

# 食品中のニトロソアミンの研究(第1報) ECD付ガスクロマトグラフィーによる食品中の ジメチルニトロソアミンの分析について

Studies on Nitrosamines in Food(Part1)  
Determination of Dimethyl Nitrosamine  
in Food by Electron Capture Gas Chrom-  
atography

理化学課 白石由美子 大森 茂  
鈴木 俊一 師尾 寿子  
五本 秀子 川越 章善  
富所 謙吉

## I 緒 言

ニトロソアミンの人体に対する有害性については、1956年MageeとBarnesによつてはじめて報告された。近年食品中の第二級アミンが亜硝酸と反応して発ガン性物質であるニトロソアミンを生成することが明らかになり多くの関心を持たれるようになった。ニトロソアミンの定量法としては、薄層クロマトグラフ法<sup>1,2,3)</sup>、比色法<sup>4,5)</sup>、ポーラログラフ法<sup>6)</sup>、ガスクロマトグラフ法<sup>7,8)</sup>、(以下GC法)等種々の方法があるが、食品からの分析は低濃度であること、試験溶液の調製に長時間を要することによる回収率の低下等、いろいろ問題が多い。我々は今回、ニトロソアミンの中でも特に毒性が強いといわれるジメチルニトロソアミン(以下DMNA)<sup>9,10,11)</sup>について、従来の方法を参考に食品からの試験溶液の調製方法を検討し、測定法についてはGC法の中でも検出感度の高いECD法<sup>12,13,14)</sup>を戸田らの実験条件に準じて応用し、良好な結果を得る事が出来たので、これについて報告する。

## II 実験方法

### 1) 装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ：島津製作所製GC-5AIEE(ECD付)

測定条件

	A	B
カラム充填剤	25% PEG6000/ chromosorb WNAW	20% Versamid900/ chromosorb WNAW
カラム温度	170°C	170°C
試料注入部温度	225°C	225°C
検出部温度	250°C	250°C
感度 (SENSITIVITY, RANGE)	10 <sup>-2</sup> , 8	10 <sup>-2</sup> , 8
N <sub>2</sub> Flow rate kg/cm	0.8	0.65
試料注入量	2 μl	2 μl

2) 試薬

① 試験溶液の調製に関するもの

イ) 塩化メチレン：残留農薬用

ロ) 無水硫酸ナトリウム(芒硝)：残留農薬用を蒸留 n-ヘキサンで洗浄処理

ハ) 塩化ナトリウム：特級を蒸留 n-ヘキサンで洗浄

ニ) 調整カラムクロマト用セライト：酒井らの方法<sup>12)</sup>に従い調整した。

ホ) ジメチルニトロソアミン標準品：東京化成

② 酸化に関するもの

イ) 無水トリフルオル酢酸：特級を蒸留

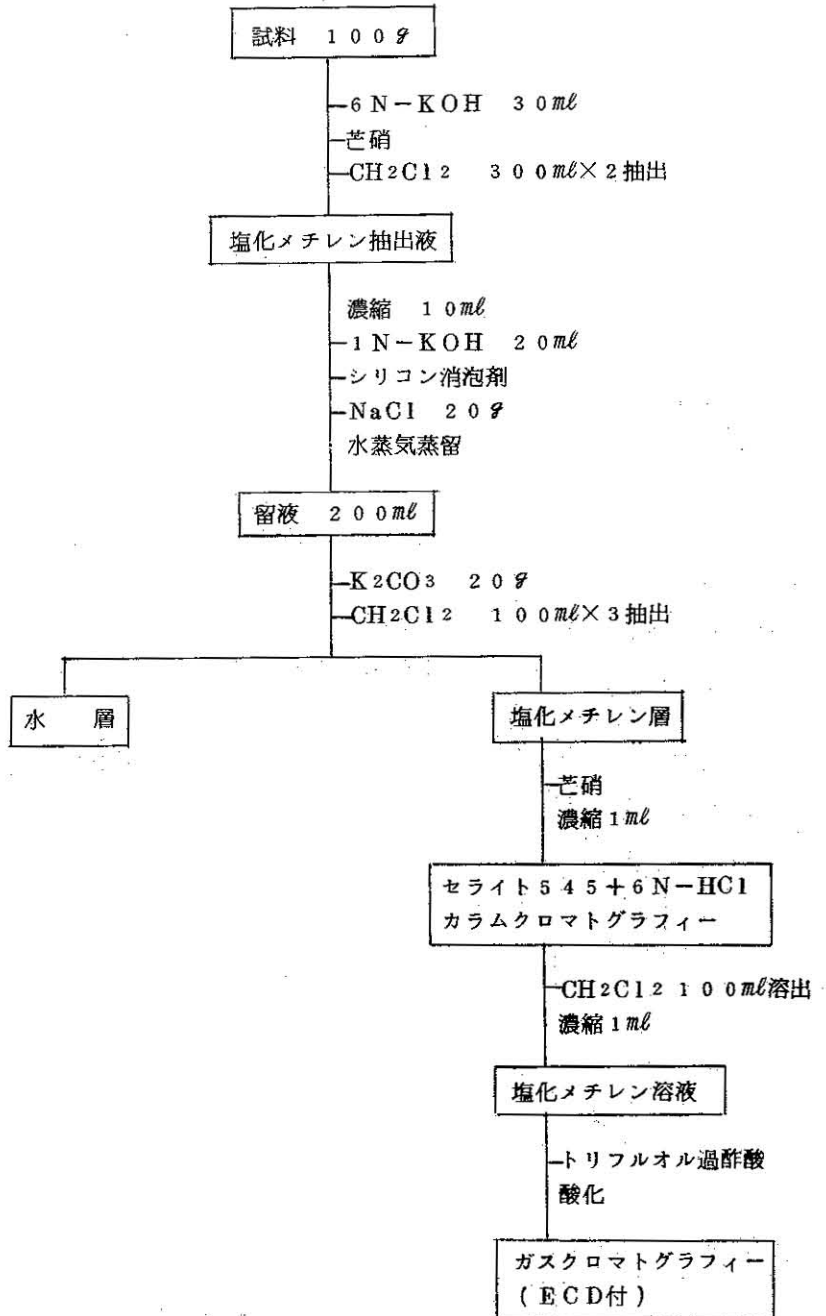
ロ) 過酸化水素(90%)：30%過酸化水素を減圧濃縮

ハ) トリフルオル過酢酸：戸田らの方法<sup>14)</sup>に従い調製した。

3) 試験溶液の調整

肉挽器で挽いた試料100gをオムニミキサーカップに取り、6N水酸化カリウム30ml、塩化メチレン300mlおよび芒硝50gを加え10分間ホモジナイズし、抽出液をろ過する。塩化メチレン300mlでこの操作をもう一度繰返し前回のろ液と合わせる。このろ液をロータリーエバポレーターで約100mlまで濃縮する。これを塩化メチレン20ml、1N水酸化カリウム20mlで蒸留フラスコに洗い入れ、シリコン5ml、塩化ナトリウム20g加え、水蒸気蒸留を行う。留液200mlを取り、これに炭酸カリウム20gを加え塩化メチレン100mlで3回抽出する。芒硝で脱水後、ロータリーエバポレーターで2mlに濃縮する。これを調製したセライトカラムにのせ、200mlのn-ペンタンを流下した後、塩化メチレン100mlで溶離する。この溶離液をロータリーエバポレーターで1mlに濃縮し試験溶液とする。(図1参照)

図1 実験方法



#### 4) DMNAのジメチルニトラミンへの酸化

戸田ら<sup>14)</sup>の方法に準拠した。すなわち、試験溶液を反応試験管にとり、氷冷しながらトリフルオル過酢酸0.2mlを加え静かに攪拌する。これを還流冷却管に接続し、40℃(±1℃)の恒温水槽で120分間反応させる。反応後ただちに蒸留水0.3mlを加え、2分間放置する。塩化メチレンで5mlにメスアップし、炭酸カルシウム0.5gを加え発泡が止むのを待って芒硝0.5gを加え振とう、静置して上澄液をガスクロマトグラフ用検液とする。

#### 5) 紫外線照射

ミツミ製紫外線鑑別器(3650 Å)を用い白色透明ガラス製容器に取ったDMNA 1 ppm 塩化メチレン溶液の紫外線照射による経時変化を測定した。

### III 結果と考察

#### 1) 検量線及び回収率

ジメチルニトラミンの絶対検量線を図2に示した。PEG 6000においては1 ng まで、又Versamid 900においては0.6 ng まで直線性を示し、このことより反応の定量性は、十分あると思われる。又DMNAは揮発性であり、かなり分解しやすく、10 ppm 濃度の塩化メチレン標準溶液を冷暗所保存した場合、1週間で80%程に減ずるが、酸化したジメチルニトラミン0.2 ppm の塩化メチレン溶液を1週間室温に放置しても減少はみられず安定であった。

又DMNAが検出されなかった食肉製品に、DMNA 1 μg (試料に対して10 ppb 相当)を添加し、回収率を求めた。その結果、添加時から室温に放置した標準液と比較すると100%近い値が得られ、この実験方法は、ほぼ満足のいく方法と思われる。

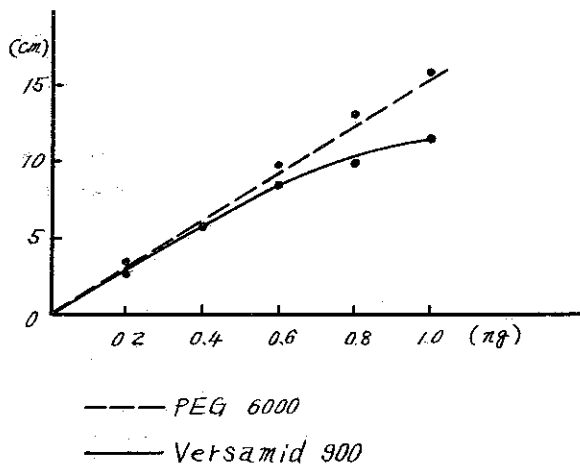


図2 ジメチルニトラミン絶対検量線

#### 2) 充填剤の選択

数種の充填剤について検討した結果、PEG 6000 (図3)及びVersamid 900 (図4)が良好であった。又DMNAが検出された食肉製品のガスクロマトグラムを図5に示した。

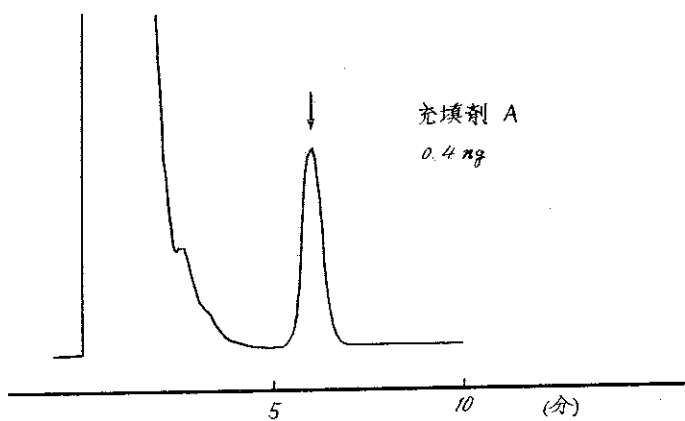


図3 ジメチルニトラミンのガスクロマトグラム

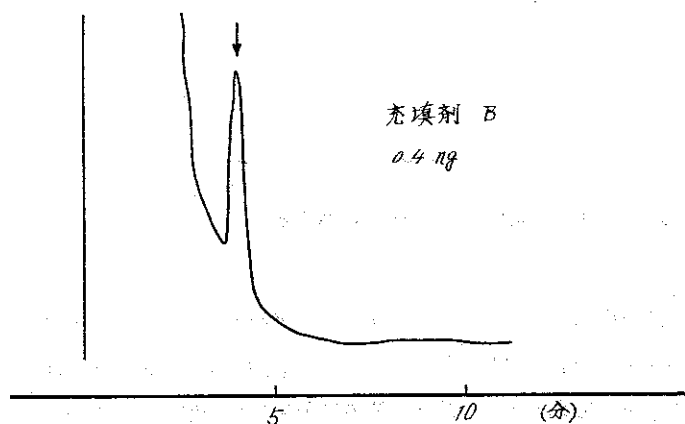


図4 ジメチルニトラミンのガスクロマトグラム

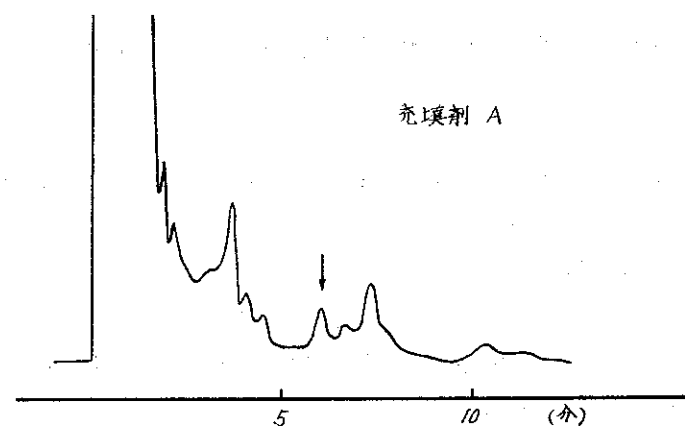


図5 食肉製品のガスクロマトグラム

### 3) 紫外線 (UV) 照射による安定性

DMNAが実験中分解しやすい事から長い操作過程において遮光して実験する必要があると考えられるが、UV照射によってどの程度減少するか実験してみた。遮光して室温保存した1 ppm濃度のDMNA量を100とした時の1時間、3時間UV照射後のDMNA量は、図6のようになり、UV照射による影響の大きさが判明した。

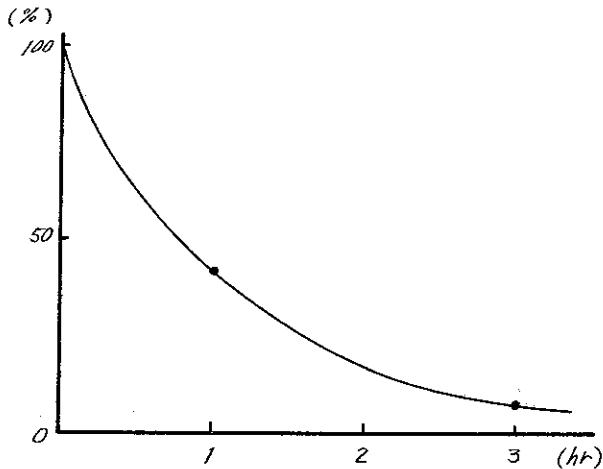


図6 UV照射によるDMNAの減少率

## IV 結 語

8,11,15)

- 1) 従来の実験方法を応用したこの方法は、回収率が好結果を示した。又DMNAを酸化する事により、ECDの使用が可能となり食品について0.5 ppb までの検出を可能にした。
- 2) DMNAの1 ppm 塩化メチレン溶液に紫外線照射した結果、3時間後6.9%迄減少した。

なお、市販魚肉、畜肉製品についての実態調査を実施中であるが、この結果については次の機会に報告する。

(本研究は、昭和50年度当研究所調査研究課題として実施したものである。)

## V 文 献

- 1) Sen, N. P., Smith, D. C., Schwinghamer, L.: J. Can. Inst. Food. Technol. 2, 66, 1970
- 2) 酒井 綾子, 谷村 顕雄: 食衛誌. 12, 485, 1971
- 3) 中村 全良, 白杵 睦夫: 食衛誌. 14, 264, 1973
- 4) Daiber, D., Preussmann, R.: Fresenius' 2, Anal. Chem. 206, 344, 1964

- 5) Möhler, K.: Z. Lebensm. Untersuch. U. Forsch. 125, 337, 1964
- 6) Heath, D. F.: Analyst. 80, 613, 1955
- 7) Howard, J. W., Fazio, T., Watts, J. O.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 53, 269, 1970
- 8) 河端 俊治, 松井 正巳, 石橋 亨, 中村 昌道: 分析化学, 21, 1326, 1972
- 9) Sen, N. P., Smith, D. C., Schwinghamer, L., Marlean, J. J.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 52, 47, 1969
- 10) Sen, N. P., Donaldson, B., Charbonneau, C., Miles, W. F.: J. Agr. Food. Chem. 22, 1125, 1974
- 11) 河端 俊治, 中村 昌道: 「水産加工品中の有毒性物質発生に関する研究報告書」昭和45年度 P23, 1970
- 12) Sen, N. P.: J. Chromatog. 51, 301, 1970
- 13) Althorpe, J., Goddard, D. A., Sissous, D. J., Telling, G. M.: *ibid.*, 53, 373, 1970
- 14) 戸田 和子, 井崎やえ子, 糸川 崇之: 食衛誌, 14, 561, 1973