

平成15年6月3日

照会先：厚生労働省医薬局食品保健部

中垣 基準課長

担当：太齊、鶴身（内線2488、2489）

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品・毒性合同部会
（平成15年6月3日開催）の検討結果概要等について

1. 本日開催された薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品・毒性合同部会において審議された、魚介類に含まれる水銀に関する安全確保についての審議結果は次のとおりである。

メチル水銀の毒性に関する資料、平成13、14年度厚生労働科学研究や各都道府県において実施された魚介類中の水銀濃度に関するデータ、平成14年度に水産庁が実施したマグロ類の水銀検査結果等に基づき審議された。

その結果、別添のとおり、水銀濃度が高いサメ、メカジキ、キンメダイ、クジラ類の一部（ツチクジラ、バンドウイルカ、コビレゴンドウ、マッコウクジラ）を中心に、妊婦等を対象とした摂食に関する注意事項について取りまとめられた。

なお、妊婦等を除く方々にあつては、すべての魚種について、妊婦等にあつても上記の魚種を除き、現段階では水銀による健康への悪影響が一般に懸念されるようなデータはない。魚介類等は一般に人の健康に有益であり、本日の注意事項が魚介類等の摂食の減少につながらないように正確に理解されることを期待したい。

2. 厚生労働省の対応

母子保健関係部局、水産庁及び各都道府県に対し、妊婦等への指導等、本注意事項の趣旨を周知いただくよう通知した。

また、厚生労働省ホームページに掲載するなど、情報提供に努めていくこととしている。

平成15年6月3日

水銀を含有する魚介類等の摂食に関する注意事項

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
乳肉水産食品・毒性合同部会

多くの魚介類等が微量の水銀を含有しているが、一般に低レベルで人の健康に危害を及ぼすレベルではない。魚介類等は、良質なたんぱく質を多く含み、飽和脂肪酸が少なく、不飽和脂肪酸が多く含まれ、また、微量栄養素の摂取源である等、重要な食材である。

しかし、一部の魚介類等では食物連鎖により蓄積することにより、人の健康、特に胎児に影響を及ぼす恐れがある高いレベルの水銀を含有している。

このため、妊娠している方又はその可能性のある方については、魚介類等の摂食について、次のことに注意することが望ましい。

これまで収集されたデータから、バンドウイルカについては、1回60～80gとして2ヶ月に1回以下、ツチクジラ、コビレゴンドウ、マッコウクジラ及びサメ（筋肉）については、1回60～80gとして週に1回以下にすることが望ましい。

また、メカジキ、キンメダイについては、1回60～80gとして週に2回以下にすることが望ましい。

なお、妊娠している方等を除く方々はすべての魚種等について、妊娠している方等にあっても上記の魚種等を除き、現段階では水銀による健康への悪影響が一般に懸念されるようなデータはない。魚介類等は一般に人の健康に有益であり、本日の注意事項が魚介類等の摂食の減少につながらないように正確に理解されることを期待したい。

今後とも、魚介類等の中の水銀濃度及び摂取状況等を把握するとともに、胎児への影響に関する研究等を行い、その結果を踏まえ、今回の摂食に係る注意事項の内容を見直すものとする。

15年度 厚生労働科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）分担研究報告書

食品中の有害物質等の評価に関する研究

主任研究者 国立医薬品食品衛生研究所 松田 りえ子

分担研究者 大阪府立公衆衛生研究所 堀 伸二郎

協力研究者 大阪府立公衆衛生研究所 桑原 克義, 阿久津 和彦

新潟県保健環境科学研究所 酒井 洋

PCB 及び水銀試験法の開発に関する研究

要 旨

1. PCB

(略)

2. 水銀

- 1) 従来法を用いて総水銀及びメチル水銀の測定を行った。
- 2) メチル水銀については、従来法のパックドカラム ECD/GC 法よりより精密なキャピラリーカラム GC/MS 法を開発した。従来法との比較検討の結果、両分析法の間に高い相関が認められた。
- 3) メチル水銀分析における直接抽出法とアルカリ分解-ジチゾン抽出法を比較検討した。その結果、両分析法の間で差異は認められなかった（相関係数）。
- 4) メチル水銀の実態調査は、日本で食されている 6 種類（銀ダラ、アラスカメヌケ、本メヌケ、キンメダイ、トチザメ、シロザメ（4 試料））の魚類について総水銀及びメチル水銀を測定した。
各魚類のメチル水銀濃度の平均値は、銀ダラ（7 試料）0.18 mg/kg(0.03~0.37)、アラスカメヌケ（3 試料）0.21 mg/kg(0.08~0.31)、本メヌケ（7 試料）0.27 mg/kg(0.17~0.45)、キンメダイ（10 試料）0.48 mg/kg(0.27~0.83)、トチザメ（3 試料）0.41 mg/kg(0.30~0.61)、シロザメ（4 試料）0.05 mg/kg(0.04~0.08)であった。

I. PCB 試験法の開発に関する研究

(略)

（事務局注）平成15年6月の検討において、メチル水銀量と総水銀量が逆転するなど、さらなる調査が必要とされた銀ダラ、メヌケ等を対象に実施。

II. 水銀試験法の開発に関する研究

A. 研究目的

魚介類中の総水銀の分析法は環流式湿式分解-還元原子吸光光度法が採用されている。水銀の場合、一般に用いられる高温のフレイム原子吸光光度法を用いるより還元気化または加熱気化したのち、室温の吸収セル中に水銀蒸気を導入する冷原子吸光光度法の法が著しく感度が高い。

メチル水銀に関しては塩酸酸性ベンゼン抽出-システイン転溶-塩酸酸性ベンゼン再抽出/パックドカラム-ECD-GC (公定法: 直接抽出法) が一般的に行われている。しかしながら、直接抽出法は試料を固形物のまま抽出するため、ブレンダー等で出来るだけ表面積を大きくする必要がある。また、脂肪が多い試料では抽出過程でエマルジョンを形成し、抽出効率が低下する懸念がある。これらを改善する方法にアルカリ分解-ジチゾン抽出法がある。そこで、直接抽出法とアルカリ分解-ジチゾン抽出法を比較検討した。

昨年度に引き続きガスクロマトグラフィー (GC) 法の検討を行った。

パックドカラム仕様の GC は現在殆ど生産されていない。ECD 検出器にパックドカラムを装着すると、カラム中の液相が溶出し、ECD 検出器が汚れピークのドリフト等がおこり、正確な定量が困難になる。そこで、パックドカラムをキャピラリーカラムに変更して高感度、高精度のメチル水銀の測定法を開発する。

B. 研究方法

1. 試薬・試料

試料: 濃度の異なる 2 種類のマグロ試料のマグロについてメチル水銀を測定した (n=5) (表 1)。

試薬: ①硫酸: 精密分析用、②硝酸: 有害金属測定用、③過塩素酸: 特級、④尿素溶液 (10%): 特級尿素 50 g を水に溶かして 500mL とする。⑤硫酸溶液 [硫酸 (1+1)]: 水 250mL をビーカーにとり、これを冷却し、かき混ぜながら精密分析用硫酸

250mL を徐々に加える。⑥還元液 [塩化すず (II) 溶液]: 精密分析用塩化第一すず (2 水塩) 10 g に硫酸 (1+20) 60mL を加え、かき混ぜながら溶かして水で 100mL とする。⑦水銀標準液 (10 μ g Hg/mL): 原子吸光分析用水銀標準原液 1000 ppm (2mL を 200mL のメスフラスコにとり、硝酸 5 mL を加え、水を標線まで加える。⑧校正用水銀標準液 (0.1 μ g Hg/mL): 100mL のメスフラスコに約 80mL の水を入れ、硫酸 (1+1) 5mL を加えたのち、水銀標準液 (10 μ g Hg/mL) 1mL をとり、水を標線まで加える。本液 1mL は水銀 100ng を含む。

⑨ L-システイン・酢酸ナトリウム溶液: 特級 L-システイン塩酸塩一水和物 1.0 g、特級酢酸ナトリウム三水和物 0.8 g 及び一級硫酸ナトリウム (無水) 12.5 g を水に溶かして 100mL とする。(使用時に調製する) ⑩塩化メチル水銀標準原液: 市販の塩化メチル水銀 (II) 10 μ g/mL (Hg として) ベンゼン溶液を用いる。検量線: 上記の標準原液をベンゼンで希釈し、0.005~0.1 μ g/mL の標準溶液を段階的に調製する。⑪0.1%ジチゾン・ベンゼン溶液: 粉末状のジチゾン 0.55g をベンゼン 500mL に溶解させたのち、1mol/L NaOH 100mL で 2 回抽出する。水層を合わせ HCl を加え中性から弱酸性とし、ベンゼン 500mL に転溶させて 0.1%、1%ジチゾン・ベンゼン溶液を調整する (冷暗所に保存)。

2. 装置及び器具

1) 総水銀

水銀測定装置: 平沼産業社製

2) メチル水銀

Me-Hg (パックドカラム)

GC: 日立 263-50 (ECD); カラム: 3mmI.D. x 1m ; 充填剤: 10% Thermon-Hg Chromosorb W 80/100 AW-DMCS1m; カラム温度: 165°C; 注入口温度: 200°C; 検出器温度: 200°C; キャリアーガス: N₂ (50mL/min)

Me-Hg (キャピラリーカラム)

GC: Agilent Technologies 6890N (ECD); カラム: ULBON HR-Thermon-Hg, 0.53mmI.D. x 15m; カラム

温度：160℃；注入口温度：200℃；検出器温度：230℃；キャリアーガス：He (10mL/min)

3. 分析方法

1) 総水銀

試料を酸分解した後、塩化すず(Ⅱ)で水銀(Ⅱ)を還元する。この溶液に通気して発生する水銀蒸気による原子吸光を波長 235.7 nm で測定し、水銀を定量する、還元気化原子吸光法で測定した(図 1)。

2) メチル水銀

直接抽出法：試料 10 g (0.01 g まで) をビーカー 50mL に採取し、水 20mL を加えディスペンサーでホモジナイズする。このビーカーの試料及びディスペンサーに付着した試料を 35mL で分派ロート (300mL) に洗いこみ、さらに濃塩酸 14mL、塩化ナトリウム 10 g、ベンゼン 70mL を加え約 5 分間激しく振り混ぜたものを 350mL 遠沈管に移し変え 3000 回転 10 分間遠心分離する。遠沈管のベンゼン層 (上層) 40mL を 100mL 分派ロートに分取し、中性になるまで 4～5 回 20%NaCl 溶液で水洗する。これに L-システイン溶液 6mL を加え 2 分間振とうし 10 分間以上静置する。この水層 2mL を 100mL の分派ロートに分取し、さらに 6N 塩酸 1.2mL、ベンゼン 4mL を加え 10 分間振り混ぜる。10 分間静置した後、水層を捨て、ベンゼン層を脱水して共栓付き試験管に移し、試験液とする(図 2)。

アルカリ分解—ジチゾン抽出法：細切した試料 10g を 50mL ネジロ遠沈管に秤取し、1mol/L KOH・エタノール 20mL を加えて密栓し沸騰水浴上で 1 時間加熱する。冷後 1mol/L HCl 20mL、10%EDTA・4Na. 2mL およびヘキササン 5mL を順次加えて数分間振とうする。遠心分離後、ヘキササン層を除去し、0.05%ジチゾン・ベンゼン溶液 10mL を加えて振とう抽出する。下層をすて、ベンゼン層を水 30mL で洗浄し、さらに 1mol/L NaOH 10mL で 2 回洗浄した後、ベンゼン層 4mL をネジロ小試験管に移し、0.02%アルカリ性硫化ナトリウム溶液 2mL を加えて逆抽出する。上層はすて、下層にベンゼン 2mL を加えて振とうする。ベンゼン洗液を除去し、下層に先端を細くしたガラス管を用いて N₂ ガスをゆるやかに通じながら、液相が青紫

色を呈するまで 1mol/L HCl を滴下し、さらに 3 分間通気する。次いで Walpole 緩衝液 5mL および 0.05% ジチゾン・ベンゼン溶液 2mL を加えて振とう抽出する。ベンゼン層を 1mol/L NaOH 4mL で 2 回洗浄後、少量の無水 Na₂SO₄ を加えて脱水し、試験溶液とする(図 3)。

C. 結果及び考察

1. 還元気化原子吸光法による総水銀の添加回収率

総水銀汚染の無いイワシを用いて添加回収実験 (n=5) を行った。その結果、総水銀の回収率は 94.4% であった (93.4%～95.6%) 表 2。

2. 魚類中の総水銀及びメチル水銀の分析結果

日本で食されている 6 種類 (銀ダラ、アラスカメヌケ、本メヌケ、キンメダイ、トチザメ、シロザメ (4 試料)) の魚類について総水銀及びメチル水銀を測定した。

1) 還元気化原子吸光法を用いて魚類 6 魚種 34 試料の総水銀を測定した結果を表 3 に示した。

各魚類中総水銀濃度の平均値は銀ダラ (7 試料) 0.22 mg/kg (0.04～0.47)、アラスカメヌケ (3 試料) 0.31 mg/kg (0.11～0.49)、本メヌケ (7 試料) 0.38 mg/kg (0.26～0.56)、キンメダイ (10 試料) 0.55 mg/kg (0.34～1.1)、トチザメ (3 試料) 0.47 mg/kg (0.33～0.69)、シロザメ (4 試料) 0.06 mg/kg (0.05～0.1) であった。

2) メチル水銀 (水銀として) の実態調査は、

各魚類のメチル水銀濃度の平均値は、銀ダラ (7 試料) 0.18 mg/kg (0.03～0.37)、アラスカメヌケ (3 試料) 0.21 mg/kg (0.08～0.31)、本メヌケ (7 試料) 0.27 mg/kg (0.17～0.45)、キンメダイ (10 試料) 0.48 mg/kg (0.27～0.83)、トチザメ (3 試料) 0.41 mg/kg (0.30～0.61)、シロザメ (4 試料) 0.05 mg/kg (0.04～0.08) であった (表 3)。

本結果からシロサメ以外の魚種では、メチル水銀が比較的高濃度含まれていることが明らかになった。

トチザメに較べて低いメチル水銀値を示したシロザメの魚体重平均値は 0.70kg であり、トチザメ

の (3.9kg) にくらべて魚体重量が低かった。

3. マグロ中のメチル水銀/総水銀比 (%)

銀ダラ (7 試料: 平均値) 79.7%、アラスカメヌケ (3 試料) 69.3%、本メヌケ (7 試料) 70.1%、キンメダイ (10 試料) 87.6%、トチザメ (3 試料) 87.0%、シロザメ (4 試料) 85.0%で、総水銀の約 70%以上がメチル水銀で、マグロの値とよく一致していた(表 3)。

4. メチル水銀分析におけるキャピラリーカラムの検討

ULBONHR-Thermon-Hg (0.53mm×15m) キャピラリーカラムを用いてメチル水銀のカラム分離及びピーク形状等を検討した結果、本カラムは分離及びピーク形状等、メチル水銀測定に十分適用できることが明らかになった。検量線も 0.05ppm~0.1ppm の範囲で良好な直線性 ($R^2=0.9999$) が得られた。

銀ダラ、キンメダイ、サメ等計 34 試料について試料についてパックドカラム法及びキャピラリーカラム法によりメチル水銀の定量を試みた。

両測定値の相関係数は $R^2 = 0.991$ でキャピラリー法は従来法 (公定法) とよく一致した。この結果は、食品中のメチル水銀測定においてキャピラリーカラム-ECD-GC の可能性を示唆するものである。

5. メチル水銀の分析法の比較検討

メチル水銀に関しては塩酸酸性ベンゼン抽出-システイン転溶-塩酸酸性ベンゼン再抽出/パックドカラム-ECD-GC (公定法: 直接抽出法) が一般的に行われている。しかしながら、直接抽出法は試料を固形物のまま抽出するため、ブレンダー等で出来るだけ表面積を大きくする必要がある。また、脂肪が多い試料では抽出過程でエマルジョンを形成し、抽出効率が低下する懸念がある。これらを改善する方法にアルカリ分解-ジチゾン抽出法がある。そこで、直接抽出法とアルカリ分解-ジチゾン抽出法を比較検討した。

1) 添加回収実験

市販のイワシにメチル水銀を添加 (試料換算で 0.1ppm) した試料について直接抽出法とアルカリ分解-ジチゾン抽出法で回収率を検討した。その結果、回収率は直接抽出法で 101%、アルカリ分

解-ジチゾン抽出法で 102%というように両者の分析法に差は認められなかった (表 4)。

メチル水銀濃度の高いマグロ試料 (n=5) と低いマグロ試料 (n=5) についても分析法による抽出効率を検討した。

高濃度実試料では直接抽出法で 4.6ppm±0.216、アルカリ分解-ジチゾン抽出法で 4.6ppm±0.228、低濃度実試料では直接抽出法で 0.37ppm±0.016、アルカリ分解-ジチゾン抽出法で 0.33ppm±0.023、というように両者の分析法に大差は認められなかった。以上の結果、魚類試料のメチル水銀抽出にはどちらの抽出法を用いても差異がないことが明らかになった (表 5)。

D. 結論

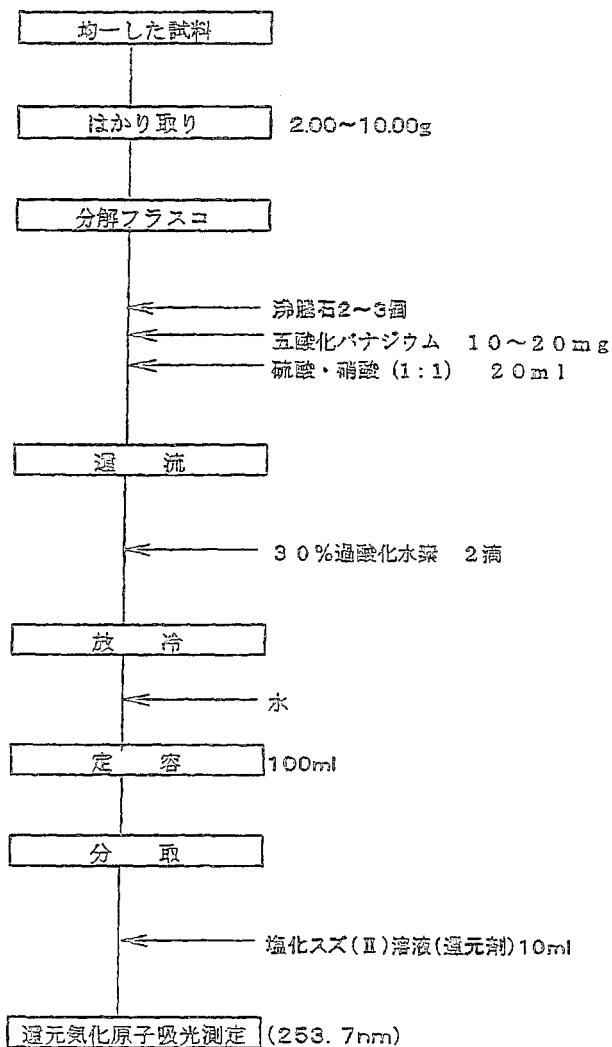
1. 従来法を用いて総水銀及びメチル水銀の測定を行った。
2. メチル水銀については、従来法のパックドカラム ECD/GC 法よりより精密なキャピラリー-GC/MS 法を開発した。従来法との比較検討の結果、両分析法の間に高い相関が認められた。
3. 各魚類のメチル水銀濃度 (水銀として) の平均値は、銀ダラ (7 試料) 0.18 mg/kg (0.03~0.37)、アラスカメヌケ (3 試料) 0.21 mg/kg (0.08~0.31)、本メヌケ (7 試料) 0.27 mg/kg (0.17~0.45)、キンメダイ (10 試料) 0.48 mg/kg (0.27~0.83)、トチザメ (3 試料) 0.41 mg/kg (0.30~0.61)、シロザメ (4 試料) 0.05 mg/kg (0.04~0.08) であった。
4. メチル水銀の分析法の比較検討を行った結果、魚類試料のメチル水銀抽出には直接抽出法、アルカリ分解-ジチゾン抽出法の間には差異がないことが明らかになった。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

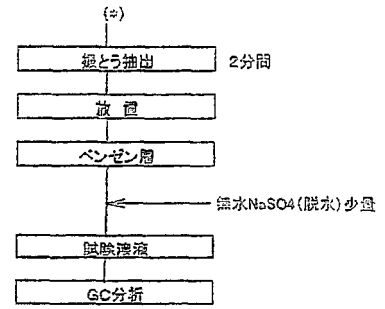
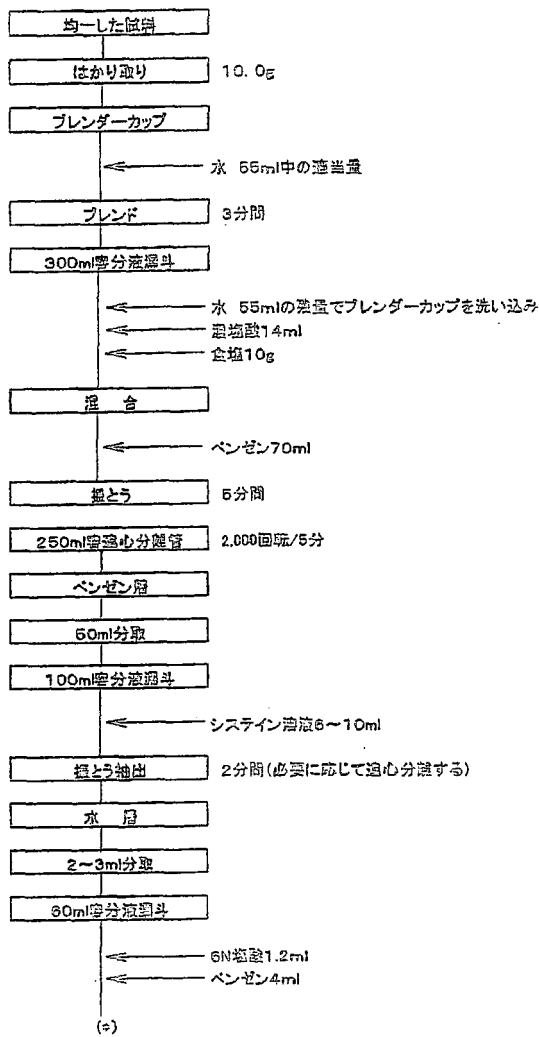
F. 知的所有権の取得状況
なし

図1 総水銀の分析方法 (フローシート)



(参考文献: AOAC Official Method 977.15 Mercury in Fish)

図2 水銀の分析手法(フローシート)
(直接抽出法)

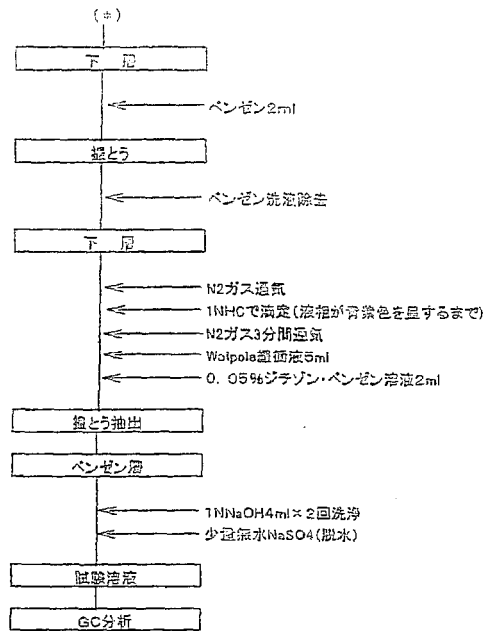
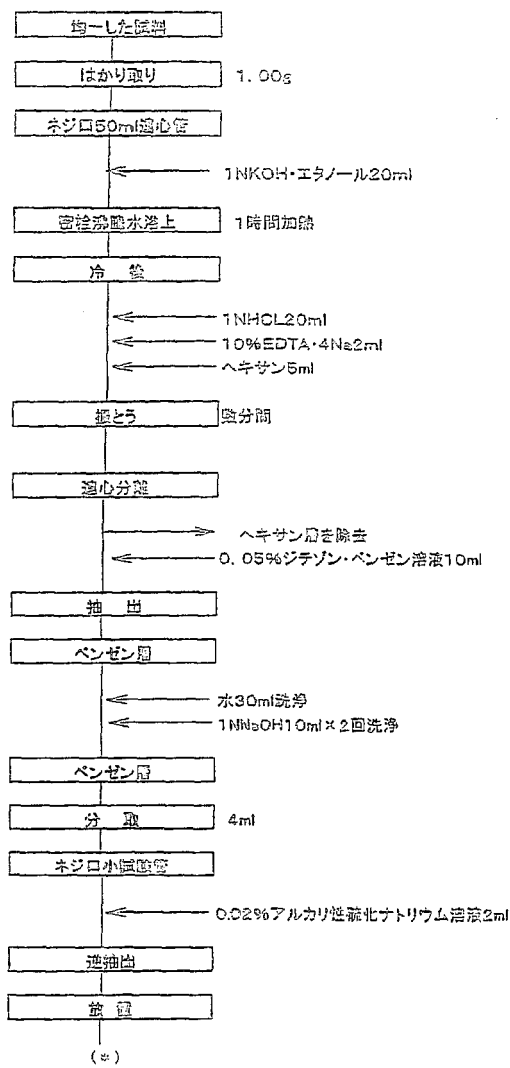


① ハットカラム条件
DEGS-HG, Thermo-HG (2.0*1.1, 1.5m)
chromosorb W/AW-DECS20% 800/100.

② キャピラリウム条件
ULBON HR
Thermo-HG (0.53*15m)

(参考文献: 食品衛生検査指針 理化学編 1991年 page188-192)

図3 ポチル水銀の分析手法(フローシート)
(アルカリ分離-ジチゾン抽出法)



① パック材条件
HG-20A (2.0×1.0~1.0m)
Uniport HP 800/100.

(参考文献, 衛生試験法・注解 1990版 付録箱(1985)page626~628)

表1 検体明細表

検体記号	魚種名	重さ
A-1	銀ダラ	1.9kg
A-2	銀ダラ	1.85kg
A-3	銀ダラ	2.75kg
A-4	銀ダラ	2.95kg
A-5	銀ダラ	2.33kg
A-6	銀ダラ	2.5kg
A-7	銀ダラ	1.78kg
B-1	アラスカメヌケ	900g
B-2	アラスカメヌケ	600g
B-3	アラスカメヌケ	760g
B-4	本メヌケ	1.85kg
B-5	本メヌケ	1.4kg
B-6	本メヌケ	2.15kg
B-7	本メヌケ	2.9kg
B-8	本メヌケ	2.8kg
B-9	本メヌケ	3kg
B-10	本メヌケ	2.25kg
C-1	キンメダイ	536g
C-2	キンメダイ	495g
C-3	キンメダイ	497g
C-4	キンメダイ	650g
C-5	キンメダイ	421g
C-6	キンメダイ	685g
C-7	キンメダイ	457g
C-8	キンメダイ	465g
C-9	キンメダイ	952g
C-10	キンメタイ	0.61kg
D-1	トチザメ	2.8kg
D-2	トチザメ	2.0kg
D-3	トチザメ	7.0kg
D-4	シロザメ	0.69kg
D-5	シロザメ	0.67kg
D-6	シロザメ	0.74kg
D-7	トチザメ	2.5kg

表2. 総水銀の添加回収 (%)

試料番号	総水銀 添加回収 (%)
No. 1	93.4
No. 2	93.4
No. 3	95.5
No. 4	93.9
No. 5	95.6

1) 添加量 総水銀試料換算0.1ppm

2) 市販品の鰯 総水銀検出せず(d10.01ppm)

表3 魚類中の総水銀及びメチル水銀濃度 (ppm)

検体番号	魚種名	メチル水銀 (水銀換算)		総水銀	Hgとして
		メチル水銀	メチル水銀		CH ₄ Hg/Hg (%)
A-1	銀ダラ	0.04	0.03	0.04	100.0
A-2	銀ダラ	0.03	0.03	0.04	75.0
A-3	銀ダラ	0.37	0.32	0.47	78.7
A-4	銀ダラ	0.37	0.37	0.46	80.4
A-5	銀ダラ	0.34	0.27	0.44	77.3
A-6	銀ダラ	0.04	0.03	0.06	66.7
A-7	銀ダラ	0.04	0.04	0.05	80.0
B-1	アラスカメヌケ	0.23	0.21	0.32	71.9
B-2	アラスカメヌケ	0.08	0.07	0.11	72.7
B-3	アラスカメヌケ	0.31	0.29	0.49	63.3
B-4	本メヌケ	0.26	0.23	0.4	65.0
B-5	本メヌケ	0.24	0.22	0.4	60.0
B-6	本メヌケ	0.17	0.16	0.26	65.4
B-7	本メヌケ	0.24	0.21	0.33	72.7
B-8	本メヌケ	0.31	0.28	0.43	72.1
B-9	本メヌケ	0.45	0.43	0.56	80.4
B-10	本メヌケ	0.21	0.19	0.28	75.0
C-1	キンメダイ	0.41	0.37	0.45	91.1
C-2	キンメダイ	0.46	0.39	0.52	88.5
C-3	キンメダイ	0.57	0.46	0.62	91.9
C-4	キンメダイ	0.39	0.32	0.42	92.9
C-5	キンメダイ	0.27	0.23	0.34	79.4
C-6	キンメダイ	0.39	0.34	0.45	86.7
C-7	キンメダイ	0.43	0.37	0.46	93.5
C-8	キンメダイ	0.37	0.27	0.45	82.2
C-9	キンメダイ	0.83	0.72	1.1	75.5
C-10	キンメタイ	0.64	0.56	0.68	94.1
D-1	トチザメ	0.31	0.22	0.38	81.6
D-2	トチザメ	0.61	0.46	0.69	88.4
D-3	トチザメ	0.3	0.26	0.33	90.9
D-4	シロザメ	0.04	0.04	0.05	80.0
D-5	シロザメ	0.05	0.05	0.05	100.0
D-6	シロザメ	0.08	0.06	0.1	80.0
D-7	シロザメ	0.04	0.04	0.05	80.0

表4 メチル水銀の添加回収 (%)

試料番号	メチル水銀(添加回収率%)	
	直接抽出法	アルカリ分解—ジチゾン抽出法
No. 1	105	100
No. 2	100	104
No. 3	100	102
No. 4	100	109
No. 5	98.1	96.6

1) 冷加量：試料換算0.1ppm(塩化メチル水銀として)

2) 市販品の鰯：メチル水銀0.02ppm含有

表5 実試料を用いたメチル水銀の抽出法の検討(ppm)

試料番号	直接抽出法	アルカリ分解— ジチゾン抽出法
No. 1(数値の高い魚種)	4.7	4.8
No. 2(同上)	4.4	4.3
No. 3(同上)	4.9	4.4
No. 4(同上)	4.5	4.8
No. 5(同上)	4.4	4.6
平均値	4.58	4.58
No. 1(数値の低い魚種)	0.34	0.36
No. 2(同上)	0.37	0.31
No. 3(同上)	0.38	0.31
No. 4(同上)	0.37	0.35
No. 5(同上)	0.38	0.32
平均値	0.368	0.33