

## 亜硝酸の分析と加工食品の亜硝酸含量

佐藤 雅子, 児玉 純子\*

(1992年10月15日 受理)

Analysis of Nitrite and Its Content in Foods

Masako SATO Jyunko KODAMA\*

食品添加物はおよそ350種使用されており, ほとんどの加工食品に, 幾種類もの添加物が使用され, その摂取量は一日平均10~15gに相当すると言われている。食品添加物の健康に及ぼす影響や危険性については医学, 薬学の立場から研究されている。これらの食品添加物の中には酵素活性を阻害するものや, 遺伝子を損傷したり, ガンを引き起こすものがあるなど報告されている<sup>1~4)</sup>。ガンによる死亡率は確実に増加しており<sup>5)</sup>, ガンの発生源として, 環境因子中でも食物の影響は大きいことは以前から指摘されている<sup>6)</sup>。食品添加物の中で, 亜硝酸とアミンから生成されるニトロソアミンの発ガン性が高いこともよく知られているが<sup>7~9)</sup>, 亜硝酸を発色剤として使用しているハムやソーセージは, 成長期の子供達に頻繁に利用される食品の一つである。

平山<sup>10)</sup> は20年間にわたって食生活とガンの関係をおよそ20万人を対象に調査をし, 食生活とガンの発生には深い関係があることを報告している。これらの長期に渡る幅広い疫学調査の結果から, 小さい時から食生活を中心に日常の生活習慣に注意すればガンの撲滅は可能であると述べている。武藤<sup>12, 13)</sup> は内科医として直接ガンの治療に携わり, ビタミンAとその類縁化合物の抗腫瘍作用とそのメカニズムや, ガンの化学予防の人体へのアプローチについて研究を続けており, 栄養改善からみたガンの予防は今後ますます重要性を増してくると報告している。著者らは栄養学の立場から, 加工食品の利用が増加する社会情勢の中で, 加工食品の安全性の実態を科学的に把握したいと考え, 食品添加物の中でも発ガン性のリスクが高いと考えられている亜硝酸について, 手軽で簡単に分析出来る亜硝酸の分析方法を検討し, 市販のハムやソーセージ, 肉類の亜硝酸量を測定した。

### 実験方法

#### 1. 試料

ハムについては13社のもの20種類, ソーセージはメーカーの製品10社と小売店4店のものについ

鹿児島大学教育学部食物学

\*京都大学医学部衛生学

て20種類、牛肉、豚肉などの獣肉について8店から購入し、18種類のを分析した。試料はそれぞれ鹿児島と京都で入手し比較した。

## 2. 亜硝酸の定量

亜硝酸はG. R. (Greis Romijin) 硝酸試薬<sup>14)</sup>を使用する方法で分析したが、実施に際しては、共立理化学研究所製の「水質検査—パケットテスト亜硝酸」の試薬および、付属の0.02—1 ppmの濃度の亜硝酸の標準色を使用した。

## 3. 試料の調整

- 1) 試料30～50gをみじん切りにしてビーカーに入れ、2倍量の水を加えて、80℃以上の湯煎で30分以上加熱する。加熱後5分までは時々それ以後は5分おきにガラス棒またはスプーンで攪拌する。加熱中クッキングホイルなどで蓋をすると、水分の蒸発はほとんど見られず補正の必要はないが、加熱条件により水分の蒸発が大きい場合には蒸発した水分の補充をする。
- 2) 試料の抽出液を濾紙またはふきんやガーゼで濾しながら5 mlになるまで試験管にとる(写真1)。チューブに入っている試薬(パケットテスト亜硝酸)を加え、十分攪拌し、2分後標準色と比較し、試料中の亜硝酸濃度を求める。これより食品100g中の亜硝酸量を算出する。

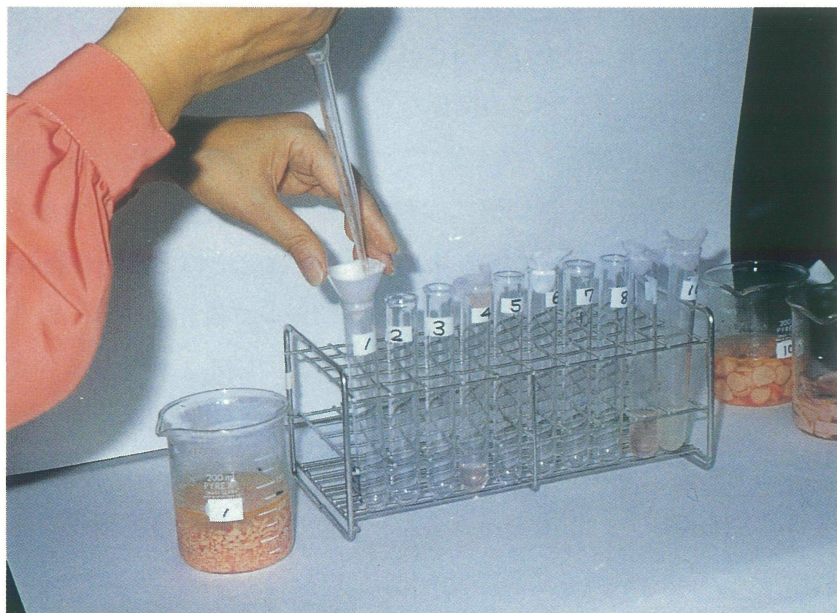


写真1. 試料の抽出液の濾過

(1) : 濾紙による濾過 ; (4) (6) (9) (10) : ガーゼによる濾過

## 実 験 結 果

### 1. 亜硝酸の分析方法

#### 1) 試料の調整と比色

使用した試料の中には亜硝酸以外の食品添加物が使用されており、着色している試料や粘着性の高い試料、脂肪の多い試料など見られたが、濾紙またはふきんやガーゼで濾過することにより、亜硝酸濃度を比色することは可能であった。ハムやソーセージ、獣肉の亜硝酸濃度は写真2に示すように試料により大きく異なった。この実験では試料の2倍量の水を加えて抽出したが、亜硝酸濃度が高く、1 ppm を越える試料も見られた。このような試料では3倍量の水で抽出する必要があり、また、正確な亜硝酸量が必要な場合にはG. R. 亜硝酸試薬を調整し、亜硝酸の標準液と比較したり、吸光度測定などしなければならない。しかし、共立理化の水質検査用のパックテスト亜硝酸を使用するこの方法は、短時間で手軽に食品の亜硝酸濃度を分析する方法として利点が多かった。

#### 2) 試料の形

試料は亜硝酸の抽出を効率よくするため、みじん切りにして抽出したが、サンプル数が多い場合かなり時間がかかるので、うすく切った試料では亜硝酸の抽出は低下するか比較した。4種類の試料について、みじん切りにしたものと、ソーセージについてはうすく輪切りにしたものと、ハムではうす切りにしたものをさらにいちょう切りにし、いずれも80℃以上で1時間加熱して亜硝酸濃度を比較した。その結果、みじん切りにした試料と輪切りにした試料、うすくいちょう切りにした試料の亜硝酸濃度はほとんど同じであり、うすく切っていれば試料の亜硝酸はほぼ完全に抽出され则认为られた。

#### 3) 加熱温度の影響

試料に2倍量の水を加え、90℃で2時間時々加熱して抽出したもの、50℃で8時間絶えず振とうしながら抽出したもの、室温(20℃前後)で24時間放置したものの亜硝酸濃度を2種類のソーセージについて分析し比較した。90℃で2時間加熱して抽出したものは両試料いずれも亜硝酸濃度は0.5-1 ppm と高かったが、室温(20℃前後)で24時間放置したものは、両試料とも亜硝酸は検出されなかった。また、50℃で8時間振とうしながら抽出したものは、90℃で2時間加熱して抽出したものに比べ亜硝酸濃度は明かに低く、亜硝酸量の低い試料でその傾向が顕著であった。

#### 4) 加熱時間の影響

試料に2倍量の水を加え、80℃以上の温度で30分、1時間、2時間、4時間加熱したものについて加熱時間による亜硝酸の抽出の違いを比較した。7種類の試料について比較したが、いずれの加熱時間でも亜硝酸濃度はほとんど同じであった。

#### 5) ソーセージの亜硝酸量について



ソーセージは8社、20種について亜硝酸濃度を分析した。写真2は分析した試料の一部である。ピンク色が濃い程亜硝酸濃度が高いことを示しており、無色のものは亜硝酸が含まれていないことを示すものである。写真2に3種類のソーセージの分析結果を示しているが、試料により亜硝酸濃度は大きく異なることが明かである。これらの結果から試料100g中の亜硝酸量を算出したのが図1である。試料により亜硝酸量に大きな違いが見られたが、亜硝酸を全然使用していないメーカーは1社あり、そのメーカーの製品は2種とも亜硝酸の使用は認められなかった(写真2の3番目)。亜硝酸が検出された試料について亜硝酸量を比較すると、多いもので0.06mgであり、これは亜硝酸の少ない試料のおよそ50倍に相当した。分析した8社の中で4社、9品種のソーセージの亜硝酸量は0.06mgで高かったが、1社、5品種の亜硝酸は0.001~0.003mgであり、メーカーによって亜硝酸量が大きく異なった。製品の色調と亜硝酸使用量の関係を観察したが、相関は見られなかった。亜硝酸が検出されなかった1社、2種類の製品についてのみ、亜硝酸添加の表示はなく、色調は白っぽく他の製品と異なっていた。



写真2. ソーセージ, ハムの亜硝酸濃度

左よりウインナーソーセージ (A社), ウインナーソーセージ (B社), ウインナーソーセージ (C社), ロースハム (D社), ロースハム (E社), ロースハム (C社), 生ハム (F社)。

#### 6) ハムの亜硝酸について

ハムはメーカー10社と小売店4店、20種について分析し比較した。写真2にその一例を示しているが、4~7番目の試料の亜硝酸濃度はそれぞれ異なっている。亜硝酸を使用していないメーカーが1社あった(写真2の6番目)が、全体として亜硝酸を使用している試料が多かった。ソーセージの場合と同じように試料100g中の亜硝酸量で比較したのが図1である。試料による亜硝酸量の違いを見るとメーカーによる使用量の違いが大きかったが、ハムの場合、製法の違いも関

## 佐藤：亜硝酸の分析と加工食品の亜硝酸含量

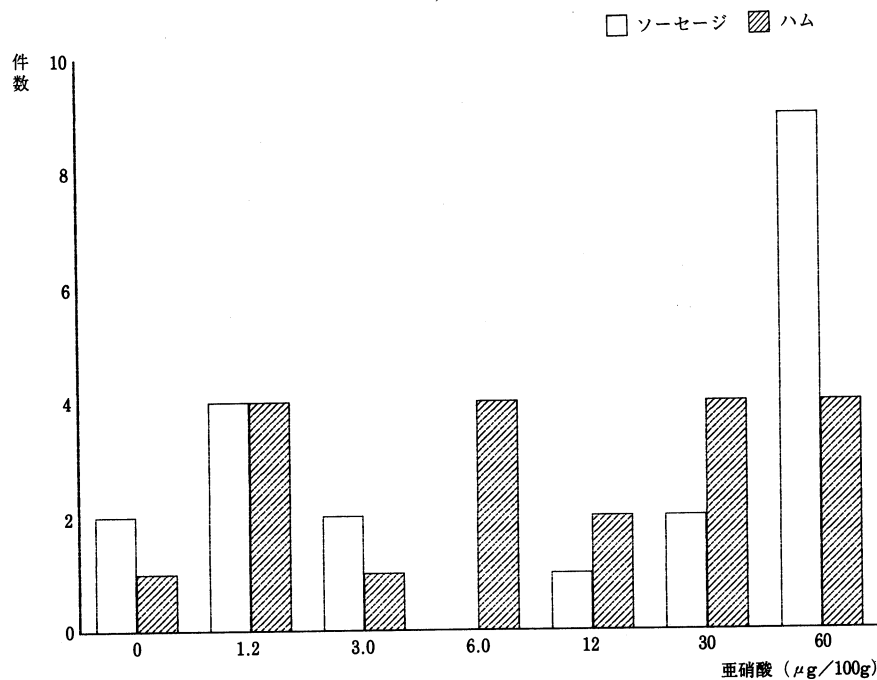
係していると考えられた。色調については亜硝酸添加の表示がなく分析しても亜硝酸が検出されなかった試料を除けば、いずれの試料も大体同じような色調であり、亜硝酸の使用量と色調には必ずしも相関は見られなかった。

ソーセージとハムについて、同じメーカーで種類や製造元が異なる製品を分析したが、亜硝酸の使用量が多いメーカーの製品は、種類や製造元が異なっても相対的に亜硝酸の使用量は高く、反対に亜硝酸の使用量が少ないメーカーの製品は、種類や製造元が異なっても亜硝酸量は少ない傾向が見られ、メーカーによる使用量の違いが顕著であった。

## 7) 肉類の亜硝酸について

牛肉、豚肉を小売店8店から入手し、18種について分析したが、いずれの試料でも亜硝酸は検出されなかった。

図1. ソーセージ, ハムの亜硝酸量



## 考 察

亜硝酸濃度の分析には水質検査用のパックテスト亜硝酸を食品の亜硝酸の分析に応用した。この方法は牧之瀬<sup>15)</sup>がハムの亜硝酸の分析に使用していたものである。著者もこれまで食品添加物の検出方法を検討してきたが、前処理に時間と労力が必要とされ、あるいは、実用性に欠くなど問題点が多く適切な方法が見当たらなかった。しかし、この水質検査用のパックテスト亜硝酸を使用する方法は、手軽で短時間に分析でき、共存物質の影響も少ないなど、食品の亜硝酸を分析するのに広

く適用できると考えられたので、分析方法について検討してみた。

試料をみじん切りにしたものと、ソーセージはうすく輪切りにしたもの、ハムはうすくいちょう切りにしたものの結果は、ほぼ同じであった。このことは分析が短時間に手軽にできることを示しており、時間が取れない場合や多種の試料を分析する時には、必ずしもみじん切りにする必要はなく、うす切りの試料で十分対応できる。試料により亜硝酸濃度の違いが大きいですが、普通には2倍量の水を加えて抽出すれば良いようであるが、亜硝酸の多い試料については3倍量の水を加えて抽出の方が望ましい。抽出時の温度の影響は顕著であり、低温では亜硝酸は抽出されないので加熱しなければならない。90℃で30分以上加熱したものと4時間加熱したものがほぼ同じであったので、最低30分以上湯煎すれば良いように思える。抽出液は脂肪の多いもの、粘着性の高いもの、濁っているものが多く見られ、このままでは比色しにくいので、直ちに写真1のように濾紙を直径6 cm程度の円形に切り四つ折にしたもので濾過する。脂肪が多い試料は濾過に時間がかかるのでふきんまたはガーゼを4 cm程度に丸く切り、濾紙の場合と同じように濾過すると、それだけ比色はより鮮明になる。濾過をしている間に試料の温度は大体分析温度の15~40℃に下がるので、この濾液5 mlにチューブの試薬1個分を加えれば普通の試料の分析は十分であると思われた。

以上、ソーセージ20種、ハム20種、獣肉18種について亜硝酸を分析した。食品メーカーにより、亜硝酸の使用量は大きく異なり、全然使用していないメーカーもあったが、使用しているメーカーでも使用量は異なりメーカーにより10倍もの違いが見られた。亜硝酸の添加が少ないメーカーの製品はソーセージ、ハムいずれも亜硝酸量は少ない傾向が見られた。また、ソーセージまたはハムで加工法が異なる製品でも同じメーカーの製品については亜硝酸の使用量は同じ程度のものが多かった。食品添加物について、使用した添加物の表示義務はあるが添加量は表示されていない。亜硝酸は発色剤として使用されるので、外観の色調と亜硝酸の使用量の関係を見たが、赤い色調で亜硝酸の使用量が多いと思われる製品でも亜硝酸量は少ないものがあり、反対に自然の肉色に近い赤褐色の色調で外観から亜硝酸は使用されていないように見える製品の亜硝酸量が多いなど観察され、外観の色調からの判断と亜硝酸の添加量は必ずしも一致しなかった。2種の生ハムは分析した製品の中でもっともきれいな肉色をしており、亜硝酸添加の表示もされていたが、写真2の7番目のように亜硝酸の使用量は0.001mg%で少なかった。これらの事実は外見の色調から安易に亜硝酸量を推定するのは危険であることを示唆するものである。

牛肉、豚肉は鹿児島と京都の小売店8店のものを18種分析したが、いずれの試料も亜硝酸は検出されなかった。昨年度予備試験をした時には、5~6種の肉すべてに亜硝酸が検出された。ハムやソーセージの亜硝酸の使用も問題であるが、肉類への亜硝酸の使用はさらに問題であると考え、本年度さらに検討した。18種の試料からは検出されず、安全性の見地から望ましい結果であるが、検討の余地はある。

前述のように亜硝酸の分析は比較的簡単に出来るので、正確な亜硝酸量を把握するよう広範な活用が望まれる。この方法は家庭でも片手鍋に試料を入れ、2倍量の水を加え蓋をして直接加熱し、

## 佐藤：亜硝酸の分析と加工食品の亜硝酸含量

時々攪拌しながらおよそ30分加熱後、チューブを使用して直接抽出液をスポイド式に吸い込んで比色すれば、器具がなくても簡単に食品の亜硝酸量を判定することが可能である。

ガンによる死亡率は確実に増加しており、死因の一位を占めている。最近における高齢化にともなって、二重ガンや三重ガンも増加している。平山<sup>11)</sup>や武藤<sup>12, 13)</sup>が指摘しているように、小さい時から食生活を中心にした生活環境を改善することが、ガンの予防に重要な課題である。亜硝酸とアミンから生成されるニトロソアミンの発ガン性が高いことは知識としてよく知られている。しかし、使用の実態や使用量については十分把握されていない。この実験でハムやソーセージに使用されている亜硝酸は、短時間で手軽に分析できることが明かにされた。パックテスト亜硝酸があれば特別な器具がなくても家庭でも簡単に亜硝酸の分析が出来るので、広範な活用を期待したい。

## 参 考 文 献

- 1) 増尾 清：食品添加物とつきあう法，農文協（1987）
- 2) 西岡 一：あなたの食卓の危険度，農文協（1985）
- 3) 小谷スミ子：食生活研究，7，16-24（1982）
- 4) Koshimizu, K., : Cancer Lett., 39, 247-257（1988）
- 5) 食料，栄養，健康：医歯薬出版，（1992）
- 6) 富永祐民：日本医師会雑誌，96，389-392（1986）
- 7) Ohshima, H. & Bartsch, H., : Cancer, Res., 41, 3658-3662（1981）
- 8) Lu, Shih Hsin., Ohshima, H. & Bartsch, H., ; Cancer, Res., 46, 1485-1491（1986）
- 9) 村田 晃：臨床成人病，14，17-23（1984）
- 10) Hirayama, T., Nutr. Cancer, 1, 67-85（1979）
- 11) 平山 雄：ガンにならない体をつくる，青春出版社（1991）
- 12) 武藤泰寿，ビタミン，64，501-507（1990）
- 13) 武藤泰寿，ビタミン，56，555-560（1982）
- 14) 満田久輝，実験栄養化学：283 285（1961）
- 15) 牧之瀬育子：鹿児島市立伊敷中学校研究公開（1989）