

製造用剤等

硝酸カリウム及び硝酸ナトリウム

Potassium Nitrate and Sodium Nitrate

硝酸カリウム	硝酸ナトリウム
$\text{KNO}_3 : 101.10$	$\text{NaNO}_3 : 84.99$

1. 分析法の概要¹⁾

食品中の硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムは液体クロマトグラフィーにより硝酸根として定量する^{文献1)}。必要があれば分子量比を乗じて硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムの量として求める。食品中、とくに植物体中には天然の硝酸塩が広く分布している。したがって、定量値は食品由来の硝酸塩と添加された硝酸塩との合計値である（2023年改正）。

2. 分析法（液体クロマトグラフィー）

（1）検体の採取と試料の調製

一般試験採取法を準用する。

（2）試験溶液の調製²⁾

① チーズ、乳等

チーズ等試料はミキサー等で均質化した後に乳鉢ですりつぶしたもの約5gを精密に量り、乳等試料は5mLを正確に量り、ビーカーにとる。0.5mol/L水酸化ナトリウム溶液10mL及び水（80～90℃）50mLを加えて、シリコーンスパーテル等で固形物を押しつぶしながら混和又は溶解させる。さらに、酢酸亜鉛溶液（9→100）10mLを加えて混和した後、80～90℃の水浴上で20分間加熱する³⁾。次に、冷水中で30分間以上冷却した後⁴⁾、50mLの水で洗浄したろ紙を用いて吸引ろ過し、超音波処理によりろ液の細かい気泡を除き、室温に戻した後、水を加えて正確に100mLとしたものを抽出液とする⁵⁾。抽出液を12000×g、5℃で10分間遠心し、上清を試験溶液とする⁶⁾。

液体クロマトグラフィーでの測定時に妨害ピークが認められる際は、遠心後の上清を蓋付き試験管に正確に5mLとり、リン酸50μLを加えて混和したものを固相抽出カラム⁷⁾に全量負荷する。次に、水2mLで2回試験管を洗いこみ、固相抽出カラムに負荷する。さらに水5mLを固相抽出カラムに通して洗浄後、0.04mol/L水酸化ナトリウム溶液で溶出し、5mLに定容したものを試験溶液とする。

② 清酒等

試料5mLを正確に量り、水で100mLに定容したものを抽出液とし、これを12000×g、5℃で10分間遠心し、上清を試験溶液とする⁶⁾。

なお、液体クロマトグラフィーでの測定時に妨害ピークが認められる際は、遠心後の上清を蓋付き試験管に正確に5 mL とり、リン酸 50 μ L を加えて混和したものを固相抽出カラム⁷⁾に全量負荷する。次に、水2 mL で2回試験管を洗いこみ、固相抽出カラムに負荷する。さらに水5 mL を固相抽出カラムに通して洗浄後、0.04mol/L水酸化ナトリウム溶液で溶出し、5 mL に定容したものを試験溶液とする。

(3) 空試験溶液の調製⁸⁾

試料の代わりに水5 mL を用い、(2) 試験溶液の調製と同様に操作し、空試験溶液とする。

(4) 検量線用標準溶液の調製

硝酸カリウム 1.631 g を量り、水を加えて溶かして正確に 1000mL としたものを標準原液とし(濃度 硝酸根として 1000 μ g/mL)⁹⁾、褐色瓶に保存する。用時、標準原液 1 mL を正確に量り、50mL のメスフラスコに入れ、水を加えて正確に 50mL とし、標準溶液とする(濃度 硝酸根として 20 μ g/mL)。この液 0.5、5、10 及び 20mL をそれぞれ正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に 20mL とし、検量線用標準溶液とする(濃度 硝酸根として 0.5~20 μ g/mL)¹⁰⁾。

(5) 測定法

① 測定条件¹¹⁾

紫外吸光光度検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤¹²⁾：強塩基性陰イオン交換樹脂

カラム管：内径 4~4.6mm、長さ 250mm

カラム温度：40°C

移動相：0.05mol/L塩化ナトリウム溶液

流速：0.6mL/分

測定波長：210nm

注入量：20 μ L

② 検量線

検量線用標準溶液 20 μ L を液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積から検量線を作成する。

③ 定量^{13~15)}

試験溶液及び空試験溶液をそれぞれ液体クロマトグラフに注入し、両者のピーク面積の差を求め、その値と検量線から試験溶液中の硝酸根濃度 (μ g/mL) を求め、次式によって試料中の硝酸根含量 (g/kg 又は g/L) を計算する。

$$\text{硝酸根含量 (g/kg 又は g/L)} = C \times \frac{100}{S} \times \frac{1}{1000} = \frac{C}{S \times 10}$$

硝酸カリウム含量 (g/kg 又は g/L) = 硝酸根含量 (g/kg 又は g/L) × 1.631

硝酸ナトリウム含量 (g/kg 又は g/L) = 硝酸根含量 (g/kg 又は g/L) × 1.371

C : 試験溶液中の硝酸根濃度 (μg/mL)

S : 試料の採取量 (g 又は mL)

④ 定量限界 0.01 g/kg 又は g/L

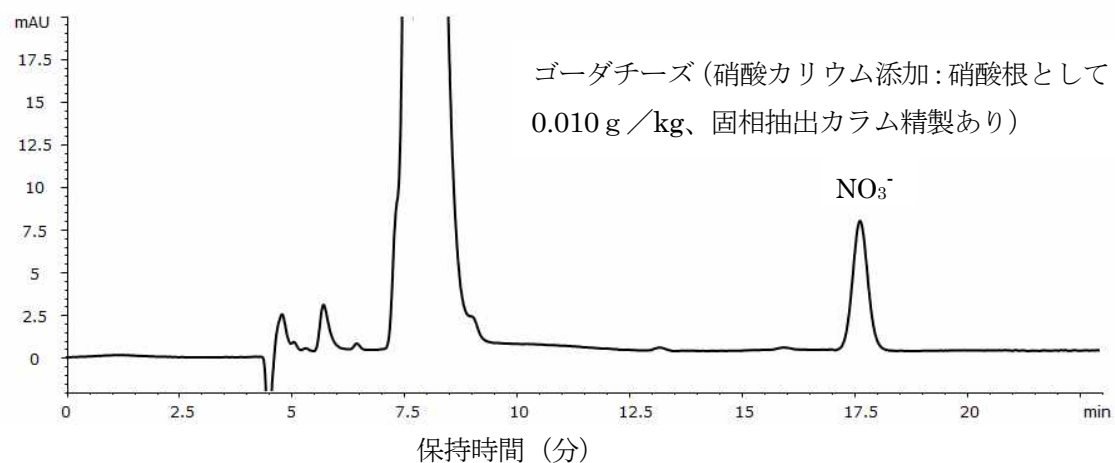
試薬・試液等

1. 塩化ナトリウム : [特級]
2. 0.05mol/L 塩化ナトリウム溶液 : 塩化ナトリウム 1.46 g を量り、水を加えて溶かし、500mL とする。
3. 固相抽出カラム : カーボンモレキュラーシーブタイプのもの (約 400mg) を用いる⁷⁾。
4. 酢酸亜鉛二水和物 : [特級]
5. 酢酸亜鉛溶液 (9→100) : 酢酸亜鉛二水和物 9.0 g を量り、水を加えて溶かし、100mL とする。
6. 硝酸カリウム : [特級]
7. シリコーン樹脂 : [食品添加物用]¹⁶⁾
8. 水酸化ナトリウム : [特級]
9. 0.5mol/L 水酸化ナトリウム溶液 : 水酸化ナトリウム 2.0 g を量り、水を加えて溶かし、100mL とする。ポリエチレン瓶に保存する。
10. 0.04mol/L 水酸化ナトリウム溶液 : 水酸化ナトリウム 1.6 g を量り、水を加えて溶かし、1000mL とする。
11. リン酸 : [特級]

[注]

- 1) 硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムは、発酵の際の窒素源を供給する発酵調整剤として使用され、使用基準において、チーズにあっては原料に供する乳 1 L につき 0.20 g 以下、清酒にあっては酒母 1 L につき 0.10 g 以下でなければならないと規定されている。また、食肉加工品の発色剤としても使用され、食肉製品及び鯨肉ベーコンにあってはその 1 kg につき亜硝酸根として 0.070 g 以上残存しないように使用しなければならないと規定されてい

- る。これらの亜硝酸根としての残存基準の適否判定を目的とする分析の場合は、亜硝酸ナトリウムの分析法により行う。
- 2) 使用する器具類は、硝酸イオンの汚染を取り除くため、用時よく水洗したものを用いる。特に、ろ紙、バイアルには硝酸イオンの汚染が認められる製品があるため、使用の際には留意する必要がある。
 - 3) 水酸化ナトリウムと酢酸亜鉛により生成する水酸化亜鉛のコロイド性沈殿物の形成により除タンパクを行う。
 - 4) ろ液への脂肪分の流入を抑えるため、脂肪分を固化させ十分に冷却する。
 - 5) 短形メスフラスコなど精度が確認されたガラス製容器を用いる。吸引ろ過の際に気泡が生じるため、水で10倍希釈したシリコーン樹脂25 μ Lを標線付近に塗布する。
 - 6) 遠心後の上清に浮遊物が認められる場合、上清をメンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過するとよい。この場合、試験溶液は最初のろ液数mLを捨てた後に採取したろ液とする。なお、メンブランフィルターから微量の硝酸イオンが検出されることがあるため、使用の際には留意し、空試験でも同様に操作する。
 - 7) 固相抽出カラムは、あらかじめアセトン5mLを通し、次いで水5mLを2回通してコンデューションしたのものを用いる。
 - 8) 試薬や固相抽出カラム等に含まれる微量の硝酸イオンが定量に影響するため、空試験を実施して定量値を補正する。なお、空試験溶液中の硝酸根濃度が定量限界未満の場合は、試験溶液と空試験溶液のピーク面積の差と検量線から定量計算を行なう。
 - 9) 標準原液として、計量法トレーサビリティ制度(JCSS)に適合した市販の硝酸イオン標準液を用いることができる。
 - 10) 検量線用標準溶液の濃度及び数は、必要があれば、直線性が確保できる範囲で、適宜、変更してもよい。
 - 11) 測定条件は例示である。
 - 12) 陰イオン測定用のイオンクロマトグラフ用カラムを用いることができる。
 - 13) 試験溶液中の硝酸根濃度が高く、検量線の濃度範囲を逸脱する場合は、試験溶液を水で適宜希釈して定量をやり直し、計算式に希釈倍率を乗じて含量を求める。
 - 14) 本法による液体クロマトグラムの一例を注図1に示す。この条件において検量線は0.1~20 μ g/mLの範囲で相関係数0.999以上が得られた。



<測定条件>

カラム：陰イオン交換カラム（内径 4mm、長さ 250mm）
 ガードカラム：陰イオン交換カラム（内径 4mm、長さ 50mm）
 カラム温度：40°C
 移動相：0.05mol/L 塩化ナトリウム溶液
 流速：0.6mL/分
 検出器：紫外可視吸光光度検出器（210nm）
 注入量：20μL

注図1 チーズにおける添加試験を実施した際の液体クロマトグラム

15) 本法の添加回収試験結果を注表1に示す。

注表1 硝酸根の各種食品での添加回収率 (n = 5)

食品	添加量* (g/kg 又は g/L)	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
モッツアレラチーズ	0.010	91.3	0.9
	0.20	93.9	1.5
エメンタールチーズ	0.010	93.0	1.8
	0.20	96.9	1.2
ゴータチーズ	0.010	94.6	3.5
	0.20	97.0	2.6
牛乳	0.010	97.0	3.4
	0.20	99.3	1.8
清酒A、B	0.010	99.2、97.9	4.5、1.7
	0.10	99.1、99.6	0.8、0.9
にごり酒	0.010	96.1	2.3
	0.10	99.4	0.4

ただし、モッツアレラチーズ、牛乳及び清酒は、固相抽出カラムによる精製操作を行わずに試験を実施した。

*:硝酸根として当該濃度となるように硝酸カリウム標準溶液を添加した。

16) 食品工業用消泡剤が使用できる。

[文献]

1) 佐々木隆宏ら：食衛誌、**61**、 229 (2020)