

より AA の乳腺発がん促進作用に違いがみられるとともに、MNU 及び DHPN のいずれの甲状腺発がんモデルでも AA の作用はみられなかった。従って、AA についても HCA の場合と同様、前投与する発癌物質、あるいは標的臓器による特異性のあることが示された。

MNU-AA 乳腺早期発がんモデルを用いて最初に実施した AA による乳腺発がんに対する抑制物質の探索(実験 1)では、CYP2E1 阻害、第Ⅱ相酵素誘導作用をもつ PEITC 群において、触診による乳腺腫瘍の経時的観察で、その発生頻度及び数が低値を示し、また病理組織学的検査で確認された乳腺腫瘍の体積が減少した。従って、PEITC は本モデルにおいて AA による乳腺腫瘍の発生、増殖に対し抑制作用を有する可能性が示された。抗酸化作用をもつ TP 群では摂餌量の増加に伴う有意な体重増加促進が認められ、病理組織学検査で確認された乳癌の発生数が有意に増加した。乳腺腫瘍の発生、増殖は、摂餌量あるいは体重増加の影響を受けることが報告されており(Thompson et al., 2004)、TP 群における摂餌量及び体重の増加が腫瘍の発生数増加に関連しているものと考えられた。その他の群については、触診及び病理組織学検査により確認された乳癌の発生頻度、発生数及び体積について明らかな変化は認められなかった。次いで実施した抑制物質の探索(実験 2)では、実験 1 において PEITC の AA 乳腺発がんに対する抑制効果を示す結果が得られたことから、CYP2E1 阻害、第Ⅱ相酵素誘導作用をもつ物質、あるいは AA の神経、精巣毒性に対する抑制作用を示した抗酸化物質を中心に検索した。その結果、抗酸化作用をもつ LA、抗酸化及び CYP2E1 阻害作用をもつ GRA、抗酸化及び第Ⅱ相酵素誘導作用をもつ I3C の投与により、触診による乳腺腫瘍の経時的な観察で、その発生頻度及び発生数が低値を示した。病理組

織学的検査では GRA 及び I3C 群で腺癌の発生数の減少がみられた。以上の結果から、LA、GRA、I3C は本モデルにおいて AA による乳腺発がんに対し抑制作用を有することが示された。DSF 群でも著明な抑制を示す結果が得られたが、一方、同群では摂餌量の低下を伴う著明な体重増加抑制がみられた。乳腺発がんに対して、摂餌量あるいは体重増加量は大きな影響を与えることが報告されており(Thompson et al., 2004)、DSF による摂餌量の低下及び体重増加抑制が腫瘍の発生頻度及び発生数の減少に関与している可能性が否定できないと考えられた。

## E. 結論

### (1) 馬鈴薯加工食品中の AA の生成条件及び生成抑制に関する研究 [古賀]

加工食品中の AA 低減法をまとめると、概ね次の 3 点となる。

- 1) 前駆物質であるアスパラギンおよび還元糖含量の低い原材料を選択する。更に、選択した加工原材料から品質に影響のない程度前駆物質を減少させる。
- 2) 前駆物質間の結合反応を阻害する。更には、反応後の中間生成物の反応促進を抑える。
- 3) 中間生成物から AA へと反応が進む条件、即ち僅かな水分含有率を保ちながら 100℃以上の温度条件に曝すことを極力避ける。

また、ジャガイモを原料とした加工食品、特にフライ調理加工における AA の低減法として次の 5 つの点に配慮することが望まれる。

- 1) 原料のジャガイモの品種によって、前駆物質(アスパラギン、還元糖)の含量には違いがある。現状、諸外国の加工原料ジャガイモを比較すると、国内に収穫以降および貯蔵の間に還元糖含量が低めの状態で推移する品種は殆どなく、AA の生成抑制に適した品種の開発及びその貯蔵技術の開発が必要である。

2) ジャガイモの収穫から使用するまでの運搬、貯蔵条件によりジャガイモ中の糖、特に還元糖の含有率は異なる。また栽培条件によっても異なる。そこで使用するジャガイモ中の成分を確認し、適切な原料を選択する。

3) 水溶性である前駆物質（アスパラギン、還元糖）の含有率を低減させる目的で、スライスしたジャガイモを水及び温水にて洗浄する。

4) 特に水分含量が減少し、品温が上昇しやすい加工工程における加工温度を品質に影響しない程度まで下げる。

5) 加工後の製品の余分な熱をできるだけ早く取り去り、加工後の余熱による AA の生成を抑える。

## (2) AA の代謝と毒性抑制 [大野]

ラット肝細胞では、AA のエポキシド代謝物の GA は、高濃度処理時に細胞内 GSH 量の減少及び細胞死につながる毒性を示し、AA よりやや強い細胞毒性のあることが示された。また、高濃度の GA による細胞内 GSH 量の減少及び肝細胞死は、N-アセチルシステイン及びメチオニン等の添加により抑制され、それらが細胞内 GSH の原料として働いた可能性が示唆された。凍結ヒト肝細胞では、AA から GA への代謝活性は非常に弱かったが、凍結の影響で活性が低下したものの、アセトン処理したラットの肝細胞による結果とともに、CYP2E1 による代謝であることが支持された。肝臓の CYP2E1 はアルコール摂取により上昇することから、AA から GA への代謝活性に関連することが予測された。

ラット中枢神経系細胞では、AA 及び GA は、共に高濃度で毒性を示した。神経細胞及びグリア細胞（アストロサイト）は共に障害を受けるが、神経細胞においてより顕著であった。また神経細胞に対する毒性発現の強さは、GA が AA の約 3 倍程度強かった。AA 及び GA の細胞毒性発現には、p38MAP キナーゼを介した経

路が関与していた。また、神経障害は先ず神経終末で引き起こされること、これらの障害は抗酸化物質により軽減できる可能性が示唆された。

## (3) AA の遺伝毒性抑制に関する研究 [本間]

ヒト培養細胞に対して AA は明らかに遺伝毒性を示すがその程度は低く、一方、GA は AA より 8 倍程度高い細胞毒性、遺伝毒性を示した。また、AA は DNA に直接作用せず、LOH 等の染色体異常を引き起こす Clastogen であるが、GA は塩基対置換などの点突然変異を主として引き起こす Mutagen であることが明らかとなった。AA は *in vitro* で代謝活性化法による活性化を受けず、CYP2E1 活性をもつ細胞でも AA の毒性は増強されなかったことから、AA の主たる代謝経路は CYP2E1 以外の経路が考えられた。AA の毒性軽減法の確立のためにはこの代謝系路の解明と、それを利用した *in vitro* 試験系の構築が重要である。なお、AA の吸着による毒性抑制の期待された食物繊維は、*in vitro* で AA により誘発されるヒト培養細胞への細胞毒性、遺伝毒性に対して何ら抑制効果を示さなかった。

## (4) AA の神経毒性抑制に関する実験的研究 [広瀬]

AA による神経毒性は、ALA、TP、PEITC により部分的に抑制され、ALA でより明らかであった。中枢神経での検索により、これらの抑制に CAT による  $H_2O_2$  消去系の活性化、更に ALA による抑制には GCS 発現増加による内因性 GSH 産生の亢進している可能性が示唆された。精巣毒性は ALA と PEITC で著効を示したが、肝臓、精巣での代謝あるいは酸化ストレス関連酵素の発現に関する検索では、これらの化合物に特異的な抑制系は見出されなかった。また、AA による神経・精巣障害に対する抗酸化物質の複合抑制効果の検討により、神経障害については ALA による抑制作用以上の効果は見出せなかった。精巣障害に対する抑制作

用に関しては、ALA と PEITC の組合わせで、病理形態学的な相加作用が確認された。なお、消化管内での AA の吸着作用を期待して食物繊維やクロロフィリンなどの併用投与を行ったが、いずれの物質でも AA 誘発神経障害および精巣障害を抑制できなかった。

#### (5) AA の発がん性抑制に関する実験的研究 [今井]

AA の発がん性に対する抑制物質のスクリーニングを行うモデルとして、MNU をイニシエーターとして、AA を 0.004%濃度で飲水投与するラット乳腺早期発がんモデルを確立した。本モデルを用いて、抗酸化作用のある HTHQ, TP 及び LA, 抗酸化及び CYP2E1 阻害作用のある GRA, 抗酸化及び第 II 相酵素誘導作用のある I3C, CYP2E1 阻害, 第 II 相酵素誘導作用のある PEITC 及び DSF, あるいは AA の吸着作用を期待したクロロフィリンの効果を検討した結果, LA, GRA, I3C 及び PEITC の AA 乳腺発がんに対する抑制効果が示された。以上, MNU-AA ラット乳腺発がんモデルにおいて, 抗酸化, CYP2E1 阻害あるいは第 II 相酵素誘導作用を有するものが AA の発がん作用に対する抑制物質として有用である可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ishihara, K., Matsunaga, A., Miyoshi, T., Nakamura, K., Nakayama, T., Ito, S., Koga, H.: Formation of acrylamide in a processed food model system, and examination of inhibitory conditions. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 46, 33-39, 2005.
- 2) 古賀秀徳: アクリルアミドの分析法, 実体, 低減法. In “食品検査とリスク回避のための

防衛技術”, 伊藤, 川本, 杉山, 西島, 米谷編, シーエムシー出版, 東京, pp241-249, 2006.

- 3) Ishihara, K., Matsunaga, A., Miyoshi, T., Nakamura, K., Sakuma, K., Koga, H.: Examination of conditions inhibiting the formation of acrylamide in the model system of fried potato. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press).

- 4) Koyama, N., Sakamoto, H., Sakuraba, M., Koizumi, T., Takashima, Y., Hayashi, M., Matsufuji, H., Yamagata, K., Masuda, S., Kinae, N., Honma, M.: Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutat. Res.*, 603, 151-158, 2006.

- 5) Lee, K-Y, Shibutani, M., Kuroiwa, K., Takagi, H., Inoue, K., Nishikawa, H., Miki, T., Hirose, M.: Chemoprevention of acrylamide toxicity by antioxidative agents in rats - Effective suppression of testicular toxicity by phenylethyl isothiocyanate. *Arch. Toxicol.*, 79, 531-541, 2005.

- 6) Imai, T., Cho, Y.M., Hasumura, M., Hirose M.: Enhancement by acrylamide of *N*-methyl-*N*-nitrosourea-induced rat mammary tumor development - possible application for a model to detect co-modifiers of carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 230, 25-32, 2005.

##### 2. 学会発表

- 1) 石原克之, 松永篤史, 三好隆行, 中山孝志, 古賀秀徳, 伊藤秀二: 加工食品モデル系におけるアクリルアミドの生成および抑制条件の検討. 日本食品衛生学会第 87 回学術講演会, 2004 年 5 月, 東京.
- 2) 松永篤史, 石原克之, 中山孝志, 伊藤秀二, 古賀秀徳: モデル系でのフライ調理によるア

- クリルアミドの生成抑制条件の検討. 日本調理科学会平成16年度大会, 2004年9月, 札幌.
- 3) 石原克之, 松永篤史, 三好隆行, 古賀秀徳, 佐久間和人: フライ食品調理時におけるアクリルアミド生成抑制条件の検討. 日本農芸化学会2005年度大会, 2005年3月, 札幌.
- 4) 石原克之, 蔵本龍衛, 古賀秀徳, 佐久間和人: アクリルアミドの生成および抑制条件の検討. 日本農芸化学会2006年度大会, 2006年3月, 京都.
- 5) 紅林秀雄, 大野泰雄: アクリルアミドのラット肝細胞における代謝と毒性. 日本薬学会第125年会, 2005年3月, 東京.
- 6) 紅林秀雄, 大野泰雄: アクリルアミドおよびグリシダミドのラット肝細胞毒性. 日本薬学会第126年会, 2006年3月, 仙台.
- 7) 小山直己, 坂本浩子, 桜庭真弓, 小泉朋子, 桜庭真弓, 高島良生, 林真, 松藤寛, 山形一雄, 本間正充: ヒトリンパ球芽細胞株TK6を用いたアクリルアミドの*in vitro*遺伝毒性誘発機構の解析. 日本環境変異原学会第33回大会, 2004年11月, 長崎.
- 8) Koyama, N., Sakamoto, H., Sakuraba, M., Koizumu, T., Takashima, Y., Hayashi, M., Matsufuji, H., Yamagata, K., Masuda, S., Kinae, N., Honma, M.: Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells. 9<sup>th</sup> International Conference on Environmental Mutagens. (2005.9)
- 9) Hirose, M.: Japan's reaction to the acrylamide in foods issue and key research effort on prevention of acrylamide-induced neuronal and reproductive toxicities in rats. 韓国食品衛生学会シンポジウム, 2003年8月, 韓国ソウル.
- 10) Hirose, M.: Prevention of acrylamide induced toxicity in rats. 第20回日本毒性病理学会・第5回国際毒性病理学会合同国際学会, 2004年2月, 神戸.
- 11) 黒岩敬子, 渋谷淳, 李京烈, 井上薫, 広瀬雅雄: Acrylamideによる神経及び精巣毒性に対する抗酸化物質の予防効果の評価. 第21回日本毒性病理学会, 2005年1月, 浜松.
- 12) Hirose, M.: Current situation on research of chemicals in food including acrylamide in Japan. Workshop on risk analysis/risk communication related to the occurrence of emerging chemicals in food. Ottawa, Canada. (2005.3)
- 13) 曹永晩, 蓮村麻衣, 今井俊夫, 広瀬雅雄: ラット乳腺及び甲状腺化学発がんモデルにおけるacrylamideの発がん促進作用. 第63回日本癌学会学術総会, 2004年9月, 福岡.
- 14) 蓮村麻衣, 今井俊夫, 曹永晩, 太田世志雄, 高見成昭, 広瀬雅雄: アクリルアミドのラット乳腺発がん作用に対する抑制物質の検索. 第64回日本癌学会, 2005年9月, 札幌.
- 15) 高見成昭, 今井俊夫, 蓮村麻衣, 曹永晩, 広瀬雅雄: アクリルアミドのラット乳腺発がん作用に対する抗酸化及び第Ⅱ相酵素誘導物質の抑制効果. 第22回日本毒性病理学会, 2006年1月, 鹿児島.
- 16) Imai, T., Takami, S., Cho, Y.M., Hasumura, M., Hirose, M.: Inhibitory effects of antioxidants and phase II-enzyme inducers on acrylamide-induced rat mammary carcinogenesis. The 45<sup>th</sup> Annual Meeting of Society of Toxicology. San Diego, USA. (2006.3)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)  
該当なし。

厚生労働省科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）分担研究報告書  
平成15年度～17年度（総合）研究報告書  
馬鈴薯加工食品中のアクリルアミドの生成条件および生成抑制に関する研究

分担研究者 古賀 秀徳 日本スナック・シリアルフーズ協会

研究要旨

2002年4月、スウェーデンの研究者により炭水化物を多く含む食品を高温で調理することによりアクリルアミド(AAm)が生成されることが発表された<sup>1)</sup>。その後、食品中のAAm分析法が報告され<sup>2),3)</sup>、種々の加工食品中のAAm含有量が調査されてきた<sup>4-12)</sup>。そして食品中のアスパラギン(Asn)と還元糖(グルコース、フルクトース)の加熱により反応によりAAmが生成することが分かってきた<sup>13),14)</sup>。しかしながら、加工食品食品中でのAAmの生成抑制方法については、未解明な部分が多くその取組みについても充分に行われていない。

そこで、15年度は、ガラス繊維濾紙を使ったモデル系を構築しアクリルアミドの生成条件およびその生成機構について検討した<sup>5)</sup>。次に16年度は、前駆物質のAsnおよび還元糖が比較的食品の中でも多いとされているジャガイモのそのスライス片をモデルとし、そのフライ調理過程におけるAAm生成率の挙動について調査、またフライ調理後の余熱の影響についても検討した。さらには、フライ調理加工前に揚げ種中の前駆物質を除去するための水洗浄での影響についても検討した。そして17年度は、ジャガイモスライス片モデルでの、そのフライ調理加工における実際の加工工程でより利用可能な方法について検討を試みた。すなわち、主要な加工用品種を用い、そのスライス片のよりフライ調理加工前に揚げ種中の前駆物質を除去するための水洗浄かつ低温でのフライ調理加工を実施しその併用効果について検討した。また、これまでAAmは120℃以上の加熱条件により生成されるとされていたが、より低温域で長期間の反応での生成の有無についても検討した。

フライ調理では180℃を頂点としてAAm生成率が増減すること、揚げ種中のpHが低いほどAAmの生成率は低減すること、そしてFruはAAm生成に大きく影響する前駆物質であることが示唆された。さらにAsnと共存する遊離アミノ酸の組成はAAm生成率に影響すること、特にCysは抑制効果を持つことが認められた。また、AAm生成には、Asnと還元糖が反応しグリコシドを経由して生成する経路と、Asnを含む遊離アミノ酸がまず還元糖と反応しジカルボニル化合物が生成し、このジカルボニル化合物とAsnとが反応して生成する系の少なくとも2経路があると推測した。次に、ジャガイモスライス片のフライ調理過程におけるAAmの生成挙動から、フライ調理終了時点における加工温度が大きく影響していること、さらにはフライ調理加工前に揚げ種中の前駆物質を除去するための水洗浄でその温度が高いほど、また処理時間が長いほどAAm抑制効果があることが分かった。また、フライ後の余熱によっても生成されている事が認められた。すなわち、高温によるスライス片の洗浄およびその後の低温フライ調理加工によって、コントロールと比較し約80%のAAm生成低減の可能性が認められた。しかしその商品としての味覚、物性など品質価値についての十分な検討が今後必要である。

また37℃でのモデル溶液における長期間のAsnと還元糖などの前駆物質が共存する恒温反応条件では、中性からアルカリ域条件下でAAmが生成されることが認められた。

## 研究協力者

石原克之	カルビー株式会社
蔵本龍衛	カルビー株式会社
三好隆行	カルビー株式会社
松永篤史	カルビー株式会社
中村和哉	カルビー株式会社

## A. 研究目的

2002年4月、スウェーデンの研究者により炭水化物を多く含む食品を高温で調理することによりアクリルアミド (AAm) が生成されることが発表された<sup>1)</sup>。その後、食品中の AAm 分析法が報告<sup>2), 3)</sup>され、種々の加工食品中の AAm 含有量が調査されてきた<sup>4), 6)~11)</sup>。そして食品中のアスパラギン (Asn) と還元糖の加熱により AAm が生成することが分かってきた<sup>5), 12), 13)</sup>が、その生成条件の詳細およびその生成抑制については未解明の部分多い。

そこで本研究では、ガラス繊維濾紙を使ったフライモデル系、および食品の中でも AAm の前駆物質である Asn および還元糖が比較的多く共存しているジャガイモのそのスライス辺のジャガイモモデル系を用い、フライ調理加工する際の AAm 生成抑制条件の検討を行った。また、Asn と Glc との混合溶液を 37℃ の恒温器で長期に保管し低温における反応による AAm の生成の可能性についても検討した。

## B. 研究方法

### 1. 試薬・試液

(サンプル調製用試薬)

0.02 mol / L リン酸二水素ナトリウム水溶液：リン酸二水素ナトリウム (和光純薬工業(株)製 特級) 3.12 g を超純水に溶解させ 1000 mL とした。

0.02 mol / L リン酸水素二ナトリウム水溶液：リン酸水素二ナトリウム (関東化学(株)製 特級) 2.84 g を超純水に溶解させ

1000 mL とした。

0.02 mol / L リン酸緩衝液：0.02 mol / L リン酸二水素ナトリウム水溶液と 0.02 mol / L リン酸水素二ナトリウム水溶液とを pH が 6.6 になるように混合した。

0.2 mol / L グルコース (Glc) 溶液：D(+)-Glucose (和光純薬工業(株)製 特級) 3.60 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液に溶解させ 100 mL とした。なお HCl および NaOH 溶液で pH 3.0, 7.4, そして 12.0 に調製した。

0.2 mol / L Asn 溶液：L-Asparagine (和光純薬工業(株)製 特級) 2.64 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液に溶解させ、100 mL に調製した。なお HCl および NaOH 溶液で pH 3.0, 7.4, そして 12.0 に調製した。

0.2 mol / L フルクトース (Fru) 溶液：D(-)-Fructose (和光純薬工業(株)製 特級) 3.60 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液に溶解させ 100 mL とした。なお HCl および NaOH 溶液で pH 3.0, 7.4, そして 12.0 に調製した。

遊離アミノ酸混合溶液：L-Asparagine 954.0 mg, L(+)-Glutamine (和光純薬工業(株)製 特級) 641.7 mg, L(+)-Glutamic acid (和光純薬工業(株)製 特級) 296.5 mg, L-Aspartic acid (和光純薬工業(株)製 特級) 224.6 mg, L(+)-Arginine (和光純薬工業(株)製 特級) 185.9 mg, L-Valine (和光純薬工業(株)製 特級) 118.8 mg, L(+)-Lysine (和光純薬工業(株)製 特級) 117.2 mg, L-Methionine (和光純薬工業(株)製 特級) 60.6 mg, L-Tryptophan (和光純薬工業(株)製 特級) 43.4 mg を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

0.2 mol / L グルタミン (Gln) 溶液：L(+)-Glutamine 2.923 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L

NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

0.05 mol / L グルタミン酸 (Glu) 溶液 : L(+)-Glutamic acid 0.736 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

0.2 mol / L バリン (Val) 溶液 : L-Valine 1.172 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし、100 mL に調製した。

0.2 mol / L アルギニン (Arg) 溶液 : L(+)-Arginine 1.742 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

0.2 mol / L リジン (Lys) 溶液 : L(+)-Lysine 1.462 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

0.05 mol / L アスパラギン酸 (Asp) 溶液 : L-Aspartic acid 0.666 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

0.2 mol / L システイン (Cys) 溶液 : L-Cysteine (関東化学(株)製 特級) 2.423 g を 0.02 mol / L リン酸緩衝液 (pH 6.6) に溶解させ 1 mol / L NaOH と HCl で pH を 6.6 とし 100 mL に調製した。

(AAM測定用試薬)

標準品 : AAM (純度 99 %以上) は関東化学(株)製の電気泳動用を使用した。アクリルアミド-1-<sup>13</sup>C (99 atom %<sup>13</sup>C, 以下 AA-1-<sup>13</sup>C と略) は CDN ISOTOPES 社製を使用した。

標準原液 : 各標準品 10 mg を正確に 10 mL の褐色メスフラスコに採り、超純水を加えて全量を 10 mL とし 1000 μg/ml の

標準原液とした。本溶液は褐色の共栓付ガラス容器に入れ、冷蔵庫 (5 °C) に保存した。

標準溶液 : 各標準原液を超純水で適宜希釈して標準溶液とした。

臭化カリウム, トリエチルアミン, アセトン, n-ヘキサン : 和光純薬工業(株)製の特級試薬を使用した。

0.1 mol / L 臭素酸カリウム溶液 : 臭素酸カリウム (和光純薬工業(株)製 特級試薬) 1.67 g を超純水に溶解して 100 mL とした。

1 mol / L チオ硫酸ナトリウム溶液 : チオ硫酸ナトリウム五水和物 (和光純薬工業(株)製 特級) 24.82 g を超純水に溶解して 100 mL とした。

フロリジルカートリッジカラム : Waters 社製 Sep-Pak Plus Florisil を使用した。

酢酸エチル, 無水硫酸ナトリウム : 和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用試薬を使用した。

超純水 : 日本ミリポア(株)の超純水装置 (MQ Synthesis) を使用した。

その他試薬等 : HPLC 移動相に使用したメタノールおよびアセトニトリルは和光純薬工業(株)製の高速液体クロマトグラフ用を使用した。その他の試薬は全て和光純薬工業(株)製の特級を使用した。

## 2. 装置

ガスクロマトグラフ / 質量分析計 : Agilent Technologies 社製ガスクロマトグラフ 6890 及び質量分析計 5973N

ホモジナイザー : ウルトラタラック (IKA JAPAN 社製)

遠心濃縮機 : 遠心エバポレーター CVE-3100 (EYELA 社製)

凍結乾燥器 : FDU-540 型 (EYELA 社製)

高速液体クロマトグラフ : Agilent Technologies 社製高速液体クロマトグラフ 1100LC / ダイオードアレイ検出器 3-1 ガラス繊維濾紙モデル

ガラス繊維濾紙 (GA-200, 25 mm φ, 0.75 mm, 東洋濾紙(株)製) を鋭利な針状物 (発泡スチロールに爪楊枝を刺して作成した針山) 上に乗せ, 一枚数点の針状物で支えて濾紙以外への溶液の浸透を防げるようにし, 各サンプル溶液を濾紙中心に添加吸収させたものを加工食品モデルとした.

### 3-2 溶液フライ系

鉄製鍋にパーム油を 600 g 入れ, 電磁調理器で加熱し, 目的の温度になった時点で加熱を止め, 各溶液を添加吸収させたガラス繊維濾紙 10 枚を投入し, フライした. フライ終了後のガラス繊維濾紙は直ちにステンレス製網ざるに移して冷凍庫 (-27 °C) で凍結させて保存した.

### 3-3 非水分オープン系

溶液を添加吸収させたガラス繊維濾紙を冷凍庫 (-27 °C) に 3 時間入れて凍結させ, 凍結乾燥器にて一晩乾燥させた. その乾燥調製サンプルを恒温器中において 5 分間一定温度で加熱後, 直ちに冷凍庫 (-27 °C) で凍結させて保存した.

### 4. ジャガイモスライス片のフライ調理

ジャガイモとしてトヨシロ、スノーデンそしてアトランティックの 3 品種を使用した. 水道水でジャガイモを洗浄後, 剥皮せずにスライサー (Urschel 社製) を用いて 1.42 mm の厚さでスライスし, スライス片を型抜きにて維管束内部をくりぬいたものを, 約 15 g 量り取り, 1000 mL の 70°C に加温した蒸留水の入ったビーカーに入れて振とう恒温槽 (EYELA 社製) 中で洗浄処理を 120 秒間行った. 洗浄処理後に, 軽く表面の水分を拭き取ったものをブランチング有りとし, この洗浄処理をしなかったものをブランチング無しとした. それを, 10 g 量り取り 180 °C に加熱したフライヤー (EISHIN 社製, パームオレイン: ライス = 1: 1) で 90 秒間フライした. フライ終了温度は 160°C になるように調整した. ま

た 170°C 加熱した場合は, フライ終了温度が 150°C になるように調整した.

### 4. Asn・Glc 混合反応溶液調製

調製した 3.0、7.4 および 12.0 の pH に調製した Asn および Glc 溶液のそれぞれの 10ml を混合し 20ml とした. その混合溶液を滅菌済みの DISMIC (φ 0.2 μm, ADVANTEC 社製) にてろ過し, 濾液を滅菌した試験管に入れ, 遮光した状態で 37 °C の恒温器に入れ, 7 ヶ月間インキュベートした. インキュベート後

### 5. AAm測定

ガラス繊維濾紙モデル系では, 加熱調製濾紙サンプル 5 枚を 500 mL 容三角フラスコにとり, 内部標準液として 100 μg/mL AA-1-<sup>13</sup>C 溶液 100 μL を添加した. 超純水 200 mL を加え, 2 分間ホモジナイズし, そのうち 40 mL を 250 mL 容の遠沈管に移し 3500 rpm で 10 分間遠心分離した. ジャガイモモデル系では, フードフードカッターにて粉碎し, 粉碎試料 2 g を遠沈管に移し内部標準液 100 μg/mL AA-1-<sup>13</sup>C 溶液 20 μL と超純水 40 mL を加え 2 分間ホモジナイズし 3500 rpm で 10 分間遠心分離した. なお, 反応溶液サンプルでは 1 g を分析試料とした.

その上澄み液 20 mL を 50 mL の共栓付き遠沈管にとり, ヘキサン 10 mL ずつで 2 回 5 分間振とう洗浄を行った.

5 mol/L 硫酸を用いて pH 1 以下とし, 臭化カリウム 10 g を加えて完全に溶解した後, 0.1 mol/L 臭素酸カリウム溶液 6 mL を加えよく混合してから冷蔵庫中で 90 分間以上静置した. 臭素化後の溶液に 1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液を臭素の黄褐色が消失するまで加え, 過剰の臭素を分解したのち, 酢酸エチル 10 mL ずつで 2 回 5 分間振とう抽出した. 抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水し, ロータリーエバポレーターを用いて酢酸エチルを留去した.



残留物を 10 %アセトン含有ヘキサン (10 % A/H) 2 mL で溶解し、予めヘキサン 10 mL で洗浄したフロリジルカートリッジカラムに負荷した。濃縮容器は 10 % A/H 1 mL ずつで 2 回洗い、洗液をカラムに負荷した。カラムを 10 % A/H 6 mL で洗浄した後、20 % A/H 15 mL で被検物質を溶出し試験管で集めた。溶出液を遠心濃縮機で濃縮後、窒素を吹き付けて溶媒を除去し、残留物にアセトン 0.5 mL を加えた後、トリエチルアミン 20  $\mu$ L を添加して脱臭化水素し、GC/MS 分析溶液とした。

#### 6. GC/MS 測定条件

カラム：DB-WAX (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25  $\mu$ m, J&W Scientific 社製) にガードカラムとして不活性化キャピラリーカラム (内径 0.25 mm, 長さ 2 m, J&W Scientific 社製) を接続した。

オープン温度：50  $^{\circ}$ C (1 min)  $\rightarrow$  15  $^{\circ}$ C / min  $\rightarrow$  240  $^{\circ}$ C (11.3 min)

注入口温度：250  $^{\circ}$ C

トランスファーライン温度：240  $^{\circ}$ C

イオン化電圧：70 eV (EI モード)

測定モード：選択イオン検出

SIM 条件：モニターイオン (下線が定量用, 他は定性用)

2-プロモプロペンアミド (2-BPA) : m/z 149, 151

2-BPA-13C : m/z 150, 152

EM 電圧：SIM 測定ではオートチューニング+800 V での設定値を用いた。

キャリアーガス：ヘリウム (1 mL/min で定流量モード)

注入量：1  $\mu$ L (スプリットレス)

#### 7. 遊離アミノ酸測定

フードカッターにて試料を粉碎し、直ちに約 5 g を 50 mL 三角フラスコに秤量し、75 %エタノール 20 mL を加えた。80  $^{\circ}$ C $\cdot$ 20 分間で還留抽出を行ない、上清を 5A 濾紙で濾過して 200 mL ナス型フラスコへ移し

たのち、50 mL 三角フラスコの残渣に 75 %エタノール 20 mL を加え再度還留抽出を行なった。還留抽出は計 3 回繰り返す。三角フラスコおよび残渣を 75 %エタノールで洗った。洗液を含む濾液を 200 mL ナス型フラスコへ回収し、密栓をして 5  $^{\circ}$ C $\cdot$ 16 時間静置した。

その後、フラスコをロータリーエバポレーターへセットし、40  $^{\circ}$ C で減圧 (30 mmHg) してエタノール分を除去し、濾液を 10 分の 1 に濃縮した。この濃縮液の全量を 50 mL のメスフラスコへ移した。ナス型フラスコ内は 40 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7.8) で洗い、同様に 50 mL メスフラスコへ回収した。そして全体を 40 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7.8) で 50 mL に定容した。上記の希釈液の一部 (2 mL) を濾過 (DISMIC-25cs, Advantec 社製) にてクリーンアップし HPLC 分析溶液とした。反応溶液試料では、濾過し、その濾液を HPLC 分析溶液とした。

#### 8. 糖分析

フードカッターにて試料を粉碎し、直ちに約 20 g をビーカーに秤量し、40 % エタノール 100 mL を加えて 1 分間ホモジナイズした。その後、5A 濾紙で濾過した。さらにその濾液を濾過 (DISMIC-25cs, Advantec 社製) にてクリーンアップし HPLC 分析溶液とした。反応溶液試料では、濾過し、その濾液を HPLC 分析溶液とした。

#### 9. HPLC 測定条件

##### 9-1 遊離アミノ酸分析

カラム：Zorbax Eclipse AAA (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 3.5  $\mu$ m) にガードカラム Eclipse AAA (内径 4.6 mm, 長さ 12.5 mm, 粒子径 3.5  $\mu$ m) を接続した。

カラムオープン温度：40  $^{\circ}$ C

移動相：A 液：40 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7.8), B 液：45 % CH<sub>3</sub>OH, 45 % CH<sub>3</sub>CN,

10 % H<sub>2</sub>O

流速：2.0 mL / min

反応試薬：*o*-フタルアルデヒド (OPA ; 1級アミノ酸用), 9-フルオレニルメチルクロロフォルメート (FMOC ; 2級アミノ酸用)

検出器：ダイオードアレイ検出器 (DAD)

検出波長：DAD A : 338 nm (OPA-アミノ酸), DAD B : 262 nm (FMOC-アミノ酸)

## 9-2 糖分析

カラム：Zorbax Carbohydrate Analysis Column (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 5 μm)

カラムオープン温度：30 °C

移動相：75 / 25 Acetonitrile / H<sub>2</sub>O

流速：1.4 mL / min

検出器：HP 1100 RID

## 10. 水分測定

試料の水分含量の測定は常温加熱乾燥法に従った。すなわちフードカッターにて粉碎した試料から、ただちに約 10 g をアルミプレートに平たく延ばして秤量し、恒温器で 100 °C・5時間乾燥したのち再度秤量し、水分含量を計算した。

### 10.1. 揚げ種中温度測定

ジャガイモスライス片の側面から中央付近に長極細シース熱電対 (T34, φ0.25 ストレートシース, (株)岡崎製作所製) を挿入し, モバイル型温度レコーダー (NR-1000, KEYENCE 社製) で測定した。

## C. 結果および考察

### I. 加工温度, 時間および pH の影響

#### 1. 加工温度による影響

Glc と Asn との等モル混合溶液をガラス繊維濾紙 1 枚あたり 400 μL 添加 (Glc 7.21 mg, Asn 5.28 mg) し, 溶液フライ系と非水分オープン系で種々の温度で加熱した後のガラス繊維濾紙の写真および AAm の生成率について図 1 に示した。そ

の結果, 溶液フライ系と非水分オープン系では大きく生成率が異なり, 溶液フライ系では非水分オープン系の 10 倍程の生成率が認められ, 加熱時における水分の影響が示唆された。同様に褐変度も溶液フライ系では大きく, 非水分オープン系では褐変反応も溶液フライ系程進んでいないと思われた。また, 非水分オープン系では, これまでの報告<sup>11), 12)</sup>と同様に 120 °Cより AAm の生成が認められた。溶液フライ系では 100~140°Cでは温度が低く常圧下でのフライ加工とならなかったため分析は実施しなかった。溶液フライ系および, 非水分オープン系ではそれぞれ 180 °C, 200 °C を頂点として増減した。それ以上の高温域では共に減少傾向を示し, 生成率よりも分解率の方が高いのではないかと考えられた。またフライ調理にもっぱら使用されている 160 °C~180 °Cの温度帯では僅かな温度の違いでも大きく生成率が異なってくることが分かった。

#### 2. pH による影響

pH による AAm 生成率への影響について図 2 に示した。1. の結果と同様に非水分オープン系では溶液フライ系に比べて全ての pH においてほとんど生成されなかった。また溶液フライ系では pH が高いほど, 生成率が高いことが分かった。褐変度も溶液フライ系では非水分オープン系よりも濃く, そして pH の高いほど褐変度が高いことも分かった。一方非水分オープン系では pH の違いによる差は認められなかった。これは, Glc はアルカリ水溶液中では環状構造が開いて直鎖構造となり反応性が高くなるため, 溶液フライ系では pH が高くなるほど反応しやすくなっている<sup>15)</sup>と考えられた。

#### II. AAm 生成率におよぼす Glc と Fru との比較

Glc または Fru と Asn の反応による

AAMの生成率の比較を図3に示した。Asn量を固定し、その量に対して還元糖の量(モル)を2倍、3倍と徐々に増やし生成率を測定したところ、溶液フライ系においてGlcは添加量が1:1程度まではAAMは増加するが、その後は逆に減少することが分かった。また褐変度もGlcではAsnの4倍量以上では減少することが認められた。一方Fruでは添加量を増加させればそれに伴ってAAMが増加することが分かった。さらに褐変度もFruの増加に伴い増加することが認められた。非水分オープン系ではGlcとFruで顕著な差は認められなかったが、Asnと同量までは生成率は増加し、それ以上増加した場合には生成率は減少した。褐変度は溶液フライ系と同様にGlcでは4倍量以上で減少が認められたが、Fruでは認められなかった。このことよりAAMの前駆体として重要なのはAsnとFruであることが示唆された。

### III. 遊離アミノ酸の影響

食品中には遊離アミノ酸がさまざまな組成で存在している。これらの遊離アミノ酸がAAM生成にどのように影響しているかを確認するために、Glc/Asn等モルの系に種々の遊離アミノ酸を等モル添加し、その影響を検討した(図4)。その結果、Cysは溶液フライ系、非水分オープン系共に顕著にAAM生成を抑制し、溶液フライ系では褐変反応も抑制した。また、Gln、Glu共に非水分オープン系では約50%抑制し、遊離アミノ酸による違いがなかった。一方溶液フライ系ではGlu、Lys、Aspでは抑制し、Gln、Valでは生成を促進していることが分かった。

### IV. 加工食品中でのAAM生成機序の推定

以上の結果およびこれまでの研究報告<sup>2),12),13),14),15)</sup>より加工食品中のAAM生成機序を推定した(図5)。主に2つ以上の生成経路があると考えた。すなわち1つは

Asnと還元糖が反応しグリコシドを經由しAAMを生成する経路(経路1)、もう1つはGlnなどの反応性の高い遊離アミノ酸がまず還元糖と反応しジカルボニル化合物(3-DG, 1-DG)を生成、またはFruが単独でジカルボニル化合物に変化し、これらのジカルボニル化合物とAsnとが反応することで生成する経路(経路2)であり、経路2の方が経路1よりAsnに対するAAM生成率は高いと推測した。

### V. フライ過程でのAAM生成量変化

ジャガイモモデル系でのフライ過程におけるフライ油温度、スライス品の品温、水分残存率、AAM生成量について図6に示した。水分が10%以上十分に残存している場合にはフライ油温度は170℃以上であってもスライス品の品温は100℃程度に留まり、その後水分が少なくなると急激にスライス品の品温が上昇し、フライ油温度に達した。また褐変反応も水分が減少し、温度上昇に伴い進行していることが分かった。AAMの生成量は、水分が十分に残存しスライス品の品温が100℃程度の段階ではほとんど生成されないが、水分が少なくなりスライス品の品温が上昇するのに伴ってAAMが生成され始めることが分かった。そしてフライ終了時(90 sec)までAAM生成量は増加し続けた。このことから、フライ過程では水分が減少し褐変反応が進行し始める段階でのフライ油温度およびフライ終了時間が極めて重要であることが示唆された。

### VI. フライ後の冷却による抑制効果

スライス片を180℃で2分間フライしたサンプルのフライ後の冷却による抑制効果を検討した(図7)。その結果、フライ直後に液体窒素で凍結させて急冷することで、室温で放置した場合と比較して、約15%のAAM抑制効果が見られた。このことから、フライ後の余熱を取り除くことはAAM低

減に有効であることが示唆された。

#### VII. ジャガイモスライスの洗浄および低温フライの影響

これまでの結果から<sup>5),16)</sup>からジャガイモスライス辺のフライ前の温水洗浄（2分間・70℃）によって、AAmの前駆物質であるAsnおよび還元糖が減少すること、およびより低温でのフライ加工によってもAAmの生成が抑制できることを明らかにしてきた。そこで、それらを併用することでの抑制効果について検討し、その結果について図8に示した。フライ工程におけるAAm生成におよぼす影響はフライ工程の終了付近における加工温度が大きいことはこれまでの研究<sup>16)</sup>からわかっており、そこで通常フライ温度を160℃、低温フライ加工を150℃とした。コントロールのブランチング無し・通常フライと比較し、ブランチング有り・通常フライでは46%、ブランチング無し・低温フライでは42%、そしてブランチング有り・低温フライでは22%を示した。また3種全てのジャガイモ品種についておなじような傾向を示した。またフライ後のサンプルの褐変度は、コントロールがもっとも強く、ついでブランチング有り・通常フライとブランチング無し・低温フライで堂程度の褐変が認められ、ブランチング有り・低温フライでは、ほとんど褐変は認められなかった。このことから低温フライとブランチング処理では同程度の抑制効果が得られる可能性が示唆され、ブランチング処理ではAsnや還元糖に限らず他の遊離アミノ酸など水溶性成分の減少も十分に考えられなど味覚への影響も大きいと思われ、商品価値の側面からも低温フライ加工が最初の取組みとしてはより望ましいと思われる。またブランチング有り・低温フライの併用では抑制効果は大きくなるが味覚・物性・風味など商品価値の側面から劣ることが容易に推測され、この方法

での低減については商品価値との関係に十分に配慮しながら進める必要が不可欠となると思われる。

#### VIII. 低温長期反応におけるAAm生成

AsnとGlcまたはFruとを溶液状態で混合し37℃に長期保存（7ヶ月）した場合のAAm生成について検討した。図9にpH3.0, 7.4そして12.0の各条件下におけるAAmの生成率について示した。最も生成率の高かったのはGlc区・pH7.4であり10520ppmでAsnに対する生成率は0.08%、次いでFru区・pH7.4の7400ppmでAsnに対する生成率は0.06%、それからGlc区・pH12.0の3950ppmでAsnに対する生成率は0.03%、そしてFru区・pH12.0の2670ppmでAsnに対する生成率は0.02%であった。pH3.0条件下では両区ともにtraceであった。このようにこれまでは100℃いじょうの高温における条件によってAAmが生成されるとされてきたが、37℃という比較的低温条件下においても長期間還元糖とAsnが中性域からアルカリ域で共存していればAAmの生成反応が起こることが認められた。また、そのAsnに対する生成率は、180℃の高温域で0.038%<sup>13)</sup>よりも高い生成率であった。

つまり、低温で加工される食品であってもその加工条件または保存条件によってはAAmが生成されうる可能性があると考えられる。

#### IX. ポテトチップスのAAm含有率の経年変化

これまでに、研究してきた低減方法について、実際のポテトチップス製造工程への応用を試み続けている。そこで、AAm初期調査値のAAm含有率を基準とした、AAmの含有率の経年挙動を図10に示した。日本国内では、ジャガイモの収穫時期から貯蔵をして通年のジャガイモ加工食品としての原料としている。そこで貯蔵に伴いAA

mの前駆物質の1つである還元糖が増加してくる。このことから原料ジャガイモの貯蔵の条件およびその期間によって AAm が異なってくることを示唆された。しかしながら、初期調査値に比べ原料ジャガイモの貯蔵後期においても約 50%程度、収穫直後では約 20%程度までと生成率が減少方向へと変化している。また経年に伴い同時期の AAm含有率は全て低下傾向を示している。

このことから、これまでの研究成果が実際の食品の製造現場で応用されてきていること、さらには食品企業の取組みが着実に進んでいることを示している。

#### D. 総まとめ

これまでの研究結果から、加工食品中の AAm を低減させる方法として次の4つの要点を中心に考慮・検討することが望まれる。

- 1)前駆物質であるアスパラギンおよび還元糖含量の低い原材料を選択する。さらに、選択した加工原材料から品質に影響の無い程度前駆物質を減少させる。
- 2)前駆物質間の結合反応を阻害する。さらには反応後の中間生成物の反応促進を抑える。
- 3)中間生成物から AAm へと反応が進む条件、即ち僅かな水分含有率を保ちながら 100℃以上の温度条件に曝すことを極力避ける。
- 4)Asn および還元糖の前駆物質が含有され常温程度の温度で長時間の加工または長期間の貯蔵を伴う食品は、その pHを出来るだけ酸性側とする。

さらに、ジャガイモを原料とした加工食品とくにフライ調理加工における AAmを低減方法として次の5つの要点に配慮することが望まれる。

1)原料のジャガイモの品種によって、前駆物質 (Asn、還元糖) の含量には違いがある。現状日本では、諸外国と加工原料ジャガイモを比較すると、収穫以降および貯蔵の間に還元糖含量が低めの状態で推移する品種はほとんど無く、AAm 問題への適正品種の欠如と言わざるを得ない。そこでジャガイモの新品種の開発およびその貯蔵技術の開発が必要である。

2)ジャガイモの収穫から使用するまでの運搬、貯蔵条件によってもジャガイモ中の糖、特に還元糖の含有率は異なってくる。また栽培条件によっても異なってくる。そこで使用するジャガイモ中の成分を確認し、適切な原料を選択する。

3)水溶性である前駆物質 (Asn、還元糖) の含有率を低減させるという目的で、スライスしたジャガイモを水および温水にて洗浄する。

4)特に水分含量が減少し、品温が上昇しやすい加工工程における加工温度を品質に影響しない程度まで下げる。

5)加工後の製品の余分な熱を出来るだけ早く取り去り、加工後の余熱による AAm の生成を抑える。

#### 研究発表

##### 1. 論文発表

・Ishihara, K., Matsunaga, A., Miyoshi, T., Nakamura, K., Nakayama, T., Ito, S., Koga, H., Formation of acrylamide in a processed food model system, and examination of inhibitory conditions. J. Food Hyg. Soc. Japan, 46, 33-39 (2005).

・Ishihara, K., Matsunaga, A., Miyoshi, T., Nakamura, K., Sakuma, K., Koga, H., Examination of Conditions Inhibiting the Formation of Acrylamide in the Model System of Fried Potato, Biosci.

Biotechnol. Biochem.(in press).

・古賀秀徳, “食品検査とリスク回避のための防衛技術”, 伊藤, 川本, 杉山, 西島, 米谷編, シーエムシー出版, 東京, 2006, pp241-249.

## 2. 学会発表

・社団法人 日本食品衛生学会第 87 回学術講演会「加工食品モデル系におけるアクリルアミドの生成および抑制条件の検討」(2004 年 05 月 13 日)

・日本調理科学会「モデル系でのフライ調理によるアクリルアミドの生成抑制条件の検討」(2004 年 09 月 10 日)

・社団法人 日本農芸化学会 2005 年度大会「フライ食品調理時におけるアクリルアミド生成抑制条件の検討」(2005 年 03 月 30 日)

・社団法人 日本農芸化学会 2006 年度大会「アクリルアミドの生成および抑制条件の検討」(2006 年 03 月 26 日)

## 3. 知的財産権の出願登録状況

・無し

## 参考文献

1) <http://www.slv.se/engdefault.asp>

2) 加工食品中のアクリルアミドの測定・分析及びリスク評価等に関する研究 平成 14 年度 総括・分担研究報告書 (2003)

3) Nemoto, S., Takatsuki, S., Sasaki, K., Maitani, T., Determination of acrylamide in foods by GC/MS using <sup>13</sup>C-labeled acrylamide as an internal

standard. J. Food Hyg. Soc. Japan, 43, 371-376 (2002).

4) 吉田充, 小野裕嗣, 亀山真由美, 忠田吉弘, 箭田浩士, 小林秀誉, 石坂真澄, 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, 日本食品科学工学会誌, 49(12), 822-825 (2002).

5) Ishihara, K., Matsunaga, A., Miyoshi, T., Nakamura, K., Nakayama, T., Ito, S., Koga, H., Formation of acrylamide in a processed food model system, and examination of inhibitory conditions. J. Food Hyg. Soc. Japan, 46, 33-39 (2005).

6) Takatsuki, S., Nemoto, S., Sasaki, K., Maitani, T., Determination of acrylamide in processed food by LC/MS using column switching. J. Food Hyg. Soc. Japan, 44, 89-95 (2003).

7) Ono, H., Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M., Ishizaka, M., Kobayashi, H., Yoshida, M., Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. Food Addit. Contam., 20, 215-220 (2003).

8) U. S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition, Exploratory Data on Acrylamide in Foods, December 4, 2002. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html>

9) U. S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition, Exploratory Data on Acrylamide in Foods - February 2003, Update March 12, 2003. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata2.html>

10) Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tornoqvist, M., Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in

heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4998-5006 (2002).

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

12) Christian, G., Sabine, K., Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 762-771 (2002).

13) Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., Dodson, A. T., Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419, 448-449 (2002).

14) Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., Robert, M. C., Riediker, S., Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419, 449-450 (2002).

15) Kugimiya, M., Fujimura, T., Gelatinization of starches in parenchyma cells separated from potatoes. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 43, 951-955 (1996).

16) Ishihara, K., Matsunaga, A., Miyoshi, T., Nakamura, K., Sakuma, K., Koga, H., Examination of Conditions Inhibiting the Formation of Acrylamide in the Model System of Fried Potato, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press).

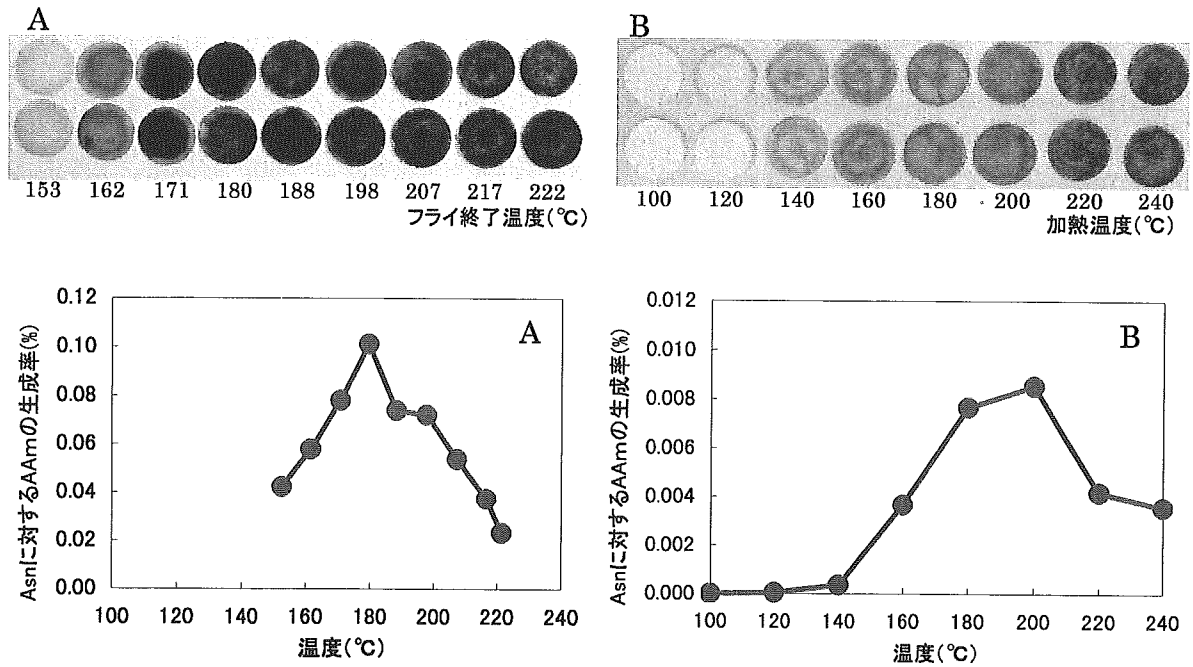


図1 加熱によるAAm生成率変化  
A: 溶液フライ系(フライ時間: 1 min)、B: 非水分オープン系

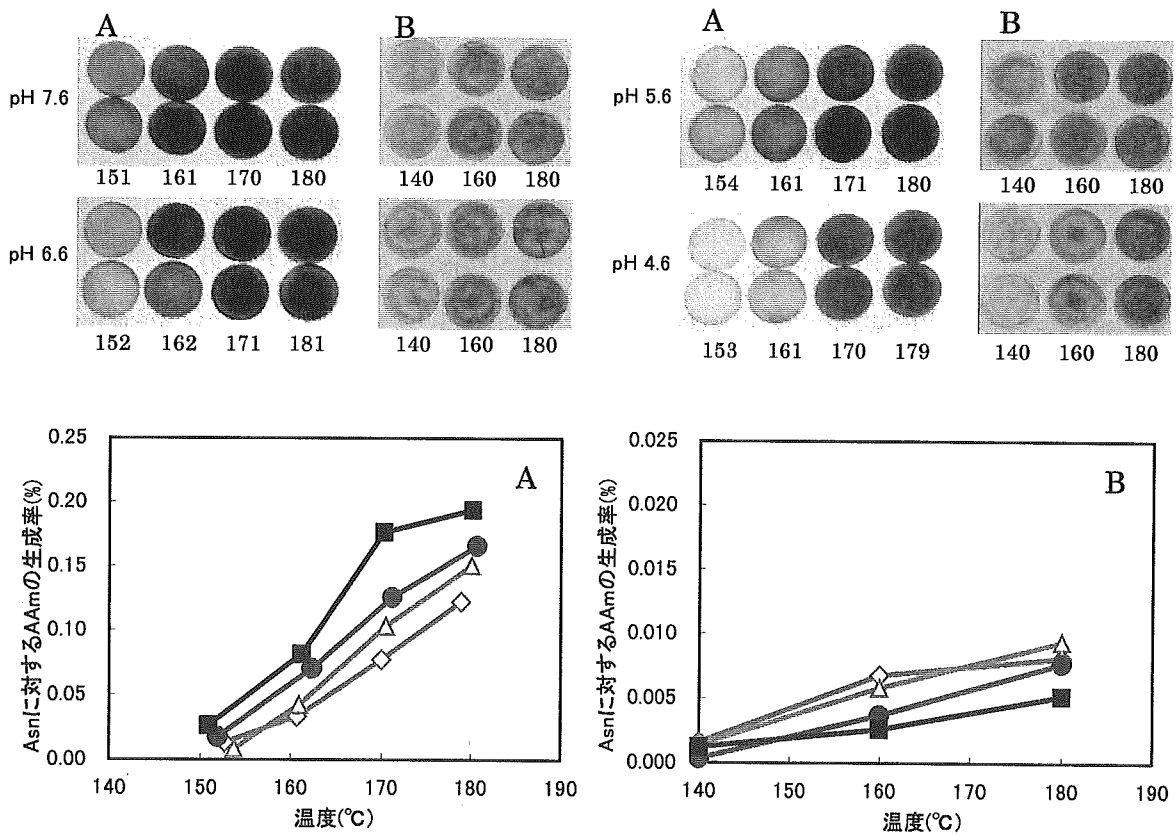


図2 pHによるAAm生成率変化  
A: 溶液フライ系(フライ時間: 1 min)、B: 非水分オープン系  
■ pH 7.6   ● pH 6.6   ▲ pH 5.6   ◇ pH 4.6



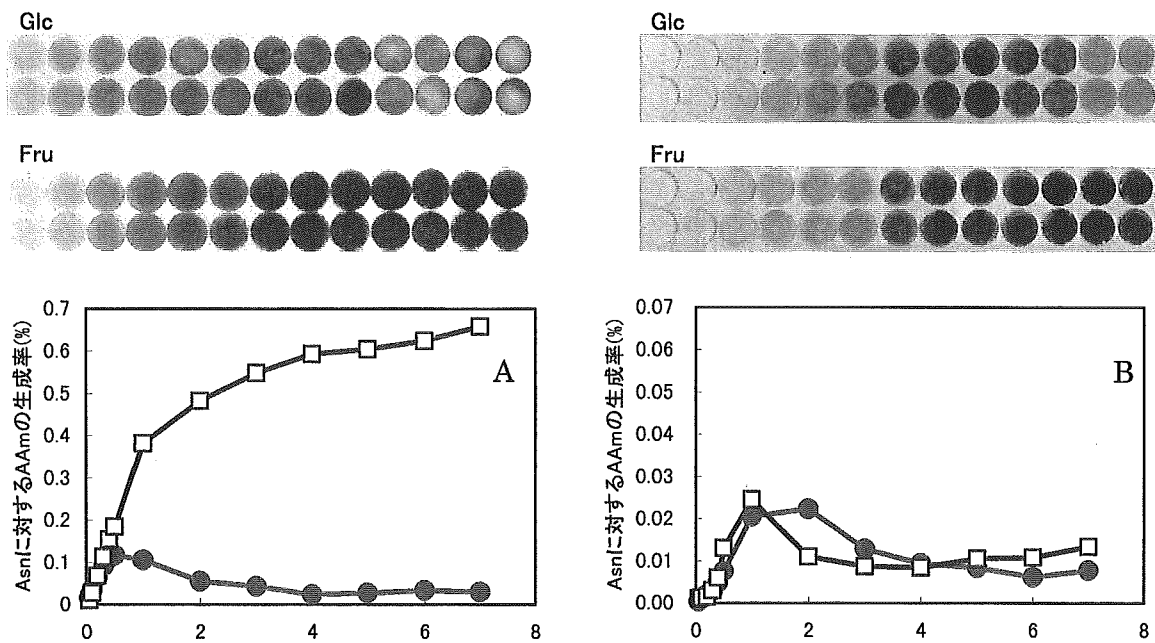


図3 Glc、Fru濃度による生成率の比較  
 A: 溶液フライ系(フライ時間: 1 min、フライ温度: 180 °C)、B: 非水分オープン系(オープン温度: 160 °C)  
 ●—● Glc    □—□ Fru

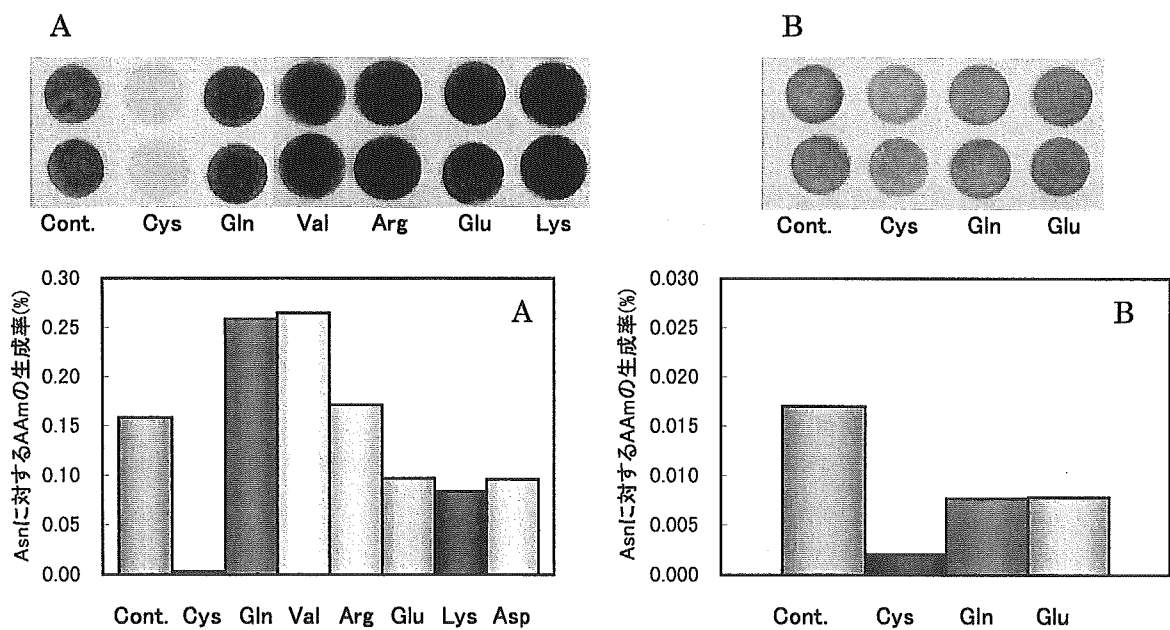


図4 AAm生成に及ぼす種々のアミノ酸の影響  
 A: 溶液フライ系(フライ時間: 1 min、フライ温度: 180 °C)、B: 非水分オープン系(オープン温度: 160 °C)

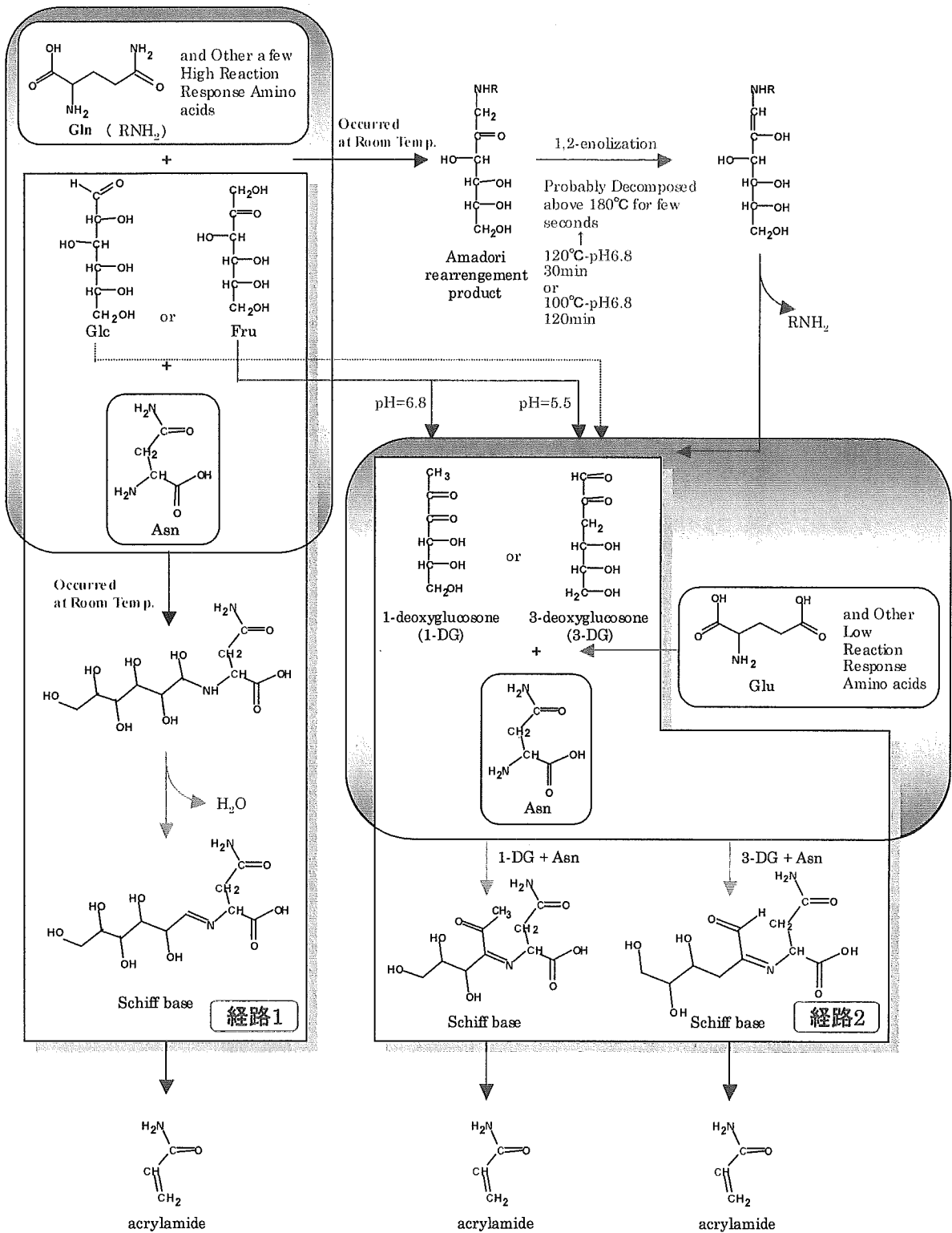


図5 加工食品中でのAAm生成機序の推定

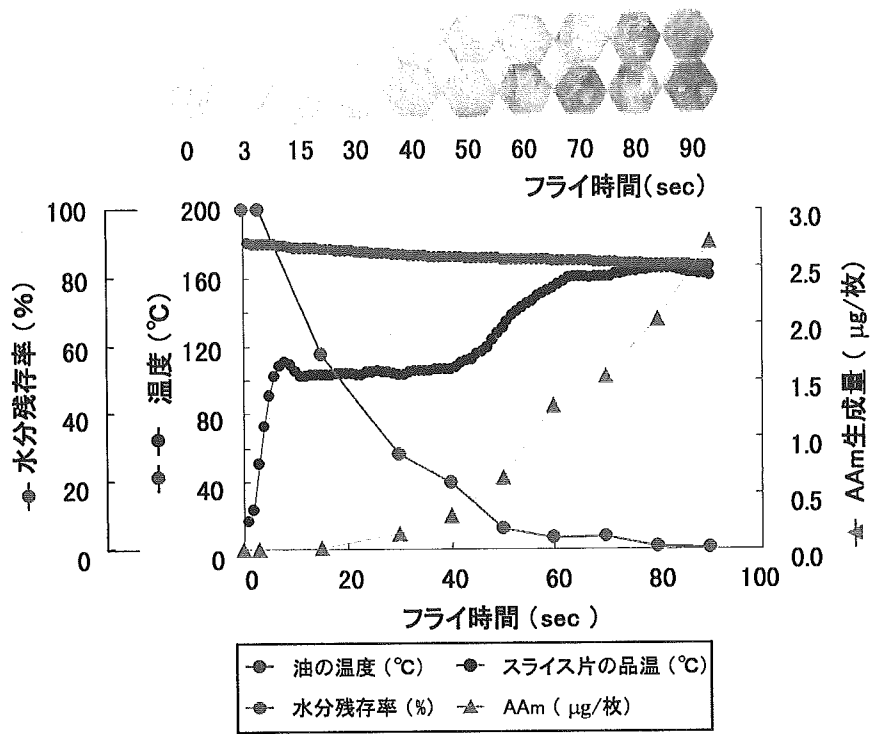
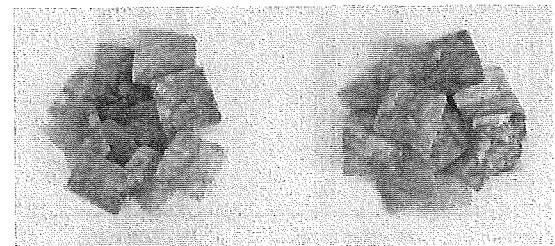


図6 フライ過程によるAAm生成量



フライ後室温にて放置

フライ後に液体窒素にて急冷

※水処理温度 20 (°C)、水処理時間 2 (min)

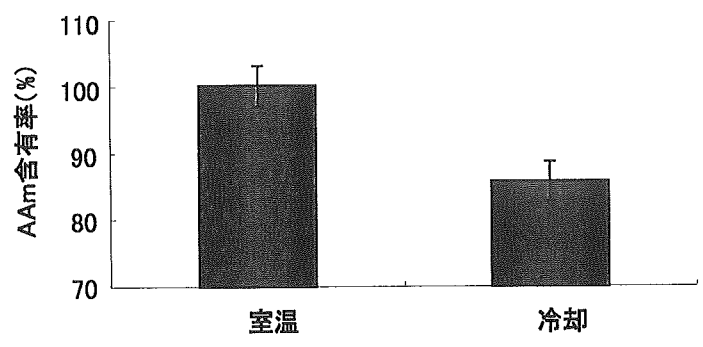


図7 フライ後の冷却効果

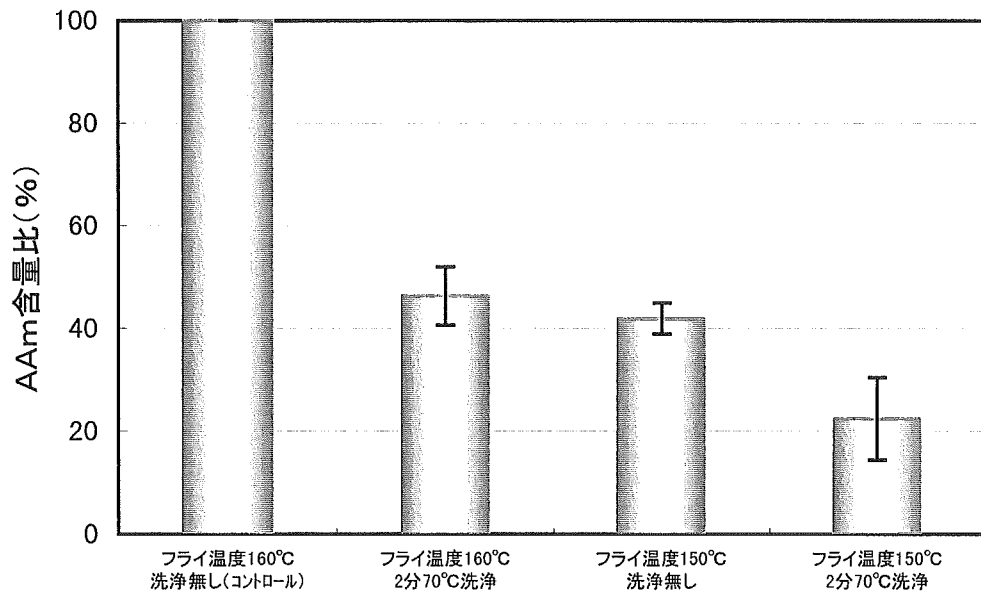
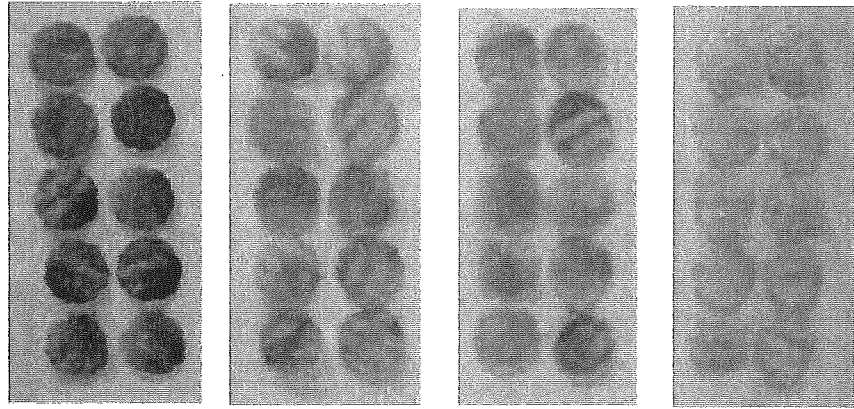


図 8 ブランチングおよび低温フライによる低減効果