



野菜中での硝酸塩及び亜硝酸塩の集積と亜硝酸塩の毒性

王子, 善清
高, 祖明
脇内, 成昭
岡本, 三郎
河本, 正彦

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 16(1):291-296

(Issue Date)

1984

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCOI)

<https://doi.org/10.24546/00225542>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225542>



野菜中での硝酸塩及び亜硝酸塩の集積と亜硝酸塩の毒性*

王子善清**・高 祖明**・脇内成昭**・岡本三郎**・河本正彦***

(昭和58年8月10日受理)

ACCUMULATION OF NITRATE AND NITRITE IN VEGETABLES AND NITRITE TOXICITY

Yoshikiyo OJI, Somei KOH, Nariaki WAKIUCHI, Saburo OKAMOTO, and Masahiko KOMOTO

Abstract

Influences of nitrite (0-10mM) in culture solution on the growth and the nitrite content of 8 species of vegetables were examined. In general, nitrite supply reduced their growth except for cucumber and cabbage. The order of decreasing sensitivity to nitrite toxicity was as given below; spinach, head lettuce, garland chrysanthemum, Japanese radish, carrot, and Chinese cabbage. Nitrite-N was found to the extent of 15 ppm (per fresh weight) at the maximum in vegetables grown with nitrite, though it could not be detected in those grown with nitrate.

Contents of nitrite and nitrate, and these fluctuations during storage were compared between edible parts of vegetables from conventional farming and those from so-called 'organic farming'. In the samples from both types of farming, nitrate contents varied to a great extent with the plant species, especially in leaf vegetables nitrate-N was accumulated in abundance (300-600 ppm). Nitrite-N was not detected in any sample used. In the course of storage of samples in dark at 7°C, any significant fluctuation in their nitrate-N contents could not be found, and nitrite-N did not appear throughout the storage. Nitrate-N contents were generally higher in vegetables from conventional farming, whereas those in edible burdock and Japanese radish were higher in vegetables from 'organic farming'.

The information obtained led us to the following conclusion; 1) vegetables grown in medium containing nitrite must be given special attention to use them for food because of great possibilities of the presence of toxic nitrite, and 2) since vegetables from 'organic farming' also contain considerable amounts of nitrate, an adequate depression of nitrification in soils is required for the production of vegetables containing less nitrate.

1. 緒 言

毎日の我々の食卓を飾る野菜類は各種のビタミン、ミネラルの給源として食生活の上から欠くことのできない重要な保健食品である。それらは大部分が畑土壤に生育したものであり、そこでは無機態窒素の大部分は硝酸塩として存在した。たとえ硝酸塩を含まない窒素肥料を施用した場合でも、硝酸化成作用により速やかに硝酸塩が生成する。したがって畑土壤に生育する植物中には常に硝

酸塩が見出される。植物に吸収された硝酸塩は体内でまず亜硝酸に、ついでアンモニアにまで還元されたのち、タンパク質・核酸などの生命活動にとって不可欠な化合物に同化される。還元中間生成物である亜硝酸塩は動植物に対して極めて有毒である。

硝酸塩自体は一般に害作用を呈さない。硝酸塩が有害になるのは、これが何らかの原因により亜硝酸塩に還元されたときのみである。——したがって、「硝酸塩中毒 (nitrate toxicity)」という表現は厳密には「亜硝酸塩中毒 (nitrite toxicity)」と呼ぶのが正しい。この点に関して、植物は、硝酸還元により生成する亜硝酸が体内に蓄積して植物自体に障害を及ぼすことがないように亜硝酸生成を自動的に調節している²⁾。しかし、人間を含め動物ではそのような自動調節がはたらかない。

* 本研究は昭和57年度特定研究「食糧資源の生産・加工・流通及び消費の各過程における外因性並びに内因性有害物質に関する研究」(代表者河本正彦)の一部である。

** 植物栄養学研究室

*** 農産製造学研究室

硝酸塩自体は無害であるとはいえ、硝酸塩の異常に集積した飼料を摂取した動物（特に反すう動物）では、胃中微生物の作用による亜硝酸生成を通して硝酸塩の毒性が現われる事例が多数報告されている。ヒトでは摂取された硝酸塩（その80%以上が野菜由来である）の65%は24時間以内に尿中に排泄されるが、残りの大部分は腸管から吸収され血液中に入って全身を循環し、その一部は唾液として口腔内に放出される。そこでは微生物によって硝酸塩が容易に亜硝酸に還元され、これが胃の中に入る（胃中では硝酸塩の還元がほとんど起こらない）という注目すべき事実が最近明らかにされた。^{10, 12)}この口腔内微生物による亜硝酸生成量のヒトの全亜硝酸吸収量に占める割合が77%とも95%とも推定されている。さらに亜硝酸はアミン類と反応して、発がん性・催奇性・突然変異誘発性のあるニトロソアミン及びその類縁化合物を生成することがよく知られており、しかも生体内では胃内がその反応が起こるのにもっとも適した条件を具えているという。¹²⁾野菜及び飼料中での亜硝酸塩並びにその前駆物質である硝酸塩集積の低減化が叫ばれるゆえんにはまさにこのような背景があるのである。

このような視点から、植物性食品中での硝酸塩及び亜硝酸塩集積に関する研究も近年増加しつつあり、^{3-8, 13, 18)}また一般の社会的関心も強くなってきている。安心な食品・飼料を確保するという立場から、化学肥料の施用を危惧する人達によって、いわゆる“有機農業”による野菜や畜産物の生産も全国各地で試みられている。⁹⁾

本研究は、1) 窒素肥料として硝酸塩と亜硝酸塩の供給割合を変えて各種野菜を生育させ亜硝酸の毒性を調べること、及び2) 青物市場より購入した野菜といわゆる“有機農業”により生産された野菜を供試して、硝酸塩・亜硝酸塩の集積状況及び貯蔵中におけるこれらの消長を比較調査すること、を目的として行ったものである。以下にその結果の概要を報告する。

2. [実験1] 各種野菜の生育に及ぼす亜硝酸塩の影響

実験材料及び方法

葉菜類としてホウレンソウ、シュンギク、ハクサイ、キャベツ、サラダナを、果菜類としてキュウリを、根菜類としてダイコンとニンジン³⁾を供試した。それぞれの種子をバーミキュライトを充てんしたビニールポットに播種し、発芽後10日間はガラス室（11月下旬に実施）で、水道水を与え、その後昼間25℃、夜間20℃、日長を12時間に設定したファイトトロン（12,000ルクス）に移し、第1表に示した基本培養液の10倍希釈液を毎日各ポットに50mlずつ与えて1週間生育させた。ほぼ均一に生育し

第1表 基本培養液の組成

使用塩類	濃度 (mM)
NaNO ₃	10
KH ₂ PO ₄	1
K ₂ SO ₄	2
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2
CaCl ₂ · 2H ₂ O	2
Fe · Na-EDTA · H ₂ O	0.02
Mn SO ₄ · 5H ₂ O	0.002

pH は 6.4 に調節した

たそれぞれの植物に、次の処理を行った。すなわち、総窒素濃度を10 mMとして硝酸塩と亜硝酸塩の割合を10:0, 8:2, 5:5, 0:10に調節した培養液（第1表）を与えた。2週間の処理期間のあと、各処理区の地上部を採取して、新鮮重と硝酸塩及び亜硝酸塩の含有量を測定した。

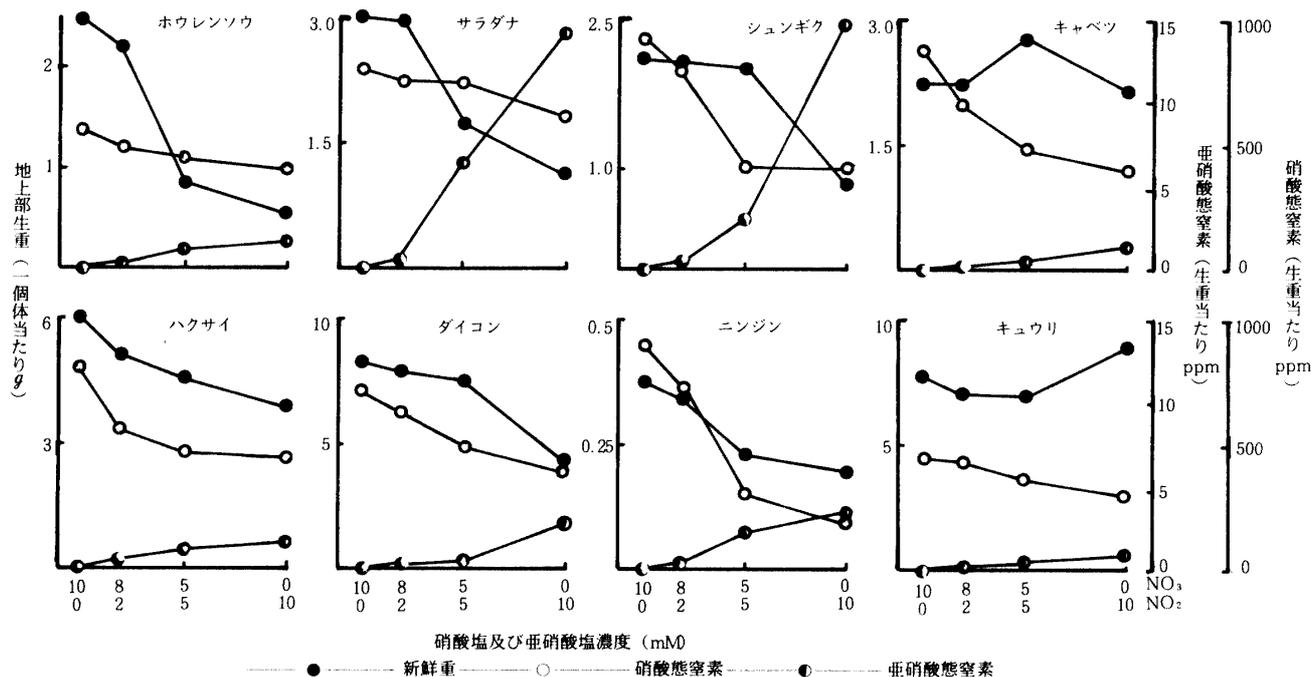
硝酸塩及び亜硝酸塩の定量は以下のように行った。新鮮重の2倍の体積の0.02N NaOHを加えて乳鉢で十分磨砕し、10,000gで15分間遠心分離を行った上澄液を供して、Woolley法により硝酸態窒素を定量した。亜硝酸態窒素は0.02N NaOH抽出液5 mlに1% (w/v)スルファニルアミド溶液（1.5N HCl中）2.5 mlと0.02% (w/v) N-(1-ナフチル)-エチレンジアミン塩酸塩溶液2.5 mlを加え、遠心分離（6,000g, 5分間）のあと540nmで比色定量した。着色した試料溶液の場合は、その干渉を補正するために別に同量とって1%スルファニルアミド溶液（これは除タンパクの役目を兼ねている）を加えて遠心分離を行ったものをブランクとした。

実験結果

1) 生育に対する亜硝酸塩の影響

第1図に示したように亜硝酸塩濃度の増大につれて、一般に生育が劣った。供試野菜の亜硝酸毒感受性を総合的に評価すると、ホウレンソウ>サラダナ>シュンギク>ダイコン>ニンジン>ハクサイの順であった。ホウレンソウでは10mM NaNO₂区は対照区（10mM NaNO₃区）の約25%、ハクサイでは約70%に低下した。ただしキュウリとキャベツでは、亜硝酸塩のみの処理区でも、亜硝酸毒性が現われなかった。

2) 硝酸塩及び亜硝酸塩の含有量に対する亜硝酸塩の影響



第1図 硝酸塩と亜硝酸塩の濃度が各種野菜の生育並びに硝酸態及び亜硝酸態窒素含量に及ぼす影響

供給硝酸塩の割合を増すといずれの植物でも硝酸塩含量が増大した(第1図)。硝酸塩のみの供給区についてみると、硝酸態窒素としてホウレンソウ、キュウリでは500ppmに、その他のものでは700~1000ppmにも達した。これに対して、亜硝酸塩のみの供給区の亜硝酸態窒素含量は極めて低く、多いものでシュンギク、サラダナの15ppm程度・ニンジン、ダイコンでは2~4ppm、その他のものでは、1.5ppm以下にすぎなかった。硝酸塩のみの供給区には亜硝酸態窒素が認められなかったのに対して、亜硝酸塩のみの供給区には、いずれの植物でも200~500ppmの硝酸態窒素が集積した。

3. [実験2] 各種野菜における硝酸塩・亜硝酸塩の集積

実験材料及び方法

葉菜類としてシュンギク、サラダナ、ホウレンソウ、ハクサイ、レタス、キャベツ、ネギを、果菜類としてピーマン、トマト、キュウリを根菜類としてダイコン、ニンジン、ゴボウを供試した。これらの野菜類は青物市場および有機農業研究会(兵庫県市島町)より購入した。市場からは入荷直後のものまた同研究会からは前日に収穫したものについて、一般に食用に供する部位を供試して、硝酸塩及び亜硝酸塩を定量した。また7°Cの低温室(暗所)に新聞紙を巻いて1週間及び3週間貯蔵したものについても測定した。

定量方法は〔実験1〕の場合と全く同様に行った。

実験結果

1) 硝酸塩及び亜硝酸塩の集積性の違い

硝酸態窒素含量(第2表)は市場より購入したものについては、シュンギク>サラダナ>ホウレンソウ>ハクサイ>レタス>ゴボウ=ネギ=ダイコン=キャベツ>ニンジン>ピーマン>キュウリ>トマトの順であった。

有機農業野菜については、シュンギク>サラダナ>ホウレンソウ>ゴボウ>ダイコン=ハクサイ>レタス>ニンジン>キャベツ>ネギ>ピーマンの順であった。

いずれの試料についても、一般に葉菜類(特に緑色野菜)が高く、根菜類これにつき、果菜類では少なかった。調査した野菜の中で硝酸塩の検出されないものはないが、種類によってその集積性に著しい違いが認められた。最低のトマトの1.1ppmから最高のシュンギクの683ppmまで、620倍ものひらきがあった。

なお、亜硝酸塩はすべての試料について検出されなかった。

2) 貯蔵中における消長

低温室中で保存した場合には、3週間の貯蔵中において硝酸態窒素含量が有意な変化を示さなかった。また亜硝酸態窒素が貯蔵中に検出されるようになることもなかった。

3) 市場野菜と有機農業野菜の硝酸態窒素含量の比較

一般に市場野菜の硝酸態窒素含量が高く、特に比較的硝酸塩を集積しない野菜において特に高くなる傾向がうかがえる。たとえばネギでは、1.9ppmに対して164ppmと86倍に、ピーマンでは、1.2ppmに対して16ppmと14倍に、キャベツでは53ppmに対して153ppmと2.9倍に達した。

しかし有機農業野菜の方が高いものもあった。ゴボウでは168ppmに対して320ppm, 大根では159ppmに対して268ppm, などはその例である。

硝酸塩集積性の強い緑色野菜(シュンギク・サラダナ・ハウレンソウ)では市場のものと有機農業のものとは大きな違いがみられなかった。市島町有機農業研究会で

は化学肥料を一切施用していないが、このように相当な量の硝酸態窒素が収穫野菜中に認められたことは、当地の土壤中ではアンモニア化成作用並びに硝酸化成作用が極めて活発に進行しているものと推察される。

4. 考察及び結語

〔実験1〕では、野菜の生育培地に有毒な亜硝酸塩を添加し、その毒性状況を比較したのであるが種類によって亜硝酸抵抗性に著しい違いが観察された。大部分の野菜では亜硝酸塩の添加により強い生育低下が認められたが、キュウリとキャベツでは有意な低下が認められなかった。以前我々はイネ、オオムギ、キュウリの亜硝酸障害感受性を比較検討した研究の中で、イネは強い亜硝酸障害を受けるのに対して、オオムギとキュウリは耐亜硝酸性が強く、外観上異常なく生育することを認め、さらにその原因は根における亜硝酸同化能の差異に起因していることを報告した。元来、植物は硝酸塩を有効な窒素栄養源として同化利用できるのであるから、亜硝酸同化能も持ち合わせているはずである。第1図からわかるように、硝酸塩のみの供給区には亜硝酸塩がほとんど検出されず硝酸の還元によって生成した亜硝酸は活発に同化利用されているのであるが、培地に亜硝酸塩を添加した場合は事情が異なる。亜硝酸塩の増大とともに体内亜硝酸含量が高まり、特にサラダナ、シュンギクではかなりの集積を招く。その他のものでもわずかではあるが亜硝酸が見出される。亜硝酸塩が土壤中に存在する場合にはそこに生育した野菜中に亜硝酸が検出される可能性が高い。土壤中での亜硝酸塩の集積はアルカリ土壌ではよく観察されることであり、またそうでなくても野菜栽

第2表 各種野菜における硝酸態窒素の集積*

種類	栽培法	産地と出処	硝酸態窒素含量 (生重当たりppm)
葉菜類			
シュンギク	慣行**	兵庫県	683
	有機農業	兵庫県市島町	597
サラダナ	慣行	京都市	517
	有機農業	兵庫県市島町	390
ハウレンソウ	慣行	兵庫県西宮市	368
	有機農業	兵庫県市島町	355
ハクサイ	慣行	長野県浅間高原	327
	有機農業	兵庫県市島町	245
レタス	慣行	兵庫県三木市	230
	有機農業	兵庫県市島町	126
ネギ	慣行	兵庫県	164
	有機農業	兵庫県市島町	1.9
キャベツ	慣行	長野県	153
	有機農業	兵庫県市島町	53
果菜類			
ピーマン	慣行	宮崎県	16.4
	有機農業	兵庫県市島町	1.2
キュウリ	慣行	香川県	12.0
トマト	慣行	愛媛県	1.1
根菜類			
ゴボウ	慣行	青森県	168
	有機農業	兵庫県市島町	320
ダイコン	慣行	岡山県八来村	159
	有機農業	兵庫県市島町	268
ニンジン	慣行	北海道	60
	有機農業	兵庫県市島町	87

註 *すべての試料について亜硝酸態窒素を定量したが検出されなかった

**青物市場より購入したもの

培において土壌酸性を中和するために石灰等で土壌pHを上げ、そこに野菜を栽培する場合があるが、このとき石灰施用に慎重さを欠いた場合には、亜硝酸菌の活動よりも硝酸菌の活動の方が強く抑えられるため土壌中に亜硝酸塩が集積する場合があります、そのような土壌に栽培した野菜類特に間引菜のような生育初期のもの（一般に生育初期のものは亜硝酸同化能が弱い）をそのままで食用に供する場合、特に注意が必要である。

しかし通常的环境下で生育した野菜中には亜硝酸が検出されることが稀である。〔実験2〕で調べた限りでは、供試したいずれにも亜硝酸塩が検出されなかった。したがって問題は多量に含有されている硝酸塩から貯蔵中及び調理過程あるいは体内に入ってから亜硝酸が生成する場合である。正常な成人の胃は胃酸の分泌によって強酸性であるため、硝酸が亜硝酸に還元されることが少ない。ただ3ヶ月未満の乳児では塩酸の分泌が不足しており、そのため胃及び十二指腸において微生物による還元が起り重大な事態を招く危険性（いわゆるブルーベビー病）がある。ブルーベビー病は、血中メトヘモグロビンの測定で診断ができ、メチレンブルーあるいはビタミンC（アスコルビン酸）の注射で回復し、もはや致命的なものではないけれども、最近市販されている乳児食用の野菜の缶詰の製造にあたっては原料野菜中の硝酸塩含量を十分吟味しておく必要がある。また最近、成人において野菜由来の硝酸塩が口腔内微生物によって亜硝酸に還元されて、唾液や他の食品とともに胃内に入ることが明らかにされており、しかもこの量は加工食品由来の亜硝酸¹⁰⁾の数倍にも達するという。野菜中の硝酸塩はすべて水に可溶性の状態が存在しており、煮たりゆでたりすることによって、そのほとんどが容易に溶け出してしまうが、サラダなどとして生で食べる場合も多いので特にこの点を注意しておきたい。亜硝酸それ自体の変異原性や発がん性が動物実験において証明されていないとはいえ、上述の理由から野菜の栽培にあたっては、窒素肥料は必要最小限にとどめるべきであり、ぜいたく吸収による硝酸塩の集積を極力避けるべきである。

野菜類に含有される硝酸塩の潜在的な有害性を恐れるあまり、野菜類の摂取を制限することは、当を得た食生活ではない。野菜類にはビタミンCやビタミンAが豊富に含まれているのである。名武によれば、ビタミンCはたとえ亜硝酸が体内に生成しても、これがアミン類より先に亜硝酸と反応してこれを壊してしまい、発がん性を防止する、その上に、ビタミンCはすでに生成した発がん物質の変異原性やがん原性を消失あるいは減少させたりする、またビタミンAにも抗がん作用がある、という。

したがって健康の維持、増進には野菜類やかんきつ類をたくさん摂ることを心掛けるべきであると指摘している。

それでは、硝酸塩含有培地に生育した野菜類——畑土壌では、硝酸塩が無機態窒素の主要な存在形態であり、そこに生育したものには当然硝酸塩が含まれる——のビタミンC含有量がどうかという問題であるが、我々は以前水耕栽培したダイズおよびインゲン幼植物における硝酸還元系とアスコルビン酸化酵素系との関係を調べた実験の中で、次のような事実を報告した。窒素栄養源として硝酸態窒素を与えた方がアンモニア態窒素を与えた場合よりも総アスコルビン酸含量が高く、しかも還元型アスコルビン酸の割合も高かった。窒素給源の差異にもとづくこれらの違いはアスコルビン酸化酵素活性の強弱ともよく符合していた。同様な事実はAmbergerらによっても、ササゲ、ヒマワリ、トウモロコシについて報告されている。したがって硝酸塩を与えて生育させた（あるいは硝酸塩を含む培地に生育した）野菜中のビタミンC含量の低下を懸念する必要がないように思われる。

本実験からわかるようにたとえ一切の化学肥料の供給を断っても無菌条件下でない限り硝酸塩は植物体内に必ず見出されるものである。多肥料は多量の硝酸塩集積に結びつく。最近、市場に出回っている有機農業野菜にも、当初我々が予想した以上の硝酸塩が集積していたが、低硝酸塩含有野菜の生産のためには硝酸化成作用の抑制を考える必要があるのではないだろうか。

5. 要 約

まず〔実験1〕として、培養液中の亜硝酸塩（0～10 mm）が8種類の野菜の生育及び亜硝酸含量に及ぼす影響を調べた。次に〔実験2〕として、青物市場より購入した野菜といわゆる“有機農業”により生産された野菜を供試して、それぞれの可食部の硝酸塩と亜硝酸塩の含量及び貯蔵中におけるころらの消長を比較調査した。

〔実験1〕：亜硝酸塩の供給は一般に野菜の生育を低下させた。しかしキュウリとキャベツでは影響がなかった。亜硝酸毒性感受性はホウレンソウ>サラダナ>シュンギク>ダイコン>ニンジン>ハクサイの順であった。硝酸塩で生育させられた野菜には、亜硝酸が検出されなかったが、亜硝酸塩を与えられたものでは最高15 ppm（生重当り）程度の亜硝酸態窒素が認められた。

〔実験2〕：市場野菜及び有機農業野菜のいずれにおいても、硝酸態窒素含量は種類によって著しい違いが認められた。葉菜類には特に多量蓄積した（300～600ppm）。亜硝酸はすべての試料について検出されなかった。7℃

暗所に貯蔵した場合、硝酸態窒素含量に有意な変化が認められなかったし、また貯蔵中に亜硝酸態窒素が出現することもなかった。一般に市場野菜の硝酸態窒素含量が高かったが、ゴボウとダイコンでは有機農業野菜の方が高かった。

以上より、次のことが結論される。1) 亜硝酸塩が存在する培地中に生育した野菜には有害な亜硝酸が含まれている可能性が高いので、食用に供する場合には、特に注意が必要である。2) いわゆる“有機農業”により生産された野菜中にも相当な量の硝酸塩が含まれているので、低硝酸塩野菜の生産のためには、硝酸化成作用の抑制が必要である。

謝 辞

本研究をとりまとめるにあたって、本学食品及び栄養化学研究室の名武昌人教授に貴重なご教示を頂いた。有機農業野菜の入手に当たって、農業経営学研究室の保田茂氏にお世話頂いた。また、高見敏子嬢には実験を行なうに当たって惜しめない協力を頂いた。記して深謝いたします。

文 献

- 1) AMBERGER, A. and M.M. El-FOULY: *Z Pflanzenernähr. Düng Bodenk.*, **105**, 37-49, 1964.
- 2) GUERRERO, M.G., J.M. VEGA and M. LOSADA: *Ann Rev Plant Physiol.*, **32.**, 169-204, 1981.
- 3) 原田基夫: 変異原と毒性, 第11集, 47-57, (株)フジ・テクノシステム, 東京, 1980.
- 4) 畑 明美: 食品工誌, **26**, 403-415, 1979.
- 5) 畑 明美・緒方邦安: 食品工誌, **25**, 30-36, 1978.
- 6) 畑 明美・緒方邦安: 食品工誌, **26**, 6-12, 1979.
- 7) 畑 明美・茶珍和雄・緒方邦安: 食品工誌, **26**, 30-38, 1979.
- 8) 早瀬達郎・安藤淳平・越野正義: 肥料と環境保全, 227-252, ソフトサイエンス社, 東京, 1976.
- 9) 飯沼二郎・保田 茂: 産直-むらとまちの連帯 113-133, ダイヤモンド社, 東京, 1978.
- 10) 石綿 肇・谷村顕雄: 変異原と毒性, 第11集, 58-71 (株)フジ・テクノシステム, 東京, 1980.
- 11) 伊沢悟郎・王子善清: 土肥誌, **38**, 418-422, 1967.
- 12) 中村好志: 変異原と毒性, 第11集, 30-38, (株)フジ・テクノシステム, 東京, 1980.
- 13) 中村武次郎: 農業および園芸, **58**, 587.-589.1983.
- 14) 名武昌人: 第1回 神大農学部公開講座テキスト (食生活の科学), 6-9, 1983.
- 15) 王子善清: 土肥誌, **47**, 6-7, 1976.
- 16) 王子善清・脇内成昭・伊沢悟郎: 土肥誌, **47**, 172-177, 1976.
- 17) 王子善清・岡本三郎: 神大農研報, **14**, 349-353, 1981.
- 18) RAUTER, W. and W. WOLKERSTORFER: *Z Lebensm. Unters. Forsch.*, **175**, 122-124, 1982.
- 19) WOOLLEY, J.T., G.P. HICKS and R.H. HAGEMAN: *Agr. & Food Chem.*, **8**, 481-482, 1960.
- 20) WRIGHT, M.J. and K.L. DAVISON: *Adv Agr*, **16**, 197-247, 1964.