

＜別紙様式 3＞最終年度報告書

1 研究目的

これまでの農林水産省による実態調査結果より、3-モノクロロプロパンジオール脂肪酸エステル類（3-MCPDE）、グリシドール脂肪酸エステル類（GE）は、食品汚染物質として、食用油脂、及び油脂の含有率が高い食品に含まれることが報告されている。食用油脂中のこれらの物質については多くの研究が行われ、油脂の精製時の脱臭工程にて生成することや、増加に影響する主要因が明らかになっている。3-MCPDE（2-MCPDEも含む）とGEは、主に食用油脂の精製時の脱臭工程にて生成することが報告されている。3-MCPDEの生成には塩化物が必要であること、またGEの生成には、ジアシルグリセロール（DAG）やモノアシルグリセロール（MAG）などが基質となること、脱臭温度が 200℃付近までは生成と分解が拮抗し、220℃以上の高温下で生成が優位に起こることが報告されており、食用油脂の製造中の 3-MCPDE、GE生成の主要因、低減策は明らかになりつつある。一方、油脂を原料とする食品の加熱調理における 3-MCPDE、GE の動態は明らかになっておらず、とくに加工食品製造時の加熱調理がこれらの物質を増加させるのか、あるいは減少させるのかは不明である。

このため、本研究では、

1. 加工食品中の 3-MCPDE、GE 分析法の妥当性確認
2. 加工食品の製造における加熱調理が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価
3. 加工油脂の製造条件が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価並びに加工油脂を原料とする加工食品における3-MCPDE及びGE分析により、食用精製油脂を用いた加熱調理が加工食品中の3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響を解明すること

を目標とする。

その結果、

1. 加工食品を通じたより現実的な3-MCPDE及びGE摂取量の把握に資する知見の蓄積
2. 加工食品中の3-MCPDE及びGEを低減するためのあるいは増加させないための調理方法や加工処理法の提言

が期待される。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 食用精製油脂を用いた加熱調理が加工食品中の3-MCPDE、GE生成に及ぼす影響の解明（遠藤泰志・東京工科大学）

国内で市販されている食用油及び加工食品中の3-MCPDE及びGEの加熱調理や加工処理における挙動を把握し、3-MCPDE及びGEを低減するためのもしくは増加させないための加熱調理や加工処理の方法を提案する。

(ア) 加工食品中の3-MCPDE及びGE分析の妥当性確認

加工食品中の3-MCPDE（2-MCPD脂肪酸エステル類（2-MCPDE）を含む）及びGEの分析法の妥当性を確認すると共に、油脂食品を主とする加工食品中の3-MCPDE及びGEの定量分析を行う。

(イ) 加工食品の製造における加熱調理が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価

(ア) で確立した分析法を活用しつつ、食用油を用いた加熱調理前後の加工食品中及び油脂中の3-MCPDE（2-MCPDEを含む）及びGEの定量分析を行い、3-MCPDE及びGEの挙動を明らかにする。

(ウ) 加工油脂の製造条件が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価並びに加工油脂を原料とする加工食品における3-MCPDE及びGE分析

食用油脂からマーガリン等の加工油脂を製造する工程での3-MCPDE（2-MCPDEを含む）及びGEの定量分析を行うと共に、加工油脂を用いて製造される加工食品中の3-MCPDE及びGEの挙動を明らかにする。

(2) 達成目標

1. 加工食品による3-MCPDE及びGE摂取量の把握につながる情報を得る。
2. 加工食品中の3-MCPDE及びGEを低減するためのあるいは増加させないための加熱調理方法や加工処理法を少なくとも一つ以上提案する。

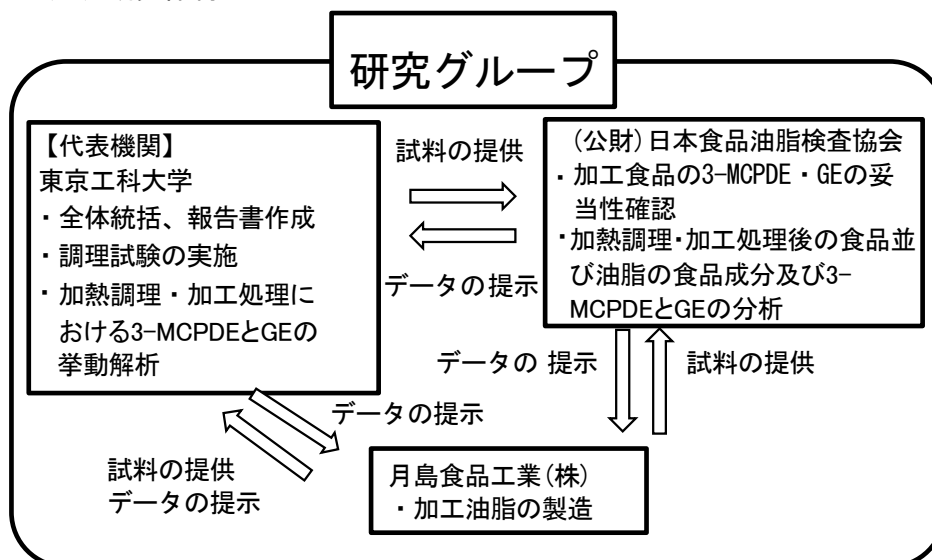
(3) 研究開発された成果の取扱い

学会および科学雑誌への研究成果の発表、ホームページ上での研究成果の公開

(4) 年次計画

研究課題	研究年度				
	H30	R1	R2	R3	R4
1. 食用精製油脂を用いた加熱調理が加工食品中の3-MCPDE、GE生成に及ぼす影響の解明	加工食品中の3-MCPDEとGE分析の妥当性確認 加工食品の調査				
(1) 加工食品中の3-MCPDE及びGE分析の妥当性確認	加工食品製造における3-MCPDEとGEの挙動調査				
(2) 加工食品の製造における加熱調理が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価	加工油脂製品の製造条件の評価				
(3) 加工油脂の製造条件が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価並びに加工油脂を原料とする加工食品における3-MCPDE及びGE分析					

(5) 研究体制



(6) 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者	エフォート (%)
	機関	研究室		
研究総括者 1. 食用精製油脂を用いた加熱調理が加工食品中の 3-MCPDE、GE 生成に及ぼす影響の解明	東京工科大学	応用生物学部	◎遠藤泰志	25
(1) 加工食品中の 3-MCPDE 及び GE 分析の妥当性確認	東京工科大学 (公財)日本食品油脂検査協会	応用生物学部	○遠藤泰志 △重松康彦 △深澤 透 井上 航 村田 龍 河津裕美 飯田泰浩 彈塚シルビア麗	前出 5 20 15 10 10 10 10
(2) 加工食品の製造における加熱調理が 3-MCPDE 及び GE 生成に及ぼす影響の評価	東京工科大学 月島食品工業(株) (公財)日本食品油脂検査協会	応用生物学部	○△遠藤泰志 永井利治 重松康彦 深澤 透 井上 航 村田 龍 河津裕美 飯田泰浩 彈塚シルビア麗 高木繁行 多賀 郁	前出 10 前出 前出 前出 前出 前出 前出 10 10
(3) 加工油脂の製造条件が 3-MCPDE 及び GE 生成に及ぼす影響の評価並びに加工油脂を原料とする加工食品における 3-MCPDE 及び GE 分析	東京工科大学 月島食品工業(株) (公財)日本食品油脂検査協会	応用生物学部	○△遠藤泰志 永井利治 重松康彦 深澤 透 井上 航 村田 龍 河津裕美 飯田泰浩	前出 前出 前出 前出 前出 前出 前出

(注1) 研究総括者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

(7) 各年度の研究費

平成30年度	7,000,000円
令和1年度	6,150,000円
令和2年度	4,920,000円
令和3年度	4,280,000円
令和4年度	3,852,000円

3 研究成果の概要

(1) 主な成果

1) 成果の内容

(ア) 加工食品中の 3-MCPDE、GE 分析法の妥当性確認

酵素の間接分析法（酵素法）の改良法について、食用精製油脂を用いた加熱調理で製造される加工食品に適用した結果、3-MCPDE（2-MCPDE を含む）及び GE を十分に抽出できると共に、3-MCPDE（2-MCPDE を含む）及び GE の添加回収率及び精度は良好であった（表 1-13 参照）。

(イ) 加熱調理が加工食品中の 3-MCPDE、GE 生成に及ぼす影響について基礎データの収集

パーム油及びこめ油を用いて、フライ食品としてあられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツを、また高温調理である炒め調理で製造されるチャーハンを作製して、加熱前後での 3-MCPDE と GE の増減を調べた結果、汎用的な加熱条件では両物質とも増加しないことを確認した（表 2-10 と 2-17 参照）。

(ウ) 加工油脂の製造条件が 3-MCPDE 及び GE 生成に及ぼす影響について基礎データの収集

加工油脂として、パーム油をベースとしたマーガリンの製造工程、とくに加熱殺菌前後での 3-MCPDE と GE の増減を調べた結果、汎用的な条件での殺菌工程では両物質とも増加しないことを確認した（表 3-1 参照）。

(エ) 加工油脂を原料とする加工食品の製造における 3-MCPDE 及び GE 生成に及ぼす影響について基礎データの収集

加工油脂としてマーガリンを用いてクッキーを製造した際の、加熱前後での 3-MCPDE と GE の増減を調べた結果、汎用的な加熱条件では両物質とも増加しないことを確認した（表 3-4 参照）。

2) 成果の活用

(ア) 加熱調理が加工食品中の 3-MCPDE・GE 生成に及ぼす影響についての基礎データの提供

本研究で得られた成果をもとに、食用精製油脂を用いて加熱調理により加工食品を製造する場合、汎用的な加熱条件では、3-MCPDE 及び GE 生成は増加しないことから、加工食品の製造条件を変更する必要性はないことを提示できると共に、原料油脂中の濃度の管理が重要であることを提案できる。また、消費者に加工食品の安全性に関する情報を提供できる。

また、原料油脂中の濃度を測ることにより、別途加工食品中の 3-MCPDE と GE 濃度を測定しなくても、およその摂取量を推定できる可能性がある。

(イ) 加工油脂を原料とする加工食品の製造における 3-MCPDE 及び GE 生成に及ぼす影響について基礎データの提供

精製植物油脂から加工油脂を製造する場合、汎用的な加熱殺菌条件では 3-MCPDE 及び GE 生成は増加しないことから、加工油脂の製造条件や工程を変更する必要性はないことを提示できると共に、消費者に加工油脂を含む加工食品の安全性に関する情報を提供できる。

(2) 各研究課題の成果

1) 小課題名：加工食品中の 3-MCPDE 及び GE 分析の妥当性確認

(ア) 研究目標

平成29年度「安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業」¹⁾において、数種の加工食品について、酵素法の改良法が報告されている。しかしながら、この平成29年度の研究事業では、3-MCPDE及びGEが対象であるが、2-MCPDEは対象とされていない。さらに、本研究事業では、平成29年度の研究事業¹⁾の含まれていない食品も対象としている。従って、本研究事業では、小課題2で選定された食用精製油脂を用いた加熱調理で製造される加工食品について、2-MCPDEを含めた3-MCPDE及びGEの3分子種について、酵素法の改良法¹⁾の妥当性を確認した。

(イ) 研究内容

1. 本研究で採用した分析法

本研究で採用した分析法は、平成29年度「安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業」¹⁾にて開発された酵素法の改良法から分析法の原理を変更しない範囲で次の5点を変更した。①リパーゼ含有臭化ナトリウム溶液を全ての食品について酵素濃度180 U/mLを採用、②標準ストック溶液及び内標準ストック溶液の調製時スケールを2倍、③2回目のヘキサソール洗浄後は下層を分取、④GC-MS試験溶液の最終液量を約1 mLに変更、⑤GC-MS注入量を2 µLに変更。

1-1. 機器

- 1) 天秤：最小表示0.0001 g AUX220（島津製作所）、AEG220（島津製作所）
- 2) 恒温水槽：BK33（ヤマト科学）
- 3) ボルテックスミキサー：VTX-3000L（エル・エム・エス）
- 4) 遠心分離機：H-30R（コクサン）
- 5) 高速振とう機：水平偏芯振動振とう型CM-1000（EYELA 東京理化器械）
- 6) 窒素吹き付け装置：リアクティブバップ（サーモフィッシャーサイエンティフィック）
- 7) pH メーター：PB-20（ザルトリウス）
- 8) ガスクロマトグラフィー質量分析計：7890B/5977B（アジレント・テクノロジー）

1-2. 器具

- 1) メスフラスコ（5 mL容、10 mL容、20 mL容）
- 2) ホールピペット（0.1 mL容、0.5 mL容、1 mL容）
- 3) メスピペット
- 4) マイクロシリンジ（50 µL、100 µL、250 µL）
- 5) キャピラリーピペット
- 6) スクリューキャップ付試験管（10 mL容）
- 7) 共栓付試験管（10 mL容）
- 8) PTFE メンブレンフィルター、孔径 0.2 µm、直径4 mm（トムシク）
- 9) 注射筒（1 mL容）
- 10) テフロンコートスクリューキャップバイアル（1.5 mL容）
- 11) マイクロインサート（250 µL容）

12) GC カラム：VF-5ms、長さ30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m（アジレント・テクノロジー）

1-3 試薬及び試液

- 1) 臭化ナトリウム：特級
- 2) クエン酸・1水和物：特級
- 3) リン酸水素二ナトリウム・12水和物：特級
- 4) リパーゼ：*Candida cylindracea*、または*Candida rugosa* 由来のもの（リパーゼはAY「アマノ」30SD（天野エンザイム）を使用）
- 5) フェニルボロン酸：東京化成工業
- 6) エタノール：残留農薬試験用
- 7) 2,2,4-トリメチルペンタン（イソオクタン）：特級
- 8) ヘキサン：残留農薬試験用
- 9) 無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用
- 10) アセトン：残留農薬試験用
- 11) 超純水：LC/MS用
- 12) トルエン：残留農薬試験用
- 13) ヘリウムガス：純度99.9999%
- 14) 窒素ガス：純度99.999%
- 15) 1 mMクエン酸水溶液：
クエン酸・1水和物0.021 gに超純水を加えて溶解し、超純水を加えて100 mLとした。
- 16) 1 mMリン酸水素二ナトリウム溶液：
リン酸水素二ナトリウム・12水和物0.036 gに超純水を加えて溶解し、超純水を加えて100 mLとした。
- 17) 30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液：
臭化ナトリウム 30 g を超純水 80 mL に溶解し、1 mMクエン酸水溶液及び1 mMリン酸水素二ナトリウム水溶液を加えてpH を5.0～5.5 になるように調整した。超純水を加えて100 mL まで定容した。
- 18) 180 U/mLリパーゼ含有臭化ナトリウム水溶液：
リパーゼ量は、180 U/mLとなるようにリパーゼ及び30% (w/v) 臭化ナトリウム溶液を用いた。リパーゼをビーカーにはかり取り、マグネチックスターラーで泡立てずに1～5分攪拌した。試験当日に調製した。
- 19) フェニルボロン酸溶液：
フェニルボロン酸 0.25 g を超純水／アセトン (1:19, v/v) 混液 10 mLに溶解した。試験当日に調製した。

1-4. 標準品

- 1) 3-MCPD（東京化成工業）
- 2) 2-MCPD（Toronto Research Chemicals）
- 3) 3-MBPD（富士フイルム和光純薬）
- 4) 3-MCPDの重水素標識体（3-MCPD-d5）（C/D/N ISOTOPES）
- 5) 2-MCPDの重水素標識体（2-MCPD-d5）（Toronto Research Chemicals）

6) 3-MBPDの重水素標識体 (3-MBPD-d5) (富士フイルム和光純薬)

1-5. 標準・内標準試液の調製

分析種間の変換を防ぐため、混合せず、単一成分のストック溶液とし、 -20°C で保存した。

1-5-1. 標準ストック溶液

1) 300 $\mu\text{g/mL}$ 3-MCPDエタノール溶液：

3-MCPD標準試薬6 mgを20 mL容メスフラスコに正確にはかり取り、エタノールで定容した。濃度は純度で補正した。

2) 300 $\mu\text{g/mL}$ 2-MCPDエタノール溶液：

2-MCPD標準試薬6 mgを20 mL容メスフラスコに正確にはかり取り、エタノールで定容した。濃度は純度で補正した。

3) 300 $\mu\text{g/mL}$ 3-MBPDエタノール溶液：

3-MBPD標準試薬6 mgを20 mL容メスフラスコに正確にはかり取り、エタノールで定容した。濃度は純度で補正した。

1-5-2. 内標準ストック溶液

1) 200 $\mu\text{g/mL}$ 3-MCPD-d5エタノール溶液：

3-MCPD-d5 標準試薬2 mgを10 mL容メスフラスコに正確にはかり取り、エタノールで定容した。濃度は純度で補正した。

2) 200 $\mu\text{g/mL}$ 2-MCPD-d5エタノール溶液：

2-MCPD-d5 標準試薬2 mgを10 mL容メスフラスコに正確にはかり取り、エタノールで定容した。濃度は純度で補正した。

3) 200 $\mu\text{g/mL}$ 3-MBPD-d5エタノール溶液：

3-MBPD-d5 標準試薬2 mgを10 mL容メスフラスコに正確にはかり取り、エタノールで定容した。濃度は純度で補正した。

1-5-3. 標準 (3-MCPD、2-MCPD及び3-MBPD) 混合溶液の調製

次の標準混合溶液を調製した。

標準混合溶液 I (15 $\mu\text{g/mL}$)：

0.5 mLホールピペットを用いて、3-MCPD ストック溶液、2-MCPD ストック溶液、3-MBPD ストック溶液を0.5 mLずつ10 mL容メスフラスコに採取した。30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液で定容した。

標準混合溶液 II (1.5 $\mu\text{g/mL}$)：

1 mLホールピペットを用いて、標準混合溶液 I 1 mL を10 mL容メスフラスコに採取した。30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液で定容した。

混合溶液は、分析種間の変換を抑制するため、試験当日に調製した。

1-5-4. 内標準 (3-MCPD-d5、2-MCPD-d5及び3-MBPD-d5) 混合溶液の調製

0.1 mL容ホールピペットを用いて、3-MCPD-d5ストック溶液、2-MCPD-d5 ストック溶液、3-MBPD-d5 ストック溶液を0.1 mLずつ10 mL 容メスフラスコに採取した。

30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液で定容した。

混合溶液は、分析種間の変換を抑制するため、試験当日に調製した。

1-6. 分析操作

1-6-1. 試料の均質化

食品試料は、フードプロセッサー DLC-10PRP (クイジナート) を用いて粉碎した。食品に過度に熱がかかることを防止するため、30秒間粉碎、10～30秒間停止を、外観が均質になるまで繰り返した。

1-6-2. 食品中の脂質濃度の推定

食品中の脂質濃度が不明である場合、食品試料の採取量を決めるために、初めに脂質濃度の推定を行った。食品試料0.3～0.5 g をスクリュウキャップ付10 mL容試験管に採取した。*tert*-ブチルメチルエーテル・イソオクタン (2:1, v/v) 混液 をホールピペットで正確に3 mL 加えた。さらに、エタノール1 mLを加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、60℃、5分間加温した。加温後すぐに高速振とう機で10分間攪拌した。30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液4 mLを加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、3,500 rpm で5分間遠心した。上層 (有機層) 2 mLをホールピペットで採取し、予め重量を計量しておいた10 mL容試験管に移した。この時、水層を吸い込まないように、有機層の上部分にホールピペットの先端を差し込み、ゆっくりと有機層を吸い上げた。40℃条件下で窒素を吹き付けて溶媒を完全に留去し、容器重量を測定した。食品中の脂質濃度は下式を用いて算出した。

$$\text{食品中の脂質濃度 (\%, w/w)} = \left[(\text{溶媒留去後の抽出物重量} + \text{容器重量}) - (\text{容器重量}) \right] \div \text{食品採取量} \times 3 \div 2 \times 100$$

1-6-3. 食品からの3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの抽出

食品中の脂質量が約0.10～0.11 g となるように、予め均質にした食品試料を【0.10÷食品の脂質濃度 (%)】～【0.11÷食品の脂質濃度 (%)】の範囲内でスクリュウキャップ付10 mL容試験管に採取した。食品の脂質濃度が不明の場合には、[1-6-2. 食品中の脂質濃度の推定] に従い、おおよその脂質濃度を算出した。

試験管に*tert*-ブチルメチルエーテル・イソオクタン (2:1, v/v) 混液3 mL、エタノール1 mLを加えて、キャップを閉めた。ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、60℃、5分間加温した。加温後すぐに (試験管が温かいうちに)、高速振とう機で10分間攪拌した。30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液を4 mL加えてキャップを閉めた。ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、3,500 rpmで5分間遠心した。有機層を新たな試験管に採取した。水層を含む試験管に、*tert*-ブチルメチルエーテル・イソオクタン (2:1, v/v) 混液3 mLを再度加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、3,500 rpmで5～10分間遠心した。有機層を前述の新たなスクリュウキャップ付10 mL容試験管に採取し、窒素吹付け装置を用いて40℃条件下で窒素を吹き付け、溶媒を留去した。但し、有機溶媒の残存は加水分解を妨害するため、完全に留去した。水分は加水分解に影響しないため、水分の混入は問題ない。

1-6-4. 試料の秤量、加水分解

液体の油脂試料の場合は、試料を混合し、キャピラリーピペットを用いてスクリュウキャップ付10 mL容試験管に試料を100～110 mg採取した。5 mL容メスピペットを用いてイソオクタン0.5 mLを加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌して溶解した。室温で固体の油脂試料の場合は、試料を融点を少し超える温度で加温融解し、混合後、キャピラリーピペットを用いてスクリュウキャップ付10 mL容試験管に試料を100～110 mg採取した。5 mL容メスピペットを用いてイソオクタン0.5 mLを加えた後に60℃に調節した恒温水槽で加温した後、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌して油脂を溶解した。食品試料の場合は、食品からの抽出で得た抽出物に5 mL容メスピペットを用いてイソオクタン0.5 mLを加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌して溶解した。180 U/mLリパーゼ含有30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液3 mLを10 mL容メスピペットで加えて蓋を閉め、室温、30分間、高速振とう機（水平偏芯振動振とう機の場合は振とう速度 1,800 rpmとする）を用いて振とうした。

1-6-5. グリシドールの臭素化

試料の加水分解後の試験管を、遠心分離機で3,000 rpm、10秒間遠心分離した。試験管を80℃に調節した恒温水層に試験管の目盛り8 mL程度まで浸漬後、10分間加温し、グリシドールのエポキシ環を開環、臭素化して3-MBPDへと変換した。その後、試験管を室温になるまで放冷、または水冷した。

1-6-6. ヘキサン洗浄

250 μ L容マイクロシリンジを用いて内標準混合溶液50 μ Lを試験管に加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌した。但し、試験検査で添加する内標準物質と検量線で使用する内標準物質は同一容器のものを使用した。10 mL容メスピペットを用いてヘキサン3 mLを加えてキャップを閉めた。ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、3,000 rpmで10秒間遠心分離した。水層をキャピラリーピペットで新たなスクリュウキャップ付10 mL容試験管に移した。水層を移したスクリュウキャップ付10 mL容試験管に10 mL容メスピペットを用いてヘキサン3 mLを加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、3,000 rpmで10秒間遠心分離した。水層をキャピラリーピペットで新たなスクリュウキャップ付10 mL容試験管に移した。

1-6-7. 誘導体化・抽出

水層を含むスクリュウキャップ付試験管に、1 mL容メスピペットを用いてフェニルボロン酸溶液を0.1 mLを加えて、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、10 mL容メスピペットを用いてヘキサンを3 mL加えて蓋を閉めた。スクリュウキャップ付10 mL容試験管を高速振とう機で10分間振とうし、遊離型分析種及び重水素標識された遊離型分析種を誘導体化した。遠心分離機で3,000 rpm、1～5分間遠心分離後、少量（約0.1 g）の無水硫酸ナトリウムを含む新たな共栓付10 mL容試験管に有機層を水層が混入しないようにキャピラリーピペットで移した。窒素吹き付け装置を用いて40℃以下で窒素ガスを吹き付け、溶液が0.5～0.8 mLになるまで濃縮した。溶液を完全に留去してしまった場合は、1 mL容メスピペットを用いて共栓付試験管にヘキサン0.5～0.8 mLを追加した。最終的にヘキサンを加えて液量を試験管目盛りで1 mLにする。ボルテックスミキサーで10秒間攪拌後、溶液をメンブランフィルターでろ過し、ろ液を微量インサート入りGCバ

イアルに移してGC-MS検液とした。

1-6-8. 検量線用標準試料の調製

標準混合溶液Ⅰ、Ⅱを下表に従って、マイクロシリンジを用いてスクリーキャップ付10 mL容試験管に添加した。次いで各試験管に250 μ L容マイクロシリンジを用いて内標準混合溶液50 μ Lを添加した。但し、試験で添加する内標準物質と検量線で使用する内標準物質は同一容器のものを使用した。10 mL容メスピペットを用いて30% (w/v) 臭化ナトリウム水溶液3 mLを加え、ボルテックスミキサーで10秒間攪拌した。以降の操作は[1-6-7. 誘導体化・抽出] から試料と同様に行った。

	標準混合溶液	添加量 (μ L)
STD 0	—	0
STD 1	Ⅱ	5
STD 2		20
STD 3		50
STD 4		100
STD 5	Ⅰ	20
STD 6		35
STD 7		50
STD 8		80

1-7. 測定

1-7-1. GC条件

注入量:	2 μ L
キャリアガス:	定流量1.2 mL/分
注入方式:	スプリットレス
注入口温度:	250°C
オーブン温度:	60°C (1 分) $\rightarrow$ 10°C/分 $\rightarrow$ 150°C $\rightarrow$ 3°C/分 $\rightarrow$ 180°C $\rightarrow$ 30°C/分 $\rightarrow$ 300°C (8 分)
カラム:	VF-5ms (長さ30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m)
トランスファーライン温度:	280°C

1-7-2. MS条件

質量分析器	
イオン源温度:	230°C
四重極温度:	150°C
イオン化法:	電子衝撃 (EI)
測定方式:	選択イオンモニタリング (SIM)

各標準物質の定量イオン、定性イオンは次のとおり。

	定量イオン	定性イオン
3-MCPD-d5 PBA 誘導体	m/z 150	m/z 201
3-MCPD PBA 誘導体	m/z 147	m/z 196
2-MCPD-d5 PBA 誘導体	m/z 201	m/z 203
2-MCPD PBA 誘導体	m/z 196	m/z 198
3-MBPD-d5 PBA 誘導体	m/z 150	m/z 245
3-MBPD PBA 誘導体	m/z 147	m/z 240

1-8. 計算

1-8-1. 検量線の作成

内標準 (3-MCPD-d5、2-MCPD-d5または3-MBPD-d5) の誘導体化物のピーク面積に対する、標準 (3-MCPD、2-MCPDまたは3-MBPD) の誘導体化物のピーク面積の比を Y 軸に、内標準の誘導体化物の絶対量に対する標準の誘導体化物の絶対量の比を X 軸にプロットし、 $Y=aX+b$ (a : 傾き、b : 切片) の内標準検量線を得た。

1-8-2. 試料中の3-MCPD濃度、2-MCPD濃度、グリシドール濃度の算出

間接分析法は、試料中のエステル型分析種 (3-MCPDE、2-MCPDE及びGE) を遊離型分析種 (3-MCPD、2-MCPD及びグリシドール) 当量として定量する手法である。酵素法の分析値は食品中の3-MCPDE濃度 (3-MCPD当量)、2-MCPDE濃度 (2-MCPD当量)、GE濃度 (グリシドール当量) である。

式1から試料中の3-MCPDE濃度、式2から油脂試料中の2-MCPDE濃度、式3及び式4から油脂試料中のGE濃度を算出した。

$$C_{3\text{-MCPD}} = [(A_{147}/A_{150}) \cdot b] \times IS \times 1/a \times 1/W \quad \dots \text{式1}$$

ただし、

$C_{3\text{-MCPD}}$: 試料中の3-MCPDE濃度 (3-MCPD当量) (mg/kg)

A_{147} : 3-MCPD PBA誘導体 (m/z 147) のピーク面積

A_{150} : 3-MCPD-d5 PBA誘導体 (m/z 150) のピーク面積

IS : 試料に添加した3-MCPD-d5量 (μg)

W : 試料の採取量 (g)

$$C_{2\text{-MCPD}} = [(A_{196}/A_{201}) \cdot b] \times IS \times 1/a \times 1/W \quad \dots \text{式2}$$

ただし、

$C_{2\text{-MCPD}}$: 試料中の2-MCPDE濃度 (2-MCPD当量) (mg/kg)

A_{196} : 2-MCPD PBA誘導体 (m/z 196) のピーク面積

A_{201} : 2-MCPD-d5 PBA誘導体 (m/z 201) のピーク面積

IS : 試料に添加した2-MCPD-d5量 (μg)

W : 試料の採取量 (g)

$$C_{3\text{-MBPD}} = [(A_{147}/A_{150}) \cdot b] \times IS \times 1/a \times 1/W \quad \dots \text{式3}$$

ただし、

$C_{3\text{-MBPD}}$: 試料中のGEを加水分解・臭素化して得られた3-MBPD濃度 (mg/kg)

A_{147} : 3-MBPD PBA誘導体 (m/z 147) のピーク面積

A_{150} : 3-MBPD-d5 PBA誘導体 (m/z 150) のピーク面積

IS : 試料に添加した3-MBPD-d5量 (μg)

W : 試料の採取量 (g)

$$C_{\text{Glycidol}} = C_{3\text{-MBPD}} \times (M_{\text{Glycidol}}/M_{3\text{-MBPD}}) \quad \dots \text{式4}$$

ただし、

C_{Glycidol} : 試料中のGE濃度 (グリシドール当量) (mg/kg)

M_{Glycidol} : グリシドールの分子量 74.08

$M_{3\text{-MBPD}}$: 3-MBPDの分子量 154.99

1-9. GC-MSクロマトグラム

標準溶液STD4のGC-MSクロマトグラムを図1-1、図1-2に示した。

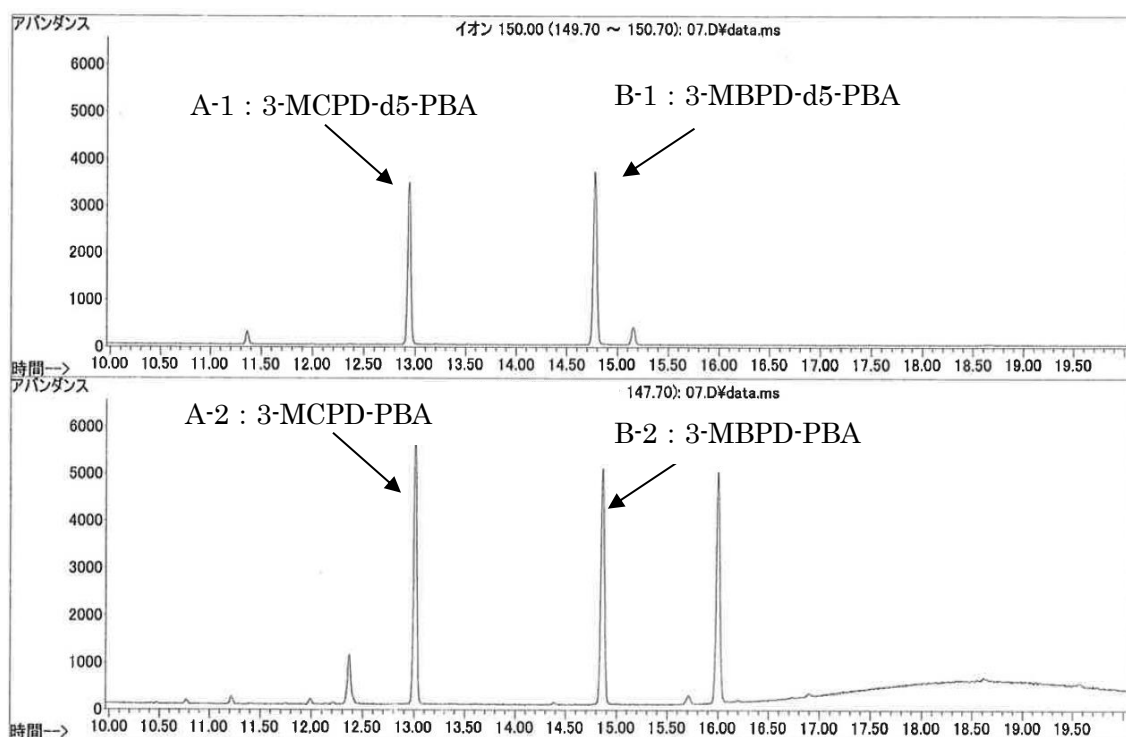


図1-1 標準溶液STD4の3-MCPD-PBA誘導体化物及び3-MBPD-PBA誘導体化物のGC-MSクロマトグラム

A-1 : 3-MCPD-d5-PBA (m/z 150)

A-2 : 3-MCPD-PBA (m/z 147)

B-1 : 3-MBPD-d5-PBA (m/z 150)

B-2 : 3-MBPD-PBA (m/z 147)

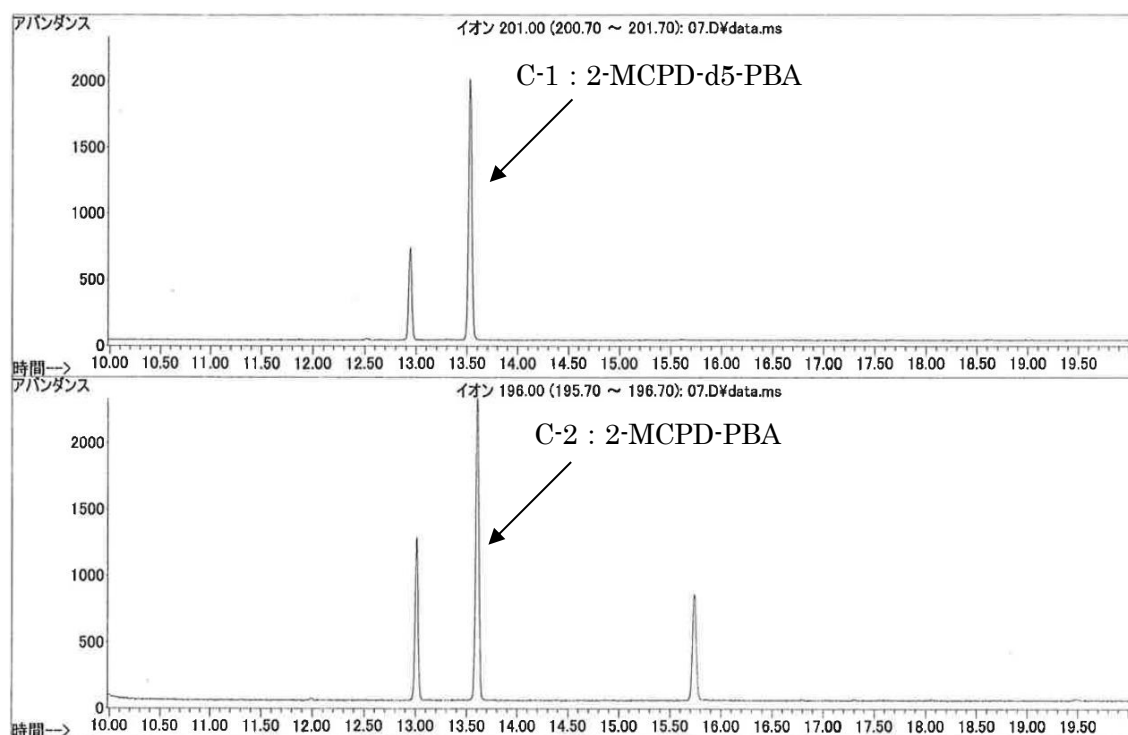


図1-2 標準溶液STD4の2-MCPD-PBA誘導体化合物のGC-MSクロマトグラム

C-1 : 2-MCPD-d5-PBA (m/z 201)

C-2 : 2-MCPD-PBA (m/z 196)

2. 分析法の妥当性確認の方法

2-1. 対象食品の選定

妥当性確認の対象食品は、小課題2で選定された食用精製油脂を用いた加熱調理で製造される加工食品とした。

実際に妥当性確認で使用する食品は、調理済みの市販品の複数銘柄を購入した。購入の情報を表1-1～表1-8に示した。

まず、予備試験を行った。市販されているあられ、フライドポテトに目標とする定量下限値（遊離体当量として、脂質当たり0.1 mg/kg）の濃度で、3-MCPDE、2-MCPDE及びGEを均質化時に添加し、1-6～1-8に従い、分析した。

表 1-1 予備試験の食品の情報

食品	主な原材料
あられ	もち米、植物油
フライドポテト	じゃがいも、植物油脂

次いで、予備試験の結果及び複数銘柄の食品中の3-MCPDE、2-MCPDE及びGE濃度から、油脂、あられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ、クッキー、チャーハンについて、現実的に達成可能な試験系により添加回収試験を実施した。

すなわち、油脂については、3-MCPDE、2-MCPDE及びGEを含まない市販のエクス

トラバージンオリーブ油を用いた。あられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ、クッキー、チャーハンについては、複数銘柄の市販品を購入し、3-MCPDE、2-MCPDE及びGE濃度を測定した。その結果から3-MCPDE、2-MCPDE及びGE濃度が比較的低い銘柄を選定し、その食品に含まれている濃度を考慮して添加濃度を決定した。さらに標準試薬は、均質化後の試料を採取した容器内に添加した。

表1-2 あられ市販品の情報

銘柄	主な原材料
A1	もち米、植物油
A2	もち米、食用なたね油

表1-3 フライドポテト市販品の情報

銘柄	主な原材料
P1	じゃがいも、植物油脂
P2	じゃがいも、植物油脂
P3	じゃがいも、植物油脂
P4	じゃがいも、揚げ油
P5	ばれいしょ、揚げ油

表1-4 コロッケ市販品の情報

銘柄	主な原材料
C1	野菜（ばれいしょ、たまねぎ）、牛肉、衣、揚げ油
C2	野菜（ばれいしょ、たまねぎ）、牛肉、衣、揚げ油
C4	野菜（じゃがいも、たまねぎ）、牛肉、衣、揚げ油
C5	野菜（ばれいしょ、たまねぎ）、牛肉、パン粉、揚げ油
C7	野菜（ばれいしょ、たまねぎ）、牛肉、衣、揚げ油

表1-5 魚フライ市販品の情報

銘柄	主な原材料
F1	衣、すけそうだら、揚げ油
F2	すけとうだら、衣、揚げ油
F3	すけとうだら、衣、揚げ油

表1-6 チキンカツ市販品の情報

銘柄	主な原材料
C1	鶏肉、パン粉、植物油脂
C4	鶏肉、衣、揚げ油
C6	鶏肉、衣、揚げ油

表1-7 クッキー市販品の情報

銘柄	主な原材料
K1	小麦粉、植物油脂
K2	小麦粉、ショートニング、マーガリン
K3	小麦粉、ショートニング、植物油脂、マーガリン
K5	小麦粉、ショートニング、マーガリン
OL1	小麦粉、おから、オリーブ油
OL2	小麦粉、植物油脂
OL3	小麦粉、オリーブオイル
CR1	小麦粉、植物油脂
CR2	小麦粉、加工油脂

表1-8 チャーハン市販品の情報

銘柄	主な原材料
CY1	精白米、卵白、鶏卵、いため油
CY3	米、スクランブルエッグ、焼豚、液卵、いため油
CY4	精白米、焼豚、スクランブルエッグ、パーム油
CY6	米、鶏卵、焼豚、いため油
CY7	うるち米、全卵、植物油脂、チャーシュー、卵黄

2-2. 添加回収試験

各食品の標準試薬添加試料について、1回7点の併行の繰り返し試験を、分析日ごとに標準試薬を添加し、分析日を変えて3 回行った (n=7×3 回)

添加回収試験は、次のように実施した。

- 1) 試料に添加する標準試薬は、3-MCPD ジオレエート（富士フイルム和光純薬）、2-MCPD ジパルミテート（Toronto Research Chemicals）及びグリシジルオレエート（富士フイルム和光純薬）とした。スクリュウキャップ付 10 mL 容試験管に、予め均質にした試料を採取した後、標準試薬を添加し、15 分間静置した。なお、標準試薬を試料の均質化時に添加すると、標準試薬と試料の均質性が低下することから、本研究では分析用の容器内で、均質化後の試料への添加とした。ただし、予備試験のあられ及びフライドポテトについては、標準試薬の添加を食品の均質化時に行った。
- 2) 標準試薬の添加は、食品が含有する油脂に対する各分析種の濃度（各遊離型当量）として、次の 2 点の濃度で行った。標準試薬無添加の試料も毎回分析した。
 - ① 低濃度：脂質当たりの目標とする定量下限値（0.1 mg/kg）。市販品に含まれている場合は、その濃度の 4 倍になる程度濃度（添加濃度は 3 倍）ただし、予備試験は 0.1 mg/kg とした。
 - ② 中濃度：脂質当たり 5 mg/kg（検量線の間濃度付近）。

添加回収率の性能規準は、Codex Alimentarius Commission Procedural Manual Twenty-eighth editionの「回収率：80～110%（100 µg/kg～10 mg/kgの場合）」とした。

精度の性能規準は、AOAC Appendix F Guidelines for Standard Method Performance Requirements (2016)の「精度： $0.3 \leq \text{HorRat}(r)$ 値 ≤ 1.3 、ただし、 $\text{HorRat}(r) = \text{RSD}_r$ （実験値から求めた併行精度）/ PRSD_R （Horwitz式の修正式から求めた推定室間再現精度）」とした。

3) 定量下限

定量下限はGC-MSクロマトグラムのシグナル/ノイズ比10 に相当する濃度とした。

(ウ) 研究結果

1. あられ及びフライドポテトにおける予備試験

〔1-6-2. 食品中の脂質濃度の推定〕に従い、食品中の脂質濃度を推定した。予備試験で用いた2食品の推定法による脂質濃度、並びに比較としてエーテル抽出法（ソックスレー抽出法）による脂質濃度を表1-9に示した。

表1-9 推定法及びエーテル抽出法による食品中の脂質濃度

食品	推定法による 脂質濃度±標準偏差(%) n=3	エーテル抽出法（ソックスレー抽出法）による 脂質濃度±標準偏差(%) n=3
あられ	28.9±0.27	30.4±0.09
フライドポテト	10.9±0.11	10.7±0.11

この結果、推定法による脂質濃度とエーテル抽出法で求めた脂質濃度はほぼ同等であった。低濃度の添加濃度は目標とする定量下限値（遊離体当量として、脂質当たり0.1 mg/kg）、添加回収用の標準物質は食品の均質化時に添加した。3-MCPDE、2-MCPDE及びGEは、1-6～1-8に従い、分析した。その結果を表1-10に示した。

あられ、フライドポテトでは5 mg/kg添加のとき、3-MCPDE、2-MCPDE、GEの平均回収率はそれぞれ82.7～87.0%、79.8～80.1%、95.2～97.2%、HorRat(r)値は、それぞれ0.16～0.28、0.12～0.24、0.14～0.36となり、おおむね性能規準内であったが、添加濃度0.1 mg/kgのとき、平均回収率は26.2～58.5%、HorRat(r)値は0.61～3.36となり、性能規準外であった。

あられ、フライドポテトで性能規準外となった要因として、①標準試薬の添加を食品の均質化時に行ったため、標準試薬と試料の均質性が低下したこと、②低濃度の添加回収試験では、試験に使用した食品中にもともと含まれていた3-MCPDE、2-MCPDE及びGE量が、食品に添加した標準試薬量（油脂中0.1 mg/kg）よりも数倍以上高かったこと、により正しい評価ができなかったものと考えられる。

定量下限は、あられ、フライドポテトについて、油脂中換算でそれぞれ3-MCPDEが0.067、0.085 mg/kg、2-MCPDEが0.064、0.081 mg/kg、GEが0.047、0.048 mg/kgであった。

表1-10 あられ及びフライドポテトにおける予備試験結果

食品	分析種	標準の添加濃度(mg/kg) ※遊離型当量		回収率(%)±標準偏差			平均 回収率 (%) n=21	併行精度 (RSD _r) (%)	室内 再現精度 (RSD _i) (%)	推定室間 再現精度 (PRSD _R) (%)	HorRat (r)値
		対 食品	対 脂質	1回目 n=7	2回目 n=7	3回目 n=7					
あ ら れ	3- MCPDE	1.4	5	87±4.2	86±1.2	88±4.6	87.0	4.2	4.2	15.2	0.28
		0.03	0.1	10±10.3	80±14.4	35±13.5	41.9	30.6	88.8	22.0	1.39
	2- MCPDE	1.4	5	82±3.2	79±2.1	80±3.3	80.1	3.7	3.8	15.3	0.24
		0.03	0.1	9±6.9	65±10.8	54±9.5	42.4	21.7	72.9	22.0	0.99
	GE	1.4	5	98±7.0	95±1.7	99±5.7	97.2	5.5	5.5	15.2	0.36
		0.03	0.1	36±7.0	75±9.3	65±7.0	58.5	13.4	36.5	22.0	0.61
フ ラ イ ド ポ テ ト	3- MCPDE	0.5	5	82±2.6	81±2.1	85±2.4	82.7	2.9	3.4	17.7	0.16
		0.01	0.1	-11±14.5	72±26.7	17±14.3	26.2	74.0	175.2	22.0	3.36
	2- MCPDE	0.5	5	81±1.6	78±1.4	80±1.8	79.8	2.0	2.5	17.7	0.12
		0.01	0.1	2±8.3	62±12.6	43±8.7	35.5	28.3	90.7	22.0	1.29
	GE	0.5	5	96±2.8	92±2.1	97±2.2	95.2	2.5	3.5	17.7	0.14
		0.01	0.1	32±7.2	55±8.2	56±4.6	47.7	14.4	31.3	22.0	0.65

2. 対象食品の選定と添加回収

あられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ、クッキー、チャーハンについて、複数銘柄を購入し、3-MCPDE、2-MCPDE及びGE濃度を測定した。この結果から脂質当たりの3-MCPDE、2-MCPDE及びGE濃度が総じて低い銘柄を添加回収試験用として選定し、現実的に達成可能な試験系により添加回収試験を実施した。なお、魚フライ及びチキンカツの市販品については、副原材料による分析値の影響を少なくするため、衣及び主原材料以外の副原材料のうち、除去可能な部分を取り除いた。

2-1. あられ

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:2.5 mg/kg、2-MCPD当量:1 mg/kg、グリシドール当量:2 mg/kgとした。

2-2. フライドポテト

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:2.5 mg/kg、2-MCPD当量:1 mg/kg、グリシドール当量:1 mg/kgとした。

2-3. コロッケ

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:1 mg/kg、2-MCPD当量:0.5 mg/kg、

グリシドール当量：0.5 mg/kgとした。

2-4. 魚フライ

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:2 mg/kg、2-MCPD当量:1.25 mg/kg、グリシドール当量：1 mg/kgとした。

2-5. チキンカツ

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:1 mg/kg、2-MCPD当量：1 mg/kg、グリシドール当量：1 mg/kgとした。

2-6. クッキー

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:0.1 mg/kg、2-MCPD当量:0.1 mg/kg、グリシドール当量：0.1 mg/kgとした。

2-7. チャーハン

低濃度添加量は、おおむね食品に含まれている濃度の4倍量程度または油脂中の目標定量下限値0.1 mg/kgの高い方とし、3-MCPD当量:0.25 mg/kg、2-MCPD当量:0.1 mg/kg、グリシドール当量：0.1 mg/kgとした。

3. 食品中の脂質濃度の推定

酵素法の改良法では、食品の脂質濃度をもとに食品試料の採取量を算出する [1-6-3] ため、油脂以外の食品については、[1-6-2. 食品中の脂質濃度の推定] に従い、食品中の脂質濃度を推定した。妥当性確認で用いた7食品の推定法による脂質濃度、並びに比較としてエーテル抽出法（ソックスレー抽出法）による脂質濃度を表1-11に示した。

推定法及びエーテル抽出法で得られた各食品における脂質濃度及び標準偏差から、2法の分析値の同等性を評価した。評価方法は、JIS Z 8402-6【方法Aと方法Bの平均値の比較】に基づき、 $|(\text{エーテル抽出法の平均値} - \text{推定法の平均値}) \div \sqrt{((\text{エーテル抽出法の標準偏差})^2 + (\text{エーテル抽出法の標準偏差})^2)}|$ が ≤ 2 であれば統計的に有意差なしとした。その評価結果も併せて表1-11に示した。

その結果、検討した食品の評価結果は全て ≤ 2 であった。従って、[1-6-2.] による脂質濃度の推定値はエーテル抽出法で求めた脂質濃度とほぼ同等であったことから、[1-6-2. 食品中の脂質濃度の推定] により食品中のおおよその脂質濃度が推定できることが示された。

表1-11 エーテル抽出法及び推定法による食品中の脂質濃度、分析値の同等性

食品	推定法による脂 質濃度±標準偏 差(%) n=3	エーテル抽出法（ソ ックスレー抽出法） による脂質濃度±標 準偏差(%) n=3	分析値の同等性※)
あられ	21.9±0.4	22.4±0.2	0.95
フライドポテト	9.0±0.1	8.8±0.1	1.20
コロッケ	23.0±0.5	23.1±0.0	0.05
魚フライ	28.2±0.3	27.4±0.3	1.67
チキンカツ	22.0±0.4	22.3±0.2	0.87
クッキー	11.5±0.1	11.5±0.1	0.19
チャーハン	8.4±0.1	8.2±0.12	1.19

※) JIS Z 8402-6【方法Aと方法Bの平均値の比較】

4. 分析法の妥当性確認

4-1. 食用油（エキストラバージンオリーブ油）

まず、市販の食用油（エキストラバージンオリーブ油）について、酵素法の妥当性確認を行った。その結果を表1-12に示した。エキストラバージンオリーブ油における3-MCPDE、2-MCPDE、GEの添加回収率（平均値）は中濃度（5 mg/kg）では、それぞれ94.9%、91.1%、98.0%、低濃度（0.1 mg/kg）では、それぞれ95.1%、92.8%、98.5%であり、性能規準（80~110%）を満たした。一方、HorRat(r)値は、中濃度（5 mg/kg）では、それぞれ0.16、0.17、0.25、低濃度（0.1 mg/kg）では、それぞれ0.38、0.29、0.33となり、性能規準（0.3~1.3）を満たさなかった。ただし、HorRat(r)値が下限値（0.3）を下回っても本研究の分析精度には支障はない。

表1-12 エキストラバージンオリーブ油における妥当性確認

食品	分析種	標準の添加濃 度(mg/kg) ※遊離型当量	回収率(%) ±標準偏差			平均 回収率 (%) n=21	併行精度 (RSD _r) (%)	室内 再現精度 (RSD _i) (%)	推定室間 再現精度 (PRSD _R) (%)	HorRat (r) 値
		対油脂	1回目 n=7	2回目 n=7	3回目 n=7					
エキ ス ト ラ バ ー ジ ン オ リ ー ブ 油	3-MCPDE	5	96±2.1	94±0.8	94±2.3	94.9	2.0	2.3	12.5	0.16
		0.1	100±5.0	89±9.9	96±8.2	95.1	8.4	9.7	22.0	0.38
	2-MCPDE	5	91±1.6	91±1.5	92±2.7	91.1	2.2	2.2	12.7	0.17
		0.1	94±5.5	89±5.4	94±6.5	92.8	6.3	6.6	22.0	0.29
	GE	5	100±2.5	87±3.7	97±2.8	98.0	3.1	3.3	12.6	0.25
		0.1	100±6.2	94±9.4	101±4.8	98.5	7.2	7.4	22.0	0.33

4-2. 加工食品

加工食品としてあられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ、クッキー

ー及びチャーハンについて、3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの抽出法を確立すると共に、酵素法の改良法の妥当性確認を行った。その結果を表1-13に示した。

フライ食品として市販のあられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツについて、低濃度における3-MCPDE、2-MCPDE、GEの添加回収率（平均値）は、あられがそれぞれ100.4%、93.8%、91.6%、フライドポテトが94.0%、93.8%、91.9%、コロッケが101.1%、95.4%、94.1%、魚フライが98.0%、92.2%、97.5%、チキンカツが98.1%、91.4%、95.9%であった。

中濃度における3-MCPDE、2-MCPDE、GEの添加回収率（平均値）は、あられがそれぞれ103.9%、96.6%、95.7%、フライドポテトが99.5%、96.6%、95.4%、コロッケが99.1%、93.4%、98.1%、魚フライが98.9%、91.9%、102%、チキンカツが99.3%、92.8%、100.0%であった。添加回収率（平均値）はいずれの食品、添加濃度とも性能規準（80～110%）を満たした。

HorRat(r)値は、あられ0.08～0.11、フライドポテト0.08～0.33、コロッケ0.10～0.21、魚フライ0.12～0.19、チキンカツ0.13～0.25で、ほとんどのフライ食品で性能規準（0.3～1.3）を満たさなかったが、標準試薬の添加のタイミングを試料の均質化後としたことで均質性が高くなり、分析施行間の濃度のばらつきが小さくなったためと考えられる。

クッキーについては、3-MCPDE、2-MCPDE、GEの添加回収率（平均値）は、低濃度ではそれぞれ95.2%、98.7%、88.0%、中濃度ではそれぞれ97.2%、98.1%、95.4%であった。添加回収率（平均値）はいずれの添加濃度とも性能規準（80～110%）を満たした。

HorRat(r)値は、0.13～0.22で性能規準（0.3～1.3）を満たさなかったが、標準試薬の添加のタイミングを試料の均質化後としたことで均質性が高くなり、分析施行間の濃度のばらつきが小さくなったためと考えられる。

チャーハンについては、3-MCPDE、2-MCPDE、GEの添加回収率（平均値）は、低濃度ではそれぞれ89.3%、91.0%、90.1%、中濃度ではそれぞれ93.6%、95.7%、89.8%であった。添加回収率（平均値）はいずれの添加濃度とも性能規準（80～110%）を満たした。

HorRat(r)値は0.13～0.30で、大部分が性能規準（0.3～1.3）を満たさなかったが、標準試薬の添加のタイミングを試料の均質化後としたことで均質性が高くなり、分析施行間の濃度のばらつきが小さくなったためと考えられる。

以上、今回使用したすべての加工食品において、添加回収率（平均値）はいずれの食品、濃度とも性能規準（80～110%）を満たした。一方、HorRat(r)値は、大部分が性能規準（0.3～1.3）を満たさなかったが、HorRat(r)値が下限値（0.3）を下回っても本研究の分析精度には支障はない。

表 1-13 加工食品中の 3-MCPDE、2-MCPDE 及び GE 分析法の妥当性確認

食品	分析種	標準の添加濃度 (mg/kg) ※遊離型当量		回収率 (%) ± 標準偏差			平均 回収率 (%) (n=21)	併行精度 (RSD _r) (%)	室内 再現精度 (RSD _i) (%)	推定室間 再現精度 (PRSD _R) (%)	HorRat (r) 値
		対 食品	対 油脂	1回目 (n=7)	2回目 (n=7)	3回目 (n=7)					
あられ	3-MCPDE	1.1	5	103±1.9	102±1.0	107±1.1	103.9	1.3	2.6	12.6	0.11
		0.55	2.5	101±1.3	100±1.6	100±1.3	100.4	1.4	1.5	13.9	0.10
	2-MCPDE	1.1	5	95±1.2	95±0.8	100±1.2	96.6	1.1	3.4	12.6	0.09
		0.22	1	94±1.1	94±1.4	94±1.4	93.8	1.4	1.4	16.0	0.09
	GE	1.1	5	96±1.2	94±0.7	97±0.9	95.7	1.0	2.0	12.5	0.08
		0.44	2	94±1.1	91±1.3	90±1.5	91.6	1.4	2.4	14.4	0.10
フライド ポテト	3-MCPDE	0.45	5	102±4.8	100±5.1	96±1.3	99.5	4.1	4.9	12.6	0.33
		0.23	2.5	95±4.6	92±4.3	94±1.9	94.0	4.0	4.1	13.9	0.29
	2-MCPDE	0.45	5	98±1.8	97±1.8	95±1.3	96.6	1.7	2.1	12.6	0.14
		0.09	1	96±2.5	93±1.9	93±1.8	93.8	2.2	2.8	16.0	0.14
	GE	0.45	5	96±1.2	94±0.7	96±0.8	95.4	1.0	1.6	12.5	0.08
		0.09	1	92±1.0	90±1.9	93±2.0	91.9	1.8	2.5	16.0	0.12
コロッケ	3-MCPDE	1.15	5	100±2.6	101±2.8	96±1.9	99.1	2.5	3.6	12.6	0.20
		0.23	1	103±2.0	98±5.0	103±2.2	101.1	3.3	4.3	16.0	0.21
	2-MCPDE	1.15	5	93±1.3	95±1.6	92±1.7	93.4	1.7	2.2	12.6	0.13
		0.12	0.5	94±1.1	93±2.6	98±1.7	95.4	2.0	3.3	17.8	0.11
	GE	1.15	5	100±0.8	98±1.3	96±1.5	98.1	1.3	2.1	12.5	0.10
		0.12	0.5	92±2.1	93±2.4	97±3.0	94.1	2.7	3.7	17.7	0.15
魚フライ	3-MCPDE	1.41	5	99.3±2.1	97.6±1.5	99.7±2.6	98.9	2.1	2.3	12.6	0.17
		0.56	2	99.1±2.9	97.9±3.2	96.9±1.6	98.0	2.7	2.8	14.4	0.19
	2-MCPDE	1.41	5	90.7±1.8	91.2±1.5	93.6±1.3	91.9	1.7	2.3	12.6	0.13
		0.35	1.25	93.8±1.6	91.4±1.9	91.3±1.8	92.2	1.9	2.3	15.5	0.12
	GE	1.41	5	101±2.1	102±1.4	102±1.6	102.0	1.7	1.7	12.5	0.14
		0.28	1	95.8±2.9	99.6±2.1	97.2±1.8	97.5	2.4	3.0	16.0	0.15
チキンカ ツ	3-MCPDE	1.1	5	99.8±2.5	97.6±4.6	101±1.2	99.3	3.1	3.2	12.6	0.25
		0.22	1	97.6±3.6	98.8±1.3	97.9±1.0	98.1	2.3	2.3	16.0	0.15
	2-MCPDE	1.1	5	91.9±2.3	90.4±1.8	96.0±1.0	92.8	1.9	3.6	12.6	0.15
		0.22	1	89.6±2.5	90.4±2.1	94.2±0.7	91.4	2.1	3.3	16.0	0.13
	GE	1.1	5	99.3±2.8	97.6±1.5	103±1.7	100.0	2.1	3.5	12.5	0.17
		0.22	1	93.9±3.2	94.4±2.9	99.5±0.9	95.9	2.7	4.1	16.0	0.17
クッキー	3-MCPDE	0.58	5	98.9±1.1	95.0±1.0	97.7±2.7	97.2	1.9	2.7	12.5	0.15
		0.012	0.1	96.9±2.9	95.8±3.6	93.1±3.7	95.2	3.6	3.9	22.0	0.16
	2-MCPDE	0.58	5	99.7±1.1	97.0±1.1	97.8±2.4	98.1	1.7	2.1	12.6	0.13
		0.012	0.1	101±3.0	97.4±3.0	97.6±3.6	98.7	3.2	3.7	22.0	0.15
	GE	0.58	5	95.3±1.8	95.1±1.4	95.9±3.0	95.4	2.3	2.3	12.5	0.18
		0.012	0.1	88.3±3.6	88.3±4.4	87.5±4.6	88.0	4.8	4.8	22.0	0.22
チャーハン	3-MCPDE	0.42	5	93.8±2.2	92.6±1.9	94.4±1.6	93.6	2.1	2.1	12.5	0.16
		0.021	0.25	89.1±3.1	89.9±4.7	88.8±4.2	89.3	4.5	4.5	19.6	0.23
	2-MCPDE	0.042	5	95.6±1.7	96.4±1.5	95.1±1.5	95.7	1.7	1.7	12.6	0.13
		0.008	0.1	91.2±5.1	91.9±6.7	90.0±5.9	91.0	6.5	6.5	22.0	0.30
	GE	0.42	5	90.4±1.9	88.9±2.2	90.2±1.6	89.8	2.1	2.2	12.5	0.17
		0.008	0.1	85.6±2.0	91.9±2.8	92.9±4.3	90.1	3.5	5.5	22.0	0.16

4-3. 定量下限

定量下限は、GC-MSクロマトグラムのシグナル/ノイズ比 10 に相当する濃度とした。

S/N比の算出に用いた試料は、クッキー、チャーハンについては、妥当性確認で使用した市販品に3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの少なくとも1種が含まれていなかったため、低濃度における添加回収試験の試料を用いた。これら以外の食品については、妥当性確認で使用した市販品に3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの全てが含まれていたため、妥当性確認で使用した試料（無添加試料）を用いた。算出した定量下限を表1-14に示した。

脂質当たりの定量下限は、あられでは3-MCPDEが0.033 mg/kg、2-MCPDEが0.032

mg/kg、GEが0.020 mg/kg、フライドポテトでは3-MCPDEが0.021 mg/kg、2-MCPDEが0.023 mg/kg、GEが0.020 mg/kg、コロッケでは3-MCPDEが0.036 mg/kg、2-MCPDEが0.037 mg/kg、GEが0.035 mg/kg、魚フライでは3-MCPDEが0.029 mg/kg、2-MCPDEが0.029 mg/kg、GEが0.030 mg/kg、チキンカツでは3-MCPDEが0.029 mg/kg、2-MCPDEが0.032 mg/kg、GEが0.033 mg/kg、クッキーでは3-MCPDEが0.039 mg/kg、2-MCPDEが0.041 mg/kg、GEが0.039 mg/kg、チャーハンでは3-MCPDEが0.033 mg/kg、2-MCPDEが0.036 mg/kg、GEが0.031 mg/kgであった。

食品当たりの定量下限は、3-MCPDEが0.002～0.008 mg/kg、2-MCPDEが0.002～0.008mg/kg、GEが0.002～0.008 mg/kgであった。

従って、いずれの食品も、目標とする定量下限（食品における脂質当たり 0.1 mg/kg）未満であり、良好な結果が得られた。以上より、食用精製油脂を用いた加熱調理で製造される加工食品（あられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ、クッキー及びチャーハン）における酵素法の改良法の妥当性を確認した結果、3-MCPDE、2-MCPDE 及び GE の添加回収率及び精度はいずれも良好であった。

表1-14 食品における3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの定量下限

食品	3-MCPDE (mg/kg) (3-MCPD当量)		2-MCPDE (mg/kg) (2-MCPD当量)		GE (mg/kg) (グリシドール当量)	
	食品中	油脂中	食品中	油脂中	食品中	油脂中
あられ	0.007	0.033	0.007	0.032	0.004	0.020
フライドポテト	0.002	0.021	0.002	0.023	0.002	0.020
コロッケ	0.008	0.036	0.008	0.037	0.008	0.035
魚フライ	0.008	0.029	0.008	0.029	0.008	0.030
チキンカツ	0.006	0.029	0.007	0.032	0.007	0.033
クッキー	0.004	0.039	0.005	0.041	0.004	0.039
チャーハン	0.003	0.033	0.003	0.036	0.003	0.031

(エ) 研究成果の活用における留意点

加工食品中の3-MCPDE (2-MCPDEを含む) 及びGEの分析の妥当性確認により、(2) で分析する加工食品中の3-MCPDE (2-MCPDEを含む) 及びGEのデータの信頼性を保証した。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

実施した加工食品については3-MCPDE (2-MCPDEを含む) 及びGEを十分に抽出できると共に、3-MCPDE (2-MCPDEを含む) 及びGEの添加回収率及び精度は良好であった。

<引用文献>

- 1) 安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業研究成果報告書、課題番号：2901、「油脂を用いた加熱調理が、食材中の3-MCPD脂肪酸エステル類及びグリシドール脂肪酸エステル類の生成に及ぼす影響を把握するための分

析法の開発」、平成30年3月27日

2) 小課題名：加工食品の製造における加熱調理が3-MCPDE及びGE生成に及ぼす影響の評価

(ア) 研究目標

揚げ調理における3-MCPDE、2-MCPDE、GE生成に及ぼす食用精製油脂中の微量成分や調理条件の影響を明らかにする。さらに焼き調理又は炒め調理により製造される加工食品を中心に、加工食品の製造における3-MCPDE、2-MCPDE、GEの挙動を明らかにする。

(イ) 研究内容

対象とする加工食品の選定については、平成29年度のレギュラトリーサイエンス報告書（小課題1の引用文献）における選定規準を参考に、下記の①～③とした。

規準①：「国内又は海外で3-MCPDE、GEの含有実態が報告されていない食品」かつ「日本人の消費量が多いと考えられる食品」。また、海外で含有実態が報告されている食品でも、海外と日本で、原料の油種、加熱程度が異なる場合には本研究の対象とする。

規準②：「3-MCPDE濃度、GE濃度の高い食用植物油脂を原料とする食品」。

平成24、25年度の農林水産省の含有実態調査の結果より、選定する際の優先度が高い油種はパーム油（パーム油加工品を含む）、こめ油とする。

規準③：「加熱調理の手法として焼いた食品」。3-MCPDE、GEは高温の脱臭工程で生じることから、加熱温度が高い食品を選定する。

選定の対象とした食品のリストを表2-1に示す。規準①～③のデータをもとに消費量が10万トン以上で、3-MCPDEが多いとされるパーム油やその加工油脂、もしくはこめ油を原料とした食品を優先度1位にする。ついで、消費量が10万トン以下で、油脂含量の高い（10%以上）食品を優先度2位とする。その他、調理温度が高いが調理油の使用量が少ない食品を優先度3位とする。

上記を踏まえ、揚げ調理で製造されるフライ食品としては、揚げ菓子の代表としてあらを、またフライドポテト、コロッケ、魚フライ、鶏唐揚げを選択した。ただし、鶏唐揚げは大きさがそれぞれ異なるので、大きさが一定したチキンカツを用いることとした。また、加工油脂を用いて焼き調理で製造される加工食品の代表としてクッキーを、中華料理のような高温加熱調理である炒め調理で製造される加工食品の代表としてチャーハンを選択した。

日本人の3-MCPDE及びGE摂取に寄与する可能性が高いと予想される加工食品のうち、あら、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ、及びチャーハンについてパーム油またはこめ油を用いて調理試験を実施した。加熱調理前後の食品中の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度について、1) で妥当性を確認した分析法で定量し、製造過程における加熱調理の影響を解析した。

以降の実験では、揚げ調理（フライ食品）、炒め調理、焼き調理（マーガリンを使用しているため小課題3で実施）で作製した加工食品について順次検討することとした。また、油脂を単独で加熱した場合の、油脂中の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度に及ぼす影響についても併せて検討した。

1. 揚げ調理（フライ食品）

東京工科大学において揚げ調理試験を実施した。調理試験に用いた油脂の性状と脂肪酸組成を表2-2と2-3に示した。こめ油及びパーム油とも典型的なこめ油とパーム油の脂

脂肪酸組成を有する日本農林規格に適合した製品である。さらに、フライ食品の揚げ種に関する情報は表2-4に、調理条件については表2-5にまとめた。

1-1. あられ

1) 材料

あられ生地…生あられのうちプレーン生地

揚げ油……………食用こめ油

※加熱前の油脂を200 g採取。

2) 使用機器

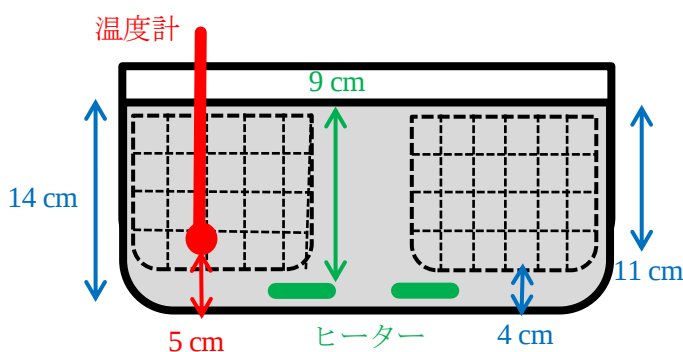
バッチ式フライヤー…タイジ 卓上型電気フライヤーTF-40A (タイジ)

温度計……………温度計SN3000 (NETSUKEN)

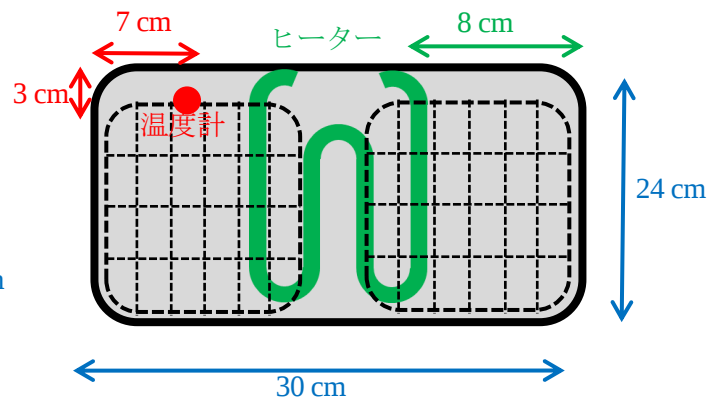
<温度計設置位置>

油槽内に、下図のとおり温度計を設置した。

油槽 (横から見た図)



油槽 (上から見た図)



3) 油脂の加熱

フライヤーでこめ油 5 kgを加熱し、200℃に達した時点から30分間温度を維持した。なお、加熱調理中も油脂の温度は200℃に維持されていた。

4) あられ調理・フライ油の採取 (温度等の記録)

- ① あられ生地 100 g を半量ずつ油槽の2つの網内に分けて投入し、5分間加熱した。フライ油の温度をあられ生地投入直後から30秒毎に記録した。あられ生地同士が付着しないよう加熱2分と4分にトングで数秒間かき混ぜた。
- ② 5分間加熱後、直ちにあられを網ごと油槽から取り出し、バットの中に置いた網 (網目サイズ 1 cm×1 cm) に移して油をきった後 (10分後)、重量を測定した。
- ③ あられを油槽から取り出すのとほぼ同時に、駒込ピペットで油槽からフライ油 100 g を採取した。採取したフライ油にあられ生地 (揚げかす) が入っている場合は、かす揚げ (網目サイズ: 1 mm×1 mm) により揚げかすを取り除いた。
- ④ フライ油中にあられ生地 (揚げかす) が残留した場合は、あられを取り出してから1分後にかす揚げ (網目サイズ: 1 mm×1 mm) を用いて取り除いた。

5) 調理の繰り返し

フライ油の温度が200℃に達してから30分毎に、4)のあられ調理の操作を11回(計12回)繰り返した(2回目の調理は、4)②のあられを取り出してから25分後)。6回目、12回目に調理したあられを揚げ油から取り出すのとはほぼ同時に、フライ油各50 gを採取した。調理中の油脂の温度等を記録した。調理後の食品及び採取したフライ油は写真に記録した。

6) 分析用あられ試料とフライ油の保管・発送

あられ全量をパウチ袋に封入し、発送まで専用の冷凍庫(−20℃)で保管した。1回目、6回目に調理したあられを翌日に日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。

また、採取したフライ油(油脂試料)は全量を褐色瓶に入れ、ヘッドスペースを窒素置換した上で密栓し、発送まで室温(20℃程度。15℃以下にならないようにする)で保管、翌日に日本食品油脂検査協会に常温便で発送した。

なお、1-2のフライドポテトの調理に用いたパーム油でも同様に、あられを調理した。

1-2. フライドポテト

1) 材料

冷凍ポテト…ナチュラルカット(皮付き・長さ7 cm)

※プリフライなし

揚げ油………精製パーム油

※加熱前の油脂を200 g採取。

2) 使用機器(配置はあられと同じ)

バッチ式フライヤー…タイジ 卓上型電気フライヤーTF-40A(タイジ)

温度計………温度計SN3000(NETSUKEN)

3) 油脂の加熱

パーム油は60℃で一晩融解し、5 kgをフライヤーに入れた。フライヤーでパーム油を加熱し、180℃に達した時点から30分間温度を維持した。なお、加熱調理中も油脂の温度は180℃に維持されていた。

4) フライドポテトの調理・フライ油の採取(温度等の記録)

① 冷凍ポテト200 gを、100 gずつ2つの網内に分けて油槽に投入し、3分間加熱した。フライ油の温度を冷凍ポテト投入直後から30秒毎に記録した。加熱1分ごとにポテトをトングでかき混ぜた。

② 3分間加熱後、直ちにフライドポテトを網ごと油槽から取り出し、バットの中に置いた網(網目サイズ1 cm×1 cm)に移して油をきった後(10分後)、重量を測定した。

③ フライドポテトを油槽から取り出すのと(可能な限り)ほぼ同時に、駒込ピペットで油槽からフライ油100 gを採取した。採取したフライ油に揚げかすが入っている場合は、かす揚げ(網目サイズ:1 mm×1 mm)により揚げかすを取り除いた。

④ フライ油中に揚げかすが残留した場合は、フライドポテトを取り出してから1分後にかす揚げ(網目サイズ:1 mm×1 mm)を用いて取り除いた。

5) 調理の繰り返し

フライ油の温度が180℃に達してから30分毎に、4)のフライドポテトの調理の操作を11回(計12回)繰り返した(2回目の調理は、4)②のフライドポテトを取

り出してから 27 分後)。6 回目、12 回目に調理したフライドポテトをフライ油から取り出すのとほぼ同時に、フライ油各 100 g を採取した。調理中の油脂の温度等を記録した。調理後の食品及び採取したフライ油は写真に記録した。

6) 分析用フライドポテト試料とフライ油の保管・発送

フライドポテト試料は、それぞれ全量をパウチ袋に封入し、冷凍（-20℃）で保管した。1 回目、6 回目、12 回目に調理したフライドポテトを翌日に日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。

採取したフライ油（油脂試料）は全量を褐色瓶に入れ、ヘッドスペースを窒素置換した上で密栓し、発送まで室温で保管、翌日に日本食品油脂検査協会に常温便で発送した。

なお、1-1のあられの調理に用いたこめ油でも同様に、フライドポテトを調理した。

1-3. コロッケ

1) 材料

冷凍コロッケ…ビーフコロッケ 80 g/個（8 cm×6 cm）

※プリフライなし

揚げ油………精製パーム油

※加熱前の油脂を200 g採取。

2) 使用機器（配置は1のあられと同じ）

バッチ式フライヤー…タイジ 卓上型電気フライヤーTF-40A（タイジ）

温度計………温度計SN3000（NETSUKEN）

3) 油脂の加熱

パーム油は60℃で一晩融解し、5 kgをフライヤーに入れた。フライヤーでパーム油を加熱し、180℃に達した時点から30分間温度を維持した。なお、加熱調理中も油脂の温度は180℃に維持されていた。

4) コロッケの調理・フライ油の採取（温度等の記録）

① 冷凍コロッケ（80 g/個）を1個ずつ2つの網内に分けて油槽に投入し、4分30秒間加熱した。フライ油の温度を冷凍コロッケ投入直後から30秒毎に記録した。

② 4分30秒間加熱後、直ちにコロッケを網ごと油槽から取り出し、バットの中に置いた網（網目サイズ1 cm×1 cm）に移して油をきった後（10分後）、重量を測定した。

③ コロッケを油槽から取り出すのと（可能な限り）ほぼ同時に、駒込ピペットで油槽からフライ油 100 g を採取した。採取したフライ油に揚げかすが入っている場合は、かす揚げ（網目サイズ：1 mm×1 mm）により揚げかすを取り除いた。

④ フライ油中に揚げかすが残留した場合は、コロッケを取り出してから1分後にかす揚げ（網目サイズ：1 mm×1 mm）を用いて取り除いた。ただし、沈殿している揚げかすは除去せず、油槽内の状態を写真に記録した。

5) 調理の繰り返し

フライ油の温度が180℃に達してから30分毎に、4) のコロッケの調理の操作を11回（計12回）繰り返した（2回目の調理は、4) ②のコロッケを取り出してから25分30秒後）。6回目、12回目に調理したコロッケをフライ油から取り出すのとほぼ同時に、フライ油各100 gを採取した。調理中の油脂の温度等を記録した。調理後の食品及

び採取したフライ油は写真に記録した。

6) 分析用コロッケ試料の保管・発送

調理したコロッケ試料は、それぞれ全量をパウチ袋に封入し、冷凍（ -20°C ）で保管した。1回目、6回目、12回目に調理したコロッケのそれぞれ全量を翌日に日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。

採取したフライ油（油脂試料）は全量を褐色瓶に入れ、ヘッドスペースを窒素置換した上で密栓し、発送まで室温で保管、翌日に日本食品油脂検査協会に常温便で発送した。

1-4.魚フライ

1) 材料

冷凍魚フライ…白身魚のフライ $65 \pm 6 \text{ g/個}$ （ $14 \sim 15 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ ）

＊プリフライなし

揚げ油………精製パーム油

※加熱前の油脂を、広口の褐色瓶に200 g採取。

2) 使用機器

パッチ式フライヤー…タイジ 卓上型電気フライヤーTF-40A（タイジ）

温度計………温度計SN3000（NETSUKEN）

3) 油脂の加熱

パーム油は 60°C で一晩融解し、5 kgをフライヤーに入れた。フライヤーでパーム油を加熱し、 170°C に達した時点から30分間温度を維持した。なお、加熱調理中も油脂の温度は 170°C に維持されていた。

4) 魚フライの調理・フライ油の採取（温度等の記録）

① 冷凍魚フライ（ $65 \pm 6 \text{ g/個}$ ）を1個ずつ2つの網カゴ（網目サイズ $7 \text{ mm} \times 7 \text{ mm}$ ）内に分けて油槽に投入し、4分30秒加熱した。フライ油の温度を冷凍魚フライ投入直後から30秒毎に記録した。加熱開始後3分45秒時点で、 tong で魚フライを反転させた。加熱中に魚フライが浮いてきた場合は、時間を記録した。

② 4分30秒加熱後、直ちに魚フライを網ごと油槽から取り出し、バットの中に置いた網（網目サイズ $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ ）に移して油をきった後（10分後）、重量を測定した。両面ともに衣がはがれていないことを確認し、両面の状態を写真に記録した。

③ 魚フライを油槽から取り出すのと（可能な限り）ほぼ同時に、駒込ピペットで油槽からフライ油100 gを広口の褐色瓶に採取した。採取したフライ油に揚げかすが入っている場合は、かす揚げ（網目サイズ： $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ ）により揚げかすを取り除いた。

④ フライ油中に揚げかすが残留した場合は、魚フライを取り出してから1分後にかす揚げ（網目サイズ： $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ ）又はtongを用いて取り除いた。

5) 調理の繰り返し

フライ油の温度が 170°C に達してから30分毎に、4)の魚フライの調理の操作を11回（計12回）繰り返した（2回目の調理は、4)②の魚フライを取り出してから25分30秒後）。6回目、12回目に調理した魚フライをフライ油から取り出すのとはほぼ同時に、フライ油各100 gを広口の褐色瓶に採取した。調理中の油脂の温度を記録した。調理後の食品及び採取したフライ油は写真に記録した。

6) 分析用魚フライ試料とフライ油の保管・発送

調理した魚フライ試料は、それぞれ全量をパウチ袋に封入し、冷凍（-20℃）で保管した。1回目、6回目、12回目に調理した魚フライのそれぞれ全量を翌日に日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。

採取したフライ油（油脂試料）は全量を広口の褐色瓶に入れ、ヘッドスペースを窒素置換した上で密栓し、発送まで室温で保管、翌日に日本食品油脂検査協会に常温便で発送した。

1-5. チキンカツ

1) 材料

冷凍チキンカツ…チキンカツ 68±6 g/個（10 cm×8 cm）

＊プリフライなし

揚げ油………精製パーム油

※加熱前の油脂を、広口の褐色瓶に200 g採取。

2) 使用機器

バッチ式フライヤー…タイジ 卓上型電気フライヤーTF-40A（タイジ）

温度計………温度計SN3000（NETSUKEN）

3) 油脂の加熱

パーム油は 60℃で一晩融解し、5 kg をフライヤーに入れた。フライヤーでパーム油を加熱し、170℃に達した時点から 30 分間温度を維持した。なお、加熱調理中も油脂の温度は 170℃に維持されていた。

4) チキンカツの調理・フライ油の採取（温度等の記録）

- ① 冷凍チキンカツ（68 g/個）を 1 個ずつ 2 つの網カゴ（網目サイズ 7 mm×7 mm）内に分けて油槽に投入し、5 分加熱した。フライ油の温度を冷凍チキンカツ投入直後から 30 秒毎に記録した。加熱開始後 3 分 45 秒時点で、トングでチキンカツを反転させた。加熱中にチキンカツが浮いてきた場合は、時間を記録した。
- ② 5 分加熱後、直ちにチキンカツを網ごと油槽から取り出し、バットの中に置いた網（網目サイズ 1 cm×1 cm）に移して油をきった後（10 分後）、重量を測定した。両面ともに衣がはがれていないことを確認し、両面の状態を写真に記録した。
- ③ チキンカツを油槽から取り出すのと（可能な限り）ほぼ同時に、駒込ピペットで油槽からフライ油 100 g を広口の褐色瓶に採取した。採取したフライ油に揚げかすが入っている場合は、かす揚げ（網目サイズ：1 mm×1 mm）により揚げかすを取り除いた。
- ④ フライ油中に揚げかすが残留した場合は、チキンカツを取り出してから 1 分後に揚げかす（網目サイズ：1 mm×1 mm）又はトングを用いて取り除いた。

5) 調理の繰り返し

フライ油の温度が170℃に達してから30分毎に、4) のチキンカツの調理の操作を 11回（計12回）繰り返した（2回目の調理は、4) ②のチキンカツを取り出してから 25分後）。6回目、12回目に調理したチキンカツをフライ油から取り出すのとほぼ同時に、フライ油各100 gを広口の褐色瓶に採取した。調理中の油脂の温度等を記録した。調理後の食品及び採取したフライ油は写真に記録した。

6) 分析用チキンカツ試料とフライ油の保管・発送

調理したチキンカツ試料は、それぞれ全量をパウチ袋に封入し、冷凍（－20℃）で保管した。1回目、6回目、12回目に調理したチキンカツのそれぞれ全量を翌日に日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。

採取したフライ油（油脂試料）は全量を広口の褐色瓶に入れ、ヘッドスペースを窒素置換した上で密栓し、発送まで室温で保管、翌日に日本食品油脂検査協会に常温便で発送した。

1-6. 分析項目

フライ食品については、脂質濃度をエーテル抽出法（ソックスレー抽出法）、水分濃度を乾燥重量法、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度を酵素法の改良法で測定した。また、フライ油については、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度を酵素法で測定すると共に加熱に伴う油脂の劣化度を評価するため、酸価を滴定法（基準油脂分析試験法 2.3.1-2013）で測定した。

2. 油脂の加熱試験

1) 油脂

食用パーム油A（2021年8月2日製造）

食用パーム油B（食用パーム油Aと同じ製品のロット違い、2021年11月22日製造）

食用こめ油 A

食用こめ油 B

食用こめ油 C

食用こめ油 D

※加熱前の油脂200 gを採取。

2) 使用機器（1のフライ食品の調理試験と同じ）

バッチ式フライヤー…タイジ 卓上型電気フライヤーTF-40A（タイジ）

温度計………温度計SN3000（NETSUKEN）

3) 油脂の加熱

フライ油として、パーム油を用いる場合は、60℃で一晩融解し、5 kg をフライヤーに入れた。フライ油として、こめ油を用いる場合は 5 kg をフライヤーに入れた。フライヤーでフライ油を加熱し、180℃または 200℃に達した時点から 30 分間温度を維持した。なお、加熱中も油脂の温度は 180℃または 200℃に維持されていた。

4) フライ油の採取

加熱後、180℃または 200℃に達した時点から、30 分、3 時間、6 時間後に駒込ピペットで油槽から 100 g ずつ採取。採取したフライ油は写真に記録した。

5) フライ油試料の保管・発送

採取したフライ油（油脂試料）は褐色瓶に入れ、ヘッドスペースを窒素置換した上で密栓し、発送まで室温で保管、日本食品油脂検査協会に常温便で発送した。

6) 分析項目

本試験に使用したこめ油とパーム油については、ガスクロマトグラフィー法（基準油脂分析試験法 2.4.2.3-2013）にて脂肪酸組成を分析した。

フライ油については、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度を酵素法で測定すると共に、

油脂中に含まれる3-MCPDE及びGEの原料と考えられるジアシルグリセロール (DAG) やモノアシルグリセロール (MAG) の含量をガスクロマトグラフィー法 (基準油脂分析試験法 奨6-2017) にて分析した。

3. 炒め調理 (チャーハン)

チャーハンは、出張料理人の厨房で業務用コンロを用いて作製した。なお、材料の種類の影響を少なくするため、卵、ごはん、調味料のみを材料としてチャーハンを作製した。

1) 材料

- ・ごはん (レトルト) 200 g
- ・液卵 (凍結全卵) 60 g
- ・油脂 (こめ油) 20 g
- ・食塩 2.5 g
- ・しょうゆ 1 g
- ・胡椒 0.2 g

2) 器具

- ・中華鍋 (鉄製、直径26 cm)、ボウル、オタマ、へら、
- ・天秤 (エー・アンド・デイ HT-500)
- ・赤外線放射温度計 (エー・アンド・デイ AD-5616)

3) 方法

- ① 液卵 60 g と食塩 2.5 g をボウルに入れへらで 15 回混ぜた。
- ② 電子レンジ 500 W で 2 分温めたごはん 200 g を上記のボウルに入れて、へらで 1 回返した後、全体を 20 回切った。
- ③ 中華鍋を強火にかけた後、赤外線放射温度計で中華鍋の底の中心を上から 10 秒ごとに測定した。
- ④ 温度が 350℃に達したら、こめ油投入直前に赤外線放射温度計で中華鍋の底の中心を下から温度を測定した。こめ油 20 g を中華鍋上に投入し、約 30 秒間中華鍋を傾けて鍋の表面全体に油を広げた。
- ⑤ 赤外線放射温度計で中華鍋の底の中心を下から温度を測定した後、②のごはんを投入し、オタマでだまになった部分を切った。この操作をだまがなくなるまで約 50 秒間繰り返した。
- ⑥ しょう油及び胡椒を投入する前に赤外線放射温度計で中華鍋の底の中心を下から測定した。しょう油 1 g と胡椒 0.2 g を投入した後、オタマでだまを約 10 回切った (10 秒)。終了時に赤外線放射温度計で中華鍋の底の中心を下から測定した。なお、中華鍋の底の温度は最高約 400℃に達したが、食材を入れると 200℃程度まで低下した。
- ⑦ チャーハンを容器に取り出し、温度計でチャーハン表面の温度を測定した。(加熱調理時間は鍋を火にかけてから約 2 分)
- ⑧ 15 分放置後、重量を測定すると共に、写真撮影した。
- ⑨ チャーハンをラミジップ袋に入れ、冷凍庫(-20℃)で保管、日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。
- ⑩ なお、対照サンプルとして未調理チャーハンは、次のように実際のチャーハン

を調理するときとはほぼ同じ方法で作製した。上記のチャーハン調理で使用した材料（同一の賞味期限）の同量をボウルに入れ、ゴムへらを用いて混合し、ラミジップ袋に入れ、冷凍庫（-20℃）で保管、日本食品油脂検査協会に冷凍便で発送した。

- ⑪ チャーハンの分析はフライ食品と同様に、脂質濃度をエーテル抽出法（ソックスレー抽出法）、水分濃度を乾燥重量法、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度を酵素法の改良法で測定した。

（ウ）研究結果

1. 揚げ調理

揚げ調理で作製したフライ食品（あられ、フライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツ）と揚げ油（フライ油）の外観を写真2-1～2-10に示した。また、フライ食品の性状として、重量、水分、脂質濃度を測定した結果について、重量を表2-6に、フライ食品の水分と脂質濃度を表2-7に示した。

写真からわかるように、作製されたフライ食品は問題なく食せるものであった。

フライ食品の重量については、加熱前のあられとフライドポテトの重量はそれぞれ、100 gと200 gであったが、揚げ調理によりできた製品の重量は、それぞれ、138～140 g、155～161 gになったが、油脂の加熱時間による重量の違いは見られなかった。一方、コロッケと魚フライ、チキンカツは、加熱前の重量は、それぞれ81 g、64～67 g、68～69 gで、加熱後は81 g、65～67 g、66～68 gと、加熱による大きな変化は見られなかった（表2-6）。

次にフライ食品の水分と脂質濃度については、表2-7に示されるように、あられには水分はほとんどなく、脂質が41～43%(w/w)含まれていた。フライドポテトには、60～62%(w/w)の水分と6～7%(w/w)の脂質が、コロッケには、50～51%(w/w)の水分と約14%(w/w)の脂質が、魚フライには、46～49%(w/w)の水分と18～21%(w/w)の脂質が、チキンカツには、46～47%(w/w)の水分と19～20%(w/w)の脂質が含まれていることが分かった。なお、フライ食品の水分と脂質濃度については油脂の加熱時間の違いによる有意な差異は見られなかった。

今回の調理試験に使用したこめ油とパーム油中の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度については、表2-8に示すように、未加熱こめ油中の3-MCPDE濃度は0.5 mg/kg、2-MCPDE濃度は0.2 mg/kg、GE濃度は1.7 mg/kgであり、未加熱パーム油中の3-MCPDE濃度は2.6～2.9 mg/kg、2-MCPDE濃度は1.5～1.8 mg/kg、GE濃度は0.2～0.4 mg/kgであり、平成24～25年度の農林水産省による含有実態調査結果¹⁾よりも低い値を示した。

1-1. あられ

加熱調理後の揚げ油とあられの外観は、写真2-1と2-2の通りである。調理試験に用いたこめ油は加熱に伴い、着色した。一方、加熱調理でできたあられは、調理1回目（揚げ油の加熱30分後）と調理12回目（揚げ油の加熱6時間後）で外観に違いは見られなかった。揚げ油中の3-MCPDE濃度は0.5 mg/kg、2-MCPDE濃度は0.2 mg/kgで油脂の加熱時間による違いは見られなかった。一方、GE濃度は、未加熱油の1.7 mg/kgから加熱6時間後には0.7 mg/kgに減少した（表2-8）。

表2-9と2-10に示すように、調理後のあられ中の3-MCPDE濃度は0.2 mg/kg（脂質

中換算0.5 mg/kg)、2-MCPDE濃度は0.1 mg/kg (脂質中換算0.2 mg/kg)であり、油脂の加熱時間による違いは見られなかった。一方、GE濃度は加熱30分後の0.5 mg/kg (脂質中換算1.2 mg/kg)から加熱6時間後には0.3 mg/kg (脂質中換算0.8 mg/kg)に減少した。

3-MCPDE、2-MCPDE、GEとも調理後のあられの脂質中換算濃度と揚げ油中の濃度は、図2-1に示したように強い正の相関性 (3-MCPDE : $R^2 = 0.784$, 2-MCPDE : $R^2 = 0.805$, GE : $R^2 = 0.961$) を示したことから、揚げ油由来であると考えられた。

1-2. フライドポテト

加熱調理後の揚げ油とフライドポテトの外観は、写真2-3と2-4の通りである。調理試験に用いたパーム油は加熱に伴い、着色した。あられの場合に比べて、着色が激しく、6時間後には黒色になった。これはポテトに含まれる糖が多いため、メイラード反応が起こったと考えられた。一方、加熱調理でできたフライドポテトは、調理1回目 (揚げ油の加熱30分後) と調理12回目 (揚げ油の加熱6時間後) で外観に違いは見られなかった。表2-8に示すように、揚げ油中の3-MCPDE濃度は未加熱油2.6 mg/kgから加熱6時間後には1.3 mg/kgに、2-MCPDE濃度は未加熱油1.5 mg/kgから加熱6時間後には1.1 mg/kgにそれぞれ減少した。一方、GE濃度は未加熱及び加熱後の油脂とも約0.3 mg/kgで、油脂の加熱時間による違いは見られなかった。

表2-9と2-10に示すように、調理後のフライドポテト中の3-MCPDE濃度は、加熱30分後には0.2 mg/kg (脂質中換算2.8 mg/kg)に、加熱6時間後には0.1 mg/kg (脂質中換算1.3 mg/kg)に減少した。また、2-MCPDE濃度は、加熱30分後には0.1 mg/kg (脂質中換算1.4 mg/kg)、加熱6時間後には0.1 mg/kg (脂質中換算1.1 mg/kg)に減少した。一方、GE濃度は0.02~0.03 mg/kg (脂質中換算0.34 mg/kg)であり、油脂の加熱時間による違いは見られなかった。

3-MCPDE、2-MCPDEとも調理後のフライドポテトの脂質中換算濃度と揚げ油中の濃度は、図2-2に示したように強い正の相関性 (3-MCPDE : $R^2 = 0.809$, 2-MCPDE : $R^2 = 0.779$) を示したことから、揚げ油由来であると考えられた。

1-3. コロッケ

加熱調理後の揚げ油とコロッケの外観は、写真2-5と2-6の通りである。調理試験に用いたパーム油は加熱に伴い、着色した。一方、加熱調理でできたコロッケは、調理1回目 (揚げ油の加熱30分後) と調理12回目 (揚げ油の加熱6時間後) で外観に違いは見られなかった。表2-8に示すように、揚げ油中の3-MCPDE濃度は、未加熱油の2.8 mg/kgから加熱6時間後には1.6 mg/kgに減少した。また、2-MCPDE濃度は、未加熱油の1.6 mg/kgから加熱6時間後には1.2 mg/kgに減少した。一方、GE濃度は0.4 mg/kgで、油脂の加熱時間による違いは見られなかった。

表2-9と2-10に示すように、調理後のコロッケ中の3-MCPDE濃度は、加熱30分後には0.3 mg/kg (脂質中換算2.2 mg/kg)、加熱6時間後には0.2 mg/kg (脂質中換算1.5 mg/kg)に減少した。また、2-MCPDE濃度は、加熱30分後には0.2 mg/kg (脂質中換算1.1 mg/kg)、加熱6時間後には0.1 mg/kg (脂質中換算0.9 mg/kg)とほとんど減少しなかった。GE濃度は加熱6時間後も0.04 mg/kg (脂質中換算0.3 mg/kg)であり、油脂の加熱時間による違いは見られなかった。

3-MCPDE、2-MCPDEとも調理後のコロッケの脂質中換算濃度と揚げ油中の濃度は、図2-3に示したように強い正の相関性（3-MCPDE : $R^2=0.775$, 2-MCPDE : $R^2=0.694$ ）を示したことから、揚げ油由来であると考えられた。

1-4. 魚フライ

加熱調理後の揚げ油と魚フライの外観は、写真2-7と2-8の通りである。調理試験に用いたパーム油は加熱に伴い、着色した。一方、加熱調理でできた魚フライは、調理1回目（揚げ油の加熱30分後）と調理12日目（揚げ油の加熱6時間後）で外観に違いは見られなかった。表2-8に示すように、揚げ油（パーム油）中の3-MCPDE濃度は、未加熱の2.7 mg/kgから加熱6時間後には1.7 mg/kgに減少した。また、2-MCPDE濃度は未加熱の1.7 mg/kgから加熱6時間後には1.4 mg/kgに減少した。一方、GE濃度は未加熱時も加熱6時間後も0.2 mg/kgであり、油脂の加熱時間による違いは見られなかった。

表2-9と2-10に示すように、調理後の魚フライ中の3-MCPDE濃度は、加熱30分後が0.6 mg/kg（脂質中換算2.7 mg/kg）であったのに対し、加熱6時間後では0.3 mg/kg（脂質中換算1.7 mg/kg）に減少した。また、2-MCPDE濃度は、加熱時間30分後が0.4 mg/kg（脂質中換算1.7 mg/kg）であったのに対し、加熱時間6時間後には0.3 mg/kg（脂質中換算1.5 mg/kg）に減少した。一方、GE濃度は0.04 mg/kg（脂質中換算0.2 mg/kg）であり、油脂の加熱による違いは見られなかった。

3-MCPDE、2-MCPDE、GEとも調理後の魚フライの脂質中換算濃度と揚げ油中の濃度は、図2-4に示したように強い正の相関性（3-MCPDE : $R^2=0.980$, 2-MCPDE : $R^2=0.787$, GE : $R^2=0.890$ ）を示したことから、揚げ油由来であると考えられた。

1-5. チキンカツ

加熱調理後の揚げ油とチキンカツの外観は、写真2-9と2-10の通りである。調理試験に用いたパーム油は加熱に伴い、着色した。一方、加熱調理でできたチキンカツは、調理1回目（揚げ油の加熱30分後）と調理12回目（揚げ油の加熱6時間後）で外観に違いは見られなかった。表2-8に示すように、揚げ油（パーム油）中の3-MCPDE濃度は、未加熱の2.9 mg/kgから加熱6時間後には1.6 mg/kgに減少した。また、2-MCPDE濃度は、未加熱の1.8 mg/kgから加熱6時間後には1.5 mg/kgに減少した。一方、GE濃度は未加熱時も加熱6時間後も0.2 mg/kgであり、油脂の加熱による違いは見られなかった。

表2-9と2-10に示すように、調理後のチキンカツ中の3-MCPDE濃度は、加熱30分後は0.5 mg/kg（脂質中換算2.5 mg/kg）であったのに対し、加熱時間6時間には0.3 mg/kg（脂質中換算1.5 mg/kg）に減少した。また、2-MCPDE濃度は加熱30分後と6時間後とも0.3 mg/kg（脂質中換算1.3~1.5 mg/kg）でほとんど変化しなかった。一方、GE濃度は6時間加熱後も0.03 mg/kg（脂質中換算0.2 mg/kg）であり、揚げ油の加熱による違いは見られなかった。

3-MCPDE、2-MCPDEとも調理後のチキンカツの脂質中換算濃度と揚げ油中の濃度は、図2-5に示したように強い正の相関性（3-MCPDE : $R^2=0.964$, 2-MCPDE : $R^2=0.765$ ）を示したことから、揚げ油由来であると考えられた。

以上のように、こめ油で揚げたあられでは、GEは揚げ調理の加熱時間に伴い減少し、パーム油で揚げたフライドポテト、コロッケ、魚フライ、チキンカツでは、3-MCPDE、

2-MCPDEは揚げ調理の加熱時間に伴い減少する傾向が認められた。そこで、揚げ油の劣化度の指標として酸価を測定したところ、表2-11に示すように、すべての揚げ油で加熱時間に伴って酸価は増加した。未加熱油では、0.1以下だった酸価が、6時間後では約0.3になり、短時間ではあるが、油脂の加熱劣化が進行したことが確認された。フライ食品中の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度と酸価の相関性を調べたところ、あられを除くフライ食品中の脂質当たり3-MCPDEと2-MCPDE濃度と強い負の相関(3-MCPDE : $R^2=0.911\sim0.959$, 2-MCPDE : $R^2=0.686\sim0.978$)を示したことから、3-MCPDEと2-MCPDEは油脂の加熱劣化と同じように分解されたことが示唆された(図2-6～2-10)。

一方、あられを除いてGE濃度は加熱による変化は見られなかったが、今回の調理条件では、GEの生成温度(約200℃以上)に達しないことや加熱前のパーム油中のGE濃度が3-MCPDE及び2-MCPDEより低いため挙動として表れにくい等の理由が考えられた。

2. 加工食品の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度に及ぼす揚げ調理の影響の解析

揚げ調理によって製造される加工食品について、主に植物性の食材を用いた加工食品として、あられ、フライドポテト、コロッケを、また動物性の食材を用いた加工食品として魚フライとチキンカツを選択し、揚げ調理前後の揚げ油中及び食品中の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度を測定した。その結果、食材(揚げ種)の種類に関係なく、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度は増加しなかった。とくに、パーム油で揚げた場合は、フライ食品中の3-MCPDE及び2-MCPDE濃度は加熱調理によって減少した。これらは揚げ油に由来すると考えられることから、揚げ油中の3-MCPDE及び2-MCPDEが、揚げ調理における加熱によって別の物質に変化している可能性が示唆された(表2-8)。

一方、こめ油ではパーム油と異なる結果を示した(表2-8)。こめ油をフライ調理に用いた場合、加熱時間に伴い、揚げ油およびあられ中の3-MCPDE及び2-MCPDE濃度に変化はなかったが、GE濃度が減少した。

この要因を検証するために、食材と揚げ油の組み合わせを変えて、あられはパーム油を用いて、フライドポテトはこめ油を用いてそれぞれ揚げ調理を行った(写真2-11～2-14)。さらに、食材の影響を除いた系を想定し、パーム油及びこめ油のみを加熱した。

その結果、表2-12と表2-13に示すように、パーム油を用いて200℃であられを調理したところ、揚げ油およびあられ中の3-MCPDE、2-MCPDE濃度は10%以上低下した。一方、揚げ油中のGE濃度は、加熱時間に伴い増加する傾向が見られた。

また、こめ油を用いて180℃でフライドポテトを調理したところ、表2-12に示すように、揚げ油中の3-MCPDE濃度は低下する傾向が見られたが、表2-13に見られるように、フライドポテト中の値で見た場合、標準偏差に相当する程度の変化しか、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度に変化は見られなかった。

次いで、3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度の異なる4種類のこめ油A～Dを180℃と200℃で加熱した。180℃及び200℃で加熱したこめ油の外観を写真2-15～2-22に示す。加熱に伴い、すべてのこめ油は褐色化した。試験に用いたこめ油の脂肪酸組成を表2-14に示したが、試料が異なってもこめ油の脂肪酸組成は同じであった。表2-15に示す

ように、4種類の未加熱のこめ油中の3-MCPDE濃度は、試料によって濃度が0.38～1.01 mg/kgと異なったが、加熱後のこめ油中の3-MCPDE濃度は180℃及び200℃とも、変化は見られなかった。未加熱のこめ油中の2-MCPDE濃度も、0.20～0.55 mg/kgと試料によって異なったが、加熱による変化は見られなかった。一方、未加熱のこめ油中のGE濃度については、0.56～2.47 mg/kgと試料によって大きく異なり、こめ油Bが最も少なかった（表2-15）。こめ油を180℃で加熱した場合、GE濃度は減少する傾向が見られた。一方、こめ油を200℃で加熱した場合、もともとのGE濃度が高い場合（こめ油AとD）は減少し、濃度が低い場合（こめ油B）では増加する結果となった（表2-15）。

また、2種類のロットの異なるパーム油の脂肪酸組成を表2-14に示したが、ロットに関係なくパーム油の脂肪酸組成はほぼ同じで、パルミチン酸(16:0)とオレイン酸(18:1)を主成分とする典型的なパーム油の脂肪酸組成であった。この2種類のパーム油A、Bを180℃及び200℃で加熱した。180℃及び200℃で加熱したパーム油の外観を写真2-23～2-26に示す。加熱時間に伴い、2種類のパーム油とも褐色化した。パーム油を180℃で加熱した場合、揚げ油中の3-MCPDEと2-MCPDE濃度は減少したが、GE濃度については変化が見られなかった（表2-15）。一方、パーム油を200℃で加熱した場合、ロットに関係なく、揚げ油中の3-MCPDEと2-MCPDE濃度は減少したが、GE濃度は増加した（表2-15）。

以上のように、こめ油とパーム油を用いて食材を加熱調理した場合、揚げ油中及び食品中の3-MCPDEと2-MCPDE濃度は増加することはなかった。一方、食材が存在しない場合では、パーム油中のGE濃度は、200℃加熱で増加する傾向が見られ、こめ油中のGE濃度は、もともとのGE濃度が低い場合は200℃で増加する傾向が見られた。このことから3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの消長は、加熱温度の影響が大きいと考えられ、過去の論文^{2,3)}と似た結果となった。

次に、油脂に含まれる3-MCPDE及びGEの原料と考えられるジアシルグリセロール(DAG)やモノアシルグリセロール(MAG)の濃度が、試料の種類や加熱温度によって異なるのか調べた。その結果、表2-16に示すように、こめ油とパーム油に関係なく、未加熱油脂のDAG濃度は7.0～8.2%と同程度で、また試料の種類による違いも認められなかった。また、加熱によってこめ油及びパーム油のDAG濃度は増加傾向が認められたが、表2-15からわかるように、油脂中の3-MCPDE、2-MCPDE及びGE濃度と相関性は認められなかった。

これらのことから、揚げ調理におけるこめ油とパーム油中の3-MCPDE、2-MCPDE及びGEの異なる挙動は、油脂中におけるそれらの組成の違いによるのではないかと考えられた。すなわち、パーム油では、3-MCPDEの濃度がGEよりも多いのに対し、こめ油ではGEの濃度が3-MCPDEや2-MCPDEよりも多いことに起因しているのではないかと推測された。濃度が高い場合には3-MCPDE及びGEの加熱による分解速度が大きく、油脂の加熱によって減少する傾向にあると考えられた。

以上、食用精製油脂を用いて揚げ調理した場合、すべてのフライ食品において、汎用的な加熱調理条件では、3-MCPDE、2-MCPDE及びGEは増加しないことが確認された。

3. 炒め調理

加熱調理の中でも最も高温となる炒め調理について、チャーハンの調理試験を行った。加熱調理後のチャーハンの外観は、写真2-27の通りである。調理後のチャーハンの重量は253 gであった。チャーハンの未調理と調理後の水分濃度はそれぞれ61.4%(w/w)と57.7%(w/w)で、脂質濃度は7.6%(w/w)と8.3%(w/w)であった。表2-17に示すように、未調理のチャーハン中の3-MCPDE濃度は、0.056 mg/kg（脂質中換算0.74 mg/kg）であったのに対し、調理後は0.064 mg/kg（脂質中換算0.77 mg/kg）と微増となった。また、未調理のチャーハン中の2-MCPDE濃度とGE濃度はそれぞれ、0.029 mg/kg（脂質中換算0.38 mg/kg）と0.110 mg/kg（脂質中換算1.44 mg/kg）で、調理後の2-MCPDE濃度とGE濃度はそれぞれ、0.032 mg/kg（脂質中換算0.39 mg/kg）と0.118 mg/kg（脂質中換算1.42 mg/kg）とほとんど変化は見られなかった。

チャーハンの調理温度は最高約400℃まで達したが、調理時間が2分以内と短いため、3-MCPDE、2-MCPDE、GEはほとんど生成されなかったと考えられる。

以上、中華料理のような高温調理となる炒め調理でも、汎用的な調理条件では3-MCPDE、2-MCPDE及びGEはほとんど増加しないことが確認された。（表2-17）

（エ）研究成果の活用における留意点

加熱調理によって加工食品を製造する場合、汎用的な加熱調理条件では、加工食品中の3-MCPDE、2-MCPDE及びGEは増加しないことから、加工食品の製造における加熱調理は食品安全上問題ないと考えられた。

（オ）研究目標の達成に当たっての問題点

今回実施した加工食品の製造は、スーパーやコンビニエンスストアの総菜や家庭の加熱調理に近い手法であり、食品製造事業者による加工食品の製造とは異なる点が問題点として挙げられたので、今後は、実際の食品製造事業者の製造現場で製造された加工食品と原材料（食用精製油脂）中の3-MCPDE及びGE濃度を分析し、本結果が食品製造事業者による加工食品の製造にも当てはまることを検証することが望ましいと考えられる。

<引用文献>

- 1) 農林水産省「食品中の3-MCPD脂肪酸エステル及びグリシドール脂肪酸エステルの含有実態調査の結果について」（平成24、25年度）
<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/seisaku/pdf/141217-02.pdf>
- 2) A summary of 2-, 3-MCPD esters and glycidyl ester occurrence during frying and baking processes. Kok Ming Goh, Yu Hua Wong, Chin Ping Tan, Kar Lin Nyam. *Current Res. Food Sci.* **4**, 460 (2021)
- 3) Dynamic changes of 3-MCPD esters and glycidyl esters contents as well as oil quality during repeated deep-frying. M. Xu, A. Thompson, B. Chen. *Food Sci. Tech.* **153**, 112568 (2022).

表2-1 加工食品の選定

優先度	実験順	食品名	主要なマトリックス	規準②（油脂）	規準③（加熱温度、加熱方法） ^a	規準①（年間販売量）
1	1	おかき（あられ）	もち米	米、パーム	200-250℃、揚げ	米菓20.9万トン ^b
1	1	フライドポテト、ポテトチップス	じゃがいも	パーム	180-190℃、揚げ	冷凍フレンチフライ22万トン ポテトチップス12.3万トン ^b
1		揚げ即席麺	小麦	パーム	140-150℃、揚げ	45万トン（44.8食×80g×1.25億人） ^c
1		油揚げ	豆腐	なたね、米	二度揚げ110-120℃、 170-200℃	32万トン ^b
1	2	鶏唐揚げ	鶏肉、衣	多種	170-180℃、揚げ	10.8万トン ^b
1		揚げかまぼこ	魚、食塩、でんぷん	なたね、大豆	160-180℃、揚げ	水産練製品（揚げ物）17.3万トン ^b 、かまぼこ45.4万トン ^f
1	1	コロッケ	じゃがいも、パン粉、卵	サラダ油、ラード	170-180℃、揚げ	冷凍コロッケ17.5万トン ^b
1	2	魚フライ	魚、衣	多種	160-180℃、揚げ	冷凍水産フライ12.1万トン ^b 冷凍魚フライ1.3万トン ^e
2		揚げパン又はドーナツ	小麦、フィリング	パーム	170-180℃、揚げ	菓子パン・総菜パン38.7万トン ^b
2		かりんとう	小麦、糖	米、パーム等	200℃、揚げ	油菓子5.7万トン ^d
3		チキンナゲット	鶏肉、衣	多種	170-180℃、揚げ	3.3万トン ^b
3		天ぷら	小麦、野菜又は魚	多種	160-180℃、揚げ	冷凍天ぷら3.7万トン ^b
3		とんかつ	豚肉、衣	サラダ油、ラード	160-180℃、揚げ	冷凍とんかつ6.6万トン ^e
3		春巻	春雨、野菜、小麦	多種	170-180℃、揚げ	冷凍春巻3.7万トン ^b 冷凍春巻2.7万トン ^e
3	3	チャーハン（ピラフ）	米、ハム、卵、ネギ等	多種	180℃、炒め	冷凍チャーハン5.6万トン、冷凍ピラフ4.8万トン ^b
3		ハンバーグ	牛肉、豚肉、玉ねぎ、パン粉、卵	多種	170-230℃、炒め	冷凍ハンバーグ12.8万トン、チルドハンバーグ7.6万トン ^b
3		ぎょうざ	豚肉、キャベツ、ニラ、小麦	多種	200-220℃、炒め	冷凍ぎょうざ7.7万トン、チルド餃子4.8万トン ^b
3	3	ビスケット（クッキー）	小麦	ショートニング等	200℃前後、焼き	20.7万トン ^b

a) 揚げ温度は、日本油化学協会編 油脂化学便覧 改訂三版

b) 富士経済 2017 年食品マーケティング便覧

c) 日本即席食品工業協会

d) 全日本菓子協会

e) 日本冷凍食品検査協会（日本食品検査）

f) 水産加工統計

表2-2 調理試験に用いた油脂の性状

性状	こめ油	パーム油
けん化価	188	194
よう素価	103	52
酸価	0.04	0.05
過酸化物価 (meq/kg)	0.37	2.47

平均値 (n=3)

表2-3 調理試験に用いた油脂の脂肪酸組成 (%)

脂肪酸	こめ油	パーム油
12:0	—	0.5
14:0	0.3	1.1
16:0	16	43.6
16:1	0.2	0.2
17:0	—	0.1
18:0	1.9	4.5
18:1	43.2	39.8
18:2	35.4	9.5
18:3	1.2	0.2
20:0	0.7	0.4
20:1	0.6	0.1
22:0	0.2	—
24:0	0.3	—

平均値 (n=3)

表 2-4 揚げ種（いずれもプリフライされていない市販品）

食品	原材料
生あられ	水稲もち米
冷凍ポテト	じゃがいも
冷凍コロッケ	牛肉・じゃがいも・玉ねぎ・マッシュポテト・生パン粉・調味料
冷凍白身魚フライ	タラ、衣（パン粉、小麦粉、小麦でんぷん、食塩）、増粘剤
冷凍チキンカツ	鶏むね肉、衣[パン粉、バターミックス（小麦粉、食塩）、調味香辛料]/加工澱粉、増粘剤、調味料、pH調整剤

表 2-5 フライ調理条件

フライ食品	油脂	食材	量	調理温度	揚げ調理時間
あられ	精製こめ油	生あられ	100g	200℃	5分
フライドポテト	精製パーム油	冷凍ポテト	200g	180℃	3分
コロッケ	精製パーム油	冷凍コロッケ	80gx2	180℃	4分30秒
魚フライ	精製パーム油	冷凍魚フライ	65gx2	170℃	4分30秒
チキンカツ	精製パーム油	冷凍チキンカツ	68gx2	170℃	5分

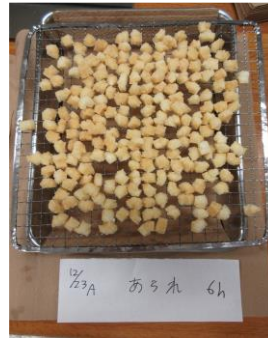
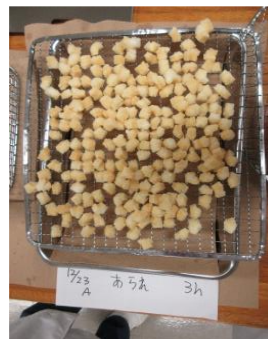
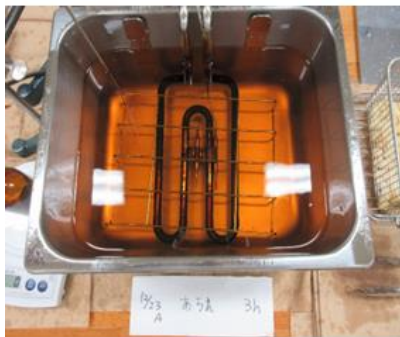
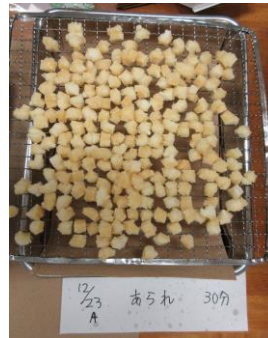


写真2-1 あらの揚げ油（こめ油） 写真2-2 こめ油で揚げたあられ
（上から、未加熱、加熱 30 分後、加熱 3 時間後、加熱 6 時間後）

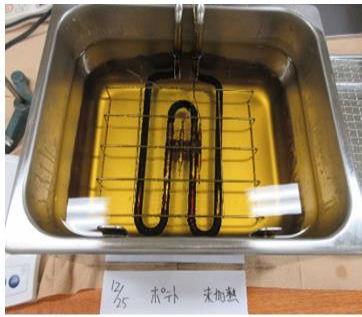


写真2-3 フライドポテトの揚げ油 写真2-4 パーム油で揚げたフライドポテト
(パーム油)

(上から、未加熱、加熱 30 分後、加熱 3 時間後、加熱 6 時間後)

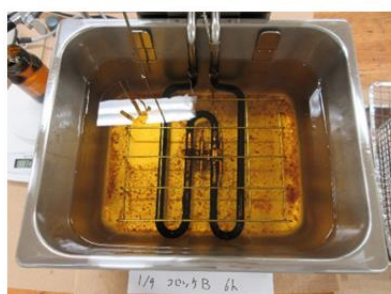
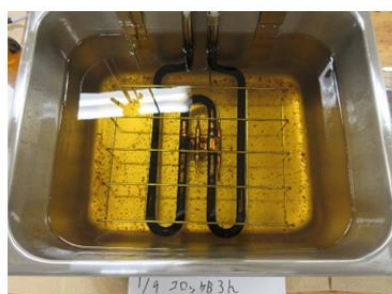
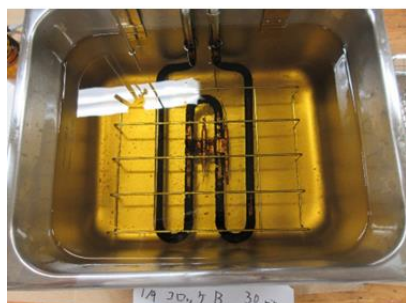


写真2-5 コロッケの揚げ油
(パーム油)

(上から、未加熱、加熱 30 分後、加熱 3 時間後、加熱 6 時間後)

写真2-6 パーム油で揚げたコロッケ

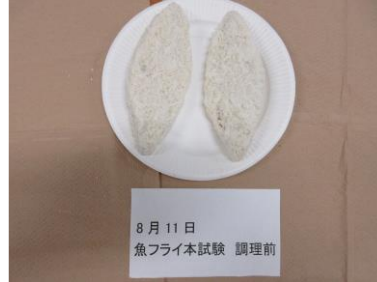


写真2-7 魚フライの揚げ油
(パーム油)

写真2-8 パーム油で揚げた魚フライ

(上から、未加熱、加熱30分後、加熱3時間後、加熱6時間後)

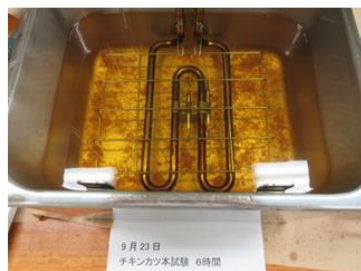
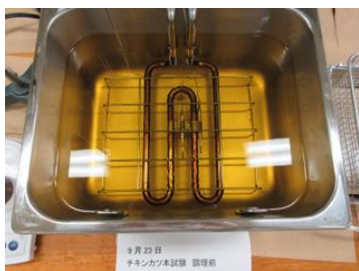


写真2-9 チキンカツの揚げ油
(パーム油)

写真2-10 パーム油で揚げたチキンカツ

(上から、未加熱、加熱30分後、加熱3時間後、加熱6時間後)

表2-6 フライ食品の重量

フライ食品 (g)	加熱前			加熱後		
	30分	3時間	6時間	30分	3時間	6時間
あられ	100±0	100±0	100±0	138±4	138±5	140±4
フライドポテト	200±0	200±0	199±1	155±8	161±6	160±4
コロッケ	81±1	81±2	81±2	81±2	81±2	81±2
魚フライ	64±3	67±3	65±4	67±3	67±3	65±6
チキンカツ	69±2	68±2	68±2	68±2	67±1	66±1

*調理試験3回×測定3回＝測定9回の平均値±標準偏差

表2-7 フライ食品の水分と脂質濃度

フライ食品	油脂の加熱時間 (h)	水分 (%)	脂質 (%)
あられ (こめ油)	0.5	0	41.4±1.0
	3	0	42.1±1.3
	6	0	43.1±1.7
フライドポテト (パーム油)	0.5	60.2±3.6	7.4±2.4
	3	62.3±1.5	6.0±0.7
	6	61.3±0.7	6.5±0.2
コロッケ (パーム油)	0.5	50.4±0.8	14.1±0.4
	3	50.1±0.7	14.7±0.1
	6	50.7±0.6	14.3±0.6
魚フライ (パーム油)	0.5	45.9±1.2	20.8±0.6
	3	46.4±1.6	20.3±1.9
	6	48.5±2.4	18.1±3.1
チキンカツ (パーム油)	0.5	46.9±0.8	20.2±1.2
	3	46.1±1.8	19.0±1.2
	6	47.2±1.1	19.7±1.3

*調理試験3回×測定3回＝測定9回の平均値±標準偏差

表2-8 揚げ油中の3-MCPDE、2-MCPDE、GE濃度

揚げ油	油脂の加熱時間 (h)	3-MCPDE濃度 (3-MCPD当量) (mg/kg)*	2-MCPDE濃度 (2-MCPD当量) (mg/kg)*	GE濃度 (グリシドール当量) (mg/kg)*
あられ (こめ油)	未加熱	0.497±0.012	0.244±0.008	1.694±0.002
	0.5	0.520±0.052	0.253±0.032	1.163±0.507
	3	0.502±0.052	0.241±0.029	0.899±0.264
	6	0.488±0.051	0.225±0.024	0.706±0.093
フライドポテト (パーム油)	未加熱	2.625±0.127	1.544±0.052	0.342±0.010
	0.5	2.667±0.327	1.530±0.049	0.358±0.013
	3	1.686±0.381	1.298±0.077	0.358±0.011
	6	1.312±0.329	1.085±0.052	0.359±0.015
コロッケ (パーム油)	未加熱	2.769±0.149	1.583±0.033	0.364±0.006
	0.5	2.682±0.179	1.551±0.010	0.378±0.002
	3	2.240±0.159	1.426±0.021	0.373±0.004
	6	1.584±0.382	1.182±0.089	0.372±0.009
魚フライ (パーム油)	未加熱	2.749±0.030	1.681±0.015	0.192±0.031
	0.5	2.598±0.072	1.665±0.003	0.196±0.028
	3	2.129±0.077	1.563±0.015	0.199±0.027
	6	1.654±0.131	1.430±0.032	0.200±0.024
チキンカツ (パーム油)	未加熱	2.877±0.123	1.796±0.051	0.219±0.012
	0.5	2.772±0.162	1.730±0.044	0.220±0.018
	3	2.205±0.104	1.662±0.017	0.225±0.011
	6	1.614±0.103	1.470±0.046	0.223±0.018

*調理試験3回×測定3回＝測定9回の平均値±標準偏差

表 2-9 フライ食品中の 3-MCPDE、2-MCPDE、GE 濃度

フライ食品	油脂の加熱時間 (h)	3-MCPDE濃度 (3-MCPD当量) (mg/kg)*	2-MCPDE濃度 (2-MCPD当量) (mg/kg)*	GE濃度 (グリシドール当量) (mg/kg)*
あられ	0.5	0.208±0.026	0.106±0.015	0.483±0.216
	3	0.211±0.031	0.107±0.017	0.390±0.099
	6	0.211±0.019	0.105±0.010	0.332±0.041
フライドポテト	0.5	0.205±0.085	0.104±0.043	0.025±0.011
	3	0.116±0.016	0.077±0.010	0.020±0.003
	6	0.087±0.003	0.069±0.003	0.022±0.001
コロッケ	0.5	0.304±0.005	0.150±0.003	0.043±0.003
	3	0.264±0.010	0.149±0.005	0.044±0.002
	6	0.216±0.011	0.133±0.010	0.042±0.004
魚フライ	0.5	0.557±0.029	0.352±0.023	0.043±0.003
	3	0.436±0.064	0.322±0.046	0.040±0.004
	6	0.313±0.075	0.273±0.070	0.036±0.003
チキンカツ	0.5	0.501±0.048	0.307±0.020	0.034±0.004
	3	0.383±0.034	0.279±0.027	0.032±0.006
	6	0.291±0.046	0.266±0.031	0.034±0.004

*調理試験3回×測定3回＝測定9回の平均値±標準偏差

表 2-10 食品中の濃度から計算したフライ食品中の脂質当たりの 3-MCPDE、2-MCPDE、GE 濃度

フライ食品	油脂の加熱時間 (h)	3-MCPDE濃度 (3-MCPD当量) (mg/kg)*	2-MCPDE濃度 (2-MCPD当量) (mg/kg)*	GE濃度 (グリシドール当量) (mg/kg)*
あられ	0.5	0.501±0.054 (0.520)	0.256±0.033 (0.253)	1.166±0.511 (1.163)
	3	0.503±0.082 (0.502)	0.254±0.044 (0.241)	0.924±0.213 (0.898)
	6	0.491±0.055 (0.488)	0.243±0.028 (0.225)	0.771±0.102 (0.706)
フライドポテト	0.5	2.761±0.061 (2.667)	1.408±0.016 (1.530)	0.340±0.017 (0.356)
	3	1.931±0.007 (1.686)	1.280±0.031 (1.298)	0.335±0.006 (0.358)
	6	1.341±0.040 (1.312)	1.064±0.068 (1.085)	0.336±0.011 (0.359)
コロッケ	0.5	2.153±0.010 (2.682)	1.065±0.028 (1.551)	0.302±0.016 (0.378)
	3	1.804±0.058 (2.240)	1.015±0.030 (1.426)	0.301±0.012 (0.373)
	6	1.512±0.016 (1.584)	0.932±0.027 (1.182)	0.297±0.019 (0.372)
魚フライ	0.5	2.676±0.071 (2.598)	1.691±0.052 (1.665)	0.207±0.021 (0.196)
	3	2.148±0.107 (2.129)	1.588±0.074 (1.563)	0.200±0.023 (0.199)
	6	1.727±0.081 (1.654)	1.499±0.074 (1.430)	0.204±0.031 (0.200)
チキンカツ	0.5	2.480±0.088 (2.722)	1.523±0.039 (1.730)	0.167±0.015 (0.220)
	3	2.018±0.107 (2.205)	1.468±0.041 (1.662)	0.169±0.022 (0.225)
	6	1.472±0.140 (1.614)	1.344±0.057 (1.470)	0.173±0.009 (0.223)

*調理試験3回×測定3回＝測定9回の平均値±標準偏差

() 内の数値は揚げ油中の濃度

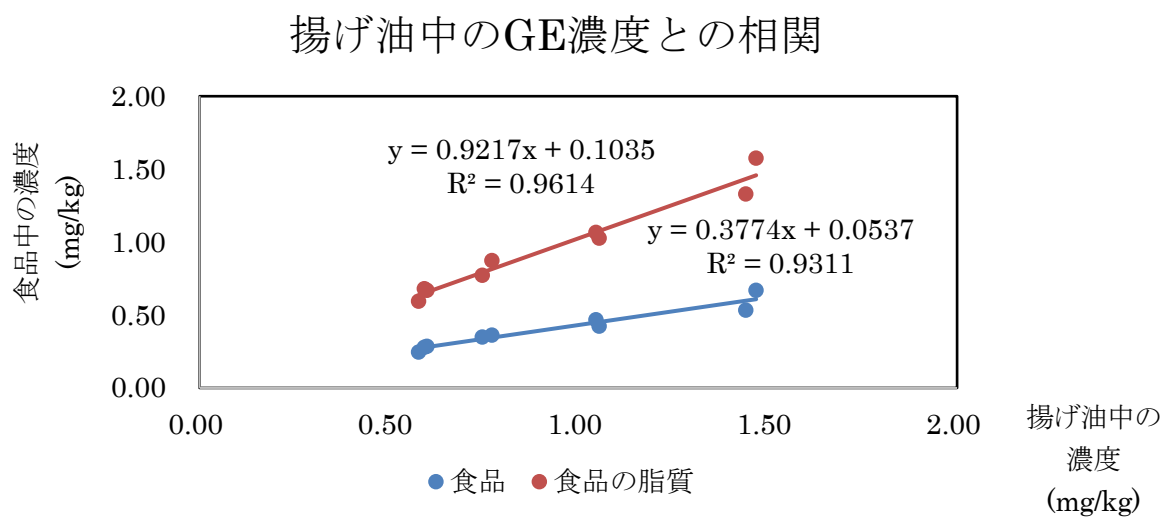
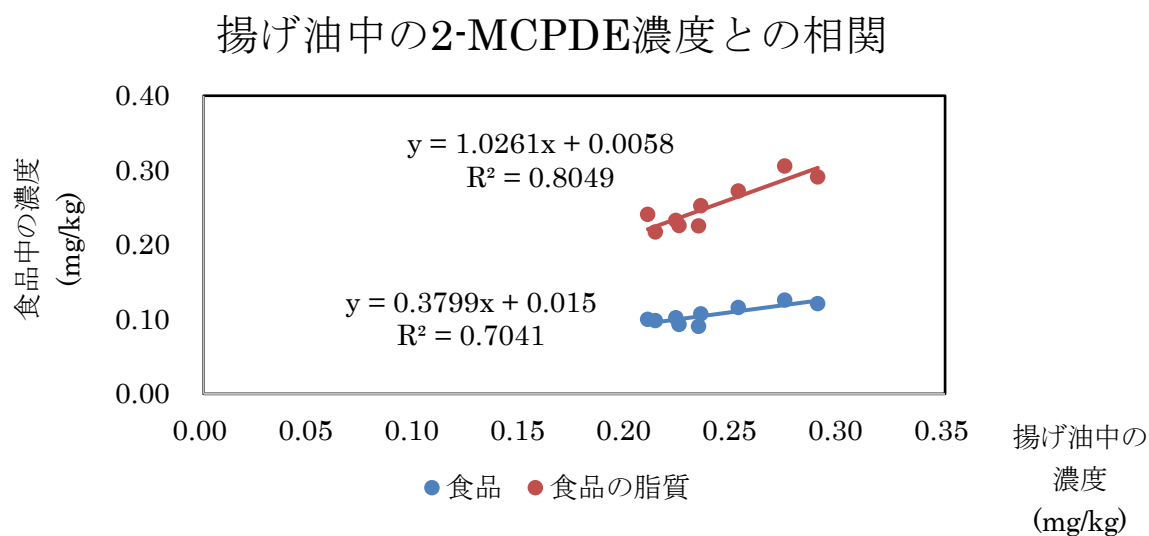
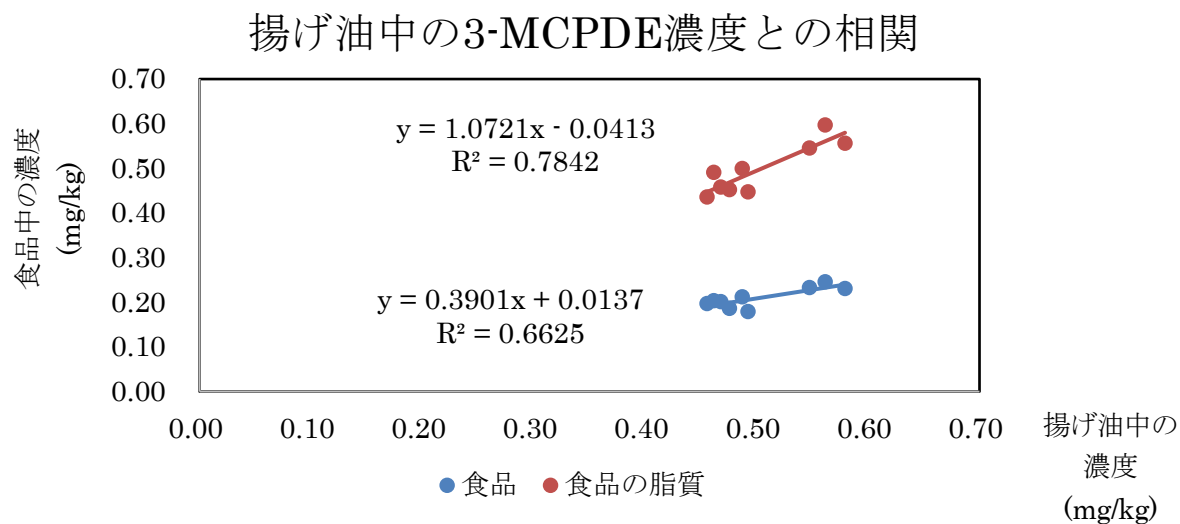
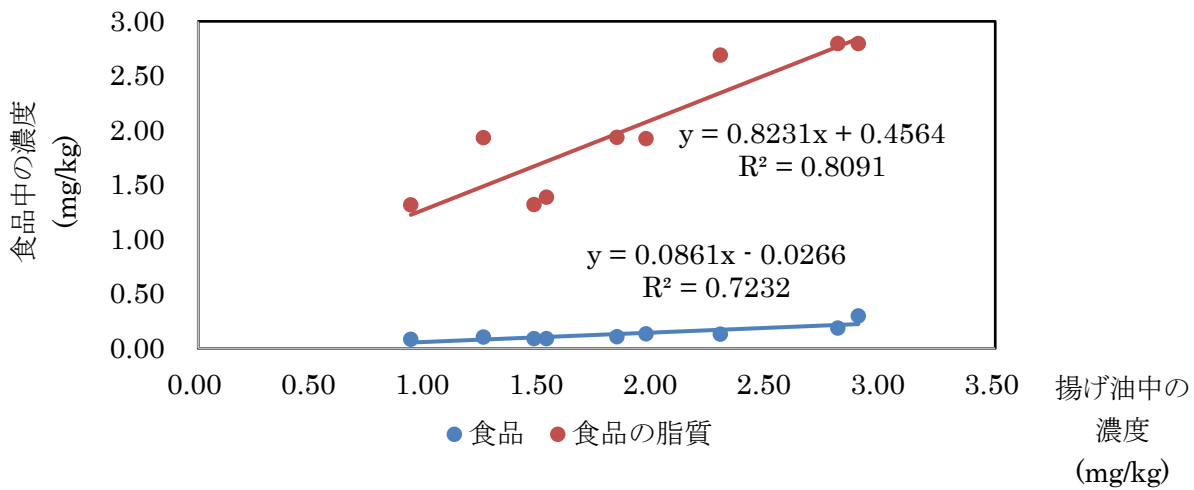
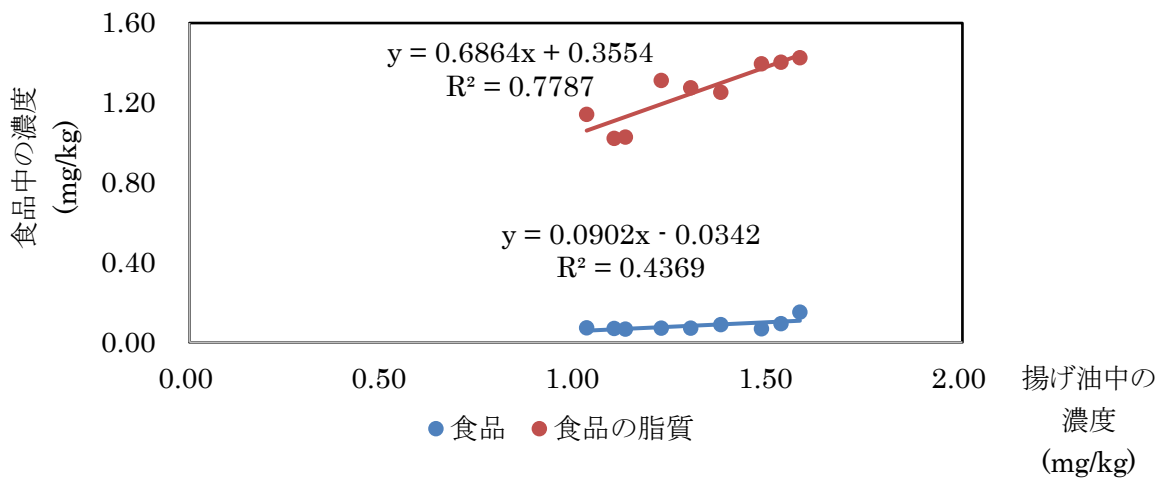


図2-1 あられと揚げ油中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度の相関

揚げ油中の3-MCPDE濃度との相関



揚げ油中の2-MCPDE濃度との相関



揚げ油中のGE濃度との相関

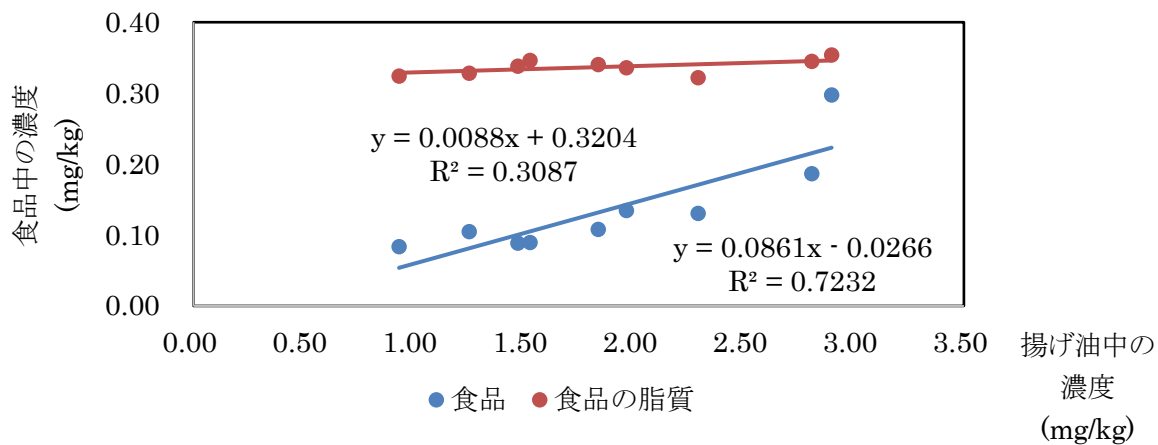
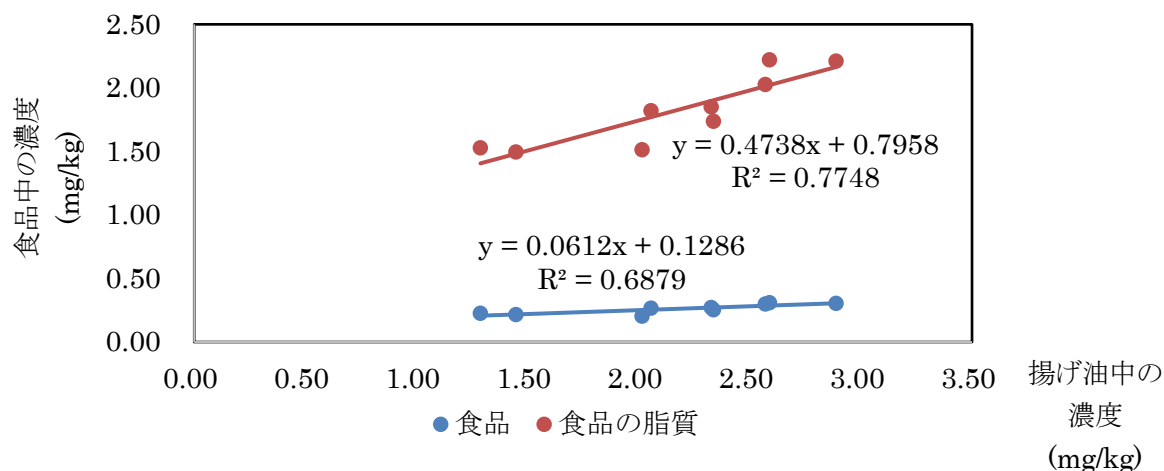
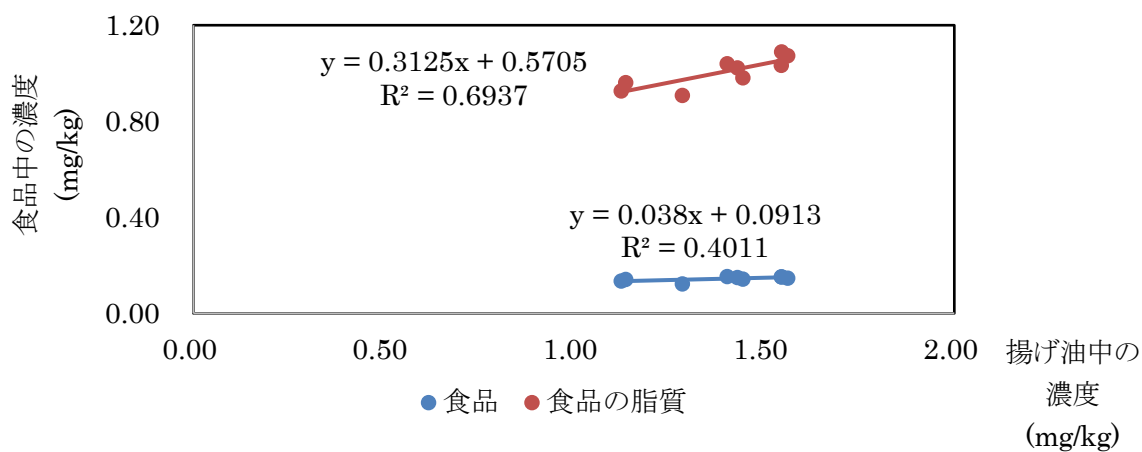


図2-2 フライドポテトと揚げ油中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度の相関

揚げ油中の3-MCPDE濃度との相関



揚げ油中の2-MCPDE濃度との相関



揚げ油中のGE濃度との相関

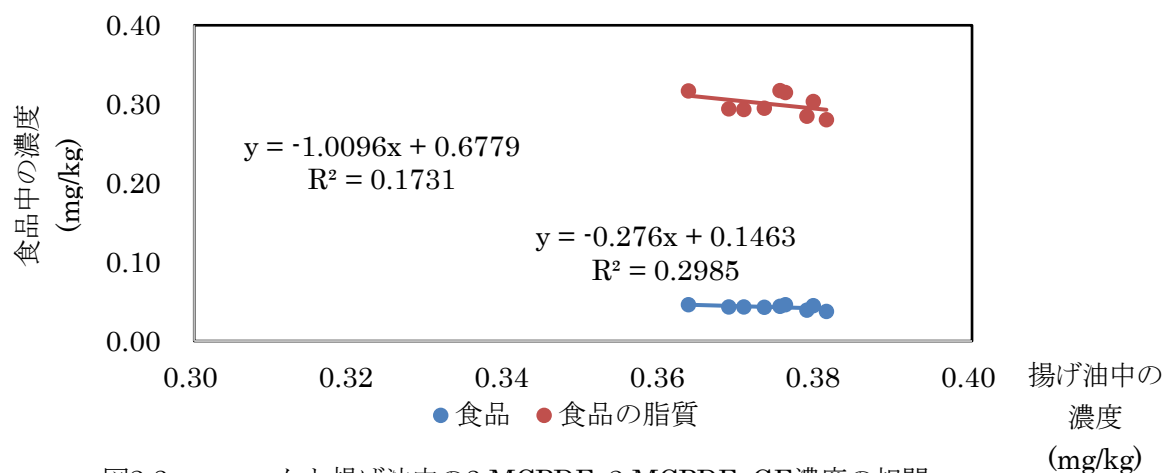
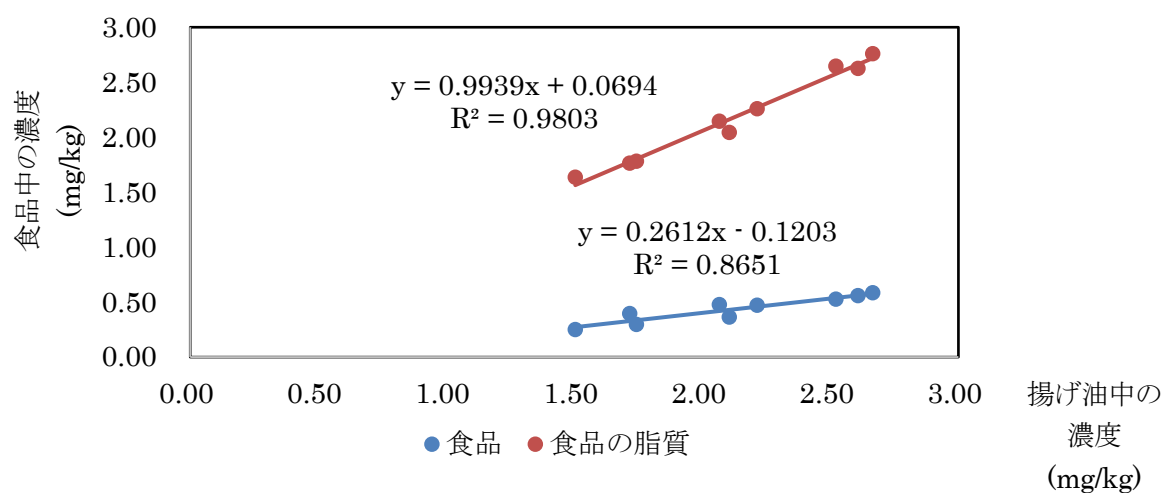
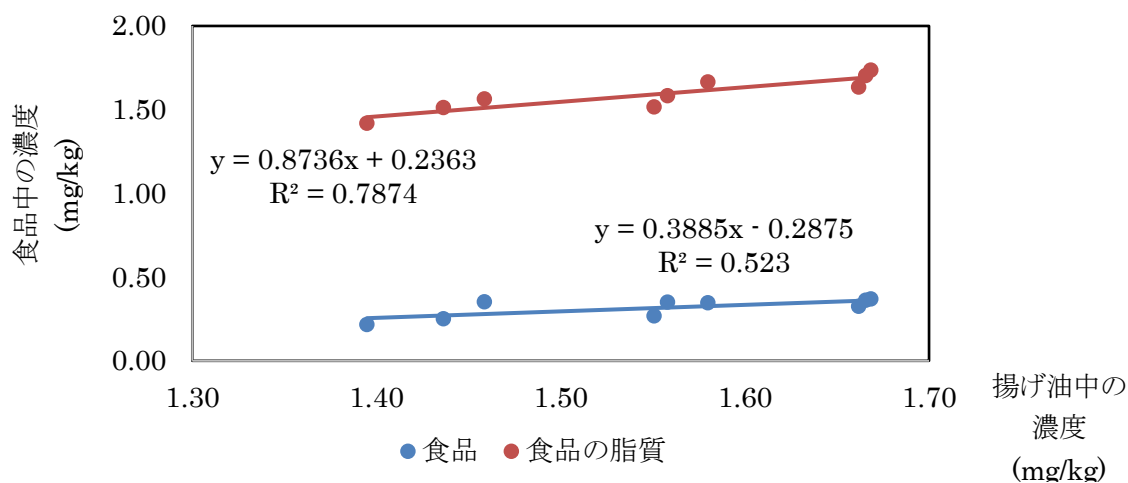


図2-3 コロッケと揚げ油中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度の相関

揚げ油中の3-MCPDE濃度との相関



油脂中の2-MCPDE濃度との相関



揚げ油中のGE濃度との相関

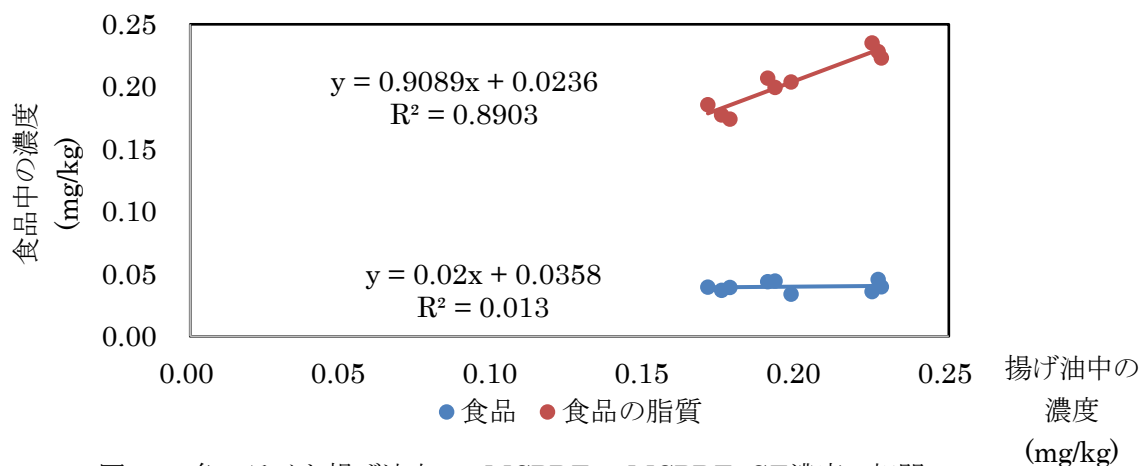
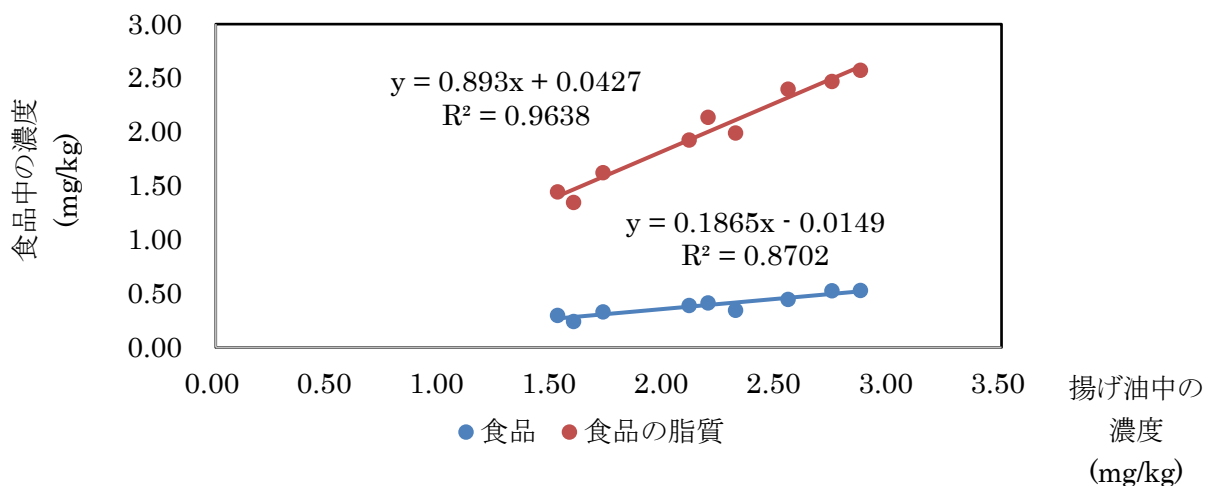
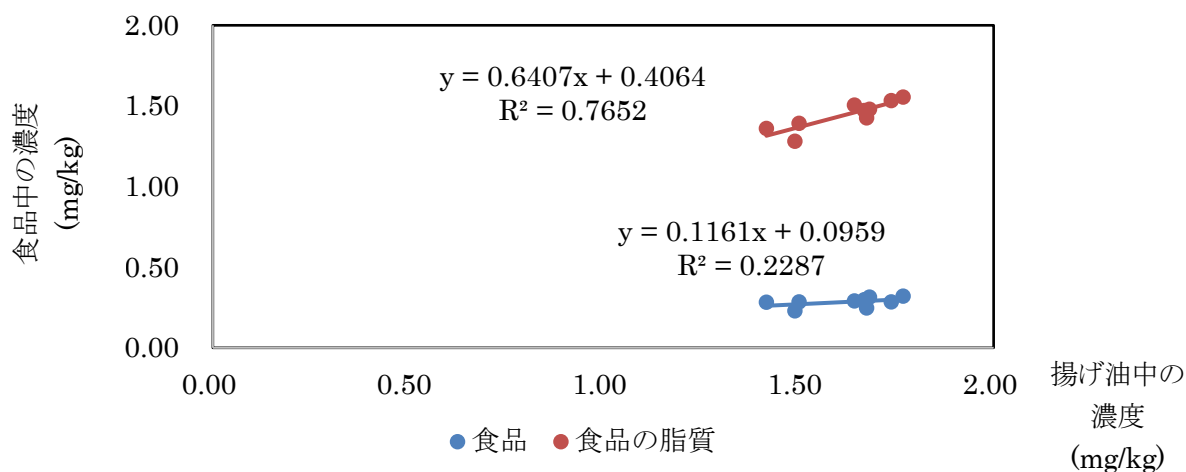


図2-4 魚フライと揚げ油中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度の相関

揚げ油中の3-MCPDE濃度との相関



揚げ油中の2-MCPDE濃度との相関



揚げ油中のGE濃度との相関

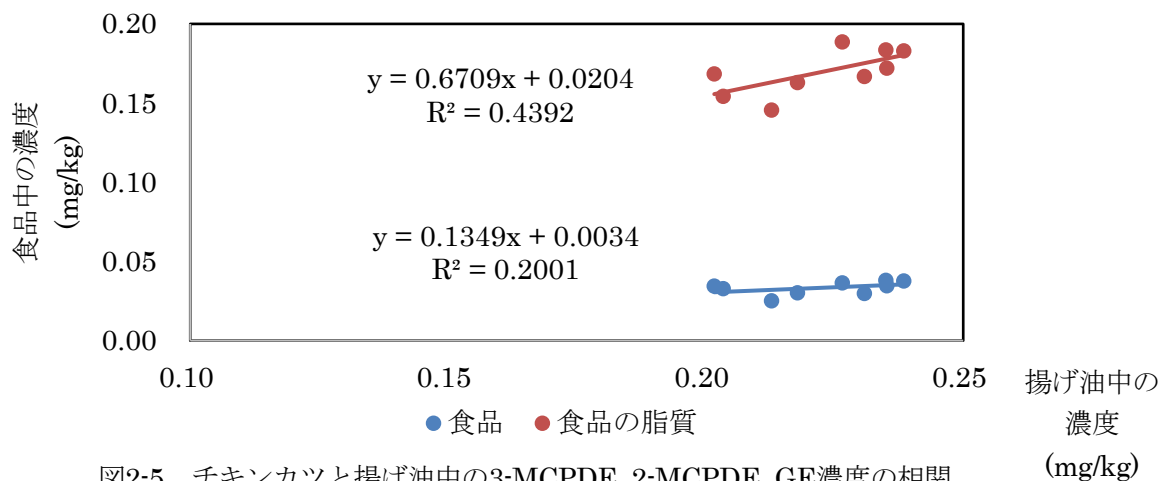


図2-5 チキンカツと揚げ油中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度の相関

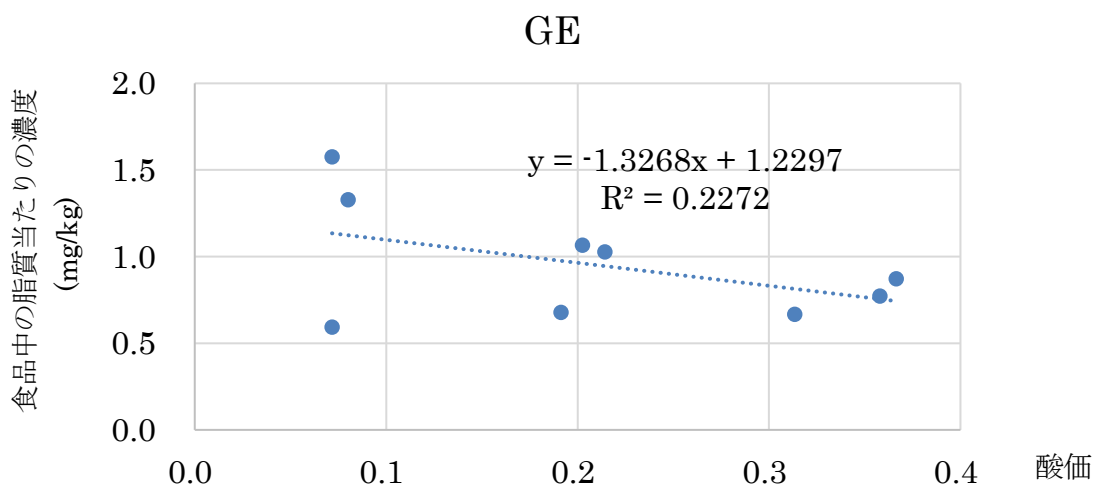
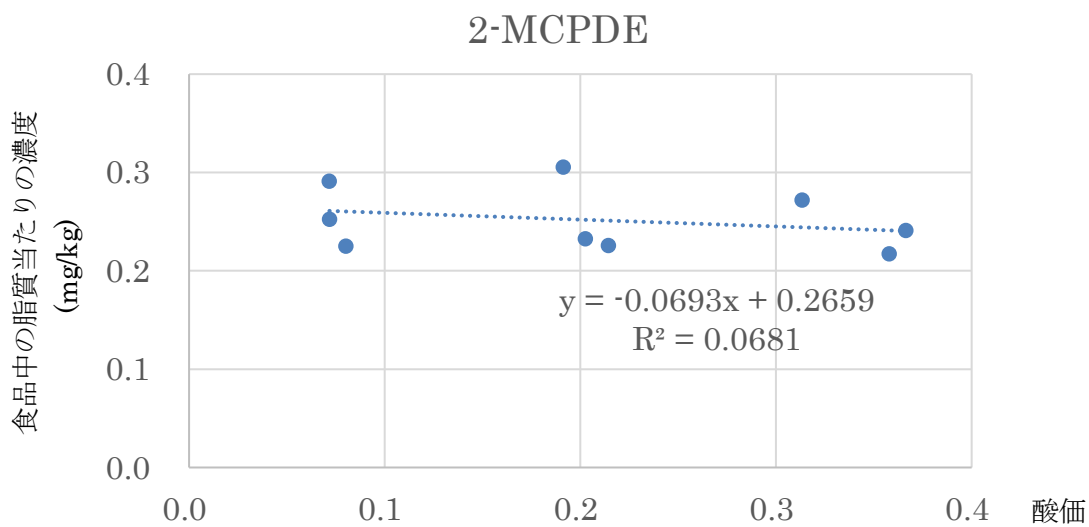
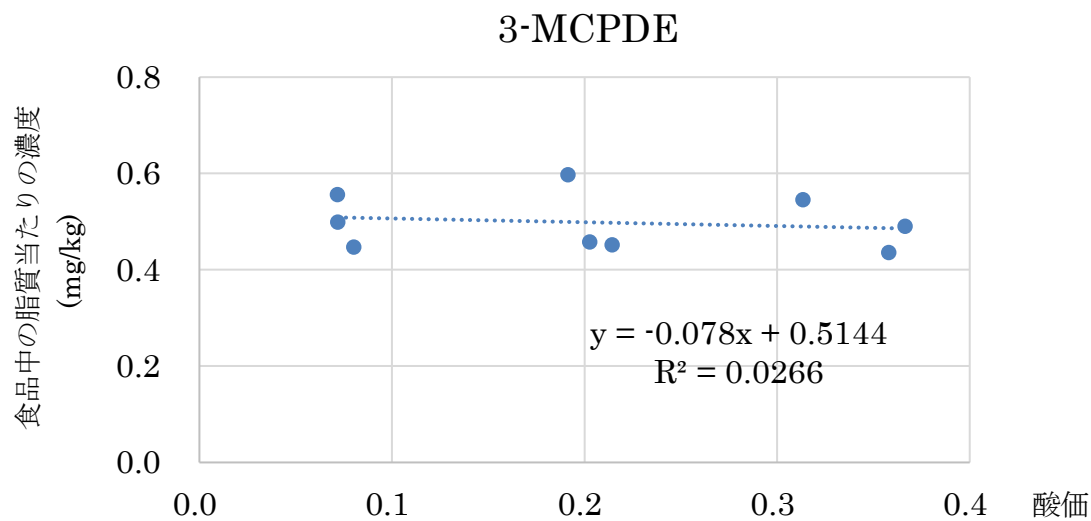
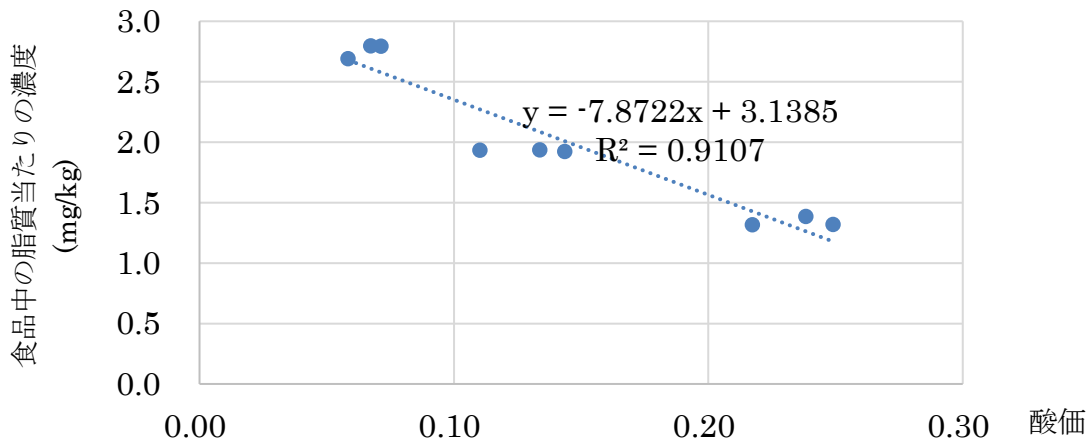
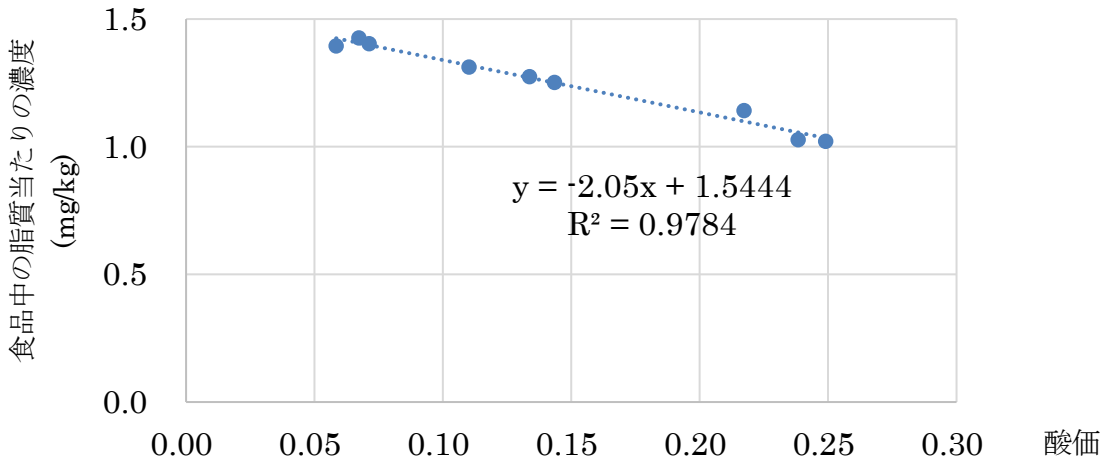


図2-6 あられ中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度と酸価の相関

3-MCPDE



2-MCPDE



GE

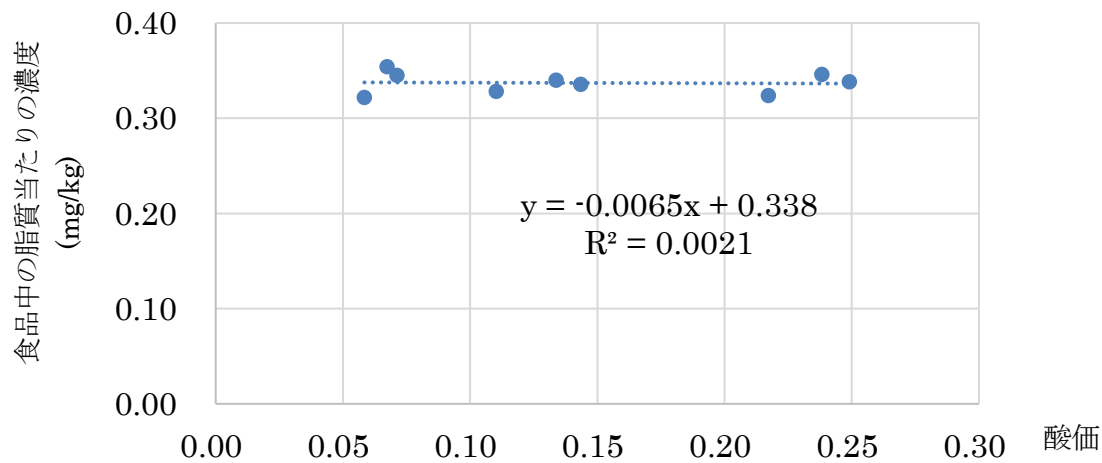


図2-7 フライドポテト中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度と酸価の相関

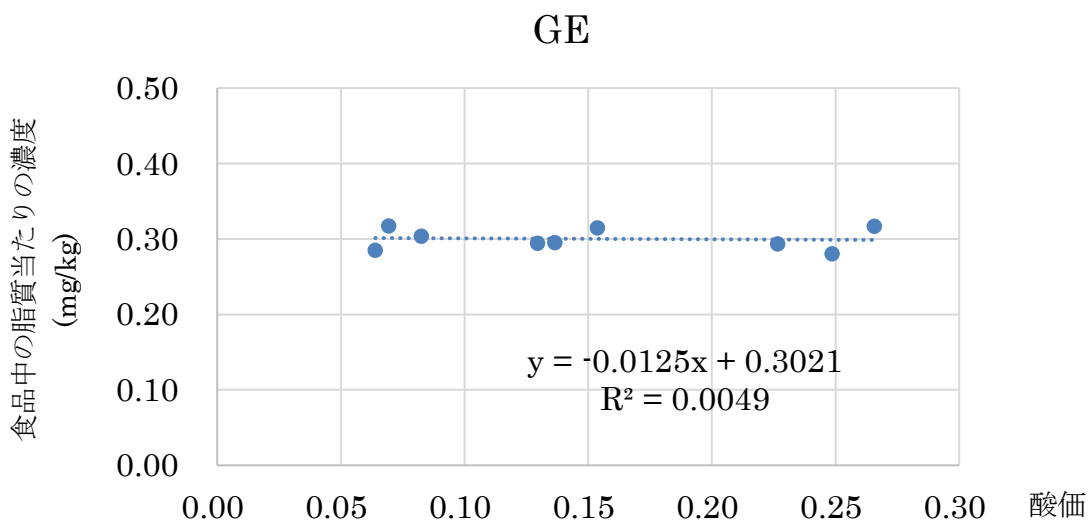
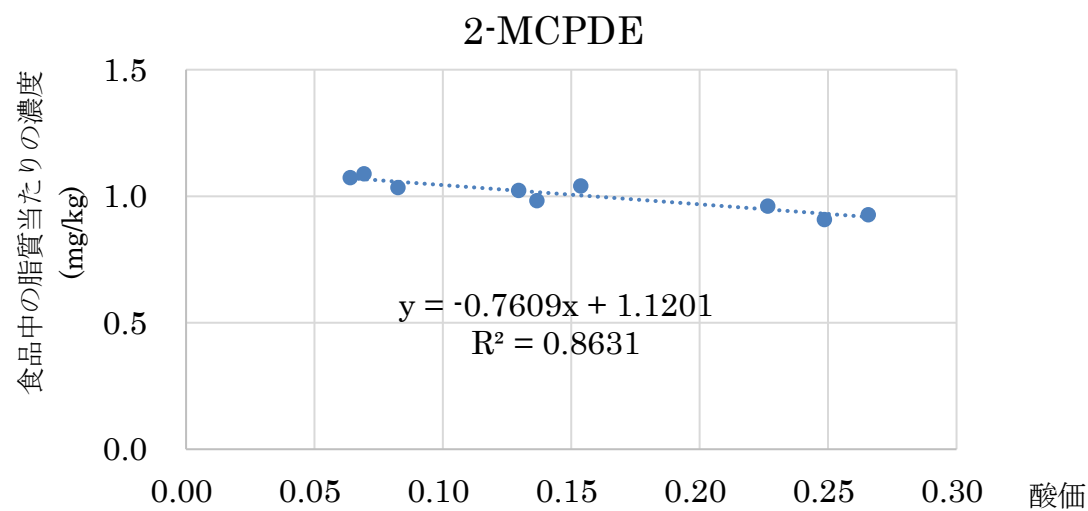
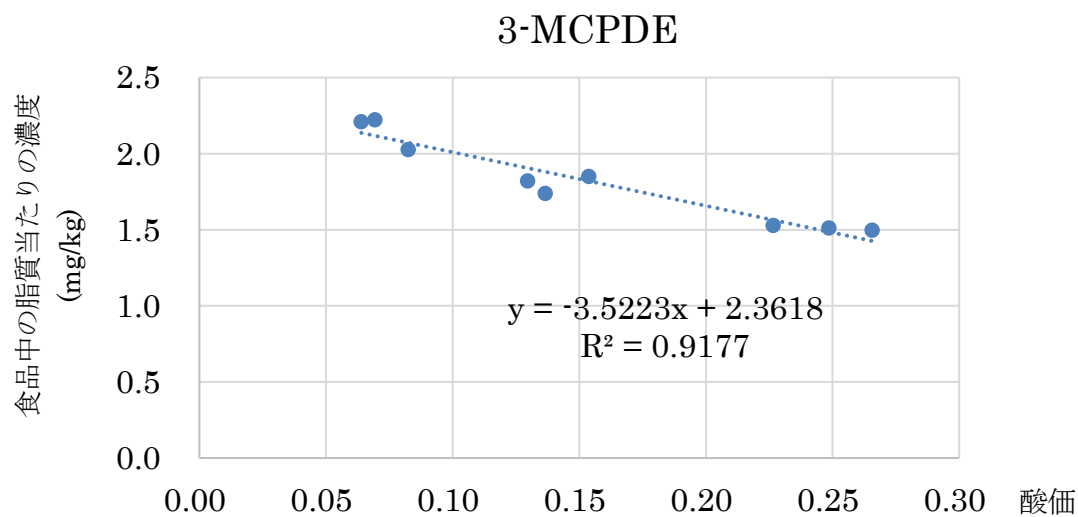
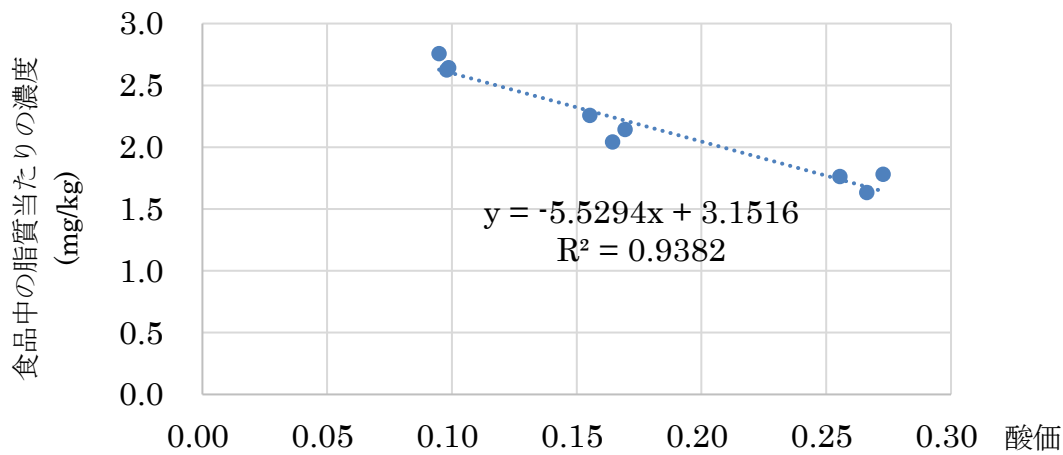
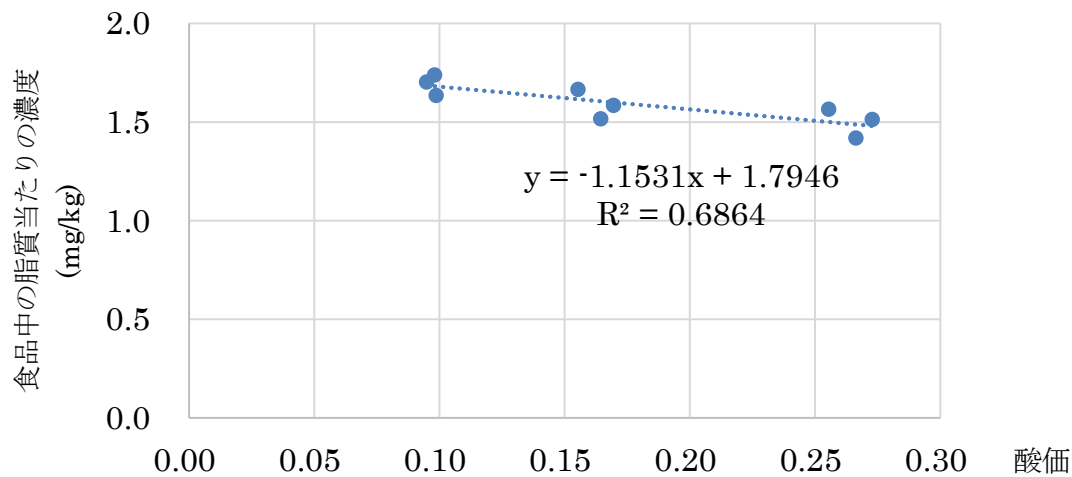


図2-8 コロッケ中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度と酸価の相関

3-MCPDE



2-MCPDE



GE

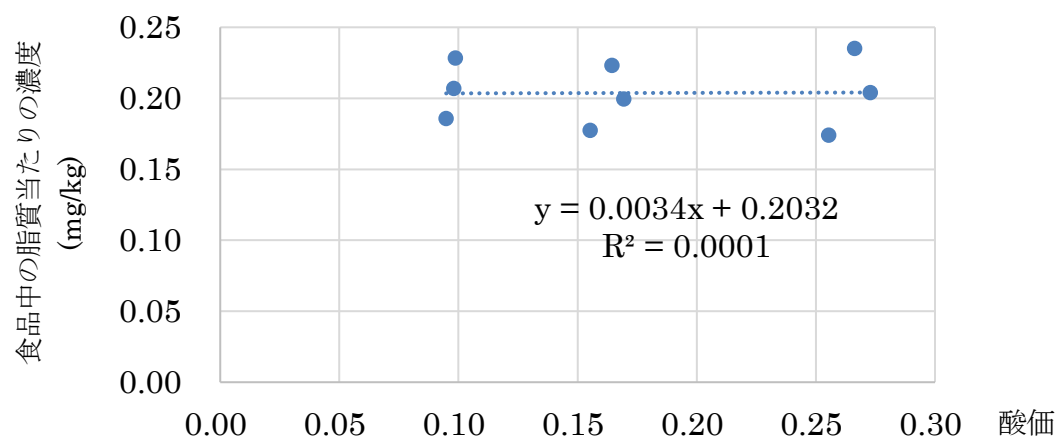


図2-9 魚フライ中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度と酸価の相関

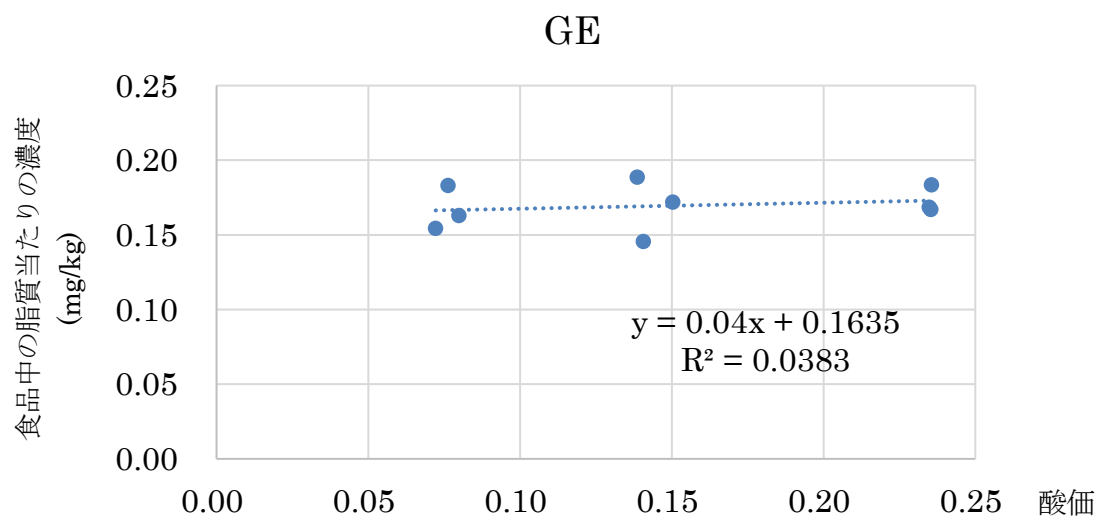
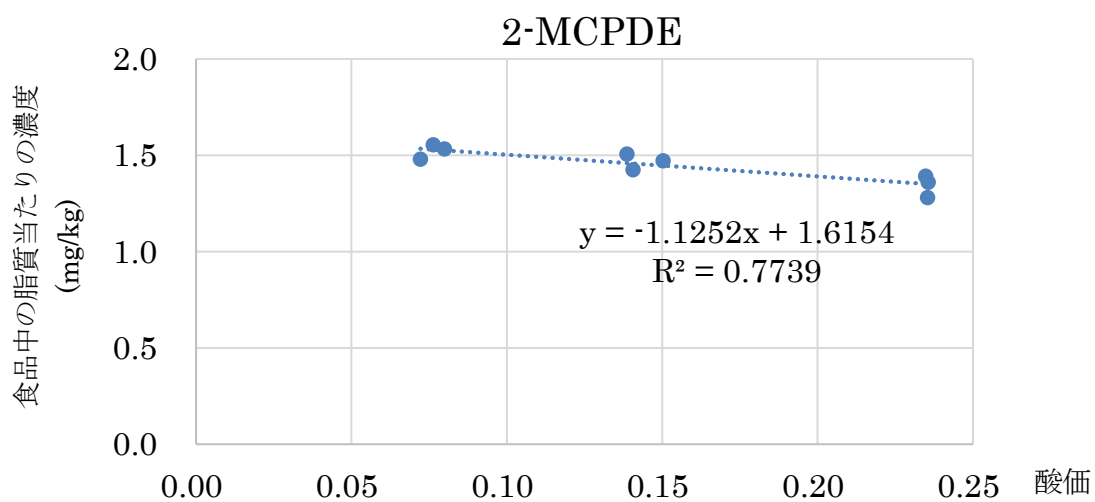
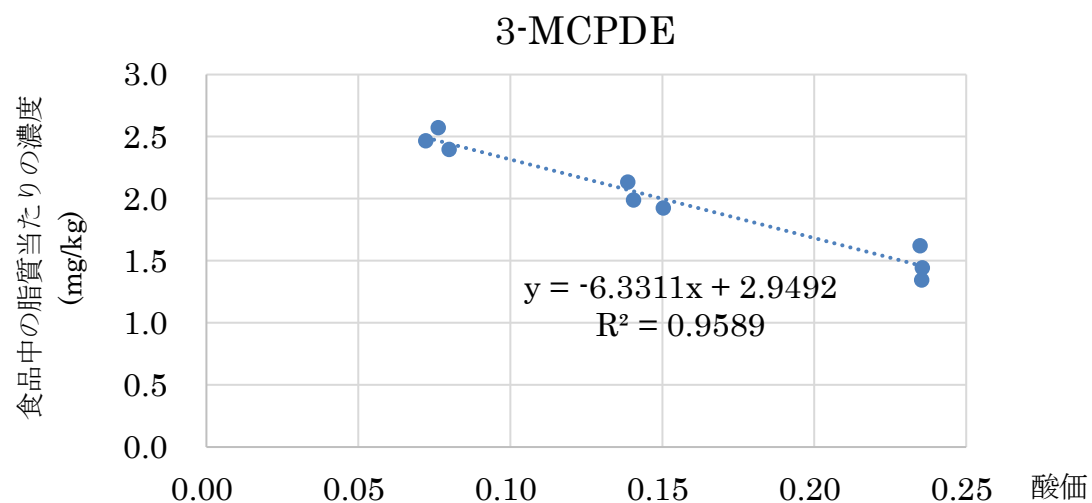


図2-10 チキンカツ中の3-MCPDE, 2-MCPDE, GE濃度と酸価の相関