食事に由来する *N*-ニトロソ化合物の一日摂取量

(昭和 59 年 10 月 24 日受理)

佐藤 昭男* 木川 寛*
鈴木 幸夫* 河村 太郎*

Daily Intake of *N*-Nitroso Compounds in Foodstuffs

Akio SATOH, Hiroshi KIKAWA, Yukio SUZUKI and Taro KAWAMURA

(Yokohama City Institute of Health: 2-17, Takigashira
1-chome, Isogo-ku, Yokohama, Japan)

Recently considerable interest has been focussed on *N*-nitroso compounds because of their potent carcinogenicity and widespread distribution in foods, and this stimulated us to investigate the daily intake of *N*-nitroso compounds through the market-basket method and the duplicate portion method. The daily intake of *N*-nitrosodimethylamine was found to be 0.054~0.087 $\mu\text{g/day}$ (market-basket method) and 0.52 $\mu\text{g/day}$ (duplicate portion method) and no *N*-nitrosodiethylamine was detected.

The effect of heating and incubation in artificial gastric juice on the formation of *N*-nitrosodimethylamine in food was also examined. It was found that the *N*-nitrosodimethylamine content in a food mixture of fish and vegetables increased 6 times after heating as compared with that before heating, and it increased 2-fold on incubation in artificial gastric juice.

(Received October 24, 1984)

Key words: *N*-ニトロソ化合物 *N*-nitroso compound; 亜硝酸 nitrite; ニトロソアミン nitrosamine; マーケットバスケット方式 market-basket method; 陰膳方式 duplicate portion method; ニトロソジメチルアミン dimethylnitrosamine; ニトロソジエチルアミン diethylnitrosamine; 一日摂取量 daily intake; ジメチルアミン dimethylamine

まえがき

N-ニトロソ化合物は環境中や食品中に広く分布し、しかも数多くの動物種に強い発ガン作用を示す物質として 1962 年に Druckrey ら¹⁾によって最初に報告された。その後 Sandar ら^{2)~7)}によって生体内でアミンと亜硝酸からニトロソアミンが生成することが報告されて以来、食品衛生学領域において注目を集めている。この *N*-ニトロソ化合物の摂取量について、個々の食品の分析値に基づく机上計算方式による推定はいくつかなされている^{8),9)}。

そこで著者らは日本人が日常の食事からどの程度、*N*-ニトロソ化合物を摂取しているかについて、マーケットバスケット方式及び陰膳方式を用いて調査を行った。また、*N*-ニトロソ化合物の前駆物質を多く含む食品

を食べ合せた場合を想定して人工胃液中で *N*-ニトロソ化合物がどの程度生成するか、あるいは食品の加熱により *N*-ニトロソ化合物がどの程度生成するかについても前記方式の試料を用いて実験を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

1) 日常食品からの *N*-ニトロソジメチルアミン (NDMA)、*N*-ニトロソジエチルアミン (NDEA) の一日摂取量

i) マーケットバスケット方式: 国民栄養調査の関東 I 地区 (東京都, 神奈川県, 埼玉県, 千葉県) のデータに基づき日常食品の構成と数量を 88 食品について定め、それぞれの必要量を昭和 57 年 3 月及び 5 月に横浜市内大手スーパーより購入した後、それを食品の性質に従って第 I 群 (米加工品類) ~ 第 XIII 群 (加工食品類) に群別

* 横浜市衛生研究所: 横浜市磯子区滝頭 1-2-17

した (Table 2). 次に調理を要するものは調理をした後、各群毎に食品を均一に混合して分析試料とした。

ii) 陰膳方式: 昭和57年6月21日～27日に横浜市内の全寮制学校 (施設 M), 老人ホーム (施設 I) の2施設及び同21日～24日に一般家庭 (当所職員) で採取した一人一日分の食事 (朝食, 昼食, 夕食) をそれぞれ均一に混合して分析試料とした。

2) 人工胃液中における NDMA, NDEA の生成

前述 1)-i) で調製した食品群のうち硝酸塩を多く含む緑色野菜類 (VII 群) とその他の野菜, きのか海藻類 (VIII 群), またジメチルアミン (DMA) を多く含む魚介類 (X 群) と卵肉類 (XI 群) を選び各群 0.15 日分を分取して Table 4 に示す組み合わせをつくり, それぞれ均一に混合した。また 1)-ii) で採取した朝食, 昼食, 夕食を食事毎に均一に混合し, その 50 g を分取した。次にこれらに同量の人工胃液¹⁰⁾を加え 37° で 2 時間振とう後, 炭酸カリウム 2 g を加え分析試料とした。

3) 食品の加熱による NDMA, NDEA の生成

前述 1)-i) で調製した緑色野菜類, その他の野菜, きのか海藻類, 魚介類, 卵肉類の試料, 各 0.15 日分を分取し Table 6 に示す組合せをつくり, 均一に混合した後, 90° で90分間放置後分析試料とした。

2. 試 薬

水酸化カリウム, 炭酸カリウム, 塩化ナトリウム, 塩

Table 1. Operating Conditions of TEA-GC

Instrument	Shimadzu 6A type equipped with TEA
Column	Glass column 3 mm i.d. 1.5 m long
Liquid phase	Versamid 900, 20% (Chromosorb W-AW, 100-120 mesh)
Injection temperature	150°C
Column temperature	110°C
Carrier gas	Ar, 60 ml/min

Table 2. Estimated Daily Intake of *N*-Nitroso Compounds (the Market-basket Method)

Sample group	Food item	Consumption (g/day)	NDMA		NDEA	
			Conc. (ppb)	Intake (μg/day)	Conc. (ppb)	Intake (μg/day)
I	Rice	A 410	<0.2	—	<0.2	—
		B 415	<0.2	—	<0.2	—
II	Cereal Grain Potato	A 191	<0.2	—	<0.2	—
		B 203	<0.2	—	<0.2	—
III	Sugar Cake	A 38.5	<0.2	—	<0.2	—
		B 37.9	<0.2	—	<0.2	—
IV	Fat Oil	A 21.4	<0.2	—	<0.2	—
		B 20.1	<0.2	—	<0.2	—
V	Bean Product	A 63.3	<0.2	—	<0.2	—
		B 62.2	<0.2	—	<0.2	—
VI	Fruit	A 169	<0.2	—	<0.2	—
		B 164	<0.2	—	<0.2	—
VII	Vegetable (Green)	A 45.2	<0.2	—	<0.2	—
		B 52.6	<0.2	—	<0.2	—
VIII	Vegetable (White) Seaweed	A 193	<0.2	—	<0.2	—
		B 208	<0.2	—	<0.2	—
IX	Beverage	A 129	<0.2	—	<0.2	—
		B 150	<0.2	—	<0.2	—
X	Fin-fish Crustacean Molluscs	A 62.9	0.70	0.044	<0.2	—
		B 69.9	0.73	0.051	<0.2	—
XI	Meat Egg	A 99.3	0.39	0.039	<0.2	—
		B 108	<0.2	—	<0.2	—
XII	Milk Milk-Product	A 126	<0.2	—	<0.2	—
		B 136	<0.2	—	<0.2	—
XIII	Cooked Meal	A 6.0	0.65	0.004	<0.2	—
		B 14.2	0.20	0.003	<0.2	—
Total		A 1554.6		0.087		—
		B 1640.9		0.054		—

A: In March B: In May

Table 3. Estimated Daily Intake of *N*-Nitroso Compounds (the Duplicate Portion Method)

	Date	Consumption (g/day)	NDMA		NDEA	
			Conc. (ppb)	Intake (μ g/day)	Conc. (ppb)	Intake (μ g/day)
Institution I	6/21	1316	0.56	0.74	<0.2	—
	22	1258	0.81	1.01	<0.2	—
	23	1142	0.57	0.65	<0.2	—
	24	1390	0.33	0.46	<0.2	—
	25	1426	0.81	1.15	<0.2	—
	26	1314	<0.2	—	<0.2	—
	27	1290	<0.2	—	<0.2	—
0.57 $\pm$ 0.42*						
Institution M	6/21	1483	<0.2	—	<0.2	—
	22	1978	<0.2	—	<0.2	—
	23	1705	0.55	0.94	<0.2	—
	24	1750	<0.2	—	<0.2	—
	25	1744	0.38	0.66	<0.2	—
	26	2085	0.47	0.98	<0.2	—
	27	1574	<0.2	—	<0.2	—
0.37 $\pm$ 0.44*						
Ordinary home	6/21	1840	0.98	1.81	<0.2	—
	22	1609	<0.2	—	<0.2	—
	23	1957	<0.2	—	<0.2	—
	24	2229	0.41	0.91	<0.2	—
0.68 $\pm$ 0.76*						

*: Mean $\pm$ S.D.**Table 4.** Formation of Dimethylnitrosamine in Artificial Gastric Juice and Foods (the Market-basket Method)

Mixed group*	Daily intake (μ g/day)			
	March		May	
	Treated	None	Treated	None
(VII+VIII)+(X)	0.10	0.04	0.13	0.05
(VII+VIII)+(XI)	—	—	0.08	0.04
(VII+VIII)+(X+XI)	0.22	0.09	0.11	0.05

*: VII, Vegetable (green); VIII, Vegetable (white) and seaweed; X, Fin-fish, crustacean and molluscs; XI, Meat and egg

酸: 和光純薬工業(株)製試薬特級

ジクロロメタン, 無水硫酸ナトリウム: 和光純薬工業(株)製残留農薬試験用

NDMA 及び NDEA 標準溶液: NDMA (和光純薬工業(株)製 GC 用), NDEA (和光純薬工業(株)製和光特級)をジクロロメタンに溶解してそれぞれ 0.1, 0.3 及

び 0.5 ppm になるように調製した。

3. 装 置

Thermal Energy Analyzer 付ガスクロマトグラフ:
(株)島津製作所製 GC-6A

4. 試験溶液の調製

Yamamoto ら¹¹⁾の方法に準じて行った。

試料 50 g を 1 L の蒸留フラスコにとり, 精製水 150 ml と水酸化カリウム 30 g を加え水蒸気蒸留する。受器にあらかじめ 1 N 塩酸 10 ml を入れ冷却器の先端をこの中に浸す。受器中の液量が 200 ml になったとき蒸留をやめ, これを 500 ml の分液漏斗に移し炭酸カリウム 20 g を加え, ジクロロメタン 200 ml で 2 回抽出した。ジクロロメタン層は無水硫酸ナトリウムで脱水後, ロータリーエバポレーターを用い 35° 以下で 5~8 ml まで減圧濃縮し, さらに窒素気流下で 1 ml に濃縮し試験溶液とした。

5. 定量操作

試験溶液及び空試験溶液 5 μ l を Thermal Energy Analyzer 付 GC に供し, Table 1 の条件で NDMA, NDEA を測定した。また定量はピーク高による絶対検

量線法により行った。

結果及び考察

1. 日常食品からの NDMA, NDEA の一日摂取量

1) マーケットバスケット方式

Table 2 に示したとおり NDMA は動物性食品群にのみ検出された。その値は魚介類 (X 群), 卵肉類 (XI 群), 加工食品類 (XIII 群) でそれぞれ 0.70~0.73 ppb, 0.39 ppb, 0.2~0.65 ppb と魚介類がわずかに高かったが, その合計一日摂取量は 0.087 μ g (3 月), 0.054 μ g (5 月) と少なかった。一方, NDEA はいずれの食品群からも検出されなかった。

2) 陰膳方式

Table 3 に示したように NDMA の一日摂取量は献立内容によりかなりの差がみられ, 動物性食品, 特に魚を使った献立に比較的多くみられた。その平均値は施設 I, 施設 M, 一般家庭でそれぞれ 0.57 μ g, 0.37 μ g, 0.68 μ g と施設間及び一般家庭との間に, ほとんど差はみられなかった。しかしマーケットバスケット方式での調査結果より高い値を示したが, これはマーケットバスケット方式では食品群毎に群別され, 動物性食品と野菜類が混合されない状態で分析したのに対し, 陰膳方式ではこれらの食品が調理時から混合されているために NDMA が生成したものと思われる。またこれらの値は著者が昭和56年度に病院の食事について延べ14日間にわたって調査した結果の平均一日摂取量 0.78 μ g とほぼ同様の値であった*。

今回の NDMA, 一日摂取量調査結果はこれまでに机上計算方式で算出されている日本人の平均一日摂取量 (1~2 μ g) をかなり下まわっていた⁸⁾。一方, NDEA はいずれの献立からも検出されなかった。

2. 人工胃液中における NDMA の生成

NDMA の前駆物質を多く含む食品群のみを同時に摂取した場合を想定して, 野菜類 (VII 群, VIII 群) と魚介類 (X 群) 及び卵肉類 (XI 群) を平均胃内容排出時間の2時間, 人工胃液で処理した。その結果は Table 4 に示したとおり野菜類と魚介類, 野菜類と魚介類に卵肉類を混合したものから NDMA が検出され, その一日摂取量は 0.10~0.22 μ g で各群毎に個別に分析した場合 (0.04~0.05 μ g) より高い傾向がみられた。しかし日常の食生活では各食品群を同時に摂取しているため, 陰膳方式で調製した試料の朝食, 昼食, 夕食を各食事ごとに人工胃液で処理して分析した結果, Table 5 に示したとおり, NDMA の一日摂取量平均値は施設 I で 0.59 μ g, 施設 M で 0.28 μ g, 一般家庭で 0.93 μ g と, 試料を直接分析した場合とほぼ同様の値であった。なお, これらの実験での反応溶液の pH は 2.1~4.2 の範囲内で, いずれも NDMA 生成に適していた。

Table 5. Formation of Dimethylnitrosamine in Artificial Gastric Juice and Foods (the Duplicate Portion Method)

	Date	Intake (μ g/day)	
		Treated	None treated
Institution I	6/21	0.60	0.74
	22	0.82	1.01
	23	1.01	0.65
	24	0.42	0.46
	25	0.72	1.15
	26	0.57	<0.3
	27	<0.3	<0.3
		0.59 $\pm$ 0.30*	0.57 $\pm$ 0.42*
Institution M	6/21	0.38	<0.3
	22	<0.3	<0.3
	23	<0.3	0.94
	24	<0.3	<0.3
	25	0.80	0.66
	26	0.78	0.98
	27	<0.3	<0.3
		0.28 $\pm$ 0.35*	0.37 $\pm$ 0.44*
Ordinary home	6/21	2.28	1.81
	22	0.35	<0.3
	23	<0.3	<0.3
	24	1.09	0.91
		0.93 $\pm$ 0.87*	0.68 $\pm$ 0.75*

*: Mean $\pm$ S.D.

Table 6. Formation of Dimethylnitrosamine in Vegetable Foods and Fishes (included crustacean) or Meats (included egg) Mixture on Heating

	Daily intake (μ g/day)			
	March		May	
	Treated	None	Treated	None
Mixed group*				
(VII+VIII)+(X)	0.23	0.04	0.08	0.05
(VII+VIII)+(XI)	0.03	—	0.03	0.04
(VII+VIII)+(X+XI)	0.14	0.09	0.25	0.05

*: VII, Vegetable (green); VIII, Vegetable (white) and seaweed; X, Fin-fish, crustacean and molluscs; XI, Meat and egg

以上のように DMA を多く含む食品群と亜硝酸塩を多く含む食品群が実験開始まで混合されないマーケットバスケット方式の試料を用いた人工胃液中での実験では NDMA の増加が認められたが, 試料の調製時からすべての食品が混合されている陰膳方式では NDMA の増加は認められなかった。従って日常の食事に含まれる程

* 第 19 回全国衛生化学技術協議会年会 (1982)。

度の DMA 及び亜硝酸塩の存在では *N*-ニトロソ化反応の至適 pH (3.4) 条件下でも、ほとんど反応が進まないためと思われる。さらに今回の結果は酒井ら⁶⁾の報告しているウサギを用いた実験で亜硝酸ナトリウムをヒトの平均一日摂取量の 1,400 倍 (100 mg/kg), また DMA についても 100 mg/kg と大量投与した場合でも NDMA の生成が 0.1% に満たなかったことと一致する。

これらのことから唾液によって供給される亜硝酸 (塩) を考慮しても胃中での *N*-ニトロソ化はほとんど起こらないと言えよう。

3. 食品の加熱による NDMA, NDEA の生成

N-ニトロソ化合物の前駆物質を多く含む食品群だけを混合して調理時の条件に近い 90° で加熱を行った場合の *N*-ニトロソ化合物の生成を調査した結果, Table 6 に示したように 5 月に調査した野菜類 (VII 群, VIII 群) と卵肉類 (XI 群) を混合した場合を除き, かなりの NDMA の生成が認められた。特に 3 月に調査した野菜類と魚介類 (X 群) を混合後加熱した場合には検体をそのまま分析した場合の一日摂取量 0.04 μ g に対し, 約 6 倍の 0.23 μ g に増加した。

この実験は DMA と亜硝酸塩を多量に含む食品だけを混合後, 通常の加熱調理時間よりもかなり長く加熱するという特殊な条件で行っているが, それでも NDMA の一日摂取量は最大で 0.25 μ g と低い値であった。

ま と め

日常食品からの NDMA の一日摂取量は 0.054~1.81 μ g/day でこれまでに推定されてきた値 (1~2 μ g/day)^{8,9)}を下まわっていた。また, 人工胃液を用いた実験から日常の食事に含まれる程度の亜硝酸塩及び DMA の存在では *N*-ニトロソ化に好適な強酸性の胃中においても NDMA の生成はほとんど無いと考えられる。NDMA の前駆物質を多く含む食品だけを混合後加熱し

た場合の NDMA の一日摂取量は 2~6 倍に増加した。

謝 辞

本研究の実施にあたり有益な御助言をいただいた国立衛生試験所副所長, 谷村顕雄博士ならびに TEA-GC による *N*-ニトロソ化合物の分析に御協力いただいた同食品添加物部の諸氏に深謝いたします。なお, 本研究は昭和57年度の厚生省がん研究助成金によるものである。また本研究の一部は第 19 回全国衛生化学技術協議会年会 (1982年 9 月, 京都) において発表した。

文 献

- 1) Druckrey H., Preussmann R.: Naturwissenschaften. **49**, 111~112 (1962).
- 2) Sandar, J.: Arch. Hyg. **151**, 22 (1967).
- 3) Sandar, J., Schweinsberg, F., Menz, H.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **349**, 1691~1697 (1968).
- 4) Sandar, J., Seif, F.: Arzneimittel. Forsch. **19**, 1091 (1969).
- 5) Sen, N. P., Smith, D. C., Schwinghamer, L.: Fd. Cosmet. Toxicol. **7**, 301~307 (1969).
- 6) 酒井綾子, 谷村顕雄: 食衛誌. **12**, 170~176 (1971).
- 7) Lane, R. P., Bailey, M. E.: Fd. Cosmet. Toxicol. **11**, 851~854 (1973).
- 8) Maki, T., Tamura, Y., Shimamura, Y., Naoi, Y.: Bull. Environm. Contam. Toxicol. **25**, 257~261 (1980).
- 9) Spiegelhalder, B., Eisenbrand, G., Preussmann, R.: Oncology **37**, 211~216 (1980).
- 10) “第十改正日本薬局方” p. 734 (1981).
- 11) Yamamoto, M., Yamada, T., Tanimura, A.: Fd. Cosmet. Toxicol. **18**, 297~299 (1980).