

平成22年3月12日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19550151

研究課題名（和文） 食品廃棄物の再資源化過程における魚肉中水銀の化学形態変化

研究課題名（英文） Change in chemical form of mercury in fish meat during the recycling process of food waste

研究代表者

大木 章（OHKI AKIRA）

鹿児島大学・工学部・教授

研究者番号：20127989

研究成果の概要：魚肉などの生物試料中に含まれる水銀の分析について、酸素フラスコ燃焼法を用いる簡易分析や、溶媒抽出法と HPLC 法を組み合わせたスペシエーション法を開発した。これらの分析法を利用し、魚肉を堆肥化処理した場合の水銀の運命について調べた。魚肉中に含まれるメチル水銀はかなりの部分が水銀(II)に脱メチル化した。また、堆肥化処理に伴うセレンプロテインの部分的分解により、一部の水銀は遊離種となっている可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：環境分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・環境関連化学

キーワード：食品廃棄物、魚肉、堆肥化、水銀、メチル水銀、スペシエーション、脱メチル化、セレン

1. 研究開始当初の背景

食品廃棄物の再資源化として堆肥化処理などが注目されている。日本における食品廃棄物には魚介類が多く含まれるが、現在魚介類（特に大型魚類）中の水銀の存在が話題となっている。堆肥化において、食品廃棄物は強力な生物的分解・化学変換に曝されることになる。魚介類中の水銀は、セレンを含むタンパク質（セレンプロテイン）によって安定化されている（C. Chen ら, Environ. Health Perspect., **114**, 297 (2006)）。堆肥化のような再資源化過程で、安定種が分解され、有毒な遊離水銀種が発生する可能性がある。しかしながら、このような観点から、魚肉中水銀の化学形態変化（運命）を追跡した研究は

これまでに行われていない。

2. 研究の目的

食品廃棄物の再資源化（堆肥化）過程において、魚肉中に含まれる水銀の化学形態変化を追跡する。このために、以下の点を明らかにする。

- 1) 魚肉中および堆肥中における水銀種の分析法（全量および化学形態別）を確立する。
- 2) 上記の方法を用いて、魚肉の堆肥化過程において、魚肉中水銀の運命（化学形態や移行先）を追跡し、明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 水銀の全量分析

酸素フラスコ燃焼法の操作は以下の通りである。試料 0.05 g を精評し、ろ紙またはオブラートに包んだ。これを 500 mL 酸素フラスコに付属するプラグの白金カゴ中に入れた。ろ紙またはオブラートに点火後、酸素を充填したフラスコ中に挿入した。酸素フラスコ中には、前もって 0.01 M KMnO_4 + 3% H_2SO_4 水溶液 (5 mL) を添加した。試料を燃焼後、フラスコを 2 分間振とうし、20 分間静置した。 NH_3OHCl 水溶液 (20 g/L) の添加により、過剰の KMnO_4 を分解した。この溶液をろ過後、25 mL に定溶し、冷蒸気原子吸光分析 (CVAAS、日本インスツルメンツ RA-3110) により水銀濃度を測定した。この濃度から、試料に含まれる水銀量を計算した。なお、生物試料中のセレンはマイクロ波照射-酸分解 (MW-AD、Milestone ETHOS1600) による溶液化後、水素化物発生原子吸光分析 (HGAAS、日本ジャーレルアッシュ AA-890+HYD-10) により測定した。

(2) 生物試料より水銀の抽出と分析

乾燥後粉末にした生物試料 0.1 g を精評の後、0.15% KCl 、0.1% HCl 、および適量の 2-メルカプトエタノールを含む水溶液 (10 mL) とともに共栓付試験管に入れ、12 h 振とうを行った。遠心分離後、上澄みを 0.45 μm メンブレンフィルターでろ過し、ろ液を 25 mL に定溶した。この溶液について、HPLC-冷蒸気原子蛍光分析 (HPLC-CVAAS、PSA Millennium Merlin) を用いて分析した。HPLC の条件は、ODS カラム、0.01% メルカプトエタノール + 10% メタノール溶離液 (酢酸緩衝液で pH 5 に調整) を用い、流速 0.85 mL/min で行った。

(3) 堆肥化処理

家庭用生ゴミ処理機を用いて、堆肥製造用基材 (微生物およびオガクズを含む) 中に、粉末状にした愛玩動物用餌 (生ゴミ擬似物として使用) を毎日適量投入し、10 日間馴養を行った。馴養後の堆肥製造用基材 100 g を段ボール製容器 (60 X 60 X 10 mm) 中に投入し、魚肉試料 5.0 g (凍結乾燥後、粉末状にした) と愛玩動物用餌 2.0 g を加え、毎日 2-3 回散水および攪拌を行った。試料添加時を起点として所定日数経過後、試料を採取し、乾燥後、水銀およびセレンの分析を行った。

4. 研究成果

(1) 水銀の簡易分析技術

まず、生物試料など固体試料中の水銀の簡易分析技術法について検討した。固体試料中の微量水銀分析においては、通常加熱気化法が用いられるが、装置が高価であるという欠点がある。酸素フラスコ燃焼法は、これまで主として医薬品中のイオウやハロゲン元素

分析の前処理法 (溶液化法) として用いられてきた。本研究では、酸素フラスコ燃焼法を、固体試料中の水銀の溶液化法として用い、CVAAS 測定と組み合わせて、種々の認証標準物質中の水銀濃度を測定した。用いた認証標準物質は、海産物 2 種、植物 4 種、石炭 6 種である。図 1 に、得られた測定値に対する認証値のプロットを示すが、0.02-0.6 $\mu\text{g/g}$ の濃度範囲で直線性が得られ、効果的な水銀濃度測定が行えることがわかった。

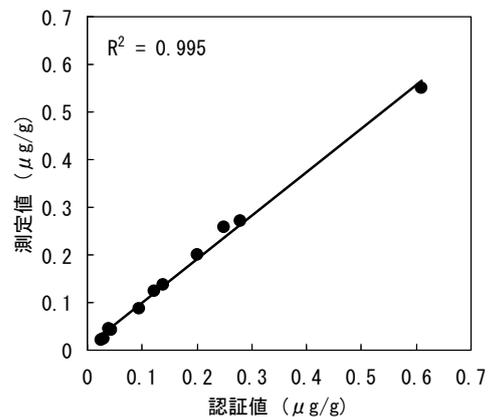


図 1 認証標準物質中の水銀濃度測定

(2) 水銀のスペシエーション

生物試料より水銀を溶媒抽出し、HPLC-CVAAS に供することで、水銀種のスペシエーションを行う方法を検討した。試料としては、認証標準物質 (DORM-2、サメ筋肉; DORT-3、サメ肝臓) とキハダマグロ魚肉を用いた。まず、抽出溶媒の検討を行い、図 2 に示すように、2-メルカプトエタノールの添加量が増加すると、水銀 (総水銀) の回収率が増大し、0.1 wt% の使用で、ほぼ完全な回収率が得られることがわかった。また、上記認証標準物質はメチル水銀の認証値ももつが、表 1 に示すように十分な回収率が得られた。この結果を生物試料中のヒ素のスペシエーションにも応用した。

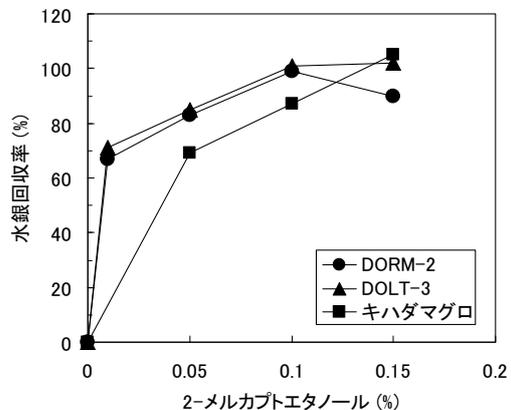


図 2 2-メルカプトエタノールの添加効果

表1 認証標準物質中のメチル水銀濃度

認証標準物質	認証値 ($\mu\text{g/g}$)	測定値 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)
DORM-2	4.47 ± 0.32	4.20 ± 0.09	93 ± 6
DORT-3	1.59 ± 0.12	1.61 ± 0.04	101 ± 3

表2に、種々の海産物試料中の水銀とセレンを分析した結果を示す。水銀分析において、総水銀は酸素フラスコ燃焼とCVAASにより、水銀(II) (Hg^{2+}) とメチル水銀 (CH_3Hg^+) はHPLC-CVAFSにより分析した。また、セレン(総セレン)は、MW-ADとHGAASにより分析した。

表2 海産物試料中の水銀とセレンの分析

海産物試料	水銀 ($\mu\text{g/g-dry}$)			セレン ($\mu\text{g/g-dry}$)
	水銀(II)	メチル水銀	総水銀	
ハンドウイルカ	1.52	2.41	5.40	2.24
ミナミマグロ	0.35	1.69	2.13	1.23
クロマグロ	0.31	1.25	1.59	1.80
ピンチョウマグロ	0.25	0.76	1.42	2.20
メバチマグロ	0.11	0.71	1.04	1.20
キハダマグロ	0.03	0.10	0.12	1.28
ミンククジラ	0.03	0.05	0.07	1.04

(3) 堆肥化過程における魚肉中水銀の運命

まず、馴養した堆肥製造用基材中に試薬のメチル水銀を添加し、堆肥化処理を行った後、堆肥中の水銀種のスペシエーションを行った。図3に、堆肥中の水銀分析(総水銀とスペシエーション)の結果を示す。処理時間の経過とともに、メチル水銀濃度が減少し、この減少量に相当する量の水銀(II)が増加した。この事実は、 CH_3Hg^+ が脱メチル化して Hg^{2+} が生成したことを示す。また、堆肥中総水銀の値が時間経過とともに減少傾向にあるが、これは Hg^0 の生成による水銀種の気化が若干おこっていることを示唆する。

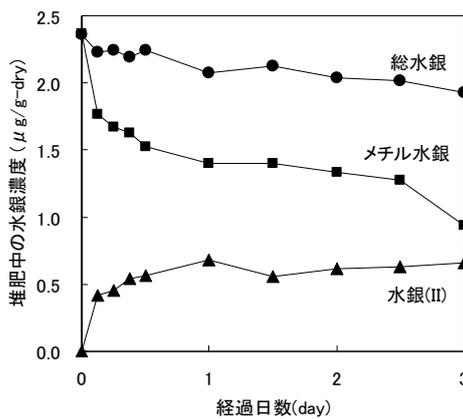


図3 堆肥化処理におけるメチル水銀の化学形態変化

馴養した堆肥製造用基材中に乾燥魚肉粉末を添加し、堆肥化処理を行った後、堆肥中の水銀種のスペシエーションを行った。図4

～6に、それぞれミナミマグロ、クロマグロ、メバチマグロの結果を示す。堆肥中の水銀濃度は、魚肉中のそれ(表2)より低く、基材等により希釈されている。日数の経過とともにメチル水銀の濃度が減少し、この減少量に相当する量の水銀(II)が生成した。この事実は、メチル水銀のみを添加した場合と同様に、魚肉中に含まれるメチル水銀も堆肥化過程において脱メチル化していることを示す。

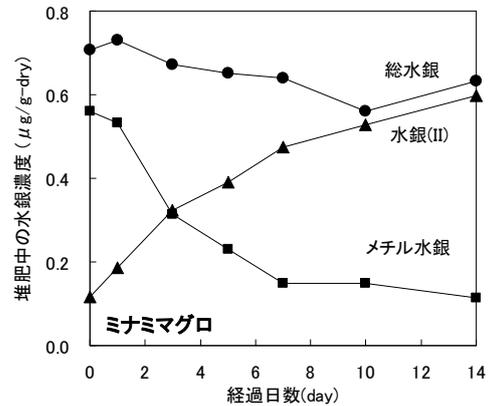


図4 堆肥化処理における魚肉中水銀の化学形態変化

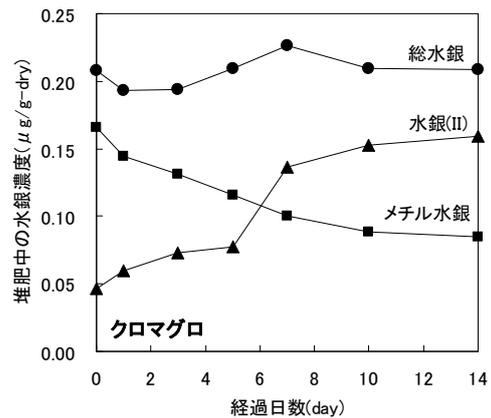


図5 堆肥化処理における魚肉中水銀の化学形態変化

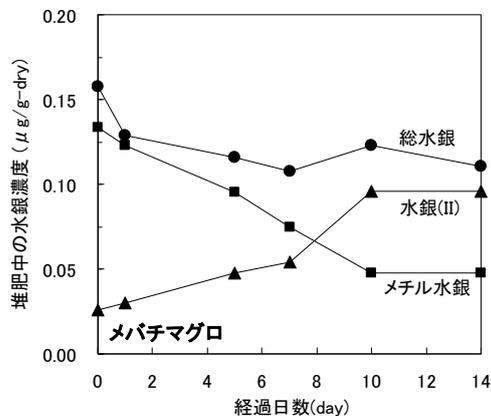


図6 堆肥化処理における魚肉中水銀の化学形態変化

馴養した堆肥製造用基材中にミナミマグロの魚肉試料 2.5 g と愛玩動物用餌 2.0 g を毎日投入し、これを 7 日間連続した後、14 日間放置（毎日 2-3 回の散水と攪拌は継続）した。図 7 に、水銀スペシエーションの結果を示すが、7 日目までは堆肥中のメチル水銀および水銀(II)濃度が上昇しており、魚肉中に含まれる水銀が堆肥中に蓄積されていくことがわかる。7 日目以降（これ以降は魚肉試料を添加していない）において、メチル水銀濃度は減少したが、水銀(II)濃度は変化がなかった。この挙動は、前述した魚肉を 1 回のみ投与した場合と異なっており、メチル水銀の脱メチル化よりも水銀種の気化が優先して起こっている可能性がある。

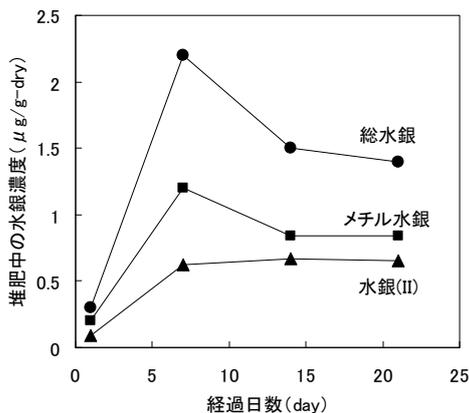


図 7 堆肥化処理における魚肉中水銀の化学形態変化（連続添加）

(4) 堆肥化処理後の水銀とセレンの存在形態

前述したように、魚肉試料の溶媒抽出の場合に 2-メルカプトエタノールを添加しない場合（0.1% HCl+0.15% KCl のみ）は、水銀はほとんど抽出されなかった（図 2）。しかしながら、表 3 に示すように、堆肥化処理後は、0.1% HCl+0.15% KCl のみで一部の水銀は抽出されるようになった。この場合にはセレンも抽出されており、抽出された水銀とセレンのモル比は 1 に近かった。この事実は、魚肉試料中ではセレノプロテインと結合していた水銀種が、堆肥化処理により一部のセレノプロテインが分解した結果、0.1% HCl 溶液でも水銀が抽出されるようになったと考えられる。

表 3 堆肥の溶媒抽出（0.1% HCl+0.15% KCl）による水銀およびセレンの抽出（図 4 の系）

経過日数 (day)	総濃度 (μg/g-dry)		抽出された量 (μg/g-dry)		
	水銀	セレン	水銀	セレン	モル比
7	0.64	0.36	0.13	0.05	0.91
14	0.63	0.36	0.24	0.09	0.95

(5) 研究成果のまとめ

生物試料中水銀の簡易分析技術について、酸素フラスコ燃焼法を用いる方法を開発した。また、水銀のスペシエーション技術については、溶媒抽出法と HPLC 法を組み合わせ、水銀(II)とメチル水銀の分別定量や、セレノプロテインから遊離した水銀種の評価法などを開発した。

これらの分析法を利用し、魚肉を堆肥化処理した場合の水銀の運命について調べた。魚肉中に含まれるメチル水銀はかなりの部分が水銀(II)に脱メチル化した。また、堆肥中に魚肉を毎日連続投与した場合は、堆肥中に水銀の蓄積が観測され、この場合には水銀の気化がある程度おこっている可能性が示唆された。このような気化は、他の金属においても報告されている（K. Micharke ら, Appl. Environ. Microbiol., **66**, 2791 (2000)）。堆肥化過程において、セレノプロテイン自身およびセレノプロテインが結合している不溶性タンパク質（筋タンパク質など）の部分的分解により、一部の水銀は遊離種となっていると推察された。

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 2 件）

- ① W. Geng, R. Komine, T. Ohta, T. Nakajima, H. Takanashi, A. Ohki, "Arsenic speciation in marine product samples: Comparison of extraction-HPLC method and digestion-cryogenic trap method", *Talanta*, Vol. 79 (2), pp. 369-375 (2009). 査読有り
- ② W. Geng, T. Nakajima, H. Takanashi, A. Ohki, "Utilization of oxygen flask combustion method for the determination of mercury and sulfur in coal", *Fuel*, Vol. 87 (4-5), pp. 559-564 (2008). 査読有り

〔学会発表〕（計 4 件）

- ① 大迫譲滋, 中島常憲, 高梨啓和, 大木章, “水生生物中の水銀とセレンのスペシエーション”, 日本水環境学会九州支部研究発表会 (2010)
- ② 小峯理恵子, 永井拓志, 下山巧太, 中島常憲, 高梨啓和, 大木章, “HPLC と原子蛍光分析を用いる生物試料中のヒ素および水銀のスペシエーション”, 第 56 回日本分析化学会年会 (2008)
- ③ 歌文華, 中島常憲, 高梨啓和, 大木章, “酸素フラスコ燃焼法を用いる石炭とアッシュ中の水銀定量法”, 第 44 回石炭科学会議 (2007)

- ④ 小峯理恵子, 太田聖治, 中島常憲, 高梨啓和, 大木 章, “水素化物発生原子分光分析を用いるヒ素スペシエーションにおける HPLC 法と超低温捕集法との比較”, 第 55 回日本分析化学会年会 (2007)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大木 章 (OHKI AKIRA)
鹿児島大学・工学部・教授
研究者番号 : 20127989

(2) 研究分担者

高梨 啓和 (TAKANASHI HIROKAZU)
鹿児島大学・工学部・准教授
研究者番号 : 40274740

中島 常憲 (NAKAJIMA TSUNENORI)
鹿児島大学・工学部・教務職員
研究者番号 : 70284908