

日本には特色ある産業・自然・文化をもつ地域が多くあり、そこに必要とされる分析があるはずで、その分析は日本随一の技術であったり、特徴ある対象であったりするのではないかと、同じ分析という仕事をする我々にとって興味つきません。そこで、今年のミニファイルでは、さまざまな地域からの分析事例を紹介し、各地域の多くの分野・領域から、対象サンプルや分析項目について特徴的であろうと思われるものを中心に挙げていきます。
〔ぶんせき 編集委員会〕

水俣発の水銀分析法

1 はじめに

「国立水俣病研究センター」は水俣病に関する研究推進のための総合的医学研究を実施し、患者の医療の向上を図ることを目的として、1978年に熊本県水俣市に設置された。1996年には水俣病発生地域としての特性を活かした研究機能の充実を図るために、「国立水俣病総合研究センター」に改組された。現在は、総合的医学研究に加えて、水俣病に関する国際的な調査・研究、社会科学的・自然科学的な調査・研究及び水俣病に関する国内外の情報の収集・整理・提供に関する活動を行っている。これまで、我が国における水俣病の発生を契機にヒトにおける水銀蓄積の評価や水銀曝露の健康影響の解明を目指した様々な実験医学的研究、環境中の水銀動態に関する調査が世界中で進められてきた。その一環として世界中で多くの水銀分析法が開発され、様々な媒体に含まれる水銀に関する知見が蓄積されてきた。2013年10月に熊本市及び水俣市で「水銀に関する水俣条約」の外交会議が開催され、水銀による地球規模の環境汚染と健康被害の防止を目的とした「水銀に関する水俣条約」が採択された¹⁾。本会議において、我が国は「MOYAI イニシアティブ」と冠した途上国支援及び水俣発の情報発信・交流等の取組の一環として、水銀計測技術の開発と提供へ取り組むことを表明した。本条約の発効を通じ、様々な地域住民における水銀の曝露レベルや、種々の環境における水銀の循環や動態など、改めて水銀を取り巻く環境問題へ注目が集まっている。

水銀及びその化合物は、その化学形態を基に、金属水銀、無機水銀、有機水銀(メチル水銀等)に大別される。水銀は、環境中に広範に存在しているため、各々の媒体(大気、水、土壌、生物)に含まれる水銀の分析においては、対象試料に応じた前処理や分析法が必要であり、水銀の化学形態別の分析も求められる。国内外の様々な水銀分析法に関しては武内の総説を参照いただき²⁾、本

稿では、特に当研究センターより発表した水銀分析法を中心に紹介する。

2 環境省水銀分析マニュアルとその応用法

血液や毛髪などの生体試料や魚介類、水、土壌などの環境試料といったあらゆる試料に適用可能な水銀分析法として環境省水銀分析マニュアルがある³⁾。開発者の名前から赤木法と呼ばれるこの方法は、湿式分解法をベースとする総水銀分析法とジチゾンを用いた溶媒抽出法をベースとするメチル水銀分析法から成る。水銀の検出はそれぞれ還元気化-半自動原子吸光分析計とガスクロマトグラフ(GC)-電子捕獲検出器で行う。とりわけ、メチル水銀分析については分析値の国際的相互比較試験により正確性が証明されている⁴⁾。分析法の詳細はマニュアルを参照していただきたい。

より高感度なメチル水銀分析法として、上記マニュアルに記載された工程の途中からアメリカ EPA により提案された分析法(U.S. EPA method 1630)の一部を適用するハイブリッド法も考案されている⁵⁾。この方法では、環境省水銀分析マニュアルで得たメチル水銀を含む硫化ナトリウム溶液を微酸性化した後、それを酢酸バッファーにより pH 5.0 に調整した溶液に添加し、さらに四エチルホウ酸ナトリウムを加える。定期的に攪拌しながら 30 分間反応させると、試料溶液中のメチル水銀はガス態のエチルメチル水銀に誘導体化される。これを窒素ガスにより溶液から追い出して Tenax TA 捕集管に捕集する。しかし、同じくガス態である元素状水銀や二価の無機水銀化合物(Hg(II))が誘導体化したジエチル水銀も同時に捕集されるため、Tenax TA 捕集管を約 200 °C に加熱してそれらを脱着した後、ガスクロマトグラフを用いて分離する。そして、700 °C の加熱分解炉でそれぞれを元素状水銀に変換し、原子蛍光分析計で測定する。検出限界値は 0.001 ng L⁻¹ 以下であり、極めて低濃度である外洋海水中メチル水銀濃度の測定などに適用されている⁶⁾。

3 生物試料中の総水銀・メチル水銀の簡易分析法

水俣病の原因物質であるメチル水銀は脳神経系に影響を及ぼしうることから、そのリスク評価のために対象試料中のメチル水銀濃度の把握は重要である。メチル水銀と無機水銀では体内輸送や毒性発現様式が異なるため、状況によって総水銀に加えてメチル水銀の分析が必要である。また、ヒトは主に魚介類の摂取を通じてメチル水銀を体内に取り込んでいるため、曝露評価の観点から魚

介類中のメチル水銀の分析が求められるケースもある。一方、メチル水銀の分析は技術と熟練を要してきた。従来、生物試料中の総水銀は原子吸光法で、メチル水銀はガスクロマトグラフ法で測定されることが多く、二種類の装置と分析技術を具備する必要があった。最近ではGC/誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) や液体クロマトグラフィー (LC)/ICP-MS といった様々な手法によるメチル水銀分析法も報告されているが、水銀による環境汚染が問題となっている開発途上国においては、高価な機器、高いランニングコスト、高度な技術を要する水銀分析をルーティンに行うことは困難であるため、簡便でコストパフォーマンスに優れたメチル水銀分析法が求められている。このような背景を踏まえ、筆者らは生物試料を対象とした簡便な水銀分析法の開発を行ってきた。

筆者らが2010年に発表した水銀分析法は、一連の作業により同一の生物試料中の総水銀とメチル水銀の測定が可能である⁷⁾。すなわち魚介類等の生物試料をNaOHにより加熱・溶解後、クロロホルム及びヘキサンによる脱脂ステップを経て、これら有機溶媒の除去後の試料可溶化液を加熱酸化原子吸光水銀分析計にて分析することにより総水銀が測定される。続いて本可溶化液を臭化水素酸 (HBr)、塩化銅 (CuCl_2)、トルエンにより処理し、トルエン層に含まれる有機水銀画分を最終的にシステイン・酢酸ナトリウム溶液 (Cys・NaOAc) に転溶後、総水銀測定に用いた分析計と同機器にて分析することにより有機水銀が測定される。これまで防腐剤としてエチル水銀を含むワクチンを接種されたヒト検体を除き、自然界の生物試料からメチル水銀以外の有機水銀の検出は報告されていないことを踏まえ、本法により抽出される有機水銀をメチル水銀とみなして評価することが可能である。本法の特徴として、・分析前の煩雑なサンプル処理が不要、・分析時に有害廃液が出ない、・総水銀・メチル水銀の両方が同じ機器により分析可能、・一種類の水銀標準溶液 (HgCl_2) を基準物質として総水銀とメチル水銀両方の分析が可能、・ディスポのポリプロピレン (PP) チューブの使用による (通常の水銀分析に用いられる) ガラス試験管洗浄の省力化、・新品のPPチューブは水銀によるコンタミネーションがなく、チューブの目盛りによる液量の確認が容易といった点が挙げられる。

さらにクロロホルムの代わりに4-メチル-2-ペンタノン (メチルイソブチルケトン: MIBK) を使用することにより、サンプルの脱脂ステップの簡便化を図った結果、より短時間で分析が可能になった (図1)⁸⁾。本法は、メチル水銀の曝露・影響評価研究における魚介類組織中の水銀⁹⁾¹⁰⁾やメチル水銀の毒性学的研究における実験動物の組織中の水銀分析にも適用しており¹¹⁾、今



図1 生物試料中のメチル水銀の簡易分析法

後、多様な試料への応用を進めていく予定である。

4 おわりに

現在でも開発途上国において、金採掘に伴う水銀による環境汚染等が問題となっており、当センターにはこれらの国々から水銀分析に関連する多くの問い合わせが届く。今後も新しい水銀分析技術の開発を含め、水銀に関する環境問題の解決へ向けて貢献していく所存である。

文 献

- 1) 水俣条約について、環境省、(2020年7月6日、最終確認). <https://www.env.go.jp/chemi/tmms/index.html>
- 2) 武内章記：ぶんせき, **10**, **2016**, 427.
- 3) 環境省, 水銀分析マニュアル, (2004).
- 4) S. Tutshku, M. M. Schantz, M. Horvat, M. Logar, H. Akagi, H. Emons, M. Levenson, and S. A. Wise : *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369**, 364 (2001).
- 5) M. Logar, M. Horvat, H. Akagi, and B. Pihlar : *Anal. Bioanal. Chem.*, **374**, 1015 (2002).
- 6) K. Marumoto, A. Takeuchi, S. Imai, H. Kodamatani, N. Suzuki : *Geochem. J.*, **52**, 1 (2018).
- 7) K. Miyamoto, T. Kuwana, T. Ando, M. Yamamoto, A. Nakano : *J. Toxicol. Sci.*, **35**, 217 (2010).
- 8) K. Yoshimoto, HT. Anh, A. Yamamoto, C. Koriyama, Y. Ishibashi, M. Tabata, A. Nakano, M. Yamamoto : *J. Toxicol. Sci.*, **41**, 489 (2016).
- 9) VAT. Hoang, M. Sakamoto, M. Yamamoto : *J. Toxicol. Sci.*, **42**, 509 (2017).
- 10) VAT. Hoang, HTT. Do, T. Agusa, C. Koriyama, S. Akiba, Y. Ishibashi, M. Sakamoto, M. Yamamoto : *J. Toxicol. Sci.*, **42**, 651 (2017).
- 11) M. Yamamoto, E. Motomura, R. Yanagisawa, VAT. Hoang, M. Mogi, T. Mori, M. Nakamura, M. Takeya, K. Eto : *J. Appl. Toxicol.*, **39**, 221 (2019).

〔環境省 国立水俣病総合研究センター〕
〔環境・保健研究部 山元 恵・丸本幸治〕