作物体における農薬成分の残留解析に関する研究

II. 水稻穀粒中の水銀含量の放射化分析

(昭和40年11月19日受理)

富澤 長次郎^{*1} 小林 明 晴^{*1} 渋谷 政 夫^{*1}
越 水 幸 男^{*2} 太 田 義 雄^{*2}

Studies on Residue Analysis of Pesticides in Plant Materials II. Neutron Activation Analysis of Mercury in Rice Grains

Chojiro TOMIZAWA, Akiharu KOBAYASHI, Masao SHIBUYA,
Yukio KOSHIMIZU, and Yoshio OOTA

(*1National Institute of Agricultural Sciences: Nishigahara, Kita-ku, Tokyo;

*2Tohoku Agricultural Experiment Station: Hanadate, Oomagari, Akita)

Neutron activation analysis of mercury contained in rice grains was studied with gram unit of rice grains containing $0.01\text{ }\mu\text{g}\sim 1.0\text{ }\mu\text{g}$ of mercury. The results obtained were as follows;

1. By irradiating rice grains for 2 or 5 hours in the pile by thermal neutron flux of $3\times 10^{11}\text{ n/cm}^2\text{ sec}$, more than $1\text{ }\mu\text{g}$ of mercury was possible to estimate by non-destructive method, using the pulse height of ^{197}Hg in γ -ray spectrum, but this procedure was unable to apply for the estimation of mercury in rice grains, because of the insensitivity to amount less than $1\text{ }\mu\text{g}$ of mercury. By irradiating rice grains for 130 hours in the pile by thermal neutron flux of $2\sim 3\times 10^{13}\text{ n/cm}^2\text{ sec}$, the precise estimation of mercury in rice grains was attained by using the pulse height of ^{203}Hg after the chemical separation of activated mercury as mercuric iodide-copper ethylenediamine complex, even after cooling for about two months.

2. The raw rice and polished rice were processed from the rice grains which were collected from paddy fields where different dosages of phenylmercuric acetate disinfectant were applied. Their mercury contents were estimated by neutron activation analysis with the chemical separation of activated mercury. It was found that mercury contents of polished rice were mostly in ranges of 0.1 ppm to 1.0 ppm and only in the two cases of dust application with 24 g mercury per 10 are, the contents were over 1 ppm. The mercury contents of rice grains without the application of the disinfectants were in ranges of 0.227 ppm to 0.238 ppm. The more dosage of organo-mercury disinfectant was applied in paddy field, the more content of mercury in raw rice and polished rice was found. Since the mercury content was in most cases higher in raw rice than polished rice, it was possible that mercury was concentrated in the portion of bran in rice grains.

(Received November 19, 1965)

結 言

前報¹⁾において散布された有機水銀殺菌剤は水稻の全

生育期間にわたり水稻組織内へ浸透し、とくに収穫期以後に散布された場合は、穀粒中の水銀含量が著しく増加することを ^{203}Hg -有機水銀殺菌剤を用いて明らかにした。しかしポット栽培の水稻での実験は、必ずしも条件

*1 農林省農業技術研究所：東京都北区西ヶ原2の1

*2 農林省東北農業試験場：秋田県大曲市花館

が自然の水田状態と同じでないで水銀含量も変化する可能性がある。それゆえ実際に有機水銀殺菌剤を散布した水田より収穫した穀粒につき水銀含量を測定することが必要である。水銀含量の測定には1gの分析試料につき、0.01~1.0 μg の水銀含量の測定が前報の結果から水稻穀粒の場合必要と考えられるが、ジチゾンその他の有機試薬による比色定量は1.0 μg 以上の水銀には適用しうが、1.0 μg 以下の定量には試料の重量を10g台に上げる必要があり、定量操作に種々問題を生じる。とくに湿式灰化時に水銀の損失を生じ、無機水銀の回収率が低下し、低い定量値を得る可能性が大である^{2)~4)}。この欠点を補うため、比色法と同位元素希釈法を併用し回収率を求める方法も行なわれているが、定量操作にかなりの熟練を要し、また生物体中の水銀と添加する $^{203}\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ が湿式灰化操作において同一行動をとるという仮定が含まれる³⁾⁴⁾。筆者らは穀粒1g中0.01~1.0 μg の水銀の定量に適用しう分析方法として最も感度と精度の高い中性子放射化分析法⁵⁾⁶⁾ について検討したので報告する。

実験方法

1. 放射性核種の選択

自然の水銀を(n, γ)反応によって放射化した場合、Table 1 に示すように4種の同位体から水銀の放射性核種が生成することが知られている⁷⁾。これらの放射性核種のうち $^{199\text{m}}\text{Hg}$ と ^{206}Hg は半減期の短いため実験目的に合わない。 $^{197\text{m}+197}\text{Hg}$ と ^{203}Hg の選択については種々の因子が考えられるが、照射条件が同じであれば中性子放射化断面積 (Neutron-activation cross-section) は前者がはるかに高いので自然の存在比を考慮しても $^{197\text{m}+197}\text{Hg}$ の生成量が ^{203}Hg に比較して大きい。しかし実験期間が長期にわたる場合、とくに水銀の化学的分離操作を行なう場合には、 ^{203}Hg が有利になる可能性もある。他方、試料を多数取扱う場合は、分析法として非破壊法が望ましいが、水銀含量が低くて妨害核種の生成する場合には穀粒から水銀を分離することが必要であろう。そのため茨城県東海村の日本原子力研究所の JRR-1(neutron flux, $3 \times 10^{11}\text{n/cm}^2 \text{ sec}$) と JRR-2(neutron

flux, $2 \sim 3 \times 10^{12}\text{n/cm}^2 \text{ sec}$) において放射化のための中性子束を変えて穀粒中水銀の分析条件を検討した。

2. 照射試料の調製

予備実験では収穫した穀粒そのままおよび玄米、白米を用い、定量実験では玄米および白米(歩止り90%)を用い、1gずつ石英アンプルに封入するか、アルミニウム箔あるいはポリエチレン袋で包装したあと、標準水銀試料と同じカプセルに入れて照射を行なった。ポリエチレン袋包装は JRR-1 照射の場合だけ用いた。標準水銀試料は JRR-1 の場合、10 μg から0.01 μg の水銀含量に相当する硝酸水銀水溶液を2 cm^2 の東洋口紙 No. 5C にしみこませたものを用い、JRR-2 の場合、精製蒸留した金属水銀10mg を石英アンプルに封入し、照射後、硝酸に溶解して10 μg から0.001 μg までの標準放射化水銀を作りあとに示す方法でヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物の沈殿を作った。一般に水銀化合物は蒸気圧が高く、とくに原子炉内では温度上昇による蒸発の危険が大きくアンプル封入は絶対に必要であるが、穀粒中の水銀は乾燥のため真空デシケーター中に放置してもほとんど損失なく、また温度による損失の可能性も150°ぐらまでは損失のないことが ^{203}Hg -有機水銀殺菌剤を散布した穀粒で確かめられている。

3. 穀粒中の放射化水銀の化学的分離

非破壊放射化分析において中性子照射条件を適当に選り冷却によって同時に生成した妨害核種の影響を除くことは基本的操作であるが、妨害核種の影響を除くことが不可能な場合には水銀を放射化学的に分離することが必要である。本実験では分離方法として Smith の方法を踏襲した⁸⁾。照射した穀粒をスリ合せ口付の50 ml 遠心分離管に入れ、直ちに0.5 ml の硝酸水銀溶液(水銀として10mg)を加え、Dimroth 冷却器をつけ冷却器上部より硫酸-硝酸混液(1:1)を突沸を避けつつ添加し湿式灰化を行なった。穀粒1gにつき硫酸-硝酸混液を合計5ml 加え完全に分解を終るまでに10時間前後を要した。加熱時間により回収率の変化することを考慮し、各試料につき灰化時間を一定にした。分解液は無色あるいは淡黄色透明でほとんど浮遊物を認めない。灰化終了時にかなりの放射能が冷却器の蛇管部に付着するので分解液が約40ml になるまで蒸留水で蛇管部を洗った。分解液は水酸化ナトリウム液でB.P.B. に対し中和し水浴上で80°前後に加熱し、1%アスコルビン酸水溶液(w/v) 2ml を加え、金属水銀を生成させ蒸留水で2回、アセトンで1回の洗浄を行ない乾燥させた。つぎに硝酸0.5ml に沈殿を溶解し蒸留水10ml と4%硝酸銀水溶液1ml を加え十分混合したのち、1%ヨウ化ナトリウム水溶液(w/v) 2ml を加え沈殿する放射化銀を含むヨウ化銀を遠心分離により除去した上澄液を10%アンモニア水で中和した。この液に銅エチレンジアミン混液(10%硫酸銅水溶液1部と1%エチレンジアミン水溶液10部の

Table 1. Mercury Isotopes Produced by (n, γ) Reactions

Target nuclide	Natural abundance (%)	Product nuclide	Neutron-activation cross-section (barns)	Half life of product nuclide
^{196}Hg	0.14	$^{197\text{m}}\text{Hg}$	420 $\pm$ 80	24 h
		^{197}Hg	880 $\pm$ 75	65 h
^{198}Hg	10.02	$^{199\text{m}}\text{Hg}$	—	42m
^{202}Hg	29.80	^{203}Hg	3.8 $\pm$ 0.8	46.9 d
^{204}Hg	0.85	^{205}Hg	0.43	5.5m

混液) 3 ml を加え、放射化水銀をヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物として沈殿させろ過し蒸留水で2回、イソプロパノールで1回洗って試料ザラにとった。

^{197}Hg および ^{203}Hg の γ -ray spectrometry は東芝製あるいは RCL 製 256 チャンネル波高分析器を用いて行なった。

実験結果および考察

1. 穀粒中の ^{197}Hg および ^{203}Hg 核種の同定

穀粒中の水銀を放射化分析により定量するため、照射した穀粒中の放射化水銀の ^{197}Hg および ^{203}Hg を同定することが必要である。そのため JRR-2 で照射した穀粒から分離したヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物の γ 線スペクトルをエネルギー標準体およびオークリッジより輸入した $^{203}\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (実際には ^{197}Hg を混在) のスペクトルと RCL 製 γ 線波高分析器で比較し、 ^{197}Hg につき 0.077 MeV (16 チャンネル), ^{203}Hg につき 0.279 MeV (62 チャンネル) の γ 線エネルギーを得た。さらにそれぞれのピークにつき物理的半減期を観測し (Fig. 1), ^{197}Hg につき 65 時間, ^{203}Hg につき 48 日が求められ Table 1 の数値にやや一致した⁹⁾。

2. 照射した標準水銀試料および穀粒中の水銀の γ 線スペクトル

i) JRR-1 の場合

この場合はとくに非破壊法に注目し、穀粒を2時間あるいは5時間照射後、24時間冷却して γ 線波高分析器にかけた。穀粒はポリエチレン袋包装のため、包装物質中の放射性核種の γ 線も観測されることが予想されるが、得られた γ 線スペクトルは Fig. 2 に示すとおりである。2時間と5時間ではバックグラウンドが高くなる以外、各ピークの様相は余り変らない。Fig. 2 の γ 線スペクトルは ^{197}Hg のピークのみを示したが、JRR-1 の中性子が低いいため ^{203}Hg のピークを観測することは困難であった。Fig. 2 において穀粒単独で照射した場合にはほとんどピークが認められない。つぎに $10\text{ }\mu\text{g} \sim 0.01\text{ }\mu\text{g}$ の標準水銀試料につき水銀量と波高の関係を調べたが、Table 2 に示すように $10\text{ }\mu\text{g}$ と $1\text{ }\mu\text{g}$ では後者の波高が約 1/10 を示すが、 $0.1\text{ }\mu\text{g}$ 以下では波高が横バイ状態を

Table 2. Relation between Mercury Content and Radioactivity of ^{197}Hg in JRR-1 Irradiation

Mercury (μg)	Radioactivity (pulse height cm)*
10	15.1
1	1.65
0.1	0.50
0.01	0.60

* Measured by Toshiba-256 channel pulse height analyzer, cooling time, 24 hours

Fig. 1. Decay curves of radioactivities in rice grains

Fig. 2. γ -Ray spectrum of standard mercury and rice grains irradiated in JRR-1
 — : standard mercury $10\text{ }\mu\text{g}$
 ---- : rice grains
 : rice grains plus standard mercury $1\text{ }\mu\text{g}$

示している。これは前述のように包装物質中に $0.1 \mu\text{g}$ 台の水銀が含まれる可能性を示すものであろう。ポリエチレン中の水銀量を差引くことは精度を上げるために必要であるが、中性子束の低い $0.1 \mu\text{g}$ 以下では波高が低く、穀粒中の水銀定量は困難である。すでに $5 \sim 10 \times 10^{11} \text{n/cm}^2 \text{ sec}$ の中性子束を用い2～3日間石英封入穀粒を照射して水銀の分析を行なった例もあるが⁶⁾、その場合の穀粒は有機水銀殺菌剤で種子処理を行なったもので、現在問題としている穀粒中の残留水銀に比較し水銀量ははるかに大きいのでそのまま踏襲して成功するとは考えられない。

ii) JRR-2 の場合

この場合には、中性子束の増大するため当然妨害核種の生成が予想されるので、最初から放射化水銀の化学的分離を行なった。照射時間を130時間(1サイクル)に定め、標準水銀試料は石英アンプルに封入し、穀粒はアンプルあるいはアルミニウム箔包装とした。

JRR-2 では原子炉内温度が試料中の含有元素の種類および量によっても異なるが、かなり上昇することが考えられ、照射した穀粒はほとんどかわ変していた。

Fig. 3は照射した標準水銀試料の γ 線スペクトルを示すが、破線は照射18日後 10 mg の水銀をアンプル封入のまま観測し、実線はアンプルを開封し照射水銀 $10 \mu\text{g}$ か

Fig. 3. γ -Ray spectrum of standard mercury irradiated in JRR-2

- : 10 mg of irradiated mercury in quartz ampule (cooling, 18 days)
- : $10 \mu\text{g}$ of irradiated mercury as a precipitate of mercuric iodide-copper ethylenediamine complex (cooling, 54 days)

Fig. 4. Relation between mercury content and radioactivity of ^{203}Hg in JRR-2 irradiation

Fig. 5. γ -Ray spectrum of mercury in rice grains irradiated in JRR-2

- : rice grains treated with PMA seed disinfectant
- : rice grains without treatment

らヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物の沈殿を作り、照射54日後に観測したものである。照射水銀をヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物として分離した場合には $10\text{ }\mu\text{g}\sim 0.001\text{ }\mu\text{g}$ の範囲で明りょうに ^{197}Hg および ^{203}Hg のピークを観測することが可能で、水銀量と放射能の間に直線関係が成立する (Fig. 4)。Fig. 4において破線はアンブルを開封し標準水銀を硝酸に溶解して直接ヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物の沈殿とした場合で、実線は穀粒と同じ条件で硫酸-硝酸とともに10時間加熱後、沈殿を作った場合で、加熱しない場合に比較し、平均 $95.4\pm 0.9\%$ の回収率を示しやや一定である。穀粒中の水銀の定量はこの実線により行なった。また本実験は長期にわたったため ^{203}Hg のみに注目して行なった。

つぎに穀粒から分離した水銀の γ 線スペクトルの観測を行なった。2種類の穀粒を供試し、一方はそのまま照射し、他方は phenylmercuric acetate の種子消毒用市販品の11 ppm 水溶液 (水銀として) に6時間浸漬し

風乾したものを照射した。Fig. 5の上段は照射29日後、穀粒そのまま観測したもので、実線は種子処理を行なったもの、破線は行なわないもので、下段はヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物として分離し、54日後に観測したものである。いずれも ^{197}Hg および ^{203}Hg のピークが観測されるが、化学的分離を行なった場合にはバックグラウンドの影響が少なく各ピークの独立性が標準水銀と同じように良好である。

3. 有機水銀殺菌剤の散布量の異なる水田より採集した玄米および白米の水銀含量

本実験ではとくに水田における有機水銀殺菌剤の反当り散布量に注目し玄米および白米中の水銀含量の変化を調べた。1回の反当り散布水銀量を5 g前後とし、イモチ病激発の年には5回以上すなわち反当り25 gの散布が行なわれることもありえる。供試玄米および白米は1964年度において秋田県大曲市農林省東北農業試験場水田から採集したものである。

Table 3. Mercury Residues in Rice Grains Collected from Paddy Fields Applied with Different Dosages of Phenylmercuric Acetate Disinfectant

Varieties of rice plant	Application dates of the disinfectant		Formulations of disinfectant	Dosages of mercury per 1/10 are (g)	Mercury contents (ppm)	
	panicle forming heading stage	flowering stage			raw rice	polished rice
Miyoshi	August 11	August 19	Wettable suspension	0	0.226	0.240
				$0.75 \times 2^*$	0.308	—
				1.5×2	0.435	0.323
				3.0×2	1.950	0.353
				6.0×2	2.400	0.790
			Dust	1.5×2	0.405	0.270
				3.0×2	0.453	0.275
				6.0×2	0.726	0.413
				12.0×2	1.950	1.575
Sasashigure	August 12	August 22	Wettable suspension	0	0.158	0.227
				$0.75 \times 2^*$	0.773	0.315
				1.5×2	0.795	0.330
				3.0×2	—	0.465
				6.0×2	1.650	0.690
			Dust	1.5×2	0.398	0.232
				3.0×2	0.243	0.225
				6.0×2	1.005	0.255
				12.0×2	0.908	0.402
Ootori	August 17	August 26	Wettable suspension	0	0.325	0.238
				$0.75 \times 2^*$	—	0.300
				1.5×2	0.795	0.570
				3.0×2	1.222	0.668
				6.0×2	1.725	0.715
			Dust	1.5×2	0.250	0.338
				3.0×2	0.350	0.315
				6.0×2	1.328	0.477
				12.0×2	6.300	1.320

* The disinfectant was applied twice to each variety of rice plant at the panicle forming~heading stage and flowering stage

Table 3 に示すように水和剤(Wettable suspension)と粉剤(Dust)の2種類の phenylmercuric acetate の製剤を用い反当り散布量を変えて3品種の水稻の穂パラミから出穂期までに1回、開花期に1回の計2回散布を行なった。収穫後、風乾、脱穀、精白し各区1gずつを標準水銀試料とともにカプセルに入れ、JRR-2において $3 \times 10^{13} \text{n/cm}^2 \text{ sec}$ の中性子束で130時間照射を行なった。照射後、既述のようにヨウ化水銀-銅エチレンジアミン複合物として放射化水銀を分離しRCL製 γ 線波高分析器により計測を行ない、同時に照射した標準水銀より作製した標準直線(Fig. 4)より水銀量を求めた。Table 3 に示すように水銀含量は散布水銀量とともに増加しているが、水田における有機水銀殺菌剤散布の不均一性、試料調製方法などに原因すると考えられる測定値の分散がとくに反当り水銀量の多い区において認められる。水銀含量は白米より玄米で多く、これは水銀がヌカ部分に濃縮されていることを示すもので、 ^{203}Hg -有機水銀殺菌剤により実験結果¹⁾ および同位元素希釈法³⁾ による結果と一致している。水稻穀粒の登熟過程における特殊な生理機能に基因するものと考えられ興味深い。有機水銀殺菌剤無散布区の水銀含量が1950年台に得られた値³⁾ に比較して高い傾向を示すが、これは分析法の相違によることも考慮されるが、過去10年余の有機水銀殺菌剤の使用により水田に水銀が蓄積し、それが水稻に再吸収された可能性も十分考慮すべきである。現在では全国水田の過半数が有機水銀殺菌剤散布の経歴を持つことは明らかである。

要 約

水稻穀粒中の微量水銀の定量法として中性子放射化分析法をとりあげ、定量のための照射条件、試料調製法、化学的分離法を検討した。さらにその方法を用い反当り散布水銀量の異なる水田より採集した穀粒中の水銀含量を測定した。

1. $3 \times 10^{11} \text{n/cm}^2 \text{ sec}$ と $2 \sim 3 \times 10^{13} \text{n/cm}^2 \text{ sec}$ の中性子束を用い(n, γ)反応により生成する ^{197}Hg と ^{203}Hg について水銀定量のための照射条件を検討した結果、後者の中性子束を用い130時間照射後、放射化水銀をヨウ

化水銀-銅エチレンジアミン複合物として分離することにより、 $10 \mu\text{g} \sim 0.01 \mu\text{g}$ の範囲で水銀量と ^{203}Hg の γ 線強度の間に直線関係が成立し定量が可能であることを認めた。 ^{197}Hg についても同様に可能と考えられる。

2. 1964年度において、穂パラミ期から出穂期までに1回、開花期に1回、計2回有機水銀殺菌剤を散布した水稻から収穫した玄米および白米中の水銀含量を放射化分析法により測定した。水銀含量は白米より玄米に多くしたがってヌカ部分に濃縮されていることを認めた。白米の場合、無散布区では $0.227 \sim 0.238 \text{ ppm}$ を示し、反当り水銀散布量の増加とともに白米中の水銀含量も増加するが大部分は1ppm以下で、粉剤として反当り水銀量24g散布の場合には1ppmを越す場合が認められた。

終りに臨みご鞭撻をいただいた農業技術研究所 西垣晋博士、実験の一部を担当した東海大学附属高校 阿部光明氏、試料採集にご協力いただいた東北農業試験場 湖山利篤博士、堀口治夫技官に感謝します。また放射線測定計器の使用に便宜を与えられた電気通信研究所東海支所、農林省畜産試験場に厚く謝意を表します。

文 献

- 1) 富澤長次郎：食衛誌. 7, 25 (1966).
- 2) 佐藤六郎, 金澤 純：“光電比色法”各論 3, p.113 (1961) 南江堂.
- 3) 鈴木信男：第2回日本アイソトープ会議報文集 2, 151 (1958).
- 4) 鈴木信男：第4回日本アイソトープ会議報文集 4, 570 (1960).
- 5) V. P. Guinn, R. A. Schmitt: Residue Reviews 5, 148 (1964).
- 6) T. Westermarck, B. Sjöstrand: J. Appl. Radiation & Isotopes 9, 1 (1960).
- 7) S. S. Choi, D. G. Tuck: J. Chem. Soc. 4080 (1962).
- 8) H. Smith: Anal. Chem. 35, 635 (1963).
- 9) 千谷利三, 堀部純男：“アイソトープ実験技術”第1集 p.9 (1957) 南江堂.