.8~10.2分間について溶出液を質量分析装置に導入した。質量分析装置はTurboIonSpray®をESIイオン源としたAPI 3000 (Applied Biosystems) を使用し、正イオンモードで測定した。アクリルアミドおよび内標準それぞれの[M+H]⁺のプロダクトイオン (m/z 72>55, 75>58) を選択反応モニタリング (SRM) で検出した。食品中のアクリルアミド含量は、 m/z 75>58の面積に対する m/z 72>55の面積比に添加した内標準濃度を乗じて求めた。

(5) GC-MSによる測定

分析用試料溶液(3ml)を氷浴中で冷却し、臭素化試薬 (臭化カリウム15.2g, 臭化水素水0.8ml, 臭素水5ml, 水60ml)⁴⁾を臭素の色が残るまで加え、氷浴上1時間静置した。1.0mol/lチオ硫酸ナトリウム水溶液を添加し、過剰の臭素を還元、消失させ、酢酸エチル4.0mlで抽出した。抽出液を硫酸ナトリウム(無水)で脱水し、遠心エバポレーターで30℃で大部分の溶媒を減圧留去

した。完全に乾固する前にGC-MS分析用マイクロ試料管へ移し替え、さらに遠心エバポレーターで約5分間減圧遠心して乾固させた。この試料管を4℃に保管し、分析直前に25 μ lの酢酸エチルで溶解した。GC-MS分析にはGCMS-QP2010 (島津) を使い、カラムはCP-Sil 24 CB Lowbleed/MS (0.25mm $\times$ 30m, Varian) を使用した。試料溶液1 μ lをスプリットレスモードで注入し、85℃で1分間保持-25℃/分で175℃まで昇温-6分間保持-40℃/分で250℃まで昇温-250℃で7.52分という昇温プログラムでGCを行った。キャリアガスはHe、カラムヘッド圧は100kPa、試料導入部温度は120℃とした。保持時間8.2分の2,3-ジプロモプロピオンアミドの脱臭素フラグメントイオンピーク (m/z 150, 152) をSIMで検出し、内標準由来の保持時間8.1分のピーク (m/z 153, 155) との面積比から試料中のアクリルアミド濃度を算出した。

2. 実験結果及び考察

LC-MS/MSによるアクリルアミドの検量線は1~300ng/mlの範囲で直線性を示した ($r^2=1.000$)。検出限界及び定量限界は、1ng/mlアクリルアミド標準溶液測定時の標準偏差の3倍、10倍として算出し、それぞれ0.2ng/ml、0.8ng/mlであった。GC-MS法における2,3-ジプロモプロピオンアミドの検量線は20~1000ng/mlの範囲で直線性を示し (m/z 150で $r^2=0.996$, m/z 152で $r^2=0.998$)、本化合物の50ng/ml標準溶液による測定から同様にして算出した検出限界及び定量限界は、各々12ng/ml及び40ng/mlであった。

ポテトチップスおよび2種類の米菓の試料について、繰り返し試験の相対標準偏差 (RSD) はLC-MS/MS法で5%以下、GC-MS法で15%以下であり、かつ原理の異なる両法における分析値はよく一致していた (表1) ことから、これらの方法の妥当性が示された。LC-MS/MS法ではグラファイト系活性炭カラムについても検討を行ったが、より分離能の安定していたAtlantis dC18カラムを採用した。

市販の加工食品32品目63製品についてLC-MS/MS法で分析した結果を表2に示した。これらの試料におけるLC-MS/MS法とGC-MS法による分析値は高い相関 ($r^2=0.946$) を示した。今回の分析におけるポテトチップス、クッキー、朝食シリアル分析値はFAOとWHOから報告されている欧米での分析値⁵⁾の範囲内にあり、その他に新たに日本独自の高温加工・調理食品におけるアクリルアミド含量が明らかになった。ここで分析され

表 1 繰り返し試験

	LC-MS/MS 分析値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				GC-MS 分析値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
	分析 1	分析 2	分析 3	RSD(%)	分析 1	分析 2	分析 3	RSD(%)
ポテトチップス	2152	2291	2351	4.5	2217	2585	2974	14.6
米菓	201	214	204	3.3	264	240	210	11.4
揚げ米菓	44	46	47	3.3	38	41	42	5.2

表 2 市販加工食品中のアクリルアミド含有量 (LC-MS/MS 法)

品 目	分析点数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	中央値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最小値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ポテトチップス	4	1210	1270	439	1870
ポップコーン	1	359			
スナック菓子 (主原料ばれいしょ)	3	1900	2120	47	3540
その他スナック菓子	8	128	134	15	215
揚げ米菓	4	47	54	17	64
その他米菓	8	112	96	42	303
クッキー	2	98	98	92	104
クラッカー	1	18			
かりん糖	1	136			
芋かりんとう (芋けんぴ)	1	119			
大学芋	2	144	144	140	147
豆菓子	1	45			
甘栗	1	72			
スナックめん	2	21	21	11	30
即席中華麺	1	18			
生タイプ即席めん	1	4			
調理焼ビーフン (冷凍食品)	1	4			
即席ワンタン	2	38	38	23	54
油あげ麺	2	316	316	51	581
朝食シリアル	3	104	67	33	213
てんぷら (野菜かき揚げ)	1	34			
チャーハン	2	5	5	5	6
揚げパン	1	6			
ワッフル	1	8			
餃子	1	93			
春巻 (冷凍食品)	1	20			
コロッケ	1	28			
焼おにぎり (冷凍食品)	1	6			
焼麩	1	110			
あぶらあげ	1	5			
魚肉ねり製品 (さつまあげ)	1	2			
麦茶 (粒)	2	398	398	218	578

た製品は市販食品のごく一部の例であり、ロット差も予想され、また家庭で調理された食品にも同様にアクリルアミドが含まれると考えられるため、今後更に広範囲にわたる分析調査が必要である。

3. 要 約

日本で市販されている加工食品 32 品目 63 製品について、アクリルアミド含有量を LC-MS/MS 法及び GC-MS 法で測定した。検出限界及び定量限界は、LC-MS/MS 法でそれぞれ 0.2, 0.8 ng/ml, GC-MS 法で臭素化誘導体としてそれぞれ 12, 40 ng/ml であった。RSD による繰り返し精度は、LC-MS/MS 法では 5% 以下, GC-MS 法では 15% 以下であった。両法による分析値は高い相関 ($r^2=0.946$) を示した。アクリルアミド含有量は、ポテトチップスで 439~1870 $\mu\text{g}/\text{kg}$, スナック菓子で 15~3540 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 米菓で 17~303 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 即席麺・ワンタンでは 4~54 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

文 献

- 1) Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. and Törnqvist M., Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4998-5006 (2002).
 - 2) Rosén, J. and Hellenäs, K., Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *The Analyst*, **127**, 880-882 (2002).
 - 3) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, Lyon, vol 60-Some Industrial Chemicals, pp. 389-433 (1994).
 - 4) Castle, L., Campos, M. and Gilbert, J., Determination of acrylamide monomer in hydroponically grown tomato fruits by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, **54**, 549-555 (1991).
 - 5) Summary Report, FAO/WHO Consultation on the Health Implications of Acrylamide in Food, FAO/WHO, Geneva, 25-27 June (2002).
- (平成 14 年 9 月 25 日受付, 平成 14 年 10 月 4 日受理)