

杏仁のエタノール水溶液浸漬によるアミグダリンの低減

誌名	日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi = Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology
ISSN	1341027X
著者名	山崎, 慎也 澁澤, 登 栗林, 剛 唐沢, 秀行 大日方, 洋
発行元	日本食品科学工学会
巻/号	59巻10号
掲載ページ	p. 522-527
発行年月	2012年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



杏仁のエタノール水溶液浸漬によるアミグダリンの低減

山崎慎也^{1*}, 澁澤 登², 栗林 剛¹, 唐沢秀行¹, 大日方洋¹

¹長野県工業技術総合センター食品技術部門

²森食品工業株式会社

Reduction of Amygdalin in Apricot Kernels by Immersion in Ethanol Solution

Shinya Yamazaki^{1*}, Noboru Shibusawa², Takeshi Kuribayashi¹,
Hideyuki Karasawa¹ and Hiroshi Ohinata¹

¹Nagano Prefecture General Industrial Technology Center, Food Technology Department,
205-1 Kurita, Nagano, Nagano 380-0921

²Mori Food Industrial Co., 2543 Mori, Chikuma, Nagano 380-0005

Apricot seeds are removed during food processing and discarded as waste. The apricot kernel within an apricot seed contains the cyanogenic glycoside, amygdalin. Since amygdalin generates harmful hydrogen cyanide upon hydrolysis by emulsin, an enzyme found in apricot kernels or β -glucosidase in the human body, it is necessary to remove amygdalin in order to make apricot kernels edible. Thus, we immersed the apricot kernel in ethanol solutions of various concentrations, and examined which concentration reduced amygdalin the most efficiently. As a result, amygdalin was most efficiently reduced in ethanol solution concentrations ranging from 10% to 30%. Moreover, in order to clarify the reduction mechanism of amygdalin in apricot kernels by ethanol solution immersion treatment, we assessed the rate of elution from apricot kernels and the rate of amygdalin hydrolysis in ethanol solutions. As a result, the maximum rates of hydrolysis and elution were observed in the 20% and 50% solutions, respectively. From these results, enzyme degradation and elution of amygdalin from apricot kernels were considered to be important factors in the reduction of amygdalin. Moreover, we established a method for reducing the hydrogen cyanide generated by hydrolysis of amygdalin. (Received Mar. 31, 2012; Accepted Jul. 9, 2012)

Keywords : apricot kernel, amygdalin, ethanol solution, emulsion, hydrogen cyanide

キーワード : 杏仁, アミグダリン, エタノール水溶液, エムルシン, シアン化水素

長野県は国内有数のアンズの産地であり、平成 21 年の統計調査によると全国の約 45% を収穫している¹⁾。特に千曲市森・倉科地区は「あんずの里」と呼ばれる観光名所で、アンズジャムやシロップ漬が名産となっている。しかし、加工の際に取り除かれる核は産業廃棄物処理業者によって有償で処分されており、年間十数トンにも及ぶ廃棄核の処理料は企業にとって大きな負担となっている。

アンズやウメなどのバラ科果実の核の中には「仁」と呼ばれる胚珠があり、アンズのそれは「杏仁(あんにん, きょうにん)」と呼ばれる。杏仁には、苦味がなく食用にされる「甜(てん)杏仁」と、苦味が強く主に薬用に供される「苦杏仁」がある¹⁾。苦杏仁には青酸配糖体のアミグダリンが多量に含まれており²⁾、アミグダリンは杏仁自身が持つ酵素エムルシン、あるいは腸内細菌等が持つ β -グルコシダーゼによって図 1 のように加水分解され、有害なシアン化水素

を生成するため、苦杏仁を多量に摂取すると重篤な症状を引き起こす恐れがある。

日本のアンズの仁はほとんどがアミグダリンを多量に含まれているため¹⁾、廃棄されるアンズの核の仁をそのままでは食用にすることはできない。しかし国産杏仁のアミグダリンの低減方法を確立し、食用可能にできれば、廃棄物の削減のみならず国産の新規な食品原料として地域の農業、商業振興に貢献することができる。

ウメの仁に含まれるアミグダリンの消長に関しては、いくつかの報告がある³⁾⁴⁾。茶珍らは青ウメの種子を様々な水溶液に浸漬し、20 ないし 30% (v/v) のエタノール水溶液でシアン化水素の発生量が急激に増加したと報告している³⁾。田森らは梅漬や梅酒などのウメ加工品についてアミグダリンを分析し、梅酒のウメの仁においてアミグダリンが急速に消失したと報告している⁴⁾。これらの報告はエタノール水溶液への浸漬がアミグダリンの低減に効果的であることを示唆しているが、浸漬液のエタノール濃度や浸漬時間が低減量に与える影響については詳細に検討されてい

¹ 〒380-0921 長野県長野市栗田西番場 205-1

² 〒387-0005 長野県千曲市大字森 2543

* 連絡先 (Corresponding author), yamazaki-shinya-r@pref.nagano.lg.jp

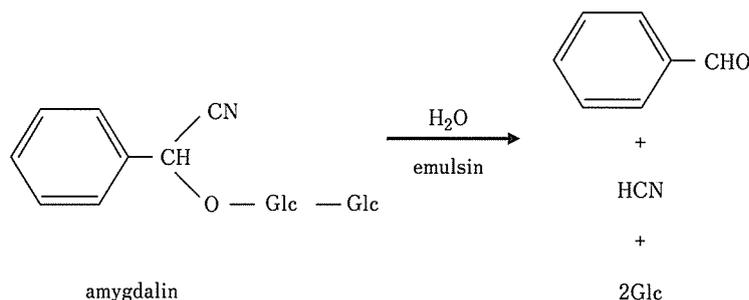


図 1 アミグダリンの構造式および加水分解反応式

Glc, グルコース.

ない。

本研究では、ウメの仁とは大きさも異なる杏仁についてエタノール水溶液浸漬処理によるアミグダリンの低減方法を詳細に検討するとともに、低減機構についても考察を行った。

ウメの仁については、種皮が吸水の妨げになることから種皮を剥離、あるいは破碎して水に晒すことで、アミグダリンを効率的に低減できるという特許もある⁹⁾。しかし杏仁の周りの茶色い薄皮を剥離しないアミグダリン低減方法の方が汎用性に優れるので、薄皮が剥離されていない杏仁について、アミグダリン低減方法を検討した。

またアミグダリンが分解する際に発生するシアン化水素が杏仁中に残留することが想定されるため、残留したシアン化水素の低減方法についても検討し、その条件を確立したので、併せて報告する。

実験方法

1. 試料

試料は長野県千曲市森で収穫されたアンズ‘昭和’の核をハンマーあるいは専用の種割機で割り砕き、破損していない杏仁を選別して用いた。杏仁 1 個あたりの重量は 0.3~0.5g であり、薄皮を剥離しない状態で試験に供した。

2. エタノール水溶液への浸漬処理

(1) アミグダリンの低減に対するエタノール水溶液の濃度の影響

エタノール濃度 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 70, 99.5% (v/v) の各水溶液 100ml に杏仁 30 粒を浸漬し、1~2 日目は 2 粒ずつ 5 回、3 日目は 3, 3, 4 粒の 3 回サンプリングを行い、アミグダリンの定量に供した。

(2) エタノール水溶液によるアミグダリン低減促進機構

i) アミグダリンの分解と浸漬液への溶出

エタノール濃度 0, 20, 50, 70% (v/v) の各水溶液 30ml に杏仁 5 粒を浸漬し、25℃で所定の日数浸漬後、杏仁および浸漬液をサンプリングしてアミグダリンの定量に供した。

ii) 細胞損傷による酵素溶出の可能性の検討

エタノール濃度 0, 20, 50% (v/v) の各水溶液 30ml に杏仁 5 粒を 1 日もしくは 2 日浸漬した液から共栓付き試験

表 1 アミグダリン定量分析の HPLC 条件

カラム	InertSustain C-18 (5 μm 4.6×250 mm)
溶離液	H ₂ O:CH ₃ CN:0.2 M H ₃ P ₂ O ₅ Buffer(pH 4.0)=79:16:5
カラム温度	30℃
流速	1.0 ml/min
検出波長	210 nm
サンプル量	10 μl

管に 10 ml 分取して栓をし、分取液を 25℃でさらに保持して 0 日, 1 日, 2 日経過後にその浸漬液に残存するアミグダリンを定量した。

3. シアン化水素の低減処理

杏仁を 10 倍量の 20% (v/v) エタノール水溶液に浸漬し、35℃および 25℃に 2 日間保った後、杏仁を取り出し付着した浸漬液を蒸留水で洗浄後、10 倍量の蒸留水に浸漬し、25℃もしくは 35℃で 1 日浸漬した後、再度 10 倍量の蒸留水へ交換し 1 日浸漬した。浸漬後杏仁を取り出し、送風低温恒温器(ヤマト科学(株)製)で 40℃, 16 時間送風乾燥を行った。各浸漬処理段階における杏仁中および溶液中のシアン化水素含量を測定した。

4. 定量方法

(1) アミグダリン

浸漬した杏仁を実験方法の 2 にある個数(吸水状態で 1 粒 0.7~0.8 g) サンプリングし、ホモジナイザーを用いてメタノール 30 ml で抽出した。抽出液は遠心分離して、上澄みを採取し、50 ml に定容して試験液とした。浸漬液について分析する場合は、浸漬液 5 ml を採取し、直接メタノールで 25 ml に定容して試験液とした。定量分析はアミグダリン(シグマ・アルドリッチ製、純度 99%) を標準品とし、寺田らの方法⁹⁾ に従い高速液体クロマトグラフィー(HPLC)(Waters 1525 (LC 本体) 2707 (オートサンプラー) 2998 (フォトダイオードアレイ)) により、表 1 の条件で行った。

(2) シアン化水素

20% (v/v) エタノール水溶液あるいは蒸留水へ浸漬した杏仁を 5 g ずつ 3 回サンプリングし、それぞれホモジナイザーを用いて 0.5 M 水酸化ナトリウム水溶液 50 ml で抽出した。抽出液を丸底フラスコに移し、蒸留水 200 ml を

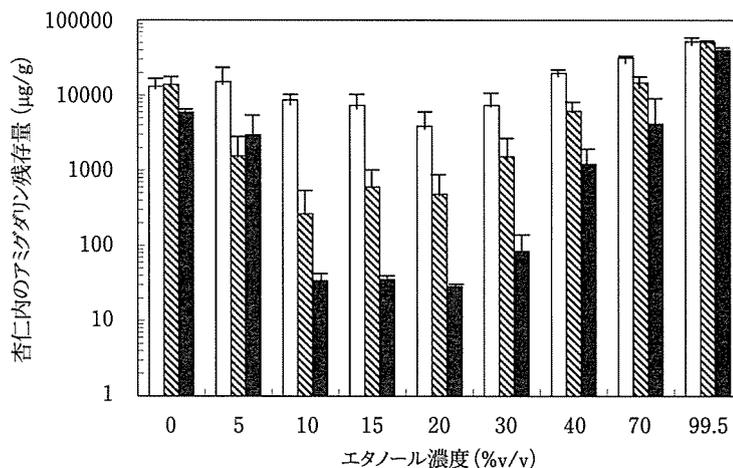


図2 アミグダリンの低減に対する水溶液のエタノール濃度の影響

エラーバーは標準偏差 ($n=5$, 3日目のみ $n=3$).

□, 1日目; ▨, 2日目; ■, 3日目.

加え, JISに定められた全シアン化物定量法⁷⁾に従って水蒸気蒸留を行い, 試験液を調製した. 浸漬溶液については, 5mlを採取して0.1M水酸化ナトリウム水溶液で50mlに定容し, 試験液とした. 定量はJISに定められたピリジン・ピラゾロン法⁷⁾に従い, シアン化カリウム(和光純薬工業製, 試薬特級)を標準品として行った. 吸光度は試験液を適宜希釈して分光光度計(U-1900, 日立ハイテクノロジーズ(株)製)により測定した.

実験結果および考察

1. アミグダリンの低減に対するエタノール水溶液の濃度の影響

天然のシアン化合物を含有する食品のシアン含量については, 明確な基準がないのが現状である. 検疫所におけるシアン含有食品の輸入検査基準⁸⁾では「シアン化合物 10 ppm以下」と定められている. 現在用いられる多くのシアン分析方法においてシアン化合物の量はシアン化水素として測定されるため, シアン化水素の含有量が10 µg/g以下であれば, 杏仁を食品として用いることができると考えられる. ここでアミグダリンとしての低減の目標値は, 分子量から換算して169 µg/gとした.

異なる濃度のエタノール水溶液で杏仁を浸漬処理したときの, 杏仁中アミグダリン濃度の低減効果を調べた結果を図2に示した. 浸漬3日目の数値を見ると, エタノール濃度10~30% (v/v)でアミグダリン残存量は30 µg/g前後と極小になり, エタノール濃度がその範囲より増加または減少するに従ってアミグダリンの残存量は増えていた. エタノール濃度99.5% (v/v)ではアミグダリンの量は3日間でほとんど変化しなかった. エタノール99.5% (v/v)の浸漬液に溶出したアミグダリン量を分析したところ, 1日目で10 ppm, 2日目で19 ppmしか溶出していなかった.

また濃度99.5% (v/v)のエタノール中では酵素が完全に不活性化されるため, アミグダリンは分解もされなかったと考えられる.

この結果から, 杏仁中のアミグダリンは10~30% (v/v)のエタノール水溶液で最も低減されやすいことが明らかとなり, 3日間の浸漬で目標値以下まで低減できた. この結果はウメの仁におけるエタノール水溶液への浸漬処理の結果と一致した³⁾.

2. エタノール水溶液によるアミグダリン低減促進機構

(1) アミグダリンの分解と浸漬液への溶出

エタノール水溶液浸漬処理によって杏仁中のアミグダリンが低減する機構として, 杏仁自身をもつ酵素エムルシンによる加水分解と, 杏仁を浸漬した水溶液への溶出によるものが考えられる. そこで溶出量と残存量は浸漬溶液および杏仁のアミグダリンを分析することで, アミグダリンの低減における上記の2つの機構の寄与について検討した.

アミグダリンの分解量は, 浸漬処理前の杏仁のアミグダリン含量と溶出量, 残存量を用いて, 下記の式より算出した.

$$\text{アミグダリン分解量 (mg)} = A_i \times m_i - A_r \times m_a - A_s \times v$$

ここで A_i : 浸漬前杏仁のアミグダリン濃度 (mg/g), m_i : 浸漬前の杏仁重量 (g), A_r : 浸漬後の杏仁に残存するアミグダリン濃度 (mg/g), m_a : 浸漬後の杏仁重量 (g), A_s : エタノール水溶液中のアミグダリン濃度 (mg/ml), v : 浸漬液量 (ml) である.

各濃度のエタノール水溶液に浸漬した杏仁のアミグダリンの残存量, 溶出量, 上式より計算した分解量の割合を図3に示した. なお分解量の割合は, 実際に分析した数値をもとに $A_i = 44$ として計算した. いずれのエタノール濃度においても, 概ね1日目より2日目の方が残存量の割合は減り, 分解量の割合が増える傾向にあった. 溶出量の割合は,

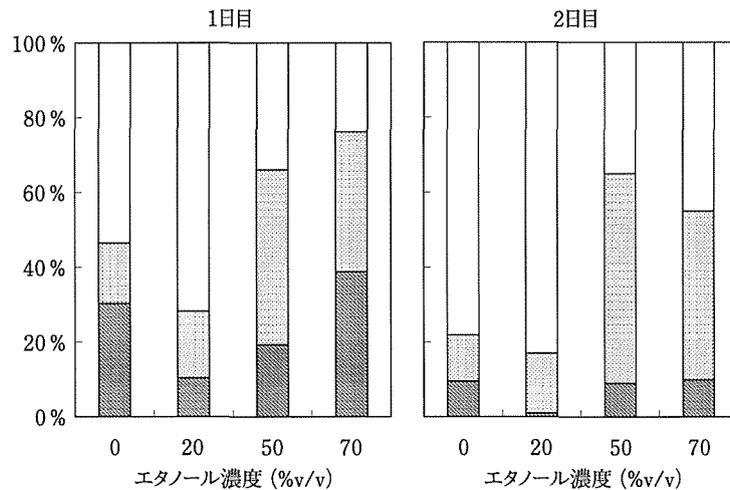


図3 杏仁のエタノール水溶液浸漬処理によって分解・溶出・残存したアミグダリンの割合と溶液濃度の関係
 □, 分解; ▨, 溶出; ■, 残存.
 縦軸は元の杏仁のアミグダリンに対する、分解、溶出、残存したアミグダリンの割合 ($n=3$ の平均)。

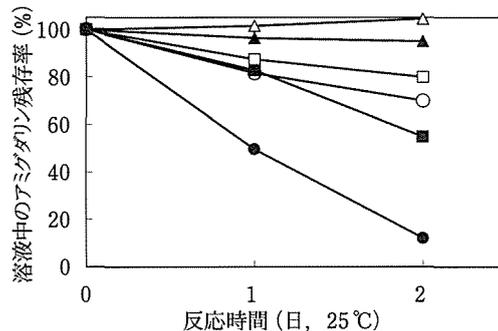


図4 杏仁を浸漬した水およびエタノール水溶液におけるアミグダリンの分解

○, EtOH 0% (1日目); □, EtOH 20% (1日目); △, EtOH 50% (1日目); ●, EtOH 0% (2日目); ■, EtOH 20% (2日目); ▲, EtOH 50% (2日目)。

杏仁を水、および20%、50%のエタノール水溶液に1日あるいは2日間浸漬処理して得られた浸漬液を分取し、25℃に保持して溶液中のアミグダリン濃度の変化を調べた。横軸は分取後の反応時間、縦軸は分取後0日目(分取直後)のアミグダリン量を100%とした場合の残存率(%)を表す。

エタノール濃度50、70% (v/v) においては増加していた。

最も残存量の割合が少ないのはエタノール濃度20% (v/v) で、分解量、溶出量の割合ともに0% (v/v) のものより大きかった。最も溶出量の割合が多かったのは50% (v/v) で、2日目においては溶出量の割合が多いために70% (v/v) よりも分解の割合が少なかった。

今回の設定条件下においては、アミグダリンの低減における酵素分解の割合はエタノール濃度20% (v/v) で最大となり、50ないし70% (v/v) で最小となった。また溶出の割合はエタノール濃度50% (v/v) で最大となり、0% (v/v) で最小となった。

(2) 細胞損傷による酵素溶出の可能性の検討

茶珍らは新鮮状態のウメの仁を凍結することでシアン化水素の発生量が著しく増大し、その要因は凍結による細胞破壊が起こったことによると推測している³⁾。もしもエタ

ノール水溶液によるアミグダリン低減機構がエタノールによる杏仁の細胞の損傷によるものであれば、杏仁に含まれる酵素エムルシンが浸漬液に溶出し、同時に溶出したアミグダリンは酵素による分解を受け、速やかに減少していくことが予想される。杏仁を浸漬した溶液の一部を杏仁と分離し、その分取液中のアミグダリンが経時的に減少していれば、浸漬液に酵素が溶出しているということが言える。

分取した時点のアミグダリン量を100%とした場合の、その後の消長を図4に示す。エタノール濃度50% (v/v) においてアミグダリン量はほとんど変化しなかったが、エタノール濃度0、20% (v/v) の溶液に溶出したアミグダリンは、経時的に減少していた。またいずれのエタノール濃度においても長時間浸漬されることでより多くの酵素が溶出したためか、1日杏仁を浸漬した液より2日間浸漬した液のほうが、速やかにアミグダリンが減少していた。

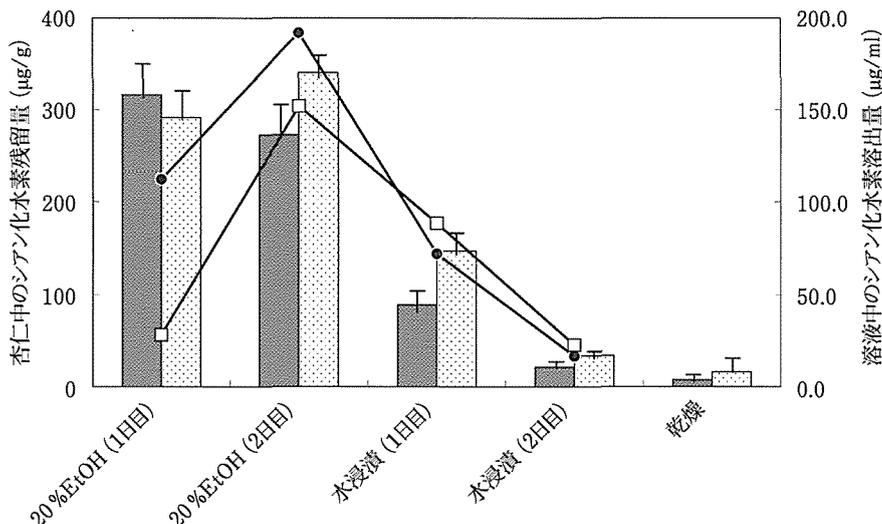


図5 漬け替え処理による杏仁中のシアン化水素の低減と浸漬溶液へのシアン化水素の溶出

■, 35°C (杏仁); □, 25°C (杏仁); ●, 35°C (溶液); □, 25°C (溶液).

杏仁は35°Cと25°Cで20%エタノール水溶液に2日間浸漬処理した後、さらに蒸留水に漬け替え2日間浸漬し、その後40°Cの送風低温高温器で乾燥した。縦軸は各処理工程で測定した杏仁中のシアン化水素含量、横軸は各処理工程を示す。エラーバーは標準偏差 ($n=3$)。

しかし杏仁の浸漬実験ではアミグダリンの低減が確認されたエタノール濃度50% (v/v) において、浸漬1日目の浸漬液ではアミグダリンがまったく減少しなかったことや、エタノール濃度0% (v/v) においてもアミグダリンの減少、すなわち酵素の溶出が見られたことから、エタノール水溶液によるアミグダリン低減機構は次のように推測される。

Birger らによれば、アーモンドに含まれる青酸配糖体プルナシンは甘種と苦種で生合成能力自体に差はなく、その違いは β -グルコシダーゼの局在によってプルナシンが分解されやすいか否かによるという⁹⁾。そのことから通常アミグダリンと分解酵素エムルシンは苦種の杏仁において局在しており、移動が不自由であるため、接触する機会が極めて少ないと考えられる。しかし杏仁が水溶液に浸漬されると、アミグダリンは溶解し細胞壁を越えて移動できるようになるため、エムルシンとの接触機会が高くなる。今回の実験結果で最もアミグダリンの溶出力が強かったエタノール水溶液は50% (v/v) のものだったが、エムルシンの酵素活性はエタノール濃度の増加によって低下することが報告されている¹⁰⁾。20%エタノール水溶液ではエムルシンによる加水分解効果が高くなり、50%エタノール水溶液ではエムルシンによる効果は低下するが、アミグダリンの溶出効果が高くなった。そのため酵素分解と溶出力のバランスにより、20% (v/v) 付近の濃度のエタノール水溶液で最もアミグダリンの低減が促進されたと考えられる。

3. シアン化水素の低減処理

前述のシアン化合物含有食品の輸入検査基準⁸⁾より、シアン化水素としての含有量10 μ g/g以下を目標値とした。

前項の実験結果では、アミグダリンの低減効果は明らかになったものの規制対象となるシアン化水素の量が不明であることから、浸漬処理におけるシアン化水素の消長について検討を行った。

35°C、20% (v/v) エタノール水溶液への浸漬処理で杏仁中のシアン化水素は300 μ g/g以上残存していた(図5)。これはアミグダリンの分解によって発生したシアン化水素がほとんど杏仁あるいは浸漬液に残留していることを示している。2日目にはシアン化水素量が40 μ g/g程度減少していたが、これは発生したシアン化水素がさらに浸漬液に溶出したためと考えられる。そこで次にエタノール水溶液に浸漬した杏仁を取り出し蒸留水に浸漬したところ、1日でシアン化水素量は90 μ g/g程度にまで減少した。これは水に溶けやすいシアン化水素が、浸漬液の蒸留水に溶出したためと考えられる。更にもう1日浸漬することで、20 μ g/g程度までシアン化水素は減少した。この杏仁を乾燥したところ水分の蒸発によってシアン化水素が濃縮されると予想されたが、逆に7 μ g/gまで減少していた。これは水分の蒸発と共にシアン化水素が蒸発したためと推測される。なお全体的に35°Cで浸漬した方が、25°Cの場合よりもシアン化水素が多く減少していた。その理由としては、図5にあるように温度が高い方がより溶媒へのシアン化水素の溶出量が増えるため、減少が早まったと考えられる。

要 約

(1) 杏仁をエタノール濃度0~99.5% (v/v) の水溶液に1~3日間、25°Cで浸漬し、アミグダリン量の変化を調べた結果、エタノール濃度10~30% (v/v) の範囲の水溶液に

浸漬した杏仁において、特にアミグダリンの低減促進効果が高かった。

(2) 0, 20, 50% (v/v) のエタノール水溶液に杏仁を浸漬し、アミグダリンの低減における酵素分解と浸漬液への溶出の割合について調べた結果、分解量は20% (v/v)、溶出量は50% (v/v) で特に高い数値を示した。

(3) 細胞損傷による酵素溶出がエタノール水溶液による低減の要因である可能性について検討し、エタノール濃度0% (v/v) においてもアミグダリンの減少が見られたことなどから、細胞損傷はエタノール水溶液によるアミグダリン低減機構の直接的な要因ではないと考えられた。

(4) 以上の結果から、エタノール水溶液によるアミグダリン低減促進効果の要因の一つとして、杏仁からのアミグダリンの溶出力とエタノール水溶液中での酵素活性のバランスにより、10~30% (v/v) のエタノール濃度で特に高くなったという機構を推察した。

(5) 杏仁を20% (v/v) エタノール水溶液に35℃で2日間浸漬することによってアミグダリン濃度を低減した後、蒸留水に交換してさらに35℃で2日間浸漬し、その後40℃で16時間送風乾燥を行うことで、最終的にシアン化水素残存量を7µg/gまで低減することができた。

本研究の一部は、第58回日本食品科学工学会大会において発表した。

本研究を行うにあたり、試料調達に多大なご助力を頂いた森食品工業㈱の関係者の皆様に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 吉田雅夫, アンズ>基礎・基本技術編, 「農業技術大系 果樹編 第6巻」, 第1版, 農山漁村文化協会編, (農山漁村文化協会, 東京), pp.17-19 (1984).
- 2) 梶原直子, 富山智恵子, 二宮隆博, 細貝祐太郎, 高速液体クロマトグラフィーによる杏仁中のアミグダリンの測定とその調理過程における消長, 食品衛生学雑誌, **24**, 42-46 (1983).
- 3) 茶珍和雄, 上田悦範, 岩田 隆, 青ウメの青酸発生に及ぼす冷蔵冷凍および数種化学物質処理の影響, 園芸学会秋季大会要旨集, pp.454-455 (1982).
- 4) 田森純二, 井坂洋司, 梅加工品の製造工程中のアミグダリンの消長, 農林水産消費安全技術センター調査研究報告, **11**, 21-28 (1987).
- 5) 中内道世, 池本重明, 山西紀早子, 尾崎嘉彦, 山根 馨, 梅仁の処理方法及び食用梅仁, 特許第3605548号 (2004.10.8).
- 6) 寺田久屋, 山本勝彦, 高速液体クロマトグラフィーによる梅加工食品中のシアン配糖体, ベンズアルデヒド及び安息香酸の同時定量法の検討, 食品衛生学雑誌, **33**, 183-188 (1992).
- 7) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (2008).
- 8) シアン化合物を含有する食品の取扱について, 平成20年9月3日, 厚生労働省輸入食品安全対策室, 事務連絡.
- 9) Raquel, S.P., Kirsten, J., Carl, E. O., Federico, D. and Birger, L. M., Bitterness in Almonds. *Plant Physiol.*, **146**, 1040-1052 (2008).
- 10) 平田恵子, 大西和夫, 西島基弘, 酵素を用いた食品分析に関する研究 (第2報) コンウェイ微量拡散法によるシアン配糖体定量の加工食品への適用, 衛生化学, **36**, 344-348 (1990).

引用 URL

- i) 農林水産省統計情報 平成21年産特産果樹生産出荷実績調査 種類別栽培状況 (都道府県) かんきつ類以外の果樹【落葉果樹】 <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001084649> (2012.3.22).
- (平成24年3月31日受付, 平成24年7月9日受理)