総水銀の微量定量法ならびにメチル水銀化合物の 生体内の動態に関する研究

第1編 総水銀の微量定量法について

Studies on Microdetermination of Total Mercury and the Dynamic Aspects of Methyl Mercury Compound in Vivo Part. I The Microdetermination of Total Mercury

神戸大学医学部公衆衛生学教室（指導 喜田村正次教授）

田 口 良 雄

Yoshio Taguchi

Department of Public Health, School of Medicine, Kobe University, Kobe

Along with development of mechanical analysis, various methods have being applied for determination of total mercury. The method generally used however is colorimetry by dithizone extraction. Reproduction and accuracy were poor owing to low sensitivity, and this method requires great quantities of samples and reagents. As for dithizone extraction, interferences from other metals and the instability of color have resulted in measurement errors.

The purpose of the present paper is to establish a simplified method of total mercury determination with high sensitivity and good reproduction.

Determination was performed in the following procedures,

- 1) Treat solid samples by combustion method, and use digestion at room temperature or reduction method when the samples are liquid.
- 2) Collect mercury in 0.2% KMnO_4 -1N $\cdot$ H_2SO_4 solution using midget impinger.
- 3) Transfer this solution to separating funnel with 1ml of 40% $\text{NH}_4\text{OH} \cdot \text{HCl}$ and extract by 0.002% dithizone chloroform.
- 4) Take a part of dithizone chloroform layer to combustion boat, and vaporize mercury in quartz tube at 700°C.
- 5) Determine generated mercury vapor by ultraviolet atomic absorption using spectrophotometer.
- 6) Recovery rate was 99.3%, detectable range was $0.0003\mu\text{g}$ to $0.2\mu\text{g}$ and a linear relation was observed in this range.

I. 緒 言

厚生省公害課は、昭和43年8月に「水銀の暫定対策要領」¹⁾を作成し、環境の汚染を最小限にいとめるための基準を示した。しかし有機水銀化合物の示す殺菌効果は、依然として防腐剤としての利用価値を失っており、人血漿剤などの医薬品、更に種イモなどの種子消毒に使用されており、人畜への障害をもたらしている現実を鑑み、一方では、人為的な環境汚染の問題も含めて絶えず

社会の広い分野にわたっての監視が必須の事象となってきた。

また、一般的濃度レベルにおける生体内の水銀の代謝に関する研究は、それを散見することは出来てもなお充とはいいがたく、さらに汚染源が全くないと想定されている河川の魚群から有機水銀が検出され、この有機水銀の由来の追求は、いわゆる自然界における無機水銀の有機化への機序の存在も推察されてはいるが、なお、解明つくされていない。

このように、公害問題としての水銀汚染問題の追求や、疫学的、中毒学的研究が一段と高まるにつれ、諸物質中の総水銀量の正確、かつ迅速な微量定量法確立の必要性はますます増大している。

有機水銀の定量法は、当教室の住野²⁾によって開発され、確認限界 $1 \times 10^{-6} \mu\text{g}$ (メチル水銀)、 $1 \times 10^{-5} \mu\text{g}$ (フェニル水銀) という超高感度の検出のみならず、各有機水銀化合物の構造をも同定することが可能になった。

総水銀の定量術式も従来のものが、いろいろに改良され、また放射化分析³⁾、原子吸光法⁴⁾などが試みられている。

しかし、放射化分析法は、種々の利点もあるが、原子炉のごとく特殊な装置を必要とするため、一般的ではない。また原子吸光法は術式の理論から簡便性を備えるものと考えられ勝ちであるが、水銀の物理化学的性状からすれば制約があり、そのために定量分析の感度を 0.5ppm 以上に上げることは困難である。

現在、一般的に用いられている総水銀の分析法は、公定法、JIS 法⁵⁾のごとく、ジチゾン抽出による比色定量である。しかしこの方法の欠点は、感度が低いため試料試薬を大量に使用せねばならず繁雑である。また、ジチゾン抽出による妨害金属排除の不充分さ、更に酸化によるジチゾンの色調の変化などで、しばしば、測定誤差を生じているなどである。これらの欠点をなくすために山口ら^{6),7)}は、Mercury Vapor Meter を用いて紫外部原子吸光による総水銀の定量法を考案した。しかし前処理として灰化操作は、硫酸、過マンガン酸カリを使用する湿式灰化であり、繁雑さ、時間の損失などは、まぬがれていない。

ここに分析の感度を失うことなく、否更に高感度のものとして、しかも時代の要請から諸操作が簡便化されることが期待されるので、今日多くの研究室に常備されていると考えられる分光光度計を主体として、高感度簡易水銀定量分析装置とその方針とを開発し、誇るべき成果を得たので報告する。

Fig. 1. Schematic diagram of apparatus for combustion method.

Fig. 2. Schematic apparatus for digestion of liquid sample.

II. 装置および試薬

1. 装置

1) 固形試料の燃焼装置 (Fig. 1)

乾燥試料を磁製ボートに入れ、バーナーで灼熱してある石英管内に挿入し、酸素を流しつつ試料を燃焼させ、水銀蒸気を吸接管で捕集させる装置である。

① 石英管：大型 (内径 2.5cm × 長さ 40cm)、小型 (内径 1.5cm × 長さ 30cm)。

② 磁製ボート：大型 (内径長さ 9cm × 幅 1cm × 高さ 1cm、容量 5mL)；湿重量 4g 以上の試料の燃焼に大型石英管と共に使用。

小型 (内径長さ 6cm × 幅 0.8cm × 高さ 0.6cm、容量 1.5mL)；湿重量 4g 以下の試料灰化のとき小型石英管と共に使用する。

③ 小型吸接管 (容量 30mL)、ガラス管。

④ 酸素ポンプ、調節コック、流量計、その他。

2) 液体試料処理装置 (Fig. 2)

吸引ポンプで通気して、還元により水銀蒸気を発生させ、吸接管に捕集させる装置である。試薬の添加は長足

- 1.combustion boat 2.quartz tube 3.furnace 4.silicone rubber
5.cock 6.cotton tube 7.self recorder 8.long absorption cell
9.mercury lamp 10.spectrophotometer 11.stabilizer
12.apparatus for electric source 13.constant current power supply 14.flow regulating screw 15.vacuum pump 16.vinyl tube

Fig. 3-1. Schematic diagram of apparatus for the determination of total mercury by ultraviolet atomic absorption method.

- 1.combustion boat 2.quartz tube 3.furnace 4.silicone rubber
5.cock 6.cotton tube 7.self recorder 8.long absorption cell
9.blank cell 10.spectrophotometer 11.mercury lamp
12.apparatus for electric source 13.flow regulating screw
14.vacuum pump 15.vinyl tube

Fig. 3-2. Schematic diagram of apparatus for the determination of total mercury by ultraviolet absorption method.

ロートで行なう。

3) 試料の測定装置 (Fig. 3-1, 3-2)

(1) 加熱炉

水銀抽出ジチゾンクロホルム液を入れて風乾させた小型磁製ボートを強熱し、水銀蒸気を生じさせる装置。炉、石英管、二方コック吸湿管などからなる。

(2) 測定流路

分光光度計 (島津製 QV-50 または UV-200)

① 吸光用セルの位置に、長さ 10cm×直径 3cm の石英製有窓のガスセルを設置。

② QV-50 型では、光源は、Westinghouse 製原子吸光用ランプを使用し、さらに光源用として定電圧、定電流

装置 (本実験では、三田村製 D.C.V-A を使用した) を付属する。UV-200 型では、光源は普通の水銀ランプ (例えば波長校正用) でよい。

③ 自記タ録計 (島津製ユニコーダ U-100M) は、分光光度計の記録計用端子から接続される。

④ 気化した水銀蒸気は、吸引ポンプによって、除湿用に設けられた脱脂綿管を流れて、分光器中のガスセル中を通して外に出る。

2. 試薬の調製

(1) 試料の燃焼および測定用の試薬

- ① 硫酸：精密分析用 “Super Special Grade”
- ② 0.2% 過マンガン酸カリ-1.0N 硫酸溶液

- ③ 2%過マンガン酸カリ溶液（湿式灰化用）
- ④ 40%塩酸ヒドロキシルアミン液（W/V%）ジチゾンクロロホルム液で洗浄して精製。
- ⑤ 0.002%ジチゾンクロロホルム溶液
- ⑥ 0.1% BAL クロロホルム溶液（2,3-ジメルカプトプロパノール溶液）
- ⑦ 水銀標準液：塩化第2水銀 135.4mg を精秤し、少量のエタノールに溶解した後、ジチゾンクロロホルムで100mlにする（1,000ppm）。検量線作成に用時、ジチゾンクロロホルムで希釈して使用する。
- ⑧ クロロホルム 市販特級品
- (2) 液体試料を処理する試薬
- ① 1%L-システイン-1N 硝酸溶液
- ② 塩化第1スズ 市販特級品を粉末にして使用
- ③ 30%苛性ソーダ（W/V%）
- ④ 水は、脱イオン後、蒸留したものを使用

III. 定 量 操 作

1. 試料の灰化処理

1) 固形試料

(1) 魚肉、野菜、頭髮、臓器、血液、泥土などの試料 0.1~10g（水銀含有量として 0.01~1.0 μ g）を時計皿に精秤し、汚染をさけて室温で乾燥する。

(2) 乾燥した試料を磁製ボートに入れ、次に0.2%過マンガン酸カリ-1N硫酸を捕集液として、20ml ずつ2本の小型吸引管に入れて燃焼管に接続する（Fig. 1参照）。

(3) 酸素流量 600ml/min 設定し、石英管の中央部をブンゼンバーナの酸化炎で加熱。

(4) 燃焼法の実際操作、石英管の中央より約 3cm 入口側に試料の入った磁製ボートを置く。暫くして試料の上層部より徐々に燃え始める。ほぼ完全に炎上後、ボートを押し出し棒にて炎の中央に持ってゆき残りを完全に燃焼させる。

(5) 試料によって、煤の出るものがあるが、煤の多いときは、石英管の出口側の部分も加熱する。

(6) 燃焼時間は、試料の種類と量によって異なるが、約6分間で磁製ボート中の炭化粉末がなくなるまで加熱を続ける。煤の出た場合は、燃焼管と接続管を変えて次の灰化を行なう。

2) 液体試料

(1) 河川水、工場排水で肉眼的に無色透明な試料は、室温で以下の灰化処理をする。

① 排水は、あらかじめ液性を調べ、アンモニアもしくは硫酸で中和する。

② 排水 50~100ml, 河川水 200~300ml を分液ロートにとり、濃硫酸で1規定に調整する。

③ 調整後、2%過マンガン酸カリ 1ml を加え、30分間放置する。

④ 分液ロート中の試料が褐色しないことを確かめ、（褐色したとき、さらに過マンガン酸カリを追加する）、精製40%塩酸ヒドロキシルアミンで還元して褐色させ抽出する。

(2) 尿や混濁している工場排水は、硫硝酸を用いて湿式灰化もしくは、還元法で処理する。

(3) 還元法による処理（Fig. 2 参照）

① 試料 50~100ml を三角コルベンにとる。

② 1%システイン-1N硝酸溶液 1ml ついで塩化第1スズ 200~400mg を再蒸留水適量と共に容器内に流しこむ。

③ 容器内全体に気泡が立つように空気流量を調節して通気し、時々容器をふって攪拌する。

④ 30%苛性ソーダ 5~10ml を入れ、10分間そのまま通気する。

⑤ 発生した水銀蒸気を、0.2%過マンガン酸カリ-1N硫酸溶液 40ml を2本の吸引管に分けた捕集液に吸収させる。

⑥ 尿のような有機質に富む試料に通気を行なう場合ときに泡が容器全体に発生するので、リン酸トリブチルを数滴加え消泡を計る。

2. 抽出および測定操作

1) 検液の抽出

(1) 水銀を捕集した吸引液を分液ロートに移し、40%塩酸ヒドロキシルアミン 1ml で過マンガン酸カリを褐色させる。

(2) 0.002%ジチゾンクロロホルム液を 5ml か 10ml 加え、5分間振盪する。

(3) 振盪後、約10分間静置し、分液ロートの足に脱脂綿をつめ水分と煤を除去し、クロロホルム層を試験管にとる。

(4) 小型磁製ボートに 0.1% BAL 液 0.1ml, 抽出液 0.1~1ml（1ml 以上の場合は、順次追加する）とり、室温でクロロホルムを揮散させる。

2) 測定操作

(1) 分光光度計の準備

分光光度計は、水銀ホローカソードランプと長吸引管が設定でき、記録計用端子の付属しているものなら使用できる。島津製 QV-50 型では、SLIT 幅、供給電圧が感度に影響し（後述）これらを測定せんとする感度に調

整せねばならない。また島津製 UV-200 では、100%ラインが自動調整で、波長の設定だけでよい。要するに水銀ランプ点灯後、波長 $2,536.5\text{\AA}$ にしシャッターを開けて、100%ラインをとればよい。

記録計は、マルチ・レンジ式が便利で、感度の変更は Range の切り換えでできる。また、原子分光光度計がある場合、バーナー部分にガスセルを設置するだけで同様に使用することが可能である。

(2) 測定の約15分前に、分光光度計をセットし加熱炉の石英管の中央部をブンゼンバーナーの酸化炎で強熱する。同時に測定流路の空気流速を 700ml/min にセットする。

(3) コック (Fig. 3 の5) を閉めて、磁製ボートを石英管中に挿入し、25秒間強熱して完全に水銀を蒸気化してからコックを開く。

(4) レコーディングされたピークの高さ (% absorption) を absorbance に換算し、水銀標準液のそれと比較して定量する。UV-200 型では、absorbance で記録される。

IV. 定量操作の検討

1. 測定装置および流路

1) 感度

感度をあげる因子として、光源での電流、供給電圧、分光器本体の SLIT 幅、増幅器の Range などがある。

光源は、 $2,536.5\text{\AA}$ の波長が選択的に得られ、安定性のよいものが要求される。波長較正用水銀ランプは、放電タ流が大きいこと、共鳴線が自己吸収されること⁸⁾により、原子分光用ランプ(ホローカソード)に比較して、感度は低下する。また、光源への電流は、指示電流値より低めで充分である。

光電子増倍管への供給電圧を高くしすぎると感度は上る反面、ノイズが大きくなる。

分光器本体(島津製 QV-50)で、SLIT 幅を全開に近づける程、感度は上る。

2) 測定流路への空気流速

$500\sim 2,000\text{ml/min}$ でピークの高さに大きな変動はない。流速を上げるにしたがって、記録計のペンは、すばやく最高のピークに達するが、再現性が悪くなるので、 $600\sim 700\text{ml/min}$ とし、測定時間中は、変動させずおくことが必要である。

3) ピークの再現性と流路コックの開く時間

流路のコックを開いたまま測定すると、加熱のわずかな相違によって、水銀の蒸気化時間が異なり、ピーク

の再現性が非常に悪い。それ故、完全に水銀を蒸気化してから、コックを開くと再現性は良くなる。

コックを開くまでの時間と再現性の関係を Fig. 4 に示したが、磁製ボート挿入後、20~30秒間の加熱で一定である。

Fig. 4. Interrelationship of the time for vaporization of mercury to re-appearance of peak height.

4) 加熱温度

石英管中の温度は、強熱酸化炎で、 $700\sim 800^{\circ}\text{C}$ となり温度が下るとピークは低くなり再現性は悪くなる。

2. 試料の灰化処理

[A] 燃焼法

1) 試料の乾燥および試料量

試料はできるだけ細切して乾燥させる。乾燥は、室温もしくは、乾燥器 (70°C 以下) で行なう。乾燥による水銀の揮散は、水草を試料として、0.1% BAL 液添加、不添加の2つを、乾燥処理開始より7日間にわたり、それぞれ水銀量を測定したが、日数の経過、BAL 液の添加、不添加で分析値に有意差はなかった。

試料量による分析値の差はなく (Table. 1), また含有水銀量が超微量のときは、試料量を 5g 以上にして燃焼させる。

2) 捕集液濃度、量および酸素流量

(1) 水銀の捕集力は、捕集液量一定 (40ml を2本の吸収管に分ける)、酸素流量一定 (600ml/min) のとき過マンガン酸カリ濃度に影響される。過マンガン酸カリ 1N 硫酸溶液で、濃度 0.01% で 80%, 0.02% で 90~95%, 0.05% で完全に水銀は捕集される。

(2) 捕集液濃度を一定にして、液量、酸素流量を種々に変化させ、捕集効率を検討した結果が Table. 2 である。

吸収管を測定流路にセットして $5\mu\text{g}$ 相当の水銀蒸気を、2本の吸収管に捕集される状態を実験したもので、(-)は、レコーダーに水銀がピークとして表示されない、すなわち水銀が完全に捕集されていることを意味する。

酸素流量を高くしてゆくと、1本の吸収管では不充分

Table 1. Analytical values for difference of sample weight burned.
(same sample of wet fish)

weight burned at one time (g)	frequen- cy of burning	total sample weight (g)	found	
			mean (ppm)	± S.D.
0.5	1	0.5	0.048	0.010
0.5	1	0.5	0.063*	0.006
1.0	1	1.0	0.057	0.003
1.0	2	2.0	0.059	0.001
1.0	3	3.0	0.060	0.001
2.0	1	2.0	0.061	0.003
3.0	1	3.0	0.062	0.002
3.0	3	9.0	0.059	0.003
4.0	1	4.0	0.059	0.002
5.0	1	5.0	0.060	0.002
10.0	1	10.0	0.059	0.004

1) Extraction volume of 0.002%-dithizone chloro-
form : 5ml.

2) Measurement volume is 1ml and *MARK 4ml.

Table 2. Corelation between O₂-flow rate and
amounts of absorbent solution.

O ₂ -flow (ml/min)	0.1% KMnO ₄ in 1N-H ₂ SO ₄							
	1st impinger				2nd impinger			
	5ml	10	15	20	5ml	10	15	20
500	+	±	—					
600	++	±	—					
700			+	±	—			
800			±	±	—			
900					±	—		
1,000						±	—	
1,100						±	—	
1,200							+	—

++ : 10%-loss + : 5%-loss

± : 1%-loss — : no loss

で、2本目にも5%程度、捕集される。

(3) 捕集液の確実性

同一の捕集液に、試料を2～3回燃焼させて捕集した水銀の分析値に差はない (Table. 1 参照)。また試料 10g (魚肉の湿重量) を燃焼させると 0.1% 過マンガン酸カリ溶液で、I-捕集液がほとんど褪色、II-捕集液が、やや褪色し、0.2% 濃度では、I-捕集液がやや褪色した。しかし両者の濃度で、捕集した水銀の分析値に差はない。

水銀の捕集は、有機物と無機物試料とで、吸収管の1本目と2本目の捕集率が異なり、有機物 (魚肉) で、

1本目95%以上、無機物 (砂) で、99%以上であった (Table. 3)。

Table 3. Absorption ability of the first
and the second impinger.

	sample weight (g)	found (μg)		total Hg	
		first	second	(μg)	ppm
organic materials (dried fish)	0.05	0.148	0.027	0.175	3.5
	0.05	0.163	0.016	0.179	3.6
	0.10	0.336	0.012	0.348	3.5
	0.10	0.334	0.013	0.347	3.5
	0.15	0.508	0.020	0.528	3.5
	0.15	0.501	0.018	0.512	3.5
	0.20	0.698	0.025	0.723	3.6
	0.20	0.610	0.041	0.651	3.3
	0.20	0.610	0.041	0.651	3.3
inorganic materials (dried mud)	1.0	0.369	0.004	0.373	0.37
	1.0	0.367	0.003	0.370	0.37
	1.0	0.364	0	0.364	0.36
	1.0	0.371	0	0.371	0.37
	1.0	0.370	0	0.370	0.37
	1.0	0.370	0	0.370	0.37

(4) 以上の結果から、水銀の捕集には、酸素流量 600～700ml/min, 0.2% 過マンガン酸カリ-1N 硫酸溶液 40 ml を、2本の吸収管に等量に分けて行なえばよい。また捕集液は、硝酸溶液、沃度溶液を用いるよりも、本実験の捕集液のほうが、捕集力が強く、また後の抽出にも好都合である。

(5) この燃焼法による水銀の捕集の良否は、試料をいかに燃焼させるかという技術にかかっている。磁製ボートを炎から遠ざけて徐々に燃やすことが肝要で、磁製ボートを炎の中央に置いて、直ちに燃焼させると水銀の回収率は、60～80%に低下する。煤の発生は、試料によっては避けられないが、当該試料の回収率には影響なくあとの試料の回収率に影響することがあるので、別の石英管、接続管と交換しなければならない。

【B】還元法

1) 還元法は、L. Magos 並びに A. A. Cernik ら⁹⁾によって試みられた試料中直接水銀定量法の変法である。Table. 4 は液体処理についての各種の方法について検討したものである。

工場排水は、その性質から無色透明であっても、河川水のごとく硫酸で1規定で調整後、直ちに、ジチゾンクロロホルムで抽出すると E. F.のごとく水銀が捕集されない場合がある。それ故、過マンガン酸カリを加えて、室温で灰化後、抽出するほうが良い。酸化法、還元法の

Table 4. Comparison of various digestion of waste discharge.

sample volume (100ml)	direct extraction (ppm)	decomposition by oxidation method		decomposition by reduction method (ppm)
		room temp. (ppm)	heating (ppm)	
A	1.62	—	1.54	1.68
B	0.019	—	0.019	0.020
C	0.028	—	0.027	0.030
D	0.95	—	0.01	1.19
E	0.0002	0.013	0.0092	0.010
F	<0.0001	0.0010	0.0010	0.0008
G	0.0008	—	0.0008	0.0009

1) oxidation method : KMnO_4 treatment2) reduction method : SnCl_2 -alkali treatment

分析値に差は認められなかった。

2) 還元法は、金属水銀化した水銀蒸気を捕集するため回収実験を試みると、無機水銀では100%、フェニル水銀では40~50%の回収率を得ることができるが、メチル水銀では、ほとんど回収することが出来なかった。

3) 還元法の必要性：環境汚染と人体との関連は、その類推に当たって尿を分析の対象とすることが多く、また常道とされている。

しかしながら尿は、特に灰化処理の過程でその尿中の有機質の濃淡といった諸条件から処理時間の長短、添加過マンガン酸カリ消費量の増減に伴う爽雑物汚染が加わり、そのために対照補正が繁雑となる傾向が強い。時には、長い時間の処理のために回収率が悪くなる欠点も藏している。

これに反して、本還元法を用いると、95%以上の恒常性ある回収率を得ることが出来、しかも前述のごとく操作が簡単で、定量分析の諸過程にわたって所要時間を極度に短縮することが出来る。

3. 抽出および測定

1) ジチゾン濃度による抽出力

同一液性の条件の下では、ジチゾンクロロホルム溶液による水銀の抽出力は、0.0005%、0.001%及び0.005%濃度でいずれも差異は認められなかった。しかし0.0005%は濃度では、これを燃焼法に供するための検液の抽出に採用するには、時に何等かの要因で分解され不安定なものであることが経験された。また0.005%濃度では、安定ではあるが、これを用いると測定流路のフローシステム中に除湿のために設けられた脱脂綿の汚れがはげしく取り替えの頻度が増すこと、またジチゾンを用いての分析で通常利用される肉眼による検液中の水銀量の目安を

つける色調変化が、この分析法に対応する水銀濃度では認め難いことなどから、諸種検討を加えた結果、0.002%濃度のジチゾンクロロホルム溶液で抽出するのがもっとも適切であることが判った。

2) ジチゾンの変色および抽出回数

ジチゾンは、多くの金属と錯塩を作りまた容易に酸化されて変色するが、紫外部原子吸収法では、抽出後のジチゾンの変色による測定誤差はない。しかし抽出過程の振盪中に酸化されて黄変すれば、抽出力は、極度に低下しているので再抽出が必要となる。

また検体中の水銀が比較的多量(15 μg 以上)に存在するときは、ジチゾンは橙色を呈するが、この状態では、抽出が不完全であるから、更にジチゾン溶液を追加し、少なくともジチゾンの緑色が残る程度まで抽出操作を繰り返さなければならない。

検液の液性が、1~2規定硫酸酸性で、変色がなければ、1回抽出で100%水銀は抽出される。

3) 妨害物質の検討

(1) 試薬

① 過マンガン酸カリ、クロロホルムは製品、ロット番号により測定の妨害となるピークを高く出すものがあるから使用前に検定を行なう必要がある。

② 塩酸ヒドロキシルアミンは、ジチゾンクロロホルムで、必ず精製する。ジチゾンは、精製する必要はなく市販特級品をそのまま使用する。

③ BAL, その他の試薬も、本実験における使用量では、妨害物質とはならない。

(2) 共存金属の影響

Fe, Cd, Cu, Pb, Zn, Moなどの金属を、それぞれ水銀量の100~1,000倍添加し、水銀と同様の抽出操作後、測定した結果これらの金属の妨害作用は認められなかった。

(3) 硫化物

工場排水中には硫化物が多量に存在する場合が多い。還元法では、水銀量の1万倍、湿式灰化処理では、含有量が数%におよんでも水銀の定量に影響はない。

(4) 沃化物

過マンガン酸カリ捕集液に酸化力のある沃度が入った場合、ジチゾンによる水銀の抽出は著しく妨害される。例えば、0.5 μg の水銀に10 μg の沃度の添加は50%の回収率、50 μg 添加で30%、100 μg の沃度添加で25%と回収率は低下していった。更に多量の沃度が介在するとクロロホルム中に移行して、フローシートを汚染して分析感度の低下を招来する。このような事実は、河川、海底などのヘドロの分析にあたって燃焼灰化後の分析でこの事

実を経験したが、この際、5%塩化第1スズ水溶液20mLを過マンガン酸カリ捕集管の前におくことにより妨害を妨ぎえた。なお還元処理では、沃度の影響は認めなかった。

V. 実験結果

(1) 回収率 (Table. 5)

97~102%の回収率で、回収率の良否は、燃焼法処理

Table 5. Recovery of mercury added as HgCl_2 by combustion method.

Hg added (μg)	numbers of sample	found	
		mean $\pm$ s. (μg)	recovery (%)
0.10	10	0.098 ± 0.007	98.0
0.25	10	0.254 ± 0.009	101.6
0.50	20	0.486 ± 0.013	97.2
1.00	10	1.011 ± 0.036	101.1

No	Hg (μg)	%Absorption	Absorbance
1	0	1.2	0.005
2	0.02	16	0.076 [0.071]
3	0.05	35	0.187 [0.182]
4	0.10	57	0.367 [0.362]
5	0.15	73	0.567 [0.562]
6	0.20	83	0.770 [0.765]

* [] : Net absorbance

Fig. 5. Calibration Curve. (Range 50mV)

Fig. 6. Calibration Curve. (Range 20mV)

の技術にかかっている。

(2) 検量線 (Fig. 5, Fig. 6)

水銀標準液 (1,000ppm) を0.002%ジチゾンクロロホルム液で、水銀当量として、 $0.02\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.05\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.2\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ を作り、検量線を作成した。

増幅器 Range 50mV : $0.01 \sim 0.2\mu\text{g}$, Range 10mV : $0.002 \sim 0.1\mu\text{g}$ の範囲で直線性を示す。Fig. 5は、QV-50型、Fig. 6は、UV-200型を使用したときのものでいずれも直線性は良好である。

(3) 再現性

Table. 1, Table. 3, および Fig. 7 に示すごとくである。また総水銀の検出限界は、 $0.001\mu\text{g}$ で試料の確認限界は、河川水 200mL 使用した場合、 0.00002ppm である。

(4) 実際の測定例 (Fig. 7)

* [] : net absorbance

Fig. 7. Chart of mercury curves recorded. (Range 50mV)

F. 1, F. 2, F. 3 は別々の魚肉, a, b は同一試料を別別に燃焼法で処理後, 測定した結果である。

試料測定中に, 標準液を時々随時挿入して測定することが肝要であり, また当然のことながら, あらかじめ試薬ブランクも測定しておく必要がある。試薬ブランクは試料燃焼と同様の操作で磁製ポートを盲検する。

試薬ブランクのピークは, 1~1.5% (チャートで1~1.5目盛) である。

また, 試料の水銀含有量が0.01ppm 以下の場合の定量は, 以下の操作で誤差の少ない分析値が得られる。

① 試料量を, 5~10g (湿重量) にして燃焼させる。これは分割して同一の捕集液に捕集させても, また10g程度までなら一度に燃焼させてもよい (Table. 1参照)。

② 検液の抽出液 (測定量) を2~4ml に増加し——小型磁製ポートには最大量1ml しかはならないから, 順次乾燥させて追加する。

③ 増幅器を Range 10mV に上げる。

VI. 総 括

従来の総水銀の分析は, 精度, 経済性, 絶対的な感度不

足に問題があり, 正確な測定には, 極めて熟練した技術が要求された。

1つには, 感度不足のため試料が必然的に多量要するので, 長時間加熱による水銀の揮散, 有機物の成分である油脂による吸着¹⁰⁾, 操作の複雑さなどがあつた。

この欠点を補うため, 小竹森ら¹¹⁾はフラスコによる燃焼法を, 浮田ら¹²⁾は高圧酸素を充填したポンプを用いて試料を燃焼し, 1N 硝酸に吸収させる方法を報告しているが, 測定はジチゾン抽出による比色定量法であり灰化処理の改良のみでは, 不十分である。また著者が追試した限りでは, 容器への水銀の吸着のためか, 吸収効果にばらつきがあり, 特に微量水銀の定量には誤差が著しかった。

また有機物試料の湿式分解法も, 藤村¹³⁾, 内藤ら¹⁴⁾の報告があるが, 満足すべ結論にいたっていない。

一方微量水銀の定量には, ジチゾン比色法より紫外部原子吸収が, 数段感度が優れていることが知られているが^{7), 15)}, これを応用した分析法も灰化は依然として湿式灰化であつた。それ故にジチゾン法による標準法の設定またはジチゾン法以外の微量水銀定量法の開発が強

く要望されていた。

ジチゾン法以外の総水銀の定量法として、浮田ら⁹⁾の毛髪中水銀の定量を放射化分析にて行なった報告がある。この方法は種々の利点があるが、特殊な装置を必要とするため、すぐに一般化できないという難点がある。

そこで著者は、従来より使用されている試薬、器械を用いて、高感度検出にふさわしい有機物分解法として燃焼法を、分光光度計を用いた紫外外部原子吸収法により、総水銀の微量定量法を考案した。

VII. 結 論

公害問題の増加する社会状況の中で、水銀の環境汚染の占める割合が大きいかかわらず総水銀の分析法はその困難さと、繁雑さのために等閑に付されていた。

本論文では、一連の定量操作を著しく簡素化し、感度再現性共に良好な総水銀定量術式を開発したことを報告した。

本定量法の要約は以下の通りである。

- (1) 固形試料は、燃焼法、液体試料は室温灰化あるいは、還元法により処理する。
- (2) 0.2%過マンガン酸カリ-1N硫酸溶液で、水銀を捕集する。
- (3) 0.002%ジチゾンクロホルムで抽出後、抽出液を磁製ボートに0.1~3ml採り、室温で揮散させる。
- (4) 強熱して、水銀蒸気を発生させ、分光光度計を用いた紫外外部原子吸収により定量する。

稿を終わるにあたり、御指導、御校閲をいただきました恩師、喜田村正次教授、数々の助言をされた住野公昭講師、また実験を協力された教室員各位に深く感謝いたします。

(なお、本論文の要旨は、第26回および第27回日本公衆衛生学会総会、ならびに第40回日本衛生学会総会において発表した。)

文 献

- 1) 公害研究対策センター編集：宮公庁公害専門資料，3, 21-25 (1968)。
- 2) Sumino, K.: Analysis of Organic Mercury Compounds by Gaschromatography (I), Kobe J. Med.

Sci., 14, 115-130 (1968)。

- 3) 星野乙松，丹沢瑠子，寺尾充男，浮田忠之進：放射化分析による毛髪中水銀の定量，衛生化学，12, 94-99 (1966)。
- 4) 田辺弘也：有害性金属の分析，第22回日本薬学会，衛生化学公衆衛生シンポジウム，富山 (1966)。
- 5) 日本規格協会：工場排水試験法，K 0102, 84-86 (1964)。
- 6) Yamaguchi, S. and Matsumoto, H.: Ultra-micro-determination of Mercury in Biological Materials by Atomic Absorption Photometry, 産業医学, 10, 125-133 (1968)。
- 7) Jacobs, M. B., Yamaguchi, S., Goldwater, L. T. and Gilbert, H.: Ultramicrodetermination of Mercury in blood, Am. Ind. Hyg. Assn., J., 22(4), 276-279 (1961)。
- 8) 長谷川敬彦：原子吸光分析法，蛋白質・核酸・酵素，12, 495-505 (1967)。
- 9) Magos, L. and Cernik, A. A.: A rapid method for estimating biological samples, Brit. J. industr. Med., 26, 144-149 (1969)。
- 10) 山口誠哉：水銀中毒に関する研究，産業医学, 5, 495-501 (1963)。
- 11) 小竹森正人，山本茂，久田茂夫，安藤満：酸素フラスコ燃焼法による毛髪中の水銀，銅，および亜鉛の定量法，分析化学，17, 1142-1143 (1968)。
- 12) 藤田昌彦，武田寧，寺尾允男，星野乙松，浮田忠之進：酸素ボンブ燃焼法による水銀の微量定量，衛生化学，14, 285-287 (1968)。
- 13) 藤村豊：水銀の毒性に関する研究，第1報尿中水銀定量法の改良と検討，日衛誌，17, 239-244 (1963)。
- 14) 内藤昭治，金子幹宏，節田節子，松崎淳三，小倉道子，福井昭三，菅野三郎：ジチゾンベンゼン法による水銀の定量法，衛生化学，15, 312-316 (1969)。
- 15) Lindstrom, O.: Rapid Microdetermination of Mercury by Spectrophotometric Flame Combustion, Anal. Chem., 31 (3), 461-467 (1959)。

(受付1971年1月16日)