

## 特集

## 葉菜中硝酸イオンの低減化法

愛知真木子<sup>1)</sup>, 浅見典子<sup>2)</sup>, 岩田文子<sup>2)</sup>, 南基泰<sup>1)</sup>, 永井和夫<sup>1)</sup><sup>1)</sup>中部大学応用生物学部, <sup>2)</sup>中部大学バイオサイエンス研究センター

## 1. はじめに

植物は無機窒素を有機窒素に変換する重要な役割を担っていて、それは植物の生長や農作物生産の基本的な過程である。様々な肥料の中でも、窒素肥料は莫大な量が地球規模で投入されており、その影響は生産量にも環境面においても大きい。窒素肥料のほとんどは環境中に放出され、帯水層や、川、湖、海洋へ流れ込み、 $N_2$ 、 $N_2O$  と形を変えて、大気へと拡散していき、 $N_2O$  はオゾン層を破壊する。

一方、飲料水や野菜等食物中に含まれる  $NO_3^-$  (硝酸イオン) は体内で  $NO_2^-$  (亜硝酸イオン) となってメヘモグロビン血症やガンを引き起こす。メヘモグロビン血症は、亜硝酸イオンがヘモグロビンの2価鉄を3価に酸化し、酸素運搬機能がないメヘモグロビンにするため、酸素欠乏が引き起こされる病気で、6ヶ月までの乳児が発症し易い。それは、酸化されやすい胎児性ヘモグロビンが多くを占めることと、メヘモグロビンをヘモグロビンに還元する酵素を持っていないためであるといわれている(中村, 1990, 1999; Marcelo Bessa de Freitas et al., 2001)。同時に、メヘモグロビン血症を起こした子供の母親には流産の経験がある場合が多いので、流産との関係も疑われる(田中ら, 1996)。また、家畜における硝酸中毒は人間と比べてはるかに多く、日本における報告は1965～1971年だけでも日本国内で98件458頭が被害を受け、128頭が死亡した。窒素肥料が多く投入された飼料には多くの硝酸イオンが含まれているうえ、牛など反芻動物は胃に多数の微生物が生息していて摂取した硝酸イオンの多くが亜硝酸イオンとなるためだと考えられている。これ以外にも、家畜における硝酸イオンの慢性的影響として、受胎不良、流産、発育抑制、乳量低下、甲状腺機能低下、ビタミンA欠乏なども示唆されている(野本, 1977; 篠崎, 1975)。胃ガンについては、硝酸イオンの摂取量と胃ガン死亡率に相関があることが疫学調査

で明らかとなっており(Hill *et al.*, 1973; Fine *et al.*, 1982)、硝酸イオンおよび亜硝酸イオン自体の発ガン性も疑われているが、これまでのところ、亜硝酸がタンパク質に含まれるアミン類と反応して強い発ガン性を示すN-ニトロソ化合物を生成するためであると考えられている。この亜硝酸イオンとアミン類との反応に胃の強い酸性条件が適しているため、胃ガンの発症が多くなると考えられている。その他、動物実験の結果、副腎球状帯の過形成や心臓および肺の奇形および組織学的変化などの毒性が報告されている。

以上のように、硝酸イオンおよび亜硝酸イオンの毒性は無視できないものであり、近年その毒性がさらに明らかになりつつある。亜硝酸イオンについては、WHO(世界保健機構)が慢性毒性基準として0.06mg/l、急性毒性基準として0.9mg/lを定めているのを受けて、日本は1998年6月に水道水基準;環境基準項目で硝酸および亜硝酸イオンの和を10mg/l、また亜硝酸イオン単独で0.05mg/lと定めた。しかしながら、食品に対する安全基準値の制定は遅れており、EUが野菜に含まれる硝酸および亜硝酸イオンの上限を夏期2,500mg/kg、冬期3,000mg/kgと定めたのに対して、日本では、2002～2004年度農林水産省研究課題に「野菜における硝酸塩蓄積機構の解明と低減化技術の開発」があげられたものの、2007年2月においても、規制は無く、我が国での取組みは未だ緒についたばかりである。一般に野菜中の硝酸イオン除去法として加熱調理が検討され(酒向ら, 1998)推奨されているが、具体的に調理のどの段階で、硝酸イオンが除去されているのかは明らかでない。そこで本研究では、まず、野菜中の硝酸イオン濃度を調査し、次に、葉菜のゆで汁とさらし水にどれくらい硝酸、亜硝酸イオンが移行するのか明らかにした。さらに、岐阜県美濃地方では、ハウレンソウを茹でる際、食塩の代わりにシロ糖を熱湯に添加するので、熱湯に加える添加物と硝酸

イオン低減化との関係について、また、電子レンジを用いた調理方法と硝酸イオン低減化の関係も合わせて解析した。

## 2. 材料と方法

**供試試料** 2003年11月から2006年4月の間、スーパーマーケットや通信販売によって購入した野菜を材料とした。

**硝酸および亜硝酸イオンの抽出** 衛生試験法・注解2000(日本薬学会編)に従い以下のように硝酸および亜硝酸イオンの抽出をおこなった。試料100g以上をフードプロセッサーにより粗く刻み、約5gを正確に測りとり、約80°Cの温水20mlを添加後、ホモジェナイザー(ART社)で破碎した。これを100ml共栓比色管に移し、温水40ml、終濃度25mM NaOH、さらに0.6% ZnSO<sub>4</sub>を加えてよく振り混ぜ、80°Cで20分間振とうした。室温まで冷却した後、1%酢酸アンモニウム緩衝液を加え、蒸留水で100mlにメスアップし混和した。10分放置した後、乾燥濾紙を用いて濾過した。ブランクは試料の代わりに蒸留水を用いて同様に処理した。葉菜の調理による硝酸イオン低減化への影響を調べる実験においては、高温高压処理により抽出した。いずれの場合も、試料を測り取る操作以後の操作を3連で行った。全ての場合において、亜硝酸イオンは5mg/kg以下であったため、データは示さなかった。

**硝酸および亜硝酸イオンの定量** Cd-Cu還元-ナフチルエチレン吸光光度法に基づいたフローインジェクションアナライザーPFA-310NO(FIA機器)を用いた。

**葉菜の調理** コマツナあるいはホウレンソウ15株程度を外葉から順に5あるいは7サンプルに各々分配し、およそ200gを正確に測定した。熱湯およびさらし用の水は各々蒸留水1.0Lを用い、熱湯に塩、ショ糖、酢あるいは、植物油を1%添加した。コマツナは1.5分毎に6分まで、ホウレンソウは2分間茹で、

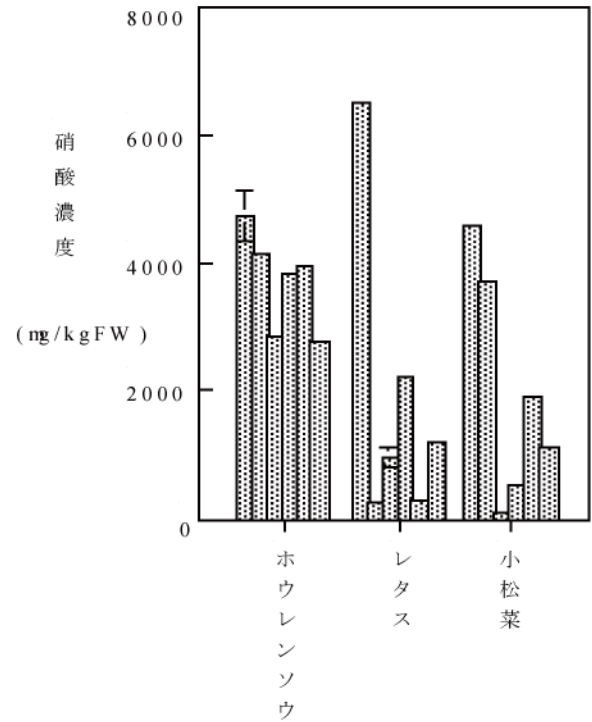


図1. 葉菜における硝酸イオン含量。ホウレンソウ、レタス、コマツナ、各々の個体全体をホモジェナイズし硝酸イオン濃度を求め、新鮮重量あたりの硝酸イオン重量(mg/kg)として算出した。

さらした後の絞り汁はさらし水に含めた。ホウレンソウによる調理方法と硝酸イオン残存量の関係を明らかにする実験は、独立した3回の実験の平均値を示した。

## 3. 結果

**葉菜における硝酸イオン含量** 図1に示すように、ホウレンソウの硝酸イオン含量は2843~4737 mg/kgを示した。測定結果の内、1サンプルは9月に測定して3732mg/kgであったが、他のサンプルはいずれも11月~1月の測定結果で、EUの冬期基準値3000 mg/kgより、低いものが2サンプル、高いものが3サンプル検出された。レタスの硝酸イオン含量にはサンプル間に大きな差があり、219~651mg/kgで、1サンプルを除いては、概ね2000mg/kg以下であった。コマツナについても、レタスと同様、サンプル間で差が大きく、87~4584mg/kgであった。

**調理時間の硝酸イオン低減化に対する影響** コマツナを用いて、調理による硝酸イオン含量の変化を測定した。1.5分毎に、コマツナ内の硝酸イオン濃度およびゆで汁、

さらし水と絞り汁をあわせたものの硝酸イオン濃度を測定したグラフを図2に示す。調理時間とコマツナの状態の関係は、ゆで時間1.5分が固め、3分が適当、4.5分が軟らかめ、6分はかなり柔らかいものであった。ゆで時間3分で硝酸イオン濃度は調理前の60%、4.5分で54%にまで低下し、その硝酸イオンはさらし水および絞り汁ではなく、主に茹で汁へ移行することが明らかとなった。また、葉中の硝酸イオンは3分までは約 430mg/kg/min (13%/min) の硝酸イオンが減少したが、それ以後は約 200mg/kg/min (6%/min) 程度しか減少しなかった。

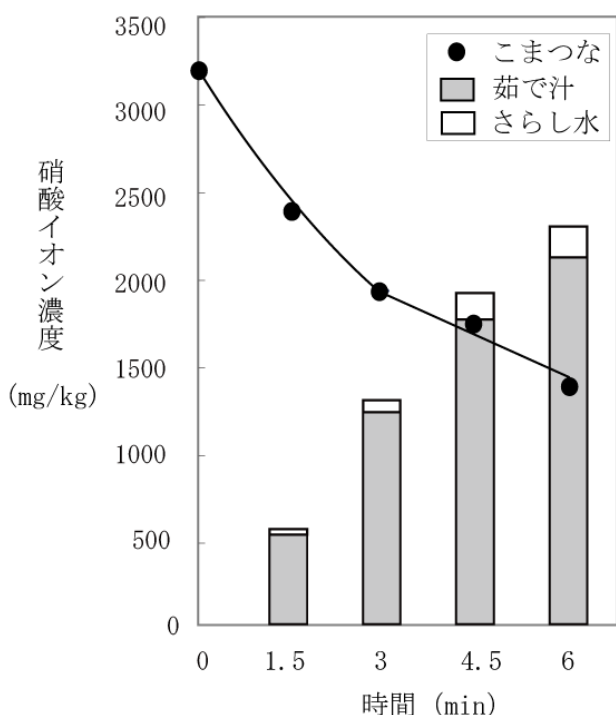


図2. 調理時間とコマツナ中の硝酸イオン含量の比較。コマツナを、1Lの蒸留水でゆで、1Lの水にさらし、絞った。コマツナ中の硝酸イオン含量を黒丸でゆで汁中の硝酸イオン濃度を白抜き棒で、さらし水および絞り汁をあわせたものの硝酸イオン濃度を灰色棒で示した。

**調理方法と硝酸イオン残存量の関係** 葉菜中の硝酸イオンは調理によって、およそ50%程度減少することが明らかとなった。一般にはゆでる湯に、塩を添加することが多いが、岐阜県美濃地方ではショ糖を添加する。ショ糖と硝酸イオン低減化の関連があるか否か、また、電子レンジによる調理の影響について検討した。調理をしない場合の硝酸イオン含量を100%として表した結果を図3に示す。電子レンジによる調理後、水にさらした場合に

は76%程度にしか減少しなかったが、湯によって調理した場合(茹で時間2分)、さらに食塩、ショ糖、酢、油のいずれを添加した場合もおおよそ50%で、添加物の有無および種類による有意差はなかった。しかしながら、食味試験の結果では、ショ糖を添加した場合がポイントが高かった(データ示さず)。

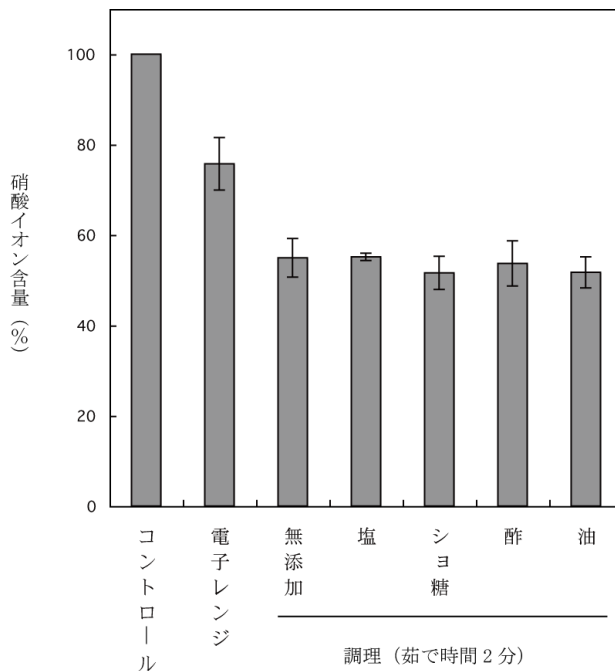


図3. 硝酸イオン低減化における調理方法と茹で湯への添加物の影響。コントロール(未処理)、電子レンジによる調理後水にさらした場合、お湯のみあるいは、様々な添加物を加えた湯を用いた調理(茹で時間2分)後、水にさらした場合の硝酸イオン含量。

#### 4. 考察

硝酸は植物の主要な窒素源であるにもかかわらず、土壤中において不足しやすいので、生育の律速要因となっている。従って、農業において窒素肥料は欠かすことができないが、過剰な肥料投入は高窒素(高硝酸イオン)含有野菜を作出するだけでなく、水質汚染を引き起こし、湖沼や海の富栄養化の原因ともなっている。本研究において調査した、ホウレンソウ、レタス、コマツナの硝酸イオン含量は、87~4584mg/kgと様々であった。この差は、窒素肥料の投入量に起因していると推察される。

次に、一般にホウレンソウ等は下ゆでをした後に食用とされるので、調理の効果を検証した。コマツナの場合、適切なゆで時間である「3分」において、60%にまで硝酸

イオン含量は減少したので、「ゆでる」という調理は硝酸低減化に有効であると判断した。ただし、絞り汁を含むさらし水の硝酸イオン含量は、ゆで汁の 10%以下であった。水さらしと手絞りは硝酸低減化に、有効ではあるが、大きく影響してはいないので、風味を損なわない調理が求められる場合には、水さらしは省略しても良いと考えられる。

さらに、ハウレンソウにおける調理法の検討を行ったところ、電子レンジによる調理よりも水茹での方が硝酸イオン含有量を減少させることが明らかとなった。この結果は、硝酸イオンは水溶性であるが、さらし水には十分には溶け出ないことを示している。また、ゆで時間が長いほど可食部の硝酸イオン含有量は減少し、ゆで汁へ移行したが、その減少率は3分を超えると 50%以下に低下した。水茹での際、食塩など添加物を加えて水の沸点を上昇させるが、硝酸イオンを減少させるという点では、食塩、ショ糖、酢、油を添加しても、コントロール(無添加)と有意な差は見られなかった。しかしながら、食味試験の結果、ショ糖でやや高いポイントが得られた(データ示さず)。

本研究では、葉菜には硝酸イオンが含まれていて、その濃度は高低様々であるが、たとえ硝酸イオン含量が高い野菜でも、水茹でをすれば、硝酸イオン含量を半分程度にまで減少させることが可能であることを示し、ゆで汁に硝酸イオンが溶出することを明らかにした。野菜の中には、様々な栄養素、生理活性物質が含まれているので、硝酸イオンをできるだけ摂取しないようにする努力をしながら、野菜は積極的に摂取するべきであろう。一方で、低硝酸イオン含量の野菜を作出することも重要な課題の一つである。

#### 謝辞

本研究は文部科学省ハイテク・リサーチ・センター整備事業(平成 14 年度～平成 18 年度)の援助を受けて行われました。記して謝意を表します。

#### 引用文献

Fine, D. H., Challis, B. C., Hartman, P., Van Ryzin, J. 1982. Endogenous synthesis of volatile nitrosamines: Model

calculations and risk assessment. IARC Sci. Publ. 41: 391-396.

Hill, M. J., Hawksworth, G., Tattersall, G. 1973. Bacteria, nitrosamines and cancer of the stomach. Br. J. Cancer 28: 562-567.

Marcelo Bessa de Feritas, Ogenis Magno Brilhante, Liz Maria de Almeida. 2001. The importance of water testing for public health in two regions in Rio de Janeiro: a focus on fecal coliforms, nitrates, and aluminum. Cad. Saude Publica, Rio de Janeiro 17: 651-660 医大誌. 18: 413-421.

酒向史代, 森悦子, 渡部博之. 1998. 市販中国野菜野硝酸, 亜硝酸の保存および加熱調理による変化. に本調理学会. 31 : 46-50

中村磐男. 1990. 飲み水の硝酸塩汚染-血症とその周辺-聖マリアンナ医大誌. 18: 413-421.

中村磐男. 1999. 水質汚染と周産期-水道水と流産・先天異常/硝酸塩と乳児メトヘモグロビン血症. 周産期医学 29: 457-461.

野本貞夫. 1977. 牛の硝酸塩中毒. 日獣医誌. 30:3-12.

篠崎謙一. 1975. 乳牛の硝酸塩・亜硝酸塩による中毒. 畜産の研. 39: 375-378.

田中淳子, 堀米仁志, 今井博則, 森山伸子, 斉藤久子, 田島静子, 中村了正. 1996. 井戸水が原因で高度のメトヘモグロビン血症を呈した 1 新生児例. 小児科臨床 49: 55-59.

**Title:** Removal of Nitrate from leaf-vegetables

**Author(s) :** Makiko Aichi<sup>1)</sup>, Noriko Asami<sup>2)</sup>, Fumiko

Iwata<sup>2)</sup>, Motoyasu Minami<sup>1)</sup>, Kazuo Nagai<sup>1)</sup>

**Address(es)** : <sup>1)</sup>Department of Bioscience and  
Biotechnology, Chubu University <sup>2)</sup>Chubu University

Institute for Biological

Function

**Keywords** : Nitrate, Nitrite, Crop