

アカモクに含まれるヒ素濃度に及ぼす熱湯処理の影響

花岡研一^{1†}, 宮本真至², 臼井将勝²

Effect of hot water washing and soaking on the arsenic content of the brown alga Akamoku, *Sargassum horneri*

Ken'ichi Hanaoka^{1†}, Shinnji Miyamoto² and Masakatsu Usui²

Abstract : Arsenic was determined through inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in the acid-digested and diluted solutions of dried natural Akamoku, *Sargassum horneri*, and its commercially processed product. The solutions from this product were obtained before and after washing/soaking with hot water, a traditional process before cooking in Japan. Each sample was also subjected to an extraction procedure for arsenic, which involved a nitric acid-based partial-digestion method by chemical speciation using HPLC-ICP-MS. The major arsenic compound detected was inorganic arsenic (V). Moreover, small amounts of organic arsenic compounds such as dimethylarsinic acid were detected, which were regarded as degradation products of dimethylated arsenosugars—the major organoarsenicals in algae.

Key words: algae, arsenic compounds, trace elements, toxicity

1. 緒 言

現在、海藻は、ミネラルの補給源として注目されている。すなわち、海藻は、海水中に微量に含まれる種々のミネラルを、高い濃縮係数で組織内に蓄積することで知られる。¹⁻²⁾しかし、それらのミネラルは、CaやFeのように人体の成長や代謝にとって必須の元素ばかりではない。むしろ、人体にとって有害とされるAsも存在している。そこで、著者らは、これまで褐藻ヒジキ *Hizikia fusiform* を試料としてその組織中に含まれるAsを含む種々のミネラルの含量、あるいはその水戻しに伴う含量変化についての研究を行ってきた。³⁻⁶⁾

今回は、ヒジキと同様、ヒバマタ目ホンダワラ科に属する褐藻アカモク *Sargassum horneri* に着目した。この海藻は高い生長率を有し、藻長1~5mに達する。また、ホン

ダワラ科の海藻について生育適温と生育上限温度を調べた研究により、アカモクの場合、低温型に分類されることが明らかになっている(生育適温:15-20°C, 生育上限:27°C)。⁷⁾このため、アカモクは北海道東部を除く日本全土から朝鮮半島や中国の沿岸に分布する。⁸⁻¹⁰⁾また、岩面のみでなく転石にも繁殖する。⁹⁾韓国では食用に供されており、日本でも新潟県や山口県その他において食用として利用されている。¹¹⁻¹³⁾

本研究で分析対象としたアカモク試料は、①市販用に加工する以前の自然乾燥品、②市販品、③市販品について熱湯処理したものおよび④熱湯処理に用いた水の4種類である。すなわち、加工あるいは家庭で行われる調理前処理が、アカモクのAs含量に与える影響について、誘導結合プラズマ-質量分析法(ICP-MS法)を用いて検討した。また、Asは、海産生物において種々の化学形態で存

¹ 独立行政法人水産大学校水産学研究科 (Graduate School of Fisheries Science, National Fisheries University)

² 独立行政法人水産大学校食品科学科 (Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

³ 〒759-6595 下関市永田本町2-7-1 (2-7-1 Nagata-honmachi, Shimonoseki 759-6595)

[†] 別刷り請求先 (corresponding author) : hanaoka@fish-u.ac.jp

在することでも知られ、その毒性も各形態によって異なる。¹⁴⁻²⁰⁾そこで、高速液体クロマトグラフィー-誘導結合プラズマ-質量分析法 (HPLC-ICP-MS 法) を用いて形態別分析も行った。

2. 試料および方法

2.1 試料

2.1.1 アカモク

A社製の市販乾燥アカモクおよびその原料として用いられる自然乾燥アカモクを用いた。

2.1.2 試料調製

①自然乾燥アカモク

自然乾燥アカモクの一定量について凍結乾燥を行った後、乳鉢を用いて、均一な粉砕物を調製した。以下、これらを自然乾燥品と呼称する。

②市販乾燥アカモク

市販乾燥アカモク (10g 入り) を 5g ずつ 2 つに分けた後、一方についてはそのまま凍結乾燥し、他方については熱湯処理 (後出) を行ってから、凍結乾燥を行った。凍結乾燥後、それぞれから乳鉢を用いて均一な粉砕物を調製した。以下、熱湯処理を行わずにそのまま凍結乾燥を行ったものを市販品、熱湯処理後に凍結乾燥を行ったものを熱湯処理市販品と呼称する。

③熱湯処理

家庭において実際に行われている調理過程と同様の条件にするために、熱湯処理には水道水を使用した。すなわち、市販乾燥アカモク 5g に対して 100 倍量の沸騰した水道水 (98°C) 500ml を加え、適宜攪拌しながら 10 分間放置した。つづいて、この熱湯処理液 50ml を分取した後、残りの試料をザルにあげて水気を切り、凍結乾燥を行って上記の熱湯処理市販品を得た。ここで分取した熱湯処理液を東洋濾紙株式会社製シリンジフィルター、DISMIC-13JP (0.5 μm) でろ過したものを、以下、熱湯処理液と呼称する。

2.2 誘導結合プラズマ-質量分析法 (ICP-MS 法)

2.2.1 試料の分解

それぞれの試料 0.1 g に、和光純薬工業株式会社製、超微量分析用硝酸 (69%) を 6 ml 加え、PerkinElmer 社製マイクロ波分解装置 Multi Wave 3000 を用いて分解 (800w で 40 分) した。その後、この分解液に超純水を加えて 40 ml に定容し、定量用試料溶液とした。

2.2.2 ICP-MS 法

2.2.1 にて調製した溶液に含まれる As について、Hewlett Packard 社製 HP7500cx 型 ICP-MS を用いて標準添加法による定量分析 (積分時間 5 秒、繰り返し測定 3 回) を行った。As の標品としては、和光純薬工業株式会社製の無機ヒ素 (III) を使用した。

2.3 硝酸加熱溶解-高速液体クロマトグラフィー誘導結合プラズマ質量分析法 (硝酸加熱溶解-HPLC-ICP-MS 法)

2.3.1 硝酸加熱溶解法

固体試料 (自然乾燥品、市販品、熱湯処理市販品) については、それぞれの試料 0.1 g に和光純薬工業株式会社製の超微量分析用硝酸 (69%) を 1 ml 加えた後、硝酸加熱溶解法 (80°C, 1 時間) を用いてヒ素化合物を抽出した。²¹⁾ この抽出液に、アンモニア水を pH 7 になるまで加え、超純水で 50 ml に定容した。この溶液を数 ml ろ過して試料溶液とした。

2.3.2 HPLC-ICP-MS 法

2.3.1 により抽出・調製された試料溶液および熱湯処理液について、HPLC-ICP-MS 分析を行った。すなわち、Agilent Technologies 社製高速液体クロマトグラフ Agilent 1100 型を HP7500cx 型 ICP-MS に接続し、ヒ素化合物の分析を行った。試料の注入に当っては Agilent 1200 series 型オートサンプラーを用いた。分離用カラムとしては、2 種類、すなわち強酸性陽イオン交換カラム Nucleosili 100SA-10 (4.6 × 250 mm, 移動相: ピリジン酸緩衝液 (pH 3.4), 流速: 1.0 ml/min) および強塩基性陰イオン交換カラム Nucleosili 100SB-10 (4.6 × 250 mm, 移動相: リン酸緩衝液 (pH 6.5), 流速: 1.5 ml/min) を用いた。前者のカラムでは、ヒ素化合物標品として、アルセノベタイン (AB), トリメチルアルシノキシド (TMAO), アルセノコリン (AC) およびテトラメチルアルソニウムイオン (TMAI) を用いた。一方、後者のカラムでは、ヒ素化合物標品として、3 価の無機ヒ素 (As (III)), 5 価の無機ヒ素

As (V)、メタンアルソン酸 (MMA) およびジメチルアルシン酸 (DMAA) を用いた。各試料から検出されたヒ素化合物については、これらの標品の保持時間との比較により同定を行った (保持時間, 秒: AB 200-330; TMAO 370-430; AC 480-540; TMAI 580-630; As (III) 160-250; MMA 265-330; DMAA 430-500; As (V) 525-580)。また、これらヒ素化合物の定量に当たっては、絶対検量線法を用いた。

2. 3. 3 有意差の判定

自然乾燥品の総ヒ素濃度と市販品のそれとの間、および市販品の総ヒ素濃度と熱湯処理市販品のそれとの間における有意差の判定には、t 検定を用いた (n=3)。

3. 結果および考察

3. 1 ICP-MS 法による分析

市販品の As 濃度 ($270 \pm 11 \mu\text{g/g}$) は、自然乾燥品のそれ ($359 \pm 19 \mu\text{g/g}$) の 3/4 程度であった ($P < 0.005$)。この市販品の As 濃度は、熱湯処理に伴ってさらに 1/5 程度に減少した ($60.0 \pm 1.9 \mu\text{g/g}$) ($P < 0.005$)。これに伴い、熱湯処理液に溶出した As の濃度は、 $224 \pm 6 \mu\text{g/g}$ であった。As は、一般に毒性の非常に強い元素として知られている。したがって、熱湯処理による濃度の低下は調理に当たっての前処理として有益であった。著者らは、ヒジキにおいても水戻しに伴う同様の低下を認めている。³⁾このことから、ヒバマタ目ホンダワラ科に属する海藻に含まれる高濃度の無機ヒ素を低下させるためには、水戻しや今回のような熱湯処理が有効であると考えられる。しかし、As の毒性は上記の通り、その存在形態によって大きく異なる。そこで、各試料中における As 化合物の化学形態を調べるため、次項 (3. 2) において、HPLC-ICP-MS を用いて分析を行った結果について述べる。

3. 2 自然乾燥品、市販品、熱湯処理品および熱湯処理液における As 化合物の形態別分析

各アカモク試料から、硝酸加熱溶解-HPLC-ICP-MS 法により形態別に検出されたヒ素濃度を Fig.1 に示す。自然乾燥品においては、主要なヒ素化合物として As (V) が検出された。その他、MMA、DMAA および未知ヒ素化合物 2 種が検出された。それらヒ素化合物濃度の合計は、 $152 \pm 14 \mu\text{g/g}$ であった。市販品においても、自然乾燥品と同

様のヒ素化合物が検出された。これらヒ素化合物濃度の合計は、 $124 \pm 9 \mu\text{g/g}$ であった。一方、熱湯処理市販品においても As (V) が主要なヒ素化合物であった。しかし、その濃度は市販品のそれの 1/5 程度であった。この他、微量の MMA や DMAA も検出されたが、各ヒ素化合物濃度の合計は、市販品のそれと比較して低下した ($28 \pm 1 \mu\text{g/g}$)。熱湯処理液においても、主要なヒ素化合物は As (V) であった。したがって、市販品に含まれていた As (V) の、熱湯処理に伴う処理水中への溶出は明らかであった。この他、2 種の未知ヒ素化合物も検出され、それらの合計は、 $222 \pm 42 \mu\text{g/g}$ であった。

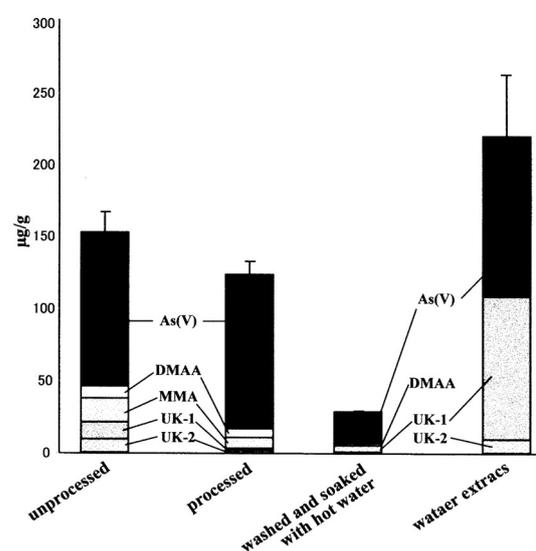


Figure 1. Concentration and chemical form of arsenic in the washed and soaked Akamoku.

As の毒性は有機態よりも無機態で高い。また、無機態の中でも、As (III) の方が As (V) より高い。今回、この無機態の As も含め、熱湯処理によって各ヒ素化合物濃度は有意に減少した (As (V), $107.0 \rightarrow 21.2$ ($P < 0.005$); MMA, $7.5 \rightarrow 4.4$ ($P < 0.01$); DMAA, $5.8 \rightarrow 1.7$ ($P < 0.005$); UK-1, $1.2 \rightarrow 0.3$ ($P < 0.005$); UK-2, $1.7 \rightarrow 0.7$ ($P < 0.005$))。なかでも、毒性の高い無機態 As 濃度の低下から、熱湯処理の有効性は明らかであった。ただし、依然として $30 \mu\text{g/g}$ 程度の As 化合物が、熱湯処理品中に残存した。したがって、熱湯処理によって効果的に As 化合物濃度を減らすために、それを行う時間の長さや処理中の水変えなどの条件を検討することが今後の課題であった。なお、自然乾燥品や市販品において検出された DMAA および MMA は、熱湯処理液から検出されなかった。固体試料の場合には、抽出に硝酸を用いているため、これらのヒ素化合物は、ジメチル態のアルセノ糖などからアーティファクトとして誘導

されたと考えた。

本研究においては、硝酸加熱溶解を行った熱湯処理液以外、総ヒ素濃度と各ヒ素化合物濃度の合計とが一致しなかった。この理由として、①アカモクの組織に含まれる多糖類等が難分解性であるため完全な抽出を阻害したこと、または、② HPLC-ICP-MS 分析において、未知ヒ素化合物の場合には、定量が不完全だったことなど示唆された。いずれにしても、今後、少なくともアカモクの場合には、As を形態別分析する上で、抽出法の改良が必要であると考えられた。

4. 謝 辞

本研究で用いたアカモクにつき、種々の有用なご教示をいただきました、水産大学校生物生産学科准教授、村瀬昇博士に対し深謝いたします。

5. 参考文献

- 1) 森 宏枝：3. 糖質. 日本水産学会編, 海藻の生化学と利用. 恒星社厚生閣, 東京, 33-45 (1983)
- 2) 山田信夫：海藻利用の科学, 成山堂書店, 東京 (2004)
- 3) Hanaoka K, Yoshida K, Tamano M, Kuroiwa T, Kaise T and Maeda S: Arsenic in the prepared edible brown alga hijiki, *Hizikia fusiforme*, *Appl Organomet Chem*, **15**, 561-565 (2001)
- 4) Ichikawa S, Kamoshida M, Hanaoka K, Hamano M, Maitani T, Kaise T: Decrease of arsenic in edible brown algae *Hizikia fusiforme* by the cooking process. *Appl Organomet Chem*, **20**, 585-590 (2006)
- 5) Wondimu T, Ueno A, Kanamaru I, Yamaguchi Y, McCrindle R, Hanaoka K: Temperature-dependent extraction of trace elements in edible brown alga hijiki, *Hizikia fusiforme*, *Food Chemistry*, **104**, 542-550 (2007)
- 6) Ichikawa S, Nozawa S, Hanaoka K, Kaise T: Ingestion and excretion of arsenic compounds present in edible brown algae, *Hizikia fusiforme*, by mice. *Food Chem Toxicol*, **48**, 465-469 (2010)
- 7) 原口展子, 村瀬 昇, 水上 譲, 野田幹雄, 吉田吾郎, 寺脇利信：山口県沿岸のホンダワラ類の生育適温と上限温度. 藻類 **53**, 7-13 (2005)
- 8) 寺脇利信：アカモク. 堀 輝三 (編), 藻類の生活史集成 第2巻 褐藻・紅藻類. 内田老鶴圃, 東京, 160-161 (1993)
- 9) 村瀬 昇, 松井敏夫, 大貝政治：山口県瀬戸内海沿岸東部海域の海藻相. 水大校研報, **41**, 237-249 (1993)
- 10) 吉田忠生：新日本海藻誌 日本産海藻類総覧. 内田老鶴圃, 東京, (1998)
- 11) 吉田忠生：ヒバマタ目類. 大野正夫 (編著), 有用海藻誌 海藻の資源開発と利用に向けて. 内田老鶴圃, 東京, 111-132 (2004)
- 12) 大野正夫：地方特産の食用海藻. 大野正夫 (編著), 有用海藻誌 海藻の資源開発と利用に向けて. 内田老鶴圃, 東京, 283-296 (2004)
- 13) 大野正夫：世界の海藻資源の概観. 大野正夫 (編著), 有用海藻誌 海藻の資源開発と利用に向けて. 内田老鶴圃, 東京, 297-330 (2004)
- 14) Edmonds J S, Morita M, Shibata Y: Isolation and identification of arsenic-containing ribofuranosides and inorganic arsenic from Japanese edible seaweed *Hizikia fusiforme*. *J Chem Soc Perkin Trans, I*, 577-580 (1987)
- 15) Hanaoka K, Tagawa S, Kaise T: The fate of organoarsenic compounds in marine ecosystems. *Appl Organomet Chem*, **6**, 139-146 (1992)
- 16) Francesconi K A, Edmonds J. S: Biotransformation of arsenic in the marine environment. *In: Arsenic in the Environment Part I: Cycling and Characterization*, Nriagu J O (ed.). John Wiley & Sons, New York, 221-261 (1994)
- 17) Phillips D J H: The chemical forms of arsenic in aquatic organisms and their interrelationships. *In: Arsenic in the Environment Part I: Cycling and Characterization*, Nriagu J O (ed.). Wiley & Sons, New York, 263-288 (1994)
- 18) 花岡研一：海洋生態系におけるヒ素化合物の動態に関する研究. 日本水産学会誌, **70**, 284-287 (2004)
- 19) 長岡 (浜野) 恵, 花岡研一：食品中の無機ヒ素と有機ヒ素について. 食品衛生研究, **61**, 43-52 (2011)
- 20) 圓藤吟史, 花岡研一, 安井明美, 山内 博, 山中健三, 鰐淵英機：平成 20 年度 食品中に含まれるヒ素の食品影響評価に関する調査, 内閣府食品安全委員会 平成 20 年度食品安全確保総合調査, (財) 国際医学情報センター, 東京 (2009)
- 21) Hamano N M, Hanaoka K, Usui M, Nishimura T, Maitani T: Nitric acid-based partial-digestion method for selective determination of inorganic arsenic in hijiki and application to soaked hijiki, *Food Hygiene and Safety Science*, **49**, 88-94 (2008)