

令和 2 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「小規模事業者における HACCP 導入支援に関する研究」
分担研究報告書

加糖餡の製造工程を通じたシアン化合物の動態に関する研究

研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
	窪田 邦宏	国立医薬品食品衛生研究所	安全情報部
研究協力者	梶山 浩	国立医薬品食品衛生研究所	食品部
	中村 公亮	国立医薬品食品衛生研究所	食品部
	岡本 悠佑	国立医薬品食品衛生研究所	食品部
	森 千尋	国立医薬品食品衛生研究所	食品部

研究要旨

本研究では、加糖餡製品の最も重要な化学的危険要因であるシアン化合物に関し、製造工程管理を通じた同危険要因の低減・排除効率に関する知見を収集するため検討を行った。まず、当該食品及び同中間製品等の多検体を対象としたシアン化合物の定量評価に適した簡易分析法を検討し、妥当性を評価した上で、同食品を製造する事業者より提供された同一ロットの原料豆 (*P. lunatus*)、各工程（浸漬後、渋切後、保温後）の中間製品、並びに最終製品の各試料検体におけるシアン化合物濃度を調査した。結果として、シアン化水素 (HCN) 濃度は、原料豆試料では 72.7~96.4 mg /kg であったのに対し、浸漬後中間製品では 45.5~72.7 mg/kg、渋切後中間製品では 20.5~26.2 mg/kg、保温後中間製品では 7.0~8.9 mg/kg と工程を経るごとに減衰が確認され、最終製品では定量限界未満 (5.2 mg/kg) となった。これらの成績から、加糖餡製品では適切な製造工程管理を通じて、シアン化合物の減衰（不検出）が図られることが確認された。

A. 研究目的

食品衛生法第 50 条の 2 第 2 項の基準に基づき、令和 3 年 6 月 1 日以降、原則全ての食品等事業者は HACCP に沿った衛生管理の実施が求められることとなった。食品等事業者は食品の安全性を確保するため、食品製造工程における危険要因を把握し、低減・排除するための工程管理の妥当性を示す必要がある。

食品衛生法第 11 条に基づく「食品、添加物等の規格基準」（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）において、豆類及び生餡はシアン化合物が不検出となることが求められている（生餡製造の原料としての用途に限り、サルタニ豆、サルタピア豆、バター豆、ペギア豆、ホワイト豆及びライマ豆について、シアン化水素 (HCN) として 500 ppm）。豆類につ

いては、使用基準により「シアン化合物の検出される豆類は生あんの原料以外に使用してはならない」と定められており、加糖餡製造工程においては原料豆に含有するおそれのあるシアン化合物が化学的危険要因として位置づけられ、適切な製造工程管理を通じた危険要因の排除或いは安全域までの危険低減が求められている。

シアン化合物の分析法については、環境省告示「シアン化水素試験法」をはじめ、厚生労働省の通知試験法「シアン化水素試験法（農産物）」及び「タピオカでん粉中のシアン化合物試験法」（平成 14 年 食基発第 1121002 号ならびに食監発第 1121002 号別添）では、粉碎した試料に対して水蒸気蒸留を行い、得られた塩化シアン (HCN) あるいはシアン化物イオン (CN-) を硝酸銀滴定あ

るいは 4-ピリジンカルボン酸-ピラゾロン吸光光度法により検出・定量を行う方法である。一方、シアノ配糖体由来シアノの定量において、「シアノ化水素試験法」及び「シアノ化水素試験法（農産物）」は滴定終点の見極めが困難であり、また内在性の分解酵素に依存したシアノ配糖体の分解を原理とするため、内在性酵素の失活によりシアノ化合物の含有量が低く評価される可能性がある。

加糖餡の製造工程初期段階では、内在性酵素の失活が想定されるため、中間製品に残留するシアノ配糖体を評価するにあたっては、「タピオカでん粉中のシアノ化合物試験法」に示される酵素添加操作を追加した分析法が妥当と考えられた。しかしながら、上記の試験法は水蒸気蒸留及び吸光光度反応における操作の煩雑性による多検体測定への不適合性も懸念された。

そこで、本研究では多検体測定に適した簡易分析法を作成し、妥当性を評価した上で、加糖餡の製造工程を通じたシアノ化合物の動態を定量的に調査することで、重要な化学的危険要因である同化合物の排除・低減が図られるかを評価したので報告する。

B. 研究方法

1. 試料

同一ロットの原料豆（ベビーライマ豆、ミャンマー産）及び中間・最終製品試料は製造事業者より提供を受けた。同製品の製造工程フローは図 1 に示したとおりである。試料検体数は原料豆については 6 検体、その他については 3 検体を試料とした。その内訳は以下の通りである。

1)原料豆、2)浸漬後中間製品、3)渋切後中間製品、4)保温後中間製品、5)最終製品。

上記の試料は採材直後から供試時まで冷凍状態を保持した。また、分析法の妥当性評

価にあたっては、白いんげん豆の原料豆（白花豆、北海道産）及び生餡製品（手亡豆、北海道産）を用いて添加回収試験を実施した。原料となるインゲン豆(*Phaseolus*)の種毎の分類は以下の通りである。

- ・インゲンマメ(*P. vulgaris*)
：手亡豆、金時豆、うずら豆、虎豆 等
- ・ベニバナインゲン(*P. coccineus*)
：白花豆、紫花豆 等
- ・ライマメ(*P. lunatus*)
：バター豆、ベビーライマ豆、サルタニピア豆 等

2. 試薬、器具及び機器

2-1. 試薬

- ・水:ミリ Q 水
- ・酢酸:富士フィルム和光純薬(株)社製,特級
- ・酢酸ナトリウム三水和物:富士フィルム和光純薬(株)社製
- ・過塩素酸ナトリウム一水和物:富士フィルム和光純薬(株)社製
- ・メタノール:富士フィルム和光純薬(株)社製,LC 用
- ・クロラミン T 三水和物:関東化学社製,特級
- ・バルビツール酸:関東化学社製,特級
- ・ピリジン:富士フィルム和光純薬(株)社製,特級
- ・塩酸:富士フィルム和光純薬(株)社製, 特級
- ・シアノ化物イオン標準溶液 (1 mg CN-/mL) :シグマアルドリッヂ社製
- ・リナマリン:トロントリサーチケミカル社製, 純度 98 %
- ・リナマラーゼ:富士フィルム和光純薬(株)社製, 食品分析用
- ・クエン酸一水和物:富士フィルム和光純薬(株)社製, 特級
- ・水酸化ナトリウム:富士フィルム和光純薬(株)社製, 特級

・硫酸:富士フィルム和光純薬(株)社製, 特級

2-2. 器具及び機器

・HPLC 装置:Prominence シリーズ, 島津社製

送液ユニット(LC-20AB 1台, LC-20Ai 2台)

オンライン脱気ユニット (DGU-20A5R)

オートサンプラー (SIL-20AC)

カラムオーブン (CTO-20AC)

化学反応槽 (CRB-6A)

蛍光検出器 (RF-20A)

システムコントローラ (CBM-20A)

ソフトウェア (LabSolutions LC/GC)

・LC カラム: Scherzo SS-C18 ($3\ \mu\text{m}$, $250 \times 4.6\ \text{mm}$), インタクト社製

・10 mL, 100 mL ポリプロピレン製メスフラスコ: ビットラボ社製

・HCN 捕集皿 (コンウェイ皿): 柴田科学(株)社製, コンウェイ水分活性測定器 (本体内径 60 mm, 蓋外径 77 mm)

・小型高温チャンバー (恒温器): ST-110, エスペック社製

3. 試薬溶液の調製方法

1) 12.5 mM 過塩素酸ナトリウム含有 0.1 M 醋酸緩衝液及びメタノール混液(9:1, v/v) (移動相): 醋酸ナトリウム三水和物($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 8.65 g 及び過塩素酸ナトリウム一水和物($\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 1.76 g にメタノール 100 mL 及び酢酸(CH_3COOH) 2 mL を加え溶解した後, 水で 1 L に定容した.

2) 0.1 w/v% クロラミン T 水溶液 (反応液①): クロラミン T 三水和物($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NCINa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 0.66 g (クロラミン T として 0.5 g) を水に溶解し, 500 mL とした.

3) ピリジン-バルビツール酸溶液 (反応液②) (1.5 w/v% バルビツール酸, 15 vol% ピリ

ジン及び 3 vol% 塩酸混液): バルビツール酸($\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_3$) 7.5 g に水を 200 mL 加えた後, ピリジン($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) 75 mL 及び塩酸(HCl) 15 mL を加え, 適宜水を加えながら攪拌し溶解した. その後, 水で 500 mL に定容した.

4) クエン酸緩衝液: クエン酸一水和物($(\text{HOOCCH}_2)_2\text{C}(\text{OH})\text{COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$) 128.1g および水酸化ナトリウム(NaOH) 64.4g を水に溶解して 1000 mL とし, クエン酸緩衝液原液とした. 使用時に, クエン酸緩衝液原液を, 水で 10 倍希釈し, クエン酸溶液及び水酸化ナトリウム溶液で pH を 5.9 に調整した.

5) クエン酸溶液: クエン酸一水和物($(\text{HOOCCH}_2)_2\text{C}(\text{OH})\text{COOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$) 21.9 g を水に溶解し, 1000 mL とした.

6) 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液: 水酸化ナトリウム(NaOH) 4.0 g を水に溶解し, 1000 mL とした.

7) 0.2 units/mL リナマラーゼ含有クエン酸緩衝液 (酵素液): リナマラーゼ(0.35 U/mg) 5.8 mg をクエン酸緩衝液に溶解し 10 mL とした.

8) 10 vol%硫酸: 硫酸 10 mL を水と混合し, 100 mL とした.

9) 検量線用シアノ化物イオン標準溶液: シアノ化物イオン標準溶液 (1 mg CN-/mL) を 0.1 M 水酸化ナトリウム溶液により適宜希釈し, 0.125 ~ 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲内で 6 点の標準溶液を調製した.

10) 添加回収試験用リナマリン溶液: リナマリン ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_6$, 純度 98%) 10.2 mg を秤量し, 水を加え 10 mL に定容し標準原液 (リナマリンとして 1 mg/mL) とした. 標準原液に水を加え, リナマリン 950 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (CN-として 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 水溶液となるよう調製した.

4. 分析方法

シアノ化合物の分析には、HPLC ポストカラム蛍光検出法を用いた。なお、試料に含有するシアノ配糖体(リナマリン)は分解酵素(リナマラーゼ)の添加によって HCN を遊離させ、コンウェイ皿を用いた微量拡散法により捕集を行った。各反応機構及び測定原理の概略を図 2~4、分析法のフローチャートを図 5 に示した。

1) 抽出

粉碎した試料 10.0 g に水 20 mL を加えて、15 分間静置した後、0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 50 mL を加えホモジナイズした。1,880×g で 5 分間、室温で遠心分離した後、上清を回収した。残留物に 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 30 mL を加えホモジナイズした後、1,880×g で 5 分間、室温で遠心分離し、上清を先の上清と合わせ、0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液で 100 mL に定容したものを抽出液とした。

2) 酵素処理及び微量拡散法による HCN の捕集

コンウェイ皿の内室に 0.1 M 水酸化ナトリウム 1 mL (捕集液) を加えた後、外室で蓋及び留め具を用いて密閉した状態で抽出液 100 μL 及び酵素液 1 mL を混合した。

密閉したコンウェイ皿を恒温器内で 40°C、4 時間静置した後、蓋を開け、10 vol%硫酸 1 mL を抽出液及び酵素液混液と混合し、再度密閉し室温で 2 時間静置した。静置後、コンウェイ皿内室の捕集液を全量回収・攪拌し、10 μL を HPLC 測定に供した。

※恒温器は温度分布が均一なものを使用する。コンウェイ皿の局所的な昇温は水蒸気の発生及び蓋への吸着が起こり、測定値に影響を与える。

※硫酸混合操作は、試料由来 HCN の揮散及び外気由来 HCN の混入を避けるため、可能な限り素早く行う。

3) HPLC によるシアノ化合物イオンの蛍光検出

ピリジン-バルビツール酸蛍光反応をポストカラム HPLC 系で行い、シアノ化合物イオンに由来する蛍光を測定した。

<LC 条件>

- ・移動相：12.5 mM 過塩素酸ナトリウム含有 0.1 M 醋酸緩衝液及びメタノール混液(9:1, v/v) (流速 : 0.5 mL/min)
- ・反応液① : 0.1 w/v% クロラミン T 水溶液 (流速 : 0.1 mL/min)
- ・反応液② : ピリジン-バルビツール酸溶液 (流速 : 0.1 mL/min)
- ・LC カラム : Scherzo SS-C18 (3 μm, 250 × 4.6 mm)
- ・温度 : オートサンプラー→15°C, カラムオーブン及び化学反応槽→25°C
- ・注入量 : 10 μL
- ・測定時間 : 20 min
- ・検出 : 蛍光検出 (583 nm, Em 607 nm)

4) 定量計算

シアノ化合物イオン(CN-)の定量は検量線用シアノ化合物イオン標準溶液から作成した検量線を用いて絶対検量線法により行った。なお、図 6 に検量線の例を示した。

試験溶液中の CN-濃度は各試験溶液から得られた蛍光光度を検量線に内挿することで求めた。さらに、試料中の CN-濃度は、以下の算術式に従って算出した。

試料中 CN-濃度(mg/kg)

$$= A \times 1000 \times (1/W)$$

A: 試験溶液中の CN-濃度(μg/mL)

W: 試料重量(g)

※HCN 濃度を算出する場合、上記で得られた CN-濃度に 1.04 (=27.025/26.017) を乗じ

た。

5. 分析法の妥当性評価

本分析法の妥当性の確認は、「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について」(平成19年 食安発第1115001号, 平成22年改正 食安発1224第1号) (以下、「妥当性評価ガイドライン」)に基づき実施した。また、原料豆及び生餡製品中のシアン化合物の規格への適合判定を行うため、分析法の定量下限は FAO/WHO 合同食品規格委員会で設定されたキャッサバ粉中の国際基準 (HCN 濃度として 10 mg/kg) 以下を目標とし、試料重量あたりの CN-濃度として 5 mg/kg (試験溶液中 CN-濃度として 0.05 µg/mL) を定量限界の目標値とした。以上を踏まえ、添加回収試験におけるシアン添加量は 5 mg/kg 及び 10 mg/kg とした。

1) 試料：白いんげん豆（国内産）の原料豆及び生餡製品

2) 妥当性評価用試料

・コントロール試料：上記試料を粉碎後、均一混合した試料

・添加試料：コントロール試料 10.0 g に対し、添加回収試験用リナマリン溶液を 1 mL 添加し 30 分静置させた試料

10 mg/kg：リナマリン 950 µg/mL (CN-として 100 µg/mL)

5 mg/kg：リナマリン 475 µg/mL (CN-として 50 µg/mL)

3) 実験計画：1 日あたり、2人の分析者でコントロール試料 1 検体及び添加試料 2 検体 (3 検体 × 2, 計 6 検体) を併行して分析し、これを 3 日間実施した。

4) 分析結果の解析

・真度（回収率）：各添加試料の測定値から全コントロール試料の測定値の平均を引いた数値の平均値を求め、これと添加濃度との差を百分率として求めた。

・精度：各添加試料から得られた測定値から全コントロール試料から得られた測定値の平均を引いた後、一元配置の分散分析を行い、算出された分散から、併行精度および室内精度を推定した。

C. 研究結果及び考察

1. 分析法の妥当性評価

添加回収試験に併せて、コントロール試料（白花豆及び手亡豆）よりシアン化合物が検出されるか確認を行った（表1）。いずれの試料及び実施日においてもコントロール試料では内部酵素活性は観測されず、シアン化合物は測定装置の定量下限値未満であったため、添加回収試験試料として妥当と判断された。また、添加試料（原料豆及び生餡）を用いた繰り返し分析から得られた測定値を解析し、真度、併行精度及び室内精度を算出した（表2）。結果として、原料豆及び生餡において、各添加濃度で良好な真度(70~120%)、併行精度(< 10 RSD%)及び室内精度(< 15 RSD%)が得られ、妥当性評価ガイドラインの目標値を達成した。更に、リナマラーゼ処理群と非処理群の回収率を比較した結果、添加したリナマリンは抽出及び捕集操作を通じ、酵素分解以外の処理では安定性を保持し、シアン配糖体からの CN-の遊離は酵素処理のみに依存することが示された。従って、本分析法は比較的温和な条件で特異的にシアン配糖体（リナマリン）由来 CN-濃度の測定が可能であると示唆された。また、参考文献1-7では、生餡製品の原料豆（バター豆及びベビーライマ豆）中のシアン化合物の殆どはリナマリン（遊離シアンは 1 mg/kg 以下）であることが明らかとなっており、

生餡製品への残留が懸念されるのは主として未分解状態のシアノ配糖体と考えられることからも、製造工程を通じたシアノ化合物の動態を評価するにあたって本分析法の適応は妥当と判断された。

2. 試料検体の分析結果

上記分析法を用いて、原料豆（ベビーライマ豆, *P. lunatus*）及び中間・最終製品試料検体の分析を行うこととした。なお、本報告書では食品衛生法上の基準がシアノ化合物に対して設定され、HCN濃度として規定されていることから、CN-濃度を HCN に換算した結果を報告する。分析は各試料検体につき $n=3$ の併行分析を行った（表 3）。

まず、試料提供元の加糖餡製造事業所で採用されている製造工程フロー図を確認した。その概要は図 1 に示した通りである。この情報を基に、採材可能であり、かつ採材すべき試料として、②60°C以上の温湯中に 4 時間浸漬後、③済切後、④保温（60°C 以上で一晩保温後）後の各工程で中間製品を、①原料豆及び⑤最終製品と共に採材することとした。

本研究で用いた①原料豆（6 検体）中の HCN 濃度は 72.7~96.4 mg/kg（総平均 85.5 mg/kg）であり、 $n=3$ の併行分析における各検体の相対標準偏差（0.90-6.39 RSD%）及び 6 検体（ $n=18$ ）の相対標準偏差（6.77 RSD%）は共にばらつきが小さかった。従って、同一ロットの原料豆各検体間で HCN 濃度に大きな差異は認められない状況にあることが確認された。次に、② 浸漬後中間製品では $n=3$ の併行分析の標準偏差（0.51~1.82 mg/kg）に対し、3 検体（ $n=9$ ）における標準偏差（10.0 mg/kg）は大きな値を示したため、本工程において

シアノ配糖体の含有量並びに除去効率にはばらつきが懸念されたが、その後の③済切後中間製品、④保温後中間製品における各検体間での HCN 濃度にはばらつきは認められず、安定したシアノ配糖体の除去効率を示した。

また、⑤最終製品では全ての試料検体において HCN 濃度は妥当性評価された分析法の定量限界（HCN 濃度として 5.2 mg/kg）未満を示し、シアノ配糖体の充分な除去が確認された。各工程における HCN 濃度の動態を図 7 に示したが、各工程においてシアノ配糖体は段階的に除去されており、浸漬→済切→煮豆→保温（①→④）の工程により、HCN 濃度は 10 mg/kg 未満となった。更に、皮むき及び水晒し工程（④→⑤）を介することにより、豆内部に残存するおそれのあるシアノ配糖体も周囲の水への浸潤を通じ、更に除去されたものと考えられる。本研究で対象とした試料については、加糖餡製造工程を適切に行うことでの定量限界未満の HCN 濃度を達成し、危害要因と位置付けられるシアノ配糖体が十分に除去されることが示された。

D. 結論

シアノ化合物（主にシアノ配糖体）を含有するおそれのあるインゲン豆を原料として製造加工される加糖餡製品については、適切な製造工程管理を通じ、シアノ化合物の除去が達成される実態を確認することができた。事業者間で製造工程に多様性が想定される際には、確実なシアノ化合物の除去を担保できるよう、各事業者は自らの製造工程を確認し、適切な工程管理を設定すべきと考えられる。また、本研究において妥当性評価を行った定量試験法について、多検体の測定も可能であることから、

今後の活用も期待される。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

34巻, 第1号, 80-83項 (1993)

6) 堤 智昭, 石井 利華, 高附 巧, 松田りえ子:豆類中のシアン化合物分析法の性能評価と豆類中のシアン化合物の実態調査, 食品衛生学雑誌, 第52巻, 第6号, 370-375項 (2011)

7) 堤 智昭, 石井 利華, 松田りえ子:生あん中のシアン化合物分析法の性能評価と生あん中のシアン化合物の実態調査, 食品衛生学雑誌, 第54巻, 第4号, 345-350項 (2013)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

- 1) 原川 守, 辻 政雄, 小宮山 美弘:シアン化合物含有雑豆中のシアン配糖体の定量と浸漬工程における分解およびそれらの安定性, 日本食品工業学会誌, 第28巻, 第8号, 412-417項 (1981)
- 2) 原川 守, 辻 政雄, 小宮山 美弘:シアン化合物含有雑豆(バター豆)を使用した現行製あん工程の解析, 日本食品工業学会誌, 第28巻, 第3号, 119-124項 (1981)
- 3) 有賀 孝成, 冠 政光, 中里 光男, 藤沼 賢司, 西島 基弘, 直井家 壽太:酵素法による生あん中のシアン配糖体(シアン化水素として)の分析法及び実態調査, 食品衛生学雑誌, 第24巻, 第3号, 289-294項 (1983)
- 4) 河村 葉子, 引地 志香, 丸山 浩治, 内山 貞夫, 斎藤 行生, 雜豆及びあん製品中のリナマリンの改良直接分析法, 食品衛生学雑誌, 第34巻, 第1号, 74-79項 (1993)
- 5) 河村 葉子, 引地 志香, 丸山 浩治, 内山 貞夫, 斎藤 行生:雑豆中シアン化合物の製あん工程における消長, 食品衛生学雑誌, 第



図 1. 加糖餡の製造工程フロー及び採材試料検体の概要。
採材試料検体は①原料豆、②60°C湯で4時間浸漬した中間製品、③渋切後の中間製品、
④60°C以上で翌日まで保温した後の中間製品、⑤最終製品（包装直前のもの）である。

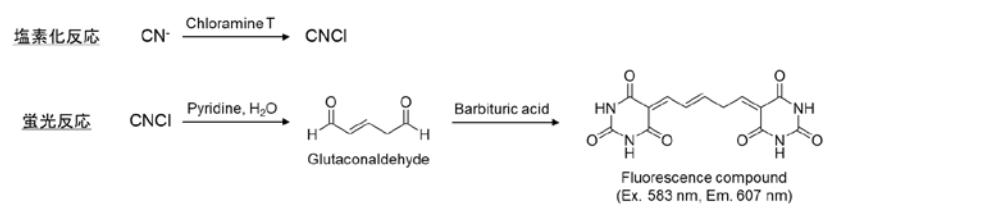
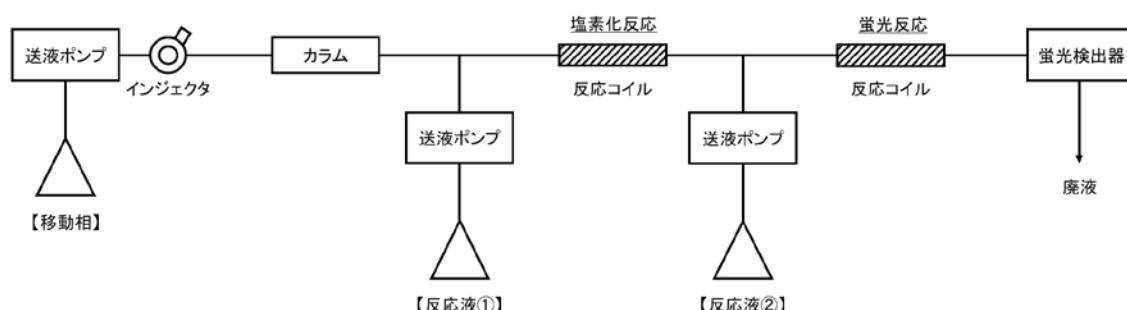


図 2. ポストカラム蛍光検出系及び反応機構の概略

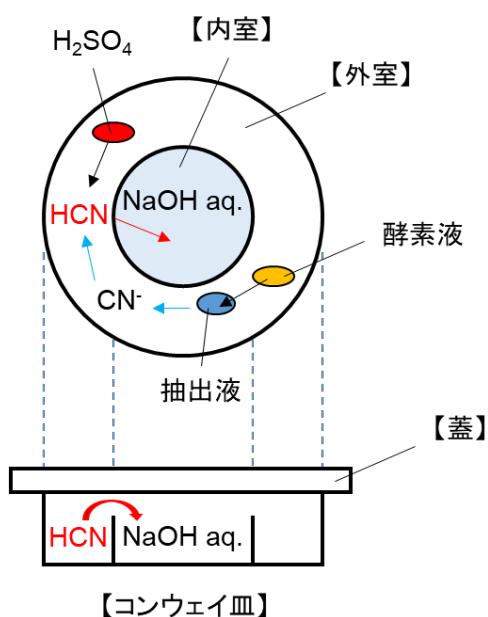


図 3. コンウェイ皿を用いた微量拡散法の概略

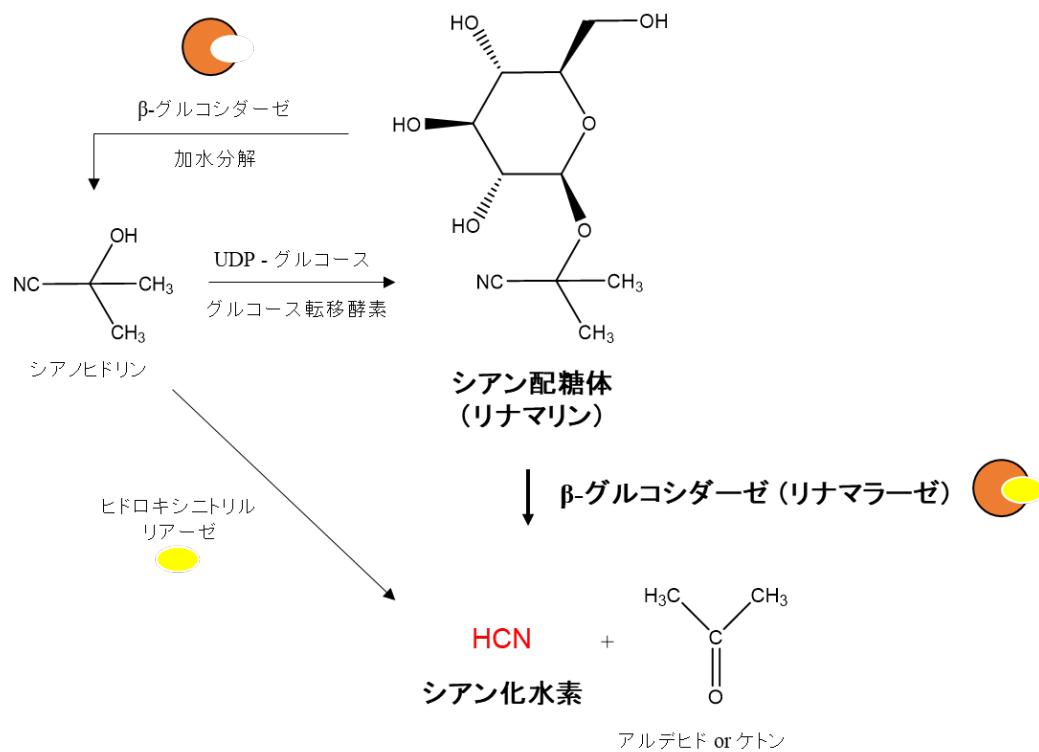


図 4. リナマラーゼ処理におけるシアノ化水素の遊離機構

a. 抽出

粉碎した試料 10 g

↓ ← 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 50 mL

↓ ホモジナイズ

↓ 1,880×g、5 分間室温で遠心分離した後、上清を回収

沈殿物

↓ ← 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 30 mL

↓ ホモジナイズ

↓ 1,880×g、5 分間室温で遠心分離した後、上清を回収

上清

↓ ← 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液で 100 mL に定容

抽出液

b. 酵素処理及び HCN 捕集

<コンウェイ皿外室>

抽出液 100 μL

↓ ← 0.2 units/mL リナマラーゼ含有クエン酸緩衝液 1 mL

↓ インキュベーション (40°C、4 時間静置)

↓ ← 10 vol% 硫酸 1 mL

↓ 静置 (室温、2 時間)

HCN

<コンウェイ皿内室>

HCN

↓

0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 1mL に捕集

↓

HPLC (10 μL 注入)

図 5. 分析法のフローチャート

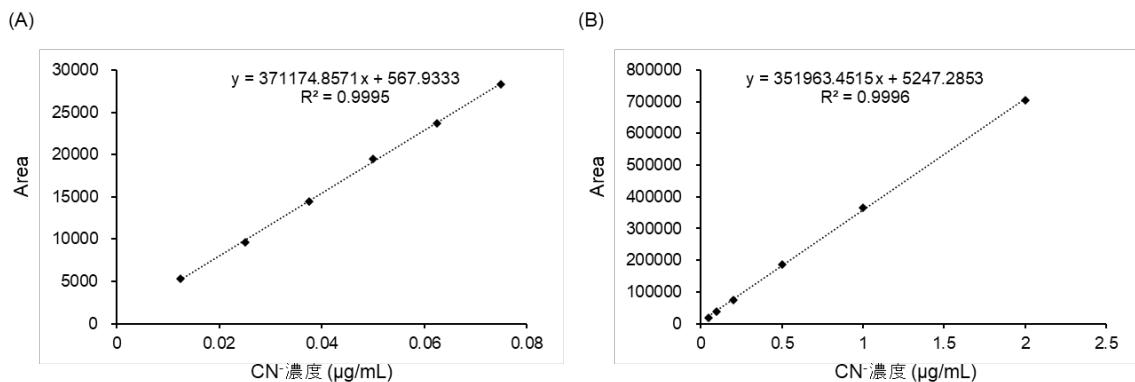


図 6. 検量線の例

(A)低濃度,(B)高濃度範囲におけるCN⁻濃度測定用検量線

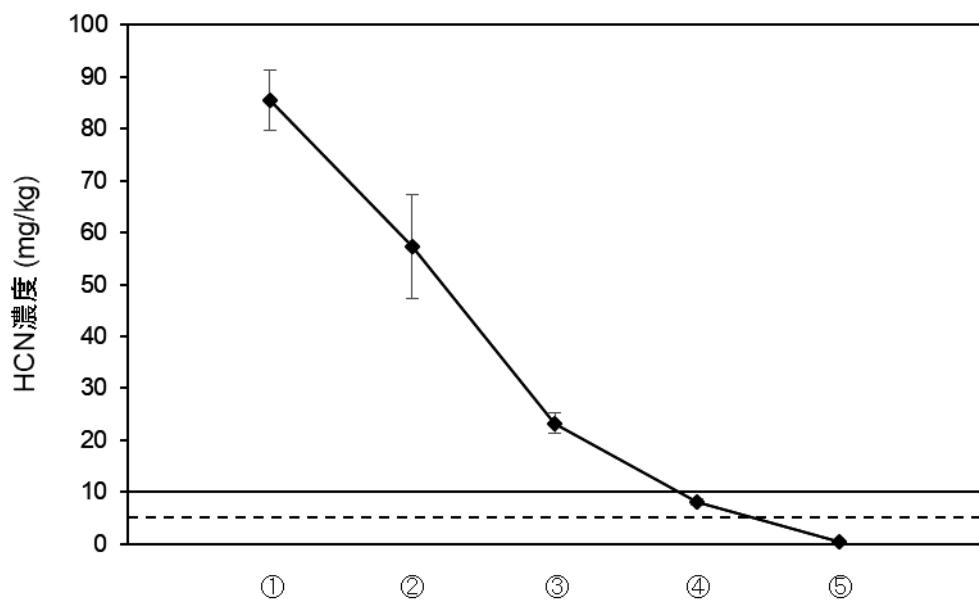


図 7. 製造工程を通じた、 HCN 濃度の動態

図中の①～⑤はそれぞれ①原料豆, ②浸漬後中間製品, ③済切後中間製品, ④保温後中間製品,

⑤最終製品を示す。また、エラーバーは標準偏差を意味する。

実線：参考基準値。キャッサバ粉中 HCN 濃度の国際基準 (10 mg/kg)。

点線：妥当性評価された分析法の定量下限値 (HCN 濃度として 5.2 mg/kg)。

表 1. コントロール試料の測定結果

試料	分析者	n	リナマラーゼ 処理	CN ⁻ 濃度 (mg/kg)		
				1日目	2日目	3日目
原料豆 (<i>P. coccineus</i>)	A	1	+	N.D.	N.D.	N.D.
			-	N.D.	N.D.	N.D.
	B	1	+	N.D.	N.D.	< IQL (0.2)
			-	N.D.	N.D.	N.D.
生餡 (<i>P. vulgaris</i>)	A	1	+	N.D.	N.D.	< IQL (0.2)
			-	N.D.	< IQL (0.5)	N.D.
	B	1	+	N.D.	N.D.	< IQL (0.2)
			-	N.D.	< IQL (0.4)	N.D.

N.D.: not detected, 測定装置の検出限界未満を N.D. と表記した。

IQL: instrumental quantification limit, 測定装置の定量限界であり, 括弧内の数値は検量線の外挿より算出された CN⁻濃度 (mg/kg) を示した。

表 2. 分析法の妥当性評価結果 (真度, 併行精度及び室内精度)

試料	添加標品	添加濃度 (mg CN ⁻ /kg)	分析者	n	リナマラーゼ 処理	回収率 (%)			真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
						1日目	2日目	3日目			
原料豆 (<i>P. coccineus</i>)	リナマリン	10	A	1	+	95.5	94.1	99.4	96.0	0.6	3.0
					-	N.D.	N.D.	N.D.			
		2	B	1	+	95.0	93.0	98.9	< IQL (0.2)	96.8	2.1
					-	N.D.	N.D.	N.D.			
		5	A	1	+	93.8	85.7	107.7	96.8	2.1	12.9
					-	N.D.	N.D.	N.D.			
	生餡 (<i>P. vulgaris</i>)	10	A	1	+	95.5	85.5	112.4	90.7	5.7	4.5
					-	N.D.	N.D.	N.D.			
		2	B	1	+	90.5	97.0	93.6	< IQL (0.5)	91.9	2.7
					-	N.D.	N.D.	N.D.			
		5	A	1	+	87.1	85.1	90.6	97.1	4.2	6.0
					-	N.D.	N.D.	N.D.			
		2	B	1	+	94.5	89.6	96.0	98.5	4.6	4.3
					-	N.D.	N.D.	N.D.			

表 3. 試料検体の測定結果

試料	検体番号	HCN濃度 (mg/kg)			平均 (mg/kg)	標準偏差 (mg/kg)	相対標準偏差 (RSD%)	総平均 (mg/kg)	標準偏差 (mg/kg)	相対標準偏差 (RSD%)
		1	2	3						
① 原料豆 <i>(P. lunatus)</i>	1	86.3	87.6	85.4	86.4	0.90	1.04			
	2	82.3	96.4	93.6	90.8	6.09	6.70			
	3	86.6	83.9	92.0	87.5	3.37	3.86			
	4	84.9	81.9	72.7	79.8	5.19	6.51	85.5	5.79	6.77
	5	92.5	89.5	77.7	86.6	6.39	7.38			
	6	81.6	79.2	85.6	82.1	2.61	3.17			
② 浸漬後中間製品	1	69.5	72.7	71.2	71.2	1.31	1.84			
	2	45.5	49.0	49.6	48.0	1.82	3.78	57.4	10.0	17.5
	3	53.5	52.3	53.2	53.0	0.51	0.96			
③ 渋切後中間製品	1	22.1	23.0	22.5	22.6	0.37	1.65			
	2	25.3	26.0	26.2	25.9	0.37	1.45	23.3	1.98	8.52
	3	20.5	21.1	22.5	21.4	0.82	3.83			
④ 保温後中間製品	1	6.96	8.38	8.90	8.08	0.82	10.2			
	2	8.24	8.17	7.89	8.10	0.15	1.86	8.13	0.59	7.22
	3	8.94	8.17	7.54	8.22	0.57	6.94			
⑤ 生餡製品	1	< LOQ (0.4)	< LOQ (0.3)	< LOQ (0.2)	0.32	0.07	20.7			
	2	< LOQ (0.4)	< LOQ (0.4)	< LOQ (0.3)	0.35	0.02	5.68	0.34	0.04	12.8
	3	< LOQ (0.4)	< LOQ (0.3)	< LOQ (0.4)	0.34	0.02	6.09			

LOQ: limit of quantification, 妥当性評価された分析法の定量限界 (CN⁻濃度として 5.0 mg/kg, HCN 濃度として 5.2 mg/kg) であり, 括弧内の数値は検量線の外挿より算出された HCN 濃度 (mg/kg) を示した.