環境試料, 特に底質中メチル水銀の定量法¹⁾

菅野 淳,^a 赤木洋勝,^{b,2)} 高島英伍^b

岩手県衛生研究所,^a 国立公衆衛生院^b

A Method for the Determination of Methylmercury in Environmental Samples, Particularly Sediment

ATSUSHI KANNO,^a HIROKATSU AKAGI^{b,2)}

and EIGO TAKABATAKE^b

Iwate Prefectural Institute of Public Health,^a 15-25, Uchimarui,

Morioka 020, Japan and the Institute of Public Health,^b

4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108, Japan

(Received February 4, 1985)

A successful method was developed for the determination of trace amounts of methylmercury in environmental samples, particularly in sediments by gas-liquid chromatography (GLC).

A sample of known weight was treated with ethanolic potassium hydroxide solution and extracted with dithizone-benzene solution after slightly acidification with hydrochloric acid. The methylmercury dithizonate in benzene layer was partitioned into a small portion of sodium sulfide in aqueous ethanol as bismethylmercury sulfide. The excess of sulfide ions was removed by bubbling air through the solution slightly acidified with hydrochloric acid, and then methylmercury in the solution was re-extracted into dithizone-benzene solution as methylmercuric dithizonate. Methylmercury thus obtained was measured by ECD-GLC with a column of 5% diethylene glycol succinate and 5% sodium chloride on Chromosorb W.

The recovery of methylmercury added to river sediments was 95.7% on the average and the detection limit was 0.5 ppb as mercury on a wet weight basis in the present method. This method was also applicable to the analyses of methylmercury in other environmental samples such as natural water, fish, etc.

Keywords—methylmercury; methylmercuric dithizonate; sediment; fish tissue; natural water; GC

緒 言

水銀による魚介類汚染には、依然として強い関心が寄せられているにもかかわらず、その汚染のメカニズムについては、まだ解明されていない多くの問題を残している。これは分析機器が高度に発達した今日においても、実際の環境試料中に含まれる水銀の中で、生物濃縮にかかわるメチル水銀の分析が容易でなく、環境におけるその動態が把握され得ていないことに起因している。

底質中メチル水銀の定量は塩酸性下でベンゼン抽出し、シスチン転溶後 ECD-GLC によって定量する方法³⁾が採用されている。しかし、この方法は抽出効率が悪く、ベンゼン抽出時にエマルジョンが形成されるた

め、その後の操作が繁雑となることがしばしば指摘されている。また、クリーンアップも不十分で、ガスクロマトグラム上に妨害ピークが現れるなどの欠点がある。これらの難点を改良するため、シスチン転溶後原子吸光装置で定量する方法⁴⁾、試料を水蒸気蒸留し、GLC⁵⁾又は原子吸光装置で定量する方法^{6,7)}などが考案され、実際のサンプルに応用されている。

著者らはモデル水圏における水銀の化学形変換及び分布に関する研究の一環として、放射性水銀を用いて水銀の化学形態を評価するための方法を検討してきた。その過程で、底質を 1N KOH-エタノール溶液で処理し、弱酸性にしたのち、水銀をジチゾン-ベンゼン溶液で抽出

する手法を確立することができた。

Tatton ら⁸⁾は野菜中の残留有機水銀剤をジチゾン抽出-GLCによって定量したことを報告している。ジチゾンは水銀に対する強いキレート剤であり、少量のジチゾン-ベンゼン溶液で効率よくメチル水銀を分離抽出することができる利点がある。また、メチル水銀のジチゾネートは比較的安定で、酸やアルカリによって洗浄できる利点もある。今回、底質中メチル水銀の定量にこれらの処理方法の応用を試み、更に種々のクリーンアップ法の組合せにより、最終的に ECD-GLC を用いて定量する方法を検討した。その結果、従来の方法の定量限界を大幅に改善した簡便で精度の高い方法を確立することができたので報告する。

実験方法

1. 試料 盛岡市内の中津川及び郊外の諸葛川並びに漁港である大船渡湾の底質を採取し、礫、貝殻、ゴミ等を除いたものを試料とした。これらはいずれも水銀汚染の認められていない地域の底質であり、総水銀濃度は 0.01—0.12 ppm であった。各底質についての性状は Table I に示すとおりであった。各試料に乾泥当り Hg として 1 ppm になるように塩化第二水銀溶液を添加し、よく混和して約 4 週間室内に放置後 3000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄水を捨てよく混和して分析試料とした。本試料は Table III に示したメチル水銀の測定例に供した。

2. 試薬

(1) 塩化メチル水銀標準溶液——特級塩化メチル水銀 0.125 g をベンゼンに溶かして 100 ml とした。この溶液 1 ml は 1 mg の水銀を含む。この標準原液をベンゼンで希釈して 0.1 ppm の標準溶液を調製した。

(2) 添加回収用塩化メチル水銀標準溶液——特級塩化メチル水銀 0.125 g を少量のアセトンに溶かし、水を加えて 100 ml とした。この標準原液を水で希釈して 0.1 ppm の標準溶液を調製した。

(3) 添加回収試験用放射性塩化メチル水銀標準溶液—— $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ 1 mCi (Amersham 製、日本アイソト

ープ協会より購入) に水を加えて 100 ml とした。この溶液 1 ml は 12.9 μg の水銀を含む。

(4) 0.2% ジチゾン-ベンゼン溶液——特級ジチゾン 1 g を分液ロートにとり、これにベンゼン 500 ml を加えて溶解したのち、 NH_4OH (1+9) 100 ml で数回抽出した。水層を合わせ、HCl を加えて弱酸性とし、新たにベンゼン 500 ml を加えて振り混ぜた。水層を捨て、ベンゼン層はろ過後冷暗所に保存した (保存期間は約 1 週間)。

(5) 0.02% ジチゾン-ベンゼン溶液——0.2% ジチゾン-ベンゼン溶液をベンゼンで 10 倍に希釈した (用時調製)。

(6) 1 N KOH-エタノール溶液——特級 KOH 56 g に特級エタノールを加えて 1 l とし、スターラーで攪拌しながら溶解し、1 昼夜放置後ろ過して冷暗所に保存した。

(7) 0.01% Na_2S -50% エタノール溶液——特級 Na_2S 0.5 g を水に溶かして 50 ml とした。この溶液 1 ml に 50% エタノールを加えて全量を 100 ml とした (用時調製)。

(8) Walpole の緩衝液 (pH 2.64)——1 M 酢酸ナトリウム 50 ml に 1 N HCl 150 ml 及び水を加えて全量を 250 ml とした。

(9) ベンゼン——残留農業試験用ベンゼン (和光純薬製)。

(10) フロリジルカラム——フロリジル PR (和光純薬製) を 130°C で約 3 時間乾燥し、デシケータ内で放冷後その 3 g をクロマト管 (10 mm×300 mm) に乾式で充填し、更に残留農業試験用無水硫酸ナトリウム 2 g を積層した。

その他の試薬はすべて和光純薬製特級を用いた。

3. 装置 放射能測定装置：ベックマン Gamma 40000, ガスクロマトグラフ：島津製作所 GC-5A 型 (^{63}Ni , 電子捕獲型検出器付), ガスクロマトグラフ質量分析計：日本電子 JMS-D300。

4. ガスクロマトグラフの分析条件 カラム：5%

TABLE I. Type of Sediments and Their Characteristics

Sample No.	Sampling area	Characteristic type of sediment	Organic matter (%)	T-Hg (ppm)	T-S (mg/g)
1	Nakatsu river	Sand	3.5	0.10	N.D.
2	Nakatsu river	Sand mixed with silt	5.9	0.08	0.001
3	Morokuzu river	Mixture of sand and silt	10.1	0.12	0.007
4	Ofunato bay	Silt	13.6	0.01	0.005

T-Hg: total mercury, dry base.

T-S: total sulfide, dry base.

N.D.: not detected.

DEGS+5% NaCl Chromosorb W AW DMCS 60—80 mesh 3 mm×2 m ガラス製, 温度: カラム 140°C, 注入口 180°C, 検出器 200°C, キャリアガス: 窒素 50 ml/min.

5. ガスクロマトグラフ質量分析計の分析条件

カラム: 5% DEGS+5% NaCl 2 mm×1 m, 温度: カラム 110°C, 注入口 250°C, セパレータ 250°C, キャリアガス: ヘリウム 0.5 kg/cm², イオン化エネルギー: 70 eV, イオン化電流: 300 μ A.

6. 試料溶液の調製

試料 20 g を共栓付三角フラスコにとり, 1 N KOH-エタノール溶液 50 ml を加えて 30 分間振とうした. 次いで, 3 N HCl 30 ml 及び 10% EDTA 溶液 5 ml を加え, 軽く振とう後 0.2% ジチゾン-ベンゼン溶液 30 ml を加えて 5 分間振とうし, 遠心分離した. ベンゼン層をフロリジルカラムに通し, その 15 ml を分液ロートにとり, 1 N NaOH 溶液約 10 ml を加

えて振り混ぜ, 過剰のジチゾンを除いた. この操作を水層にほとんど色がつかなくなるまで繰り返した. 次にベンゼン層に 0.01% Na₂S-50% エタノール溶液 10 ml を加えて 30 秒間振とうし, 静置後水層を別の分液ロートに移した. エアポンプで水層が透明になるまで通気(約 2 分間)したのち, 1 N HCl を水層が青色に変色するまで滴下して微酸性とし, 更に 3 分間通気を続けた. 通気後, 緩衝液 2 ml 及び 0.02% ジチゾン-ベンゼン溶液 5 ml を加えて 2 分間振とうした. 水層を捨て, ベンゼン層を 0.1 N NaOH 溶液約 5 ml を用いて水層にほとんど色がつかなくなるまで洗浄を繰り返し, 更に無水硫酸ナトリウムで脱水して試料溶液とした (Chart 1). 試料溶液は冷暗所に保存した.

7. 検量線の作成

塩化メチル水銀標準溶液 (0.1 ppm) を 1.0, 2.0, 3.0 ml とり, ベンゼンを加えて 10 ml とし, 2—5 μ l をガスクロマトグラフに注入してそれ

Chart 1. Analytical Procedure for Methylmercury in Sediment

ぞれのピーク高から検量線を作成した。

結果及び考察

1. メチル水銀ジチゾネートのガスクロマトグラフィ

西ら⁹⁾は ECD-GLC における各種有機水銀化合物の挙動に関する報告の中で、メチル水銀ジチゾネートが塩化メチル水銀と同じ保持時間を示したことを述べている。また、Tatton ら⁸⁾もリンゴ、ジャガイモ等の有機水銀剤をそれらのジチゾネートとして抽出し、ECD-GLC を用いて定量する方法を報告しているが、これらの報告には実際の試料についての抽出条件やガスクロマトグラムの記述はみられない。

我々は塩化メチル水銀標準液に、希薄ジチゾン・ベンゼン溶液を加えて、メチル水銀ジチゾネートを生成し、過剰のジチゾンを 0.1 N NaOH 溶液で除き、前述のガスクロマトグラフの条件下で Fig. 1 に示すようなガスクロマトグラムを得た。メチル水銀ジチゾネートのピークは、同じ濃度の塩化メチル水銀と同じ高さで同じ保持時間を示すことを認めた。メチル水銀のピークのあとに現われたピークはジチゾンに由来するものである。また、調製後かなり時間を経過したジチゾン溶液を使用した場合、メチル水銀に非常に近い位置にもジチゾン由来のピークが現われたので、できるだけ使用前に精製したジチ

ゾン溶液を使用することが望ましい。西ら¹⁰⁾は RHgX 型アルキル水銀化合物のガスクロマトグラフィーにおいて、カラム担体上に塩化物又は臭化物が存在すると定量的に X 基と交換し、 RHgCl 又は RHgBr となって溶出することを報告している。したがってメチル水銀ジチゾネートの場合も同様にガスクロマトグラフ中で熱分解し、カラム上の塩素イオンと反応して塩化メチル水銀のピークを示したものと思われる。このことを確認するため、メチル水銀ジチゾネートの GC-MS による分析を行った。その結果、Fig. 2 に示すようにメチル水銀ジチゾネートは CH_3HgCl の形で検出されることが確認された。

メチル水銀ジチゾネートの 0.01, 0.02 及び 0.03 ppm の標準系列を調製し、検量線を作成したところ、Fig. 3 に示すようによい直線性が得られた。この検量線は塩化メチル水銀の検量線と一致したことから、実際の試料の

Fig. 1. Gas Chromatograms of Methylmercuric Chloride and Methylmercuric Dithizonate in Benzene

Operating conditions; column: 5% DEGS+5% NaCl on chromosorb W (AW-DMCS), 3 mm×2 m, column temperature: 140°C, carrier gas: N_2 , 50 ml/min.

Fig. 2. GC-MS Spectrum of Methylmercuric Dithizonate

Operating conditions; column: 5% DEGS+5% NaCl on chromosorb W (AW-DMCS), 2 mm×1 m, column temperature: 110°C, separator temperature: 250°C, carrier gas: He, 0.5 kg/cm², ionization energy: 70 eV, ionization current: 300 μA .

Fig. 3. Calibration Curve of Methylmercuric Dithizonate

分析においては塩化メチル水銀の検量線を用いることとした。

なお、ブランクテスト及び無機水銀のジチゾネート(約 5 ppm まで)を注入した場合のガスクロマトグラムにおいては、塩化メチル水銀の位置にピークは全く認められなかった。

2. 底質中メチル水銀の抽出条件

赤木ら¹¹⁾は底質からメチル水銀を効率よく抽出する方法として、試料 1g について 1N KOH-エタノール溶液 8 ml で処理後、3N HCl 5 ml を加えて弱酸性下にジチゾン-ベンゼン溶液で抽出し、良好な結果を得ている。ここではこの前処理方法を応用し、底質 20 g までの試料に含まれるメチル水銀の抽出条件を検討した。

(1) 1N KOH-エタノール溶液による処理 $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ を添加した試料 20 g に 1N KOH-エタノール溶液 20—150 ml の範囲で加え、30 分間振とう後、3N HCl を 1N KOH-エタノール溶液の量に対して、5/8 の割合で加え、0.2% ジチゾン-ベンゼン溶液 30 ml で抽出した。抽出液をフロリジルカラムに通したのち、ベンゼン層の一定量を取り、放射能を測定して抽出効率を算出した。その結果、Fig. 4 に示すように 1N KOH-エタノール溶液は 50 ml 以上で良好に抽出されることが認められた。したがって本法では前処理に用いる 1N KOH-エタノール溶液の量は、試料 20 g に対して 50 ml 加えることとした。

(2) 塩酸濃度の検討 底質を 1N KOH-エタノール溶液 50 ml で処理したのち、1—6N HCl をそれぞれ 30 ml 加えたものを 0.2% ジチゾン-ベンゼン溶液 30 ml で抽出し、同様に抽出効率を算出した。その結果は Fig. 5 に示すとおり、2—5N HCl を加えることにより良好に抽出されることが認められた。したがってここでは HCl 濃度を 3N に設定した。

3. クリーンアップ操作

底質をジチゾン-ベンゼン溶液で抽出する場合、底質中の様々な物質が同時に抽出されるため、それらの夾雑物による妨害ピークが現れ、これを直接 GLC 分析にかけることは困難であった。これらの妨害ピークはフロリジルカラムクロマトグラフィー、アルカリ洗浄等による除去を試みても除くことはできなかった。そこでクリーンアップとして、はじめにアルミナカラムを用いる方法を試みたが、満足な結果は得られなかった。次にチオ硫酸ナトリウム、臭化カリウム、ヨウ化カリウム、6N 塩酸等を用いてベンゼン層から水銀を水層に逆抽出し、再びジチゾン-ベンゼン溶液で抽出する方法¹²⁾を検討した。メチル水銀ジチゾネートの標準液でこれらの方法を

Fig. 4. Optimum Volume of 1N KOH-EtOH on Extraction of Methylmercury from Sediment

Sediment sample: 20 g wet weight.

Fig. 5. Effect of HCl Concentration on Extraction of Methylmercury by Dithizone-Benzene from Sediment Sample Treated with 1N KOH-EtOH

試みた結果、酸性のチオ硫酸ナトリウムで逆抽出する方法では約70%の回収率が得られたものの、その他のクリーンアップ法ではいずれも回収率は20%以下であり、非常に悪いものであった。しかし、チオ硫酸ナトリウムを用いる場合でも、その後の酸添加で遊離してくるSにより、検出器に対する妨害が明らかに認められた。そこで酸性にすることによって過剰の S^{2-} を H_2S として除去できる利点をもつ Na_2S を利用したクリーンアップ法を検討した。

(1) pH の影響 ベンゼン中のメチル水銀ジチゾネートは Na_2S 溶液で振とうすると、硫化ビス(メチル水銀)となって、¹³⁾ ほとんど完全に水層に逆抽出することができた。更に水層に希塩酸を加え、微酸性下で通気して過剰の S^{2-} を H_2S として除去したのち、再びジチゾン-ベンゼン溶液で振とうすると、メチル水銀を効率よく抽出することが認められた。この場合、水層の pH によって回収率に変化がみられたので、pH 1—6.8 の緩衝液を加えて pH 調整し、pH と回収率との関係を検討した。Fig. 6 に示すように、pH 2—4 の範囲で最もよい

Fig. 6. Effect of Re-extraction of Methylmercury by 0.02% Dithizone-Benzene from 0.01% Na_2S -50% EtOH Extract

回収率が得られたことから、逆抽出時に Walpole の緩衝液 (pH 2.64) を加えて pH を調整することとした。

(2) Na_2S 濃度 逆抽出時の最適 Na_2S 濃度を検討するため、底質 20 g に塩化メチル水銀標準水溶液を添加し、0.001—0.5% の範囲の Na_2S 溶液を用いて逆抽出効率を求めた。 Na_2S は水溶液の場合は、濃度を変化させても回収率は最高でも 80% 以上高くはならなかったが、エタノールを 1:1 の割合で混合して抽出したところ、抽出効率が高まることが認められた。 Na_2S を 50% エタノール溶液とした場合の抽出効率は Fig. 7 のようで、 Na_2S 濃度は 0.005—0.2% の範囲で良好な結果が得られほぼ完全に抽出できることがわかった。しかし、 Na_2S 濃度を必要以上に高くすると、感度の低下、分離の悪化など S の影響と思われる妨害が生ずること、また、過剰な Na_2S の使用は有害な H_2S を多量に発生させる結果になることから、 Na_2S 濃度は 0.01% の低濃度に設定した。

(3) Na_2S 溶液による クリーンアップ条件の設定

次に Na_2S 溶液の最適用量を検討するため、0.01% Na_2S -50% エタノール溶液をベンゼン層 15 ml に対してそれぞれ 5, 10, 15 及び 20 ml を加えて抽出した。その結果、10 ml 以上で良好な抽出効率を示したので、 Na_2S 溶液の量は 10 ml に設定した。抽出回数は 1 回で十分であった。振とう時間については 10 秒間から 10 分間まで検討したが、いずれもほぼ同じ抽出効率を示した。ここでは便宜上、振とう時間は 30 秒間に設定した。

4. 試料溶液の安定性

金属キレートは一般に光に対して不安定であることはよく知られている。メチル水銀ジチゾネートについても、室内に放置した場合、約 2 時間で吸光度の低下がみられたとの報告¹⁴⁾がある。本法によって得られた試料溶液を冷暗所 (冷蔵庫) に保存した場合と、室内に放置した場合とを一定期間ごとに分析し、その安定性を比較し

Fig. 7. Effect of the Concentration of Na_2S -50% EtOH on Back Extraction of Methylmercury from Dithizone-Benzene Extract

Fig. 8. Stability of Methylmercuric Dithizonate during Storage

た。Fig. 8 に示すように、冷暗所に保存した試料溶液は比較的安定であり、20 日間で 2.7% の低下がみられたに過ぎなかった。これに対し室内に放置した場合は、わずか 2 時間後でも濃度の低下が認められ、24 時間後には約 10% 減少した。以上のことから、試料溶液は調製後できるだけ早い時期に分析し、長時間保存する必要のある場合は、冷暗所に保存することとした。

5. 添加回収実験

底質 (試料 No. 4) 20 g に塩化メチル水銀標準水溶液を 0.25 μg 添加し、試料溶液の調製方法に従って回収実験を行った。同様に従来法の塩酸性ベンゼン抽出法によって回収実験を行い比較した。その結果を Table II に示した。本法による回収率は 93.2—98.8%、変動係数は 2.83% であったのに対し、従来法では 50.0—55.3% の回収率であり、従来法に比べて極めて良好な成績であった。本法による定量限界は湿泥中濃度としておおむね 0.5 ppb であった。

TABLE II. Recoveries of Methylmercury Added to Sediment

Method	Added (μg)	Found (μg)	Recovery (%)	Mean (%)	S.D. (%)	C.V. (%)
The present method	0.25	0.233	93.2	95.7	2.70	2.83
		0.246	98.4			
		0.247	98.8			
		0.236	94.4			
		0.234	93.6			
Benzene extraction method	0.25	0.125	50.0	52.4	2.17	4.14
		0.128	51.2			
		0.135	54.0			
		0.138	55.3			
		0.129	51.6			

Sediment sample : 20 g wet weight.

TABLE III. Comparison of Results Obtained by the Present Method and the Conventional Benzene Extraction Method for the Determination of Methylmercury in Sediment Samples

Sample No.	1		2		3		4	
Method	A	B	A	B	A	B	A	B
Me-Hg (ppb)	1.72	N.D.	18.1	12.5	2.87	1.09	1.68	N.D.
	1.52	N.D.	17.5	11.4	2.79	0.97	1.82	N.D.
	1.57	N.D.	17.4	13.1	2.80	1.05	1.72	N.D.
	1.72	N.D.	16.5	12.7	3.03	1.09	1.61	N.D.
	1.48	N.D.	16.9	11.0	2.83	1.04	1.65	N.D.
Mean (ppb)	1.60	N.D.	17.3	12.1	2.86	1.05	1.70	N.D.
S.D. (ppb)	0.112		0.610	0.896	0.098	0.049	0.080	
C.V. (%)	7.02		3.53	7.41	3.42	4.69	4.72	

Me-Hg : methylmercury, dry base.

A : the present method.

B : benzene extraction method.

Methylmercury in these sediment samples was formed by addition of HgCl_2 and standing for 4 weeks.

6. 試料の分析結果

実験方法の項で述べた4種類の底質（無機水銀を添加し、メチル水銀を生成させた試料）を本法と塩酸酸性ベンゼン抽出法との両方で分析し比較した。分析結果及びガスクロマトグラムをそれぞれ Table III 及び Fig. 9 に示した。従来のベンゼン抽出法ではメチル水銀のピークの前に大きな妨害ピークが現れたのに対し、本法ではほとんど妨害のないガスクロマトグラムが得られた。Table III に示すように、試料 No. 2 は他の試料に比べてメチル水銀生成率が高く、本法により 17.3 ppb のメチル水銀が検出された。これに対しベンゼン抽出法ではやや低い 12.1 ppb であった。試料 No. 3 は本法の 2.86 ppb に対し、ベンゼン抽出法では 1.05 ppb を示し、試料 No. 1 と試料 No. 4 のメチル水銀濃度は本法における定量限界付近であり、ベンゼン抽出法での検出は不可

能であった。このように、本法はベンゼン抽出法に比べて抽出効率が高いばかりでなく、ガスクロマトグラム上にも妨害のないピークが得られ、精度よく定量できることを認めた。

7. その他の環境試料分析への応用

本法による他の環境試料分析への応用として、魚肉と河川水について分析を試みた。

(1) 魚肉試料として市販のまぐろ切身を選び、以下の方法に従ってメチル水銀を分析した。すなわち、ホモジナイズした試料 3 g に 1 N KOH-エタノール溶液 15 ml を加え、還流冷却器をつけて約 1 時間加熱溶解したのち、3 N HCl 10 ml 及び 0.05% ジチゾン-ベンゼン溶液 10 ml を加えて 5 分間振とう抽出した。2000 rpm で 10 分間遠心分離して得たベンゼン層をフロリジルカラム（フロリジル PR 2 g に無水硫酸ナトリウム 1 g を積層）に通

Fig. 9. Gas Chromatograms of Methylmercury Extracted from Sediment by the Present Method and Benzene Extraction Method

Methylmercury in the sediment sample was formed by addition of HgCl_2 and allowing to stand for 4 weeks.

し、溶出したベンゼン層を 0.1 N NaOH 溶液 20—30 ml で水層に色がつかなくなるまで洗浄後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し試料溶液とした。メチル水銀の分析条件は底質の場合と同様である。この結果、ここで使用した魚肉中のメチル水銀濃度は底質に比べてはるかに高く、 Na_2S によるクリーンアップ操作を省いても、分析上妨害するピークはほとんど認められなかった。本法による定量限界は魚肉中濃度としておおむね 0.01 ppm であった。また、まぐろ切身についての本法での分析結果と衛生試験法の直接法¹⁵⁾ (塩酸性ベンゼン抽出法) を用いて平行に分析した結果を対比させて Table IV に示した。本法によるメチル水銀濃度は平均 0.323 ppm であり、直接法の平均 0.213 ppm に比べて約 1.5 倍高い値が得られた。これは直接法ではエマルジョンの形成が避けられなかったのに対し、本法ではアルカリ分解によって全くエマルジョンの形成が認められなかったことと、更にジチゾンを用いて抽出するため、ベンゼン抽出法に比べて 1 回抽出であっても、抽出効率が高まったためと考えられる。

(2) 盛岡市内の河川より採取した河川水を用い、検水 1 l に 3 N HCl 20 ml を加えて弱酸性とし、0.05% ジチゾン-ベンゼン溶液 50 ml を加えて 3 分間振とうした。抽出後ベンゼン層を 0.1 N NaOH 溶液で水層に色がつかなくなるまで洗浄したのち、0.01% Na_2S -50% エタノール溶液 20 ml を加え、30 秒間振とうした。以下底質の場合と同様の操作を行った。多量の検水を用いた場合

TABLE IV. Comparison of the Results Obtained by the Present Method and Benzene Extraction Method for the Determination of Methylmercury in Fish

Method	A	B
Me-Hg (ppm)	0.312	0.208
	0.320	0.209
	0.333	0.213
	0.322	0.219
	0.329	0.214
Mean (ppm)	0.323	0.213
S.D. (ppm)	0.00817	0.00439
C.V. (%)	2.53	2.06

A : the present method.

B : benzene extraction method.

TABLE V. Recoveries of Methylmercury Added to Natural Water

Added (μg)	Found (μg)	Recovery (%)	Mean (%)	S.D. (%)	C.V. (%)
0.10	0.0923	92.3	91.4	0.62	0.68
	0.0908	90.8			
	0.0912	91.2			
	0.0917	91.7			
	0.0909	90.9			

Natural water : 1 l

は、検水に対して 1/20 量のジチゾン-ベンゼン溶液で抽出したのち、ベンゼン層をロータリーエバポレーターで約 50 ml に濃縮し、以下前述と同様の操作を行った。河川水 1 l に塩化メチル水銀標準水溶液を 0.1 μg 添加し、上述の分析方法に従って回収実験を行い、結果を Table V に示した。添加したメチル水銀の回収率は平均 91.4% であり、変動幅も小さかった。本法による定量限界は検水が 1 l の場合、おおむね 5 ppt であった。なお、盛岡市内の中津川河川水 (T-Hg : 0.1 ppb 未満) について分析したが、検水 5 l を用いてもメチル水銀は検出されなかった。

ま と め

1. 環境試料、特に底質中のメチル水銀を精度よく定量する方法として、Tatton ら⁸⁾ のジチゾン抽出-GLC 法を底質に応用し、試料を 1 N KOH-エタノール溶液で処理後、弱酸性下でジチゾン-ベンゼン溶液を用いて抽出し、得られたメチル水銀ジチゾネートを GLC で定量する方法を検討した。

2. メチル水銀ジチゾネートは過剰のジチゾンを除いたのち、GLC に注入すると直ちに熱分解し、カラム中

の塩素イオンと反応して、塩化メチル水銀の形でピークが現われることを GC-MS 分析によって確認した。

3. 底質中のメチル水銀はジチゾン-ベンゼン抽出後、 Na_2S -50% エタノール溶液によって水層に効率よく逆抽出でき、また、この抽出液中の過剰の S^{2-} は微酸性下での通気により H_2S として除去され、メチル水銀は再びジチゾン-ベンゼン溶液で抽出できることが認められた。このクリーンアップ法により、妨害なくメチル水銀を定量することができた。

4. 添加回収試験において従来の塩酸酸性ベンゼン抽出法での回収率は平均52.4%であったのに対し、本法では平均95.7%の高い回収率が得られた。本法による定量限界は湿泥中濃度としておおむね 0.5 ppb であった。

5. 有機物含量の異なる底質に無機水銀を添加し、自然状態でメチル水銀を生成させた試料を本法と塩酸酸性ベンゼン抽出法とで分析した結果、本法ではベンゼン抽

出法に比べて1.4—2.7倍高い値が得られ、抽出効率が極めて高いことがわかった。また、本法により得られたガスクロマトグラム上には何ら妨害ピークは認められなかった。

6. 本法によって魚肉及び河川水の分析を試みたところ、これらに含まれるメチル水銀の分析にも十分応用できることが認められた。

謝辞 本研究にあたり、実験に協力していただいた岐阜県衛生研究所 坂井至通技師並びに GC-MS 分析に御便宜を計っていただいた(財)競走馬理化学研究所 亀井克利機器分析課長、村田政康主任の各氏に深く感謝の意を表します。また御助言御鞭撻をいただいた岩手県衛生研究所長 菅原恒有博士、高橋正直環境衛生部長をはじめ所員の皆様に感謝いたします。

引用文献及び注

- 1) 日本薬学会第101年々会において一部発表，熊本，1981年4月。
- 2) 現住所：国立水俣病研究センター（水俣市浜字下外平4058-18）。
- 3) 環境庁水質保全局，“底質調査方法”，1975。
- 4) 田中克彦，深谷勝久，福井昭三，菅野三郎，衛生化学，**20**，349（1974）。
- 5) 前川 勉，田川専照，田中博義，高原悦子，塩谷勝夫，北川貞治，福井県公害センター年報，**2**，98（1972）。
- 6) 三谷一憲，衛生化学，**22**，65（1976）。
- 7) H. Nagase, Y. Ose, T. Sato, T. Ishikawa, K. Mitani, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **7**, 285（1980）。
- 8) J.O'G. Tatton, P.J. Wagstaffe, *J. Chromatogr.*, **44**, 284（1969）。
- 9) 西 末雄，堀本能之，分析化学，**17**，75（1968）。
- 10) 西 末雄，堀本能之，分析化学，**24**，178（1975）。
- 11) 赤木洋勝，高島英伍，D.R. Miller，第14回日本水質汚濁研究会講演集，東京，1980年2月，p. 121。
- 12) 無機応用比色分析編集委員会編，“無機応用比色分析 3 Hg—Na”，初版，共立出版，東京，1974，p. 2。
- 13) A.N. Nesmeyanov, K.A. Kocheshkov, “Methods of Elements-Organic Chemistry,” Vol. 4, 1967, p. 349。
- 14) 古野潤治，菅原憲典，内藤芳一，山口産業医学年報，**20**，99（1975）。
- 15) 日本薬学会編，“衛生試験法・注解”，1980年版，金原出版，東京，1980，p. 447。