

2. サンプリング

2-1 環境試料

2-1-1 生物試料（魚介類）

人体へのメチル水銀曝露の殆んどが魚介類の摂取を介してのものであるので、その地域の人がよく食べる魚介類によるモニタリングは人間集団の曝露の評価に適している。また、魚肉中水銀の殆んどがメチル水銀の形態で含まれているため、人体へのメチル水銀取り込み量の推定を総水銀の測定値を用いて行っても差し支えない。但し、非常に高い値が出た場合や、肉質中の総水銀中に占めるメチル水銀の割合が必ずしも一定していない鯨肉や内臓等ではメチル水銀の測定も必要となる。

採取した魚介類は、採取日時、場所、種、雌雄、年齢等を記録し、体重、体長等を測定しておく。魚類は可食部 10 - 20 g を採取しポリエチレン袋に入れ冷凍保存する。貝類は、筋肉、消化管内容物、貝柱（巻き貝には貝柱が無いので可食部）に分けてポリエチレン袋に入れ凍結保存する。貝類の消化管には底質が含まれていることが多いので、保存する前にそれらを取り除いておく。

わが国の食品衛生法に基づく魚介類の水銀の暫定基準は、総水銀として 0.4 mg/kg（湿重量）である。魚介類の総水銀濃度で 0.01 - 0.1 mg/kg（湿重量）程度が通常のバックグラウンド値と考えられる。

2-1-2 水試料

水試料の採取には、バンドン採水器等を用い、表層水は水面下 20 - 30 cm から採取することが望ましい。底質面の近くの水層からの採取は、底質が混入しないよう注意深く行なう。海水の採取は、風や雨の日を出来るだけ避け、原則として満潮時におこなう。湖沼・海域どちらの場合も、採水日時、採水場所、水質の一般性状および污染源との位置関係等の情報を明確にしておく。

試料水は、塩酸等で良く洗浄したガラスもしくはテフロン製でかつ密閉できる容器に満たして移送する。わが国の水質汚濁防止法に基づく基準では、総水銀については環境庁告示第 64 号（1974 年 9 月）によって、排水基準および環境基準をそれぞれ 0.005 mg/L、0.0005 mg/L と定め、またアルキル水銀については、排水基準、環境基準ともその公定法の定量限界 0.0005 mg/L をもって検出されないこととなっている。高濃度に水銀を含む廃水の突発的流出のような汚染事故の場合はこのような基準を目安にし、総水銀およびアルキル水銀の測定値を評価する。一般に総水銀の代表的な値は、大洋で 0.5 - 3 ng/L、沿岸水で 2 - 15 ng/L、川や湖で 1 - 3 ng/L である。

2-1-3 底質・土壌試料

土壤試料を採取する場合、汚染源の平面的位置およびこれと関連する予想汚染範囲の大小により、土壤採取頻度が異なる。土壤を調査現地から採取するための方法は、これまでに各種提案されている。現在、我が国では土壤汚染対策法が昨年度（環境省、平成 15 年）より施行されており、その中に土壤試料の採取方法について詳細に述べられているので、基本的にその方法にここでも準拠する。その汚染概況調査方法について概要を述べると、当該汚染の危険性が容易に判断される箇所については、100 m²（10 m × 10 m 格子）につき 1 試料を採取する。汚染履歴調査等の結果よりそれほど危険性が大きくないと判断される箇所については、900 m²（30 m × 30 m 格子）につき 5 地点混合法により 1 試料を採取する。5 地点混合法は、各格子中心点およびその回りに設定した 4 箇所のサブ採取ポイントを含めた計 5 ヶ所から個別に試料採取を行い、最後にまとめて一つの試料とする。これにより、各格子で得られた土壤試料の代表性を高めることができる。格子中心以外 4 ポイントの場所の選定は、ある程度大まかでもかまわないが、中心の周り東西南北の 4 方位で採取することが望ましい。

各採取ポイントにおける深度方向の土壤試料の採取は、採取部位として土壤表面から下 50 cm までの土壤とする。具体的には、土壤表面から 5 cm 迄と、5 cm から下 50 cm 迄の二つに分けて個別に採取する。土壤採取後、各土壤試料中の夾雑物（小石、根等）をできるだけ取り除き、四分法によって各土壤を十分に攪拌均一化する。均一化後、同重量ずつ混合し試料とする。5 地点混合法の場合も同様で、上述の処理を行って均一化された 5 土壤試料/地点を、同量ずつ混合して 1 試料とし、各種分析に供する。

河川の場合、調査対象水域の規模や予想される汚染の程度にもよるが、産業排水または都市下水などの放流口から下流に向かって 50 - 200 m 間隔で底泥の採取しやすい地点を選び、対照としてその上流部に二箇所程度の底泥採取地点を設けることが望ましい。採取点では通常河川の両岸および中央部で採泥されるが、河川幅が大きい場合は、採取地点を増やす。また、湖沼、海域の場合には、放流口或いは河口を中心に放射状に採取地点を設定、必要に応じてメッシュ調査を行う。試料の採取方法としては、河川、湖沼、浅海等の表層部の採泥にはエクマン・パージ型採泥器を用い、堆積状況や過去の汚染履歴、堆積量の推定等のためにはコア採泥器を用いて柱状試料を採取する。

採取された底質の場合も、試料中の木片、小石、貝殻、ゴミを除いた後、2 mm のふるいを通したものを試料とする。水分含量の多い場合には遠心分離して上澄液を除き、よく混合し均質化して分析に供する。採取日時、場所、一般性状（外観、色相、臭気、夾雑物等）等の情報を記録しておく。採取されたサンプルの容器はガラス製が望ましいが、密閉できるものであればその限りではない。容器は予め塩酸等で良く洗浄しておく。冷暗所保存とし、金属水銀または二価の水銀を含有する試料の場合では凍結保存する。

一般に土壤中の水銀含量は乾重量で 0.2 mg/kg 以下である。土壤の総水銀濃度で数 mg/kg を超える測定値が検出された場合は、土壤から更に他の環境への流出が危惧されるので、近辺水系の水銀汚染調査が必要となる。

2-1-4 植物試料

植物の中でも、地衣類は大気汚染物質の生物指標として適した様々な特質を有し、他の根のない着生植物と同様に空気中の栄養素を直接取込み、効率よく金属類を蓄積し、高い組織中金属濃度にも耐性を示す。地衣類は地理的にも広く分布しているため、国内はもとより国際間の大気汚染評価を実施する場合にも適している。事実、地衣類（*Parmelia* 種および *Usunera* 種等）はこれまで水銀をはじめ種々の重金属汚染物質による大気汚染評価のための研究に盛んに用いられ、これに関連した総説も Garty（2001）によって報告されている。地衣類は、通常樹木や枝に着生しているので、それを採取する。水でよく洗い、木片や粉塵等を探り除き、風乾して試料とする。測定時にバイアル瓶に数 g とり、解剖用鋏で細切後試料とする。

2-1-5 大気・空気試料

大気および室内環境が水銀で汚染されていることが予想される場合には空気試料を採取する。大気中の水銀濃度は大きく変動するため、特に汚染源との距離や日頃の風向きを考慮し、水銀分布が明らかになるようなサンプリング地点を決める必要がある。一般室内環境、作業室内環境等の空気試料については、室内を 3 m 四方のメッシュ（作業環境の規模によりメッシュ幅を増減する）に分割し、メッシュの交点で試料を採取する。人への曝露を考慮すると、地上 1 - 2 m 程度をサンプリング点として設定することが望ましい。大気または室内空気中の水銀を捕集するには、0.1% 過マンガン酸カリウム - 1N 硫酸溶液を吸収液とし、その 20 ml をインピンジャーまたはこれに類する吸収びんに入れ、吸引ポンプを用いて測定地点の空気を 1 L/min の流速で一定時間吸引して濃縮する。一般に市販の過マンガン酸カリウムは水銀を含有している場合が多いので、1N 硫酸に溶解後煮沸して MnO_2 の沈殿を生成させ、冷却後ろ過したものを吸収液として使用する。この操作により含有水銀の大部分が除かれる。また、こうして得られた吸収液は水銀蒸気を効率よく捕集し、通常吸収びんは一本で充分である。吸引終了後、吸収液が蒸発し減量した場合は吸収液を加えて一定量とし、これを試験溶液とする。この試料とは別に、通気しない吸収液を同量とり、吸収液のみのものおよびこれに水銀標準溶液を一定量加えたものを用意し、それぞれ空試験溶液および標準試験溶液とする。測定時、10% ヒドロキシルアミン塩酸塩溶液を滴加して過マンガン酸カリウムの色を脱色後、他の試料と同様に還元気化原子吸光光度法により試験溶液中水銀濃度を定量し、採取した空気量から試料空気中水銀濃度を算出する。本法は、環境大気、作業環境内空気、発生源排ガス等の試験に広く適用することができる。大気中の水銀については環境、発生源ともわが国での基準値は設定されていないが、作業環境における水銀蒸気の許容濃度として 0.025 mg/m^3 が日本産業衛生学会によって勧告されている。

2 - 2 人体試料

2 - 2 - 1 毛髪試料

毛髪中水銀濃度は、毛髪が形成される時の血液中のメチル水銀濃度を反映し、サンプリングの簡便性及び非侵襲性、サンプル保存性の良さ等の理由から、メチル水銀曝露の指標としてよく用いられる。一般に、毛髪中の水銀濃度は血中濃度に比して 250 - 300 倍を示す。毛髪は 1 ヶ月に約 1 cm 伸びるので、過去に遡っての曝露評価も可能である。しかし、毛髪中水銀濃度に関しては外部からの水銀蒸気や無機水銀の付着による汚染、パーマなどの毛髪処理による減少あるいは採取部位等の影響が指摘されている。

外部からの無機や水銀蒸気の曝露が無い場合、毛髪中水銀のほとんどがメチル水銀の形態であるため、総水銀を測定することによってメチル水銀の曝露評価が可能である。ただし、金採掘者や金精錬に携る人々では金属水銀や水銀蒸気による汚染を受けている可能性が高いため、毛髪中総水銀と同時にメチル水銀を測定することによって真のメチル水銀曝露評価が可能となる。試料としては後頭部の頭髪を少なくとも 20 本（長さ 1 cm で約 10 mg）以上をまとめて毛根部から鋏で切り取り、根元が確認できるように綿糸で縛るか、粘着テープに付けるなどしてポリエチレン製袋に入れ、常温で保存する。わが国における一般正常人の毛髪水銀濃度の大部分は 1 - 5 $\mu\text{g/g}$ の範囲内にあり、10 $\mu\text{g/g}$ を超えることは稀である。

2 - 2 - 2 血液試料

血液の水銀は魚介類を多食している人々では、赤血球：血漿（血清）の水銀濃度比は 10 : 1 に近く、赤血球中水銀のほとんどがメチル水銀であるため、総水銀を測定することによってメチル水銀の曝露評価が可能である。一方、血漿中の無機水銀濃度は約 50%とされており、血漿中総水銀濃度は無機水銀・水銀蒸気の曝露評価の指標となり得る。血液試料は通常の採血のように静脈血を抗凝固剤（ヘパリン）を入れた注射筒に数 ml 採取し密閉容器に移し、3000 rpm で 10 分間遠心分離し、赤血球と血漿に分ける。保存する場合は凍結する。一般正常人における血中水銀濃度は 40 ng/g 以下と考えられるが、魚介類の多食者ではこの値を超える場合もある。

2 - 2 - 3 尿試料

尿中水銀の多くは無機水銀の形態である。腎臓に蓄積された無機水銀の量に応じて尿中水銀濃度が増加する。したがって、尿中総水銀値は無機水銀・水銀蒸気の曝露評価指標として重要である。一方、腎疾患等の場合メチル水銀の尿中への漏出も起こりうる。尿中水銀濃度は排泄速度によっても変化するので、尿中クレアチニン濃度で補正するか、時間を

指定した尿の採取が必要となる。一般に、早朝尿が試料として採取される。通常の尿検査の場合と同様に紙コップで 50 - 100 ml 採取し、ポリエチレン容器等に入れて冷蔵保存する。1 ヶ月以上保存する場合には冷凍保存する。尿は無機塩類を多く含んでいるため、新鮮尿でも沈殿が生じる場合がある。測定に当っては試料の均一化が必要である。塩酸を少量加えて尿試料の pH を下げ、塩類の溶解を高める方法もある。微生物が繁殖すると、無機水銀が水銀蒸気になって散逸する可能性があるため留意する。特に水銀曝露のない地域の一般健康人の尿中水銀濃度は 10 ng/ml 以下と考えられている。

2 - 2 - 4 臍帯試料

臍帯試料は分娩時に胎児側の数 cm を採取し、生理食塩水で洗浄して血液を除いたものを試料とし、分析時まで凍結保存する。臍帯試料は採取後風乾することにより、乾燥試料として長期に保存することもできる。また、わが国では古くから各家庭でこの臍帯を大切に保存する習慣があるので、それらの水銀量を測定することにより、個々の出生当時の児の水銀曝露評価が可能である。ただし、1970 年代以前の臍帯については、当時外用薬として汎用されていた赤チン（マーキュロクロム）の塗布により多量の無機化された水銀を含んでいる場合が多く、曝露評価のためにはメチル水銀の測定が不可欠である。この場合、保存臍帯を水に浸して膨潤させ、血液その他の付着物を除いて水洗後、風乾し分析用試料とする。

わが国の一般健康人における臍帯中メチル水銀値は、0.1 $\mu\text{g/g}$ （乾重量）前後と考えられている。水俣病発生当時出生した児では、臍帯中メチル水銀値が数 $\mu\text{g/g}$ （乾重量）にも達したことが報告されている。

（参考：単位換算表）

1 ppm = 1 mg/kg (L) = 1 $\mu\text{g/g}$ (ml) = 1 ng/mg (μl)

1 ppb = 1 $\mu\text{g/kg}$ (L) = 1 ng/g (ml)

1 ppt = 1 ng/kg (L)