

水産物の微量金属に関する研究

大堀忠志・佐々木茂文・吉川修司・太田智樹

Study on Trace Metals in Marine Products

Tadashi OOHORI*, Shigefumi SASAKI, Shuji YOSHIKAWA and Tomoki OHTA

北海道で漁獲される水産物の中で、貝類（カキ、ホタテガイ）、軟体動物（イカ、タコ）、海藻類や魚類の加工残滓には鉄、銅、亜鉛などの微量金属が多く含まれていると推察される。

一方、生体におけるそれらの役割が近年注目され、特に亜鉛は酵素系において重要な働きをしており、欠乏症として皮膚炎や貧血、生殖機能及び味覚・臭覚機能の低下などが挙げられる。また、銅は生体内では多くの銅結合タンパク質の構成成分であり、骨異常、神経障害が欠乏症として知られている。

さらに、哺乳動物や魚介類の内臓には金属とタンパク質が結合した高分子メタロチオネインの存在が知られており、ホタテガイ中腸腺についても分子量が数万から数千のメタロチオネインの存在が報告されている¹⁾。

本研究では、水産物及びその加工品に含まれる微量金属含量を測定するとともに、スルメイカ肝臓中の微量金属の存在形態や酵素分解による分子量変化、培養動物細胞の増殖に対する微量金属の影響を検討した。

実験方法

1. 試料

サケ肝臓、ホタテ中腸腺、カキ内臓、ケガニ肝臓、スルメイカ肝臓及び市販イカ塩辛を用いた。

2. イカ肝臓からの微量金属の抽出

スルメイカ肝臓に2倍量の100mM トリス塩酸緩衝液

(pH8.5) を加え1分間ホモジナイズした後、遠心分離(10000g, 15min)して抽出液を得た。抽出液をさらに同条件で遠心分離し、上澄液2mlをゲル濾過クロマトグラフィーに供した。ガラスカラム(2.5×75cm)にセファデックスG-50を充填し、100mM トリス塩酸緩衝液(pH8.5)にて平衡化した後、平均流速38ml/hでゲル濾過による分画を行った。得られた画分の紫外外部吸収(280nm)および微量金属を測定した。なお、標準タンパク質(A₁:43000, A₂:25000, A₃:6000, A₄:1350)の溶出位置から分子量を推定して算出した。

3. イカ肝臓の酵素処理

スルメイカ肝臓に0.5%の蛋白分解酵素(パパインW-40)を加え、37°Cで3時間分解した後、上記と同様に抽出処理したものをゲル濾過により分画し、各画分の紫外外部吸収および微量金属を測定した。また、無処理のイカ肝臓についても同様に行った。

4. 培養細胞を用いた細胞増殖試験

イカ肝臓を酵素分解後加熱処理し、等量の蒸留水を加えて上記と同様にゲル濾過を行った溶出液を試料に用いた。対照試料として無機微量金属(塩化銅、塩化カドミウム)の水溶液を用いた。

供試細胞としては、接着細胞のヒト胎児空腸・回腸細胞株(Intestine 407)を使用し、10% FBS含有DMEM培地により5% CO₂下、37°Cで培養を行った。

細胞増殖試験は以下のように行った。すなわち、

* oohori@foodhokkaido.gr.jp

事業名：一般試験研究

課題名：水産食品の微量金属の機能性に関する研究

Intestine 407を96穴マイクロプレートに 6×10^3 cells/well ずつまき24時間培養した。次に蒸留水で適宜希釈し、0.2 μ m で濾過した試料を20 μ l ずつ加え、十分に混和し24時間培養後、死細胞と全細胞をFACLS法により測定し、細胞の生残率を算出した。

5. 分析方法

水分は105°C常圧乾燥法、灰分は550°C乾式灰化法、微量金属（鉄(Fe)、銅(Cu)、亜鉛(Zn)、カドミウム(Cd)）は灰化試料に6N塩酸溶液を加えて試料液を調製した後、原子吸光分光光度計（日立Z-6100）を用いて直接噴霧法により測定した。

実験結果及び考察

1. 水産物の微量金属含量

水産物内臓及び市販イカ塩辛の微量金属含量を表1に示した。Feはサケ肝臓に多く約30mg/100g含まれ、他の内臓は11~15mg/100gであった。Cuはスルメイカ肝臓に多く約14mg/100g、Znはカキ内臓が特に多く約45mg/100gであった。また、イカ肝臓を添加した伝統的発酵食品であるイカ塩辛には、100g中にFe 0.5~0.9mg、Cu 0.8mg、Zn 1.2~1.4mg、Cdが0.1~0.3mg含まれ、イカ肝臓に比べ含有量は少なかった。

表1 水産物の内臓及び市販イカ塩辛の微量金属含量

	水分	灰分	Fe	Cu	Zn	Cd
	g/100g					
サケ肝臓	81.36	1.25	29.35	4.78	3.64	N.D.
ホタテ中腸腺	75.20	2.23	14.59	0.79	2.92	4.08
カキ内臓	80.03	2.21	11.01	3.32	45.17	N.D.
ケガニ肝臓	66.63	2.56	11.82	1.89	4.30	0.74
スルメイカ肝臓	41.75	1.82	11.46	13.87	9.96	1.50
イカ塩辛(A社)	66.47	6.33	0.56	0.83	1.41	0.33
イカ塩辛(B社)	69.44	7.36	0.97	0.88	1.28	0.14

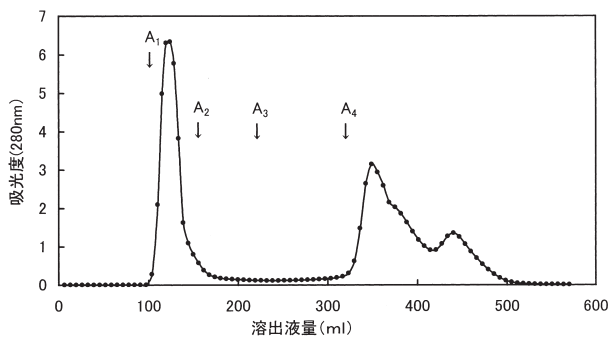


図1 イカ肝臓抽出液のゲル濾過クロマトグラム
MW: A₁(43000) A₂(25000) A₃(6000) A₄(1350)

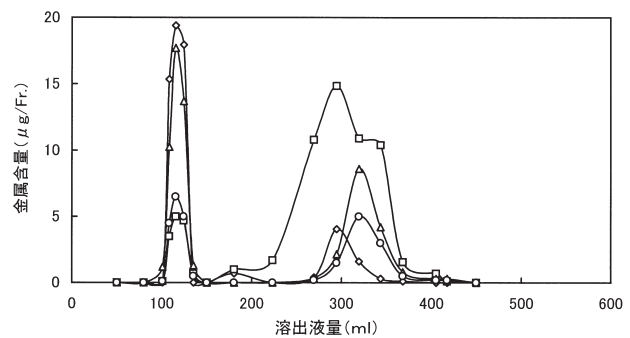


図2 イカ肝臓抽出液のゲル濾過による微量金属のクロマトグラム
—◇— Fe —□— Cu —△— Zn —○— Cd

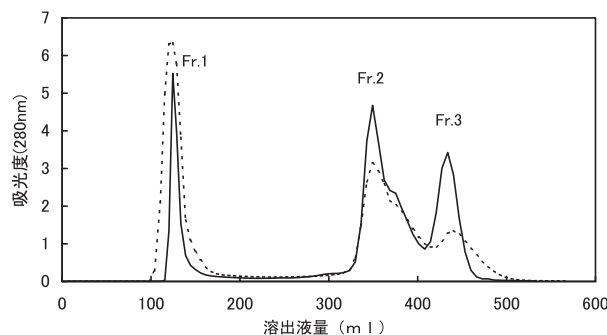


図3 イカ肝臓の酵素処理によるゲル濾過クロマトグラムの変化
----- 無処理 ——— 酵素処理

2. イカ肝臓中の微量元素の存在形態

イカ肝臓抽出液のゲル濾過における紫外部吸収および微量元素のクロマトグラムを図1, 2に示した。紫外部吸収は分子量40000付近に大きなピークと約1500以下にいくつかのピークが認められた。微量元素のクロマトグラムでは、各微量元素とも紫外部吸収と同様に分子量40000付近にピークがみられ、さらに分子量1500前後の低分子域にもピークが認められた。

哺乳動物や魚介類の内臓には金属とタンパク質が結合した高分子メタロチオネインの存在が知られてきているが、本試験からイカ肝臓中には高分子のメタロチオネイン以外に低分子領域にもメタロチオネイン様の微量元素の存在が明らかとなった。

3. イカ肝臓の酵素分解によるメタロチオネインの分子量変化

イカ肝臓の酵素処理によるゲル濾過クロマトグラムの変化を図3に示した。なお、Fr. 3には微量元素は検出されなかった。無処理と比べ酵素分解により高分子メタロチオネイン (Fr. 1) の一部が分子量1500前後に低分子化 (Fr. 2) していた。このことから、イカ肝臓を酵素分解した場合、低分子メタロチオネインの形態で存在

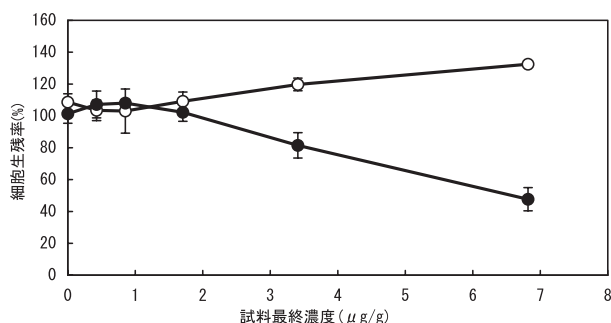


図4 細胞増殖に及ぼすメタロチオネインの影響

○—無機微量元素 ●—イカ肝臓抽出液

する微量元素は増加するものと考えられる。

4. 細胞増殖に及ぼすメタロチオネインの影響

細胞増殖に及ぼすメタロチオネインの影響を図4に示した。細胞生残率は無機金属溶液ではいずれの濃度においても生残率が100%以上で細胞増殖が認められたが、イカ肝臓抽出メタロチオネイン (Fr. 1, Fr. 2) では7 μg/gで生残率が50%以下と細胞増殖に影響を及ぼした。一般に生体内に摂取された微量元素は、肝臓中でタンパク質と結合してメタロチオネインを形成し無毒化していることが知られている²⁾が、本試験から細胞レベルではメタロチオネインは無機金属より細胞増殖に影響を及ぼし、今後検討を行う必要がある。

要 約

水産物の微量元素含量、スルメイカ肝臓中の微量元素の存在形態や細胞増殖に及ぼす微量元素の影響を検討した。

水産物内臓の微量元素含量は、Feがサケ肝臓、Cuがイカ肝臓、Znがカキ内臓に多く、Cdはホタテガイ中腸腺やイカ肝臓に多く含まれていた。イカ肝臓には高分子メタロチオネイン以外に低分子のメタロチオネインも存在し、酵素分解によりメタロチオネインの低分子化が認められた。また、イカ肝臓抽出メタロチオネインは無機微量元素より細胞増殖に影響を及ぼした。

文 献

- 1) 野俣 洋, 蛭谷幸司, 大堀忠志: 北海道立水産試験場研究報告, **40**, 31 (1993).
- 2) 鈴木和夫: 微量元素の生体作用 (学会出版センター, 東京), p153 (1998).