

食品中の食塩含有量測定方法の検討について

(パンクレアチンによる前処理と、硝酸第二水銀法による塩素イオン測定方法の検討)

林 峯 雄

はじめに

食品中の食塩含有量の測定は、食品の品質評価に関連する成分項目としてまた人の健康にかかわる成分項目として重要性を有している。¹⁾

毎年実施されている国民栄養調査の基礎資料に用いられている科学技術庁資源調査会編集にかかる四訂、日本食品標準成分表においては、その測定方法として原子吸光分析法が採用されている²⁾が、地方の小研究室では必ずしも設置し得ないものであり、小研究室の検査設備で実施し得る簡便且つ正確な測定方法を模索し従来の方法との比較検討更には、新手法として消化酵素パンクレアチンを用いる方法について検討を試みた。

簡易な検査設備で実施し得る測定方法として従来より滴定法による塩素イオン測定法が用いられているが、それらのうちモール法は簡易ではあるがアミノ酸、たんぱく質、有機酸が試料中に共存すると明確な終末が得にくく過大な測定値を示し、試料溶液が着色している場合は、終末点の判別が困難となることから本法の適用できない食品があり、¹⁾更に滴定の終末点を黄色(クロム酸カリウム)が微橙色(クロム酸銀)に変色した時点としていることから、ともすれば判別を見誤るおそれがあり、確実に終末点を見極めるには可成りの経験を必要とする。

ホルハルト法は、たんぱく質、脂肪が多いため試料から食塩を抽出して簡易に試料溶液とすることができない食品類及びモール法が適用できない食品に適用する基本的な方法と考えられ

ているが、かなり煩雑で時間がかかり熟練を必要とする。¹⁾

なお滴定法以外に極めて簡易な食塩濃度測定用試験紙による測定法があるが、測定可能な食品は一部に限られている³⁾等の問題点がある。

そこでより簡便で正確な測定方法として、従来、飲料水の塩素イオン測定に用いられてきた硝酸第二水銀法が、滴定時の終末点を溶液の黄色から淡紫色に変色した時点としており判別が明確であることから、この方法を食品に利用できないかどうか、これが測定結果とモール法及びホルハルト法の測定結果に差異があるかどうか、更に食品含有成分と生体とのかかわりあいを考える場合、実際に生体内での消化吸收機構に多少とも近い内容を加味した測定方法が望ましいと考えられるので、新手法としてたんぱく質、脂肪、でん粉を主成分としている食品については、これら食品の生体内での消化吸收に関与している消化酵素を含むパンクレアチンを測定の前処理段階に利用できないかどうか等についての検討を行ったので報告する。

結果と考察

1. 試料溶液の調製方法の検討

飲料水に対する硝酸第二水銀法による塩素イオン測定法は次のとおりである。

1) 原理

本法は、検水のpHを約3.1に調整し、ジフェニカルバゾンを示色薬として硝酸第二水銀規定

液で滴定をして求める方法である。

水中の塩素イオンは、硝酸第二水銀溶液と次式のような化学反応により塩化第二水銀を生ずる。



この塩化第二水銀は水に溶けるが難解離性であるので、塩素イオンを滴定し終わるまで溶液中に第二水銀イオンが生じない。過剰の硝酸第二水銀が添加されると、これが混合指示薬ジフェニルカルバゾンと反応して紫色を呈する。この点を滴定の終点とする。

2) 試薬

(1) DB混合指示薬：ジフェニルカルバゾン($\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$) 0.5g およびブロムフェノールブルー($\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{O}_5\text{Br}_4\text{S}$) 0.05gをエチルアルコール(95%)100mlに溶かし、かっ色びん中に入れて保存する。

(2) 0.01n塩化ナトリウム溶液

(3) 0.01n硝酸第二水銀溶液：硝酸第二水銀($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) 1.8g をメスフラスコ1ℓにとり、精製水約20mlおよび硝酸(1+2) 1mlを加えて溶かしたのち、更に精製水を加えて全量を1ℓとする。

本溶液1mlは、塩素イオン(Cl^-) 0.355mgに対応する。

本溶液のファクターを定めるには、0.01n塩化ナトリウム溶液10mlを白磁ざらに正確にとり、精製水を加えて約100mlとしたのち、DB混合指示薬10滴を加えて黄色になるまで硝酸(1+65)を滴加し(pH約3.6となる)、更にその5滴を過剰に加える。ついで、上記硝酸第二水銀溶液を用いてもはや消えない淡紫色を呈するまで滴定し、ここに要した硝酸第二水銀溶液のml数(a)を求め、次式によってファクターを算定する。

$$\text{ファクター (F)} = \frac{10}{a}$$

3) 試作操作

(1) 分析操作：検水100ml(または塩素イオンとして10mg以下を含む量をとる、精製水を加えて100mlとしたもの)を白磁ざら300mlにとり、DB混合指示薬10滴を加えて黄色を呈するまで硝酸(1+65)を滴加し(pH約3.6)、更に5滴を過剰に加える(pH約3.1)。

次に、ガラス棒を用いて静かにかき混ぜながら0.01n硝酸第二水銀溶液を滴加し、検水がもはや消えない淡紫色を呈するまでに滴定し、ここに要した硝酸第二水銀溶液のml数(a)を求める。

(2) 濃度の計算：(1)で求めた滴定数(a ml)から、次式によって試料1ℓ中の塩素イオンのmg量を算出する⁴⁾

$$\text{塩素イオン}(\text{Cl}^- \text{mg}/\ell) = aF \times \frac{1000}{\text{検水ml}} \times 0.355$$

F：0.01n硝酸第二水銀溶液のファクター

硝酸第二水銀法による塩素イオンの測定法は、前述のとおり飲料水については検水量(試料溶液量)が明示されているが、食品の場合には明らかでないので、まず試料溶液(以下検液という)の調製方法の考察を行った。

飲料水は「検水100ml(または塩素イオンとして10mg以下を含む量をとる精製水を加えて100mlとしたもの)」を検査対象としているが、食品の場合も検液に含有されている塩素イオン量は10mg以下(食塩量に換算すると16.484mg以下)におさえる必要があると考えられる。

そこで「ホモゲナイズした食品5gを正確に秤りこれに精製水(以下水という)を加えて200~250mlにメスアップして、その溶液10mlを正確にとり水を加えて100mlとする」方法について考えてみた。

検液10ml中に食塩が16.484mgまで含有されてもよいわけであり、一方この検液10ml中に含有されている食品量は0.25g~0.20gとなる。そこで食品1g当りに換算すると、65.936mg~82.42mg(約6.6~8.3%)となり、この量以下の食塩含有食品であれば、飲料水分析法の条件を満たすことができる。

即ち日本食品標準成分表が示す食塩含有量からみれば、食塩含有量の異常に高い特殊な食品(例えばさけ茶づけ等)を除けば、殆んどの食品の食塩含有量は6.6~8.3%以下であり検液中の塩素イオン10mg以下という測定条件は、設定した内容(検体量と希釈率)の検液の調製方法で満足できるものと考えられる。

2. 消化酵素パンクレアチンを利用した食品が

らの食塩抽出方法の検討

硝酸第二水銀法とモール法は共に定規液を用いた滴定法であり、前者は硝酸第二水銀溶液を、後者は硝酸銀溶液を定規液として使用する。従って両法とも滴定に先立ち食品から食塩を水溶液中に抽出する操作が必要である。

モール法は、食品からの食塩抽出法に水抽法と灰化法の二法があるが、後者は複雑で時間を要する。

水抽法は一定量の試料に適当量の水を加え、ホモゲナイズ後一定量の試料をメスフラスコに移し水を加え定容とした後、一定時間（5～10分間）振とうし、更に一定時間（10～15分間以上）放置後、滲液もしくは上澄液をとり検液とする方法がとられている。

従ってホモゲナイズ後の粒子の大小、更には食品の組成によって振とう時間の延長若しくは、温水による抽出等の配慮が必要と考えられる。更に滲過操作を必要とする場合には必ずしも簡易とは言いきれない。

そこで振とう操作更には滲過操作が省略できしかも食品の生体での消化吸収に多少とも近い機構を備えた前処理方法として、たんぱく質、脂肪、でん粉を主成分としている食品については消化酵素パンクレチアンを利用して、これらの食品成分を消化分解して食塩を抽出する方法を考えた。

パンクレチアンは膵臓アミラーゼ、トリプシン、カルボキシペプチターゼ、リパーゼ等多くの酵素を含有し、たんぱく質、脂肪、炭水化物の消化を行うが、中性～弱アルカリ性で強い活性を示す⁵⁾ことが明らかである。

加工食品は弱酸性（pH4.2～6.2）のものが多いため「試料食品100gに水50～100mlを加え、ホモゲナイズ後その5gを小ビーカー（25ml）にとり、水10mlを加え、アルカリ溶液でpH7.0～7.5に調整しパンクレチアン0.5gを添加し、かく拌後38℃～39℃の恒温槽内に24時間放置する」方法をとった。

添加パンクレチアン量については、表(1)に示すように39℃24時間後のかまぼこ及び食肉ハムの消化分解の状況を外観的に観察した結果、0.5

gが効果的であると判断した。

表(1)パンクレチン添加量と食品の消化分解状況（39℃24時間）

検体量 パンクレチン添加量	かまぼこ 5 g + 水10ml	ロースハム 5 g + 水10ml
0.1 g	粒状の固形物が残 り消化分解が不完全	固形物が可成り残り 消化分解が不完全
0.3 g	粒状の固形物が残 り消化分解が不完全	固形状の粒子が残 り消化分解が不完全
0.5 g	水溶液状になり完全 に消化分解	若干粒状固形物が残 るが、ガラス棒で押 すと、微細な粒子に くだける。

この量は人体に対する常用量（1回1g）からみるとすこぶる過剰であるが、そのために分析上問題になることは考えられない。

なおパンクレチンは豚の膵臓から製剤化されたものであり、それ自体、塩素イオンを含有しているので、予め塩素イオン量を測定して使用する必要がある。

本実験に使用したパンクレチンは試薬及び日本薬局方品を使用した。が、パンクレチン0.5g中0.195mg（試薬）～2.095mg（局方品）の塩素イオンを含有していた。

「恒温槽からとりだした試料溶液は水で200mlのメスフラスコに流し移し定容にし、かるくかく拌後10mlをメスピペットで白磁ざら（250ml）にとり水を加えて100mlとしたものを最終的な検液とした。」

3. 測定方法の検討

1) 添加回収実験

硝酸第二水銀法の精度をみるためには、塩素イオンを全く含まない食品に一定量の食塩を添加して測定する方法が望ましいが、実際には、そのような食品の入手は不可能である。

そこで食品2品目（ロースハム及びキンピラ

ゴボウ) について、1 及び 2 の要領で検液 100 ml を調製し、飲料水試験と同様な手法(DB混合指示薬10滴及び硝酸(1+65) 5 滴を滴加し、pH3.1とした検液)で0.01n-硝酸第二水銀で塩素イオンを滴定し食塩に換算して2 品目の食塩含有量を測定した。

ついでこの2 品目の食品(ホモゲナイズ試料) 5 g に食塩水(1 %食塩水 3 ml、即ち30mgの食塩) を添加し、上記の方法で食塩量を測定した。その結果(表2) のとおり良好な結果を得た。

表(2) 食塩添加前と添加後の硝酸第二水銀法による滴定値(ml) 食品中の食塩含有量(%)及び添加回収率

	食塩添加前の滴定値 (ml)と食塩含有量(%)	食塩30mg添加後の滴定 値(ml)と食塩含有量(%)	理論値	添加回収率
ロースハム	7.7ml 22.7%	9.65ml28.4%	9.73ml28.7%	99.0 %
キンピラゴボウ	11.2ml32.9%	13.0ml38.3%	13.2ml38.9%	98.5 %

2) 検液量と試薬量の検討

硝酸第二水銀は、水銀イオンを含むため特に廃液の処理には十分な注意が必要であることから、滴定時に使用する硝酸第二水銀量はできるだけ少量であることが望ましい。

そこで0.01n-硝酸第二水銀の消費量を少なくおさえると共に、測定操作をより簡易にする方法として「検液量を1 ml」とする方法について検討した。

検液1 mlの場合のDB混合指示薬の滴加量は飲料水の場合の $\frac{1}{10}$ 量の1滴(0.05ml)とした。

硝酸(1+65)の滴加量は飲料水では「溶液が黄色を呈するまで滴加(pH約3.6)し更に5滴を過剰に加える(pH3.1)」とあるが、食品の検液は、飲料水と異なり種々の成分が、かなり高濃度に含有されておりDB混合指示薬を加えた場合、薄緑色～やや青味をおびた薄緑色を呈する(飲料水の場合は鮮やかな淡紫色を呈する)場合がしばしば見受けられ、しかも溶液が黄色を呈するまで硝酸(1+65)を滴加すると最終pHが3.1を下廻る結果となる場合がある。

そこで検液のpHと0.01n硝酸第二水銀による測定値との関係を4品目の食品について調べた結果、表(3)のとおりであり、pH3.1(検液量10 ml)の測定値とpH1.0-2.4(検液量1 ml)の測定値では危険率1 %で有意の差は認められなかった。(t=0.479)

表(3) 検液量及びpH別にみた硝酸第二水銀法による食品中の食塩含有量(%)

食品名	検液量	検液量10ml		検液量 1 ml
	pH	pH3.1	pH2.8	pH1.0-2.4
食 パ ン		1.43%	1.41%	1.47% (pH1.0)
ロ ー ス ハ ム		2.26	2.11	2.17 (pH2.2)
プ ロ セ ス チ ー ズ		1.56	1.44	1.47 (pH2.4)
キンピラゴボウ		3.30	3.20	3.18 (pH1.8)

DB混合指示薬及び硝酸(1+65)滴加後の溶液の色調は飲料水の場合鮮やかな黄色を呈するが、食品の場合はしばしば褐色味～やや暗褐色をおびた黄色を呈する。

しかし同一食品について水抽法とパンクレアチン法の溶液の色調を較べると反応機構は不明であるが、後者の方がやや明るい黄色味をおびた色調を呈し、終末点の判別が前者より容易である場合が多い。

従ってパンクレアチンの消化作用に無関係な野菜漬物等にパンクレアチンを利用する方法は一見、無意味に考えられるが、硝酸第二水銀法の場合は必ずしも無意味ではない。

次に市販の食品44品目について、検液量10ml(水を加えて全量を100mlとした)と検液量1 mlの両者について、0.01n硝酸第二水銀で塩素イオ

ンを測定し食塩量に換算し、食品中の食塩量(%) を示したのが表(4)である。

表(4) 硝酸第二水銀法(検液量 1 ml, 10ml)及びモール法, ホルハルド法による食品中の食塩含有量(%)

No.	食 品 名	硝酸第二水銀法		モール法 又は ホルハルド法	No.	食 品 名	硝酸第二水銀法		モール法 又は ホルハルド法
		検液量 1 ml	検液量 10ml				検液量 1 ml	検液量 10ml	
1	塩 さ け - A	2.94%	2.91%	(モール法) 3.16%	24	ハウスカレー マルシェ	1.41%	1.36%	(モール法) 1.28%
2	" - B	2.87	2.65	3.30	25	さ け 茶 づ け	36.35	36.21	40.26
3	" - C	1.44	1.39	1.39	26	た ら こ 茶 づ け	33.00	32.95	35.88
4	" - D	1.88	1.79	—	27	た く あ ん	4.79	4.60	4.99
5	" - E	3.28	3.28	3.32	28	小 梅	6.94	7.04	8.04
6	た ら こ - A	5.51	5.41	6.98	29	は く さい 漬 - A	3.11	3.21	3.48
7	" - B	5.63	5.77	—	30	" - B	1.91	1.84	1.91
8	あ じ 開 き	2.63	2.47	2.96	31	き ゅ う り き む ち	4.22	4.22	4.30
9	め ぎ し	4.55	4.88	6.96	32	食 パ ン - A	1.44	1.29	1.29
10	ち り め ん じ ゃ こ	8.38	8.48	9.78	33	" - B	1.50	1.28	1.48
11	い わ し 丸 干 し	3.40	3.47	3.85	No.12-No.19, No.21-No.33の平均値		5.60	—	5.98
No.1-No.3, No.5-No.6 No.8-No.11の平均値		3.89	—	4.63	34	ロ ー ス ハ ム - A	1.92%	2.11%	(ホルハルド法) 2.36%
12	か ま ぼ こ - A	1.92%	2.13%	(モール法) 20.3%	35	" - B	1.92	2.08	1.99
13	" - B	1.88	1.79	1.95	36	" - C	2.17	1.80	2.34
14	さ さ か ま ぼ こ	2.23	2.18	2.07	37	" - D	2.23	2.34	2.19
15	は ん ぺ い	1.80	1.77	1.78	38	ク ッ キ ン グ ハ ム	2.27	2.20	2.34
16	お で ん 玉	1.57	1.72	1.58	39	チ ョ ッ プ ド ハ ム	2.39	2.35	2.50
17	ま ぐ ろ フ レ ー ク	2.11	2.18	2.18	40	ポ ン レ ス ハ ム	1.92	1.84	2.01
18	ひ じ き 豆	1.64	1.58	1.55	41	ソ ー セ ー ジ ー A	2.00	1.84	1.67
19	う の 花	1.88	1.81	1.75	42	" - B	1.76	1.82	—
20	き ん ぴ ら ご ぼ う	3.18	3.30	—	43	チ ー ズ - A	2.11	2.06	1.89
21	ミ ニ ハ ン パ ー グ	1.64	1.60	1.53	44	" - B	1.47	1.21	1.47
22	コ ー ン ス ー プ	0.82	0.77	0.72	No.34-No.41, No.43-No.44の平均値		2.04	—	2.08
23	カ ッ プ ス ー プ	5.63	5.74	6.19	No.1-No.44の平均値		4.22	4.19	—

その結果、検液量 1 ml と検液量 10 ml の測定値の平均は、前者が 4.22%、後者が 4.19% と極めて近い値を示した。更に両者の測定値に差があるかどうか t 検定を行った結果、危険率 1% で有意の差は認められなかった。 ($t = 0.2153$)

即ち 1 ml の検液量で信頼のおける測定結果が得られた。

4. 硝酸第二水銀法の測定値とホルハルト法及びモール法の測定値の比較

硝酸第二水銀法とホルハルト法及び硝酸第二水銀法とモール法との測定値を比較するため、前者については 10 品目、後者については 30 品目の食品について測定した結果を表(4)に示した。

1) 硝酸第二水銀法 (検液量 1 ml) とホルハルト法で測定した 10 品目 (表(4)の No.34~41 及び No.43~44 の品目) の測定値の平均は前者が 2.04%、後者が 2.08% と極めて近い値を示した。

更に両者の測定値に差があるかどうか t 検定を行った結果 1% の危険率で有意の差は認められなかった。 ($t = 0.542$)

2) 硝酸第二水銀法 (検液量 1 ml) とモール法で測定した食品のうち、たんぱく質及び脂肪の多い塩干魚 9 品目 (表(4)の No.1~3、No.5~6 及び No.8~11 の品目) について平均値をみると、硝酸第二水銀法 3.89%、モール法 4.63% と後者が高い値を示した。そこで両者の測定値に差があるかどうか t 検定を行ったところ危険率 1% で有意差が認められた。 ($t = 3.625$)

しかし両者の測定値には有意の正の相関が認められた。 ($\gamma = 0.973$)

3) 硝酸第二水銀法 (検液量 1 ml) とモール法で測定した魚介ねり製品、そう菜、漬物、レトルト食品、食パン等 21 品目 (表(4)の No.12~19 及び No.21~33 の品目) の測定値の平均は、硝酸第二水銀法 5.60%、モール法 5.98% とモール法がやや高い値を示したが、両者の測定値の差について t 検定を行ったところ 1% の危険率で有意差は認められなかった。 ($t = 1.728$)

5. 水抽法とパンクレアチン処理法の測定値の比較

測定操作の前段階における食品中の食塩の水溶液への抽出方法について、水抽法とパンクレアチン処理法との間に測定値に差があるかどうかの比較をするため 15 品目の食品について、検液 1 ml 及び 10 ml (水を加えて 100 ml とした) をとって硝酸第二水銀法で測定した結果は表(5)のとおりであった。

その結果、前者の測定値の平均は 2.17% (検液 1 ml) 及び 2.19% (検液 10 ml)、後者の平均は 2.27% (検液 1 ml) 及び 2.24% (検液 10 ml) と、いずれもパンクレアチン処理法がやや高い値を得た。

次に両者の測定値に差があるかどうか t 検定を行った結果 1% の危険率で有意差は認められなかった。 ($t = 2.5271$) 検液 1 ml)

$t = 0.8380$ (検液 10 ml)]

表(5) 前処理法別(水抽法とパンクレアチン処理法)及び検液量別の硝酸第二水銀法による食品中の食塩含有量 (%)

No.	食 品 名	前 処 理 法			
		水抽法 (15分振とう 後15分静置)		パンクレアチン処理法	
		検液量 1 ml	検液量 10 ml	検液量 1 ml	検液量 10 ml
1	た ら こ	5.30%	5.24%	5.63%	5.77%
2	かまぼこ - A	1.93	2.08	2.25	2.30
3	" - B	1.95	1.85	1.88	1.78
4	は ん べ い	1.56	1.68	1.80	1.77
5	塩 ぎ け - A	2.81	2.84	2.94	2.91
6	" - B	1.69	1.64	1.88	1.79
7	ハ ム - A	1.92	2.04	2.17	1.80
8	" - B	2.65	2.65	2.93	2.86
9	ソーセージ - A	1.62	1.62	2.00	1.84
10	" - B	1.57	1.59	1.76	1.82
11	チ ー ズ - A	1.64	1.68	1.47	1.21
12	" - B	1.69	1.79	1.64	1.71
13	食 パ ン - A	1.38	1.29	1.50	1.28
14	" - B	1.45	1.45	1.43	1.47
15	きんぴらごぼう	3.42	3.42	3.18	3.30
平 均 値		2.17	2.19	2.27	2.24

1. 食品中の食塩を水溶液に溶出させる方法として、従来の水抽法に代え、食品の生体内での消化吸収に関与している消化酵素を含むパンクレアチンを利用して食品を消化分解して溶出させる方法を試みたが、測定時間が長い（恒温槽内に24時間保管）という欠点はあるが、実質的な操作時間は極めて短かく且つ容易であり、しかも溶出率も充分信頼できる結果を得た。

2. 塩素イオンの測定にあたり「定規液による滴定終末点の明確な判別の可能性」を期待して、モール法に代え食品には実験例のみられない硝酸第二水銀法を試みたが、飲料水とは異なり、食品のなかには終末点の見極めが必ずしも容易でないものが見受けられたが、過大な測定値を示すとされているたんぱく質等を多く含む食品のモール法による測定値を除き、既存の測定法（ホルハルト法及びモール法）による測定値と極めて近い測定値を得た。

なお、モール法が利用できないとされているたんぱく質、脂肪の多い食品についても測定が可能であると考えられる。

3. 測定を実施した範囲の食品では1 mlの検液量で信頼のおける結果を得た。従って測定操作に伴う廃液量は極めて少量である。

等のことから、本法は簡易であり、しかも消化酵素パンクレアチンの利用により測定可能な食品の範囲が広くなり、更に実験を重ねて測定精度の向上を探究する必要性は認められるものの、既存の測定方法に加え、新たな食品中の食塩含有量測定方法として利用可能な一方法と考えられる。

本研究の実施にあたり、御指導をいただきました本学教授渡辺周一先生並びに実験に御協力いただきました本学教授加藤信子先生、後藤真子助手に深く謝意を表します。

- 1) 日本食品工業会 食品分析法編集委員会：食品分析法（昭和57年）、p 363、p 365
- 2) 科学技術庁資源調査会：四訂 日本食品標準成分表、p 29
- 3) 遠藤幸江也：栄養学雑誌、45(2)、77（1987）
- 4) 日本水道協会：上水試験方法（1978）、p 337、p338
- 5) 財団法人日本公定書協会：第十一改正 日本薬局方解説書（1986）、p 759