

# 海水中の極微量メチル水銀の定量

江 川 博 明 \*\*

田 島 静 子 \*

## 概 要

メチル水銀（以下 MeHg と略記する）の定量は通常、試料をベンゼンおよびグルタチオンによる抽出後ガスクロマトグラフィーを用いて行われるが、海水中の MeHg 濃度は一般に非常に低いため、通常の方法は、そのような試料に対して直接には適用できない。

本研究は海水中の極微量 MeHg を、選択吸着性をもつキレート樹脂による吸着—溶離を利用して前段濃縮の後、冷原子吸光光度法により定量する方法を検討した。

エピサルファイド基を有する MR 型キレート樹脂(A)が、MeHg の吸着および塩酸による溶離の両面においてすぐれていた。樹脂(A)に対する MeHg の吸着は 30℃ で振とうすることにより 12 時間後に平衡に達した。純水、人工海水および海水に添加した MeHg の検量線は Hg として 0.005~0.05 ppb の濃度範囲においてすぐれた直線性をもち、また、海水中の無機水銀やその他の種々のイオンにより影響されないことが見いだされた。

つぎの方法により Hg として 0.005~0.05 ppb 濃度の極微量 MeHg を定量することができると。キレート樹脂(A) 0.2 g を海水試料 1 l に加え 30℃ で 15 時間振とうする。試料から分離した樹脂を 4N-HCl 25 ml と 30℃ で 3 時間振とうする。溶離液中の MeHg をまずベンゼンで、つぎにグルタチオン水溶液で抽出する。グルタチオン水溶液に抽出された MeHg を冷原子吸光光度法により定量し、MeHg 濃度を別に作製した検量線から求める。

以上の方法を用いて水俣湾およびその周辺海域で採水した海水試料中の MeHg 濃度を定量した。

## 1. 緒 言

水銀を含む底質を除去するために浚渫工事を行う過程で、何らかの条件により、水銀が海水中に溶出する可能性がある。海水中の溶存水銀は、直接、魚体中に蓄積することが報告<sup>1)</sup>されている。したがって、水銀による二次汚染を防ぐために、工事の期間中、海水中の水銀、とくにメチル水銀 (MeHg) の含有量を常に監視する必要があると考えられる。

水中の MeHg の定量法として、通常、試料のベンゼン抽出濃縮を行い、グルタチオン逆抽出後ベンゼン再抽出物についてガスクロマトグラフィーが行われている。しかし、海水中の MeHg 濃度は一般に非常に低いため、その定量は通常の方法では困難である。

極微量の総水銀の定量法に関しては種々の報告があり、試料を前段濃縮した後に冷原子吸光

\*\* 熊本大学工学部教授，工博，本協会理事

\* 熊本大学工学部工業化学教室

光度法を適用する方法がある。西村ら<sup>2)</sup>は海水中の総水銀濃度の定量に際し、試料を硫酸酸性にして水銀濃度を固定した後、水銀を還元気化し水銀蒸気を銀粒子に捕集濃縮する方法によって海水中の0.005 ppbレベルの総水銀を定量したことを報告している。一方、BaltisbergerらはIsothiocyanatopentaquo chromium試薬を用いてイオン交換法により、 $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ 、 $\text{Hg}^{2+}$  および  $\text{Hg}_2^{2+}$  の20 mg以下を含む試料からこれらを分離同定している。しかし、この方法は試薬によるバックグラウンドの影響をうけるため、0.1 ppb以下の環境水中の水銀については定量されていない。

本研究は海水中に溶存する極微量  $\text{MeHg}$  を選択吸着性をもつMR型キレート樹脂に吸着させ、塩酸で溶離して前段濃縮した後ベンゼンおよびグルタチオンで抽出し、冷原子吸光光度法により定量する方法を検討した。

## 2. 実験

### 2・1 キレート樹脂

実験に用いたMR型キレート樹脂は本研究室で合成したもので、 $\text{MeHg}$  に対して選択吸着性をもつものである。これらの樹脂の官能基部分の推定構造を図1に示す。また、イミノ二酢酸基を有する市販のキレート樹脂、Dia ion CR-10 を比較のために用いた。

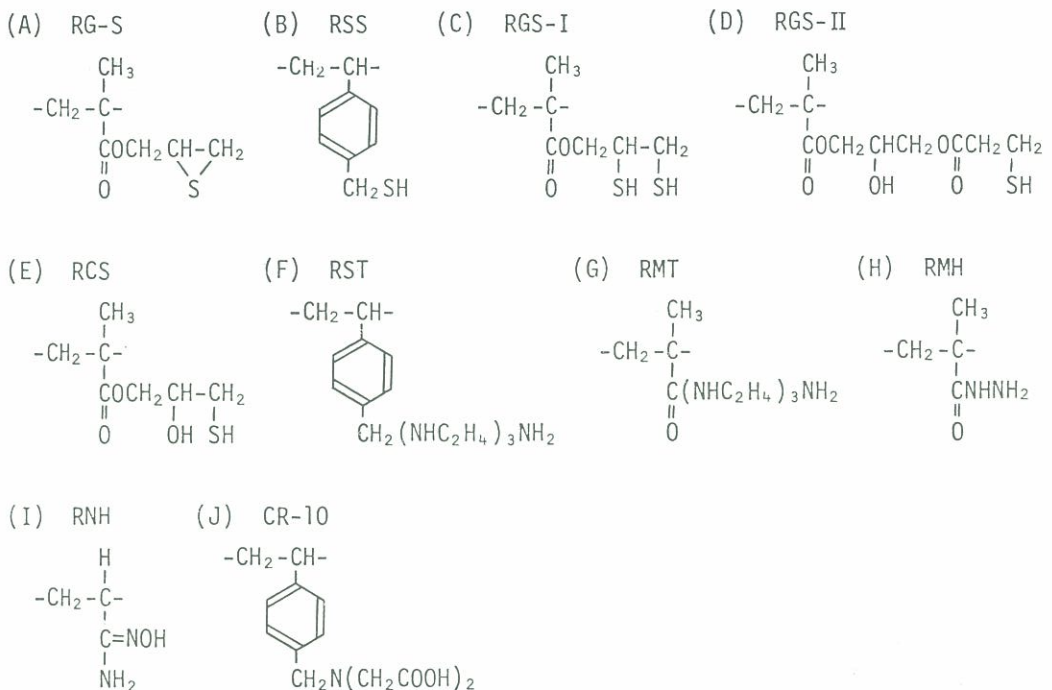


Fig.1 Macroreticular chelating resins

## 2・2 試薬

メチル水銀 (MeHg) および無機水銀標準液 : MeHg および無機水銀標準液の調製には和光純薬工業(株)の試薬特級の塩化メチル水銀および塩化第二水銀を使用し、それぞれ  $100 \mu\text{gHg/ml}$  の水溶液を調製し、標準原液とした。これを純水で希釈し、 $1 \mu\text{gHg/ml}$  の中間標準液を調製し、使用の直前に希釈して  $10 \text{ ngHg/ml}$  の標準液とした。本文中における MeHg および無機水銀濃度はすべて  $\text{ngHg/ml}$  の値を ppb で示した。

塩酸、ベンゼン、還元型グルタチオンその他の試薬 : 和光純薬工業(株)の試薬を使用した。

人工海水 : Lyman-Fleming<sup>4)</sup>の方法により調製した。

## 2・3 吸着操作

一定重量のキレート樹脂を共栓三角フラスコにとり、これに MeHg 溶液を加えて密封し、 $30^\circ\text{C}$  の恒温水槽中で所定時間機械的に振とうした。密封にはパラフィルムを用いた。吸着後、樹脂を濾過して溶液から分離し、純水で洗った後室温で乾燥した。

## 2・4 溶離操作

MeHg を吸着した樹脂を  $100 \text{ ml}$  共栓三角フラスコにとり、塩酸溶液を加えて密封し、 $30^\circ\text{C}$  の恒温水槽中で3時間機械的に振とうした。溶離後、溶離液から樹脂を分離した。

## 2・5 抽出操作

溶離液の塩酸の濃度を1規定に調整し、溶離液中の MeHg をベンゼン  $100 \text{ ml}$  で抽出し、つぎにベンゼン層から  $0.05\%$  グルタチオン水溶液  $10 \text{ ml}$  中に抽出した。

## 2・6 水銀の測定法

水銀はリガクマーカーキュリーSP装置(理学電機工業(株)製)を使用して加熱気化-冷原子吸光光度法により測定した。装置の水銀の検出感度は通常、 $0\sim 5 \text{ ng}$  レンジを用いた。

## 3. 結果と考察

### 3・1 キレート樹脂のメチル水銀吸着性と溶離性

まず、各種キレート樹脂の低濃度 MeHg に対する吸着性と、吸着された樹脂の塩酸による溶離性を検討した。

キレート樹脂(A)~(J)をそれぞれ  $0.1 \text{ g}$  ずつ  $100 \text{ ml}$  共栓三角フラスコにとり、これに  $10 \text{ ppb}$  MeHg 標準液  $50 \text{ ml}$  を加え、 $30^\circ\text{C}$  で3時間振とうし、樹脂を分離し、溶液中の残存水銀量を測定した。一方、 $10 \text{ ppb}$  MeHg 標準液  $50 \text{ ml}$  に樹脂を加えずに同様の操作を行ったものについて水銀量を測定し、両者の差から MeHg の吸着量を求めた。

MeHg の吸着後、溶液から分離した樹脂を二日間風乾し、 $100 \text{ ml}$  共栓三角フラスコにとり、これに MeHg の溶離剤として一方に  $2\text{N-HCl}$   $25 \text{ ml}$  を加え、 $30^\circ\text{C}$  で3時間振とうした。つぎに、溶離液の MeHg を前記した操作により抽出し、グルタチオン水溶液中の水銀量を測定し、別に作製した検量線より、MeHg の溶離量を求めた。検量線は、 $1\text{N-HCl}$   $100 \text{ ml}$  に Me



Hg を Hg として 0 ~ 500 ng 加えたものについて、抽出操作以降を行ったものから作製した。

MeHg の吸着量および溶離量は樹脂 1 g 当りに換算してあらわし、その結果を表 1 に示す。

Table 1 Adsorption and elution of methylmercury on chelating resin

Resin symbol	Adsorption <sup>1)</sup>		eluent <sup>3)</sup>	Elution <sup>2)</sup>	
	MeHg adsorbed ( $\mu\text{g}$ as Hg/g-R)	Percentage of adsorption (%)		MeHg eluted ( $\mu\text{g}$ as Hg/g-R)	Percentage of elution (%)
(A) RG-S	4.37	95.0	$\alpha$	3.80	87.0
	4.37	95.0	$\beta$	4.38	100.2
(B) RSS	4.53	98.6	$\alpha$	1.99	43.9
	4.60	100	$\beta$	1.99	43.3
(C) RGS-I	4.30	93.5	$\alpha$	3.11	72.3
	4.37	94.9	$\beta$	3.96	90.6
(D) RGS-II	4.13	89.9	$\alpha$	3.43	83.1
	4.13	89.9	$\beta$	3.54	85.7
(E) RCS	4.30	93.5	$\alpha$	3.85	89.5
	4.30	93.5	$\beta$	4.31	100.2
(F) RST	3.40	73.9	$\alpha$	2.05	60.3
	3.35	72.8	$\beta$	2.83	84.5
(G) RMT	2.03	47.3	$\beta$	1.92	94.2
(H) RMH	3.40	73.9	$\alpha$	2.95	86.8
	3.47	75.4	$\beta$	3.10	89.3
(I) RNH	2.17	47.1	$\alpha$	1.77	81.6
	2.08	45.3	$\beta$	1.83	88.0
(J) CR-10	3.42	79.5	$\beta$	2.94	86.0

1) 0.1 g of resin was shaken with 50ml of 10ppb (as Hg) MeHg solution for 3 hours at 30°C. 2) Resin adsorbed MeHg was shaken with HCl for 3 hours at 30°C. 3)  $\alpha$ : 2N-HCl 50ml,  $\beta$ : 4N-HCl 25ml

樹脂(A), (B), (C)および(E)がMeHgに対して良好な吸着性を示した。また、樹脂(A)および(E)に吸着されたMeHgは4N-HClによって完全に溶離されたが、樹脂(B)および(C)に吸着されたMeHgの溶離剤としては、2N-HClよりも4N-HClの方がすぐれていること、およびMeHgは溶離操作の過程で分解しないことが明らかになった。

以上の結果から、エピサルファイド基を有するMR型キレート樹脂(A)がこの研究の目的にも

っとも適当な樹脂であることが見いだされた。

### 3・2 メチル水銀の吸着平衡時間

樹脂(A)に対するMeHgの吸着平衡時間について検討した。極微量濃度のMeHgについて実験を行ったので、樹脂に対するMeHgの吸着量を吸着後の残存水銀量から求めることができない。そこで、MeHgの吸着、溶離および抽出の全操作過程を通しての回収率を求め、各吸着時間毎の回収率の経時変化からMeHgの吸着平衡時間を求めた。

キレート樹脂(A)0.2gを2ℓ共栓三角フラスコにとり、これに、10 ppb MeHg 標準液を希釈して調製した0.05 ppb MeHg 水溶液1ℓを加え密封し、30℃で3～48時間振とうし、MeHgを樹脂に吸着させた。所定時間後に樹脂を分離し、二日間風乾した後、一定条件で4N-HClを用いて溶離操作を行った。溶離液中のMeHg量を抽出操作後に測定し、別に作製した検量線よりMeHgの溶離量を求め、各吸着時間に対するMeHgの回収率を求めた。検量線は1N-NCl 1.00mlにMeHgをHgとして0～50ng加えたものについて抽出操作を行って作製した。

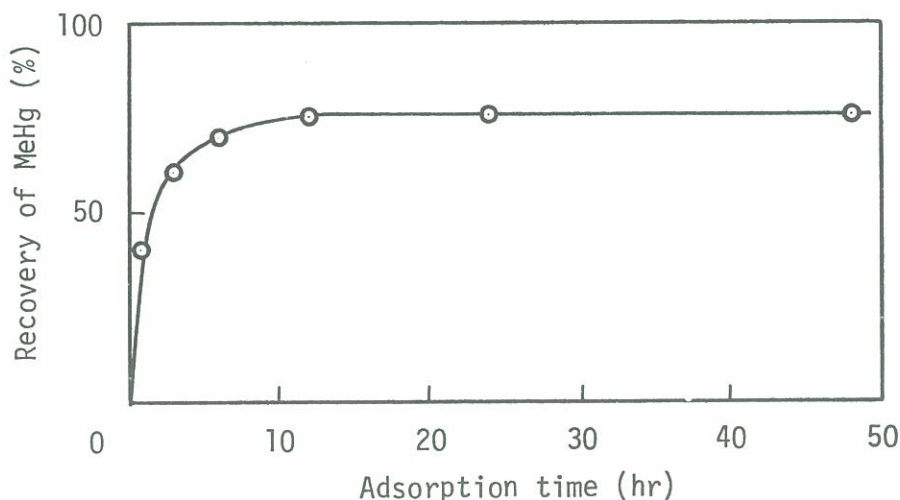


Fig. 2. Effect of adsorption time on recovery of methylmercury.

Adsorption : 0.2g of resin/1 liter of 0.05 ppb (as Hg) MeHg solution, shaken at 30℃.

Elution : 4N-HCl 25ml, shaken for 3 hr at 30℃.

図2に示すように、MeHgの吸着は30℃で振とうすることにより12時間後に平衡に達することが明らかになった。

つぎに、吸着から溶離までの放置時間がMeHgの回収率に与える影響について検討した。結果を図3に示す。

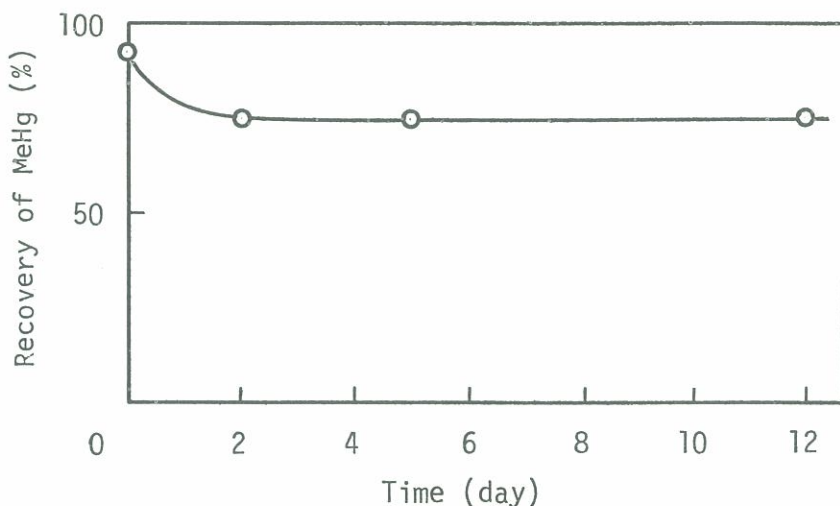


Fig. 3. Effect of standing time of the resin separated from the solution after adsorption on the recovery of methylmercury.

MeHgの回収率は、吸着後直ちに溶離を行った場合、二日風乾後に溶離した場合よりもやや高い値を示すが、室温放置二日以降において一定であり、放置時間は回収率に影響を与えないことが認められた。

MeHgの回収率は、吸着・溶離・抽出を通して100パーセントではないが、吸着が平衡に達した後一定になることが見いだされたので、天然水中の極微量MeHgをキレート樹脂による吸着-溶離を利用する前段濃縮によって定量することが可能であると考えられる。

### 3・3 水溶液中の極微量メチル水銀の検量線

水溶液中の極微量濃度のMeHgに対して検量線が得られるか否かについて検討を行った。

ガラス器具類は、その水銀汚染を除くために、使用前に予め、EDTAか $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液で洗滌し、さらに希酸で洗滌した後水洗して用いた。

10 ppb MeHg標準液を純水で希釈して0.01~0.05ppb濃度のMeHg溶液を調製し、試料水とした。

キレート樹脂(A)0.2gを2l共栓三角フラスコにとり、これに前記試料水1lを加えて密封し、30℃で15時間振とうしてMeHgを樹脂に吸着させ、樹脂を分離し、室温で二日間乾燥した。つぎに、MeHgを吸着した樹脂を100ml共栓三角フラスコにとり、4N-HCl25mlを加えて密封し、30℃で3時間振とうして樹脂からMeHgを溶離させた。溶離液の塩酸濃度を1規定に希釈した後樹脂を瀧別し、溶離液中のMeHgをベンゼンで抽出し、ついでグルタチオンで抽出した。全操作を通して試料1l中の極微量MeHgはそれぞれ最終的に10mlの0.05%グルタチオン水溶液に濃縮される。このグルタチオン水溶液1ml中の水銀量を冷原子吸光度法により測定した。測定値はMeHgの回収量(ng as Hg)としてあらわし、その結果を図4に示す。

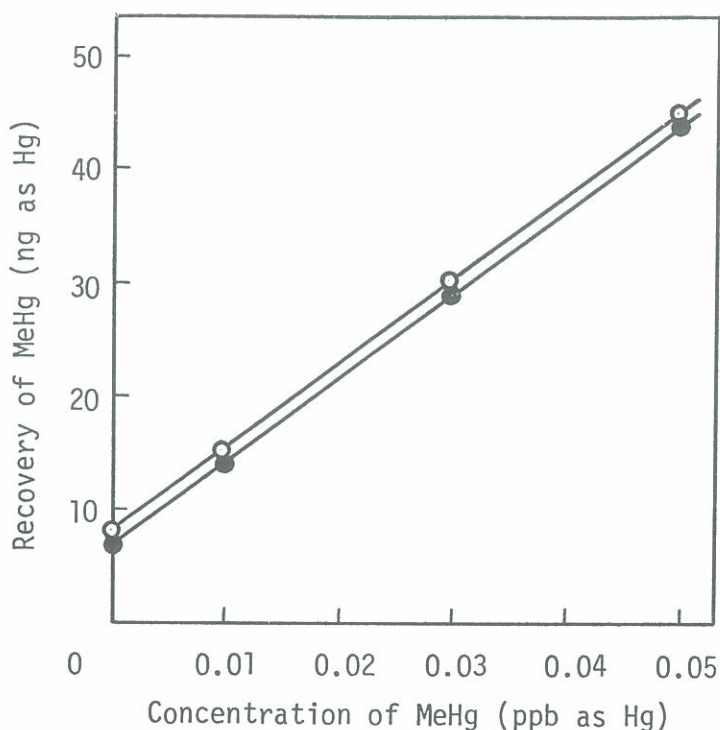


Fig. 4. Calibration curve of methylmercury add to deionized water

● : First run,      ○ : Second run

各濃度に対するMeHgの回収量はすぐれた直線関係を示し、再現性のある検量線が得られた。以上のことから、この検量線にもとづいて水中の極微量MeHgの定量ができることが明らかになった。

なお、MeHg濃度0 ppbにおいて測定された値は、定量操作過程で用いたグルタチオンなどの試薬類や樹脂自体に由来するものと考えられる。

#### 3・4 メチル水銀の検量線におよぼす無機水銀の影響

通常、天然水中には無機水銀がMeHgよりも高濃度に存在しており、しかも、両者ともキレート樹脂に吸着される。そこで、MeHgの検量線におよぼす共存無機水銀の影響について検討した。

0.01~0.05 ppbの各濃度のMeHg水溶液に0.5 ppbの無機水銀を共存させた試料水を調製し、前記した操作と同様にして、試料水1 ℓ中の水銀をキレート樹脂(A)0.2 gを用いて吸着し、4N-HClで溶離した後最終的にグルタチオン中に抽出し、各濃度の試料水に対するMeHgの回収量を求め、検量線を作製した。無機水銀の濃度は環境基準にもとづいて0.5 ppbとした。同時に、MeHgのみの0.01~0.05 ppb水溶液について検量線を作製した。



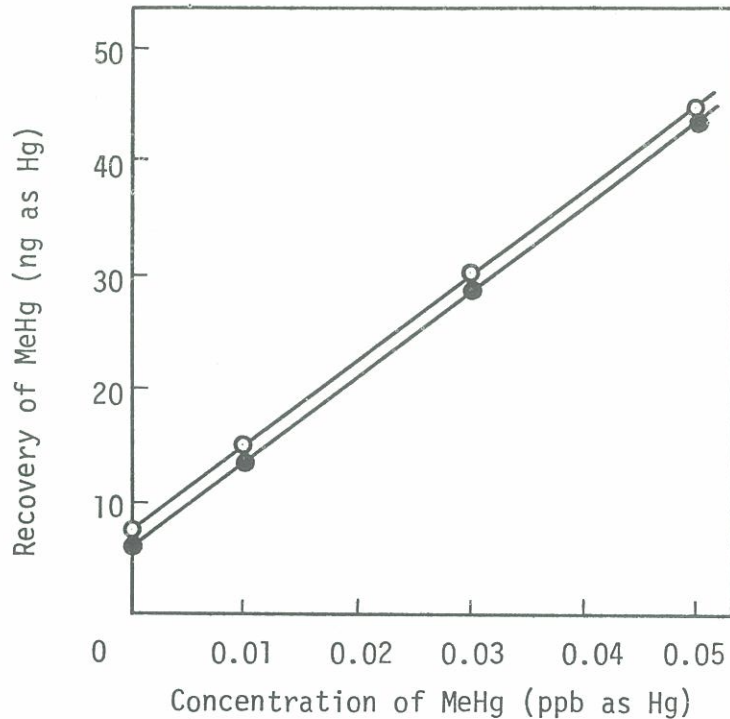


Fig. 5. Effect of inorganic mercury on the determination of methylmercury.  
 ○: Mixture of MeHg and  $\text{Hg}^{2+}$  (0.5 ppb as Hg) added to deionized water.  
 ●: MeHg added to deionized water.

その結果、図5に示すように、無機水銀が共存する場合もMeHgのみの検量線とほとんど同一の検量線が得られ、無機水銀は、この方法におけるMeHgの定量にほとんど影響しないことが明らかになった。MeHgと無機水銀が共存する試料水からは両者とも樹脂に吸着されるが、MeHgは、つぎの溶離と抽出の操作過程で無機水銀から能率よく分離されることが明らかになった。無機水銀は4H-HClではほとんど溶離されず、わずかに溶離された場合も、1N-HCl中からはベンゼンにほとんど抽出されない。

### 3・5 海水中の極微量メチル水銀の検量線

本研究の目的とする海水中のMeHgの定量に際して、海水中に存在する種々のイオンが、極微量MeHgの定量操作の過程に影響を与えるか否かを検討した。

人工海水にMeHgを添加して0.01~0.05ppb濃度のMeHg溶液を調製し、前項と同様にし各濃度に対するMeHgの回収量を求め、検量線の作製を試みた。同時に、純水にMeHgを同じ範囲の濃度に添加したものについて検量線を作製した。人工海水中のMeHgの検量線は、図6に示すようにすぐれた直線性を示すとともに、純水中のMeHgの検量線とほぼ一致した。



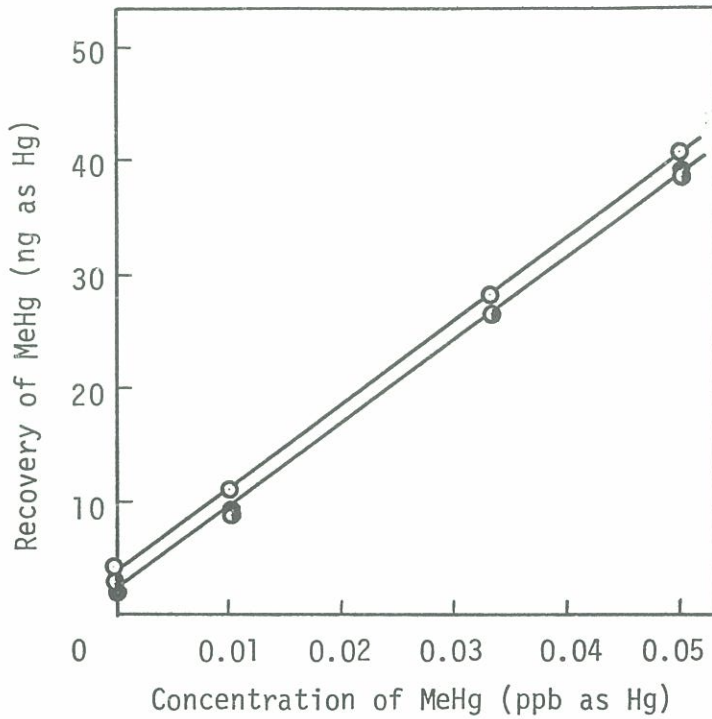


Fig. 6. Calibration curve of methylmercury added to synthetic sea water<sup>\*)</sup>.

○ ○ : MeHg added to the synthetic sea water (dubicate runs).

○ : MeHg added to deionized water.

\*) Prepared by the method of Lyman-Fleming.

二つの検量線を比較した結果、MeHgは、海水中に存在する種々のイオンの共存のもとでも選択的にキレート樹脂(A)に吸着され、4N-HClによって溶離されることが明らかになった。

海水中の無機水銀を含めて種々のイオンは極微量濃度のMeHgの検量線に影響を与えないことが見いだされたので、実際の海水中のMeHgを定量するための検量線を作製した。検量線を作製するために使用する海水は、水銀による汚染がないと考えられる海域から採水し、No.1の濾紙で濾過したものをを用いた。MeHgを0.005~0.05ppbの濃度範囲に添加して1時間よく振とうした後、前記と同様にして検量線を作製した。

図7に示すように、海水中の各濃度のMeHgの回収量は三回の測定においてよく一致し、検量線は直線性を示した。

以上の結果から、海水中に溶存する極微量MeHgを0.005~0.05ppbの濃度範囲において定量できることが明らかになった。

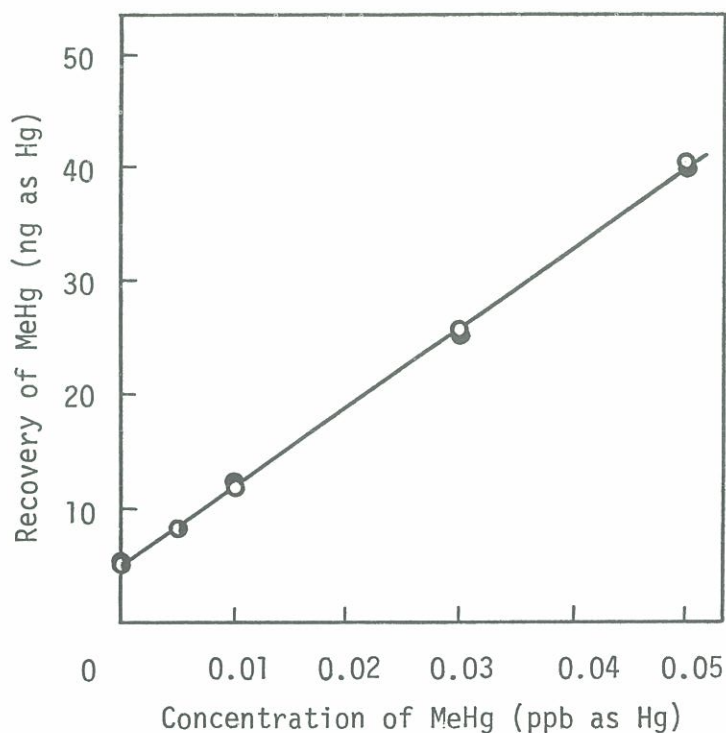


Fig. 7. Calibration curve of methylmercury added to natural sea water<sup>\*)</sup>.

●: First run, ○: Second run, ○: Third run.

\*) Collected from sea where was known to be free from contamination by mercury.

### 3・6 実試料の測定

水俣湾およびその周辺海域の五地点の海水をバンドン採水器で採取し、G2のガラスフィルターで濾過して浮遊物質を除き、海水中のMeHg濃度を定量した。試料の採取地点は図8に示した。

採水後濾過した海水1ℓにキレート樹脂(A)0.2gを直ちにに加え、前記した全操作を行い、前項の方法で作製した検量線によって実際の海水試料中のMeHg濃度を求めた。測定結果は表2に示す。

実際の海水中に溶存しているMeHgは0.005ppb以下であった。

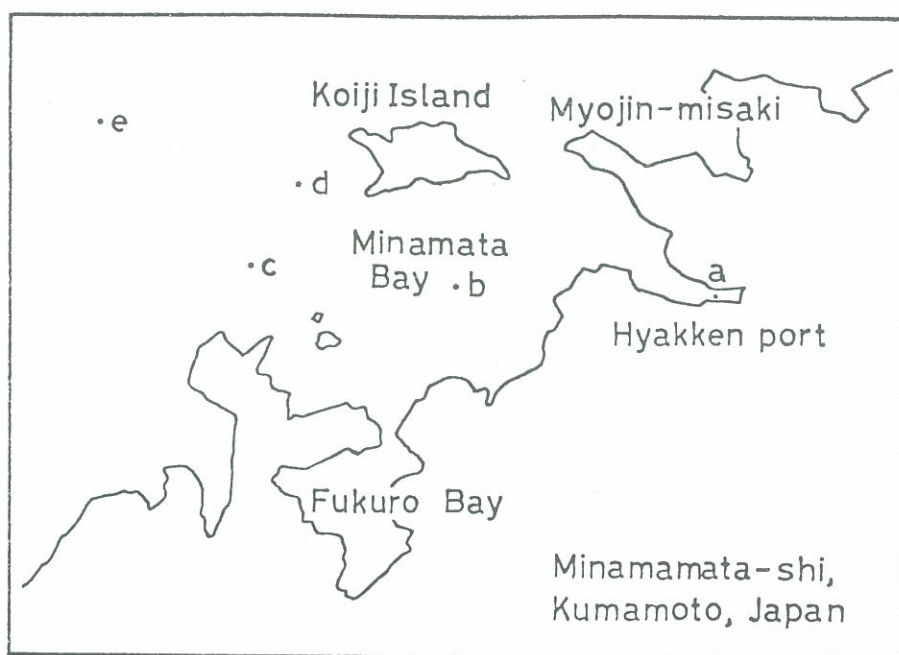


Fig. 8. Sampling station.  
a, b, c, d, e.

Table 2. Determination of methylmercury in sea water

Sampling station		Depth of sampling (m)	MeHg (ppb as Hg)		
			Date of sampling		
			July 14 1977	August 9 1977	Decem. 1 1977
a	3.5	0.5	<0.005	<0.005	
		2.5			<0.005
b	14.5	0.5	<0.005	<0.005	
		11.5			<0.005
c	21.5	0.5	<0.005	<0.005	
		18.5			<0.005
d	24.5	0.5	<0.005	<0.005	
		21.5			<0.005
e	29.5	0.5	<0.005	<0.005	
		26.5			<0.005



#### 4. 結 語

海水中に極微量濃度で溶存しているMeHgを，選択吸着性をもつMR型キレート樹脂(A)を用いて吸着し，4N-HClによって溶離して前段濃縮し，これをベンゼン，ついでグルタチオンで抽出することによって，最終的に100倍に濃縮した。濃縮試料について冷原子吸光光度法を適用し，Hgとして0.005～0.05ppbの濃度範囲におけるMeHgを定量できることを示した。

#### 参 考 文 献

- 1) 藤木素士，弘田礼一郎，山口誠哉，「水俣病に関する総合的研究」，日本公衆衛生協会（1976）p. 16.
- 2) 西村雅吉，松永勝彦，小西繁樹，分析化学，24，655（1975）。
- 3) R. J. Baltisberger · C. L. Knudson · Anal. Chem., 47, 1402（1975）。
- 4) J. Lyman, R. H. Fleming · J. Marine Research, 3, 134（1946）。