

ヤマビルの化学分析

大嶋 正人^{*1} 瀬戸 崇宏^{*2} 関 和仁^{*3}

Chemical Analysis of Land Leech

Masato Oshima^{*1} Takahiro Seto^{*2} Kazumasa Seki^{*3}

Chemical analyses of land leech were performed and clarified the following results. Ingredient contents per 100 g of leech powder were 81.7 g of protein, 7.57 g of fat, 9.96 g of carbohydrate, and 0.77 g of mineral. The details of mineral were 102 mg of sodium, 292 mg of potassium, 19.1 mg of magnesium, 316 mg of calcium, 0.71 mg of manganese, 19.2 mg of iron, 1.20 mg of copper, and 15.3 mg of zinc. Gross calorimetric value 435 Kcal per 100 g of leech powder was calculated from ingredient contents by Atwater factors of energy conversion. As a primitive toxicity test, rearing the killifish using leech powder as prey over two weeks, there was no deceased killifish.

1. 序論

ヤマビルは正式にはニホンヤマビルといい、体長2～8 cm程度の環形動物に分類される生物である。陸棲の吸血ヒルで、湿地を好み、普段は落ち葉の下などに生息しており、本州から四国、九州まで、日本全国に広く分布する。神奈川県では古くから丹沢山地の奥地の一部で生息すると認識されていたが、近年、とくに県央ではヤマビルの生息域が広がりつつあり、それに伴って吸血被害も拡大している。生息域拡大の原因の一つにはヤマビルの吸血対象動物である日本ジカ等の大型動物の生息域拡大が挙げられている。また、ヤマビルは目立った天敵がないことも原因の一つと考えられている。神奈川県では平成14年より「神奈川県ヤマビル対策連絡会議」を開催し、情報交換等を行っているが、実用的な駆除方法が確立していないため、現時点では対策は充分とは言えない[1]。

ヤマビルには血液の凝固を防ぐ力があることから、瀉血にこれを利用する民間療法は古くから行われていた。現在でも無菌化した医療用ヒルを脛、指先、耳などの細かい部位の手術の際に血液凝固を防ぐために利用する例が報告されている[2, 3]。今日、ヒルディン (Hirudin) として知られる血液の凝固

を防ぐ酵素は1884年にイギリスの生化学者ジョン・ヘイクラフト (John Berry Haycraft) により発見、命名されたが、単離や構造が報告されたのはおよそ100年後の1989年である[4,5]。医療分野におけるヒルの活用は英国をはじめ、いくつかの取り組みが知られているが、その詳細については本稿では割愛する。

漢方では乾燥したヒルの生薬名を水蛭 (すいてつ) といい、滋養強壯に効果があると言われ、いくつか製品が販売されている。ただし、日本では水蛭やヒルディンの薬効を謳うことは許可されていないため、これらはすべて薬品ではなく、健康食品として扱われている。

我々は、ヤマビルに含まれている成分については十分な検討例がなく、さらにこれを検討して資源として有用な成分が含まれていれば積極的に捕集 (= 駆除) する動機になり得ることに着目し、化学分析を行ってタンパク質、脂質、炭水化物、エネルギーを測り、さらにミネラル分の分析も行って亜鉛、鉄などが豊富に含まれていることを明らかにしたので、ここに報告する。

^{*1} 東京工芸大学工学部生命環境化学科/ナノ化学科 教授 ^{*2} 東京工芸大学工学部ナノ化学科 学部4年生

^{*3} 東京工芸大学大学院工学研究科工業化学専攻 修士課程1年生

2011年9月20日 受理

2. ヤマビルの採取と処理

2-1 ヤマビルの採取

採取場所として選んだ神奈川県厚木市上古沢地区は丹沢山地の一角である白山の麓にあたる地域で、草木が生い茂り、自然が多く人が立ち入りにくい場所である。採取地点周辺は湿地帯で落ち葉が地面を覆い尽くしヤマビルの潜伏しやすい環境になっている。また、ニホンザルやシカのフンがあり、吸血対象動物の息も確認できた。



図1：上古沢採取地点

2-2 採取方法

ヤマビルの採取は参考文献の記載[1]に従い、文献中で5分間人おとり法と呼ばれているトラップで行った。



(A)

(B)



(C)

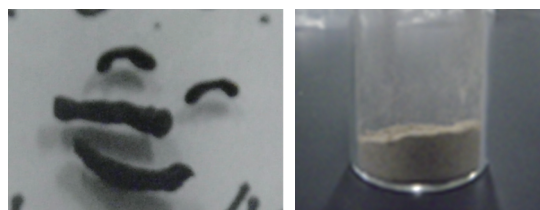
(D)

図2：5分間人おとり法による採取。(A)周囲の地面をかき回す。(B)地面に息を吹きかける。(C)(A)～(B)を繰り返す。(D)静止し、誘引されてくるヒルを捕集する。

おとりとなる人間が周囲2～3mの範囲の地面の落ち葉や草を、熊手を用いてかき回し、さらに歩きまわりながら地面に息を吹きかけて、ヤマビルに吸血対象生物がいることを感知させた後、5分間立ち止り周囲に集まってくるヤマビルを捕集した。集めたヤマビルはメタノールを噴霧して殺し、低温下で冷蔵保存した。

2-3 ヒル粉の作成

ヤマビルをシャーレに移し、乾燥器に入れて80℃で12時間乾燥させた。予備実験により、ある程度以上の高温に加熱するとヒルからはかなりの悪臭が発せられることが分かっているため乾燥温度は低めの80℃に決定した。乾燥したヒルは、乳鉢を用いて破碎して均一な粉体にした後に減圧乾燥し、ヒル粉とした(図3)。数回の平均をとり、生きているヤマビルの質量は一匹当たり約0.2g、そのうち約80%が水分であることが分かった。



乾燥したヒル

ヒル粉

図3：乾燥、破碎処理をしたヤマビル

3. 実験

本実験で用いた有機溶媒、試薬類は特に断りのない限り、関東化学株式会社取り扱いの鹿特級の製品を用いた。また、測定に使用した水は全て蒸留水を用いた。タンパク質等の含有成分の測定は日本食品標準成分表に準拠して行った[6]。ただし、タンパク質の定量は通常、改良ケルダール法により窒素量を測定するところ、十分なサンプル量が得られなかったため、元素分析により窒素量を求めた。元素分析はPerkin-Elmer 2400IIを用いて測定した。亜鉛、鉄、銅、カリウム、マンガン、ナトリウムの定量は日立製原子吸光光度計 Z-2310 に標準バーナーを組み合わせ、アセチレン-空気フレームで分析した。定量は検量線法を用い、それぞれ標準物質または標準溶

液として亜鉛粉末、硝酸鉄(Ⅲ)九水和物、 Cu^{2+} 標準溶液、塩化カリウム、マンガン標準溶液、塩化ナトリウムを用いた。これらの標準物質及び標準溶液はすべて原子吸光度計用のグレードの市販品を使用した。カルシウム、マグネシウムの定量は既知のキレート滴定法により行った[7]。

3-1 金属(ミネラル)分の測定

亜鉛、鉄、銅、カリウムの測定：減圧乾燥させたヒル粉(200 mg)を磁器製のつぼに入れ、ブンゼンバーナーを用いて加熱、灰化させた(図4)。6M-硝酸水溶液(10 ml)で得られた灰分から金属成分を複数回抽出し、併せた抽出液の全量が60 mlになるよう調整した。抽出液をろ過して不溶成分を除き、原子吸光度計で測定した。



灰化前 灰化後
図4：ブンゼンバーナーによる灰化

マンガン、ナトリウムの測定：塩化物水溶液を検量線作成の標準溶液としているこれらの金属は6M-硝酸水溶液の代わりに1M-塩酸を用いて、上述の亜鉛、鉄、銅、カリウムの測定と同様に測定した。

カルシウム、マグネシウムの測定：減圧乾燥させたヒル粉(200 mg)を磁器製のつぼに入れ、ブンゼンバーナーを用いて加熱、灰化させた。6M-硝酸水溶液(10 ml)で得られた灰分から金属成分を複数回抽出し、6M-水酸化ナトリウム水溶液で中和した後に濃縮し、全量が10 mlになるように調整した。EBT指示薬(Eriochrome Black T)を加え、1/100M-EDTA-2Na($f=1.0500$)水溶液を用いて滴定した。空試験の結果を滴定値より差し引き、複数回行って平均値よりカルシウムとマグネシウムとを併せた含有量を求めた。指示薬をNN指示薬(2-hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naphthylazo)-3-naphthoic acid)に代え、さらに8M-NaOH水溶液を0.5 ml加えてアルカリ性に調整した溶液について同様に滴定してマグ

ネシウムの含有量を求め、上述のカルシウムとマグネシウムを併せた含有量の値からこれを差し引くことによりカルシウムの含有量を求めた。

3-2 タンパク質の測定

タンパク質の定量は通常、改良ケルダール法により窒素量を測定するところ、十分なサンプル量が得られなかったため、元素分析により窒素の含有量を求め、窒素係数をかけて求めた。窒素係数は食品群によって異なるが、参考文献[6]のその他の食品群にあたる6.25を用いた。この値はタンパク質中の窒素含有量を16%と見積もった場合のその逆数である。

3-3 脂質の測定

減圧乾燥したヒル粉(100.2 mg)を円筒濾紙に入れ、ソックスレー連続抽出装置を用いてジエチルエーテル(100 ml)により11時間抽出した。得られたジエチルエーテル溶液から溶媒を留去し、残渣(7.4 mg)を得た。

3-4 無機物の量

無機物の量は金属分の測定によって得られた各金属の量をヒル粉100 gあたりの含有量に換算し、その和を無機物の量とした。

3-5 炭水化物の測定

炭水化物量は差し引きの炭水化物法により求めた。100 gあたりのタンパク質量、脂質量、無機物の量をそれぞれ求めて差し引き、残りを炭水化物量とした。

3-6 熱量(エネルギー)の計算

参考文献[6]に記載のAtwaterのエネルギー換算係数(タンパク質4 Kcal/g、脂質9 Kcal/g、炭水化物4 Kcal/g)により求めた。

3-7 飼育試験

本試験は当初、毒性試験として環境省により定められている化学物質の生態影響試験[8]のうち、ヒメダカを用いた魚類急性毒性試験による方法を試みるつもりであった。しかし、ヒメダカは死亡せず、また、ヒル粉を摂取することが分かったので、飼育試験に代えた。エサとしては食品におけるさまざま

な安全性試験のいずれかを行うことが望ましいのだが、本研究ではそれらの試験を行うために必要な量のヒル粉が確保できなかったため、一定期間ヒメダカをヒル粉で飼育することで簡易な毒性試験とした。

容器 (500 ml) にヒメダカを雄雌各2尾ずつ入れ、室内で14日間飼育した。ほぼ同じ大きさのメダカを選んで容器を3組 (A~C) 用意し、市販のメダカのえさで飼育して条件を整えた後に比較試験を行った。

実験ではヒル粉のみ与える (A)、メダカのエサを与える (B)、エサを与えない (C) の三種類を比較した。飼育中のA、Bへのエサやりの頻度は1日1回とし、ヒル粉およびエサをそれぞれ約3 mg 水槽に入れた。水槽の水の交換は1日1回、前の水を100 ml ほど残し、新しい水を加えて総量が500 ml になるようにした。

4. 結果と考察

4-1 金属 (ミネラル) 分の測定結果

原子吸光度計により定量した金属 (ミネラル) 分の結果を表1に示す。灰化したヒル粉から抽出した水溶液の吸光度から空試験の吸光度を引き、それぞれの金属の検量線から金属の濃度を求め、さらにヒル粉100 g中の含量としてそれぞれの金属の量を算出した。

表1：亜鉛、鉄、銅、カリウム、マンガン、ナトリウムの測定結果

金属	空試験 吸光度	ヒル粉抽出液 吸光度	金属の濃度 [g/L]	100 g中の含 有量 [mg]
Zn	0.0332	0.1238	0.497	15.3
Fe	0.00373	0.02757	0.626	19.2
Cu	0.00044	0.00181	0.0392	1.20
K	0.0321	0.9012	9.530	292
Mn	0.0001	0.0023	0.001	0.71
Na	0.1370	1.0722	0.212	102

次にキレート滴定の結果を表2に示す。これらの結果からヒル粉100 g中のマグネシウム、カルシウムの含有量を計算し、それぞれ19.1 mg、316 mgであることが分かった。

表2：ヒル粉200 mgの抽出液のキレート滴定の結果

EBT 指示薬を用いた際の滴定値	
空試験	EDTA-2Na 水溶液滴下量 0.20 ml
ヒル粉抽出液	EDTA-2Na 水溶液滴下量 1.85 ml
滴定値より算出した Ca ²⁺ 、Mg ²⁺ の物質量の和	1.7325 × 10 ⁻⁵ mol
NN 指示薬を用いた際の滴定値	
空試験	EDTA-2Na 水溶液滴下量 0.05 ml
ヒル粉抽出液	EDTA-2Na 水溶液滴下量 0.20 ml
滴定値より算出した Mg ²⁺ の物質量	1.575 × 10 ⁻⁶ mol

これらの金属 (ミネラル) 分の分析結果で特筆すべきことは微量元素と言われる亜鉛と鉄の含有量が既存の食品[9]に比べて多いことである。ヒル粉は乾物なので加工の過程で濃縮されており、含有量は多くなるが、表3に示すようにヒル粉に含まれる亜鉛は生牡蠣よりも多く、また鉄も豚肉レバーより豊富に含まれている。表4に示すマンガン、銅は特に豊富ではないが食品全体の中では少ないほうではなく、ヒル粉は微量元素を複数含んでいることが分かった。

表3：100 g中の亜鉛、鉄の含有量比較

亜鉛の含有量 [mg]		鉄の含有量 [mg]	
ヒル粉	15.3	ヒル粉	19.2
生牡蠣	13.2	豚肉 (レバー)	13.0
豚肉 (レバー)	6.90	大豆 (乾)	9.40
ごま	5.90	エンドウ豆	5.60
牛挽肉	4.30	アサリ	3.80
たらばがに	4.20	納豆	3.30

表4：100 g中のマンガン、銅の含有量比較

マンガンの含有量 [mg]		銅の含有量 [mg]	
生姜	5.01	牛肉 (レバー)	5.30
紫蘇	2.01	ほたるいか	4.32
蓮根	0.80	桜海老	2.05
とんぶり	0.78	ヒル粉	1.20
パイナップル	0.76	納豆	0.61
ヒル粉	0.71	ずわいがに	0.56

表5：100 g中のナトリウム、カリウムの含有量比較

ナトリウムの含有量 [mg]		カリウムの含有量 [mg]	
梅干し	8700	パセリ	1000
醤油 (薄口)	6300	アボガド	720
鰹 (干物)	770	ヒル粉	292
カワハギ	110	蛸	290
ヒル粉	102	椎茸	280
グリーンピース	88	春菊	270

表6：100 g中のカルシウム、マグネシウムの含有量比較

カルシウムの含有量 [mg]		マグネシウムの含有量 [mg]	
干し海老	7100	あおさ (乾)	3200
煮干し	2200	ひじき (乾)	620
シシヤモ	350	ごま	360
ヒル粉	316	納豆	100
卵 (卵黄)	150	ヒル粉	19.1
牛乳	110	ベーコン	18

表5に示すナトリウム、カリウムの電解質は多い方ではなく、いずれも豆類や野菜、魚介類と同程度であった。表6のミネラルは、カルシウムは魚介類と同程度で多めであるが、マグネシウムは肉類と同程度でありたいして含まれてはなかった。

4-2 タンパク質量の測定結果

ヒル粉の元素分析から、炭素重量 50.25%、水素重量 7.11%、窒素重量 13.11%であることがわかった。この結果よりヒル粉 100 g 中の窒素量は 13.1 g となるので、窒素係数 6.25 を乗じて 100 g 中のタンパク質量 81.7 g と算出した。

4-3 脂質量の測定結果

ジエチルエーテルを用いたソックスレー抽出法により、ヒル粉に含まれる脂質の割合は 7.57% であることが分かり、これからヒル粉 100 g 当たりの脂質量は 7.57 g であることが求められた。

4-4 無機物の量の算出

表1に示す各ミネラル成分の 100 g あたりの含有量とキレート滴定によって求めたカルシウム、マグネシウムの 100 g あたりの含有量の総和 765 mg を無機物の量とした。

4-5 炭水化物の量の算出

これまでに求めた 100 g あたりのタンパク質、脂質、無機物の量を 100 g から差し引いた 9.96 g を炭水化物の量とした。

4-6 熱量 (エネルギー) の算出

Atwater のエネルギー換算係数を用い、以下のよう算出した。

$$81.7 \times 4 + 7.57 \times 9 + 9.96 \times 4 = 434.77 \approx 435 \text{ Kcal}$$

ここまでの各成分の測定量を概観して、食品として評価すると、100 g あたりに含まれるたんぱく質の量が突出して高く、乾物のゼラチン (87.6 g)、ふかひれ (83.9 g) とほぼ同等であり、高タンパク質食品として知られているたたみいわし (75.1 g)、煮干し (64.5 g)、ビーフジャーキー (54.8 g) より多い。その一方で脂質は牛、豚などの肉類より低いので、高タンパク質、低カロリー食品に位置づけられると考えられる。

4-7 飼育試験の結果

A~C いずれの飼育条件のメダカも死亡しなかった。メダカはもともと絶食には強く、Cのエサを与えなかったメダカも 14 日間では多少動きが少ないという程度であった。ただし、A、Bのメダカがそれぞれ 14 日間の間に成長したのに対し、Cのメダカはほとんど元の大きさと変わらなかった。給餌の際にもヒル粉を良く摂取する様子が観察され、市販のメダカのエサを与えたものと食餌の様子はほとんど同じであった。以上より、本飼育条件程度の短期間のうちに発現する毒性はないものと結論付けた。

結論

本研究ではヤマビルには生体に必須の微量元素が多く含まれていることが分かり、また、食品として評価した場合も十分に可能性があることが分かったが、食品としての安全性の確認はまだ不十分であり、成分分析についてもまだ検討課題は多い。なぜならば、ヤマビルは全国に広く分布しているが、

今回の分析に使用したものは神奈川県県央の上古沢地区に生息する個体のみなので、ヤマビルが一般に豊富な微量元素を含有しているかなどは未確認だからである。しかし、ヤマビルのような有害生物に資源としての活用の可能性を検討するという視点からの研究としては一定の成果を得たと考えるので本論文としてまとめた。

なお、本研究で飼育したメダカは新潟県中越地方を中心に伝わっている“うるめ”にならい、佃煮にして美味であることを確認した。また、ヒル粉の味はヒマワリの種のような風味であったことを付記しておく。ヒル粉を直接ヒトが摂取するには抵抗があるかもしれないが、ヒル粉を家畜等の飼料として用い、そうして育てた家畜等をヒトが食材とするという活用方法もあると考えている。

謝辞

本研究を進めるにあたり、上古沢地区でのヤマビルの捕集等に関してさまざまなご指導をいただきました東京工芸大学名誉教授、白井靖男博士に感謝いたします。また、ヤマビルの元素分析を引き受けていただきました東京工業大学大学院理工学研究科助教、大石理貴博士に感謝いたします。

参考文献

- 1) 神奈川県ヤマビル対策共同研究報告書、神奈川県ヤマビル対策共同研究推進会議、平成21年3月。
- 2) A. M. Abdelgabar and B. K. Bhowmick, *Int. J. Clin. Pract.* **57**(2), 103–5, (2003).
- 3) E. Ernst, *Pain* **137**(2), 235–6 (2008).
- 4) P. J. M. Folkers, G. M. Clore *et al.* *Biochemistry* **28**(6), 2601–2617 (1989).
- 5) H. Haruyama and K. Wuthrich, *Biochemistry* **28**(10), 4301–4312 (1989).
- 6) 五訂増補 日本食品標準成分表、文部科学省 科学技術・学術審議会・資料調査分科会 報告書 (2005)。
- 7) R. A. デイ, Jr., A. L. アンダーウッド 共著、鳥居泰男、康 智三共訳、「定量分析化学」培風館。
- 8) 環境省ホームページ、「化学物質の生態影響試験について」を参考にした。
http://www.env.go.jp/chemi/risk_assessment.html
- 9) 既存食品中の金属の含有量は「簡単！栄養 and カロリー計算」のサイトの栄養素別食品一覧表を参考にした。
<http://www.eiyoukeisan.com/>