



Title	食品中の重金属に関する研究
Author(s)	田中, 涼一
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32871
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	田中涼一
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 5172 号
学位授与の日付	昭和 56 年 2 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	食品中の重金属に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 雅臣
	(副査) 教授 岩田平太郎 教授 青沼 繁 教授 三浦 喜温

論文内容の要旨

食品の重金属による汚染が食品衛生上大きな問題となり、魚介類中の Hg や玄米中の Cd の規制値が定められ、重金属に関する調査、研究が盛んに行われるようになった。そこでこれら重金属の調査、研究を進めていくための基礎となる定量法の開発、改良について検討した。重金属の定量は比色分析法にかわって原子吸光分析法が急速な進歩をとげたが、検体の前処理としては従来の乾式灰化や湿式灰化が行われている。これらの灰化法はそれぞれに長所もあるが、多くの検体を処理する場合、あるいは、微量元素の分析に際しては、いろいろな欠点が見出される。そこで酸素プラズマ^{1,2,3}を利用する全く新しい灰化法^{4,5}を確立し、また特異的な化学的性質を有するために分析の困難な、Hg については石英管燃焼—還元気化法⁶によって、原子吸光分析法で測定できない金属についてはアルゴンプラズマ分析装置⁷を用いて定量法⁸を確立した。

食品中の有害元素量の測定は現在の測定法としては元素の量として計測する方法がとられている。したがって食品中の有害元素量としてあらわされる値は、本来その食品原材料中に存在していた元素の量と人為的に加わった元素量との和としてあらわされ、人為的な汚染によって食品に加わった量を区別することができない。したがって、これを区別するためにはあらかじめ各食品ならびに原材料の自然値、あるいは一般値を把握しておき、これとの差から人為的汚染の有無を判定するしかない。そこでまず食品中にバックグラウンドとして重金属類がどのくらい含有されているかを知るために、著者の開発した分析法を用いて各種食品中の重金属、Cd, Zn, Mn, Cu, Pb, As, Hg の 7 元素について分析を行った。さらに日本人の重金属 1 日摂取量を知る目的で、陰膳方式により食事を集め分析を行い、一方 Market Basket 法による摂取量調査も合わせて行った。

他方、食品中の重金属の大部分は有機態として存在すると思われるが、単純な無機態とその生理活性が異なることは水俣病の原因となったメチル水銀が物語っている。このように重金属の毒性は量的のみならず、質的な評価がなされなければならない。そこでこの点について検討するとともに、重金属の生体内摂取時における食品成分の影響について検討することにし、また最近問題になっているメタロチオネインの形成に対する食品成分の影響などについて検討を行った。

II. 食品中の重金属の分析法について

重金属分析の前処理として酸素を高周波エネルギーで励起し、発生する活性化された酸素プラズマで試料を灰化する全く新しい低温灰化法⁹⁾を確立した。低温灰化装置の原理図を Fig. 1 に示した。

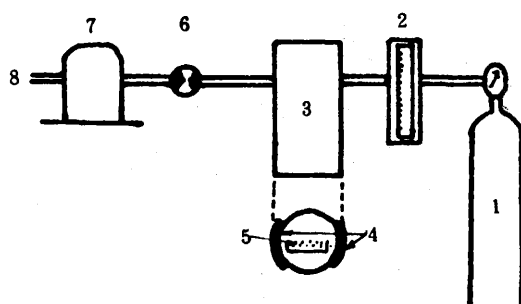


Fig. 1. Schematic diagram of Low Temperature Asher.

1. O₂ gas 2. Flow meter 3. Reaction tube
4. Electrode 5. Sample boat and Sample
6. Pump control 7. Vacuum pump 8. Exhaust valve

試料を精秤し、反応管に入れる。真空ポンプを用いて反応管中を減圧にし、適当量の酸素を流す。電極に13.56 MHzの高周波電流(Radio Frequency 以下 R.F. と略す)を流す。酸素は励起されて酸素プラズマによって灰化が行われる。

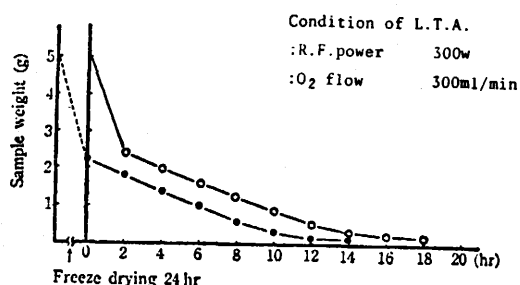


Fig. 2 Ashing time of tomato catsup and cheese
●—●, Tomato catsup; ○—○, Cheese.

低温灰化法の長所は、殆ど試薬を用いないため、また灰化後の分析操作が簡単であるため実験器具や分析操作に由来する重金属の汚染がない、このことは微量元素の分析においては重要なことである。また従来の湿式灰化法と比較して分析精度は良好である。Cd, Zn, Mn, Pb, Cr, Ni, Sr, Ba, V, Coなどの金属の添加回収実験では灰化時の揮散は全くない。ただ、Asの分析⁹⁾を目的とする場合はR.F. Powerを高くすると揮散による損失がみられるため、低いエネルギー(R.F. Power 100 W以下)で時間をかけて灰化する必要がある。Fig. 2, Fig. 3 に食品の低温灰化法による灰化時間と灰化量を示した。

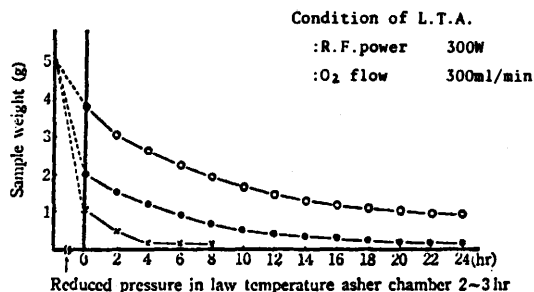


Fig. 3 Ashing time of peanut butter, strawberry jam and orange marmalade
○—○, Peanut butter; ×—×, Strawberry jam; ●—●, Orange marmalade.

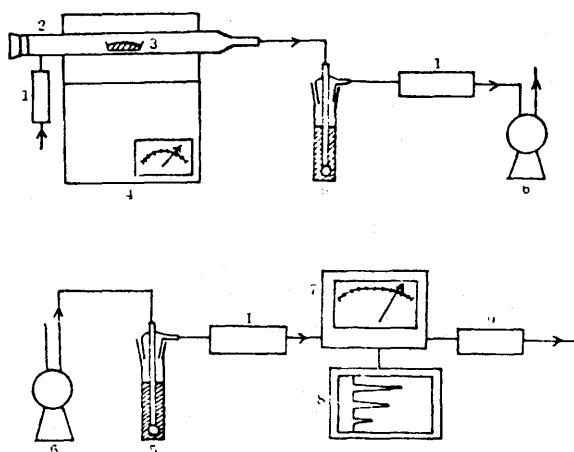


Fig. 4 Schematic diagram of apparatus
1, Mg (ClO₄)₂; 2, quartz tube; 3, sample; 4, electric furnace (AMD-A1); 5, impinger; 6, pump (AMD-B1); 7, Hg detector (AMD-F1); 8, recorder; 9, Hg collector.

Hgはその化学的性質上、最も分析の困難な金属で種々の分析法が考案され報告されている。著者は電気炉を用い、850 °に加熱した石英管中で試料を直接灰化し、発生するHgを硫酸々性過マンガン酸カリウム溶液に吸収させ、還元気化法にて定量する分析法について検討し良好な結果を得た。試料の灰化の際に酸化コバルトを灰化補助剤として使用すれば1試料約10分で灰化は終了する。Fig. 4はHg分析装置の概略図である。

検量線はHg 0.025~ 0.2 μ gの範囲で原点を通る直線が得られ、添加回収実験では10回の実験で平均98.0%であった。

つぎに、高周波アルゴンプラズマ分析装置を用いて食品中の重金属の一斉定性分析を行った、アルゴンプラズマは普通の化学燃焼にくらべて励起エネルギーが高く、高温が得られるため、原子吸光分析法では測定できないBa, Al, Srなどの定量も可能である。ただし、Na, Kなどが多量に共存する試料においてはこれらアルカリ金属の影響で感度に大きなバラツキがみられるため、必ず標準添加法によって定量しなければならない。

Ⅲ. 食品中の重金属の含有量（一般値）および1日摂取量

食品中の重金属の平均含有量を知るために農産物、水産食品、肉類、加工食品など種々の食品について、Cd, Zn, Mn, Cu, Pb, As, Hgについて分析を行った。分析結果^{12,13,14)}について簡単にのべると、野菜類および根菜類が果実類に比べて多くの重金属を含有している。Fig. 5にその分析結果を示す。

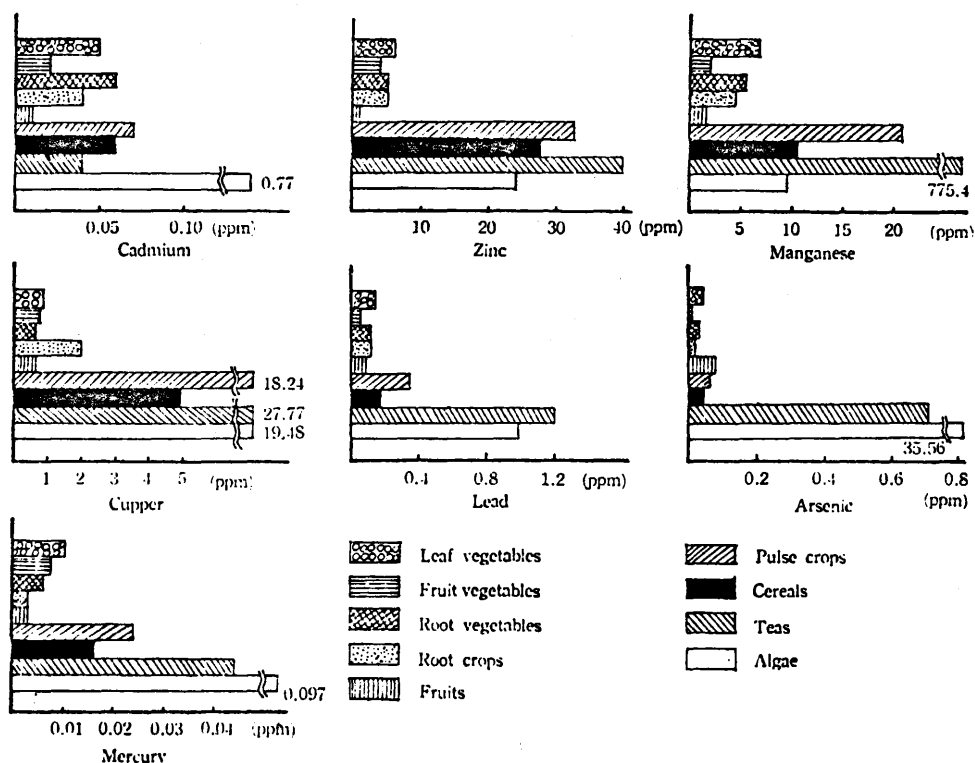
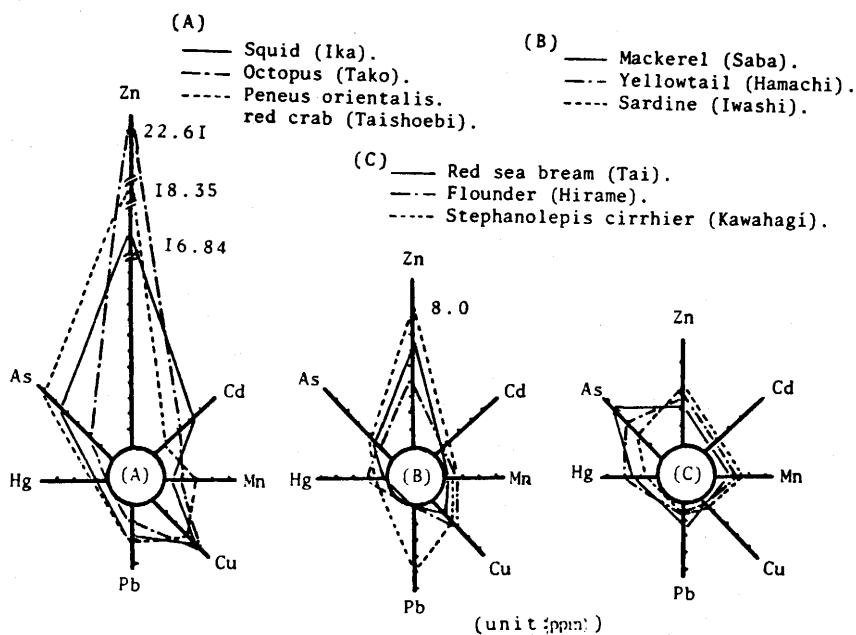


Fig. 5 Average contents of heavy metals in food groups (wet basis)

特異的なものとして茶のMn¹⁹⁾ (5検体の平均で780 ppm), 海藻類のAs (コンブで50~60ppm)は顕著であった。全般的に植物性食品中にはZn, Mn, Cuの含有量の多い結果が得られた。魚介類, 肉類中の重金属は植物性食品に比べて非常に少ないが, Hg およびAsは比較的多く含まれている。Hgはほとんどの魚介類に検出¹⁰⁾され, 我々が食品から摂取する大部分は魚介類に由来するものである。Asも魚介類中には多く含まれており, Fig. 6 に示す通り, 特に頭足類, 甲殻類それにタイなど白味の魚に多く含有されている。

Fig. 6. Graph of contents of heavy metals in Fish and Shellfishes.



つぎに食品からの重金属1日摂取量を求める方法としては, 1) 実際に摂取した食事と同じものを分析して摂取量を求める陰膳方式, 2) 毎年, 厚生省が国民栄養調査表¹⁷⁾を報告しており, これによると各地域ごとに摂取する各種食品の摂取量が記載されている。この調査表にしたがって食品を集め, 混合し, その試料を分析して平均的な摂取量を求める, Market Basket方式, 3) 既報の各種食品の分析結果をもとにして陰膳方式などの献立表から, 計算によって摂取量を求める方法などが考えられる。以上3つの方法について検討した結果をTable 1 に示した。

なおTable 1 には1975年WHOが米国でMarket Basket方式で求めた摂取量¹⁸⁾も比較のために記載した。結果としては3者ともよく一致し, 我々日本人の重金属摂取量は, Zn約10 mg/day, Mn 3~4 mg/day, Cu 1.2~1.6 mg/day, Pb 30~130 mg/day, Cd約50 µg/day, As 0.3~0.6 mg/dayと推定される。HgはMarket Basket方式では1.7~3.5 µg/dayで, 陰膳方式よりも低い値であった。これは陰膳方式の試料中に魚介類が多かったためと考えられた。AsはWHOの報告では10.1 µg/dayとなっており, 日本人の摂取量が多いのは魚介類を多くたべること, 海藻類の摂取量が多いことが原因とも考えられた。

Table 1 Estimates of the Daily Intakes of Heavy Metals from Diet

Market basket method		Cu	Zn	Mn	Cd	Pb	As	Total-Hg (μg)
Osaka	1977				76.2	57.9	342	1.7
	1978	1637	10897	4030	50.9	132.0	435	3.5
	1979	1349	10753	3357	55.6	23.2	566	2.7
WHO	1975		17900		51.2	60.4	10.1	2.9
Kagezen method		Cu	Zn	Mn	Cd	Pb	As	Total-Hg
Found values		1176	9231	2800	44.5	76.4	348	8.1
Osaka	Calculated	1253	9411	3441	32.9	70.4	287	10.3

(69 Samples)

IV. 食品中の重金属の存在形態

重金属を蓄積しやすい食品は何か積極的に重金属と結合しやすい成分を有し、特殊な形で重金属を保有している可能性が強い。大豆は古くから金属の保有能力が大きい食品であることが知られており、Cuは10ppm前後含有されている。このCuを対象として選びその存在形態について検討した。

Fig. 7 は大豆の水可溶成分についてpHの変化によるCu溶出量と蛋白質量とについて検討した結果¹⁹⁾を示したもので、Cuと蛋白質は同じ挙動を示している。総窒素溶出曲線も同様の結果が得られた。この結果より、CuはpH 4～5で等電沈澱を生じる蛋白質と結合しており、蛋白質が沈澱すると同時に蛋白結合状態のままでCuも沈澱するのであらうと考えられた。

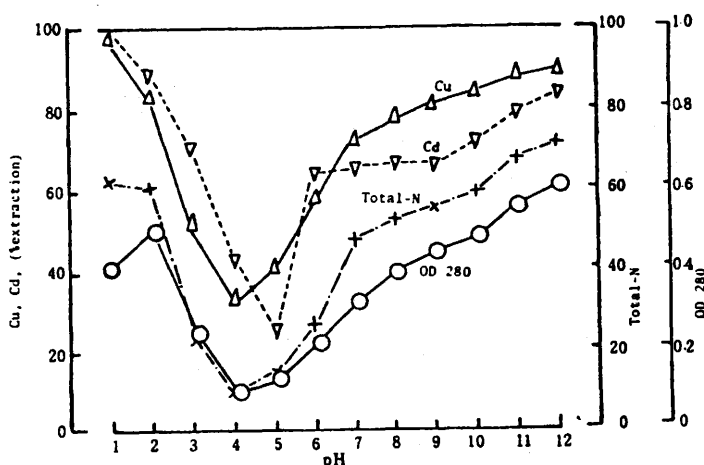


Fig. 7 Effect of pH on metal contents in water-soluble fraction of soybeans

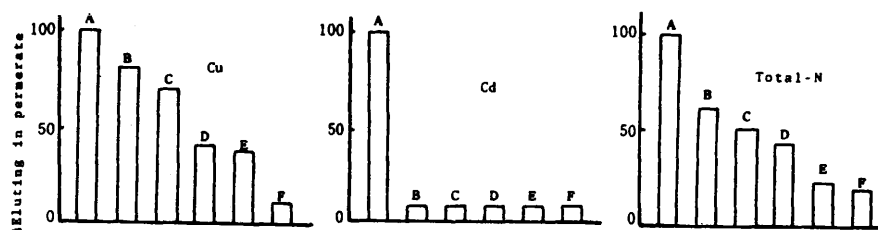


Fig.8. Content of Cu, Cd and total-nitrogen by Ultrafiltration.

A: soybean water extracts. B; permeate by UK-200
C; permeate by UK-50 D: permeate by UP-20
E: permeate by UK-10 F: permeate by UH-1

Fig. 8 は水可溶成分の限外ろ過を行い、Cu, Cd, 総窒素について検討した結果で Cu と Cd とでは結合成分に大きな違いがみられた。

つぎに水可溶成分について種々の Sephadex を用いてゲルろ過による分画を行い、Cu 結合成分について検討を試みた。その結果、大豆中の Cu はその約60%が水可溶性画分に抽出され、それらがすべての結合型の Cu であり、無機態は全く検出されなかった。またこの水溶性成分に Cu を添加していくと、Cu を 1,700ppm と高濃度に結合した画分が得られた²⁰⁾。これは無機態の生理活性などの性質の差異を検討する上で有用な試料となる。

V. Cd の生体内挙動におよぼすアミノ酸、有機酸の影響

Cd の消化管からの吸収および体内分布に食品成分であるアミノ酸や、有機酸がどのような影響をおよぼすかについて検討した。

Table 2. Effect of Amino Acids and Organic Acids on the Distribution of Cadmium in Rat Organs ($\mu\text{R/g}$)

	Liver	Kidney	Spleen	Blood
Control	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Cd	6.00 ± 0.77	1.45 ± 0.80	0.42 ± 0.10	0.04 ± 0.01
Cd + L-Cysteine	30.10 ± 4.43	22.60 ± 4.06	1.97 ± 0.69	0.14 ± 0.02
Cd + L-Histidine	21.76 ± 3.40	5.19 ± 1.26	1.34 ± 0.30	0.11 ± 0.02
Cd + L- α -Alanine	10.30 ± 2.62	1.51 ± 0.21	0.40 ± 0.16	0.06 ± 0.01
Cd + L-Proline	5.85 ± 1.54	1.26 ± 0.29	0.48 ± 0.20	0.05 ± 0.02
Cd + Citric acid	24.07 ± 5.85	7.07 ± 1.87	1.26 ± 0.31	0.10 ± 0.03
Cd + DL-Malic acid	8.09 ± 3.00	1.24 ± 0.35	0.41 ± 0.12	0.04 ± 0.02
Cd + Lactic acid	5.46 ± 2.18	1.03 ± 0.30	0.32 ± 0.11	0.04 ± 0.01
Cd + L-Ascorbic acid	9.28 ± 3.05	1.48 ± 0.28	0.78 ± 0.10	0.05 ± 0.02
Cd + DL-Tartaric acid	4.50 ± 1.26	0.99 ± 0.22	0.38 ± 0.12	0.03 ± 0.01
Cd + Succinic acid	16.37 ± 2.93	2.16 ± 0.44	0.95 ± 0.28	0.06 ± 0.01

Administ method: Single oral administration

Administ: dose: CdCl_2 ; 3.4 mg/rat

Amino acid and organic acid ; 50 times of CdCl_2 on molarity

The values represent mean $\pm$ S.E. for 5 rats at 24 hr after oral administration

SD系ラットを用い、Cd単独およびCdとアミノ酸、有機酸混合物を経口1回投与し、24時間後におけるCdの臓器内分布について検討した結果をTable 2²¹⁾に示した。

アミノ酸ではL-システインとL-ヒスチジン、有機酸ではクエン酸とコハク酸がCdと共存すると、Cdの生体内吸収を促進し、臓器中のCdの増大がみられた。とくにL-システインの影響が顕著で、Cd単独投与にくらべて肝臓では約5倍、腎臓では約15倍のCd濃度となった。児島²²⁾らはラット反転小腸を用いた還流実験法によりCdの腸管吸収について検討し、Cdとキレート安定度定数の大きいキレートほどCdの小腸透過を促進することを報告している。著者の実験でも同様の結果が得られた。

IV. Cdの毒性におよぼすL-システインの影響

CdとL-システインが共存するとCdの体内吸収を促進することを明らかにしたが、Cdの急性毒性にL-システインがどのように影響するかについて、ラットを用いた1回経口投与のLD50値をBehrens-Kärker法にて求め、結果をTable 3に示した。

Table 3

Acute Toxicity Tests by a Single Oral Administration
in Female Rats

[I]	CdCl ₂ (mg/kg)	Dead Animal/Animal
	0	0 / 6
	125	0 / 6
	150	0 / 6
	175	2 / 6
	200	4 / 6
	225	3 / 6
	250	5 / 6
	275	6 / 6

50%lethal dose value (after 72hr) : 204.2mg/kg
(Behrens-Kärker method)

[II]	CdCl ₂ (mg/kg)+L-Cysteine(mg/kg)	Dead Animal/Animal
	0 + 1500	0 / 6
	25 + 1500	0 / 6
	50 + 1500	4 / 6
	75 + 1500	4 / 6
	100 + 1500	5 / 6
	125 + 1500	6 / 6
	150 + 1500	6 / 6
	175 + 1500	6 / 6

50%lethal dose value (after 72hr) : 58.3mg/kg
(Behrens-Kärker method)

JCL-SD strain female rats:5 weeks old,weighing 110-135g

塩化 Cd 単独投与の LD 50 値は 204.2 mg/kg で、安藤らがウイスター系 ラットで求めた 168.6 mg/kg にほぼ近い値であった。これに対し、塩化 Cd および L-システイン 同時経口投与における塩化 Cd の LD 50 値は 58.3 mg/kg となり、単独投与にくらべて 3 倍以上の毒性を示した。

Ⅶ. まとめ

食品中の各種重金属の迅速、かつ精度の良い分析法を確立し、これらの分析法を用いて食品中の重金属の一般値（バックグラウンド値）を求め、また、陰膳方式や Market Basket 方式など日本などにより、日本人の食事から重金属 1 日摂取量を求めた。開発した酸素プラズマによる灰化法は試薬を殆んど使用しないため、試薬からの重金属のコンタミがない、また、灰化後の分析操作も簡単で分析精度も非常に良好であった。石英管燃焼—還元気化法による Hg の定量は高感度で、しかも分析時間大巾に短縮することができ、実用面で有用な方法であることを確認した。

食品中の重金属含有量は植物性食品では、Zn, Mn, Cu の含有量が多い結果が得られた。魚介類、肉類中の重金属は植物性食品にくらべて少ないが、Hg および As は多く含有されており、Hg はほとんどすべての魚介類から検出された。また、日本人の重金属摂取量は Zn 約 10 mg/day, Mn 3 ~ 4 mg/day, Cu 1.2 ~ 1.6 mg/day, Pb 30 μ g ~ 130 μ g/day, Cd 約 50 μ g/day, As 0.3 ~ 0.6 mg/day, Hg は Market Basket 方式では 1.7 ~ 3.5 μ g/day であった。

重金属の毒性評価は緒言でも述べたように、その存在形態によって大いに異なることが考えられる。そこで大豆中の Cu の存在形態について、また、Cd の生体内分布や腸管吸収におよぼすアミノ酸の影響などについて検討した。その結果、大豆中には無機態の Cu は存在せず、そのすべてが結合性のものであることが判明した。大豆の水可溶成分に Cu を添加していくと、Cu を 1,700 ppm と高濃度に結合した画分が得られた

一方、Cd とアミノ酸を胃ゾンデを用いてラットに投与し、生体内吸収や臓器内分布について検討した結果、L-システインや L-ヒスチジンなどは Cd の腸管からの吸収を促進し、肝臓や腎臓中の Cd 濃度は増大した。とくに L-システインはその作用が顕著であった。つぎに Cd と L-システインが共存する場合の急性毒性について検討した結果、Cd の急性毒性を増強されることを確認した。

文 献

- 1) Blante, : Chemical Reaction in Electrical Discharges Advances in Chemistry Series 80, Amer, Chem, Society Washington. D. C. (1969)
- 2) Me, Taggart. F. K. : Plasma Chemistry in Electrical Disharges. Elsevier pull, Am Amsterdam/London/New york
- 3) 穂積啓一郎：化学の領域, Vol 25, No.8 (1971)
- 4) 田中涼一, 矢田光子, 小林太郎：原子吸光分析法および低温灰化装置を用いての米中のCdの定量, 食衛誌, Vol 11, No.2 84~87 (1970)
- 5) 池辺克彦, 田中之雄, 田中涼一, 国田信治：原子吸光分析法による玄米中のMn, Cu, Pb, Zn, Cdの同時定量：食衛誌, vol 13, No.3 195~204 (1972)
- 6) 田中之雄, 池辺克彦, 田中涼一, 国田信治：石英管燃焼一還元¹化法による魚肉中微量水銀分析法について：食衛誌, vol 15, No.5 386~389 (1974)
- 7) Goto, H. Atsuyaa, I. : Anal Chem 225, 121 (1967)
- 8) 池辺克彦, 田中之雄, 田中涼一, 国田信治：食品中の金属元素に関する研究（第一報）, 食衛誌, Vol 13, No.3 239~244 (1973)
- 9) 田中涼一, 池辺克彦, 田中之雄：食品中の重金属分析における低温灰化装置の応用：大阪府公立公衛研所報, 第7号, 37~43 (1976)
- 10) 浮島美之, 永井武, 永野隆夫, 海野忠市, 寺田志保子, 服部智：衛生化学18, 270^頁, 1972)
- 11) 勝村, 石崎睦雄, 笹本和博, 上野浩一：食衛誌, Vol 14, 137 (1973)
- 12) 田中之雄, 池辺克彦, 田中涼一, 国田信治：食品中の重金属含有量について（第1報）, 食衛誌, Vol 14, No.2, 196~201 (1973)
- 13) 田中之雄, 池辺克彦, 田中涼一, 国田信治：食品中の重金属含有量について（第2報）, 食衛誌, Vol 15, No.4, 313~319 (1974)
- 14) 田中之雄, 池辺克彦, 田中涼一, 国田信治：食品中の重金属含有量について（第3報）, 食衛誌, Vol 15, No.5, 390~393 (1974)
- 15) Burke, K. E. Albright C. H. : Anal, 225, 121 (1967)
- 16) 近藤雅臣：動植物性食品中の水銀含有量（総説）衛生化学, 20, 47~66 (1974)
- 17) 厚生省：食品群別摂取量表, 国民栄養の現状（昭和50年国民栄養調査成績）, p. 69~71, 厚生省公衆衛生局栄養課, 東京, (1977)
- 18) Mahaffey, K. R, Cormelinssen P. E., Jelinek, C. F. and Fiorine J. A. Heavy Metals Exposure from Foods. Environmental Health Perspectives Vol 12, 63~69 (1975)
- 19) 田中涼一, 吉田精作, 榎本隆：大豆中銅結合成分のゲル 過分画, 食衛誌, Vol 21, No.4, (1980)
- 21) 田中之雄, 田中涼一, 榎本隆：Cdの生体内挙動におよぼすアミノ酸の影響, 大阪府公衛研衛研所報, 第10号, 105~113 (1979)
- 22) Kojima, S. Kiyozumi, M. and Kamiya, M. : Studies on Poisonous Metals (VI), Effect of

Food Components on Transport of Cd across Rat small intestine in vitro, J. Food. Hyg. Soc. Japan. 19, 553 ~ 558 (1978)

論文の審査結果の要旨

食品中の各種重金属の迅速かつ精度の高い分析法を確立し、これらの分析法を用いて食品中の重金属含有量の一般値を求めた。また、この結果を基礎とし更に陰膳方式、マーケットバスケット方式を加え、国民1人1日あたりの食品からの重金属摂取量を求めた。一方、これら食品中における重金属の存在様式あるいは食品成分の重金属摂取時の影響などについても検討し、食品中の重金属が摂取時に生体内に対しどのような影響を与えるかという問題に関する基礎的知見を得た。

これらの研究成果はわが国の食品衛生問題に関し、重要な知見を加えるものであり、薬学博士を授与するに値するものと判定した。