

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24580286

研究課題名(和文) 野菜類の水銀吸収阻害効果を利用した養殖クロマグロ水銀レベルの低減化

研究課題名(英文) Decrease of mercury level of cultured bluefin tuna utilizing inhibition activity for mercury absorption in vegetables

研究代表者

安藤 正史 (ANDO, Masashi)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号：80247965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：養殖魚の水銀レベルを低下させるため、いくつかの手段を講じた。水銀排出を促進するシステインを餌に混入させた場合、0.1%の混入率があれば、0%の場合と比較して有意に水銀の蓄積量が少なくなった。また、マダイの腸管を使い、水銀の吸収を抑える物質を野菜汁から探したところ、25種類の野菜のうち10種類に水銀吸収を抑える効果があり、その物質は分子量3000以上の水溶性食物繊維である可能性が示唆された。また、システインを配合飼料に混入させて飼育実験を行ったところ、0.1%から10%添加区において有意な水銀蓄積の抑制が認められたが、0.01%および0.05%では有意差は見られなかった。

研究成果の概要(英文)：To decrease mercury level of cultured fish, I tried several manners. In case of feeding of systemin, which promotes mercury emission, 0.1% systemin in food could suppress mercury accumulation significantly. Additionally, I tried to search some vegetable components which can inhibit intake of mercury in intestine. In 25 vegetables, 10 of them could inhibit mercury intake and the components was suggested to have over 3k molecular weight. Addition of cystein, 0.1-10%, into fish food could reduce the body mercury level significantly.

研究分野：水産化学

キーワード：水銀 腸管 野菜 養殖魚 システイン

1. 研究開始当初の背景

鳥インフルエンザや輸入食品の残留農薬など、消費者の健康を脅かす食品の事件が多発している。それにともない消費者の食の安全性に対する意識は非常に高くなっており、食を提供する側としても慎重に対処することが強く望まれている。このような社会状況にあって、確実に人々の健康を脅かしているもののひとつに水銀の問題がある。平成 16 年に厚生労働省がキンメダイなどに含まれる水銀の危険性を発表した際には大きな社会的関心と呼んだが、現在では社会的関心は薄れてきている。

ではなぜ社会的な関心が低いのであろうか？それは、現状の水銀汚染レベルでは BSE のように致死的な問題とはならないためである。しかしながら、水銀中毒は神経系に影響を及ぼすため、胎児への影響はもとより、成長期にある幼児への影響も無視できない。現在は仮説にすぎないが、「キレやすい」とされる現代の子供たちへの影響がゼロであるとは言いきれない。

現在、日本人の水銀摂取量の約 87.1% は魚介類由来である（厚生労働省、2004）。よってヒトの水銀摂取量を減らすためには、魚介類に含まれる水銀量を減らすことがきわめて重要なポイントとなる。この点について国際的な動きを見た場合、水銀汚染は環境問題として捉えられることが多いため、魚介類の汚染状況に関する報告例は非常に多いが、その汚染レベルを下げる試みを具体的にを行う研究例はきわめて少ない。食品学的には特にツナ缶などの高水銀量を明らかにし、その摂取量への注意を喚起する研究例は多いが、材料が天然のマグロ類であるためか、原料までさかのぼって製品の水銀量の低減化を試みた研究例は見当たらない。

申請者らは養殖クロマグロの水銀濃度が 0.6ppm で頭打ちとなり、同サイズの天然クロマグロよりも低くなること（Ando et al., 2008）および餌の水銀レベルを下げることで養殖クロマグロの水銀レベルを暫定基準値（0.4ppm）以下にまで下げること成功した（Nakao et al., 2009）。しかし水銀レベルの低い餌料を使い続けるためには、水銀濃度測定による餌料魚の選択などの手間とコストがかかり、産業レベルにおける普及には解決すべき課題は多い。

2. 研究の目的

そこで本研究では、比較的水銀レベルの高い餌であっても、体内への水銀の吸収を阻害することにより養殖クロマグロの水銀レベルを低下させることを目的とした。

3. 研究の方法

野菜汁と試験液の調製

野菜類（24 種）は量販店にて購入した。野菜を皮も含めてまるごとすりおろしたのち、遠心分離し（10000g, 15min, 25℃）、得られた上澄みを 0.45 μm フィルターに通して野菜汁とした。この野菜汁 5mL に生理食塩水（Wako）44.9mL、水銀ベース 500ppm の塩化メチル水銀水溶液 0.1mL を加え、終濃度 1ppm の水銀を含む 10%野菜汁の試験液を作成した。なお、対照用試料としては終濃度 1ppm の水銀を含む生理食塩水を用いた。

限外ろ過による野菜汁の分画

野菜汁 10mL を限外濾過器（AmiconUltra, 分画分子量 3000）に投入し、4000g, 25℃で全量がろ過されるまで遠心分離を続けた。遠心分離の終了後、ろ過膜に貼りついた分子量 3000 以上の物質の固形物は膜ごと生理食塩水中で超音波処理して回収した。その後、最初の野菜汁の濃度に合わせるため、生理食塩水で 10mL にメスアップした。また、ろ過膜を通過した分子量 3000 以下の画分についても同様に 10mL にメスアップした。各画分について野菜汁の場合と同様に終濃度 1ppm の水銀を含む試験液を作成した。

マダイ腸管による水銀吸収阻害の評価

活魚のマダイを購入し、活け締め後 30 分以内に腸管全長を取り出し、実験に用いた。供試魚の体長・体重・取り出した腸管のサイズはそれぞれ $34 \pm 0.9\text{cm}$, $1.1 \pm 0.3\text{kg}$, $13.3 \pm 2.1\text{cm}$ であった。取り出した腸管の内部を生理食塩水で 10mL × 3 回洗浄した。次に腸管の一端をピンチコックで閉鎖してから、反対の端から試験液を腸管に投入する。あふれるぎりぎりまで試験液を投入したところで、投入量を記録する。この数値から投入した全水銀量を計算する。

開いている腸管の一端もピンチコックで閉じ、腸管を図 1 のようにセットする（図 1）。外側の生理食塩水の温度は 20℃に保ち、回転子により生理食塩水を攪拌した。なお、攪拌速度が速すぎると腸管がねじれる場合があるため、約 1 回転 / 秒の回転速度を選択した。

1 時間攪拌後、腸管内の液体を回収するとともに、生理食塩水で洗浄（10mL × 2 回）した際の洗浄液も合わせて回収し、最終的に生理食塩水で 40mL にメスアップした（回収試料）。

回収試料 5mL に 70% (v/v) 硝酸 10mL を加え、マイクロ波分解装置の魚肉分解プログラムにより有機物を分解した。分解後、試料液を分解容器から回収し、蒸留水で 50mL にメスアップした。そのうちの 5mL に含まれる水銀量を冷蒸気水銀測定装置（平沼産業）により測定した。この他、試験液に実際に含まれる水銀濃度も測定した。これらの数値から水銀の吸収率を計算し、水銀吸収の阻害効果を評価した。

飼育実験

市販のグッピー（オス，体重約 0.3g）30尾を 30cm 水槽（15L）に収容し，水温 25℃にて 4 週間まで飼育した。飼料におけるシステイン含有量は 0.01 から 10%まで設定し，メチル水銀濃度はいずれも 1ppm とした。給餌量は魚体重の 1%量/日とした。魚体水銀測定サンプルは週に 1 度，また底面にたまる排泄物は 2 日に 1 度回収して 1 週間分をまとめ，それぞれサンプリングした。試料は 60%硝酸により分解し，冷蒸気原子吸光法により総水銀量を測定した。

4. 研究成果

野菜汁による水銀吸収阻害効果

各野菜汁を用いた場合の腸管の水銀吸収率を示した。24 種類の野菜汁のうち，対照の 78%に対して有意に低い吸収率を示したのはワサビ（58%），コマツナ（56.5%），サンチェ（54%），ゴーヤ（53.1%），ミズナ（46.6%），トウモロコシ（43.6%），オオバ（43.4%），アボガド（41.8%），ゴボウ（39.4%），シシトウ（39.4%）の 10 種類であった。

これら 10 種類の野菜は根菜類（ゴボウ），果菜類（トウモロコシ，シシトウ，ゴーヤ，アボガド），葉茎菜類（コマツナ，サンチェ，ミズナ），香辛野菜類（ワサビ，オオバ）に分かれる。分類により有意な阻害効果を示した野菜の割合が異なり，根菜類（1/4），果菜類（4/4），葉茎菜類（3/12），香辛野菜類（2/3）となった。分類ごとに用いた野菜の数が異なるため断定はできないが，果菜類における水銀吸収阻害効果が大きくなる傾向にあった。

分子量分画した野菜汁の水銀吸収阻害効果

有意な水銀吸収阻害効果を示した 10 種類の野菜のうち，収穫期に限られ入手できなかったゴーヤ，アボガド，トウモロコシを除く 7 種類の野菜の汁について分子量分画を行い，それぞれの水銀吸収率を測定した。

野菜により阻害効果成分の分子量分布が異なった。ゴボウ，サンチェでは，水銀吸収阻害効果は顕著に分子量 3000 以上の画分に現れ，3000 以下の画分には認められなかった。分子量 3000 以上の画分の数値は分画前のそれとほぼ等しいことから，これら 2 つの野菜の水銀吸収阻害物質は分子量 3000 以上の物質であることが明らかとなった。また，ミズナもゴボウ，サンチェと同様の結果を示したが，分子量 3000 以上の画分においては，分画前よりもさらに強い水銀吸収阻害効果が認められた。なお，方法で示したように分画後に体積を分画前の体積に戻しているため，試験液に含まれる吸収阻害物質の濃度は同じである。よって，ミズナの場合は低分子に存在する水銀吸収を促進する物質が分子量

3000 以下の成分に分けとられたことで，このような結果になったと思われる。

シシトウでは，分子量 3000 以上・以下いずれの画分でも有意な水銀吸収阻害効果が認められた。これは，少なくとも 2 種類の阻害成分がシシトウには存在していることを示している。分子量 3000 以上の画分の阻害活性の方が分子量 3000 以上のそれよりも高いので，同様に主な阻害活性は分子量 3000 以上であるものの，図には含まれない阻害成分が分子量 3000 以下のシシトウ成分に存在すると思われる。

オオバでは分子量 3000 以上の画分に吸収阻害効果がみられる点はここまでの他の野菜と同じである。ところが，分子量 3000 以下の画分では，逆に水銀吸収率が対照よりも有意に高くなった。これはオオバの同画分に吸収を促進する物質が含まれることを示している。

コマツナ，ワサビでは分子量分画により吸収阻害効果が消失した。この現象のありうる可能性としては，分画膜に阻害活性成分が吸着したか，高分子物質であれば分画過程において分解し，その活性を失ったのかもしれない。あるいは，今回の分画作業はすべて室温で行っていたため，有効物質が変性を起こしたことでその機能を失ったのかもしれない。

コマツナ，ワサビの結果は，野菜によっては分子量分画操作が阻害効果の低下というネガティブな作用をもたらすことを示した。有効成分を単離することは将来的な応用を考えれば必須の事項であるが，上記のようなことも起こり得ることを念頭に慎重に事を進めるべきであろう。

システインの水銀蓄積抑制効果

飼育期間中に有意な体重の変動は認められなかった。魚体の水銀濃度はシステインを含まない対照区では飼育 4 週目までに開始時濃度の約 2 倍にまで上昇した。一方，システイン添加区の場合，1%および 10%添加区では 4 週目において対照区の約 3 分の 2 の水銀濃度となり，有意差が現れた。さらにシステイン濃度の低い 0.1%および 0.5%添加区でもやはり 4 週目において対照区の約 3 分の 2 に濃度上昇が抑えられたが，0.01%および 0.05%では対照区との間に有意差は見られなかった。この結果より，この給餌条件下ではシステイン濃度 0.1%であれば有意な水銀濃度上昇の抑制が可能であると思われる。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Wen Jye Mok, Yoshiro Hatanaka, Manabu Seoka, Tomohiro Itoh, Yasuyuki Tsukamasa,

Masashi Ando. Effects of additional cysteine in fish diet on mercury concentration. Food Chemistry, 査読有, Vol 147, 2014, 340-345.
"

〔学会発表〕(計 2 件)

安藤正史・漠 文潔・伊藤智広・塚正泰之，
完全養殖クロマグロの水銀に関する研究 -
- シス테인含有飼料による体水銀濃
度の低減 - ，日本水産学会平成 27 年度春季
大会，東京海洋大学（東京都・港区）

安藤正史・山田貴大・沖永洋一郎・伊藤智
広・塚正泰之，完全養殖クロマグロの水銀に
関する研究 - - 野菜成分によるメチル
水銀の吸収阻害効果 - ，日本水産学会平成 28
年度春季大会，東京海洋大学（東京都・港区）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

安藤 正史 (ANDO Masashi)

近畿大学・農学部・教授

研究者番号： 80247965

(2)研究分担者

(なし)

(3)連携研究者

(なし)