

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580394

研究課題名(和文) 亜硝酸塩による豚肉製品のトランス脂肪酸生成：そのメカニズムと制御法の研究

研究課題名(英文) Mechanism and control of trans-fatty acid formation in pork meat processed with nitrite salt

研究代表者

河原 聡 (Kawahara, Satoshi)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：30284821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：ハムやソーセージなど、豚肉製品の加工時におけるトランス脂肪酸(TFA)生成の原因および制御法について研究を行った。その結果、食肉製品の発色剤である亜硝酸塩を高濃度に添加すると、豚肉中の不飽和脂肪酸をTFAに異性化する触媒として作用することが明らかになった。触媒として作用する濃度は、食肉加工で試料される濃度の5倍以上であった。また、原材料のpHが5.0より低くなると、亜硝酸塩濃度がより低い条件下でも触媒作用が認められた。本研究の結果から、亜硝酸塩の添加量および原料肉のpHを適正に管理することで、豚肉製品中のTFA生成量を十分に抑制し、製品の安全性を担保できると結論された。

研究成果の概要(英文)：We investigate formation of trans fatty acid (TFA) in pork products such as ham and sausage, and control points to prevent formation of TFA in meat products. Higher amount of sodium nitrite added as a color coupler could be a catalyst that isomerizes unsaturated fatty acids in pork to TFA. The concentration of nitrite in pork was above 5 times higher than normal concentration to process meats. In addition, the effect of nitrite on TFA formation was enhanced by decreased pH of pork meat lower than 5.0. As the results of this study, both amount of nitrite and meat pH were critical control points to regulate the formation of TFA in pork products, and the product would be kept safe from risk caused by TFA if those points were appropriately controlled.

研究分野：農学

キーワード：トランス脂肪酸 亜硝酸塩 pH 食肉加工 豚肉 食肉衛生

### 1. 研究開始当初の背景

トランス脂肪酸の過剰摂取は心疾患のリスクを高めることが明らかとなり、近年、食品中のトランス脂肪酸含量の高い食品を消費者が避ける傾向にある。畜産食品において、トランス脂肪酸は反芻動物由来の肉脂肪や乳脂肪に多く含まれており、牛肉や牛乳は主要なトランス脂肪酸の摂取源と考えられている。それに対し、豚肉はトランス脂肪酸をほとんど含まず、豚肉を主原料とする食肉製品は、トランス脂肪酸の摂取源とはなりにくいと考えられている。

韓国や台湾などのアジア諸国をはじめ、北南米や欧州の一部の国では、食品中トランス脂肪酸の含有量表示や含有量規制が始まっている。また、2010年3月、消費者庁から含有量表示に関する指針が示され、我が国でも食品中のトランス脂肪酸含量低減に向けて具体的なアクションが始まった。申請者らは、国内でもいち早くトランス脂肪酸の定量分析法の開発に取り組み、現在までに種々の食肉製品、乳製品中のトランス脂肪酸含量調査を実施してきた。さらに、この分析手法を用いて、食肉等に施される加工操作がトランス脂肪酸含量に及ぼす影響に関して検討してきた。それらの研究の中で、ハムやソーセージなどの食肉製品製造時に行われる塩漬の際に発色剤として添加される亜硝酸塩が、豚肉脂肪中のオレイン酸などの不飽和脂肪酸をトランス異性化する触媒作用を持つことを示唆する結果を得た。さらに我々は、予備的な検討において、遊離の亜硝酸の共存下において、70 程度の比較的低い温度の加熱でもトランス脂肪酸が生成することを示す結果を得た。これらの結果は、亜硝酸塩を用いた食肉の加工により豚肉製品のトランス脂肪酸含量が増加する可能性を示すものであった。

### 2. 研究の目的

現在のところ、上述したトランス脂肪酸の生成機構に関する知見はほとんど報告されておらず、食肉加工時における管理点やトランス脂肪酸生成の抑制法を示すことができない。本研究では亜硝酸塩によるトランス脂肪酸生成のメカニズムを明らかにし、トランス脂肪酸の生成を抑制できる食肉の加工・製造条件を見出すことを目的に、種々の検討を行った。

### 3. 研究の方法

実験は、豚背脂肪から溶媒で抽出した豚肉脂肪を用いて行った。豚肉脂肪 3.5 g に対して 6M  $\text{HNO}_3$  0.25 mL と 2M  $\text{NaNO}_2$  水溶液を 0.17 mL を加え、65 で 30 分間攪拌しながら加温した (亜硝酸処理区)。また、豚肉に硝酸カリウムと亜硝酸ナトリウムの混合物 ( $\text{KNO}_3:\text{NaNO}_2=5:1$ ) を終濃度 0,100 ppm, あるいは 1000 ppm となるように添加し、一晚塩漬した後、70 で 50 分間加温した試料、および豚肉に  $\text{HNO}_3$  0.43 mol および  $\text{NaNO}_2$  0.1 mol を添加したものを (硝酸カリウム/亜硝

酸ナトリウム混合物 5000 ppm 相当量), あるいは  $\text{HNO}_3$  8.64 mmol および  $\text{NaNO}_2$  1.92 mmol を添加したものを (硝酸カリウム/亜硝酸ナトリウム混合物 100 ppm 相当量) を 70 で 50 分間加温した肉試料を調製した。これらから Folch らの方法により総脂質を抽出した後、塩酸-メタノール法によるメチル化を行い、強極性カラムを装着したガスクロマトグラフによりトランス脂肪酸含量を測定した。

モデルソーセージを用いた検討では、豚ロース肉の赤身部分のみを切り分け、ミートチョッパーを用いて挽き肉にした。肉の重量に対して 2.0% となるように食塩を加えた。さらに肉の重量に対して最大 0.1% (1000 ppm) の亜硝酸ナトリウムを添加したものを、あるいは亜硝酸ナトリウムを 0.1% 添加した豚挽き肉の pH を 4.5, 5.0 あるいは 5.5 になるように、適宜、蒸留水で希釈した乳酸を肉重量の 10% となるように添加した塩漬豚ひき肉を調製した。これらを真空包装し、5 で 6 日間塩漬した。塩漬した後、78 の温湯中で 50 分間加熱した。これらから Folch らの方法により総脂質を抽出した後、塩酸-メタノール法によるメチル化を行い、強極性カラムを装着したガスクロマトグラフによりトランス脂肪酸含量を測定した。なお、pH 調整に起因してクッキングロス (加熱損失) に差異が認められたため、一部のデータは試料間の水分含量の差異を補正し、乾物重量当たりのトランス脂肪酸含量 (mg/100 g DM) を求めた。

また、NO 発生剤 (NOC5, 同人化学研究所) あるいは  $\text{NO}_2$  発生剤 (Carboxy-PTIO, 同人化学研究所) を用いた試験管内の実験により、NO および  $\text{NO}_2$  の何れが精製し豚脂 (ラード) からのトランス脂肪酸の生成を促進するか否かを検討した。

### 4. 研究成果

(1) 豚肉脂肪、オリーブ油のいずれにおいても、硝酸塩と亜硝酸塩の共存下での加熱により不飽和脂肪酸のトランス異性化が起こることが確認された。しかし、豚肉を硝酸カリウム/亜硝酸ナトリウム混合物と共に塩漬した試料では、いずれの添加量においてもトランス脂肪酸は検出されなかった (Fig. 1, 2)。

一方、硝酸カリウム/亜硝酸ナトリウム混合物の硝酸塩を硝酸に換えた場合、 $\text{HNO}_3$  0.43 mol /  $\text{NaNO}_2$  0.1 mol を添加したものでおいて微量のトランス脂肪酸が検出された (Fig. 3)。以上の結果より、高濃度の硝酸共存下、すなわち低 pH 条件下において、亜硝酸塩は豚肉脂質中にトランス脂肪酸を生成させることが示唆された。しかし、 $\text{HNO}_3$  8.64 mmol /  $\text{NaNO}_2$  1.92 mmol の条件下においてトランス脂肪酸の生成は確認されなかったことから、食肉製品の標準的な pH 条件下 (pH6.0 程度) において低濃度の亜硝酸塩が共存してもトランス脂肪酸が生成する可能性は低いと考えられた。

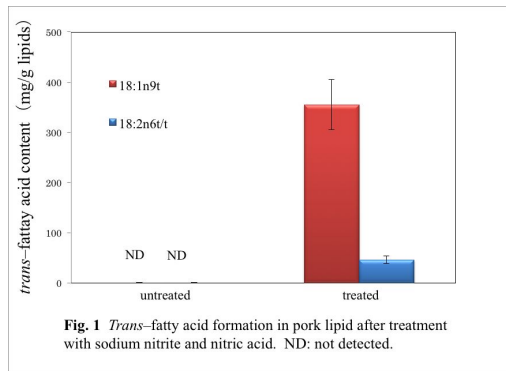


Fig. 1 *Trans*-fatty acid formation in pork lipid after treatment with sodium nitrite and nitric acid. ND: not detected.

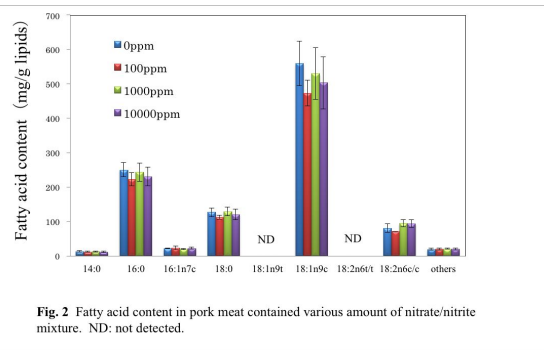


Fig. 2 Fatty acid content in pork meat contained various amount of nitrate/nitrite mixture. ND: not detected.

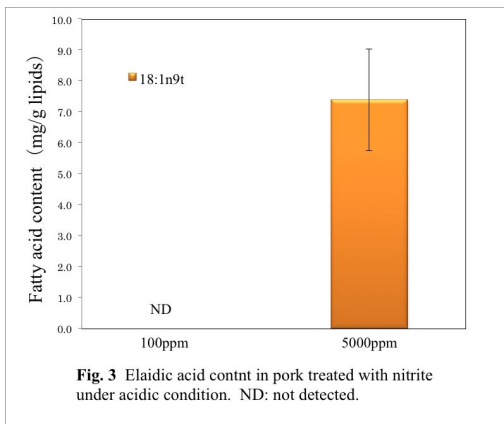


Fig. 3 Elaidic acid content in pork treated with nitrite under acidic condition. ND: not detected.

(2) 亜硝酸塩の添加量を 0~0.1% に調整した pH 未調整の加熱塩漬肉に含有されたトランス脂肪酸含量を Table 1 に示す。500 ppm (0.05%) を超える亜硝酸塩添加により、豚肉製品中のトランス脂肪酸含量が増加することが追認された。亜硝酸塩を添加しない場合と亜硝酸塩を 0.1% 添加した場合を比較すると、総トランス脂肪酸含量は約 1.6 倍に増加していた。今回検出されたトランス脂肪酸の量は、反芻動物に由来する肉から検出されるトランス脂肪酸と比較して、1/10 程度であり、健康への影響が懸念される含量ではなかった。しかしながら、加工条件に依存して豚肉中のトランス脂肪酸含量が増加するという事実から、加工工程は十分に管理されることが重要であると考えられた。

また、亜硝酸塩を 0.1% 添加した豚肉の pH を調整した場合、pH の低下に伴ってトランス脂肪酸含量は増大した (Table 2)。特に pH を 4.5 に調整した試料は、pH6.0 のそれと比較して、70 倍程度までトランス脂肪酸含量が増加した。豚肉製品の pH は、添加される調

味料や重合リン酸塩によりおおむね 6.0~6.5 程度に保たれており、本研究のような極端な pH 低下を起こすことは考えにくい。一方で、発酵食肉製品など、人為的に製品の pH を低下させて調製する製品のうち、亜硝酸塩を添加して製造されるものについては、トランス脂肪酸の生成量に注意を払う必要があることが示唆された。

Table 1 *Trans*-fatty acid content (mg/100 g meat) in pork cured for 6 days containing various amount of sodium nitrite.

Fatty acids	Concentration of nitrite (ppm)			
	0	100	500	1000
<i>trans</i> -16:1 n-7	0.21 ± 0.01	0.45 ± 0.11	1.51 ± 0.67	1.45 ± 0.88
<i>trans</i> -18:1 n-9	15.2 ± 2.3	± 1.8	14.2 ± 2.5	22.6 ± 3.9
total <i>trans</i> -fatty acids (mean value)	15.5	14.8	16.2	24.1

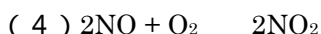
Table 2 *Trans*-fatty acid content (mg/100 g dry matter) in pH-adjusted pork cured for 6 days containing 0.1% (1000 ppm) of sodium nitrite.

Fatty acids	pH			
	4.5	5.0	5.5	6.0
<i>trans</i> -16:1 n-7	5.56 ± 1.52	1.22 ± 0.31	0.52 ± 0.18	tr* ± 0.33
<i>trans</i> -18:1 n-9	25.7 ± 7.3	1.78 ± 0.64	2.48 ± 1.14	0.32 ± 0.32
<i>trans</i> -18:1 n-7	2.29 ± 1.30	tr*	tr*	tr*
<i>trans</i> -18:2 n-6	1.85 ± 1.70	1.60 ± 0.72	0.18 ± 0.10	0.03 ± 0.26
total <i>trans</i> -fatty acids	36.8 ± 8.7	4.63 ± 1.06	3.35 ± 1.44	0.54 ± 0.47

\*tr: trace.

(3) 亜硝酸塩によるトランス脂肪酸生成の促進要因として、pH の関与が示唆された。食肉に添加された亜硝酸塩は、以下のような反応経路で、様々な窒素酸化物を生成する。

- (1)  $\text{NO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HNO}_2$
- (2)  $2\text{HNO}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}$
- (3)  $\text{N}_2\text{O}_3 \rightleftharpoons \text{NO} + \text{NO}_2$



これらの反応において、低 pH 条件は(1)の反応を促進する条件となる。なお、(3)の反応で生成する NO は食肉中のミオグロビンと結合し、塩漬肉色(ニトロソミオグロビン)の形成において重要な窒素酸化物として知られている。一方、(3)あるいは(4)で生成する遊離 NO<sub>2</sub> は活性酸素種の1つであり、種々の生体成分の二重結合と酸化付加反応(ニトロ化)を起こすことが知られている。また、遊離 NO<sub>2</sub> の生成は pH 3.0 において最大となる(pKa HNO<sub>2</sub> = 3.25)。そこで本研究では、NO 発生剤(NOC5, 同人化学研究所)あるいは NO<sub>2</sub> 発生剤(Carboxy-PTIO, 同人化学研究所)を用いた試験管内の実験により、NO および NO<sub>2</sub> の何れが精製し豚脂(ラード)からのトランス脂肪酸の生成を促進するか否かを検討した。

その結果、わずかな差ではあるものの、NO<sub>2</sub> による処理はラード中のトランス脂肪酸含量を増加させることが確認された(Table 3)。二重結合を持つ炭化水素鎖をニトロ化された化合物についてのいくつかの研究では、付加したニトロ基が何らかの要因で脱離する際、二重結合をトランス異性化する現象が確認されている。これらの事実から、亜硝酸塩による食肉脂肪酸のトランス異性化は、亜硝酸塩から酸性条件下で生成する NO<sub>2</sub> により引き起こされることが示唆された。今後、より詳細な検討を行い、トランス脂肪酸の生成機構を解明する必要がある。

**Table 3.** *Trans*-fatty acid formation in lard treated with NO and NO<sub>2</sub> radical-generating agents.

Fatty acid	Treatment		
	non-treatment	NO	NO <sub>2</sub>
<i>trans</i> -18:1 n-9	5.33	5.46	6.84
	± 0.04	± 0.84	± 0.42
<i>trans</i> -18:1 n-7	2.88	3.25	4.58
	± 0.42	± 0.54	± 0.63
total <i>trans</i> -fatty acids	8.21 ± 0.46	8.71 ± 1.38	13.8 ± 1.6

(4) 本研究の結果より、豚肉製品の加工工程に添加される亜硝酸塩は製品中の不飽和脂肪酸を異性化し、その結果としてトランス脂肪酸含量を増加させるポテンシャルを持つことが示された。亜硝酸塩による不飽和脂肪酸のトランス異性化反応は、亜硝酸塩の添加量および肉の pH により依存しており、亜硝酸塩濃度が 0.1%、pH が 5.0 を下回ると速やかに進行することが確認された。また、この反応は、低 pH 下で亜硝酸イオンから生成

する NO<sub>2</sub> による、不飽和脂肪酸の酸化反応により進行するものと推測された。

一般に食肉加工で用いられる肉の pH は、他に添加される食品添加物や調味料の影響により、pH 6.0 以上である。そして、亜硝酸塩の添加量は、食品衛生法に定められている亜硝酸イオン(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)の残留量 70 ppm を達成するために、0.02% (200 ppm) 以下に抑えられていることから、一般的な食肉製品の製造工程でトランス脂肪酸含量が増大するとは考えにくい。一方で、人為的に pH を低下させる加工工程を持つ発酵食肉製品など、一部の食肉製品製造時においては、亜硝酸塩の使用に注意を払う必要性も認められた。

冒頭でも述べたとおり、亜硝酸塩は食肉加工品の食味性や微生物学的な衛生を高く維持する上で多くのメリットを有するため、その使用の是非については多面的かつ慎重な議論が必要である。本研究の結果では、低 pH 下において多量の亜硝酸塩を添加した場合において、製品中に生成したトランス脂肪酸含量は反芻動物由来の肉中に含有されるその 1/10 のオーダーに止まっていた。この点を考慮すると、極端な偏食をしない限り、豚肉製品に由来するトランス脂肪酸の摂取が直ちに消費者の健康を害するリスクは少ないものと考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

河原 聡, 乳中の共役リノール酸, トランス脂肪酸の栄養機能, *Milk Science*, Vol.61, 259-263 (2012). (査読なし)

〔学会発表〕(計 2 件)

日本畜産学会大会, 塩漬豚肉中のトランス脂肪酸生成に関する諸要因 2013年, 3月28日~3月30日, 安田女子大学(広島市)

日本栄養・食糧学会, 食肉脂肪の高品質・高付加価値化, 2014年11月1日, 北海道大学(札幌市)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

河原 聡 (KAWAHARA, Satoshi)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号: 30284821