

Table 4 汚染物の検出状況

全データ

		総数	検出数	検出率(%)
平成 17 年	検査数	319,746	4,697	1.5
	試料数	8,760	2,497	28.5
平成 16 年	検査数	300,070	4,695	1.6
	試料数	22,164	2,597	11.7
平成 15 年	検査数	226,830	6,317	2.8
	試料数	13,566	2,204	16.2
平成 14 年	検査数	199,338	3,753	1.9
	試料数	10,186	2,204	21.6
平成 13 年	検査数	227,462	5,615	2.5
	試料数	11,239	2,723	24.2

農薬・動物用医薬品データ

		総数	検出数	検出率(%)
平成 17 年	検査数	311,930	2,297	0.74
	試料数	6,459	1,115	17.3
平成 16 年	検査数	292,207	2,145	0.7
	試料数	19,570	1,160	5.9
平成 15 年	検査数	214,523	2,821	1.3
	試料数	10,302	1,144	11.1
平成 14 年	検査数	191,809	1,423	0.7
	試料数	7,811	855	10.9
平成 13 年	検査数	218,032	2,359	1.1
	試料数	8,403	1,120	13.3

Table 5 検査数の多い食品

平成 17 年		平成 16 年		平成 15 年	
卵	313	ねぎ	728	日本なし	652
うるち米	306	ブロッコリー	672	ほうれんそう	473
牛肉	268	きゅうり	563	井戸水	421
ぶた肉	263	ピーマン	551	牛肉	348
鶏肉	236	キャベツ	529	キャベツ	345
きゅうり	189	さといも	529	卵	339
トマト	167	かぼちゃ	519	ぶた肉	317
グレープフルーツ	157	いちご	475	りんご	307
キャベツ	154	なす	466	うるち米	290
牛乳	149	りんご	441	牛乳	283
バナナ	143	にんじん	423	鶏肉	261
だいこんの根	138	グリーンアスパラガス	422	ブロッコリー	250
ほうれんそう	135	しいたけ	401	えだまめ	235
なす	133	ごぼう	395	水道水	234
井戸水	133	キウイー	390	ほたてがい	226
りんご	123	おうとう	389	バナナ	222
ブロッコリー	122	はくさい	388	グリーンアスパラガス	214
ねぎ	114	西洋なし	380	ねぎ	212
ぶどう	109	トマト	356	かぼちゃ	210
ほたてがい	105	バナナ	350	きゅうり	207

Table 6 複数の農薬等が残留した野菜・果実例（柑橘類を除く）

食品名	残留農薬数	残 留 農 薬
りんご	7	アセタミプリド, イプロジオン, クレソキシムメチル, クロルピリホス, クロルフェナピル, シプロジニル, テフルベンズロン
ピーマン	6	クロルベンジレート, ピリプロキシフェン, ミクロブタニル, ペルメトリン, シプロコナゾール, テブコナゾール
おうとう	6	イプロジオン, キャプタン, シペルメトリン, デルタメトリン, プロシミドン, ペルメトリン
ぶどう	6	キャプタン, クロルピリホス, カルバリル, キャプタン, クロルピリホス, カルバリル
ミニトマト	5	アセタミプリド, アゾキシストロビン, ピリダベン, ペンシクロン, ベンフラカルブ
おうとう	5	イプロジオン, キャプタン, シペルメトリン, デルタメトリン, ペルメトリン
いちご	5	アゾキシストロビン, テブフェンピラド, フルジオキソニル, ヘキシチアゾクス, メパニピリム
りんご	5	アセタミプリド, イプロジオン, クロルピリホス, シプロジニル, テフルベンズロン
りんご	5	アセタミプリド, イプロジオン, クロルピリホス, クロルフェナピル, テフルベンズロン
未成熟えんどう	5	オキサジキシル, テブコナゾール, フェンバレレート, フルシラゾール, プロシミドン
春菊	5	フルフェノクスロン, フルミオキサジン, クロロタロニル, エトフェンプロックス, フェンピロキシメート

Table 7 検査数の多い農薬

平成17年		平成16年	
汚染物名	検査数	汚染物名	検査数
クロルピリホス	4120	クロルピリホス	3963
フェニトロチオン	4071	マラチオン	3863
マラチオン	3946	フェニトロチオン	3841
ダイアジノン	3923	ダイアジノン	3731
ピリミホスメチル	3816	E P N	3565
プロチオホス	3752	プロチオホス	3535
パラチオンメチル	3746	パラチオンメチル	3503
エトリムホス	3730	ピリミホスメチル	3487
E P N	3676	エトリムホス	3480
トルクロホスメチル	3660	ペルメトリン	3478
ペルメトリン	3558	トルクロホスメチル	3470
シペルメトリン	3540	シペルメトリン	3402
パラチオン	3494	エトプロホス	3363
フェンバレレート	3448	フェンバレレート	3254
キナルホス	3443	キナルホス	3251
エトプロホス	3402	パラチオン	3213
ブタミホス	3195	シハロトリン	3055
シハロトリン	3185	デルタメトリン	2932
フェントエート	3054	フェントエート	2915
エンドリン	2988	エンドリン	2759

Table 9 検出率の高い農薬

農薬名	分析数	検出数	検出率(%)
イマザリル	347	103	29.7
OPP	126	28	22.2
チアベンダゾール	429	69	16.1
p p DDE	1613	139	8.6
2 4 D	88	6	6.8
p p DDT	1181	72	6.1
チオファネートメチル	189	11	5.8
アセタミプリド	897	51	5.7
ヘプタクロルエポキサイド	1166	63	5.4
オキサジキシル	194	9	4.6
b BHC	1709	75	4.4
シプロジニル	230	10	4.3
総DDT	2521	103	4.1
クレソキシムメチル	1077	44	4.1
プロシミドン	2113	84	4.0
キャプタン	1329	49	3.7
イミダクロプリド	249	9	3.6
アセフェート	1629	56	3.4
アゾキシストロビン	292	10	3.4
クロルピリホス	4120	136	3.3
クロロタロニル	1495	49	3.3
フェンプロパトリン	1127	36	3.2
ディルドリン	2468	75	3.0

Figure 1 各群からの汚染物摂取量 (ND=0)

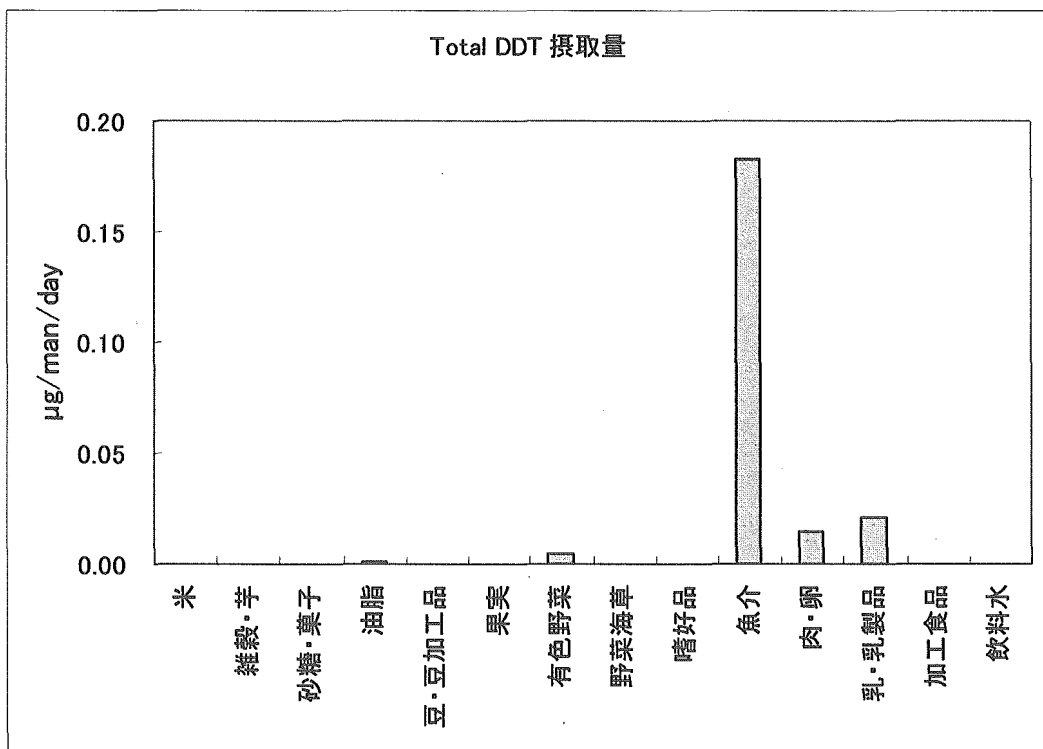
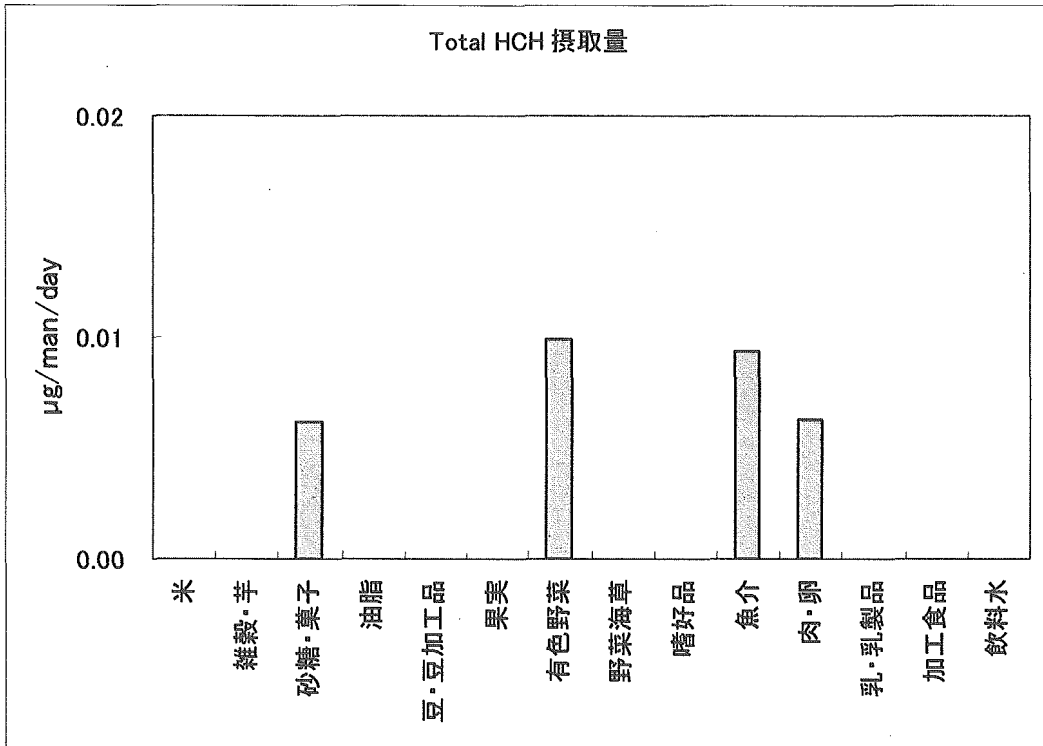


Figure 1 続き

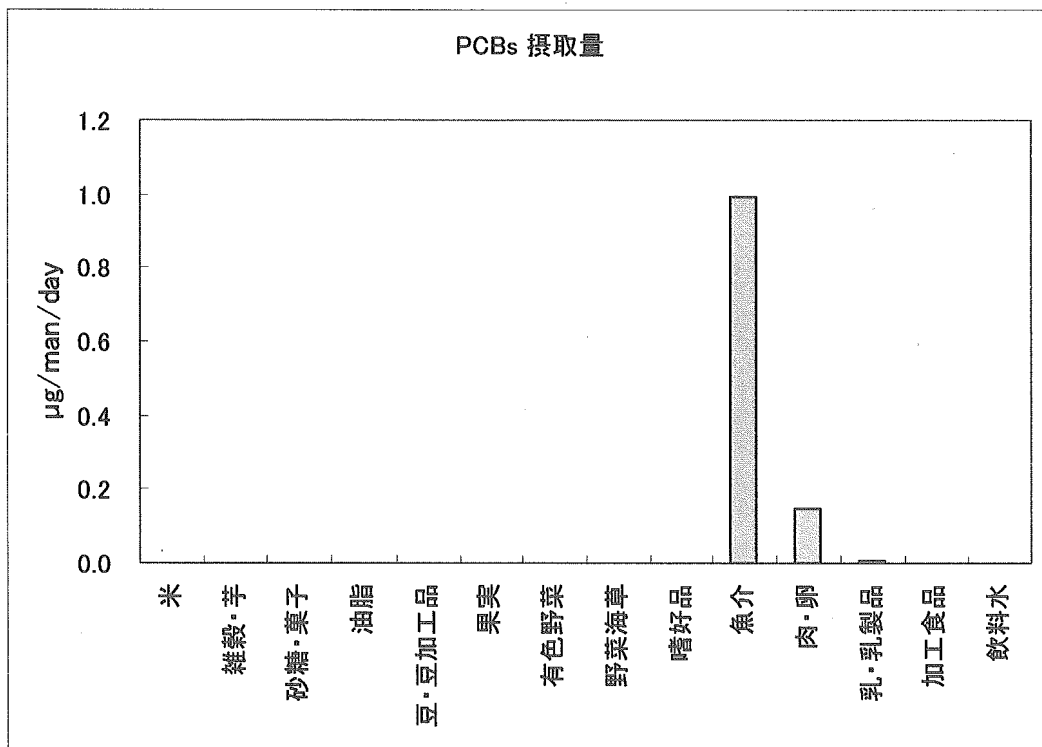
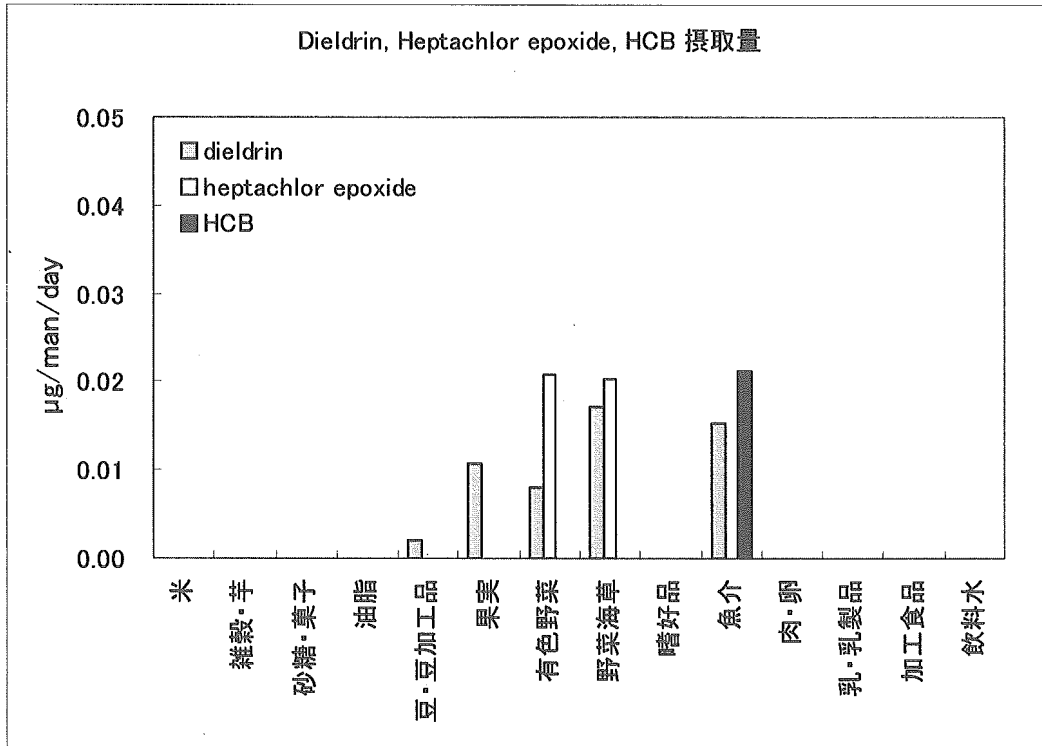


Figure 1 続々

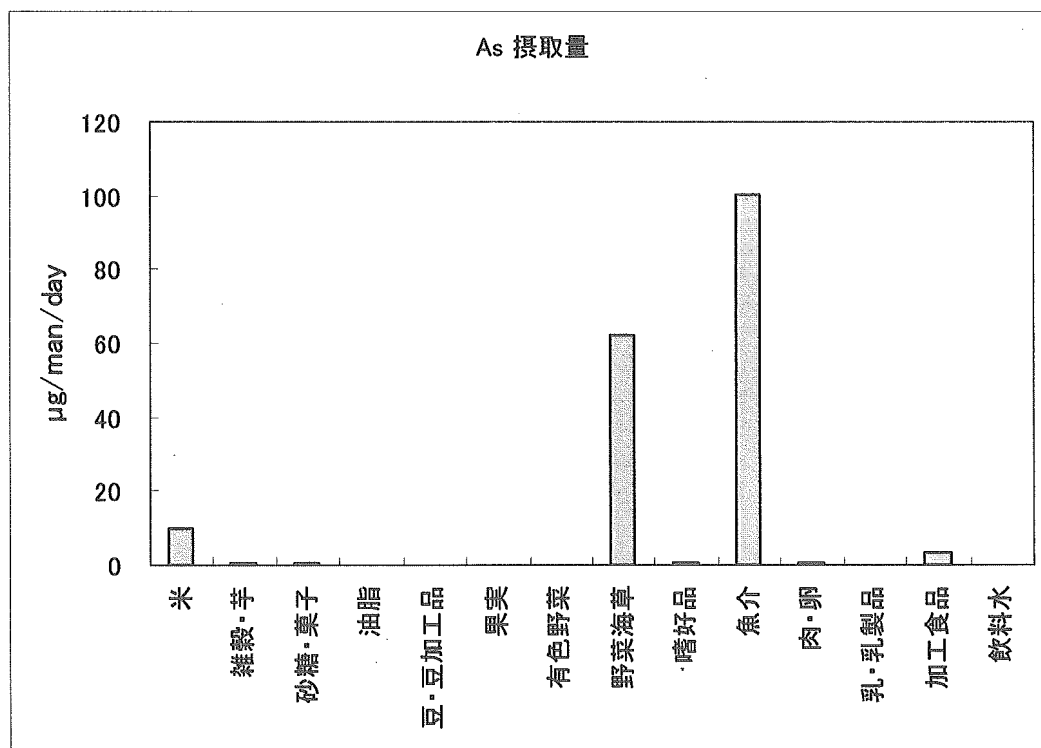
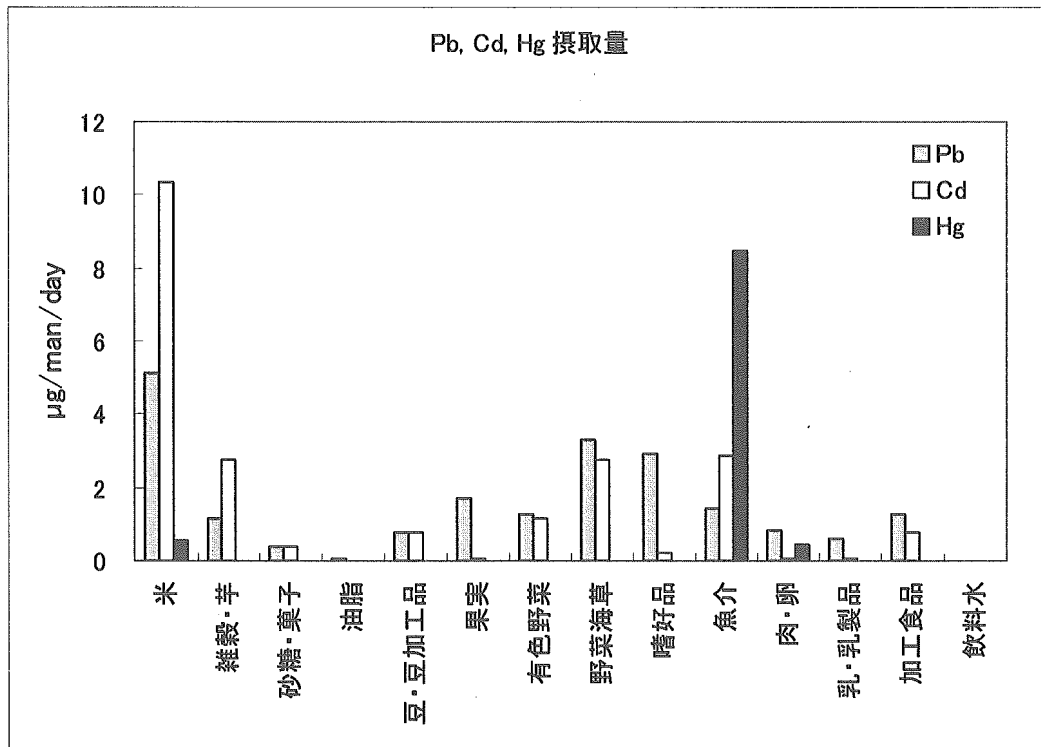
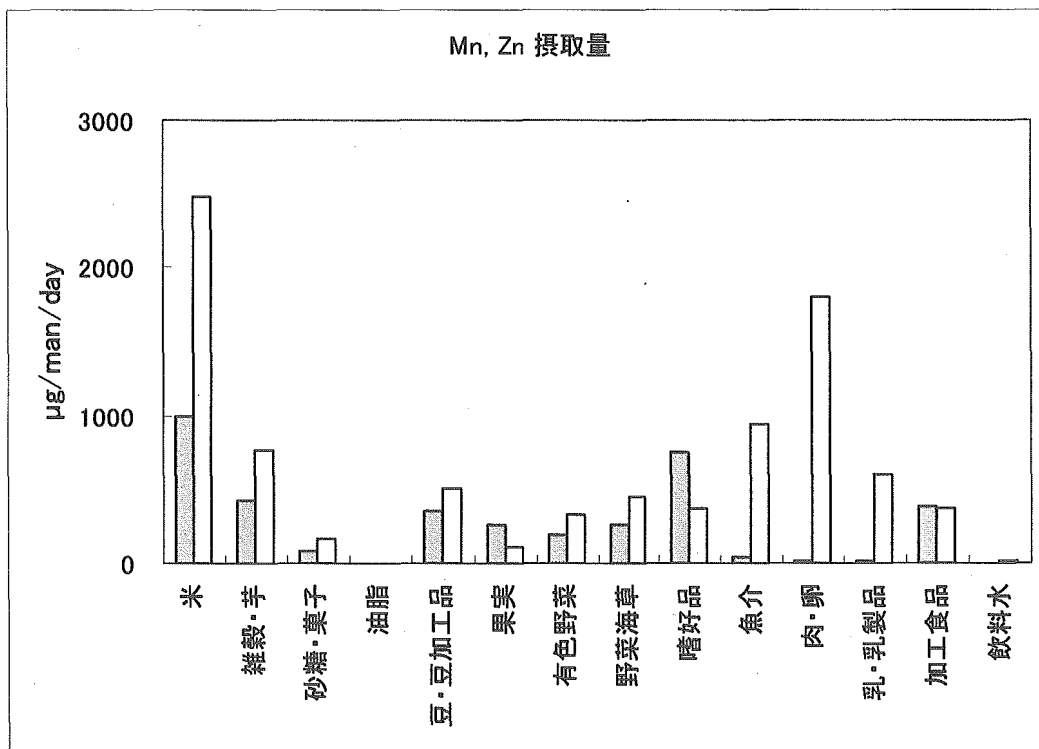
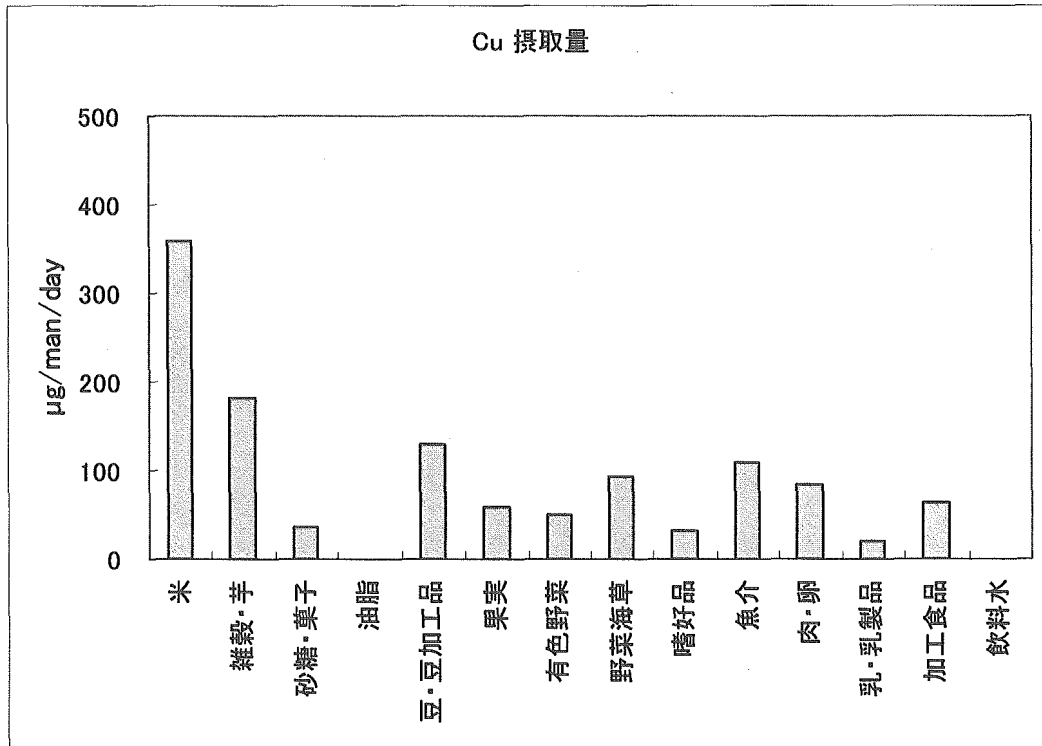


Figure 1 続々



訂正

平成16年度「日常食の汚染物質摂取量及び汚染物モニタリング調査研究」分担報告書中のTable 3に誤りがあったので、訂正したTableを以下に再掲する。

Table 3 汚染物摂取量食品群別比較表(2004年) ND=0

汚染物	ND=0 LQ=各機関独自 単位=μg/man/day														Total
	I 米	II 雑穀・芋 砂糖・菓子	III 油脂	IV 豆・豆加工品	V 果実	VI 野菜 海藻	VII 嗜好品	IX 魚介	X 肉・卵	XI 乳・乳製品	XII 加工食品	XIII 飲料水	XIV 飲料水	Total	
α-HCH	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.008
β-HCH	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.007
γ-HCH	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045
δ-HCH	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Total-HCH	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.015	0.060
p,p'-DDT	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.049	0.049
p,p'-DDE	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.103	0.029	0.040	0.000	0.000	0.000	0.174	0.174
p,p'-DDD	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.054	0.054
o,p'-DDT	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.010
Total-DDT	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.216	0.029	0.040	0.000	0.000	0.000	0.286	0.286
Dieldrin	0.000	0.000	0.000	0.000	0.062	0.000	0.000	0.024	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.090	0.090
Hep. Epoxide	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.010	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.016
HCB	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.071
PCB	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.498	0.102	0.019	0.000	0.000	0.000	0.619	0.619
Malathion	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.595	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	4.426	4.426
MEP	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.020
Diazinon	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.027	0.027
Pb	6.74	2.62	0.74	0.08	0.43	0.87	0.78	1.17	1.46	1.13	0.51	0.07	0.07	26.8	26.8
Cd	9.46	2.09	0.24	0.01	0.84	0.31	1.61	2.31	0.09	0.20	0.58	0.00	0.00	21.6	21.6
Hg	0.48	0.02	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	7.54	0.32	0.02	0.05	0.00	0.00	8.5	8.5
As	10.20	0.40	0.28	0.02	0.19	0.10	0.57	88.96	0.42	0.07	3.58	0.05	0.05	160	160
Cu	377.37	182.95	49.86	0.61	166.36	75.35	59.98	36.31	122.88	18.49	96.53	1.66	1.66	1504	1504
Mn	983.64	454.03	84.49	0.86	439.10	249.61	193.10	699.75	23.44	5.06	445.21	0.69	0.69	3971	3971
Zn	2577.30	725.51	163.41	1.67	626.43	109.84	320.76	91.43	2177.79	639.56	441.62	12.74	12.74	9433	9433

分 担 研 究 報 告

メチル水銀試験法の改良と魚肉中水銀分布調査への応用

米谷 民雄

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

メチル水銀試験法の改良と魚肉中水銀分布調査への応用

分担研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨：魚介類中のメチル水銀公定分析法には抽出過程でエマルジョンが形成されるなどの指摘がなされている。この欠点を改良するため、昨年度はアルカリ分解－システイン抽出法及びアセトン/トルエン前処理法について検討した。今年度は環境省法としても採用されているアルカリ分解－ジチゾン抽出法（アルカリ分解後、ヘキサン洗浄し、エマルジョンの形成を抑制し、また、錯形成剤としてジチゾンを使用し、効率よくメチル水銀を抽出できるとされている方法）に準拠し、添加回収、再現性及び実用性等について検証を行った。また、昨年度に比較的添加回収率の良かったアセトン/トルエン前処理法との比較を行った。その結果、環境省法の抽出法Ⅰ（一般魚介類用）によるマサバ筋肉部からの塩化メチル水銀の添加回収率は95-100%であった。抽出法Ⅱ（高濃度魚介類用）によるメバチマグロ筋肉部からの塩化メチル水銀の添加回収率も100%であった。抽出法Ⅰによるマサバ筋肉部中の総水銀に対するメチル水銀の含有率は95-100%で、抽出法Ⅱによるメバチマグロ筋肉部中の総水銀に対するメチル水銀の含有率は96.2%であり、両魚種での相違はほとんど見られなかった。高い添加回収率及び総水銀に対するメチル水銀含有率は、標準溶液も抽出処理する検量線作成法によるものと考えられた。本法では回収率等は高くなるが、操作が非常に煩雑で熟練を要するなどの問題点があった。

一方、昨年度検討した改良法を採用し、環境省法と同様に、検量線用の標準溶液を試験溶液と同様の操作で調製する方法を用いて、魚16検体中のメチル水銀の分析を行った。その結果、検量線の直線性が乏しく、再現性も得にくかったが、当然ながら総水銀に対するメチル水銀の比率は69%から87%に上昇した。

研究協力者

板野一臣 大阪市環境科学研究所
研究副主幹

長岡 恵 国立医薬品食品衛生研究所
主任研究官

報告を議会に提出したのをきっかけに、2001年にはメチル水銀による健康影響（特に胎児毒性）の観点から、米国FDAは妊婦等が特定の種類の魚介類を摂取するのを制限するように勧告を出した¹⁾。その後、各国が同様の勧告を出したが、厚生労働省も2003年6月3日に「水銀を含有する魚介類等の摂食に関する注意事項」を出した²⁾。また、2004年3月にはJECFAがメチル水銀の

A. 研究目的

2000年に米国National Research Councilがメチル水銀の健康影響に関する

PTWI（暫定耐容週間摂取量）を3.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週から1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週に変更した（ただし、総水銀のPTWIは5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週のまま継続されている）。さらに、平成17年8月12日に厚生労働省は、「妊婦への魚介類の摂食と水銀に関する注意事項」の変更新案³⁾を示した。

このような状況のもとで、魚介類中のメチル水銀分析法のもつ意味が大きくなっている。現在の厚生労働省による公定法⁴⁾は、塩酸酸性ベンゼン抽出-システイン・アセテート溶液転溶-塩酸酸性ベンゼン再抽出-パックドカラム-ECD-GC 分析によるものであるが、この方法では抽出過程でエマルジョンが形成され、メチル水銀の濃度が低くでるとの指摘がなされている。エマルジョンの形成には試料中のタンパク質や脂肪等が関与しているとされており、分析に際しては、これら試料成分の影響をできるだけ排除する必要がある。また、メチル水銀の抽出溶媒や再抽出溶媒としてベンゼンやクロロホルムを使用することは、人への健康影響や排水基準の観点からの問題がある。

そこで昨年度の本研究では、従来法をベースにタンパク質の影響を軽減する目的でアルカリ/エタノール処理をした後、あるいは脂肪分の除去を目的にアセトン・トルエン処理をした後、塩酸酸性下でのメチル水銀の抽出溶媒及び再抽出溶媒としてトルエンを使用する分析法について検討を行った。

これまでに、エマルジョン形成を防ぐための改良前処理法が幾つか報告されており、その中で、アルカリ分解-ジチゾン抽出法⁵⁾はアルカリ分解によりタンパク質を

分解し、ヘキサソール洗浄により脂肪を除去後、錯形成剤としてジチゾンを使用することにより、効率よくメチル水銀を抽出することができる方法とされており、環境省法⁶⁾として採用されている。

そこで今年度は、環境省法に準拠した場合の添加回収率、再現性及び実用性等についての検証を行った。また、昨年度検討した中で、比較的添加回収率の良かったアセトン/トルエン前処理-システイン抽出法との比較を行った。

一方、環境省法では検量線作成用の標準溶液も試験溶液と同様に操作している。そこで、昨年度の改良法において検量線作成法を変更した時の、添加回収率やメチル水銀/総水銀の比率についての検討を、(財)日本食品分析センターに委託した。以下の各項目において、2の部分はその部分である。

B-1. 研究方法

1. 試料・試薬

試料は市販のサバ1試料及びメバチマグロ1試料の筋肉部を用いた。

メチル水銀の測定には残留農薬分析用の溶媒を、総水銀の測定には日本インストルメンツ社製の添加剤を用いた。

メチル水銀標準溶液：塩化メチル水銀12.5 mgをトルエンに溶解し、100 mlとした。更に、これをトルエンで100倍希釈し、メチル水銀標準溶液とした（水銀として1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）。

メチル水銀・システイン溶液：25 mlの分液ロートに0.1%L-システイン溶液10 ml及び塩化メチル水銀標準溶液1 mlをとり、3分間振とう抽出し、メチル水銀を水

相（下相）に移行させ、静置後、下層を 10 ml 容共栓試験管に移し、遠心分離（1200 rpm で 3 分間）後、密栓して冷暗所に保存した（1 ヶ月毎に調製）。

2. 装置及び器具

2.1 塩化メチル水銀分析

パックドカラムでの分析

GC：島津製作所製 GC14A(ECD)、カラム：固定相 Hg-20A、固定相担体 Uniport HP (60-80 mesh)、ガラスカラム (3.0 mm × 1 m)。カラム充填後、注入口側に 500°C で 3 時間処理した NaCl を約 3 cm の高さに充填。カラム温度：180°C、注入口温度：200°C、検出器温度：220°C、キャリアガス：N₂(50 ml/min)、注入量：5 μl

キャピラリーカラムによる分析

GC：Agilent Technologies 5890 SERIES II(ECD)、カラム：ULBON

HR-Thermon-Hg (0.53 mm × 15 m)、インサートの下部に 500°C で 3 時間処理した NaCl を約 2.5 cm の高さに充填。カラム温度：100°C(1 min)-10°C/min-160°C(5 min)、注入口温度：200°C、検出器温度：230°C、キャリアガス：He (10 ml/min)、注入量：2 μl

2.2 総水銀分析

半自動微量水銀分析装置：日本インスツルメンツ社製〔試料加熱気化・金アマルガム捕集装置（マーキュリー/MA-1S）、水銀検出装置（マーキュリー/MD-1）〕

3. 分析法

3.1 メチル水銀分析法

抽出法 I（一般魚介類試料）

アルカリ/エタノール処理－塩酸微酸性ジチゾン/トルエン抽出－アルカリ洗浄－アルカリ性硫化ナトリウム溶液逆抽出－

塩酸微酸性下窒素ガス通気－ジチゾン/トルエン再抽出－アルカリ洗浄－塩酸洗浄－ECD-GC 法を検討した（図 1-1 にフローチャートを示す）。

抽出法 II（高濃度の水銀を含有する魚介類試料）

アルカリ/エタノール処理－塩酸微酸性ジチゾン/トルエン抽出－アルカリ性硫化ナトリウム溶液逆抽出－塩酸微酸性下窒素ガス通気－トルエン抽出－アルカリ洗浄－塩酸洗浄－ECD-GC 法を検討した（図 1-2 にフローチャートを示す）。

塩化メチル水銀濃度の計算法

$$\text{塩化メチル水銀濃度}(\mu\text{g/g}) = A(\mu\text{g/ml}) \times B \times D/C \times 1/E$$

A：抽出処理した検量線より求めた塩化メチル水銀（水銀として）μg/ml、B：再抽出に使用したジチゾン/トルエンあるいはトルエン量 ml、C：分離回収したジチゾン/トルエン溶液量 ml、D：抽出に使用したジチゾン/トルエン添加量 ml、E：試料採取量 g

検量線用のメチル水銀標準溶液の調製方法

メチル水銀・システイン溶液（水銀として 0.1 μg/ml）を抽出法 I では 0.05～0.375 ml (0.005～0.0375 μg)、抽出法 II では 0.25～1 ml (0.025～0.1 μg) の範囲で段階的にとり、抽出法 I 及び II に従ってそれぞれ操作し、検量線用のメチル水銀標準溶液を調製した。また、抽出に使用する試薬等からのブランクをチェックするため、両抽出法ともメチル水銀無添加の検量線標準溶液を同時に調製した。

3.2 総水銀分析法

日本インスツルメンツ社製半自動微量

水銀分析装置で分析した。

マサバは均一試料約 100 mg を精秤し、試験用の試料とした。メバチマグロは均一試料 1 g を精秤し、1 mol/L 水酸化カリウム溶液に溶解後、10 ml として試験用の試料とした。

B-2. 研究方法

1. 試料の調製法

検体として市販の魚を購入した。検体は頭、内臓、骨、尾、ヒレ及び皮を除いた後、均一化し、試料とした。検体情報を表 2-1 に示した。なお、陰性検体として、市販のムキエビを購入した。均一化し、添加回収試験用の試料とした。

2. 試験方法

1) メチル水銀の定量(公定法)

① 標準溶液の調製

塩化メチル水銀標準品約 62.6 mg を量りとり、ベンゼンに溶解、50 ml 定容し、塩化メチル水銀を水銀として、1,000 μ g/ml 含む溶液を調製した。これをベンゼンで適宜希釈し、塩化メチル水銀を水銀として 0.0025~0.1 μ g/ml 含む標準溶液を調製した。

② 検量線の作成

各濃度の標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高より検量線を作成した。

③ 分析操作

試料 3~5 g を 250 ml 容遠沈管に量りとり、イオン交換水 30 ml を加えホモジナイザーを用いてかくはんした。塩化ナトリウム 5 g、塩酸 10 ml 及びベンゼン 100 ml を加え 10 分間振とうした。2,000 r/min

で 5 分間遠心分離した後、ベンゼン層 25~50 ml を分取し、ろ紙(IPS[Whatman Papers Ltd.])を用いて脱水ろ過した。ベンゼン層が 50 ml になるようにベンゼンを適宜加えた後、システイン-アセテート溶液*20 ml を加え 5 分間振とうした。必要に応じて適宜 3,000 r/min で 10 分間遠心分離した。水層 5 ml を分取し、塩酸 2.5 ml 及びベンゼン 5 ml を加え 5 分間振とうし、ベンゼン層を試験溶液とした。試験溶液をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高よりメチル水銀の定量を行った。

*システイン-アセテート溶液

L-システイン塩酸塩一水和物 1.0 g、酢酸ナトリウム三水和物 0.8 g 及び塩化ナトリウム 12.5 g をイオン交換水に溶解し、100 ml に定容したもの

<ガスクロマトグラフ操作条件>

機種：GC-14A[島津製作所] 検出器 ECD、カラム：ULBON HR-Thermon-HG[信和化工] ϕ 0.53 mm \times 15 m、温度：試料注入口 250 $^{\circ}$ C、検出器 250 $^{\circ}$ C、カラム 125 $^{\circ}$ C、ガス圧力：ヘリウム(キャリアーガス) 100 kPa、窒素(追加ガス) 100 kPa、注入量：4 μ l

2) メチル水銀の定量(改良法A、公定法と同様に調製した標準溶液で定量)

① 標準溶液の調製

塩化メチル水銀標準品約 62.6 mg を量りとり、ベンゼンに溶解、50 ml 定容し、塩化メチル水銀を水銀として、1,000 μ g/ml 含む溶液を調製した。これをトルエンで適宜希釈し、塩化メチル水銀を水銀として 0.0025~0.1 μ g/ml 含む標準溶

液を調製した。

また、同様にエタノールで希釈し、塩化メチル水銀を水銀として2.5 $\mu\text{g/ml}$ 含む標準溶液を添加回収試験用として調製した。

②検量線の作成

各濃度の標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高より検量線を作成した。

③分析操作

試料1~2 gを50 ml容遠沈管に量りとり、アセトン25 mlを加え1分間振とうした。3,000 r/minで10分間遠心分離し、駒込ピペットを用いてアセトンを廃棄した。同様にアセトン洗浄操作を更に2回繰り返して行った。アセトン洗浄後の試料にトルエン20 mlを加え2分間振とうした。3,000 r/minで10分間遠心分離し、駒込ピペットを用いてトルエンを廃棄した。9 mol/l塩酸2.5 ml及びトルエン20 mlを加え5分間振とうした。3,000 r/minで10分間遠心分離し、駒込ピペットを用いて200 ml容分液漏斗にトルエン層を採取した。さらにトルエン20 mlを加え同様に抽出操作を2回繰り返して、抽出液を合わせた。20%食塩水20 mlを加えて軽く混合、水層を廃棄する操作を2回繰り返した後、トルエン層をろ紙(1PS[Whatman Papers Ltd.])を用いて脱水ろ過した。システイン-アセテート溶液*6 mlを加え5分間振とうした。水層3 mlを分取し、塩酸1 ml及びトルエン4 mlを加え5分間振とうした。トルエン層を分取し、硫酸ナトリウム(無水)を加えて混合、必要に応じて適宜トルエンを用いて希釈し、試験溶液とした。試験溶液を

ガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高よりメチル水銀の定量を行った。なお、陰性検体1 gに添加回収試験用標準溶液40 μl を添加し、同様の操作を行ったものを0.1 ppm相当の添加回収試験とした。操作の始めから添加したものを添加回収試験①、アセトン-トルエン洗浄が終了した時点から添加したものを添加回収試験②とし、それぞれの回収率を求めた。

*システイン-アセテート溶液

L-システイン塩酸塩一水和物1.0 g、酢酸ナトリウム三水和物0.8 g及び塩化ナトリウム12.5 gをイオン交換水に溶解し、100 mlに定容したもの

〈ガスクロマトグラフ操作条件〉

1)と同じ条件で測定した。

3)メチル水銀の定量(改良法B、試験溶液と同様の操作を行って調製した標準溶液で定量)

①標準溶液の調製

塩化メチル水銀標準品約62.6 mgを量りとり、ベンゼンに溶解、50 ml定容し、塩化メチル水銀を水銀として1,000 $\mu\text{g/ml}$ 含む溶液を調製した。これをエタノールで適宜希釈し、塩化メチル水銀を水銀として8及び0.8 $\mu\text{g/ml}$ 含む溶液を調製した。

表2-2のように水銀として各量の塩化メチル水銀を50 ml容遠沈管に採取した。9 mol/l塩酸2.5 ml及びトルエン20 mlを加え5分間振とうした。駒込ピペットを用いて200 ml容分液漏斗にトルエン層を採取した。さらにトルエン20 mlを加えて同様に抽出操作を2回繰り返して、抽出液

を合わせた。20%食塩水20 mlを加えて軽く混合、水層を廃棄する操作を2回繰り返した後、トルエン層をろ紙(IPS[Whatman Papers Ltd.])を用いて脱水ろ過した。システイン-アセテート溶液*6 mlを加え5分間振とうした。水層3 mlを分取し、塩酸1 ml及びトルエン4 mlを加え5分間振とうした。トルエン層を分取し、硫酸ナトリウム(無水)を加えて混合し、塩化メチル水銀を水銀として0.0025~0.1 μ g/ml含む標準溶液を調製した。

*システイン-アセテート溶液

L-システイン塩酸塩一水和物1.0 g、酢酸ナトリウム三水和物0.8 g及び塩化ナトリウム12.5 gをイオン交換水に溶解し、100 mlに定容したもの

②検量線の作成

各濃度の標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高より検量線を作成した。

③分析操作

2)で得られた試験溶液をガスクロマトグラフに注入し、得られたピーク高よりメチル水銀の定量を行った。また、同様に添加回収試験の回収率も求めた。

<ガスクロマトグラフ操作条件>

1)と同じ条件で測定した。

4)総水銀の定量

①検量線の作成

水銀標準液を適宜希釈した後、0~0.2 μ gを段階的に測定し、得られた吸光度より検量線を作成した。

②分析操作

試料0.5~1 gを還流冷却器を付けた

100 ml容なす形フラスコに入れ、硝酸約20 ml及び硫酸4 mlを徐々に加え、石棉上直火で褐色の煙の発生が終わるまで加熱した。冷後、過マンガン酸カリウム約0.5 gを加え、加熱した。液の紫紅色が消えたときは、更に過マンガン酸カリウム約0.5 gを加え、加熱した。冷後、還流冷却器を水で洗い、その洗液を合わせた後、液の色が無色透明となるまで20%塩酸ヒドロキシルアミン溶液を滴加した。100 ml容メスフラスコに移し替えた後、水で定容したものを試験溶液とした。試験溶液の適量を200 ml容三角フラスコに取り、水を加えて全量を100 mlとした後、三角フラスコを水銀測定用原子吸光分析装置に設置し、10%塩化第一スズ溶液2 mlを加え、密栓した後、バブリングを開始し、総水銀の定量を行った。
<還元気化原子吸光光度計操作条件>
機種：HG200 及び HG-320J[平沼産業株式会社] 波長：253.7 nm

C-1. 研究結果

1. メチル水銀ジチゾネートの検量線及びガスクロマトグラム

環境省法⁶⁾に従い、Hg-20A/Uniport HP (3.0mm×1m)カラム(注入口側に、500℃で3時間処理したNaClを約3cmの高さに充填)を用いて測定した。測定用の検量線はシステイン溶液に結合させたメチル水銀を段階的に取り抽出法I及びIIに従って抽出処理し、生成したメチル水銀ジチゾネートを用いて作成した。メチル水銀ジチゾネートはガスクロマトグラフの注入部において熱分解し、カラム中のNaClの塩素イオンと反応して塩化メチル水銀とな

る。

一般魚介類試料用の抽出法 I (総水銀濃度: $0.1 \mu\text{g/g}$ 未満) によるメチル水銀ジチゾネート及び塩化メチル水銀の検量線を図 1-3 に、検量線の中で最も高い濃度 ($0.0225 \mu\text{g/ml}$) のメチル水銀ジチゾネート及び塩化メチル水銀のガスクロマトグラムを図 1-4 に示す。メチル水銀ジチゾネートの検量線は $0.003 \sim 0.0225 \mu\text{g/ml}$ (添加量 $0.005 \sim 0.0375 \mu\text{g}$) の範囲で良好な直線性 ($R^2=0.9999$) を示し、各測定値は塩化メチル水銀の $88.8 \sim 91.8$ (平均 91.7) % であった。

高濃度の水銀を含有する魚介類試料用の抽出法 II (総水銀濃度: $0.1 \mu\text{g/g}$ 以上) によるメチル水銀ジチゾネート及び塩化メチル水銀の検量線を図 1-5 に、検量線の中で最も高い濃度 ($0.020 \mu\text{g/ml}$) のメチル水銀ジチゾネート及び塩化メチル水銀のガスクロマトグラムを図 1-6 に示す。メチル水銀ジチゾネートの検量線は $0.005 \sim 0.02 \mu\text{g/ml}$ (添加量 $0.025 \sim 0.1 \mu\text{g}$) の範囲で良好な直線性 ($R^2=0.9997$) を示し、各測定値は塩化メチル水銀の $81.1 \sim 83.3$ (平均 82.4) % であった。

従来、塩化メチル水銀の分析にはパックドカラムが使用されてきた。昨年度、ULBON HR-Thermon-Hg ($0.53 \text{ mm} \times 15\text{m}$) キャピラリーカラムが塩化メチル水銀の分析に適応できるかどうかを検討した。本キャピラリーカラムのカラム分離及びピーク形状等の結果は塩化メチル水銀分析への適応性を示したことから、魚介類中のメチル水銀分析法の検討に使用した。そこで、ULBON HR-Thermon-Hg キャピラリーカラムがメチル水銀ジチゾネート

の分析に適用できるかどうかを検討した。パックドカラムの場合、カラムの注入口側に約 3 cm の高さで NaCl を充填するが、キャピラリーカラムではマイクロシリンジの針先が接触しないようにインサートの下部に約 2.5 cm の高さで NaCl を充填した。インサートへの NaCl 充填は塩化メチル水銀のカラム分離、感度等に対して影響を及ぼさなかった。しかし、抽出法 II によるメチル水銀無添加の検量線用標準溶液においては、ジチゾン由来成分のピークが塩化メチル水銀のピークと重なった (図 1-7)。また、トルエン抽出液を最後に塩酸で洗浄するためか、メチル水銀ジチゾネートより生成した塩化メチル水銀のカラム分離及び感度が急激に低下することから、ULBON HR-Thermon-Hg キャピラリーカラムのメチル水銀ジチゾネート分析への適用は困難であった。抽出法 I の場合もジチゾン抽出及び塩酸洗浄を行うことから、キャピラリーカラムでのメチル水銀ジチゾネート分析は同様な結果を示すものと考えられる。以上の結果からメチル水銀ジチゾネートの分析は Hg-20A/Uniport HP ($3.0\text{mm} \times 1\text{m}$) カラムを使用して行うことにした。

環境省法⁶⁾では抽出処理した検量線の直線性が確認されれば、試料測定時には検量線の範囲内の 1 点、例えば最高濃度の測定値を用いて比例式でメチル水銀濃度を算出しても良いとされている。しかし、カラムを測定時毎に装着して分析する必要があるためか、メチル水銀ジチゾネートの検量線はその勾配が常に一定でなく、抽出毎に 3 段階の濃度で作成する必要があった。また、両抽出法とも試料溶液のピーク面積

が検量線を越えた場合には直線範囲内に入るよう適宜希釈して測定した。

2. 抽出法Ⅰ及び抽出法Ⅱによる魚肉からの塩化メチル水銀の添加回収率

抽出法Ⅰによるマサバ筋肉部及び抽出法Ⅱによるメバチマグロ筋肉部からの塩化メチル水銀の添加回収率を表1-1に示した。マサバは試料1gあたり塩化メチル水銀(水銀として)0.05 μ gを、メバチマグロは試料1gあたり塩化メチル水銀(水銀として)1 μ gを添加した。塩化メチル水銀の添加回収率はマサバ102%、メバチマグロ100%であり、魚種、添加量による大きな相違はみられなかった。また、マサバ及びメバチマグロ筋肉部中のメチル水銀濃度の5回繰返し試験における変動係数はそれぞれ3.42%、4.58%であった。

3. 抽出法Ⅰ及び測定法Ⅱによる魚肉中の総水銀に占めるメチル水銀の含有率

表1-2は抽出法Ⅰによるマサバ筋肉部中及び抽出法Ⅱによるメバチマグロ筋肉部中の総水銀に対するメチル水銀の含有率を示したものである。総水銀濃度はマサバ0.0495 μ g/g、メバチマグロの0.995 μ g/gと非常に異なるが、総水銀中のメチル水銀の含有率は96.3~98.4%であり、大きな相違は見られなかった。

C-2. 研究結果

試験結果を表2-3に、各方法でのメチル水銀の結果と総水銀の結果の比率を表2-4に、改良法の添加回収試験の結果を表2-5に示した。

メチル水銀のクロマトグラムの一例及び検量線の一例を図2-1~2-9に示した。

メチル水銀分析について、公定法、改良法A及び改良法Bの結果を比較したところ、改良法Bで最も高い結果が得られた。しかし、改良法Bでは調製した標準溶液の測定値に再現性が得られなかった。標準溶液を6回調製したところ、3回については検量線の直線性が良好であり再現性も得られたが(図2-8)、残りの3回については検量線の直線性が乏しく、再現性も得られなかった(図2-9)。従って、改良法Bについては、検量線の直線性及び再現性ともに良好であった標準溶液を用いて定量した。

D. 考察-1

錯形成剤としてジチゾンを用いる方法では抽出処理した検量線を使用することにより、魚種、水銀濃度に関係なく総水銀に占めるメチル水銀の含有率は96%以上の高い値を示した。環境省法に準じた方法によると考えられる「国立水俣病総合研究センターでの総水銀及びメチル水銀の検査結果」⁷⁾ではメバチマグロにおける総水銀に対するメチル水銀の含有率は平均95%の値を示している。また、錯形成剤としてチオ硫酸ナトリウムを使用するCabaneroら⁸⁾の報告においても、抽出処理した検量線を用いることにより93%以上の総水銀に対するメチル水銀含有率を示している。

昨年度検討したアセトン/トルエン前処理-システイン法では、今回検討に用いた同一メバチマグロ試料における添加回収率は85.9%、総水銀に対するメチル水銀の含有率は83.5%であった。しかし、これらの値は無処理の塩化メチル水銀標準溶液

を用いて作成した検量線から算出したものであった。同時に行ったメチル水銀・システイン溶液（試料中の総水銀量にほぼ等しいメチル水銀を水銀として1 μ g添加）の抽出操作を通しての回収率で補正すると、添加回収率及び総水銀に対するメチル水銀の含有率はそれぞれ97%、95%となる。従って、アセトン/トルエン前処理-システイン抽出法においても抽出処理した検量線を用いることにより、添加回収率及び総水銀に対するメチル水銀の含有率は高い値を示すものと推察される。また、アセトン/トルエン前処理-システイン抽出法では操作が比較的簡単であるのに対して、アルカリ分解-ジチゾン抽出法は操作が煩雑で、精度の高い分析結果を得るにはかなりの熟練を要する。

D. 考察-2

試験溶液と同様の操作を行って調製した標準溶液を用いて検量線を書く改良法Bでは、調製した標準溶液の測定値に再現性が得にくかった。6回標準溶液を調製したが、3回については検量線の直線性が良好であり再現性も得られたが（図2-15）、残りの3回については検量線の直線性が乏しく、再現性も得られなかった（図2-16）。従って、改良法Bについては、検量線の直線性及び再現性ともに良好であった標準溶液を用いて定量した。その結果、総水銀に対するメチル水銀の比率は、69%から87%に上昇した。

E-1. 結論

1) 環境省法として採用しているアルカリ分解後、ジチゾン錯形成剤とする方法を

検討した。

2) 抽出法I及び抽出法IIによる検量線の作成に用いたメチル水銀ジチゾネートの各測定値は塩化メチル水銀のそれぞれ88.8~91.8（平均91.7）%、81.1~83.3（平均82.4）%であった。

3) 抽出法Iによるマサバ筋肉部からの塩化メチル水銀の添加回収率は102%、抽出法IIによるメバチマグロ筋肉部からの塩化メチル水銀の添加回収率は100%であった。

4) マサバ及びメバチマグロ筋肉部中のメチル水銀濃度の5回繰返し試験における変動係数はそれぞれ3.42%、4.58%であった。

5) 抽出法Iによるマサバ筋肉部中の総水銀に対するメチル水銀の含有率は98.4%、抽出法IIによるメバチマグロ筋肉部中の総水銀に対するメチル水銀の含有率は96.3%であり、両魚種には相違はほとんど見られなかった。

6) 本法は操作が非常に煩雑で、精度の高い分析結果を得るには、かなりの熟練を要すると考えられた。

E-2. 結論

検量線用標準溶液を試験溶液と同様の操作を行って調製した改良法Bでは、検量線の直線性が乏しく、再現性も得にくかったが、総水銀に対するメチル水銀の比率は、69%から87%に上昇した。

F. 参考文献

- 1) <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/admehg.html>
- 2) <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/06/s0603-3.html>