〔衛生化学〕
EISEI KAGAKU
30 (4) 161-172 (1984)

環境中メチル水銀の分布と生成

永瀬久光, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦

岐阜薬科大学環境衛生学教室

Distribution and Production of Methylmercury in the Environment

HISAMITSU NAGASE, YOUKI OSE and TAKAHIKO SATO

Gifu Pharmaceutical University, Department of Environmental

Hygiene, 6-1 Mitahora-higashi 5 chome, Gifu 502, Japan

Methylmercury distribution and production in the environment are reviewed. As for methylmercury distribution, the proportions of methylmercury to the total mercury in waters, soils, sediments and airs are mainly discussed. The origin of methylmercury in fish is also discussed.

Methylation of inorganic mercury in the environment can be roughly divided into two groups; one is biological and the other is chemical methylation. In this article, chemical methylations are discussed in detail. Effects of environmental factors, such as pH, redox potential and temperature, on the methylmercury production are also mentioned.

Keywords — methylmercury; distribution; production; environment; chemical methylation; biological methylation; inorganic mercury

1. はじめに

水俣病の原因物質がメチル水銀であることが解明され、これが特異的な中枢神経系障害作用を有すること、その脂溶性および生物膜の透過性などの性質により生体に蓄積しやすいことなど、他の水銀化合物に比べて毒性に特異性があることがわかった。そして環境からの人体への影響を未然に防止するため環境中の水銀については極めて多くの調査、研究が行なわれ、次々と新しい知見が明らかにされた。これらの成果についてはすでに、すぐれた成書¹⁾として数多く発表されている。

水俣病の場合には、水俣湾でも阿賀野川でも、塩化ビニルあるいはアセトアルデヒド生産工場が存在しており、反応触媒として用いられていた無機水銀が副反応によりメチル水銀を生成し、排水と共に環境中に放出されていたことが確認された。この研究の当初自然環境中で無機水銀がメチル水銀に変換されることも疑われたが、仮説にとどまった。

ところが Westö²⁾ は魚体中の水銀は、そのほとんどがメチル水銀の形で存在し、人為的汚染の考えられない水域で捕獲された魚類にも高い濃度のメチル水銀が蓄積されている場合があることを認めた。これにより、メチ

ル水銀が自然環境中で生成される機構が存在することを考えざるをえなくなり、自然環境における無機水銀のメチル化が注目され、自然環境中での動態が明らかにされることになった。

環境中に放出された化学物質は環境中を循環しながら、それぞれの環境条件下に合成、分解等をうけて形態変換し、平衡状態を形成している。このようないわゆる総合的環境代謝を理解しようとの考えを持たせたのが水銀であった。

ここでは特に従来の研究によって積み重ねられたメチル水銀の環境中分布および生成に関する知見に、最近の知見を加えての考察を行なうとともに、今後への展望も試みた。

2. 環境中のメチル水銀濃度

環境中でメチル水銀が生成する可能性が示されたことにより、その生成機構と環境中の動態を明らかにすることが求められたが、この解決のためにはその環境中濃度および総水銀に対するメチル水銀の濃度比を把握することが重要な課題であった。環境中の総水銀濃度を求めたものは極めて多く、その分析データ量は莫大であるが、メチル水銀の測定例は数が限られ、しかも同一試料で総

水銀とメチル水銀の両方を測定した報告はそれほど多くない。メチル水銀の存在レベルが極めて低く、測定法が困難であったからである。

2. 1 大気中のメチル水銀濃度 藤井³⁾は、日本における都市の大気中水銀濃度は $0.005-0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、一般値としては $0.02 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 前後、都市域を離れた所では $0.005 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下であろうとしている。大気中水銀の実測データは、水質や底質に比べると非常に少なく、さらにそのメチル水銀濃度となるとないに等しい。Johnson ら⁴⁾は Tampa 市 (U. S. A.) の大気中水銀濃度を各形態別に測定し、季節的変動や、検体ごとの大きな変動をもつデータの解析から、メチル水銀21%、金属水銀49%、塩化水銀類25%、粒子状水銀4%およびジメチル水銀1%以下程度であるとしている。このとき総水銀濃度は $1.8-298 \text{ ng}/\text{m}^3$ 、メチル水銀濃度は、0, $0.2-59 \text{ ng}/\text{m}^3$ で、その総水銀濃度に対する比は 3.8—70% であった。

2. 2 水質中のメチル水銀濃度 水質中の水銀濃度は極めて低く、藤井³⁾は淡水中のバックグラウンドは、0.1 ppb までで、平均 0.05 ppb 程度、海水中では 0.1 ppb まで、平均 0.04 ppb 前後としている。メチル水銀濃度は、ppt レベルの分析となり測定例は少ない。海水および河川水を測定したものに Table I に示すものがある。これらはメチル水銀排出源が測定時存在しない地域での測定値である。この他 Chau ら⁸⁾は、カナダの湖水中からメチル水銀濃度 $0.5-1.7 \text{ ng}/\text{l}$ を検出しており、Table I の例とほぼ同じ値を示している。わが国の河川水中のメチル水銀濃度をこのレベルで分析したのは、著者ら⁷⁾の長良川、水門川の例をみるのみである。

このように、極めて低濃度ではあるが、自然水中にメチル水銀が確かに存在し、しかも総水銀に対する濃度割合は、海水中では3—64%、淡水中では26—53%とかなり高いものがあることが明らかとなった。これにより魚体中で高い濃度を示すメチル水銀は、水中からの摂取・蓄積によることの可能性が示された。

2. 3 河川底質、海域底質および土壌中のメチル水銀濃度 底質・土壌中の水銀濃度は、大気および水質中に比べ極めて高い。藤井³⁾は数多くの分析例から、日本でのバックグラウンド値として、河川底質で通常 0.2 ppm 以下で 0.05 ppm 前後、湖沼底質ではそれより高く 0.1—0.3 ppm、海域底質は河川底質と近似しており 0.3 ppm 以下で、0.05—0.08 ppm 程度、山林原野の土壌では 0.1—0.2 ppm 程度であるとしている。ちなみに水銀のクラーク数は 0.2 ppm である。

底質および土壌中の総水銀およびメチル水銀濃度の測定例として、おもなものを Table II に示した。測定の目的が水銀汚染地域を対象としたものと非汚染地域を対象としたものとがあるが、汚染底質には総水銀濃度16.9—480 ppm と高い値もみられるが、これに対するメチル水銀濃度比を非汚染底質の場合と比べると似た値を示すことは注目される。このように水質の場合と同じく、メチル水銀汚染の考えられない底質および土壌中にメチル水銀が存在することは明らかである。

2. 4 魚体中メチル水銀の由来 水俣病が魚体中のメチル水銀を摂取したために生じた中毒症状であったことから、魚体中メチル水銀に関するデータは極めて多い。またその他の動植物性食品中のメチル水銀分析例も多く、環境庁および厚生省によって数値が集大成され、

TABLE I. Total Mercury and Methylmercury Concentrations and Their Ratios in Sea and River Waters

Location	Total Hg (ng/l)	Methyl Hg (ng/l)	Methyl Hg Total Hg (%)	Reference
Sea water				
Suruga Bay	3.2—7.4	0.2—0.4	3—11	Fujita <i>et al.</i> ⁵⁾
Japan Sea	3.9	0.9	23	Fujita <i>et al.</i> ⁵⁾
Aburatsubo	12.5	1.0	8	Fujita <i>et al.</i> ⁵⁾
Avery Point Dock Water (USA)	67	25	63	Fitzgerald <i>et al.</i> ⁶⁾
Fishers Island Sound (USA)	78	28	64	Fitzgerald <i>et al.</i> ⁶⁾
Long Island Sound (USA)	47	33	30	Fitzgerald <i>et al.</i> ⁶⁾
River water				
Nagara River	19.3	5.8	30	Kudo <i>et al.</i> ⁷⁾
Suimon River	25.9	7.0	27	Kudo <i>et al.</i> ⁷⁾
Ottawa River (Canada)	4.6—9.8	1.6—2.8	26—48	Kudo <i>et al.</i> ⁷⁾
Connecticut River (USA)	45	21	53	Fitzgerald <i>et al.</i> ⁶⁾

TABLE II. Total Mercury and Proportion of Methylmercury in Sediments and Soils

Location	Total Hg ($\mu\text{g/g}$)	Methyl Hg (ng/g)	Methyl Hg Total Hg (%)	References
River sediment				
R. Oyabe	0.9—2.7	ND ^{b)} —1	0—0.11	Aoki ⁹⁾
R. Oyabe ^{a)}	1.2—33.9	ND—14	0—0.17	Aoki ⁹⁾
R. Suimon ^{a)}	9.4—16.9	3—24	0.02—0.14	Nagase <i>et al.</i> ¹⁰⁾
R. Mersey (UK)	1.2—11.3	0.3—5.4	0.05—1.4	Bartlett <i>et al.</i> ¹¹⁾
R. Clyde (UK)	0.4—4.4	ND—5.4	0—0.4	Bartlett <i>et al.</i> ¹¹⁾
R. Clyde (UK)	0.31—5.31	ND—7.8	0—0.81	Bartlett <i>et al.</i> ¹²⁾
R. Mississippi (USA)	0.08—0.57	ND—0.05	0.01	Andren <i>et al.</i> ¹³⁾
R. Rhine (Holland)	5—17	10—100	0.2—1.0	Van Faassen ¹⁴⁾
R. Yssel (Holland)	12	70	0.6	Van Faassen ¹⁴⁾
Sea sediment				
Baltic Sea (Sweden) ^{a)}	1.0—480	8.7—525	0.01—3.52	Jernelöv <i>et al.</i> ¹⁵⁾
Baltic Sea (Sweden)	0.6—1.4	6.4—6.6	0.47—1.1	Jernelöv <i>et al.</i> ¹⁵⁾
Irish Sea (UK)	0.1—0.2	ND—2.7	0—1.35	Bartlett <i>et al.</i> ¹¹⁾
San Francisco Bay (USA)	0.1—1.3	0.4—1.9	0.03—1.0	Olsen <i>et al.</i> ¹⁶⁾
Mobil Bay (USA)	0.21—0.60	0.06—0.19	0.03	Andren <i>et al.</i> ¹³⁾
Evergrade (USA)	0.12—0.49	0.06—0.12	0.03—0.07	Andren <i>et al.</i> ¹³⁾
Soil				
R. Kamiichi area, cultivated	0.7—0.9	ND—1	0—0.11	Aoki ⁹⁾
R. Oyabe area, cultivated	0.05	1	2.0	Aoki ⁹⁾
Residential garden (USA)	0.06—0.03	2.4—16.6	3.9—6.1	Cappon ¹⁷⁾

a) Mercury contaminated sediment.

b) Not detected.

いくつかの総説^{3,18,19)}等にまとめられている。

近藤¹⁸⁾は日本における淡水魚、海水魚ともに総水銀の40—70%程度がメチル水銀であるとしており、藤井³⁾は同じくその含有比は30—90%とし、汚染水域でもだいたい同じであるとしている。近藤は環境庁の調査結果をまとめているが、この検体には強く汚染されたものが混っているのので、平均値よりも最頻値で示す方が自然汚染レベルを表わせるものと考え。濃度別に作成されたヒストグラムによると、その最頻値は総水銀で、淡水魚 0.1—0.2 ppm、海水魚 0—0.1 ppm である。

魚体中へのメチル水銀蓄積は、(1)魚体中での無機水銀のメチル水銀化、(2)メチル水銀の鰓および体表を通しての吸収、(3)食物連鎖による経口摂取が考えられる。

魚体中メチル化に関して、Imura ら²⁰⁾はマグロ、メヌケなどの魚種に高いメチル水銀蓄積がみられるのは、それらの肝臓中に特異的にメチル水銀の生成機構が存在するためではないかと報告し、これに続いて Pan ら²¹⁾は、キハダマグロの肝臓中の活性因子が、メチルコバラミンであることを確認している。Matsumura ら²²⁾もマグロ、ブリなどの肝臓にも無機水銀をメチル化する活性があることを認めたが、この活性は光照射により失活し、

Pan ら²¹⁾の報告した因子とは異なるとしている。堀部²³⁾はメチル水銀量既知のアナゴ、タラの筋肉に塩化第2水銀を添加したら、それぞれ14%および3%がメチル水銀化した。メチル水銀が検出されないカニでは同様の操作でメチル水銀生成は認められなかったとし、水銀のメチル化は筋肉中に含まれる物質の作用によるものであるとしているが、その原因は明らかにしていない。

これに対し山中ら²⁴⁾は、淡水魚でマグロに匹敵するほど水銀濃度の高いナマズと、濃度の低いコイ、ニジマスを用い、塩化第2水銀投与によるメチル水銀を調べ、いずれも極めてわずかに生成することを認めているが、魚体中のメチル水銀濃度が高い理由にはならないとしている。また Pennacchioni ら²⁵⁾もニジマスに塩化第2水銀を経口または鰓を通して与えたとき肝臓、腎臓、腸、筋肉のいずれにも総水銀の増加を認めたが、メチル水銀の生成は認められなかったとしている。これらの例はある種の魚に限り、その体内にメチル化能を有するが、魚体中メチル水銀の一般的な経路とはいえないことを示すものである。

鰓および体表を通しての直接吸収として、喜田村²⁶⁾はキンギョを 0.3 ppb、寺本ら²⁷⁾はコイを 0.3 ppb のメチ

ル水銀溶液中で飼育することにより、約3000倍の濃縮を認めている。また食物連鎖については、喜田村²⁶⁾は人工モデル河川中での実験により、食物連鎖を経ることによって濃縮係数は直接とり込みでの濃縮係数に比べて増大することを示し、0.1 ppb のメチル水銀溶液中での濃縮係数を約10000としている。著者ら⁷⁾が水質中メチル水銀濃度 7 ng/l を測定した水門川で、同時期に生息していた魚類中メチル水銀濃度は、岐阜県環境部²⁸⁾によりフナ 0.02—0.06 mg/kg、ナマズ 0.11—0.32 mg/kg の値が示されている。この値から算定するとフナでの濃縮係数は約 2800—8600 倍となり、水門川でのフナの濃縮係数は、喜田村の値にほぼ等しい。ナマズのような底棲魚類では体内水銀濃度の高いことが知られているが、濃縮係数として示されたものはない。水門川のナマズは 16000—46000倍となる。

わが国の非汚染水域における淡水魚中のメチル水銀濃度が 0.1 ppm 前後のことが多いということは、10000倍濃縮すると水中濃度が 10 ng/l 程度であると推定されるが、Table I に示した著者らの測定値は河川水中メチル水銀がこのレベルにあることを示しており、従来、推測として考えられていた魚体中メチル水銀濃度の由来として、鰓および体表を通して吸収される経路および食物連鎖の存在を明らかにしたものである。また魚体中メチル水銀濃度から河川水中のメチル水銀濃度レベルを推定することの可能性を示した。

3. 微生物が関与する無機水銀のメチル化

Jensen ら²⁹⁾ は湖の底質に無機水銀を加えることにより、モノおよびジメチル水銀が生成し、滅菌した底質では生成しないことから、底質中の微生物により水銀がメチル化される可能を示した。この報告以後、微生物による無機水銀のメチル化の研究が数多くなされた。

Wood ら³⁰⁾ は嫌気性菌 *Methanobacterium* の MOH 株で、Yamada ら³¹⁾ は、土壌から分離した嫌気性菌 *Chlostridium cochlearium* でメチル水銀生成を認め、共にメチルコバラミンを介して行なわれることを明らかにした。塩谷ら³²⁾ はし尿処理場排水口付近の河川底質、下水処理場沈澱池の污泥に無機水銀を加えて培養すると嫌気的条件下でメチル水銀生成能が高いことを認め、それらの污泥中に多量のビタミン B₁₂ が含まれていることから、その同族体であるメチルコバラミンによるものと報告している。メチルコバラミンは現在のところ嫌気性菌だけにより生成が認められ、嫌気性微生物によるメチル化の場合メチルコバラミンの関与が考えられている。

一方、好気性菌にもメチル化能を有するものが報告さ

れており、Landner³³⁾ は水銀耐性の *Neurospora crassa* に、ホモシステインまたはシステインと塩化第2水銀を加えて培養するとメチル水銀を生成することを認め、この菌によるメチル化はメチルコバラミンによらないとしている。

この他、好氣的または嫌氣的条件下で環境中に存在するごく普通の微生物の中にもメチル水銀をもつものがあることが報告され、井村、³⁴⁾ 赤木、³⁵⁾ Springthorpe ら³⁶⁾ がそれらのメチル水銀生成能をまとめている。

このように微生物によるメチル水銀生成能を認める報告が出される一方で、環境中での微生物の関与を否定する報告もある。たとえば、Matsumura ら³⁷⁾ は湖底質から単離した35種の微生物によるメチル水銀生成は全くなかったとしている。特定菌株によるメチル化の確認をもって、自然環境中で生成するメチル水銀についての微生物の寄与を評価することの困難さを示すものであろう。

4. 非生物学的メチル化

無機水銀の化学的メチル化にはメチル基供与分子が存在することが不可欠条件である。自然環境中には、極めて多数の化合物が存在するが、この中にメチル基供与体としての働きをする化合物がいくつか存在することが知られてきた。これらの化合物によるメチル化反応は、光のエネルギーを必要とする光化学反応と、必要としない非光化学反応とに分けることができる。

4.1 光化学反応によるメチル化 微生物が関与せず、純粹に化学的反應により自然界中でメチル水銀が生成する可能性を示したのは赤木ら^{38, 39)} で、酢酸、プロピオン酸、メタノール、エタノールの水溶液に塩化第2水銀を加え紫外線あるいは太陽光線を照射した場合にメチル水銀が生成することを報告した。有機合成反応として有機溶媒中での無機水銀の光アルキル化は、すでに古くから行なわれてきたが、自然環境条件を考えての初めての報告といえよう。同年、喜田村ら⁴⁰⁾ も同様の報告をし、滝澤ら⁴¹⁾ は気相中でも金属蒸気と酢酸、アセトアルデヒド、プロピオン酸などのアルキル基供与体ガスとから同様にメチル水銀生成を認めている。林ら⁴²⁾ は脂肪族 α アミノ酸と塩化第2水銀を含む水溶液に紫外線あるいはブラックライトを照射しいずれからもメチル水銀の生成を認めている。また田中ら⁴³⁾ はクレアチニンと塩化第2銀の水溶液にキセノンランプで照射することによりメチル水銀が生成し、さらにアンモニア共存下にその生成能が増大することを報告している。

これらは何らかの光線照射を必要とする光メチル化反応で、光エネルギーによるラジカル反応であろうと考えられている。

TABLE III. Photochemical Methylation of Mercury

Methyl Donor		Inorganic Mercury		Methylmercury Production rate	Irradiation	References
Compounds	Added (ppm)	Compounds	Added (ppm)			
CH ₃ COOH	6000	MC ^{a)}	4000	1.2×10^{-3}	UV	38)
	3000	MC	2000	7.0×10^{-6}	SL ^{e)} or BL ^{f)}	39)
	1000	MC	0.1	— ^{h)}	UV ^{d)}	40)
	600	MC	200	2.0×10^{-5}	XL ^{g)}	43)
C ₂ H ₅ COOH	7400	MC	4000	4.5×10^{-6}	UV	38)
	3700	MC	2000	4.0×10^{-7}	SL or BL	39)
	1000	MC	0.1	1.0×10^{-2}	UV	40)
	780	MC	200	—	XL	43)
CH ₃ OH	3200	MC	4000	6.0×10^{-7}	UV	38)
	1600	MC	2000	3.2×10^{-7}	SL or BL	39)
	1000	MC	0.1	—	UV	40)
C ₂ H ₅ OH	4600	MC	4000	2.0×10^{-5}	UV	38)
	2300	MC	2000	3.6×10^{-7}	SL or BL	39)
	1000	MC	0.1	—	UV	40)
CH ₃ CHO	1000	MC	0.1	3.3×10^{-1}	UV	40)
	100	MC	0.1	3.2×10^{-1}	UV	40)
CH ₃ COCH ₃	1000	MC	0.1	2.7×10^{-1}	UV	40)
CH ₃ COCH ₂ COCH ₃	1000	MC	0.1	7.7×10^{-2}	UV	40)
Alanine	1780	MC	1330	8.8×10^{-4}	UV	42)
	178	MC	133	8.4×10^{-5}	BL	42)
Valine	2340	MC	1330	1.7×10^{-4}	UV	42)
	234	MC	133	2.0×10^{-4}	BL	42)
Leucine	2620	MC	1330	3.1×10^{-4}	UV	42)
	262	MC	133	5.5×10^{-4}	BL	42)
Iso-leucine	2620	MC	1330	8.3×10^{-4}	UV	42)
	262	MC	133	1.0×10^{-4}	BL	42)
Creatinine	9962	MC	200	3.9×10^{-4}	XL	43)
Activated sludge		MC	400	5.3×10^{-5}	XL	45)
Sewage		MC	400	1.7×10^{-5}	XL	45)
		MN ^{b)} & MO ^{c)}	10 & 6.7	7.2×10^{-5}	SL	44)
Effluent of sewage treatment plant		MC	400	1.1×10^{-5}	XL	45)
Urine		MC	400	1.2×10^{-5}	XL	45)
Feces aqueous extract		MC	400	1.4×10^{-5}	XL	45)
Industrial wastewater		MN & MO	10 & 6.7	8.3×10^{-4}	SL	44)

a) MC; mercuric chloride, b) MN; mercuric nitrate, c) MO; mercuric oxide, d) UV; ultraviolet, e) SL; sun light, f) BL; black light lamp, g) XL; xenon lamp, h) —; not detected.

単一化合物ではないが、都市下水、⁴⁴⁾ 下水処理場排水、⁴⁵⁾ 尿、⁴⁵⁾ 大便浸出液⁴⁵⁾に無機水銀を添加し、日光あるいはキセノンランプによる光照射によりメチル水銀が生成するが、暗所では生成しないことが報告されている。

Table III には、ここに紹介した光メチル化反応によるメチル水銀生成率をまとめた。

4.2 非光化学反応によるメチル化 4.2.1 メチルコバラミンによるメチル化——無機水銀と特異的に反応するメチル基供与体は数少ないが、その中ではビタミンB₁₂の誘導体であるメチルコバラミンがよく知られている。環境中でのメチル水銀生成の関連を示したものは、1968年のWoodら³⁰⁾が最初である。

Wood らはメタン生成菌 *Methanobacterium omelian-skii* の MOH 株の細胞抽出液に ATP とメチルコバラミンを加え、水素気流中でメタン合成を行なう際に無機水銀を加えると、メタンの発生とともにメチル水銀が生成することを認めた。その後、この反応は細胞抽出液なしに純化学的にも速やかに進行することが、Hill ら,⁴⁶⁾ Imura ら,⁴⁷⁾ Bertilsson ら,⁴⁸⁾ Agness ら⁴⁹⁾ および DeSimon ら⁵⁰⁾ により明らかにされた。この反応は Hg^{2+} の CH_3^- への求電子攻撃で起こるとされている。またこの反応からは $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ができにくい、DeSimon ら⁵⁰⁾ はメチルコバラミンによるメチル化では CH_3Hg^+ 生成が $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ 生成の 6000 倍の速度であるとしている。しかし Bertilsson ら⁴⁸⁾ はこの反応が S 化合物、細胞タンパク質などによって阻害を受けることから生体中でどの程度起こっているのかの評価は難しいとしている。

4.2.2 トランスアルキル化反応によるメチル化——アルキル金属化合物のトランスアルキル化反応によるメチル水銀生成は、コバルト以外の有機金属化合物によっても環境中で起こる可能性が報告されている。Jernelöv ら⁵¹⁾ は St. Clair 川において水銀廃液を出している工場付近の底質中での総水銀は 100 mg/kg、メチル水銀は 20–40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 程度であったが、下流でアルキル鉛の排出と一致する場所では総水銀が約 40 mg/kg に減少しているのに、メチル水銀は 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と増加し、同時にエチル水銀およびアルキル鉛を相当量検出し、このメチル水銀はアルキル鉛と無機水銀との間での非生物学的なトランスアルキル化反応により生成したものであると結論している。下条ら⁵²⁾ は自動車排気ガス中に塩化メチル水銀の前駆体が存在し、HCl 処理で安易に塩化メチル水銀にかかわること、また有鉛ガソリンの方が無鉛ガソリンよりその能力が高いといっているが、アルキル金属のトランスアルキル化反応が一部あるものと思われる。Huey ら⁵³⁾ はメチル錫によってもメチル水銀が生成するとし、DeSimone⁵⁴⁾ は水溶性のトリメチルシリル塩と無機水銀とが反応してメチル水銀を生成すること、さらにこの反応は非常に緩和な条件下に 2 つの塩を混合するだけで起こることを報告している (1)。

4.2.3 フミン質によるメチル化——Rogers^{55,56)} は農業用土壌のアルカリ抽出液に硝酸第 2 水銀を加えてお

Fig. 1. Methylmercury Production by River Sediment and Leaf Mold

Reaction temp., 70°C; incubation time, 3 d.

Fig. 2. Methylmercury Production by Various Humic Acids⁵⁸⁾

Conditions: humic acid concentration, 0.3 g/50 ml; inorganic mercury concentration, 750 $\mu\text{g}/\text{ml}$; temp., 70°C; incubation time, 3 d; pH 7.

くとメチル水銀が生成することから、この抽出液にメチル化因子が存在することを認め、さらにこの因子は高圧蒸気滅菌にも安定であるが、紫外線照射によりその能力を失うこと、また酸可溶性で低分子物質であるとしている。土壤中純化学的メチル化反応を試みた初めての報告である。

著者ら^{57,58)} は河川底質および山林腐葉土に硝酸第 2 水銀を加え遮光した状態で、pH 3.5 または 7、70°C、3 日間反応させたところ、Fig. 1 に示すように腐葉土ではいずれの pH でも、河川底質では pH 7 でメチル水銀生成を認めた。高圧蒸気滅菌したものでも同様の結果を得たこと、この河川底質および山林腐葉土から抽出分画したフルボ酸およびフミン酸からのメチル水銀生成を認めたことから、微生物の関与はないと考えられた。Rogers⁵⁶⁾ は市販されている 4 種のフミン酸についてメチル水銀生成は認められず、メチル化因子ではないと結論しているが、著者ら⁵⁸⁾ は Fig. 2 に示すような市販のフミン酸 2 種を含む 4 種のフミン酸でメチル水銀生成を認めた。

著者らはフルボ酸溶液中のメチル化因子を調べるため、Sephadex G-25 によるゲルろ過を行ない Fig. 3 に示す 4 分画とし、その各分画のメチル水銀生成能を測定したところ Fig. 4 に示すように、いずれの分画からも

Fig. 3. Sephadex G-25 Elution Profile of Fulvic Acid Solution from Leaf Mold⁵⁸⁾

Column size, 50 × 2.5 cm.

Fig. 4. Methylmercury Production in A, B, C and D Fractions Obtained from Fulvic Acid of Leaf Mold by Gel Chromatography on Sephadex G-25⁵⁸⁾

その生成を認め、フルボ酸がその分子量と関係なくメチル化因子となり得ることを示した。メチルコバラミンもアルキル金属類も光照射なしに無機水銀をメチル化するので、その混在による効果が考えられるが、フルボ酸を分画するのに強酸、強アルカリ条件を経ているので混入したとしても分解されている可能性が強く、またそれらの分子量より、大小いずれの分子量分画からもメチル水銀生成が認められているので、この反応はメチルコバラミン以外のメチル基供与体の存在を示している。なお

TABLE IV. Methylmercury Production by Compounds Found in Humic Materials

Compounds	Methylmercury Production ($\mu\text{g}/50\text{ ml}$)	
	pH 3.5	pH 7
2,6-Di- <i>tert</i> -Butyl-4-methylphenol (BHT)	3.25	0.54
Mesitylene	0.55	—
<i>p</i> -Xylene	0.02	—
4- <i>tert</i> -Butylcatechol	— ^{a)}	—
Allylphenol	—	—
<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	—	—
Vanillin	—	—
Syringaldehyde	—	—
Ethylphenylacetate	—	—
Pyrocatechol	—	—
Resorcinol	—	—
Vanillic acid	—	—
α -Resorcylic acid	—	—
β -Resorcylic acid	—	—
Syringic acid	—	—
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	—	—
<i>m</i> -Hydroxybenzoic acid	—	—

a) — : not detected.

Fig. 4 の過マンガン酸カリウム消費量 1 mg 当りによるフルボ酸のメチル水銀生成量の比較では、D分画が最高であり、高分子物質に比べ低分子物質の方がこのメチル化反応に活性が高いことを示している。

そこで著者ら⁵⁹⁾は河川底質および山林腐葉土のフミン質分画 エーテル抽出物中の GC-MS で同定した化合物およびフミン質構成物としてすでに報告されている⁶⁰⁾いくつかの化合物についてメチル水銀生成能を調べた。その結果は Table IV に示すようで、河川底質および山林腐葉土のフミン質分画に検出された 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), *p*-xylene および mesitylene にその能力があることを認めた。ただしこれらのメチル水銀生成能とフミン質中濃度を考えると、フミン質中のメチル化因子としての関与は小さい。

Kudo ら⁶¹⁾は、有機物含量がそれぞれ異なる (59.2, 0.8, 0.3%) 3 種の河川底質に $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ および $^{203}\text{HgCl}_2$ をそれぞれ 1 ppm 添加し、メチル水銀の分解と生成による無機水銀-メチル水銀平衡濃度を測定し、総水銀中メチル水銀含有率が有機物の高いものからそれぞれ、12.1, 2.3 および 0.2% で、底質有機物含量の増加に伴い増加することを示した。この原因について明らかにしていないが、フミン質の関与が考えられる。日高ら⁶²⁾は腐植に富む火山灰土壌にフェニル水銀または塩化

第2水銀を5 ppm 添加し、40°C で30日間インキュベートしたとき、添加量の約10%がメチル水銀に変化したことを認め、これはメチルコバラミンおよび細菌の活性によるものであらうと推論しているが、著者らの研究結果からみるとフミン質によるメチル化が主なものと考えることができる。

フミン質はすべての河川水中に含まれ、底質中に堆積しているが、さらに流域の山林、田畑にも広く存在している。これが4°C の低温でも、暗所でも無機水銀との反応でメチル水銀を生成することから環境中で最も広く起こっている水銀メチル化反応と考えられる。

土壌有機物の主成分であるフミン酸やフルボ酸は、配位子として機能するカルボキシル基やヒドロキシル基の存在により金属と安定な錯体を形成することが明らかにされている。⁶³⁾ Hg^{2+} はこれらの酸と錯体形成能をもつ重金属である。⁶⁴⁾ 園田ら^{65,66)} も河川底質から抽出したフミン質の水銀とのキレート結合能を示し、さらに含硫黄フミン質、すなわちチオフミン酸が強力な吸着能を示すと推定している。このようにフミン質はむしろ水銀の難溶性形態への変化、土壌中では吸着保持の役割を果しているが、その一方でメチル水銀生成へのメチル基供与体となっていることは興味深い。

5. メチル水銀生成に影響を及ぼす環境因子

環境中で無機水銀よりメチル水銀が生成されるとき、それが化学的反応によるか、微生物によるかのいかんにかかわらず、無機水銀の化学的形態、メチル基供与体の種類およびそれらの濃度や、多くの環境因子が影響を及ぼしている。ここではメチル水銀生成に重要な因子と考えられる環境因子として、pH、酸化還元電位、温度につき考察する。

5.1 pH Tsai ら⁶⁷⁾ は Wisconsin 川の魚への無機水銀蓄積が pH により影響されることを、そして Jernelöv ら¹⁵⁾ はスウェーデンの魚体中の水銀濃度と pH とが逆相関することを、また川又ら⁶⁸⁾ は噴火により酸性化した湖の魚体中に検出された高濃度のメチル水銀の経時の変化が湖水の低 pH の変化と関係していることを報告している。Miller ら⁶⁹⁾ は低 pH 域では水層中総水銀レベルおよびメチル水銀濃度比が高くなるため、魚体中水銀レベルが高まると報告しているが、この見解は川又らの報告と一致している。

化学的メチル化では、アラニン⁴²⁾ 農業土壌のアルカリ抽出液は pH 4.5,⁵⁶⁾ 著者ら⁵⁸⁾ による腐葉土からのフミン酸は pH 2—8、フルボ酸で pH 4 付近の酸性域で高いメチル水銀生成を示した (Fig. 5)。これらは環境中低 pH でメチル水銀濃度レベルが上がるこ

Fig. 5. Methylmercury Production in Fulvic Acid Solution at Various pH⁵⁸⁾

Conditions: fulvic acid concentration, 5800 μg/ml as KMnO_4 consumption; inorganic mercury concentration, 750 μg/ml; temp., 70°C; incubation time, 3 d.

Fig. 6. Formation of Mono- and Dimethylmercury in Organic Sediments at Different pH⁷⁰⁾

Conditions: total mercury concentration, 100 μg/ml; incubation time, 2 weeks.
—○—: CH_3Hg^+ , ---△---: $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$.

を裏づけたものである。その原因の一つとして、無機水銀の存在形態がメチル化反応に供される Hg^{2+} になる割合が多くなることが考えられる。Fagerström ら⁷⁰⁾ は底質中でのメチル化物として中性および酸性ではモノメチル水銀が、アルカリ性ではジメチル水銀が主に生成されるとしている (Fig. 6)。pH のちがいににより生成する水銀化合物が異なるとする興味深い報告である。近年、酸性雨による湖沼の酸性化問題が生じてきているが、無機水銀のメチル化およびその魚体中への蓄積の上からも天然水の低 pH 化は問題とならう。

微生物が関与したメチル化反応で pH に言及したものは少ないが、Shin ら⁷¹⁾ は土壌中微生物によるメチル水

銀生成実験を pH 3.8, 7.1 および 9.7 で行ない、3.8 での生成は少なく、中性付近が最も高いと報告している。活性汚泥の上清によるメチル化では pH 7—9 での高い生成を示し、⁴⁵⁾ Yamada ら³¹⁾ は *Chlostridium cochlearium* のメチル水銀生成至適 pH は 7 としている。一般的に微生物の至適 pH 範囲はせまく、低 pH での生育微生物は限られているので低 pH でのメチル水銀生成への微生物関与は少ないと考えられる。

5.2 酸化還元電位 酸化還元電位 -100 mV 以下では、硫化物が重要な意味をもち、嫌気性がすすむと硫酸還元菌による H_2S の発生が激しく Hg^{2+} は HgS となり、メチル化に供されにくくなる。

Bertlett ら¹²⁾ は Clyde 川河口および Mersey 河口の調査から -160 — +150 mV でメチル水銀を検出し、この条件では HgS も不安定であり、メチル化に必要な Hg^{2+} も存在し、*Clostridium* 属が -300 — +50 mV でメチル化能を示すことと関係があるとしている。外村⁷⁴⁾も微生物によるメチル化は -200 — +50 mV の間の可能性が強いとしている。酸化還元電位が +150 mV 以上の好気の状態下では好気性細菌による脱メチル化が支配的となり、メチル水銀の濃度レベルは極めて低くなる。

化学的メチル化の場合にも無機水銀の形態が HgS になつてはメチル化反応に供されぬので、やはり好気の状態が必要となる。赤木⁷³⁾は HgS を酢酸水溶液中に懸濁させたとき、各種金属のうちで Hg^{2+} , Hg^+ , Fe^{3+} が共存するとき暗反応下でも硫化水銀の可溶化が起こること、近藤⁷⁴⁾は Ag^+ , Sn^{2+} によって可溶化の起こることを認め、これら金属のもつ酸化還元電位との関係を示している。一度嫌気の状態下に HgS となり、安定化しても、再び好気の状態となれば溶出してくることが考えられる。

5.3 温度 メチル水銀生成と温度との関係を示している報告は少なく、生成条件として温度を示していないものも少なくない。

微生物が関与するメチル化では *Chlostridium cochlearium* は 30°C,³¹⁾ *Neurospora crassa* は 22°C³³⁾ で培養している。一連の研究の発端となった Jernelöv らの底質からのメチル水銀生成は 24°C²⁹⁾で、後に 20°C⁷⁵⁾でも行なっている。Shin ら⁷¹⁾は微生物活動によるメチル水銀生成として 0, 5, 15, 25 および 35°C での生成を比較し、温度の上昇と共に生成量が増大し、特に 35°C が極めて高いとしているが、微生物活動を前提としている為か、それ以上高温での検討はない。同様なことを Fagerström ら⁷⁰⁾も述べているが、微生物反応ではその至適温度から、温度の変化によるメチル水銀生成量は極

Fig. 7. Methylmercury Production in Fulvic Acid Solution at Various Temp.⁵⁸⁾

Conditions: fulvic acid concentration, 9800 μg/ml as KMnO_4 consumption; inorganic mercury concentration, 750 μg/ml; pH 4.5; incubation time, 3 d.

Fig. 8. Methylmercury Production in the Environment

端に異なることが考えられる。

化学的メチル化で用いられている 20°C^{38,39)}は、環境中での温度を考えている。メチルコバラミンとの反応で 37,⁴⁷⁾ 30,⁴⁶⁾ 20°C⁴⁸⁾ が用いられているが、これは微生物の至適条件などを考えてのことであろう。著者⁵⁸⁾はフルボ酸、フミン酸あるいは BHT からのメチル水銀生成は反応温度に影響され、4—70°C の範囲でいずれも反応温度の上昇と共に生成量が増加することを認めるとともに 4°C の低温下での生成も認めた (Fig. 7)。Rogers⁵⁶⁾も農業用土壌のアルカリ抽出液からのメチル水銀生成を 5, 25, 40°C で比べ、反応温度の高いほど生成量が高いことを示し、著者らと同様の結果を報告してメチル水銀生成に温度が重要な因子の一つであることを明らかにした。土壌表面では日照下でかなりの高温に至ることもあり、また底質中の温度は極めて低いこともある。広汎な温度条件下でメチル水銀がフミン質から生ずることは、一般環境条件下で広く生成する可能性を示すとともに生

- "The Biogeochemistry of Mercury in the Environment," Elsevier, Amsterdam, 1979; etc.
- 2) G. Westö, *Acta Chem. Scand.*, **21**, 1790 (1976).
 - 3) 喜田村正次, 近藤雅臣, 滝澤行雄, 藤井正美, 藤木素士, "水銀," 講談社, 東京, 1976, pp. 97—141.
 - 4) D.L. Johnson, R.S. Braman, *Environ. Sci. Technol.*, **8**, 1003 (1974).
 - 5) 藤田昌彦, 岩島 清, 福岡一平, 高島英伍, 山県 登, 水質汚濁研究, **1**, 133 (1978).
 - 6) W.F. Fitzgerald, W.B. Lyons, *Nature* (London), **242**, 452 (1973).
 - 7) A. Kudo, H. Nagase, Y. Ose, *Water Res.*, **16**, 1011 (1982).
 - 8) Y.K. Chau, H. Saitoh, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **3**, 133 (1973).
 - 9) 青木 弘, 日衛誌, **24**, 546 (1970).
 - 10) H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, T. Ishikawa, K. Mitani, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **7**, 261 (1980).
 - 11) P.D. Bartlett, P.J. Craig, S.F. Morton, *Sci. Total Environ.*, **10**, 245 (1978).
 - 12) P.D. Bartlett, P.J. Craig, *Water Res.*, **15**, 37 (1981).
 - 13) A.W. Andren, R.C. Harriss, *Nature* (London), **245**, 256 (1973).
 - 14) H.G. Van Faassen, *Plant Soil*, **44**, 505 (1975).
 - 15) A. Jernelöv, L. Landner, T. Larsson, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **47**, 810 (1975).
 - 16) B.H. Olsen, N.C. Cooper, *Water Res.*, **10**, 113 (1976).
 - 17) C.J. Cappon, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **10**, 673 (1981).
 - 18) 近藤雅臣, 衛生化学, **20**, 47 (1974).
 - 19) 滝澤行雄, 水質汚濁研究, **6**, 279 (1983).
 - 20) N. Imura, S.K. Pan, T. Ukita, *Chemosphere*, **1**, 197 (1972).
 - 21) S.K. Pan, N. Imura, T. Ukita, *Chemosphere*, **2**, 247 (1973).
 - 22) F. Matsumura, Y. Gotoh Doherty, K. Furukawa, G.M. Boush, *Environ. Res.*, **10**, 224 (1975).
 - 23) 堀部純男, "沿岸域保全のための海の環境科学," 平野敏行編, 恒星社厚生閣, 東京, 1983, pp. 271—272.
 - 24) 山中すみえ, 上田喜一, 吉田多摩夫, 日衛誌, **29**, 359 (1974).
 - 25) A. Pennacchioni, R. Marchetti, G.F. Gaggino, *J. Environ. Qual.*, **5**, 451 (1976).
 - 26) 喜田村正次, 第6回水質汚濁研究に関するシンポジウム講演集, 東京, 1973年10月, pp. 1—17.
 - 27) 寺本亘二, 帯刀俊之, 篠原彰男, 丸山 博, 用水と廃水, **10**, 856 (1968).
 - 28) 岐阜県環境部, "環境白書昭和56年", 岐阜県公害防止協会, 岐阜, 1981, p. 275.
 - 29) S. Jensen, A. Jernelöv, *Nature* (London), **223**, 753 (1969).
 - 30) J.M. Wood, F.S. Kennedy, C.G. Rosen, *Nature* (London), **220**, 173 (1968).
 - 31) M. Yamada, K. Tonomura, *J. Ferment. Technol.*, **50**, 159 (1972).
 - 32) 塩谷勝夫, 田川専照, 田中博義, 前川 勉, 高原悦子, 日公衛誌, **19**, (10) 336 (1972).
 - 33) L. Landner, *Nature* (London), **230**, 452 (1971).
 - 34) 井村伸正, "水俣病," 有馬澄雄編, 青林舎, 東京, 1979, pp. 699—711.
 - 35) 赤木洋勝, "環境汚染物質と毒性, 無機物質編," 山根靖弘, 高島英伍, 内山 充編, 南江堂, 東京, 1980, pp. 59—69.
 - 36) S. Springthorpe, S. Ramamoorthy, D.J. Kushner, "Distribution and Transport of Pollutants in Flowing Water Ecosystem," Ottawa River Project (ed.), National Research Council Canada, Ottawa, 1977, pp. 17.1—17.55.
 - 37) F. Matsumura, Y. Gotoh, G.M. Boush, *Science*, **173**, 49 (1971).
 - 38) 赤木洋勝, 藤田昌彦, 坂上米次, 衛生化学, **18**, 309 (1972).
 - 39) 赤木洋勝, 坂上米次, 衛生化学, **18**, 358 (1972).
 - 40) 喜田村正次, 住野公昭, 日衛誌, **27**, (1) 123 (1972).
 - 41) 滝澤行男, 皆川興栄, 倉山令子, 中村 功, 阿部 享, 藤井正美, 日公衛誌, **23**, 535 (1976).
 - 42) 林 和寿, 河合 聡, 大野武雄, 牧 敬文, 薬誌, **99**, 1250 (1979).
 - 43) 田中克彦, 深谷勝久, 和田 裕, 福井昭三, 菅野三郎, 衛生化学, **24**, 194 (1978).
 - 44) 藤木素士, 田島静子, 熊本医学会雑誌, **48**, 117 (1974).
 - 45) 田中克彦, 深谷勝久, 福井昭三, 菅野三郎, 衛生化学, **22**, 50 (1976).
 - 46) H.A.O. Hill, J.M. Pratt, S. Ridsdale, F.R. Williams, R.J.P. Williams, *Chem. Commun.*, **1970**, 341.
 - 47) N. Imura, E. Sukegawa, S. Pan, K. Nagao, J. Kim, T. Ukita, *Science*, **172**, 1248 (1971).
 - 48) L. Bertilsson, H.Y. Neujahr, *Biochemistry*, **10**, 2805 (1971).
 - 49) G. Agnes, S. Bendle, H.A.O. Hill, F.R. Williams, R.J.P. Williams, *Chem. Commun.*, **1971**, 850.

- 50) R.E. DeSimone, M.W. Penley, L. Charbonneau, S.G. Smith, J.M. Wood, H.A.O. Hill, J.M. Pratt, S. Ridsdale, R.J.P. Williams, *Biochim. Biophys. Acta*, **304**, 851 (1973).
- 51) A. Jernelöv, H. Lann, G. Wennergren, T. Fagerström, B. Åsell, R. Andersson, Unpubl. Rep., Swedish Water Air Pollution Research Institute, 1972.
- 52) 下条信弘, 山口誠哉, 佐野憲一, 産業医学, **18**, 36 (1976).
- 53) C. Huey, F.B. Brinkman, S. Grim, W.P. Iverson, Proceedings of International Conference on Transport of Persistent Chemicals in Aquatic Ecosystem, Ottawa, 1974, p. Section II-73.
- 54) R.E. DeSimone, *Chem. Commun.*, **1972**, 780.
- 55) R.D. Rogers, *J. Environ. Qual.*, **5**, 454 (1976).
- 56) R.D. Rogers, *J. Environ. Qual.*, **6**, 463 (1977).
- 57) 永瀬久光, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦, 石川哲也, 第9回環境汚染物質とそのトキシコロジー シンポジウム講演要旨集, 岡山, 1982年10月, pp. 163—165.
- 58) H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, T. Ishikawa, *Sci. Total Environ.*, **24**, 133 (1982).
- 59) H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, T. Ishikawa, *Sci. Total Environ.*, **32**, 147 (1984).
- 60) M. Schnitzer, S.U. Kahn, "Humic Substances in the Environment," Marcel Dekker, New York, 1972, pp. 137—201.
- 61) A. Kudo, H. Akagi, D.C. Mortimer, D.R. Miller, *Nature (London)*, **270**, 419 (1977).
- 62) 日高 伸, 柴 英雄, 埼玉県農業試験所研究報告, 36号, 21 (1980).
- 63) M. Schnitzer, S.I.M. Skinner, *Soil. Sci.*, **99**, 278 (1965).
- 64) S. Gotoh, S. Tokudome, H. Koga, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **24**, 391 (1978).
- 65) 園田洋次, 前田光浩, 原 徹夫, 岩井 巖, 岐阜大学農学部研究報告, 38号, 143 (1975).
- 66) 園田洋次, 齊藤裕子, 原 徹夫, 岩井 巖, 岐阜大学農学部研究報告, 39号, 101 (1976).
- 67) S.C. Tsai, G.M. Boush, F. Matsumura, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **13**, 188 (1975).
- 68) 川又秀一, 山浦由郎, 赤木洋勝, 日公衛誌, **29**, 551 (1982).
- 69) D.R. Miller, H. Akagi, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **3**, 36 (1979).
- 70) T. Fagerström, A. Jernelöv, *Water Res.*, **6**, 1193 (1972).
- 71) E. Shin, P.A. Krenkel, *J. Water Poll. Control Fed.*, **48**, 473 (1976).
- 72) 外村健三, "化学総説 No. 2," 日本化学会編, 東京大学出版会編, 東京, 1973, p. 170.
- 73) 赤木洋勝, 藤田勇三郎, 高島英伍, 日化, **1975**, 1273.
- 74) 近藤雅臣, 西原 力, 渡部一仁, 藤井正美, 日公衛誌, **21**, 231 (1974).
- 75) T. Fagerström, A. Jernelöv, *Water Res.*, **5**, 121 (1971).
- 76) W.J. Splanglar, J.L. Spigarelli, J.M. Rose, H.M. Miller, *Science*, **180**, 192 (1973).