生物試料を中心とした水銀測定技術

吉村　悦郎[1*]・田口　正[2]
([1]東京大学大学院農学生命科学研究科・[2]日本インスツルメンツ株式会社)
[*]〒113-8657　東京都文京区弥生 1-1-1
e-mail：ayoshim@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

摘　要

環境中の水銀(Hg)の動態の把握には、Hg の正確な分析法が必須のものとなる。現在、多くの機器分析法で Hg の定量、ならびに化学形態別の定量(スペシエーション)が可能となっている。特に、原子スペクトルを観測する原子吸光法ならびに原子蛍光法、また質量電荷比を測定する誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)などが Hg の高感度定量に用いられている。さらに、これらをガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーの検出器として用いることで、Hg の高感度スペシエーションが行われている。一方、環境試料はそれ特有のマトリックス成分を有し、また一般に Hg の濃度が低いため、上記の分析法を環境試料に適用するには、いくつかの問題点が存在する。たとえば、1)保存期間中での Hg の消失ならびに化学形態変化、2)生物試料の灰化における Hg の揮散、3)ICP-MS におけるメモリー効果、4)化学形態別分析のためのアルキル化における無機 Hg のメチル化ならびに脱メチル化、等が知られている。本稿では、これらの干渉効果の機構を述べるとともに、その解決法について解説する。

キーワード：原子吸光法、水銀スペシエーション、水銀測定法、
誘導結合プラズマ質量分析法

1. はじめに

環境中の水銀(Hg)には、原子状 Hg(Hg^0)、無機 Hg(Hg^{2+}, Hg_2^{2+})ならびにメチル Hg(CH_3Hg^+)で代表される有機水銀等がある。現在ではこれらの Hg 化合物の測定には、多くの機器分析が適用されている。Hg 原子による原子スペクトルの吸収を用いる原子吸光法(Atomic Absorption Spectrometry：AAS)、蛍光を観測する原子蛍光法(Atomic Fluorescence Spectrometry：AFS)、また Hg の質量電荷比の測定に基づく誘導結合プラズマ質量分析法(Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry：ICP-MS)がある。これらの分析法は、Hg 原子そのものを直接の分析対象としており、高感度の分析を可能としている。さらに、Hg の化学形態別の分析(スペシエーション)には、ガスクロマトグラフィー(Gas Chromatography：GC)や液体クロマトグラフィー(Liquid Chromatography：LC)等のクロマトグラフィーが用いられる。この際には、以上の Hg に特異的な分析法が検出器として用いられている。また、GC では検出器に電子捕捉型検出器(Electron Capture Detector：ECD)を用いることでも Hg 化合物の分析が行われている。

以上の分析法を環境試料中の Hg 分析に適用する際には、多くの操作段階を必要とする。これらの操作は試料の採取から始まり、その保存、また各機器分析法に適した試料形態とするための前処理法等からなっている。これらの各段階において適切な処理を行うことで、それぞれの環境を代表する分析値が得られてくる。本稿では、大気試料を除く環境試料の採取や保存法などの試料調整法について述べた後、全 Hg の定量法、化学形態別の Hg 分析法について各々解説を行う。

2. 試料の保存と乾燥

環境試料の Hg を分析する際には、それぞれの環境から試料を採取し、実験室に運んで分析するというのが一般的な操作手順となる。また、多くの試料を分析するには長時間を要するために、試料の保存という段階が必要となる。環境試料の Hg 分析の意義は、環境中での存在そのままの状態での Hg の化学形態と濃度の情報を取得することにあるので、その的確な保存法が必要となる。ここでは、河川水、雨水、海水などの溶液状試料と植物、動物、土壌などの固体状試料に分けて議論する。

2.1　溶液状試料における Hg の安定性

Hg の希薄溶液では、Hg の消失が生じることが広く知られている。これは、保存容器の器壁への Hg の吸着と Hg^{2+} の還元による Hg^0 の生成と揮散によると考えられている[1)]。Hg^{2+} の還元反応は、

$$2Hg^{2+}+2e^- \rightarrow Hg_2^{2+} \quad E = 920\ mV \qquad (1)$$

で示され、920 mV の還元電位を有する。この電位は、硝酸の還元反応

$NO_3^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow NO + 2H_2O \quad E^0 = 960\ mM$ (2)

における電位とほぼ同等であり、Hg^{2+}は硝酸と同程度の酸化力を有すると考えられる。環境試料には微生物由来の有機物や腐植酸などが含まれている。したがって、これらが還元剤として働くと、Hg^{2+}からHg_2^{2+}が生成する。Hg_2^{2+}は

$$2Hg_2^{2+} \rightarrow Hg^{2+} + Hg^0 \quad (3)$$

の不均化反応で、Hg^{2+}とHg^0を生成し、Hg^0が系外へと散逸するためにHg濃度の減少が生じる。

このような効果を避けHgの安定性を高めるために、種々の添加剤が検討されている。たとえば、1 μg/lのHg^{2+}溶液に10%HNO_3を添加した場合には、24時間後にはHg濃度が0.7 μg/lと減少するのに対して、5%HClあるいは0.02%NaClあるいはその両者の添加ではHg濃度の減少は認められない[2]。塩化物イオンはHg^{2+}から$HgCl_4^{2-}$のようなアニオン性の錯体を形成し、器壁の結合サイトへの結合を妨げると同時に、Hg^{2+}の酸化力を弱めるためにHg^{2+}の安定化を示すのであろう。酸化剤の添加は生じたHg_2^{2+}のHg^{2+}への酸化を行い、また共存する還元性物質を酸化するために、Hg^{2+}の安定化を示すと考えられる。$KMnO_4$[3]、$K_2Cr_2O_7$[4]の添加はHg^{2+}濃度の安定化に有効であるが、$KMnO_4$の場合はMnO_2の沈殿を形成し、またCl^-を塩素に酸化するためHgの保護剤としては不適当である。さらに、$KMnO_4$を用いた場合、Hgの分析結果に異常値を与える場合があり[1]、ブランク値に留意が必要である。システインはチオール基がHg^{2+}と強固な結合を形成するために安定剤として有効である。実際に、公定法ではHg^{2+}溶液の希釈にL－システイン溶液が用いられている[5]。

使用する保存容器もHgの安定性に影響を与える。たとえば、ポリエチレン製の容器はHg^0の透過性が高く保存中に揮散する可能性が高いこと、また逆に、実験室等からのHg汚染を受ける可能性が指摘されている[6]。ポリプロピレン製、ポリ塩化ビニル製の容器でもHg濃度の低下が認められるため不適当であるが、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)製、ガラス製、あるいは石英製の容器ではHg濃度は高い安定性を示し、保存容器として推奨されている[1]。また、ポリエチレンテレフタレート(PET)製の容器でも良好な結果が得られている[7]。

CH_3Hg^+は比較的安定な化合物で、強酸の存在下で加熱しても容易に分解しない[8]。しかし、このことは速度論的な安定性を示しただけのことであり、熱力学的な安定性を述べたものではない。実際にはCH_3Hg^+が分解酵素の存在下で容易に分解されることからも熱力学的な不安定性は理解できる[9]。このことは、適当な触媒が存在するとCH_3Hg^+は容易に分解することを示している。たとえば、海水にHgとして2.05 μg/lのCH_3Hg^+を添加すると、その濃度は急速に減少する[10]。この効果は、ポリエチレン製の容器を用いたときに顕著で、80日後にはCH_3Hg^+の濃度はほぼ0となる。海水のpHを2.5と酸性にした時もCH_3Hg^+の濃度は減少するが、同時にHg^{2+}濃度の増加が認められ、全Hg濃度は一定に保たれる[10]。以上は、ポリエチレン製の容器を用いた場合には、試料溶液のpHに拘わらずCH_3Hg^+からHg^{2+}への分解が生じることを示している。このような分解反応は、保存容器をPTFE性のものに変えると認められなくなる[11,12]。ポリエチレンやガラス表面には触媒としての活性基が存在し、これらがCH_3Hg^+の分解に対して触媒作用を示すものであろう。以上から、Hg分析のための保存容器の選択の重要性が理解できる。

2.2 生物試料や底質試料中のHgの安定性

生物試料や底質試料は、試料の均一化を容易にするために乾燥を行う場合があるが、この際のHgの揮発に注意する必要がある。例えば、マグロとメカジキの乾燥方法を比較すると、40℃で48時間の乾燥では、Hgの揮発は生じない[13]。一方、電子レンジを用い18分で乾燥を行った場合、メカジキのHgは約13%減少し、さらに、凍結乾燥ではマグロのHgの65%が消失していた[13]。凍結乾燥は、乾燥に18時間と長時間を要し、乾燥後の試料が空洞の多い形態となることがHgの揮発に関係している可能性もある。

一方、泥炭試料の2週間での乾燥では、60℃を超えるとHg含量の減少が認められる[14]。また、リン酸を加えた試料の方が、この減少が顕著であった。このことは、泥炭中で生物学的な脱メチル化とHg^{2+}の還元が促進されていることを示している。

3. 全水銀分析

3.1 有機物の分解と灰化

現在用いられているほとんどのHg分析法は、液体の試料を分析対象としている。このため、固体試料中の全Hgを定量するには、試料をHNO_3やH_2SO_4などの酸と$KMnO_4$のような酸化剤とを組み合わせ、試料中の有機物を分解する。従来、Hgの揮発を抑制するために、灰化容器の上部に冷却管をつないで還流させる方式がとられていた。また、メスフラスコのような形状を持つ首長フラスコでも同様の効果が得られている[15]。一方、Cl^-が存在すると冷却管を使用しない場合にもHgの揮発が抑えられることが明らかとなり[16]、灰化を行う際にHClやNaClの添加が行われている。これは、Cl^-がHg^{2+}と$HgCl_4^{2-}$などの錯体を形成し、Hgの蒸発を抑制しているからと考えられる。また、PTFE製の灰化用密閉容器を用いて、以上のような無機酸混合溶液を加えて加熱する方式がとられていたが、近年、こ

の方式の加熱にマイクロ波加熱器が用いられ、良好な結果が得られている。ここでは、その一例として、海産生物の灰化法について紹介する[2]。

乾燥した試料では 0.1 g、未乾燥の試料では 0.5 g を用い、これに 5 ml HNO_3 と 1 ml NaCl を加えたものを、マイクロ波加熱器で 200℃あるいは 210℃で 3 ～ 10 分で分解が行われた。標準試料の分析では、保証値の 86%～ 100%の値が得られ、添加回収実験では Hg^{2+} の場合、94%～ 100%、CH_3Hg^+ では 93%～ 98%の値が得られている[2]。なお、マイクロ波は試料の物理化学的特性によりエネルギーの吸収効率が異なってくる。このため、多数の異なった試料を分解する場合に分解が均一に行われなくなる場合があり、注意を要する。

3.2　冷蒸気原子吸光法(Cold Vapor-Atomic Absorption Spectrometry：CV-AAS)

Hg は常温で原子状の気体として存在するので、室温での原子による共鳴線の吸収が可能である。この方式を CV-AAS というが、その装置の概略を**図 1** に示した。溶液中の Hg^{2+} は還元剤との反応で Hg^0 として気化し、石英セルにキャリアガスで運ばれ原子線を吸収する。このための還元剤には、$SnCl_2$ や $NaBH_4$ が用いられる。また、$SnCl_2$ は Hg^{2+} だけを還元するが、$NaBH_4$ は Hg^{2+} と CH_3Hg^+ の両方の還元が可能である[17]。生物試料では灰化を行った後、$SnCl_2$ を用いた CV-AAS で全 Hg の分析が行われる[2]。この際、標準溶液と試料溶液とでの反応条件(pH など)の適合が必要となる。また、共存元素による干渉も生じる場合があるので、それらに対する検討が必要となる。例えば、10 μg/l の Hg に対して 10 mg/l の Fe^{3+} や Cu^{2+} が存在する場合には、$NaBH_4$ を還元剤として用いると分析値を 50%ほど低下させる[18]。これは、Fe^{3+} や Cu^{2+} がそれぞれの金属にまで還元されて Hg^0 とアマルガムを形成するからと考えられている。したがって、共存元素に対しての情報を得ることは、正確な分析を行う上で重要な要素となる。

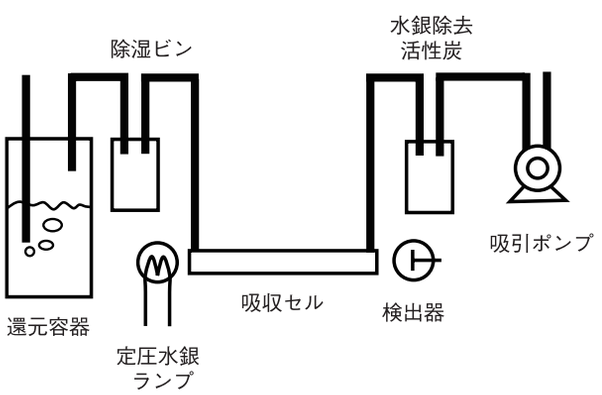

図 1　冷蒸気原子吸光装置の概略.
還元容器中で試料に還元剤($SnCl_2$, $NaBH_4$)などで原子状 Hg を発生させる．Hg^0 を含む気体は除湿ビンで水蒸気を除去した後に吸収セル Hg^0 での原子吸光を測定する.

固層抽出法を用いると、Hg の濃縮とともに妨害成分を除くことが可能となる。この場合、Hg^{2+} がイオウを配位原子とする配位子と強固な結合を形成する性質が利用されている。例えば、Hg^{2+} を陽イオン交換樹脂に吸着させた後、チオ尿素で選択的に Hg^{2+} の溶出が行われている[17]。一方、ocatadecyl solicate のディスクに isopropyl 2-[(isopropylcarbothiolyl) disulfanyl]ethane thioate を修飾して、Hg^{2+} の選択的な固層抽出が行われている。この方式では、5 ng Hg^{2+} /l の検出限界が得られている[19]

3.3　加熱気化金アマルガム法(Thermal Decomposition Amalgamation AAS：TDA-AAS)

TDA-AAS は試料の前処理を必要としない Hg 分析法で、CV-AAS とともにアメリカ環境保護局の公定法の一つとなっている。装置の概略を**図 2** に示した。試料をサンプルボートにのせ、加熱炉に入れ昇温する。発生した Hg 化合物および燃焼生成ガスを触媒の入った分解炉で分解し、除湿ビンを通す。同時に生成した Hg^0 蒸気を、金でできた捕集器にアマルガムを形成させ捕集する。その後、捕集器の温度を 350℃～ 600℃に上げて、Hg^0 蒸気を発生させ Hg の原子吸光を測定する。このように、TDA-AAS では灰化操作を必要とせずに Hg の分析が自動で行える点が特長である。このことは、灰化に用いる試薬からの汚染を防ぐことにつながり、バックグラウンドの小さい分析が可能となることを意味している。

TDA-AAS では用いる試料が 20 ～ 160 mg と少量ですむために、生物中の Hg の分布を測定することが可能となっている。オオクチバス、ストライプトバス、マス、ブルーギルなどの淡水魚の背筋を生検用のパンチ(直径が 2 ～ 5 mm)で採取した試料の分析結果から、Hg がほぼ均一に分布していることが

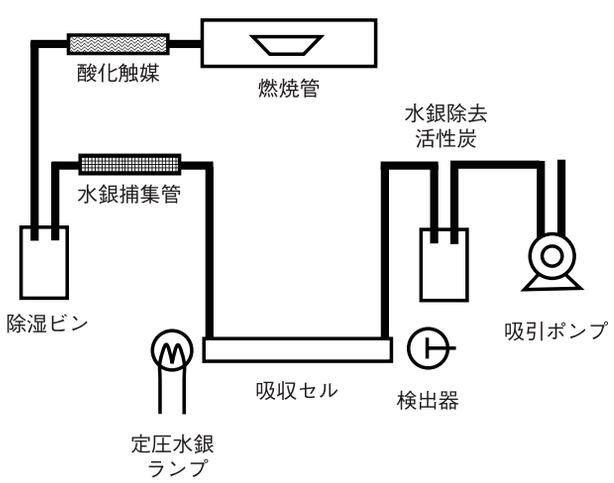

図 2　加熱気化金アマルガム法の概略.
試料をサンプルボートにのせ，加熱炉に入れ昇温する．発生した Hg 化合物および燃焼生成ガスを酸化触媒で分解し，除湿ビンを通す．生成した Hg^0 蒸気を金でできた捕集器にアマルガムを形成させ捕集する．一定の時間の経過後，捕集器の温度を 350℃から 600℃に上げて，Hg^0 蒸気を発生させ Hg の原子吸光を測定する.

示された[20]。また、深さ方向の分布も測定可能で、ストライプトバスは表層（0 ～ 3 mm）での Hg 濃度が内側（3 ～ 6 mm）よりも低いが、オオクチバスでは逆の傾向が得られている[19]。このように Hg 分布に関して、より細かな情報の取得が可能である。また、TDA-AAS では少量の試料で分析が行えるので、生体に対するダメージも小さく、魚を生かしたままで Hg 濃度の測定が検討されている[21]。コクチバスの血液、背筋の生検用の針ならびに生検用のパンチで採取した筋肉の Hg 濃度はいずれも高い相関性を示しており、今後 Hg 汚染の指標として用いられる可能性がある[20]。

3.4 ICP-MS

上記の原子吸光分析では、Hg だけの単元素の分析しか行えない。ICP-MS は Hg 以外の元素の定量が同時に行えるため、試料に対する多くの情報を得ることが可能である。しかし、実際に Hg を ICP-MS で分析する場合には、“メモリー効果”に留意する必要がある。これは、試料溶液を装置に導入した時、あるいは導入をやめた時、Hg の信号強度が緩慢に変化することをいう。そのために安定した信号を得るまでに長時間を要し、また、検量線の直線性の悪化や分析精度の低下が生じる。この現象は、Hg が試料の導入システム、ネブライザー、スプレイチャンバー等に吸着することで生じると考えられている[22]。このメモリー効果を防ぐために、Hg^{2+} 40 μg/l に内標準として Rh 10 μg/l を含む溶液について種々の添加剤の効果が検討されている。例えば、0.1%Triton X-100、0.1%EDTA、あるいは 0.1% NH_3(aq) の添加ではメモリー効果の除去はできないが、0.05%2－メルカプトエタノールでは ^{202}Hg と ^{103}Rh の信号は同様の挙動を示し、メモリー効果が抑制されていることが示された[22]。このほかにも、Hg と親和性の高いチオール基を有する化合物の添加がメモリー効果の除去に効果的である。

4. 水銀の化学形態別分析

Hg 化合物の化学的特性ならびに生物に対する毒性はその化学形に依存しているため、化学形態別の Hg の濃度の把握は、環境における Hg の動態を知る上で重要な情報となる。Hg 化合物は、無機態と有機態に大別される。さらに、無機態は Hg^0、Hg_2^{2+}、Hg^{2+} などの酸化数が異なるものが、また有機態は、CH_3Hg^+、$C_2H_5Hg^+$、フェニル Hg、エチル Hg チオサリチル酸ナトリウム（チメロサール）などのように種々の遊離基が Hg^{2+} に結合したものが存在する。地球環境における Hg の形態変化においては、無機態間における酸化還元による化学形態変化、ならびに Hg^{2+} と CH_3Hg^+ の間における無機化あるいは有機化の相互変換が重要である。特に、Hg^{2+} と CH_3Hg^+ はそれぞれ無機 Hg と有機 Hg での主要な構成成分であることから、その濃度の把握は環境科学として重要な意味を持っている。このような理由で、環境試料では無機 Hg として Hg^{2+} を、また有機 Hg として CH_3Hg^+ の分析が多く行われている。

4.1 異なる還元条件による Hg の化学形態別分析

Hg^{2+} は還元すると Hg^0 を形成し気化する。一方、CH_3Hg^+ では、還元剤の還元力に応じて CH_3HgH あるいは Hg^0 を形成し気化する。このような Hg^{2+} と CH_3Hg^+ の化学的性質の差を用いることで、化学形態別に Hg を定量することが可能である。

還元剤として $SnCl_2$ を用いると Hg^{2+} だけが還元され Hg^0 を生成するが、$NaBH_4$ を用いると Hg^{2+} と CH_3Hg^+ の両者とも Hg^0 へと還元される[16]。したがって、CV-AAS において、還元剤として $NaBH_4$ を用いると全 Hg が、また $SnCl_2$ 用いると Hg^{2+} だけが分析でき、両者の差から CH_3Hg^+ の定量が可能となる。このことを利用して、魚類試料の化学形態別の Hg 分析が行われている[23]。例えば、試料に 10 M KOH を加え 100℃で Hg 化合物を抽出した後、分析が行われた。National Research Council Canada（NCR）のサメ肝標準試料 DORM-2 の分析では、CH_3Hg^+ の分析値として良好な結果が得られているが、試料ごとにマトリックス成分の影響が強いため、標準添加法を用いる必要がある。

一方、Hg^{2+} と CH_3Hg^+ をそれぞれ Hg^0 と CH_3HgH として気化させ、原子化の温度条件を変えることで Hg^{2+} と CH_3Hg^+ の分析が行われている[24]。試料を tetramethylammonium hydroxide（TMAH）に溶解した懸濁物 3 ml に対して 2.5 M 塩酸 2 ml を加え、さらに 3%$NaBH_4$ と 1%NaOH を含む溶液 1.5 ml を加える。発生した気体を石英セルに導き、常温で原子吸光を観測すると Hg^{2+} から生じた Hg^0 による吸収が観測される。また、同様の操作で、石英セルを空気－アセチレンの化学炎中に置き原子吸光を観測すると、CH_3HgH が熱分解をして Hg^0 となるために、Hg^{2+} と CH_3Hg^+ に起因する吸収が観測される。NCR の標準試料 TORT-2（ロブスターの肝膵）、DORM-1（サメ筋肉）、DORM-2 の分析では、無機 Hg、有機 Hg とも保証値と良い一致が得られている。

$NaBH_4$ の濃度を変えることでも、還元力の調節が可能である。水試料中の Hg^{2+} と CH_3Hg^+ を ammonium pyrrolidine dithiocarbamate との反応で錯体を形成させ、バッチ法でオクタデシルシラン樹脂に捕集する。これを 10^{-4}%$NaBH_4$ で還元して Hg^{2+} だけを、また 0.75%$NaBH_4$ で還元して Hg^{2+} と CH_3Hg^+ の両者を Hg^0 として気化させ、CV-AAS の測定が行われている[25]。分析系はスラリー導入型のフローインジェクションで組み立てられていて、各種イオンを含む溶液、飲料水、湖沼水へ Hg 化合物の添加回収実験では、30 ～ 90 ng/l の Hg^{2+}、CH_3Hg^+ に対し、それぞれ 97%以上の回収率が得ら

れている。

4.2　クロマトグラフィーを併用した Hg の化学形態別分析における課題

種々のクロマトグラフィーが Hg の化学形態別分析に適用されている。その中でも、HPLC と GC が一般的であるので、これらを用いた分析について記載する。

CH_3Hg^+の分析は GC で分離した後、ECD で検出する方法が用いられている。この方法は、有機水銀に対して高感度を有するが、試料を分析装置に導入するまでに多段階の操作を要する。水棲植物の CH_3Hg^+分析[26]を例として記すと、試料に $CuSO_4$ を含む HBr を加えて CH_3Hg^+を抽出する。ここで $CuSO_4$ の添加は、Cu^{2+}イオンを試料中の SH 基と結合させ、CH_3Hg^+の抽出効率を促進するためのものである。抽出液にジチゾンを溶解したトルエンを加え、振とうの後 CH_3Hg^+を有機層に抽出する。その後、弱アルカリ性の Na_2S 溶液に逆抽出した後、HCl を加えて残存する過剰量の H_2S をアルゴン気流で除去する。ジチゾンを溶解したトルエンに再抽出した後、NaOH 溶液で洗浄し過剰量のジチゾンを取り除く。これを HCl で酸性化し、試料溶液とする。多くの妨害成分から分離するためにこのような煩雑な操作を要するが、植物標準試料に対して保証値と同等の結果が得られ、また添加した CH_3Hg^+に対しても 98％～ 101％と十分な回収率が得られている。

GC を用いて Hg^{2+}と CH_3Hg^+を分析するには、Hg 化合物の揮発性アルキル化合物への変換が必要である。これらの全操作過程中では、Hg 化合物間の変換、すなわち Hg^{2+}から CH_3Hg^+の形成、あるいは逆に CH_3Hg^+から Hg^{2+}や Hg^0 への脱メチル化が生じることが知られている。このような現象は分析精度を低下させるため、そのメカニズムの解析が行われている。以下にその一例を示す。

HPLC-ICP-MS を用いて、抽出操作における Hg 化合物間の変換の程度が調べられた[27]。HPLC では Hg 化合物のアルキル化反応を行う必要がないので、Hg 化合物間の変換は抽出操作における変換だけが観測されているとみなすことができる。DORT-2（NCR）と TORT-1（NCR）の生物標準試料とカワカマスを対象として、これに $CH_3^{198}Hg^+$と $^{201}Hg^{2+}$を添加した後、TMAH を加えて超音波で分解が行われている。分析は、分解物の pH を 4.0 に調整した後、遠心上清部が用いられた。ICP-MS は質量数の異なる同位体の定量が可能であるために、これを基に計算すると、Hg^{2+}からは最大 11.5％のメチル化が、また CH_3Hg^+からは最大 6.26％の脱メチル化が生じることが示された。このような Hg 化合物間の変換は、Hg^{2+}と CH_3Hg^+の濃度が近い値を示すような試料では誤差として問題にはならないが、どちらか一方の濃度が極端に大きい場合は濃度の低い化学種に大きな誤差を与える可能性が考えられる。実際に、変換率を用いて分析値を補正しても Hg^{2+}と CH_3Hg^+の濃度が近い DORT-2 ではその値に変化は認められないが、Hg^{2+}に対して CH_3Hg^+濃度が高いカワカマスでは変換率の補正で CH_3Hg^+濃度が有意に減少していた。なお、このような Hg^{2+}のメチル化は試料の TMAH での分解後、pH 調整までの時間を長く取ることで減少する。このメチル化では何らかのラジカル種が反応に関与していると推定されているので[28]、試料分解液を長時間放置することでこれらのラジカル種を消去している可能性が考えられる。

試料の調整時における Hg^{2+}のメチル化は、Hg^{2+}に比べて CH_3Hg^+の濃度の割合が小さい土壌や底質試料等における CH_3Hg^+定量で問題となる。GC を用いて Hg 化合物を分析する際には、試料から抽出後、$NaBEt_4$ などのアルキル化剤との反応で揮発性の Hg 化合物を生成させが、これらの過程のどの段階でこのメチル化が生じるかは明確ではない。共存する Hg^{2+}に HCl を加えて $HgCl_4^{2-}$錯体を形成させ、陰イオン交換樹脂で吸着させる方式[29]、あるいはジクロロメタンに CH_3HgCl を抽出する方法[30]が前処理法として行われるが、これによりメチル化の影響の軽減が図られている。

海水のようにハロゲン化物の濃度が高い試料の Hg 化合物をアルキル化物誘導体として分析する場合には、CH_3Hg^+の脱メチル化反応に注意が必要である[31]。この反応は $NaBEt_4$ などによるアルキル化反応の際に生じ、NaCl が共存する場合は、CH_3Hg^+の脱メチル化の結果、Hg^0 が形成される。脱メチル化率は NaCl の濃度に依存しており、さらに Cl^-よりも Br^-の方が脱メチル化の促進効果が高い。また、I^-が共存すると Hg^0 の他に Hg^{2+}も形成される。HSAB 則ではハロゲンイオン（X^-）の CH_3Hg^+に対する結合力は $I^- > Br^- > Cl^-$の順になることを考えると、CH_3HgX が中間体となって反応が進行することを示していると考えられている[31]。このような脱メチル化反応は、$NaBPr_4$ を用いた Hg 化合物のプロピル化反応では認められない。いずれにしても、試料に安定同位体で標識した Hg 化合物を添加し、同位体希釈質量分析法で脱メチル化の割合を補正することで正確な分析値を得ることが可能となる[31]。

5. おわりに

金属元素は、現代の機器分析法で高感度の分析が行われるようになっている。Hg もその例外ではなく、種々の機器分析が活用されるに至っている。しかし、これは Hg 化合物の純物質の希釈溶液からなる系においてだけに適用されるものであり、実際の試料の分析を行うには様々な問題点に直面する可能性がある。これは、Hg の特異的な化学的性質によるところが大きく、試料の採取から分析装置に導入

するまでのすべての過程で生じてくる。また、環境試料ではHg濃度に対するマトリックス成分の濃度が桁外れに大きいということが、状況をさらに複雑にしている。このため、干渉効果の機構に対して統一的見解が定まっていない現象も存在している。この意味において、特に、Hgのスペシエーションは現在でも分析化学のターゲットの一つといえよう。Hg分析の高精度化と高感度化により、環境にあるがままの化学形態とその濃度の測定が可能となり、環境中のHgの動態がより詳細に把握できるものとなるであろう。

引用文献

1) Yu, L-P. and X.-P. Yan (2003) Factor affecting the stability of inorganic and methylmercury during sample storage. *Trend Anal. Chem*., 22：245-253.
2) Hight, S. C. and J. Cheng (2005) Determination of total mercury in seafood by cold vapor-atomic absorption spectrometry (CVAAS) after microwave decomposition. *Food Chem*., 91：557-570.
3) Toribara, T. Y., C.P. Shields and L. Koval (1970) Behavior of dilute solutions of mercury. *Talanta*, 17：1025-1028.
4) Caroli, S., G. Forte, A. L. Iamicell and A. Lusi (1996) Stability of mercury dilute aqueous solutions: an open issue. *Microchem. J*., 54：418-428.
5) (社)下水道協会(1997)下水試験方法(下巻).
6) Bothner, M. H. and D. E. Robertson (1975) Mercury contamination of sea water samples stored in polyethylene containers. *Anal. Chem*., 47：592-595.
7) Fadini, P. S. and W. F. Jardim (2000) Storage of natural water samples for total and reactive mercury analysis in PET bottles. *Analyst*, 125：549-551.
8) Ahmed, R. and M. Stoeppler (1986) Decomposition and stability studies of methylmercury in water using cold vapor atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 111：1371-1374.
9) Barkay, T., S. M. Miller and A. O. Summers (2003) Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev*., 27：355-384.
10) Stoeppler, M. and W. Matthes (1978) Storage behavior of inorganic mercury and methylmercury chloride in sea water. *Anal. Chim. Acta*, 98：389-392.
11) Lansens, P., C. Meuleman and W. Baeyens (1990) Long-term stability of methylmercury standard solutions in distilled, deionized water. *Anal. Chim. Acta*, 229：281-285.
12) Leermakers, M., P. Lansens and W. Baeyens (1990) Storage and stability of inorganic and methylmercury solutions. *Fresenius J Anal. Chem*., 336：655-662.
13) Ortiz, A. I. C., Y. M. Albarrán and C.C. Rica (2002) Evaluation of different sample pre-treatment and extraction procedures for mercury speciation in fish samples. *J. Anal. At. Spectrom*., 17：1595-1601.
14) Roos-Barraclough, F., N. Givelet, A. Martinez-Cortizas, M. F. Goodsite, H. Biester and W. Shotyk (2002) An analytical protocol for the determination of total mercury concentrations in solid peat samples. *Sci. Total Environ*., 292：129-139.
15) 田口 正・保田健二・橋本征利・戸田昭三(1979) 原子吸光法による海産生物中の水銀分析における二, 三の改良 . 分析化学, 28, T33-T38.
16) Haas, H. F. and V. Krivan (1984) Open wet ashing of some types of biological materials for the determination of mercury and other toxic elements. *Talanta*, 31：307-309.
17) Oda, C. E. and J. D. Ingel (1981) Speciation of mercury by cold vapor atomic absorption spectrometry with selective reduction. *Anal. Chem*., 53：2305-2309.
18) Krata, A., K. Pyrzyńska and E. Bulska (2003) Use of solid-phase extraction to eliminate interferences in the determination of mercury by flow-injection CV AAS. *Anal. Bioanal. Chem*., 377：735-739.
19) Shamsipur, M., A. Shokrollahi, H. Sharghi and M. M. Eskandari (2005) Solid phase extraction and determination of sub-ppb levels of hazardous Hg^{2+} ions. *J. Haz. Mat*., B117：129-133.
20) Cizdziel, J. V., T. A. Hinners and E. M. Heithmar (2002) Determination of total mercury in fish tissues using combustion atomic absorption spectrometry with gold amalgamation. *Water Air Soil Poll*., 135：355-370.
21) Schmitt, C. J. and W.G. Brumbaugh (2007) Evaluation of potentially nonlethal sampling methods for monitoring mercury concentrations in smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) . *Arch. Environ. Contam. Toxicol*., 53：84-95.
22) Harrington, C. F., S. A. Merson and T. M. D' Silva (2004) Method to reduce the memory effect of mercury in the analysis of fish tissue using inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 505：247-254.
23) Ubillús, F., A. Alegría, R. Barberá, R. Farré and M. J. Lagarda (2000) Methylmercury and inorganic mercury determination in fish by cold vapour generation atomic absorption spectrometry. *Food Chem*., 71：529-533.
24) Torres, D. P., M. A. Vieira, A. S. Ribeiro and A. J. Curtius (2005) Determination of inorganic and total mercury in biological samples treated with tetramethylammonium hydroxide by cold vapor atomic absorption spectrometry using different

temperatures in the quartz cell. *J. Anal. At. Spectrom*., 20：289-294.

25）Segade, S. R. and J. F. Tyson（2007）Determination of methylmercury and inorganic mercury in water samples by slurry sampling cold vapor atomic absorption spectrometry in a flow injection system after preconcentration on silica C18 modified. *Talanta*, 71：1696-1702.

26）Canário, J., M. Caetano and C. Vale（2006）Validation and application of an analytical method for monomethylmercury quantification in aquatic plant tissues. *Anal. Chim. Acta*, 580：258-262.

27）Qvarnström, J. and W. Frech（2002）Mercury species transformations during sample pre-treatment of biological tissues studied by HPLC-ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom*., 17：1486-1491.

28）Prestbo, E. M. and N. S. Bloom（1995）Mercury speciation adsorption（MESA）method for combustion flue gas: methodology, artifacts, intercomparison, and atmospheric implications. *Water Air Soil Pollut*., 80：145-158.

29）Delgado, A., A. Prieto, O. Zuloaga, A. de Diego and J.M. Madariaga（2007）Production of artifact methylmercury during the analysis of certified reference sediments：Use of ionic exchange in the sample treatment step to minimise the problem. *Anal. Chim. Acta*, 582：109-113.

30）Rodriguez Martin-Doimeadios, R. C., M. Monperrus, E. Krupp, D. Amouroux and O. F. X. Donard（2003）Using speciated isotope dilution with GC-inductively coupled plasma MS to determine and unravel the artificial formation of monomethylmercury in certified reference sediments. *Anal. Chem*., 75：3202-3211.

31）Demuth, N. and K. G. Heumann（2001）Validation of methylmercury determinations in aqyatic systems by alkyl derivatization methods for GC analysis using ICP-IDMS. *Anal. Chem*., 73：4020-4027.

（受付 2008 年 4 月 3 日，受理 2008 年 5 月 23 日）