

課題名 5RF-1303 水銀汚染土壌および底質中のメチル水銀の
簡易・迅速・高感度な分析システムの開発

課題代表者名 児玉谷 仁(国立大学法人鹿児島大学 理工学研究科 地球環境科学専攻 助教)

研究実施期間 平成25～26年度

累計予算額 17,791千円(うち26年度934,8千円)
予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード メチル水銀、エチル水銀、水銀汚染、土壌、底質、高速液体クロマトグラフィー、
化学発光検出、前処理操作

研究体制

(1)水銀汚染土壌および底質中のメチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発
(国立大学法人鹿児島大学)

研究協力機関

国立水俣病総合研究センター、Metropolitan Council Environmental Services (MN, USA)

研究概要

1. はじめに(研究背景等)

環境中に放出された水銀は、その化学形態を変化させながら国境を越えて拡散する。2013年10月、国際的な水銀規制条約である「水銀に関する水俣条約」が採択され、その発効に向け環境中に放出された水銀の挙動解明がより一層必要とされている。数ある水銀化学種の中で、水俣病の原因物質として知られるメチル水銀は、環境中に放出された無機水銀からも生成し、食物連鎖を通じて濃縮していく。土壌・底質は、このメチル水銀の主生成場とされているが、生成したメチル水銀がどのような経路で生体に濃縮されていくのか詳細には明らかになっていない。また近年、水銀鉱山付近の水田で採取された米にメチル水銀含まれることが報告されており、水銀による土壌汚染とメチル水銀の農作物への取込が新たな問題となりつつある。これらのことから、土壌・底質中のメチル水銀濃度を評価できる分析法が必要となっている。

2. 研究開発目的

本研究は、土壌や底質中のメチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析法を確立することを目的としている。水銀汚染を受けた土壌・底質は非常に高濃度(～数千mg/kg)の無機水銀を含み、その水銀の一部が、微生物活動等によりメチル水銀化する。つまり、土壌・底質中のメチル水銀測定は、非常に高濃度の無機水銀の中から、極微量(数 μ g/kg)のメチル水銀を測定しなければならない。よって、その測定は非常に難しいことが知られ、既存分析法では煩雑な分析操作が必要とされている。加えて土壌・底質の化学組成は、地域や環境により大きく異なるため、常に同じ分析法で対応できているとは限らない。また不均一な土壌・底質試料を再現よく測定するためには、乾燥・均一化処理が必要となるが、この程でも水銀の化学形態変化が起こりうる。この分析法の問題と、多様な組成を持つ土壌・底質中に存在し、化学形態を容易に変化させる水銀を測定するという困難な作業が状況を複雑化し、土壌・底質中におけるメチル水銀の挙動解明を遅らせているといえる。また、水銀汚染が現在進行形で進んでいる発展途上国でも容易に利用できる分析法が必要である。これらのことから、土壌や底質中のメチル水銀濃度を簡易な操作で迅速に測定できる分析法を確立することを目的とした。

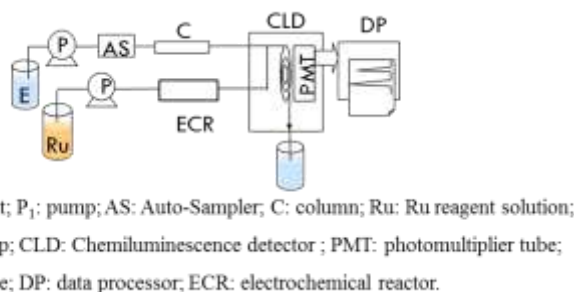
3. 研究開発の方法

(1)メチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発

研究代表者らは、これまで煩雑な分析操作を必要としない独自のメチル水銀高感度分析法の開発を進めてきた。これまでに確立した土壌底質中のメチル水銀測定手順を下記に示す。

- ① 土壌・底質試料(～1 g)を20 mLの0.1 M Cu^{2+} と5 mM Pd^{2+} を含む5 M HClにより60分振とうする。この操作により固体試料から水銀種を液相に溶出させる。
- ② 遠心分離により固液分離した後、液相にトルエンを5 mL加え、10分振とうする。これにより、試料溶液中に含まれるアルキル水銀は、塩化物の形でトルエン相に抽出される。一方、大過剰に存在し、メチル水銀測定を妨害する Hg^{2+} は、 HgCl_4^{2-} のテトラクロロ錯体を形成し、水相に残る。この結果、アルキル水銀のみを分離することが可能になる。 Cu^{2+} と Pd^{2+} は、試料中に存在する配位性の夾雑物をマスキングするために添加されている。
- ③ トルエン相の一部を別容器に分取し、2 mM EDTA溶液(20 mM ホウ酸緩衝液、pH 9)により、水銀種をEDTA錯体として水相に逆抽出する。
- ④ 水銀の形態別分離・検出には、水銀と強い錯体を形成するエメチン—ジチオカルバミン酸配位子(Emetine CS_2)を利用する。EDTA錯体となったアルキル水銀にこの配位子を加えて錯形成させる(混合のみで直ちに錯体化する)。
- ⑤ これを図(1)-2の高速液体クロマトグラフィー化学発光検出装置(HPLC-CL)に注入する。水銀錯体は、その形態ごとにHPLC分離され、脂肪族第三アミン構造と強い発光反応を起こすことで知られるTris(2,2-bipyridine)ruthenium(III)(Ru錯体)溶液と混合される。Emetine CS_2 は脂肪族第三アミン部位を持つため、Ru錯体を発光させる。この結果、間接的ではあるが水銀量が発光量として測定されることになる。

このHPLC-CLを用いた測定法の利点は、非常に高い感度と高い選択性を併せ持ち、また測定装置の原理が単純で装置が安価な点にある。この開発法を利用し、既存の分析法(4種類)と17種の土壌・底質試料について測定値のクロスチェックをおこなったところ、一部の試料で測定値に大きな差が確認された。この結果は、各分析法が多種多様な化学組成を有する土壌・底質試料に対応できていないことを示唆していると考えられた。



図(1)-1 HPLC-CL装置概略図

Eluent: 20 mM citrate buffer (pH 3.1)-Acetonitrile (50:50, v/v), 1.5 ml/min; Ru complex solution: 0.25 mM $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ in 0.1 M H_2SO_4 , 0.3 ml/min; Column: *L*-column ODS2 (5 μm , 4.6 x 250 mm) and guard column (10 mm); PMT: -550V; ECR: HX-201, 200 μA .

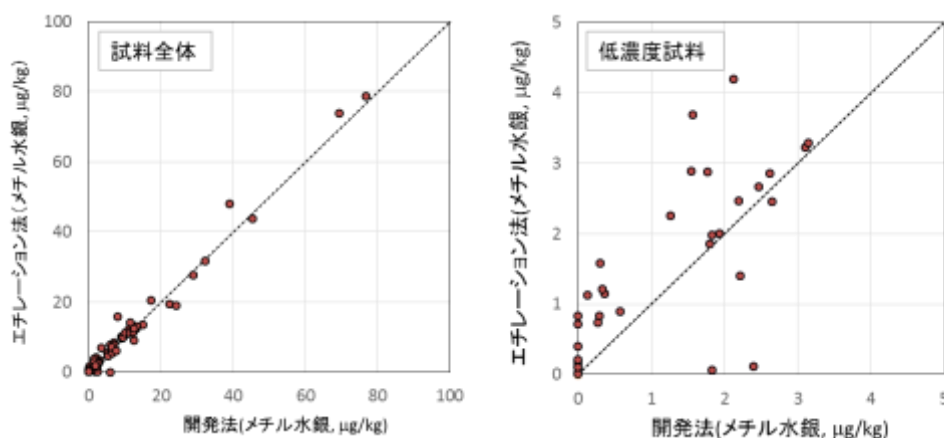
そこで本研究では、多種多様な化学組成を有する土壌・底質に対応できるように開発分析法をブラッシュアップする。この検討に必須となるのが、様々な組成を有する土壌・底質試料である。そこで、これまで採取保存してきた試料に加え、様々な要因で水銀濃度が高い地域の調査を実施する。このとき土壌・底質試料に加え、水や大気、生体等についても調査を進める。この結果、分析法の確立に加え水銀の環境挙動に関する知見を集積できることになる。また分析法の確立には、均質でメチル水銀濃度が変化せず長期的に利用可能な試料が必要となる。しかし、土壌・底質試料は不均一で水分を含み、保存中にメチル水銀濃度が変化する可能性も考えられる。そこで試料の取扱法(乾燥法や保存法)についても検討を進める。試料の取扱法は、試料が持つ情報を正確に引き出すために重要な操作と言え、分析法の確立のみならず環境中のメチル水銀の挙動解明研究を進めていくうえでも非常に重要な知見となる。

4. 結果及び考察

(1)メチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発

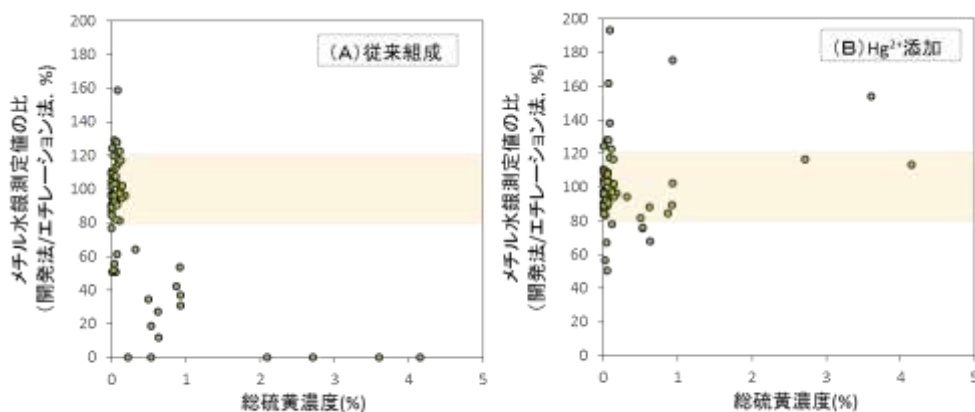
1)開発分析法のブラッシュアップ

開発法の前処理手順、HPLC測定条件の一つ一つを精査し、特に前処理法をミスがなく容易に実施可能なものに再構築した(表(1)-1参照)。また土壌・底質試料のみではなく、生体試料にも対応できるよう検討を進めた。そして、世界的に最も利用されているメチル水銀測定法であるエチレーション法(エチレーション-GC-AFS、Metropolitan Council)、日本の水銀分析マニュアルに記載されている水銀分析マニュアル法(ジチゾン抽出-GC-ECD法、国立水俣病総合研究センター)とクロスチェックを行った。開発法とエチレーション法の測定値比較結果を図(1)-2に示す。大部分の試料で測定値はよく一致した。しかし、一部の試料でエチレーション法に比べ開発法での測定値が低い試料やその逆の試料が確認された。そこで試料の化学組成から原因究明を進めた。



図(1)-2 開発法とエチレーション法との測定値比較(72試料)

結果として図(1)-3(A)のように試料中の硫黄濃度が高い試料ほど、測定値比(開発法での測定値/エチレーション法での測定値、%)が低いことが確認された。開発法は、メチル水銀と塩化物イオンの弱い錯形成を利用してトルエン相にメチル水銀を移し、そこから比較的強い錯体を形成するEDTAにより水相に逆抽出し、最終的に水銀と強く結合する硫黄部位を有するEmetineCS₂配位子により錯体化して測定する。最初の抽出段階で弱い配位子である塩化物イオンを使うため、配位性の夾雑物をマスキングする目的で5 mM Pd²⁺、0.1 M Cu²⁺を含む5 M 塩酸を溶出液として利用している。しかし、水銀と強く結合する硫黄成分の多い試料ではマスキング効果が不足し、メチル水銀が塩化物として抽出できていないと考え、Hg²⁺をマスキング剤として添加することとした。結果として、これまでの溶出液にさらに0.05 mM (10 mg/L)となるようHg²⁺加えることで、硫黄濃度が20%を超えるような海底質においても添加回収率が80%以上になり、またエチレーション法で得られた測定結果と近い値が得られた(図(1)-2(B))。これらの結果、開発法は高い硫黄濃度を持つ試料にも対応できる分析法になったと言える。逆にエチレーション法で測定値が低い試料は、水銀分析マニュアル法との比較や開発法での添加回収実験の結果から、エチレーション法では測定できていない可能性が高いことが確認できた。エチレーション法は世界的に最も多用されているメチル水銀測定法であるが、分析手順の再検討が必要と考えられる。



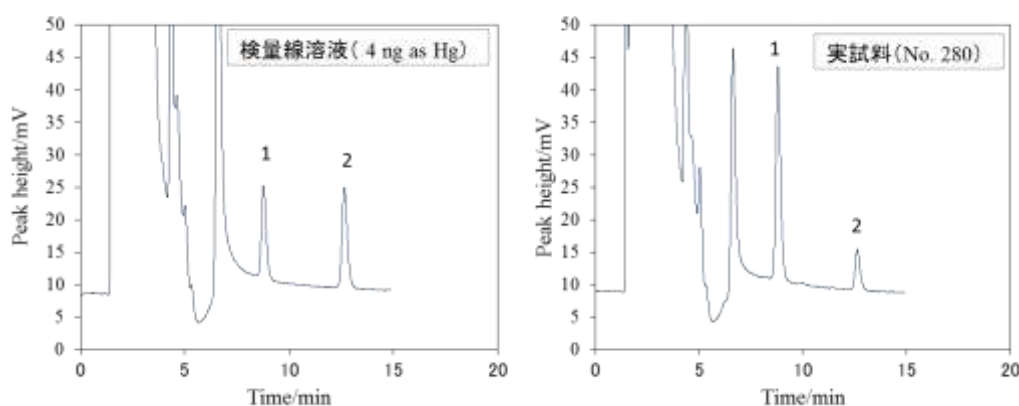
図(1)-3 硫黄による妨害確認とHg²⁺添加効果

開発法について、エチレーション法および水銀分析マニュアル法と測定感度、操作の容易さ、測定時間等を比較し評価をおこなった。開発法の最終的な分析手順、エチレーション法および水銀分析マニュアルの手順を表(1)-1に示す。

<測定感度>

メチル水銀、エチル水銀の標準溶液を用い、開発法のHPLC-CLシステムによる装置検出限界($2 \times S \times t(n-1, 0.05)$)と装置定量限界($S \times 10$)を50ng/Lを7回測定したときの標準偏差(S)から算出した。結果、装置検出限界はそれぞれ5.7 ng/L、6.6 ng/L(絶対量として約1 pg)、装置定量限界($S \times 10$)は15 ng/L、16 ng/Lであった。また検量線の範囲は少なくとも10 $\mu\text{g/L}$ まで良好な直線が得られた。前処理の必要ない水試料であれば、国の環境基準である0.5 $\mu\text{g/L}$ の1/10の濃度をEmetineCS₂試薬の添加だけで容易に測定可能である。

鹿児島湾海底質1gに0.5 ng/gとなるよう標準液を添加した試料を9回試料調製し、前処理を行い、開発分析法の検出下限値(MDL)と定量下限値(MQL)を算出したところ、メチル水銀、エチル水銀のMDLはそれぞれ0.07 ng/g、0.08 ng/g、MQLは0.20 ng/g、0.23 ng/gとなった。また検量線範囲は少なくとも250 ngまで良好な直線が得られた。代表的なクロマトグラムを図(1)-4に示す。検量線溶液のクロマトグラム、実試料のクロマトグラムからわかるように、妨害物質等の検出もほとんどなく測定が可能である。



図(1)-4 開発法前処理を実施した検量線溶液及び実試料のクロマトグラム
Peak identification: 1. Methylmercury, 2. Ethylmercury

<前処理>

前処理の作業ステップ数、振とう等の待機時間を積算したものを表(1)-4に示す。開発法は、振とう、遠心分離等、試薬の添加など簡易な操作かつ作業ステップ数も少ない。24本(検量線溶液4本、試料20本)を1セットとして、前処理にかかる時間は4時間以内である。水銀分析マニュアル法は、開発法と同様に試薬の添加、振とう、遠心分離等の簡易な操作のみであるが、作業ステップ数が開発法に比べ2倍以上と煩雑である。エチレーション法は、作業ステップ数は開発法と同じであるが、有機溶媒の蒸発除去など作業に時間のかかるものが多く、エチル化反応やパージトラップ操作など多数の試料を一度に処理することが困難な操作を含んでいる。

表(1)-2 各分析法の前処理操作

	開発法	エチレーション法	水銀マニュアル法
ステップ数	15ステップ	15ステップ	37ステップ
待機時間	66分	237分	63分
		待機時間・・・振とうや遠心分離などの待ち時間	

表 (1)-1 開発法と既存法 (エチレーション法、水銀分析マニユアル法) の測定手順

開発法(HPLC-CL)	エチレーション法 (GC-AFS)	水銀分析マニユアル法(GC-ECD)
<p>① Sample (0.1-1.0 g) を遠沈管(50mL)に量り取る</p> <p>② 溶出液 (0.05 mM Hg²⁺, 5 mM Pd²⁺, 0.1 M Cu²⁺ を含む 5 M HCl 溶液) を 20 mL 加える</p> <p>③ 30分間振とう</p> <p>④ 3000rpm で10分間遠心分離</p> <p>⑤ 上澄み液を別の遠沈管に移す</p> <p>⑥ トルエン5 mL を加える</p> <p>⑦ 10分間振とう</p> <p>⑧ 3000rpm で5分間遠心分離</p> <p>⑨ 水相を吸引除去</p> <p>⑩ 硫酸ナトリウムを適量 (1-3 g) 加えて混合 (脱水)</p> <p>⑪ 3000rpm で5分間遠心分離</p>	<p>① Sample (0.1-0.5 g) をテフロンの遠沈管(30mL)に取る</p> <p>② 18% w/v KBr (acidified to 5% v/v with H₂SO₄) 溶液を 5 mL 添加</p> <p>③ 1 M CuSO₄ 溶液 1 mL と ジクロロメタン 13 g を添加</p> <p>④ 1時間静置</p> <p>⑤ 1時間振とう</p> <p>⑥ 3000rpm で20分間遠心分離</p>	<p>1. Sample (0.1-0.5 g) を遠沈管(50 mL)に量り取る</p> <p>2. 1 M KOH(エタノール)溶液を10 mL 添加</p> <p>3. 20分間超音波溶出</p> <p>4. 20分間振とう</p> <p>5. 1 M HClを10 mL加え弱酸性化</p> <p>6. N₂ガスを5分間吹き込みH₂Sを除去</p> <p>7. 20% 塩化ヒドロキシアルミニウム溶液を2 mL添加</p> <p>8. 20% EDTA溶液を2 mL添加</p> <p>9. 0.01% ジチゾン (トルエン) 溶液を5 mL 添加</p> <p>10. 3分間振とう</p> <p>11. 3000rpm で3分間遠心分離</p> <p>12. 水相 (固体含む) を吸引除去</p> <p>13. トルエン相を分取しフロリジルカラムに通し10 mLの遠沈管に受ける</p> <p>14. 1 M NaOHを3 mL添加 (洗浄1回目)</p> <p>15. 3分間振とう</p> <p>16. 水相を吸引除去</p> <p>17. 1 M NaOHを3 mL添加 (洗浄2回目)</p> <p>18. 3分間振とう</p> <p>19. 1200rpm で3分間遠心分離</p> <p>20. 水相を吸引除去</p>
<p>① トルエン相4 mL を遠沈管(10 mL)に移す</p> <p>② 2mM EDTA溶液(40 mM ホウ酸緩衝液, pH 9)を0.5 mL加える</p> <p>③ 30秒振とう</p> <p>④ 1200 rpm で5分間遠心分離</p>	<p>① テフロンの製容器(60 mL)に超純水40mLを量り取る</p> <p>② 超純水を入れたテフロンの製容器にジクロロメタン相(2-3g)を分取して添加</p> <p>③ 45°Cで加温しながらN₂ガスを100 mL/minで吹き込みジクロロメタンを除去 (1時間)</p>	<p>21. トルエン相(3 mL)を10 mL 遠沈管に移す</p> <p>22. アルカリ性酸化ナトリウム溶液2 mLを添加</p> <p>23. 3分間振とう</p> <p>24. 1200rpm で3分間遠心分離</p> <p>25. トルエン相を吸引除去</p>
<p>① 水相 300 μL をオートサンプラー用パイプ(2 mL)に分取</p> <p>② 4 μM emetineCS₂溶液(アセトニトリル)を300 μL添加 (オートサンプラーの試薬添加機能を利用する場合不必要)</p>	<p>① 試料溶液(1-40 mL)をガラス製反応容器に分取する</p> <p>② 超純水を加え一定体積(100 mL)に調整する</p> <p>③ 酢酸緩衝液 200 μL を加えpHを4-5に調整する</p> <p>④ 1% NaBEt₃を100 μL加え混合</p> <p>⑤ 25分間静置 (エチル化反応を進める)</p> <p>⑥ Hg-free N₂ガスを12分間吹き込み気化物をTenaxトラップに捕集する</p>	<p>26. 1 M HClを200 μL加え弱酸性化する</p> <p>27. N₂ガスを100 mL/minで5分間吹き込み (H₂Sを除去)</p> <p>28. Wajpole 緩衝液2mLを加える</p> <p>29. 0.01% ジチゾン(トルエン) 溶液を200 μL加える</p> <p>30. 3分間振とう</p> <p>31. 1200rpm で3分間遠心分離</p> <p>32. 水相を吸引除去</p> <p>33. 1 M NaOHを3 mL加える</p> <p>34. 3分間振とう</p> <p>35. 水相を吸引除去</p> <p>36. 1200rpm で3分間遠心分離</p> <p>37. 1 M HClを滴加えて弱酸性化</p>
<p>HPLC-CLに200 μL注入 (オートサンプラー可)</p> <p>測定時間 10分/sample</p>	<p>Tenax捕集管を加熱脱附装置をもつGC-(熱分解)-AFSに接続 (Tenax捕集とGC-AFSへの導入を自動化した装置が市販)</p> <p>測定時間 7分/sample</p>	<p>オートサンプラーをGC-ECDに注入 (オートサンプラー不可)</p> <p>測定時間 10分/sample</p>
<p>H. Kodamatani, T. Tomiyasu, <i>J. Chromatogr. A</i>, 1228, 155-159, 2013. H. Kodamatani et al., <i>Anal. Sci.</i>, 28(10), 959-965, 2012.</p>	<p>N. S. Bloom, <i>Can. J. Fish Aquat. Sci.</i>, 46, 1131-1140, 1989. N. S. Bloom et al., <i>Presentis J. Anal. Chem.</i>, 358, 371-377, 1997. L. Lang, M. Horvat, N. S. Bloom, <i>Talanta</i>, 41, 371-379, 1994.</p>	<p>Ministry of the Environment, Japan, MERCURY ANALYSIS MANUAL, May, 2004.</p>

<測定装置>

開発法はHPLC-CL装置であり市販されているものであるが、Ru錯体試薬の電解供給システムや脱気能力の高い脱ガス装置が別途必要である。エチレーション法、水銀分析マニュアル法は、それぞれガスクロマトグラフィー(GC)-熱分解-原子蛍光検出(AFS)装置、GC-電子捕獲検出(ECD)装置である。エチレーション法のみが水銀を直接検出する測定法で、水銀分析マニュアル法と開発法は、それぞれ塩化物イオン、EmetineCS₂を検出することで水銀を測定する間接検出法である。ただし、開発法は非常に選択性の高い検出法であり、試薬や設備を選ばないという点で間接検出がメリットとも言える。また、開発法のみが高速液体クロマトグラフィー(HPLC)ベースであり、高純度の高圧ガスが必要で装置を安定させるため常時運転が行われているGC法と比べ装置の導入・維持が容易である。

<試薬>

開発法ではRu錯体、塩化パラジウムなど比較的高価な試薬が必要である。またEmetineCS₂も合成する必要がある(合成はEmetineと二硫化炭素をアルカリ性で攪拌し、沈殿を回収するのみであり容易)。しかし、これらの試薬は使用量が微量であり、またRu錯体、塩化パラジウムは回収再生も可能である。エチレーション法では、純度の高いエチル化試薬(テトラエチルホウ酸ナトリウム)が必要で、メーカーや純度によっては試薬不純物からメチル水銀の人工生成が起こることが報告されている。また反応性が高いため試薬の取り扱いが非常に難しく、また入手できる環境が限られていることが難点として挙げられる。水銀分析マニュアル法では、比較的入手しやすい試薬のみで実施できるが、抽出試薬であるジチゾンや他試薬溶液の使用前精製が必要になる。よって前処理とは別に溶液調製に相当の時間を要する。

<器具>

開発法、水銀分析マニュアル法では市販のガラス器具を使用でき、また、振とう器、遠心分離機など一般的な設備で対応可能である。エチレーション法では、ほとんどの操作にテフロン製の器具が求められ、エチレーション反応-パージトラップ操作のための特殊形状の反応容器、有機溶媒蒸発除去操作のためヒーターと窒素ガスバブリング装置を組み合わせた設備が必要となる。(Tekran社、Canadaにより市販されている。)

<試料測定能力>

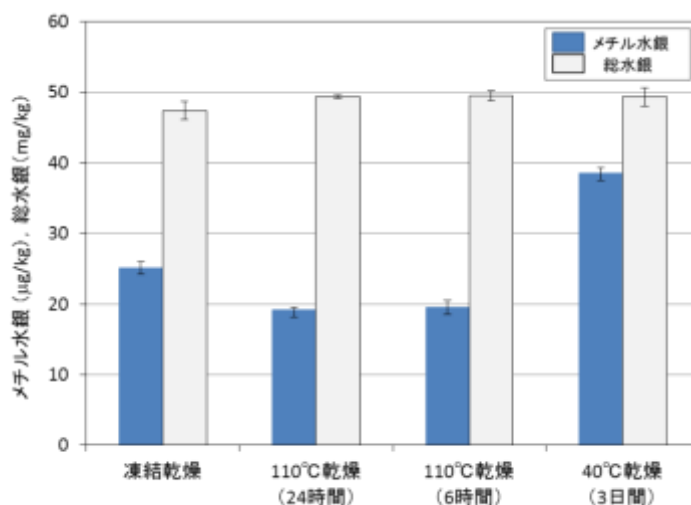
一日当たりの各分析法の試料測定能力(作業人員1名として)は、開発法20試料、エチレーション法12試料、水銀分析マニュアル法10試料である。よって開発法の試料測定能力は他に比べ約2倍となる。開発法ではHPLC測定が市販のオートサンプラーで実施できるため、1日で40試料の処理を行い夜間自動分析することも容易である。一方、エチレーション法、水銀マニュアル法は、前処理に時間がかかるため20試料程度を1日かけて前処理操作を行い翌日に測定を行っている。(水銀分析マニュアル法ではオートサンプラーの使用が不可能、エチレーション法はエチル化とパージトラップ操作を自動化した装置がTekran社より市販されている。)また開発法は、メチル水銀のみならずエチル水銀も同時に分析可能である。(水銀分析マニュアル法、エチレーション法ではエチル水銀の測定は不可能。ただし、エチレーション法のエチル化をプロピル化、フェニル化に代えた手法ではエチル水銀の測定も可能である。)

以上の点を踏まえ、開発法は既存法に比べ少なくとも2倍の試料測定能力を持つ簡易で迅速なものといえる。土壌・底質中のメチル水銀を測定するうえで実用的な測定感度(～1 gの試料でsub-μg/kgレベルの測定が可能)を持ち、また、既存法がGCベースであるのに対し、開発法はHPLCベースであり、装置の導入のしやすさや維持の面でも優れている。これらのことから、開発法は既存法に劣らない優れた方法と言える。

2) 試料取扱法の検討

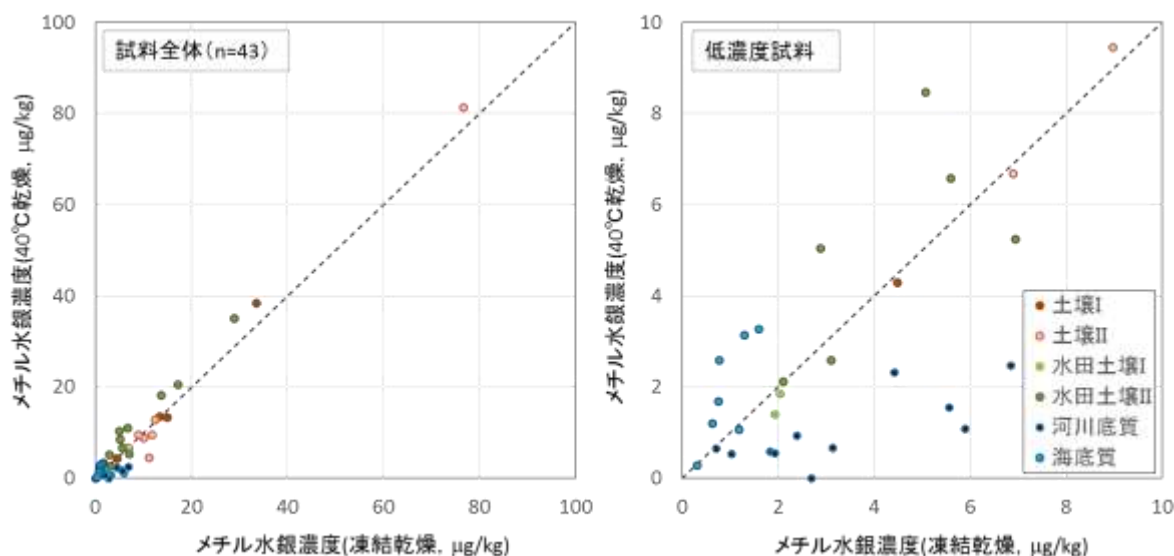
採取した土壌・底質試料は、できるだけ速やかに測定に用いることが理想であるが、多数の試料を採取し分析する環境分析の分野では、測定が完了するまでに数週間から数か月の非常に長い時間を要する。よって、採取した試料をいかに保存しておくかが重要となる。また、土壌・底質試料は水分を含み、不均一なものであるため、採取したままの状態では再現性の良い測定結果を得ることは難しく、測定データの比較も困難である。これらのことから、どのような分析法を利用するにしても、採取した試料の持つ情報を正しく取り出すための保存、乾燥等の処理法の確立が重要となる。総水銀濃度に関しては、試料の処理法が与える影響が検討された報告は数多く存在するが、メチル水銀濃度に関する報告はほとんどない。そこで、採取した試料の乾燥操作や保存状況がメチル水銀濃度に及ぼす影響について検討を進めた。

図(1)-5はインドネシアの水銀汚染地域で採取された水田土壌をできる限り均一に分割後、様々な乾燥方法で処理し、メチル水銀濃度を測定した結果である。総水銀濃度は50 mg/kg程度とほとんど変化がないが、メチル水銀濃度では大きな差が確認され、40℃乾燥を行ったもので、他と比べ約2倍のメチル水銀が検出された。これは微生物活動が活発になる温度で数日間に渡り乾燥を行ったため、メチル水銀の生成反応が進行し、このような結果となったものと考えられた。



図(1)-5 乾燥法の違いによるメチル水銀濃度の変化(水田土壌)

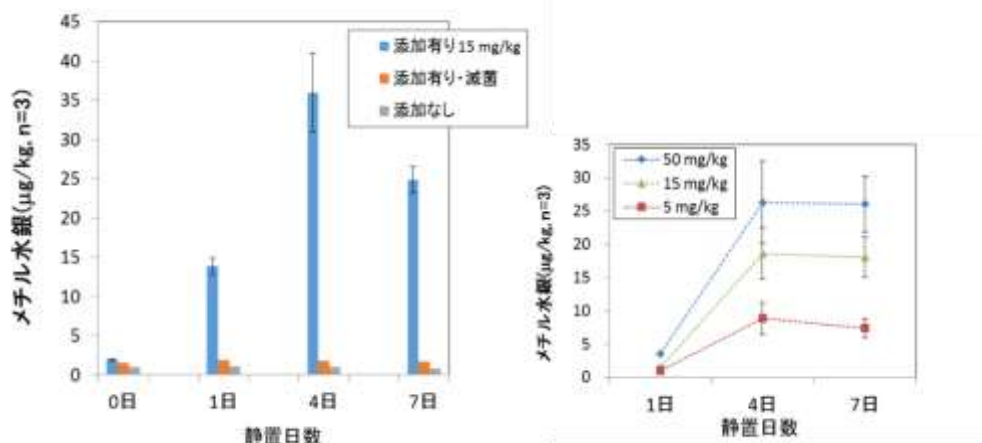
そこで様々な由来の試料を利用し、凍結乾燥したものと40℃乾燥したもので化学成分の比較を行った。メチル水銀以外の化学成分はほとんど差がなく均一な分割ができたものと考えられたが、メチル水銀濃度は特に水分を多く含む底質試料等で大きな変化が確認された(図(1)-6)。それぞれの試料は同じサンプリングで採取したものに分類しており、凍結乾燥を基準とすると、海底質(水俣湾)や水田土壌(インドネシア共和国産)では40℃乾燥でメチル水銀濃度が上昇し、河川底質(インドネシア共和国産)では大きく低下するなど試料ごとに一定の傾向を示した。共存物質の化学形態変化が分析法に影響を与えている可能性も考え、エチレーション法、水銀分析マニュアル法でも測定したが、同様の測定結果であった。



図(1)-6 乾燥処理によるメチル水銀の濃度変化

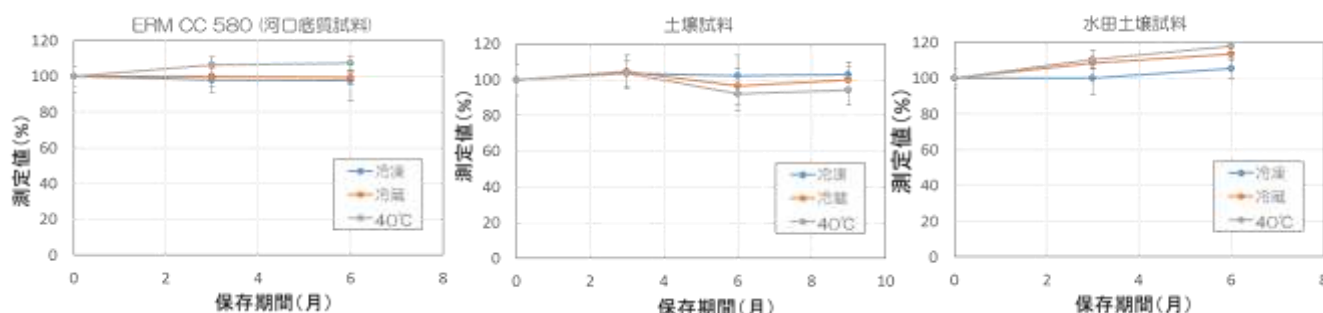
メチル水銀は微生物活動により生成・分解するとされていることから、数日の乾燥期間の間にメチル水銀が生成しうるのは確認実験を行った。大学構内で採取した水銀汚染のない水田土壌に Hg^{2+} を乾燥重量で15 mg/kg程度になるよう添加し、30℃に設定したインキュベーター内で静置した。一定時間経過後、インキュベーターから取り出して冷凍し、凍結乾燥して測定試料とした。また Hg^{2+} を添加後、121℃で30分間滅菌処理した試料も同様に静置した。測定結果を図(1)-7に示す。静置後、1日でメチル水銀の生成が確認され、4日まで上昇し、その後ほぼ一定の濃度となった。この傾向は、添加する水銀濃度を変えても同様であった。一方、滅菌処理した試料では

メチル水銀濃度の上昇は確認されなかった(ブランク試料に比べて高い濃度が検出されたのは、 Hg^{2+} 添加から滅菌処理が行われるまでに生成されたメチル水銀だと考えられる)。この結果は、乾燥操作の数日の間に微生物活動によってメチル水銀の生成や分解が起こりうることを示しているといえる。



図(1)-7 Hg^{2+} 添加によるメチル水銀生成実験

最後に乾燥粉末化した後の試料の保存状態がメチル水銀濃度に与える影響について確認をおこなった。100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 程度の高いメチル水銀濃度を持つ3つの試料を利用し、これら試料を3分割してそれぞれ冷凍(-28°C)、冷蔵(4°C)、 40°C の暗所で一定期間保存した後、メチル水銀濃度を測定した。結果を図(1)-8に示す。いずれの試料も 40°C 乾燥では若干メチル水銀濃度が変化しているような結果となったが、冷凍保存や冷蔵保存では、ほとんど変化は見られなかった。(認証標準物質ERM CC580が 4°C 保存としているため、 4°C 保存のERM CC580の測定値を基準として他の測定値を補正した。)よって乾燥粉末化した後の試料は、冷暗所に保存することで安定的に利用できると思われる。



図(1)-8 乾燥粉末化した後の保存状態におけるメチル水銀濃度変化

測定値(%)=(保存後の測定値/実験開始時の測定値)/100

認証標準物質ERM CC580が 4°C 保存を推奨しているため、

4°C 保存のERM CC580の測定値で全体を補正

これらの実験結果から、試料採取後に微生物活動によりメチル水銀の生成や分解が測定されるレベルで起こることが明らかになった。特に水分を多く含み採取により存在環境(温度や酸素濃度など)が大きく変わる試料は、可能な限り素早く冷凍し、凍結乾燥、粉末化の後、冷暗所で保存するなど、試料採取後に微生物活動を起こさせないように試料を取扱う必要がある。(試料採取後、すぐさま冷凍できるような環境も限られることから、薬品添加による固定化なども検討していく必要がある。)

3) 水銀汚染を受けた土壌・底質中の有機水銀

本研究をすすめるにあたり測定した土壌・底質の試料数は、288種(乾燥法の違いなどの重複含む)である。水銀の由来としては、火山活動(地熱を含む)、アマルガム法による金精錬活動、水銀鉱山活動、工場排水などで、試料の種類としては、海底質、河川底質、森林土壌、水田土壌などであった。これらの試料の化学組成を湿式分解-還元気化冷原子吸光法による総水銀、蛍光X線分析、元素分析(CNS)、総有機炭素(TOC)測定などにより明らかにして、メチル水銀分析法の開発に利用してきた。また、イトムカ旧水銀鉱山(北海道)、妙高山南地獄谷(新潟)では、土壌・底質試料の採取と同時に水や大気、植物等の採取・分析を進め、環境中に放出された水銀の挙動解明研究も同時に進めた。

測定した土壌・底質試料の主要化学組成をまとめたものを表(1)-3に示す。一般的に還元的環境である底質からメチル水銀が生成し、食物連鎖を通じて大型魚類に蓄積していくとされているが、検討した試料では底質より土壌、特に水銀放出源を近くに持ち、大気輸送で水銀が蓄積したと考えられる森林土壌表層で高いメチル水銀濃度が測定された。水銀汚染の経路やレベル、水銀の存在形態が異なるため単純比較はできないが、総水銀に占めるメチル水銀の割合は、海底質や河川底質では0.1%以下であるのに対し、大気輸送で水銀が蓄積したと考えられる森林土壌では、最大3%に達するものも存在し、乾燥重量で0.4 mg/kgを超えるメチル水銀濃度を持つ土壌も存在した。よって、森林土壌で生成したメチル水銀がどのような挙動を示すのか、今後、解明していく必要があると考えられる。また、水田土壌も全体的に高いメチル水銀濃度を持っており、生成実験の結果からも無機水銀が容易にメチル水銀に変化することが明らかになった。最近、米に含まれるメチル水銀が問題視されており、米のメチル水銀取り込み抑制のためにも水田土壌におけるメチル水銀の生成挙動を明らかにしていく必要がある。

表(1)-3 測定を進めた土壌・底質試料の化学組成(n=288)

	最小値	最大値	平均	標準偏差	中央値
総水銀濃度(mg/kg)	0.02	1649.85	67.41	187.62	11.24
メチル水銀濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.00	444.35	21.39	51.79	4.41
エチル水銀濃度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.00	17.40	3.42	3.83	1.94
メチル水銀の存在割合 (メチル水銀/総水銀、%)	0.00	3.28	0.16	0.38	0.04
総有機炭素濃度(%)	0.00	54.61	7.25	11.64	2.28
総窒素濃度(%)	0.00	3.08	0.48	0.61	0.23
総炭素濃度(%)	0.09	52.33	8.89	11.71	3.39
総硫黄濃度(%)	0.00	93.52	1.17	7.32	0.08
(蛍光X線分析 as Oxide)					
Al_2O_3 (%)	0.41	36.43	15.93	5.94	16.88
SiO_2 (%)	0.61	80.78	51.74	18.34	57.98
CaO (%)	0.14	73.96	12.12	18.52	2.84
Fe_2O_3 (%)	0.06	21.91	9.13	3.48	9.57

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

既存の土壌・底質中メチル水銀分析法と比べ少なくとも2倍の試料測定処理能力を持つ、簡易かつ迅速な測定法を確立した。感度的にもsub- $\mu\text{g}/\text{kg}$ レベルの定量（必要試料量1g以下）が可能で、土壌・底質中のメチル水銀濃度を評価するだけでなく、土壌・底質で生成したメチル水銀の挙動（移動や生体への取込）を追跡するための分析法としても十分な能力を有している。また、採取試料が持つ情報（本来のメチル水銀濃度）を正確に引き出すための採取試料の処理・保存法の検討を進めた。得られた結果は、土壌・底質のメチル水銀を評価するための標準的な処理・保存法の確立に非常に有用なものとなると考えられる。さらに本研究を通し、国内外の様々な要因で水銀濃度が高い地域の土壌・底質試料を収集して測定を進め、森林土壌や水田土壌において高濃度のメチル水銀が存在していることを明らかにした。これらの結果から、土壌・底質中のメチル水銀の存在濃度は、総水銀濃度（水銀汚染レベル）だけに依存せず、土壌の化学組成（特に有機炭素量）や存在環境により大きく異なることを確認した。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

該当なし。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究により開発された分析法は、土壌底質中のメチル水銀のモニタリング法、環境動態解明研究に利用できるだけでなく、発展途上国等への技術移転等も容易に実施できるため、水俣条約における発展途上国支援にも貢献できるものとなると考える。また、採取した試料の取り扱いに関する検討結果は、土壌・底質中のメチル水銀を分析していくうえで指針となるものといえる。さらに国内外の試料採取を通して得られた環境中におけるメチル水銀の存在濃度データは、環境政策を立案していくうえで重要な情報となることが期待できる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

該当なし。

<査読付論文に準ずる成果発表>

該当なし。

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) 旧水銀鉱山周辺土壌における総水銀およびメチル水銀の分布、児玉谷 仁、前田 千尋、外蘭 寿宗、神崎 亮、富安 卓滋、2014年度日本地球化学会年会、富山大学(2014年9月16-18日)
- 2) 土壌中メチル水銀の選択的抽出法の確立、児玉谷 仁、神崎 亮、富安 卓滋、第33回溶媒抽出討論、ホテルプラザ神戸(2014年12月11-12日)
- 3) The influence of sample drying and storage conditions on methylmercury determination in soils and sediments、Hitoshi Kodamatani, Chihiro Maeda, Steven J. Balogh, Yabing H. Nollet, Ryo Kanzaki, Takashi Tomiyasu, ICMGP2015(2015年6月発表予定、採択済み、韓国)。
- 4) 旧水銀鉱山周辺における水銀分布とその化学形態、重富 あずさ、児玉谷 仁、外蘭 寿宗、勝間創太、山崎 仁美、神崎 亮、富安 卓滋、第77回日本分析化学討論会(2014年5月発表予定、受理済み)
- 5) Emission and behavior of Mercury, from the fumarolic activity of Minamigigokudani, Mt. Myoko, Japan, Hitoshi Kodamatani, Souta Katsuma, Azusa Shigetomi, Toshimune Hokazono, Ryusuke Imura, Ryo Kanzaki, Takashi Tomiyasu, PACIFICHEM2015(2015年12月発表予定、受理済み、米国)

7. 研究者略歴

課題代表者: 児玉谷 仁

神戸大学大学院総合人間科学研究科修了、博士(学術)、現在、国立大学法人鹿児島大学大学院理工学研究科助教

5RF-1303 水銀汚染土壌および底質中のメチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発

(1) 水銀汚染土壌および底質中のメチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発

国立大学法人鹿児島大学

大学院理工学研究科 地球環境科学専攻

児玉谷 仁

平成25～26年度累計予算額：17,791千円

(うち、平成26年度予算額：9,348千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

水銀汚染を受けた土壌・底質は非常に高濃度（～数千mg/kg）の無機水銀を含み、その一部が微生物活動などによりメチル水銀化する。メチル水銀は水俣病の原因物質として知られ、例え微量であったとしても食物連鎖を通じ生体に高度に蓄積していくため、その評価が必要となる。つまり、土壌・底質中のメチル水銀測定は、非常に高濃度の無機水銀の中から、極微量（数 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）のメチル水銀を測定しなければならない。加えて土壌・底質は地域や環境により化学組成が大きく異なるため、常に同じ分析法で対応できるとは限らない。よって、土壌・底質中のメチル水銀測定は非常に難しいものとして知られ、既存分析法では煩雑な分析操作が必要とされている。

そこで本研究は、様々な要因で水銀濃度が高い地域の土壌・底質を集め、これを利用して様々な土壌・底質試料に対応できる分析法を確立することを目的に研究を進めた。この結果、簡易な前処理と高速液体クロマトグラフィー化学発光検出法による測定により、土壌・底質中に存在するメチル水銀を既存の分析法と比べ簡易かつ迅速に測定できる分析法を確立した。開発法のメチル水銀の検出下限値（MDL）は0.07 ng/g、定量下限値（MQL）は0.20 ng/g（試料1 g使用）であった。さらに、採取した土壌・底質試料の取扱法についても検討を進め、採取試料の乾燥や保存によってもメチル水銀濃度の変動することを確認した。この原因を確認するため、メチル水銀の生成実験を進めた結果、水田土壌などでは微生物活動により数日のうちにメチル水銀が生成することを明らかにした。また、これらの検討のため様々な地域の200試料以上の土壌・底質試料について測定を進めた結果、土壌・底質中のメチル水銀濃度は、無機水銀濃度のみならず、共存する有機物量やその存在環境により大きく異なることを確認した。特に一般的に言われる底質ではなく、森林土壌に高濃度（最高濃度は0.4 mg/kg）のメチル水銀が存在することを確認した。

[キーワード]

メチル水銀、エチル水銀、分析法、土壌、底質

1. はじめに

環境中に放出された水銀は、その化学形態を変化させながら国境を越えて拡散する。2013年10月、国際的な水銀規制条約である「水銀に関する水俣条約」が採択され、その発効にむけ環境中に放出された水銀の挙動解明がより一層緒必要とされている⁽¹⁾。数ある水銀化学種の中で特に毒性が高く、水俣病の原因物質として知られるメチル水銀は、環境中に放出された無機水銀からも生成し、食物連鎖を通じて濃縮していく。土壌・底質は、このメチル水銀の主生成場とされているが、生成したメチル水銀がどのような経路で生体に濃縮されていくのか詳細には明らかになっていない。また近年、水銀鉱山付近の水田で採取された米にメチル水銀含まれることが報告されており、水銀による土壌汚染とメチル水銀の農作物への取込が新たな問題となりつつある⁽²⁾。これらのことから、土壌・底質中のメチル水銀濃度を簡易・迅速・高感度に評価できる分析法が必要となっている。加えて、水銀汚染が現在進行形で進んでいる発展途上国でも利用できる分析法であることが求められている。

2. 研究開発目的

本研究は、土壌や底質中のメチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析法を確立することを目的としている。水銀汚染を受けた土壌・底質は非常に高濃度（～数千 mg/kg）の無機水銀を含み、その水銀の一部が、微生物活動等によりメチル水銀化する。つまり、土壌・底質中のメチル水銀測定は、非常に高濃度の無機水銀の中から、極微量（数 $\mu\text{g/kg}$ ）のメチル水銀を測定しなければならない。よって、その測定は非常に難しいことが知られ、既存分析法では煩雑な分析操作が必要とされている。加えて、土壌・底質の化学組成は地域や環境により大きく異なるため、常に同じ分析法で対応できているとは限らない。また不均一な土壌・底質試料を再現よく測定するためには、乾燥・均一化が必要となるが、この程でも水銀の化学形態変化が起こりうる。この分析法の問題と、多様な組成を持つ土壌・底質中に存在し、化学形態を容易に変化させる水銀を測定するという困難な作業が状況を複雑化し、土壌・底質中におけるメチル水銀の挙動解明を遅らせているといえる。そこで、土壌や底質中のメチル水銀濃度を簡易・迅速・高感度に測定できる分析法を確立することを目的に本研究を計画した。

3. 研究開発方法

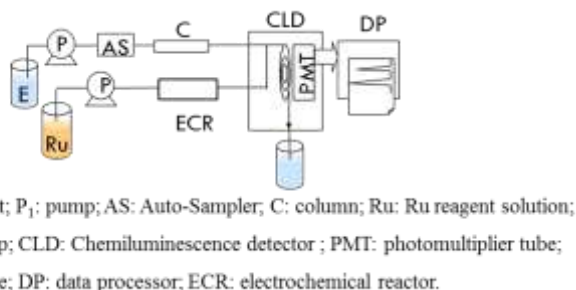
(1) 水銀汚染土壌および底質中のメチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発
研究代表者らは、これまで煩雑な分析操作を必要としない独自のメチル水銀高感度分析法の開発を進めてきた⁽³⁻⁵⁾。これまでに確立した土壌底質中のメチル水銀測定手順を下記に示す。

- ① 土壌・底質試料（～1 g）を 20 mL の 0.1 M Cu^{2+} と 5 mM Pd^{2+} を含む 5 M HCl により 60 分振とうする。この操作により固体試料から水銀種を液相に溶出させる。
- ② 遠心分離により固液分離した後、液相にトルエンを 5 mL 加え、再度 10 分振とうする。これにより、試料溶液中に含まれるアルキル水銀は、塩化物の形でトルエン相に抽出される。一方、大過剰に存在し、メチル水銀測定を妨害する Hg^{2+} は、 HgCl_4^{2-} のテトラクロロ錯体を形成し、

水相に残る。この結果、アルキル水銀のみを分離することが可能になる。Cu²⁺とPd²⁺は、試料中に存在する配位性の夾雑物をマスキングするために添加されている。

- ③ トルエン相の一部を別容器に分取し、2 mM EDTA 溶液 (20 mM ホウ酸緩衝液、pH 9) により、水銀種を EDTA 錯体として水相に逆抽出する。
- ④ 水銀の形態別分離・検出には、水銀と強い錯体を形成するエメチン-ジチオカルバミン酸配位子 (EmetineCS₂) を利用する。EDTA 錯体となったアルキル水銀にこの配位子を加えて錯形成させる (混合のみで直ちに錯体化する)。
- ⑤ これを図(1)-2 の高速液体クロマトグラフィー化学発光検出装置 (HPLC-CL) に注入する。水銀錯体は、その形態ごとに HPLC 分離され、脂肪族第三アミン構造と強い発光反応を起こすことで知られる Tris(2,2-bipyridine)ruthenium(III) (Ru 錯体) 溶液と混合される。EmetineCS₂ は脂肪族第三アミン部位を持つため、Ru 錯体を発光させる。この結果、間接的ではあるが水銀量が発光量として測定されることになる。発光試薬である 3 価 Ru 錯体は不安定であるため、安定な 2 価錯体として保存し、オンラインの電解セルにより定電流電解(200 μA)で 3 価として供給する。

この HPLC-CL を用いた測定法の利点は、非常に高い感度と高い選択性を併せ持ち、また測定装置の原理が単純で装置が安価な点にある。この分析法を利用し、既存の分析法 (4 種類) と 17 種の土壌・底質試料について測定値のクロスチェックをおこなったところ、一部の試料で測定値に大きな差が確認された。この結果は、各分析法が多種多様な化学組成を有する土壌・底質試料に対応できていないことを示唆していると考えられた。

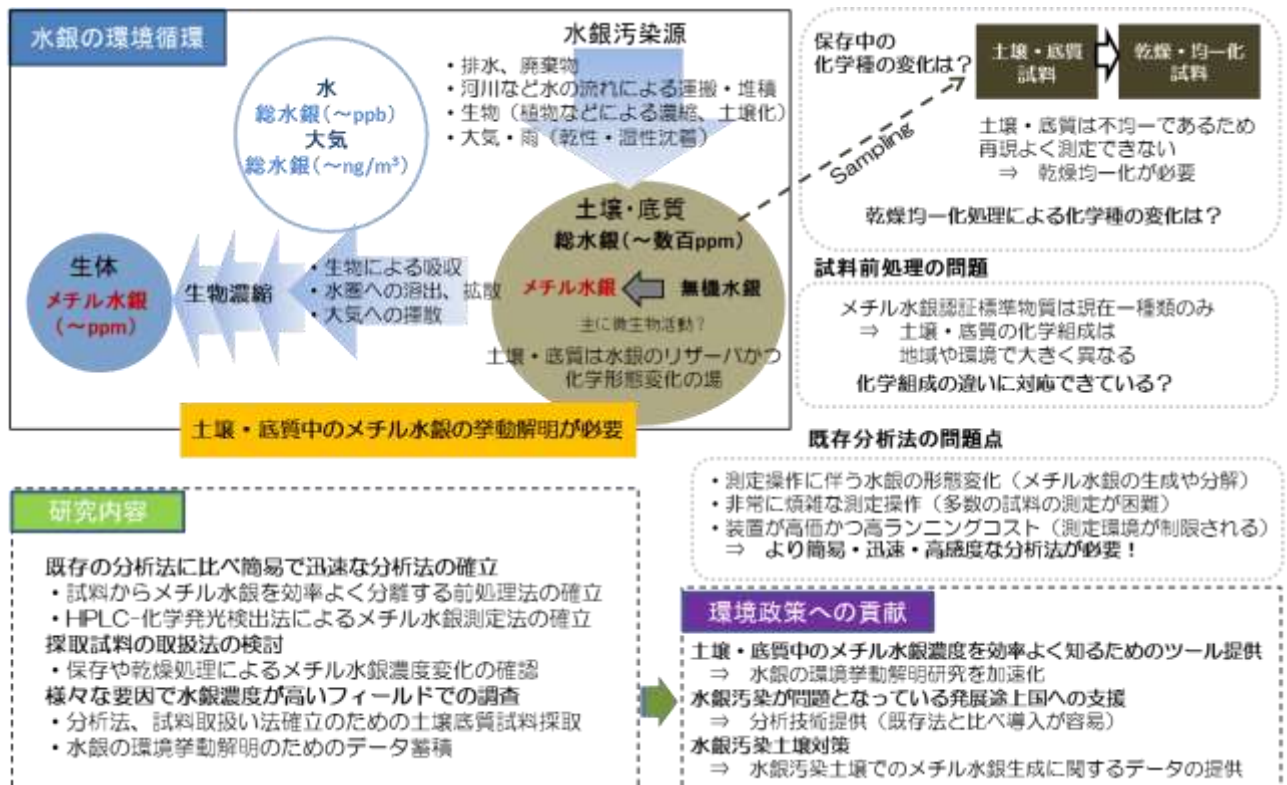


図(1)-1 HPLC-CL 装置概略図

Eluent: 20 mM citrate buffer (pH 3.1)-Acetonitrile (50:50, v/v), 1.5 ml/min; Ru complex solution: 0.25 mM Ru(bpy)₃²⁺ in 0.1 M H₂SO₄, 0.3 ml/min; Column: L-column ODS2 (5μm, 4.6 x 250 mm) and guard column (10 mm); PMT: -550V; ECR: HX-201, 200 μA.

そこで本研究では、多種多様な化学組成を有する土壌・底質に対応できるように開発分析法をブラッシュアップすることを目的に研究を進めた。この検討に必須となるのが、様々な組成を有する土壌・底質試料である。そこで、これまで採取保存してきた試料に加え、様々な要因で水銀濃度が高い地域の調査を実施する。このとき土壌・底質試料に加え、水や大気、生体等についても調査を進める。この結果、分析法の確立に加え、水銀の環境挙動に関する知見を集積できることになる。また分析法の確立には、均質でメチル水銀濃度が変化せず長期的な土壌・底質試料が必

要となる。しかし、土壌・底質試料は不均一で水分を含み、保存中にメチル水銀濃度が変化する可能性も考えられる。そこで試料の取扱法（乾燥法や保存法）についても検討を進める。試料の取扱法は、試料が持つ情報を正確に引き出すために重要な操作と言え、分析法の確立のみならず環境中のメチル水銀の挙動解明研究を進めていくうえでも非常に重要な知見となる。



図(1)-2 研究の目的と内容

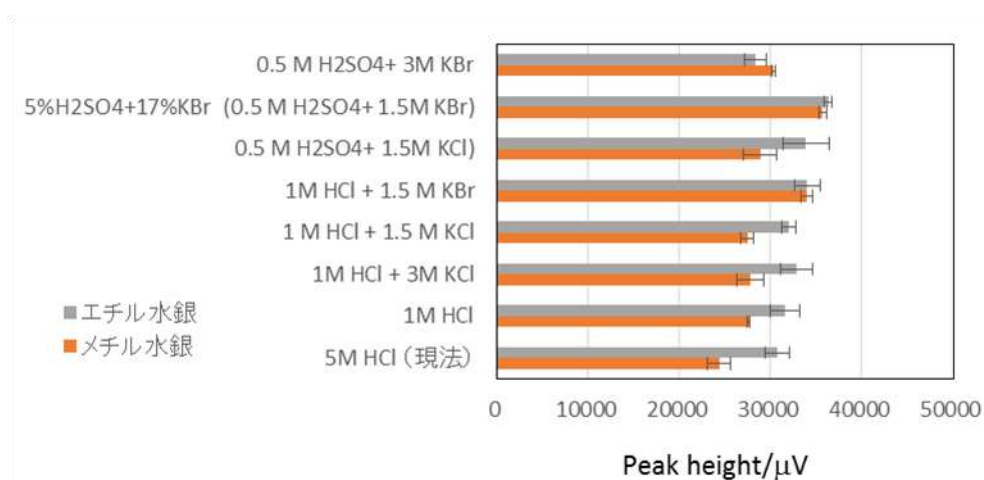
4. 結果及び考察

(1) メチル水銀の簡易・迅速・高感度な分析システムの開発

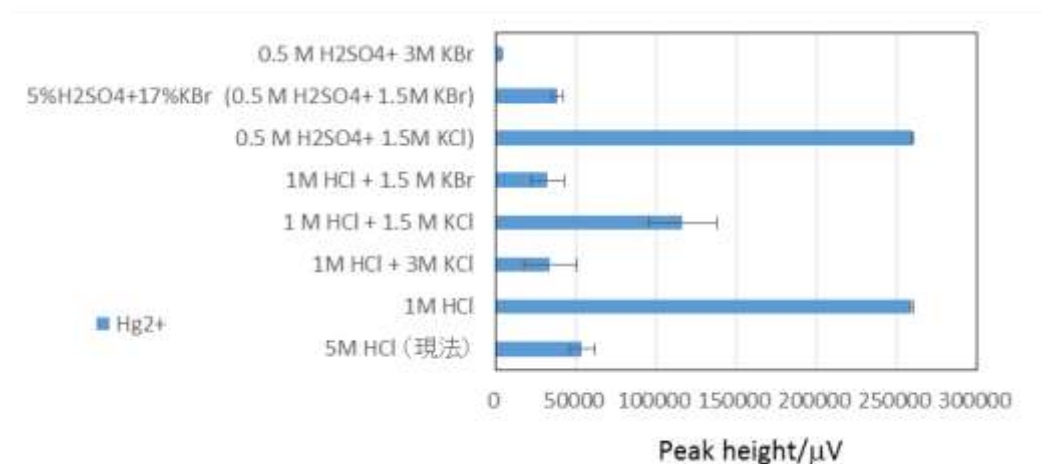
1) 溶出溶液と溶出法について

土壌・底質中のメチル水銀を測定するためには、固体である土壌・底質試料からメチル水銀を溶出させ、さらに大過剰に存在する Hg^{2+} と分離することが必要となる。溶出には、硝酸・塩酸・硫酸などの酸やNaOHなどのアルカリ溶液が用いられており、分離にはハロゲンイオン（主に Cl^- 、 Br^- ）との錯形成反応を利用した溶媒抽出法が利用されている。現在、開発法では5 M塩酸溶液を溶出液と分離溶液（ハロゲンイオン供給源）として用いている。しかし、試料から効率よくメチル水銀を溶出できる溶液組成と、 Hg^{2+} とメチル水銀を分別抽出できる溶液の組成が一致するとは限らない。そこでまずモデル溶出液を利用し、効率よくメチル水銀と Hg^{2+} を分離できる溶液組成の検討を進めた。

水銀種とハロゲンイオンの錯体の安定度定数は $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ の順に高くなり、生成したハロゲン化メチル水銀の有機溶媒への分配比も $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ の順に高くなる⁽⁷⁾。よって現在使用している Cl^- ではなく、 I^- や Br^- を利用する方が、感度や選択性の面で有利となる。そこで、各ハロゲンの濃度と酸の種類を変更した溶液20 mLに200 μg Hg^{2+} と5 ngのメチル水銀、エチル水銀を添加したモデル溶出液（総水銀に対するメチル水銀の割合0.0025%、通常の汚染底質0.01%）を作成し、トルエン抽出（5 mL、10分間振とう）による有機水銀種の抽出や Hg^{2+} の除去効率を調べた。結果を図(1)-3、図(1)-4にそれぞれ示す。5% 硫酸+17% KBr組成の溶出液は、世界的にもっとも利用されているメチル水銀測定法であるエチレーション法（アルキル化法）で利用されている溶出液組成である。メチル水銀の抽出に関しては、 Br^- の方が錯体の安定性も抽出効率が高いはずであるが、 Cl^- とほとんど差が見られなかった。これは後のEDTA逆抽出等のステップが影響しているものと考えられる。一方で、 Hg^{2+} の除去に関しては、 Cl^- を用いるより Br^- を用いた方が効果的であった。 I^- についても検討を進めたが、操作過程で水相の着色がみられた。これは操作中に I^- イオンが酸化されたものと考えられる。また、酸の種類として硝酸の検討も行ったが、 Br^- と硝酸の組み合わせにおいても着色が見られた。よって、 I^- と硝酸は検討から除外した。



図(1)-3 各溶出液組成による有機水銀の抽出
(Peak heightが有機水銀の検出量を表している)



図(1)-4 各溶出液組成によるHg²⁺の除去
(Peak heightが水銀イオンの検出量を表している)

この結果を基に酸として硫酸、ハロゲン種としてCl⁻、Br⁻を利用し、認証標準物質であるERM CC580（河口底質）の測定を進めた。結果を図(1)-5に示す。開発法で採用している5 M 塩酸を用いたものでしか認証値を得ることができなかった。既存の分析法であるエチレーション法と同様の溶出液組成であっても認証値を得ることができなかったことから、少なくともメチル水銀は試料中から溶出液中に溶出しているが、後の作業ステップに溶出液組成が影響しているものと考えられた。溶液調製も簡易であるので、溶出液は5 M塩酸を変更せず利用することとした。

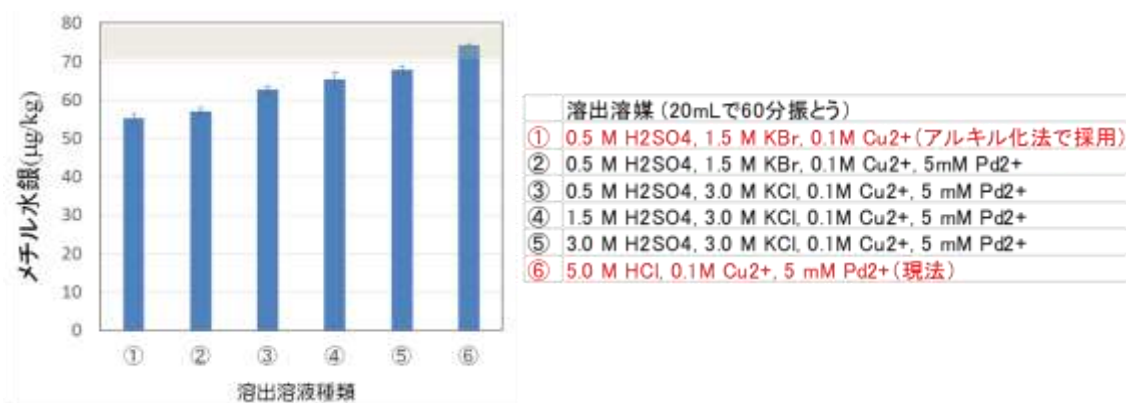
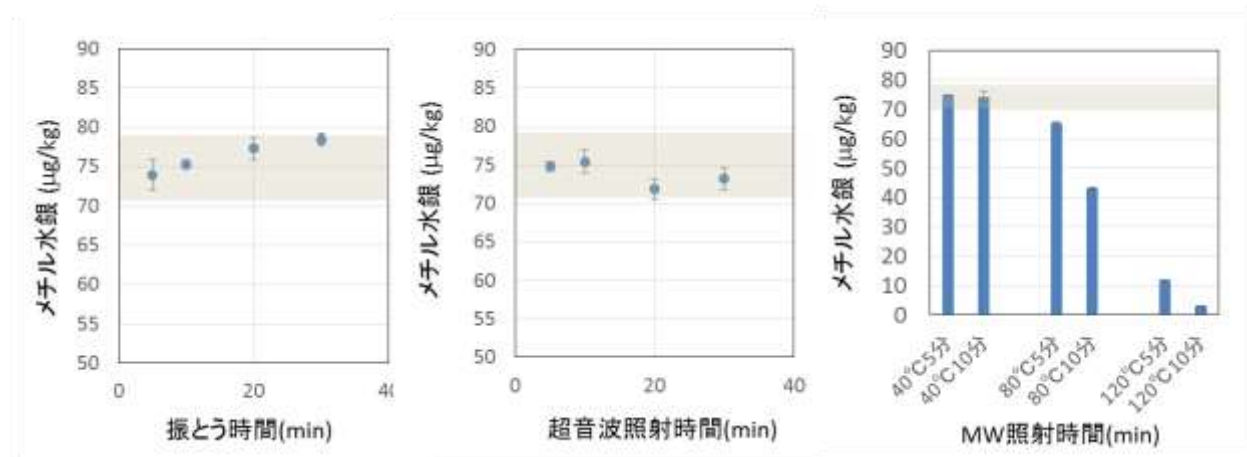


図1-(5) 様々な溶出溶液でのメチル水銀測定 (ERM CC 580、認証値: 75±4 μg/kg)

次に溶出操作として、振とう溶出、超音波溶出、マイクロウェーブ溶出について検討を進めた。結果を図(1)-6に示す。使用した溶出溶液では、いずれの方法も10分以内に認証値を得ることができた。しかし、超音波溶出やマイクロウェーブ溶出では、時間の経過や温度の上昇とともに測定値の低下が確認された。これは過剰の操作により、メチル水銀の分解や測定妨害物質等の溶出が起こったためと考えられる。土壌・底質の組成は多種多様で、個々に最適な溶出操作時間を設定することは不可能である。振とう溶出であれば、少なくとも過剰な操作時間であったとしてもメ

チル水銀が分解することがなく、また装置的にも最も利用しやすい溶出操作といえる。そこで、振とう溶出30分を採用した。

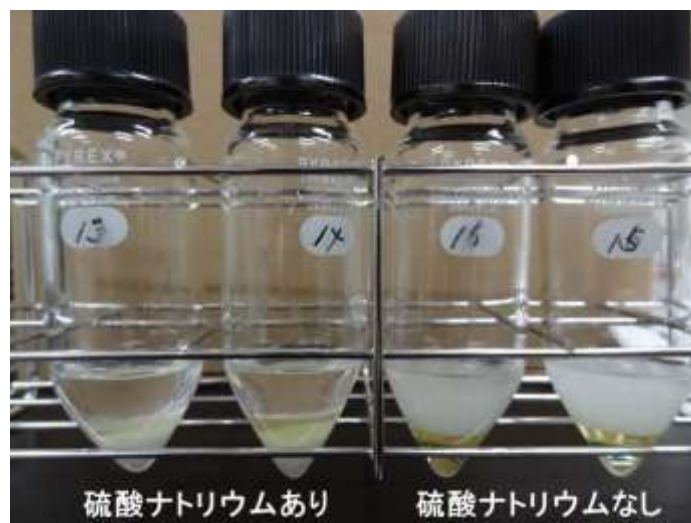


図(1)-6 様々な溶出法によるメチル水銀測定 (ERM CC 580認証値75±4 μg/kg)

2) トルエン抽出とEDTA逆抽出について

開発法では土壌・底質試料からメチル水銀を溶出させた後、遠心分離し、上澄み液のみを別の容器に移し、トルエンによる抽出操作を進めているが、この固液分離操作が不要になれば、より迅速に測定が可能となる。そこで、固液分離操作の必要性について検討を進めた。結果として、固液分離操作なしでも問題なく測定が可能であったが、特に有機物の多い試料でトルエン相の着色が観測された。トルエン相への物質混入は、後の操作を妨害することが予測される。よって、すべての試料で固液分離操作を実施することとした。

次にトルエン抽出後のトルエン相の分取法について検討を行った。有機水銀種を塩化物としてトルエン相に抽出し、このトルエン相を一定量取り出し、EDTA溶液による逆抽出を行うが、EDTAは中性～塩基性でなければ逆抽出剤として機能しない。しかし、トルエン抽出前の溶出液は5 M塩酸という強酸であるため、トルエン分取の際、少量の溶出液が混入しただけでEDTA逆抽出液のpHを低下させてしまう。また溶出液にはEmetineCS₂と錯体を形成し、HPLC測定を妨害するCu²⁺、Pd²⁺、Hg²⁺が高濃度に含まれる。これらのことから、トルエン相分取時の少量の溶出液の混入が測定ミスの原因となってきた。これまではトルエン抽出後、遠心分離し、水相の吸引除去後、再度遠心分離を行ってトルエン相を分離し、ピペットにより水相を吸わないようにトルエン相のみを分取してきた。そのため、このトルエン相を取り出す操作が、最も時間と経験を必要とする作業となっていた。そこで操作ステップは増えるが、水相の除去のため硫酸ナトリウムによる脱水操作を加えた。トルエン抽出後、遠心分離し、水相を吸引除去後、硫酸ナトリウムを適量加え、軽く攪拌して脱水することで、水相を混入させずトルエン相を分取することが可能となった。硫酸ナトリウムの添加は後の操作を妨害することなく利用でき、またこの操作により、エマルジョンを形成するような試料でも、トルエン相を容易に分取することが可能になった (図(1)-7)。

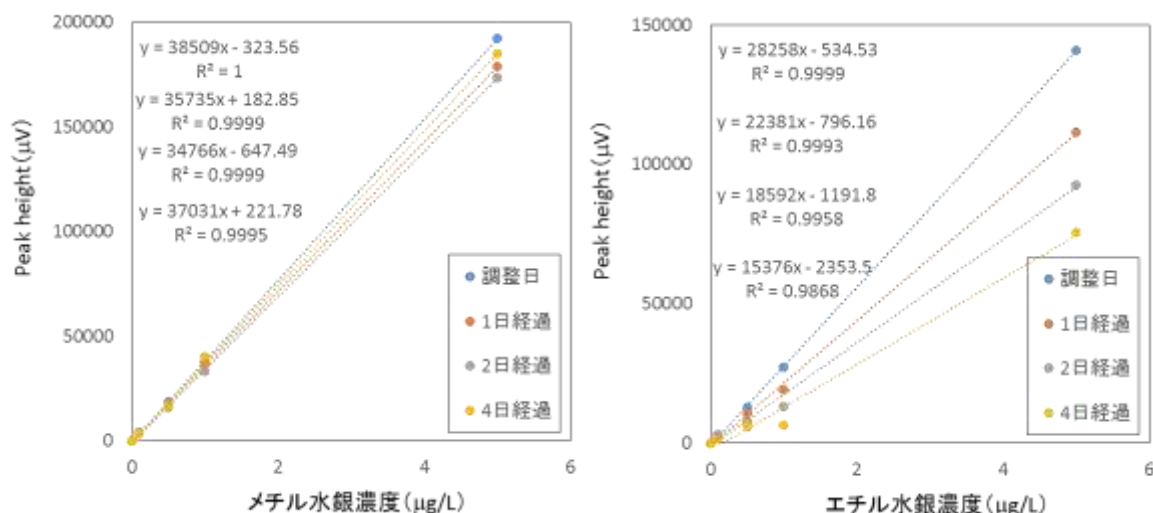


図(1)-7 硫酸ナトリウムによるトルエン相の脱水（上層：トルエン相、下層：水相）

最後にEDTA逆抽出のためのEDTA溶液組成について検討した。2 mM EDTA溶液を用いpHを変更し、逆抽出を確認したところ、pH 6.5–pH 10の範囲でほぼ一定の逆抽出率がえられ、pH 6.5より酸性では逆抽出効率は大きく低下した。よって逆抽出液のpH維持が重要であることから、40 mM ホウ酸緩衝液（pH 9.1）をEDTA溶液の調製溶液として採用した。EDTA逆抽出溶液は、EmetineCS₂で錯体化する際の最終溶液となる。しかし、生成するEmetineCS₂錯体が高い疎水性を持つことから、EDTA逆抽出溶液にEmetineCS₂溶液（アセトニトリル調製）を1:1(v/v)で加え調製していた。つまり、錯体化に伴い試料濃度が1/2に希釈されていた。そこで逆抽出溶液の組成を50%メタノールとして調製することで、EmetineCS₂錯体化に伴う希釈をなくすことを検討した。結果として50%メタノール調製では、標準溶液は問題なく測定可能であったが、トルエン相に着色の見られた試料において、EDTA逆抽出溶液にも着色が確認された。これは逆抽出溶液の疎水性が上昇したため、トルエン相に抽出された疎水性の高い物質が、水相に逆抽出されたと考えられる。疎水性物質の逆抽出溶液への混入は、HPLC測定を妨害することが予測される。よって、試料溶液は希釈されてしまうが、EDTA逆抽出溶液は100%水溶液での調製とした。

3) EmetineCS₂水銀錯体の安定性について

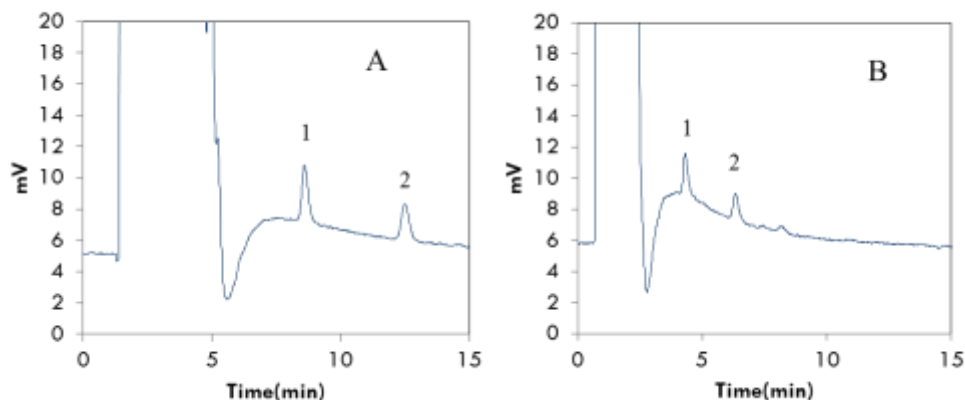
EmetineCS₂と水銀種の錯形成は、混合後ただちに起こるので、大部分のHPLC用オートサンプラーに標準搭載されている試薬添加機能を使うことで自動化することが可能であった。逆に手作業で調製する場合は、錯体化した後の錯体の安定性が重要となる。EmetineCS₂錯体化したメチル水銀は、冷蔵保存で少なくとも調整後4日間は安定であったが、エチル水銀錯体は徐々に分解していることが確認された（図(1)-8）。よって、試料調製後メチル水銀は安定的に測定可能であるが、長時間にわたる連続測定でエチル水銀を同時定量する場合、標準溶液の測定を行うなどして検量線を補正するか、オートサンプラーの試薬添加機能を使うなどして測定前に錯体化する必要がある。



図(1)-8 EmetineCS₂錯体化したメチル水銀、エチル水銀標準溶液の安定性

4) HPLC諸条件の再検討

開発法では1試料の測定に15分の測定時間(エチル水銀の測定も含む)が必要となっている。開発法は分離条件が柔軟に変更できる液体クロマトグラフィーベースであるため、測定時間を短縮し、より迅速な測定ができるような分離条件について再検討した。カラムの長さ・粒径等を変化させ最適な分離条件を検討したところ、図(1)-9のように約1/2の時間で測定が達成できる分離条件も確立できた。(研究途中での分離条件の変更は、ピークの誤認等の問題を引き起こす可能性があるため、分離条件はこれまで通りの条件(A)を利用して研究を進めている。)



図(1)-9 A) 従来の条件によるクロマトグラム B) 再検討した条件によるクロマトグラム

Sample: 0.2 μg/L Methylmercury and Ethylmercury. Peak identification: 1, Methylmercury; 2, Ethylmercury. HPLC Condition: A) Column: *L*-columnODS2 (5mm, 4.6 x 250 mm); Eluent: 20 mM Citrate buffer (pH 3.1)-Acetonitrile (50:50, v/v); Flow rate: 1.5 ml/min (13.8 MPa). B) Column: *L*-columnODS2 (5mm, 4.6 x 150 mm); Eluent: 20 mM Citrate buffer (pH 3.1)-Acetonitrile (52:48, v/v); Flow rate: 2.0 ml/min (11.9 MPa).

発光試薬であるRu錯体溶液はHPLC分析の間、常時送液しておく必要がある。Ru錯体は高価であり、できる限り消費量を減らす必要がある。そこでRu錯体溶液の供給法の変更を進めた。これまでは、0.25 mMのRu錯体溶液を用い、定電流電解により発光反応を起こす3価Ru錯体を供給してきた。これを定電圧電解にすることで、これまでの約1/3の濃度である0.1 mMのRu錯体溶液で感度等の低下なく利用できることを確認した。また、EmetineCS₂錯体のHPLC分離に利用する溶離液は50%アセトニトリルが必要であり、これが開発分析法の中で最もコストかかる要因となっていた。分離条件の再検討により、分析時間は約半分となり、アセトニトリル使用量も半減したことになるが、より純度の低い（安価な）アセトニトリルの使用などの検討を進めた。結果、開発法は選択性の高い化学発光検出法なので、高価なHPLCグレード（和光純薬工業、3L、16700円）のアセトニトリルでなくとも特級グレード（和光純薬工業、3L、7700円）で十分に利用可能であった。しかし、異なるメーカー（Sigma-Aldrich）のアセトニトリルでは、ピークのテーリングが起こるなど分離が不十分になる現象が見られた。メーカーごとに異なる不純物の影響であると考えられ、使用するアセトニトリルには注意する必要があることが確認された。最後にこれまで高い脱気性能を持つ脱ガス装置を使用していたため、その影響に気づかなかつたが、溶離液、Ru錯体溶液の脱ガスが不十分だと感度が大きく低下することを確認した。化学発光反応に溶存酸素が影響していると考えられる。よって、高感度測定には高い脱気性能を持つ脱ガス装置の導入が不可欠である。

5) 開発法の生体試料への適用について

表層土壌（リター層）は、落葉であり生体試料と言え、また土壌・底質中で生成したメチル水銀が、植物や生体などへ移行していく研究を進めていくうえでも開発法を生体試料に適用できるようにしておく必要がある。そこで開発法の生体試料への適用を検討した。

開発法を魚や貝などの生体試料にそのまま適用したところ、トルエン抽出時にトルエン相の固化や、逆抽出溶液の白濁が確認された。EDTA逆抽出液が白濁した試料は、そのまま測定に使用するとクロマトグラムに多数のピーク（マスキング剤として加えたCu²⁺、Pd²⁺がEDTA逆抽出溶液に混入したためと考えられる）が確認され、メチル水銀のピークがでないなどのトラブルが頻発した。そこで開発法を生体試料測定に安定的に利用するための検討を進めた。土壌・底質と異なり、メチル水銀の認証値を持つ生体試料の認証標準物質は多数あり、魚類等はmg/kgレベルの高濃度のメチル水銀を含むため、メチル水銀溶出後の溶出溶液を適宜希釈することで、白濁等の問題なく測定が可能であることが確認された。しかし、この手法では土壌・底質と同レベルの生体を測定することは不可能である。そこで土壌・底質に含まれるメチル水銀濃度と同レベルのメチル水銀濃度を有する二枚貝の認証標準物質（NIST2974a、NIST2976）を用い検討を進めた。結果として、トルエン抽出前にヘキサン抽出（溶出液にヘキサン10 mLを加え、10分間振とう後3000rpmで5分間遠心分離し、水相を一定量（16 mL）分取）を行い、その後トルエン抽出を行うことで逆抽出溶液が白濁せず測定できることが確認できた（図(1)-9）。この結果、開発法にヘキサン抽出操作を加えることでμg/kgレベルのメチル水銀濃度を持つ生体試料でも測定が可能となった。

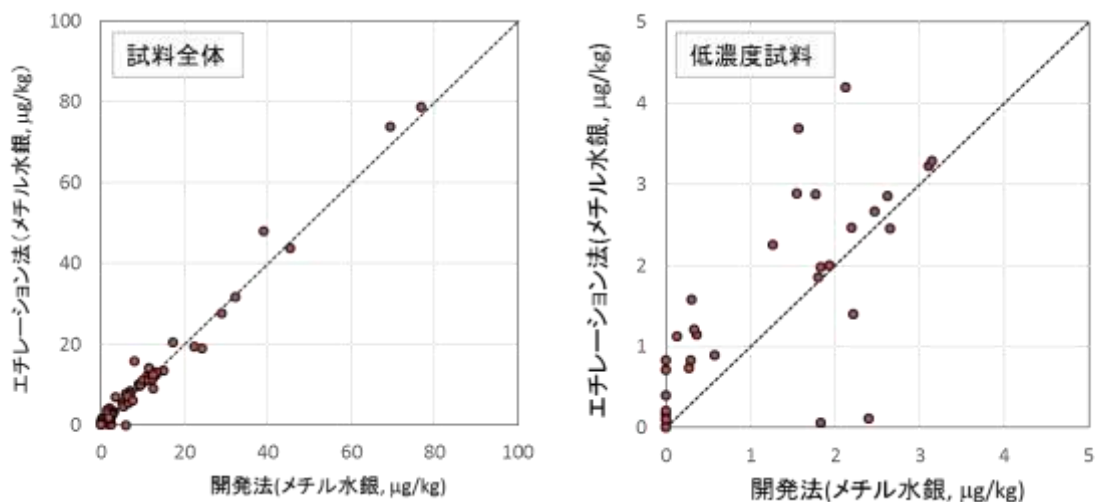


図(1)-10 ヘキサン抽出処理の有無によるEDTA逆抽出溶液の状態
(上層：トルエン相、下層：EDTA水溶液相)

6) 既存分析法とのクロスチェック

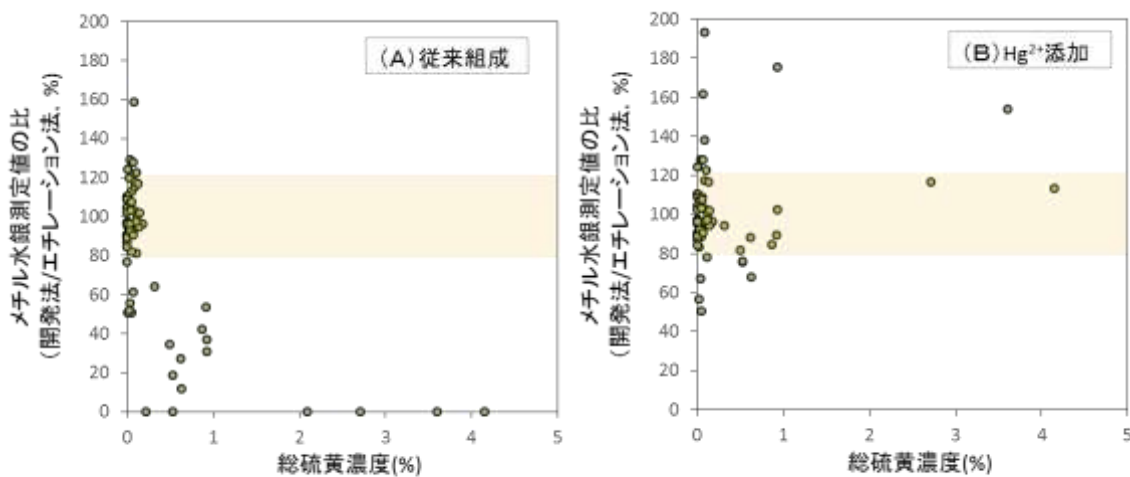
異なる原理・手順を有する分析法で同一試料を測定し測定値を比較することにより、測定値の信頼性を確保できると同時に、それぞれの分析法の手順の効果を検証し、改良を進めていくための情報を得ることができる。そこで世界的に最も利用されているメチル水銀測定法であるエチレーション法（エチレーション-GC-AFS、Metropolitan Council）⁽⁸⁾、日本の水銀分析マニュアルに記載されている水銀分析マニュアル法（ジチゾン抽出-GC-ECD法、国立水俣病総合研究センター）⁽⁹⁾とクロスチェックを実施した。

採取保存してきた試料から化学組成が特徴的なもの72種を選び、開発法とエチレーション法の測定値比較を進めた。結果を図(1)-11に示す。大部分の試料で測定値はよく一致した。しかし、一部の試料でエチレーション法に比べ開発法での測定値が低い試料やその逆の試料が確認された。そこでまず開発法で測定値が低い試料について、試料の化学組成から原因究明を進めた。



図(1)-11 開発法とエチレーション法との測定値比較（72試料）

結果として図(1)-12 (A)のように試料中の硫黄濃度が高い試料ほど、測定値比（開発法での測定値/エチレーション法での測定値、%）が低いことが確認された。開発法は、メチル水銀と塩化物イオンの弱い錯形成を利用してトルエン相にメチル水銀を移し、そこから比較的強い錯体を形成するEDTAにより水相に逆抽出し、最終的に水銀と強く結合する硫黄部位を有するEmetineCS₂配位子により錯体化して測定する。最初の抽出段階で弱い配位子である塩化物イオンを使うため、配位性の夾雑物をマスキングする目的で5 mM Pd²⁺と 0.1 M Cu²⁺を含む5 M塩酸を溶出液として利用している。よって、水銀と強く結合する硫黄成分の多い試料ではマスキング効果が不足し、メチル水銀が塩化物として抽出できていないと考え、Hg²⁺をマスキング剤として添加することとした。結果として、溶出液（5 mM Pd²⁺, 0.1 M Cu²⁺を含む5 M塩酸）にさらに0.05 mM (10 mg/L)となるようHg²⁺加えることで、表(1)-1のように硫黄濃度が非常に高い海底質においても添加回収率が80%以上になり、またエチレーション法で得られた測定結果と近い値が得られた（図(1)-12 (B)）。これらの結果、開発法は高い硫黄濃度を持つ試料にも対応できる分析法になったと言える。



図(1)-12 硫黄による妨害確認とHg²⁺添加効果

表(1)-1 高濃度硫黄を含む試料の添加回収実験

試料No	試料名	硫黄濃度	メチル水銀濃度	s.d. (n=2)	添加回収率 (%)
		(%)	(μg/kg)		
120	河川底質	3.4	0.23	0.04	82
158	海底質(海底熱水噴気地帯)	3.6	0.62	0.03	81
160	海底質(海底熱水噴気地帯)	4.0	0.55	0.03	95
168	海底質(海底熱水噴気地帯)	20.5	5.03	0.20	100
169	海底質(海底熱水噴気地帯)	25.7	3.06	0.11	87
各測定試料1g使用, メチル水銀スパイク量 1ng					

次に開発法に比べエチレーション法で測定値が極度に低い試料(n=4)について検討を進めた。これらの試料はいずれも同一の河川で採取した試料であったため、可能性として考えられるのは、これらの試料がエチレーション法では測定不能な試料組成を有しているか、開発法でメチル水銀ではない物質をメチル水銀として誤認しているかのどちらかである。そこで、この試料 (No. 82) を

含んだ数種の試料について、水銀分析マニュアル法とクロスチェックを実施した。結果を表(1)-2に示す。開発法と同様に水銀分析マニュアル法でも3 µg/kg程度のメチル水銀が検出された。また開発法を用いてNo.82試料の添加回収実験を進めたところ、メチル水銀で78.3±6.8% (試料0.1 gに対し、0.3 ngを添加、n=3)の回収率となった。これらの結果から、No.82はメチル水銀を含んでおり、エチレーション法では何らかの理由で測定できていないものと考えられる。

表(1)-2 開発法、エチレーション法、水銀分析マニュアル法の比較

試料No	試料名	メチル水銀濃度(µg/kg)			
		開発法		エチレーション法	水銀マニュアル法
		mean	sd(n=3)		
64	チカニキ③水田土壌(インドネシア共和国)	10.02	0.72	11.22	18.39
82	チカニキ①河川底質(インドネシア共和国)	3.58	0.16	0.06	3.01
108	鹿児島湾底質	0.68	0.02	0.83	1.06
109	スロベニアS12左岸底質(スロベニア共和国)	6.59	0.28	5.30	4.47
122	白田切川底質(妙高山、新潟県)	0.19	0.04	0.17	0.00
128	水俣湾底質(袋湾 5-10cm、凍結乾燥)	1.30	0.00	0.74	1.75
129	水俣湾底質(袋湾 5-10cm、40°C乾燥)	3.13	0.01	3.69	2.94
130	水俣湾底質(袋湾 10-15cm、凍結乾燥)	0.77	0.02	1.13	1.12
131	水俣湾底質(袋湾 10-15cm、40°C乾燥)	2.58	0.03	2.89	2.01

開発法とエチレーション法の分析手順の比較から、開発法と同様にハロゲンイオン（臭化物イオン）による抽出を採用しているエチレーション法でも硫黄の妨害を受けていると推測される。しかしエチレーション法は、溶媒抽出後の操作が逆抽出ではなく、有機溶媒の蒸発除去を採用しているため、メチル水銀が硫黄を有する夾雑物と錯体を形成して有機相に移動したとしても、水相に転溶されることになる。さらに硫黄と結合した状態でも反応性の高いエチル化試薬によりエチル化反応が進む結果、測定が可能になっているものと考えられる。これが、開発法ではハロゲン化合物として抽出しなければ、逆抽出できないため測定不可となり、Pd²⁺やHg²⁺のマスキング剤が必要な理由と考えられる。しかし、エチレーション法においても水溶性が高く水銀と強く錯体形成する成分が試料中に存在した場合、有機相にメチル水銀が移らず測定が不能になり、また最終的な水相に移ってもエチレーション反応が進まない形態やエチレーション反応を妨害する物質が存在した場合は測定できないことになる。エチレーション法で測定不能な試料（No.82など）は、このような作用の結果だと考えられる。よって、エチレーション法においても分析法の改良を進めていく必要があると言える。

これらの検討から、開発法の前処理法を利用すると土壌・底質試料から有機水銀種（メチル水銀、エチル水銀）をハロゲン化合物として選択的に取り出すことができることが確認された。開発法では最終的にEmetineCS₂錯体とすることで分離・検出を行っているが、EDTA逆抽出液を試料として加熱気化や湿式分解により総水銀としてEDTA逆抽出液中の水銀量を測定すれば、有機水銀量（メチル水銀とエチル水銀の含量）として、土壌・底質、生体試料の評価も可能である。さらにエチレーション法や水銀分析マニュアル法の前処理法としての利用も期待できる。このような検討をさらに進めることで、より効率の良い分析法を確立するための知見が得られるものと考えられる。

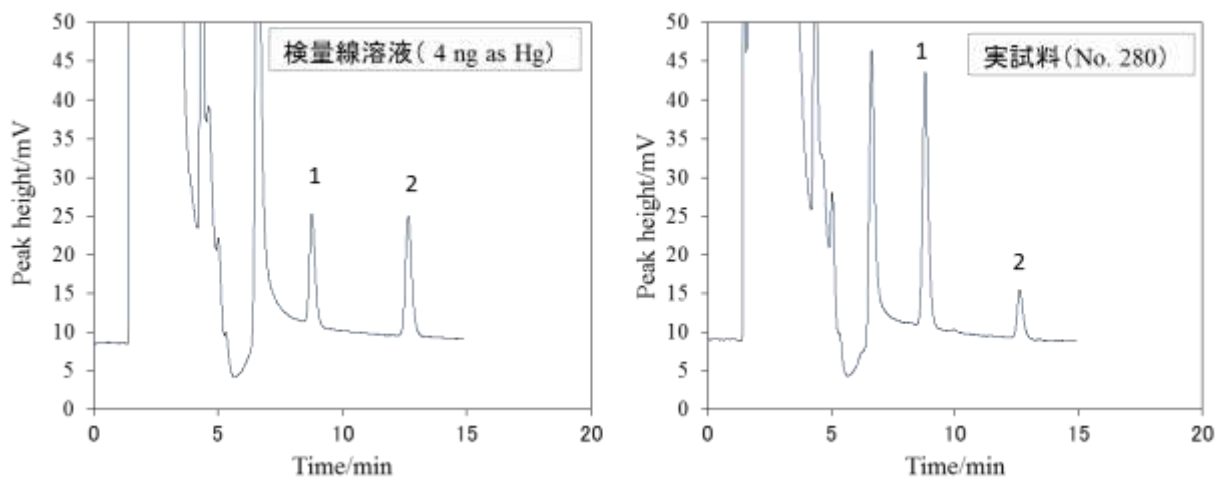
7) 既存分析法との性能比較評価

開発法について、エチレーション法⁽⁸⁾および水銀分析マニュアル法⁽⁹⁾と測定感度、操作の容易さ、測定時間等を比較し評価をおこなった。開発法の最終的な分析手順、エチレーション法および水銀分析マニュアルの手順を表(1)-3に示す。

<測定感度>

50ng/Lのメチル水銀、エチル水銀標準溶液を7回測定したときの標準偏差 (S) から、開発法のHPLC-CLシステムの装置検出限界 ($2 \times S \times t(n-1, 0.05)$)と装置定量限界 ($S \times 10$) を算出した。結果、装置検出限界はそれぞれ5.7 ng/L、6.6 ng/L(絶対量として約1 pg)、装置定量限界 ($S \times 10$) は15 ng/L、16 ng/Lであった。また検量線の範囲は少なくとも10 μg/Lまで良好な直線が得られた。前処理の必要ない水試料であれば、国の環境基準である0.5 μg/Lの1/10の濃度をEmetineCS₂試薬の添加だけで測定可能である。No.14 (鹿児島湾底質) に0.5 ng/gとなるよう標準液を添加した試料を利用し、繰り返し9回測定した標準偏差から開発分析法の検出下限値(MDL)と定量下限値 (MQL) を算出したところ、メチル水銀、エチル水銀のMDLは、それぞれ0.07 ng/g、0.08 ng/g、MQLは0.20 ng/g、0.23 ng/gとなった。また検量線範囲は少なくとも250 ngまで良好な直性が得られた。代表的なクロマトグラムを図(1)-13に示す。検量線溶液のクロマトグラム、実試料のクロマトグラムからわかるように、妨害物質等の検出もほとんどなく測定が可能である。

エチレーション法ではパージトラップ操作により、大量の試料 (土壌・底質試料では最大40mL) を濃縮して装置に注入できる。一方、開発法では200 μL、水銀分析マニュアル法では5 μLと最終的に測定装置に注入できる試料量が限られるため、濃度感度ではエチレーション法に比べ劣ることになる。しかし、開発法においてもトルエン抽出時のトルエン量、逆抽出時の逆抽出液量など調整により濃縮操作を行うことで、さらなる低濃度測定も可能である。(現在の前処理法では、溶出溶液中のメチル水銀濃度から前処理法により4倍程度濃縮され、HPLCシステムに注入されている。)



図(1)-13 開発法前処理を実施した検量線溶液及び実試料のクロマトグラム

Peak identification: 1. Methylmercury, 2. Ethylmercury

表(1)-3 開発法と既存法（エチレーション法、水銀分析マニキュアル法）の測定手順

開発法(HPLC-CL)	エチレーション法(GC-AFS)	水銀分析マニキュアル法(GC-ECD)
<p>① Sample (0.1-1.0 g) を遠沈管(50mL)に量り取る</p> <p>② 溶出液 (0.05 mM Hg²⁺, 5 mM Pd²⁺, 0.1 M Cu²⁺ を含む 5 M HCl 溶液) を 20 mL 加える</p> <p>③ 30分間振とう</p> <p>④ 3000rpm で10分間遠心分離</p>	<p>① Sample (0.1-0.5 g) をテフロン製の遠沈管(30mL)に取る</p> <p>② 18% w/v KBr (acidified to 5% v/v with H₂SO₄) 溶液を 5 mL 添加</p> <p>③ 1 M CuSO₄ 溶液 1 mL と ジクロロメタン 13 g を添加</p> <p>④ 1時間静置</p> <p>⑤ 1時間振とう</p> <p>⑥ 3000rpm で20分間遠心分離</p>	<p>1. Sample (0.1-0.5 g) を遠沈管(50 mL)に量り取る</p> <p>2. 1 M KOH(エタノール)溶液を10 mL 添加</p> <p>3. 20分間振とう</p> <p>4. 20分間振とう</p> <p>5. 1 M HClを10 mL加え弱酸性化</p> <p>6. N₂ガスを5分間吹き込みH₂Sを除去</p> <p>7. 20% 塩化ビトロキシロキシルアミン溶液を2 mL添加</p> <p>8. 20% EDTA溶液を2 mL添加</p> <p>9. 0.01% ジチオン(トルエン) 溶液を5 mL 添加</p> <p>10. 3分間振とう</p> <p>11. 3000rpmで3分間遠心分離</p> <p>12. 水相(固体含む)を吸引除去</p> <p>13. トルエン相を分取しフロリジルカラムに通し10 mLの遠沈管に受ける</p> <p>14. 1 M NaOHを3 mL添加(洗浄1回目)</p> <p>15. 3分間振とう</p> <p>16. 水相を吸引除去</p> <p>17. 1 M NaOHを3 mL添加(洗浄2回目)</p> <p>18. 3分間振とう</p> <p>19. 1200rpmで3分間遠心分離</p> <p>20. 水相を吸引除去</p>
<p>③ 上清み液を別の遠沈管に移す</p> <p>④ トルエン5 mLを加える</p> <p>⑤ 10分間振とう</p> <p>⑥ 3000rpmで5分間遠心分離</p> <p>⑦ 水相を吸引除去</p> <p>⑧ 乾燥ナトリウムを少量(1-3 g)加えて混合(脱水)</p> <p>⑨ 3000rpmで5分間遠心分離</p>	<p>⑦ テフロン製容器(60 mL)に蒸留水40mLを量り取る</p> <p>⑧ 蒸留水を入れたテフロン製容器にジクロロメタン相(2-3g)を分取して添加</p> <p>⑨ 45°Cで加温しながら5 N₂ガスを100 mL/minで吹き込みジクロロメタンを除去(1時間)</p>	<p>21. トルエン相(3 mL)を10 mL 遠沈管に移す</p> <p>22. アルカリ性酸化ナトリウム溶液2 mLを添加</p> <p>23. 3分間振とう</p> <p>24. 1200rpmで3分間遠心分離</p> <p>25. トルエン相を吸引除去</p>
<p>③ 水相300 μLをオートサンプラー用バイアル(2 mL)に分取</p> <p>④ 4 μM etheleneCS₂溶液(アセトニトリル)を300 μL添加</p> <p>(オートサンプラーの試薬添加機能を利用する場合不必要)</p>	<p>⑩ 試料溶液(1-40 mL)をガラス製反応容器に分取る</p> <p>⑪ 蒸留水を加え一定体積(100 mL)に調整する</p> <p>⑫ 酢酸緩衝液 200 μLを加えpHを4-5に調整する</p> <p>⑬ 1% NaBE₂を100 μL加え混合</p> <p>⑭ 25分間静置(エチル化反応を進める)</p> <p>⑮ Hg-free N₂ガスを12分間吹き込み酸化物をTenaxトラップに捕集する</p>	<p>26. 1 M HOを200 μL加え弱酸性化する</p> <p>27. N₂ガスを100 mL/minで5分間吹き込み(H₂Sを除去)</p> <p>28. Welbols 緩衝液2 mLを加える</p> <p>29. 0.01% ジチオン(トルエン) 溶液を200 μL加える</p> <p>30. 3分間振とう</p> <p>31. 1200rpmで3分間遠心分離</p> <p>32. 水相を吸引除去</p> <p>33. 1 M NaOHを3 mL加える</p> <p>34. 3分間振とう</p> <p>35. 水相を吸引除去</p> <p>36. 1200rpmで3分間遠心分離</p> <p>37. 1 M HCl緩衝液を加えて弱酸性化</p>
<p>③ 水相300 μLをオートサンプラー用バイアル(2 mL)に分取</p> <p>④ 4 μM etheleneCS₂溶液(アセトニトリル)を300 μL添加</p> <p>(オートサンプラーの試薬添加機能を利用する場合不必要)</p>	<p>Tenax捕集管を加熱脱着装置をもつGC-(熱分解)-AFSに接続</p> <p>(Tenax捕集とGC-AFSへの導入を自動化した装置が市販)</p> <p>測定時間 7分/sample</p>	<p>トルエン相5 μLをGC-ECDに注入(オートサンプラー不可)</p> <p>測定時間 10分/sample</p>
<p>HPLC-CLに200 μL注入(オートサンプラー可)</p> <p>測定時間 10分/sample (エチル水銀の同時測定を含む)</p>	<p>N.S. Bloom, <i>Can. J. Fish Aquat. Sci.</i>, 46, 1131-1140, 1989.</p> <p>N.S. Bloom et al., <i>Fresenius J. Anal. Chem.</i>, 358, 371-377, 1997.</p> <p>L. Liang, M. Horvat, N.S. Bloom, <i>Talanta</i>, 41, 371-379, 1994.</p>	<p>Mitsuyoshi of the Environment, Japan, MERCURY ANALYSIS MANUAL, May, 2004.</p>

<前処理>

前処理の作業ステップ数、振とう等の待機時間を積算したものを表(1)-4に示す。開発法は、振とう、遠心分離等、試薬の添加など簡易な操作かつ作業ステップ数も少ない。24本（検量線溶液4本、試料20本）を1セットとして、前処理にかかる時間は4時間以内である。水銀分析マニュアル法は、開発法と同様に試薬の添加、振とう、遠心分離等の簡易な操作のみであるが、作業ステップ数が開発法に比べ2倍以上と煩雑である。エチレーション法は、作業ステップ数は開発法と同じであるが、有機溶媒の蒸発除去など作業に時間のかかるものが多く、エチル化反応やパージトラップ操作など多数の試料を一度に処理することが困難な操作を含んでいる。

表(1)-4 各分析法の前処理操作

	開発法	エチレーション法	水銀マニュアル法
ステップ数	15ステップ	15ステップ	37ステップ
待機時間	66分	237分	63分
		待機時間・・・振とうや遠心分離などの待ち時間	

<測定装置>

開発法はHPLC-CL装置であり市販されているものであるが、Ru錯体試薬の電解供給システムや脱気能力の高い脱ガス装置が別途必要である。エチレーション法、水銀分析マニュアル法は、それぞれガスクロマトグラフィー(GC)-熱分解-原子蛍光検出(AFS)装置、GC-電子捕獲検出(ECD)装置である。エチレーション法のみが水銀を直接検出する測定法で、水銀分析マニュアル法と開発法は、それぞれ塩化物イオン、EmetineCS₂を検出することで水銀を測定する間接検出法である。ただし、開発法は非常に選択性の高い検出法であり、試薬や設備を選ばないという点で間接検出がメリットとも言える。また、開発法のみが高速液体クロマトグラフィー（HPLC）ベースであり、高純度の高圧ガスが必要で装置を安定させるため常時運転が行われているGC法と比べ装置の維持が容易である。

<試薬>

開発法ではRu錯体、塩化パラジウムなど比較的高価な試薬が必要である。またEmetineCS₂も合成する必要がある（合成はEmetineと二硫化炭素をアルカリ性で攪拌し、沈殿を回収するのみであり容易）。しかし、これらの試薬は使用量が微量であり、またRu錯体、塩化パラジウムは回収再生も可能である。エチレーション法では、純度の高いエチル化試薬（テトラエチルホウ酸ナトリウム）が必要で、メーカーや純度によっては試薬不純物からメチル水銀の人工生成が起こることが報告されている⁽¹⁰⁾。また反応性が高いため試薬の取り扱いが非常に難しく、また入手できる環境が限られていることが難点として挙げられる。水銀分析マニュアル法では、比較的入手しやすい試薬のみで実施できるが、抽出試薬であるジチゾンや他試薬溶液の使用前精製が必要になる。よって前処理とは別に溶液調製に相当の時間を要する。

<器具>

開発法、水銀分析マニュアル法では市販のガラス器具を使用でき、また、振とう器、遠心分離機など一般的な設備で対応可能である。エチレーション法では、ほとんどの操作にテフロン製の器具が求められ、エチレーション反応-パージトラップ操作のための特殊形状の反応容器、有機溶媒蒸発除去操作のためヒーターと窒素ガスバブリング装置を組み合わせた設備が必要となる。

(Tekran社, Canadaにより市販されている。)

<試料測定能力>

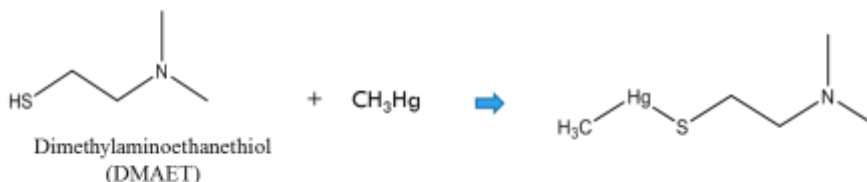
一日当たりの各分析法の試料測定能力(作業人員1名として)は、開発法20試料、エチレーション法12試料、水銀分析マニュアル法10試料である。よって開発法の試料測定能力は他に比べ約2倍となる。開発法ではHPLC測定が市販のオートサンプラーで実施できるため、1日で40試料の処理を行い夜間自動分析することも容易である。一方、エチレーション法、水銀マニュアル法は、前処理に時間がかかるため20試料程度を1日かけて前処理操作を行い翌日に測定を行っている。(水銀分析マニュアル法ではオートサンプラーの使用が不可能、エチレーション法はエチル化とパージトラップ操作を自動化した装置がTekran社より市販されている。)また開発法は、メチル水銀のみならずエチル水銀も同時に分析可能である。(水銀分析マニュアル法、エチレーション法ではエチル水銀の測定は不可能。ただし、エチレーション法のエチル化をプロピル化、フェニル化に代えた手法ではエチル水銀の測定も可能である。)

以上の点を踏まえ、開発法は既存法に比べ少なくとも2倍の試料測定能力を持つ簡易で迅速なものといえる。また、既存法がGCベースであるのに対し、開発法はHPLCベースであり、土壌・底質中のメチル水銀を測定するうえで実用的な測定感度(1g以下の試料でsub- $\mu\text{g}/\text{kg}$ レベルの測定が可能)を持ち、装置の導入のしやすさや維持の面でも優れている。これらのことから、開発法は既存法に劣らない優れた方法と言える。

8) ジアルキルエタンチオールを配位子とする新規HPLC法の検討

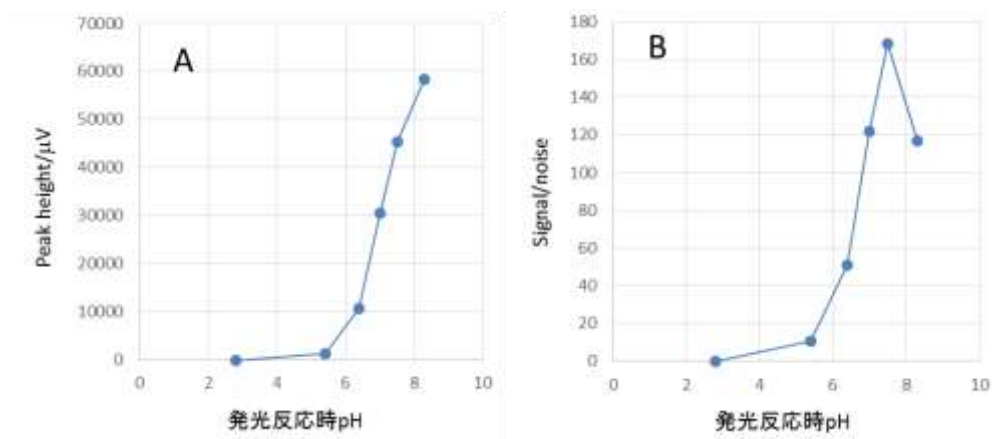
開発法で使用している分離・検出のための配位子EmetineCS₂は、錯形成部位であるジチオカルバミン酸部位が、酸性溶液下で容易に分解してしまい、またメルカプト基と比べ錯形成能力が弱い。加えてEmetineCS₂が比較的疎水性の高い分子であるため、水相への逆抽出剤としてEDTAを用いる逆抽出ステップを組み込まなければならない。このステップを上手く進めるには、有機水銀種を完全に塩化物の形で有機相に抽出する必要があり、Pd²⁺やHg²⁺をマスクング剤として加えなければならない理由となっている。また疎水性が高い錯体が生成するため、HPLC分離に多量の有機溶媒（アセトニトリル）を必要とする点もコスト面からマイナス要因といえる。

そこでこれらの問題点を踏まえ、それらを改善できる新たな配位子について検討を進めた。酸性でも安定で水銀と強く錯形成するメルカプト基を有し、かつRu錯体を発光させる脂肪族第三アミン構造を有する親水性の高い物質を候補にセレクションをおこないジアルキルアミノエタンチオールを利用した水銀の形態別分析法について検討を進めた。



図(1)-14 DMAETとメチル水銀の錯体形成

ジアルキルアミノエタンチオール的一种であるDimethylaminoethanethiol (DMAET) とメチル水銀の錯形成スキームを図(1)-14に示す。最初により高感度な検出を可能とするため、発光反応の最適条件について検討を進めた。Ru錯体と脂肪族第三アミンの発光反応は、発光反応時の溶液pHに大きく依存する⁽¹¹⁾。そこで発光反応時のpHを変化させ、発光反応のpH依存性を確認した(図(1)-15)。発光強度(ピーク高さ)はpHが塩基性になるほど高くなるが、Ru錯体はOH⁻とも発光反応が起こるため、塩基性ではバックグラウンドが高くなりノイズも大きくなる。そこでS/N比で評価したところpH 7付近で最大のS/Nが得られた。よって、発光反応時のpHが7付近になるよう溶液を調製することとした。

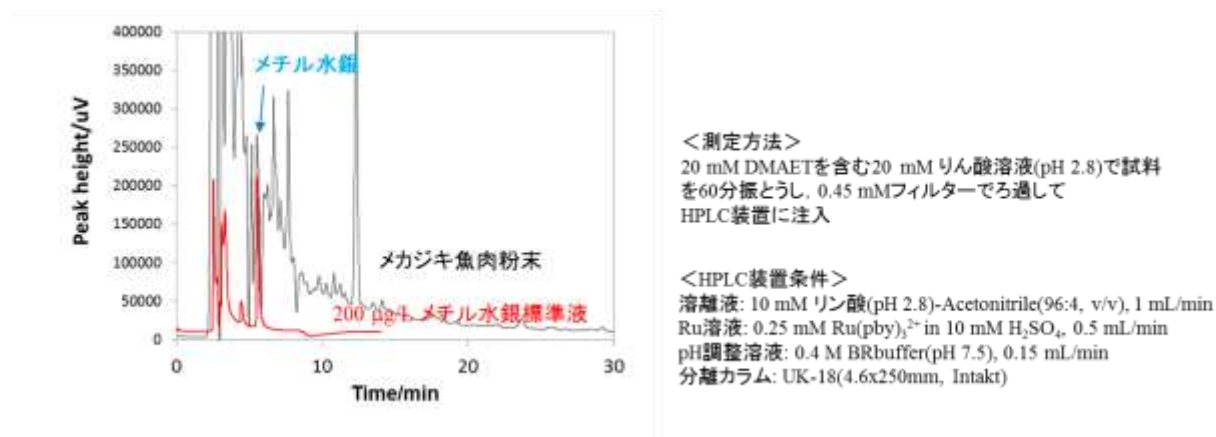


図(1)-15 DMAET-メチル水銀錯体の(A)発光反応強度のpH依存 (B)S/N比

次にDMAETとメチル水銀-DMAET錯体を効率よく分離する条件として、酸性条件でDMAETのアミン部位をイオン化させ、逆相カラムにより分離することを目指した。これは、溶離液に使用する有機溶媒を減量化でき、また測定を妨害する可能性の高いDMAETの酸化物である(DMAET)₂やHg²⁺との錯体である(DMAET)₂Hgが2価陽イオンとなり、メチル水銀-DMAET錯体より早く溶出し、迅速な測定を達成できることが期待されるためである。カラム等の条件検討の結果、20 mMリン酸(pH 2.8)-Acetonitrile(96:4, v/v)で分離が達成できた。しかしながら、分離には酸性条件が求められ、検出にはpH7付近が必要となる。そこでpH調整液として、リン酸緩衝液(pH 7.5)をカラム分離後に混合する3-pumpのシステムを採用した。しかしながら、このDMAETを利用したメチル水銀測定法の装置検出下限は1 µg/gであり、EmetineCS₂法より約2桁劣る結果となった。Ru錯体とアルキルアミン類の発光反応は、アミンのアルキル鎖が長くなるほど強くなることが知られている。そこでジメチルアミノエタンチオールをDMAETから、ジエチルアミノエタンチオール (DEAET) に変更し、再度、分離・検出条件を決定した。結果、DMAETより数倍高感度な測定が可能になったが、EmetineCS₂の感度には遠く及ばなかった。

DMAETは、生体試料中のメチル水銀測定であれば十分な感度を有するので、生体試料からのメチル水銀抽出剤、HPLC分離・検出剤としてのDMAET利用を検討した。結果を図(1)-16に示す。生体試料に含まれる夾雑物のピークが多数確認され、メチル水銀のピークを分離することができなかった。これは、EmetineCS₂が酸性条件で発光反応を起こすのに対し、DMAETやDEAETは中性条件で強く発光する。この条件では、生体に多量に含まれるアミノ酸やアミン類も発光反応を起こすため、様々な妨害ピークが確認されてものと考えられる。

これらの結果から、EmetineCS₂を超える効果的なメチル水銀測定のための配位子の検討には、Emetineのような酸性条件で発光反応を起こす部位に水溶性部位とSH基を導入した物質を新規配位子として検討していく必要がある。



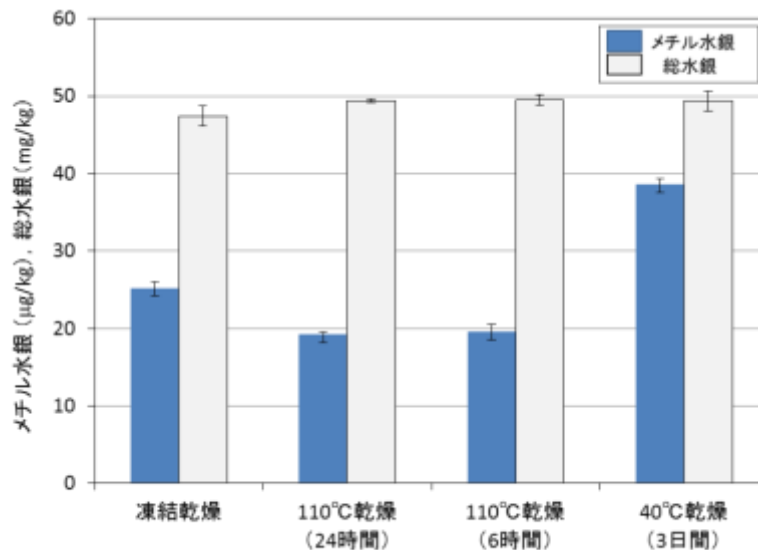
図(1)-16 DMAETを溶出・分離・検出剤とした生体試料のクロマトグラム

(2) 試料処理法の検討

採取した土壌・底質試料は、できるだけ速やかに測定に用いることが理想であるが、多数の試料を採取し分析する環境分析の分野では、測定が完了するまでに数週間から数か月の非常に長い時間を要する。よって、採取された試料をいかに保存しておくかが重要となる。また、土壌・底質試料は水分を含み、不均一なものであるため、採取したままの状態では再現性の良い測定結果を得ることは難しく、測定データの比較も困難である。これらのことから、どのような分析法を利用するにしても、採取した試料の持つ情報を正しく取り出すための保存、乾燥等の処理法の確立が重要となる。総水銀濃度に関しては、試料の処理法が与える影響が検討された報告は数多く存在するが、メチル水銀濃度に関する報告はほとんどない⁽¹²⁾。そこで本研究では、採取した試料の乾燥操作や保存状況がメチル水銀濃度に及ぼす影響について検討を進めた。

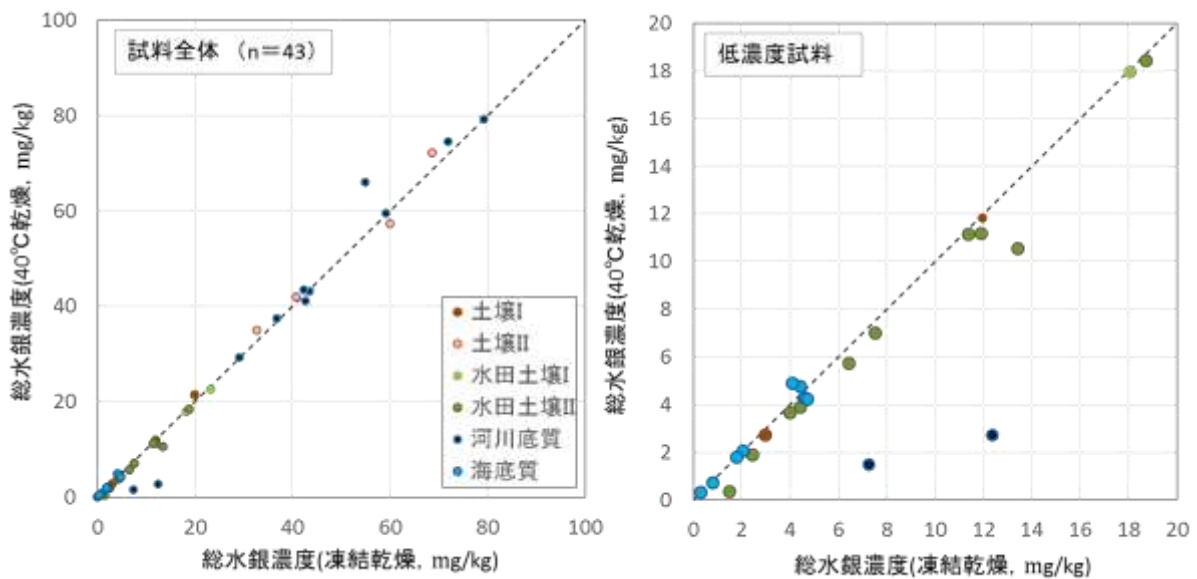
1) 乾燥操作によるメチル水銀濃度変化

採取した土壌・底質試料を乾燥させる際の乾燥法について検討を進めた。図(1)-17はインドネシアの水銀汚染地域で採取された水田土壌をできる限り均一に分割後、様々な乾燥方法で処理しメチル水銀濃度を測定した結果である。総水銀濃度は50 mg/kg程度とほとんど変化がないが、メチル水銀濃度では大きな差が確認され、40℃乾燥を行ったもので、他と比べ約2倍のメチル水銀が検出された。これは微生物活動が活発になる温度で数日間に渡り乾燥を行ったため、メチル水銀の生成反応が進行し、このような結果となったものと考えられた。

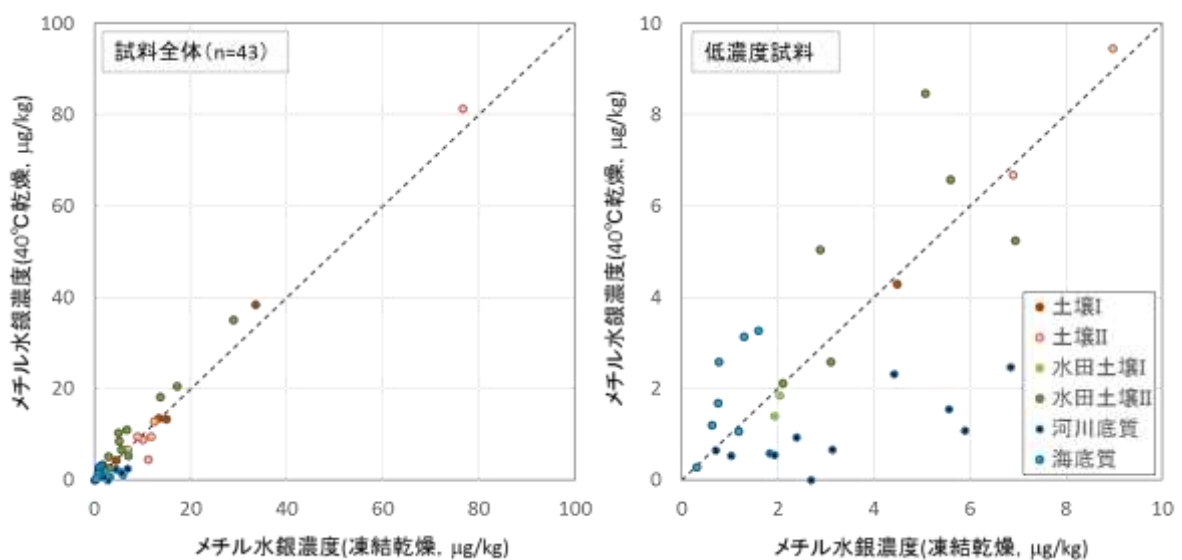


図(1)-17 乾燥法の違いによるメチル水銀濃度の変化(水田土壌)

そこで様々な由来の試料を利用し、凍結乾燥したものと 40℃乾燥したもので化学成分の比較を行った。図(1)-18 に総水銀の比較結果を示す。一部の試料において不均一分割のためか他の理由のためか差がみられたが、ほとんどの試料で測定値に変化はなかった。その一方でメチル水銀濃度は、特に水分を多く含む底質試料等で大きな変化が確認された（図(1)-19）。それぞれの試料は同じサンプリングで採取したものごとに分類しており、凍結乾燥を基準とすると、海底質（水俣湾）や水田土壌（インドネシア共和国産）では 40℃乾燥でメチル水銀濃度が上昇し、河川底質（インドネシア共和国産）では大きく低下するなど試料ごとに一定の傾向を示した。共存物質の化学形態変化が分析法に影響を与えている可能性も考え、エチレーション法、水銀分析マニュアル法でも測定したが、同様の測定結果であった（表(1)-2 参照）。

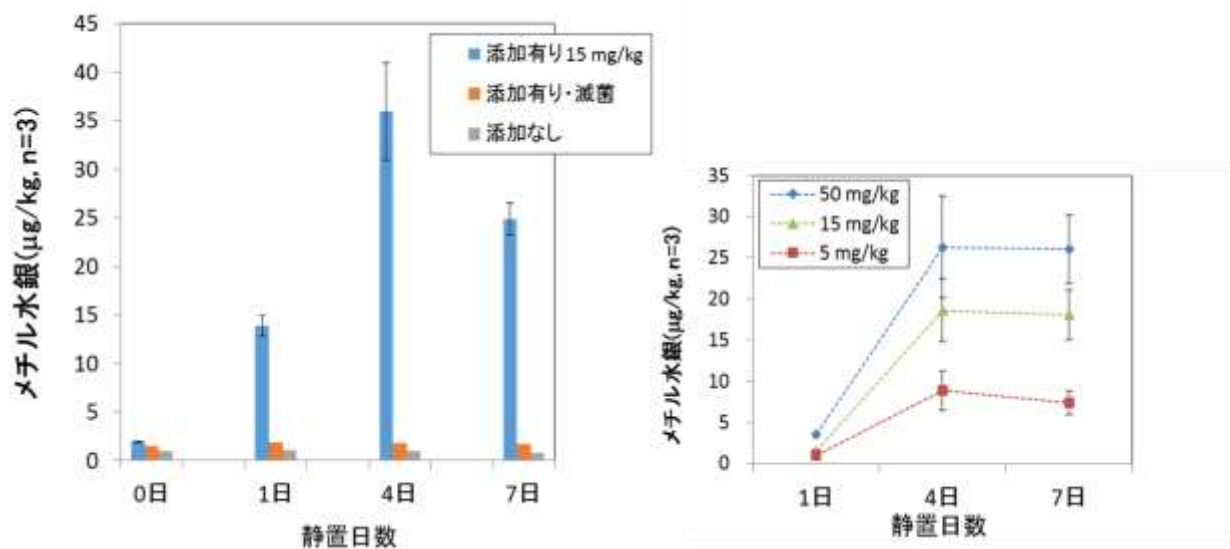


図(1)-18 乾燥処理による総水銀の濃度変化



図(1)-19 乾燥処理によるメチル水銀の濃度変化

メチル水銀は微生物活動により生成・分解するとされていることから、数日の乾燥期間の間にメチル水銀が生成しうるのか確認実験を行った。大学構内で採取した水銀汚染のない水田土壌に Hg^{2+} を乾燥重量で15 mg/kg程度になるよう添加し、30℃に設定したインキュベーター内で静置した。一定時間経過後、インキュベーターから取り出して冷凍し、凍結乾燥して測定試料とした。また Hg^{2+} を添加後、121℃で30分間滅菌処理した試料も同様に静置した。測定結果を図(1)-20に示す。静置後、1日でメチル水銀の生成が確認され、4日まで上昇し、その後ほぼ一定の濃度となった。この傾向は、添加する水銀濃度を変えても同様であった。一方、滅菌処理した試料ではメチル水銀濃度の上昇は確認されなかった（ブランク試料に比べて高い濃度が検出されたのは、 Hg^{2+} 添加から滅菌処理が行われるまでに生成されたメチル水銀だと考えられる）。この結果は、乾燥操作の数日の間に微生物活動によってメチル水銀の生成や分解が起こりうることを示しているといえる。



図(1)-20 Hg^{2+} 添加によるメチル水銀生成実験

2) 採取試料の保存

一般的に採取された試料は、測定まで冷蔵保存することとされている。そこで採取試料をできる限り均一になるように2分割し、一方は凍結保存、もう一方は一定期間冷蔵保存後に冷凍し、両試料とも凍結乾燥により乾燥させ粉末化して試料とした。測定結果を表(1)-5に示す。冷蔵保存であってもメチル水銀濃度の変化（ほとんどの試料で減少）が見られた。また特に水分を多く含むもので変化が大きいことが確認された。図は保存や乾燥操作による試料の状態の写真である。冷凍保存と冷蔵保存を比べると、冷蔵では赤褐色が強くなっていることが確認できる。これは試料に含まれる2価鉄が、冷蔵保存中に3価鉄に酸化されたための変化だと考えられる。（このような変化は、乾燥操作でも確認され、凍結乾燥に比べ40℃乾燥では赤褐色が強くなっている。）

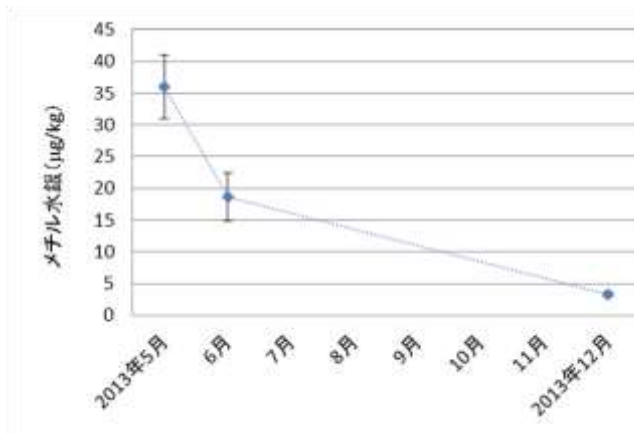
表(1)-5 長期冷蔵保存によるメチル水銀の濃度変化

試料名	試料No	メチル水銀濃度				冷蔵		変化率 (%)
		採取直後凍結乾燥		冷蔵保管後凍結乾燥		保存期間 (月)		
		$\mu\text{g}/\text{kg}$	s.d.	$\mu\text{g}/\text{kg}$	s.d.			
土壌①	21	152	5.60	0.19	4.81	0.10	17	-14
土壌②	23	153	12.44	0.85	10.88	0.20	17	-13
河川底質	109	151	6.59	0.28	3.19	0.10	10	-52
水田土壌①	112	118	15.35	0.33	3.87	0.86	6	-75
水田土壌②	115	119	1.83	0.01	2.47	0.04	6	35
土壌③	124	150	13.46	0.28	12.60	0.23	3	-6



図(1)-21 保存および乾燥による試料状態の変化（水田土壌試料）

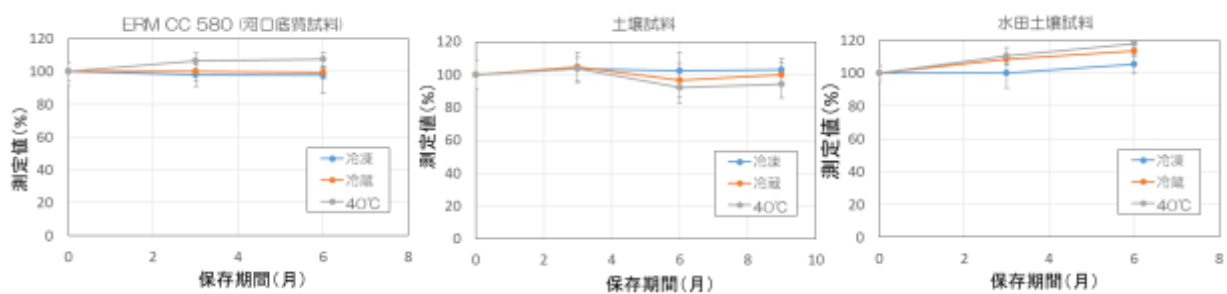
そこで同一の水田土壌試料を用い、冷蔵保存中の試料のメチル水銀生成能力の変化を調べた。結果を図(1)-22に示す。すべて同一条件（ Hg^{2+} 15 mg/kg添加、 30°C 4日間静置）であるが、メチル水銀の生成濃度は冷蔵期間が長くなるに従い低下した。この結果は、冷蔵保存中に試料中の微生物環境が変化したために起こったと考えられる。これらのことから、採取した土壌・底質試料はできるだけ迅速に冷凍保存するべきと考えられる。



図(1)-22 水田土壌の冷蔵保存によるメチル水銀生成能力変化

3) 乾燥粉末化後の試料中メチル水銀の安定性

最後に乾燥粉末化した後の試料の保存状態がメチル水銀濃度に与える影響について確認をおこなった。100 µg/kg程度の高いメチル水銀濃度を持つ、認証標準物質ERM CC580、イドリア水銀鉱山周辺の土壌 (No. 49) インドネシアの水田土壌 (No.247) を用い、これら試料をそれぞれ3分割し、冷凍 (-28°C)、冷蔵 (4°C)、40°Cの暗所で一定期間保存した後、メチル水銀濃度の変化を確認した。結果を図(1)-23に示す。いずれの試料も40°C乾燥では若干メチル水銀濃度が変化しているような結果となったが、冷凍保存や冷蔵保存では、ほとんど変化は見られなかった。(認証標準物質ERM CC580が4°C保存としているため、4°C保存のERM CC580の測定値を基準として他の測定値を補正した。) よって乾燥粉末化後の試料は、冷暗所に保存することで安定的に利用できると考えられる。



図(1)-23 乾燥粉末化後の保存状態におけるメチル水銀濃度変化

$$\text{測定値(\%)} = (\text{保存後の測定値} / \text{実験開始時の測定値}) / 100$$

これらの実験結果から、試料採取直後から微生物活動によりメチル水銀の生成(や分解)が、測定されるレベルで起こることが明らかになった。よって特に水分を多く含み採取により存在環境・温度が大きく変わる試料は、可能な限り素早く冷凍し、そのまま凍結乾燥、粉末化し、冷暗所で保存するなど、微生物活動を起こさせないように試料を取扱う必要がある。また、凍結処理のできる環境も限られるため、試料採取現場で利用可能なメチル水銀濃度の固定化法、例えばアルコール等の薬品の添加などを検討していく必要がある。

(3) 様々な要因で水銀濃度が高い地域の調査

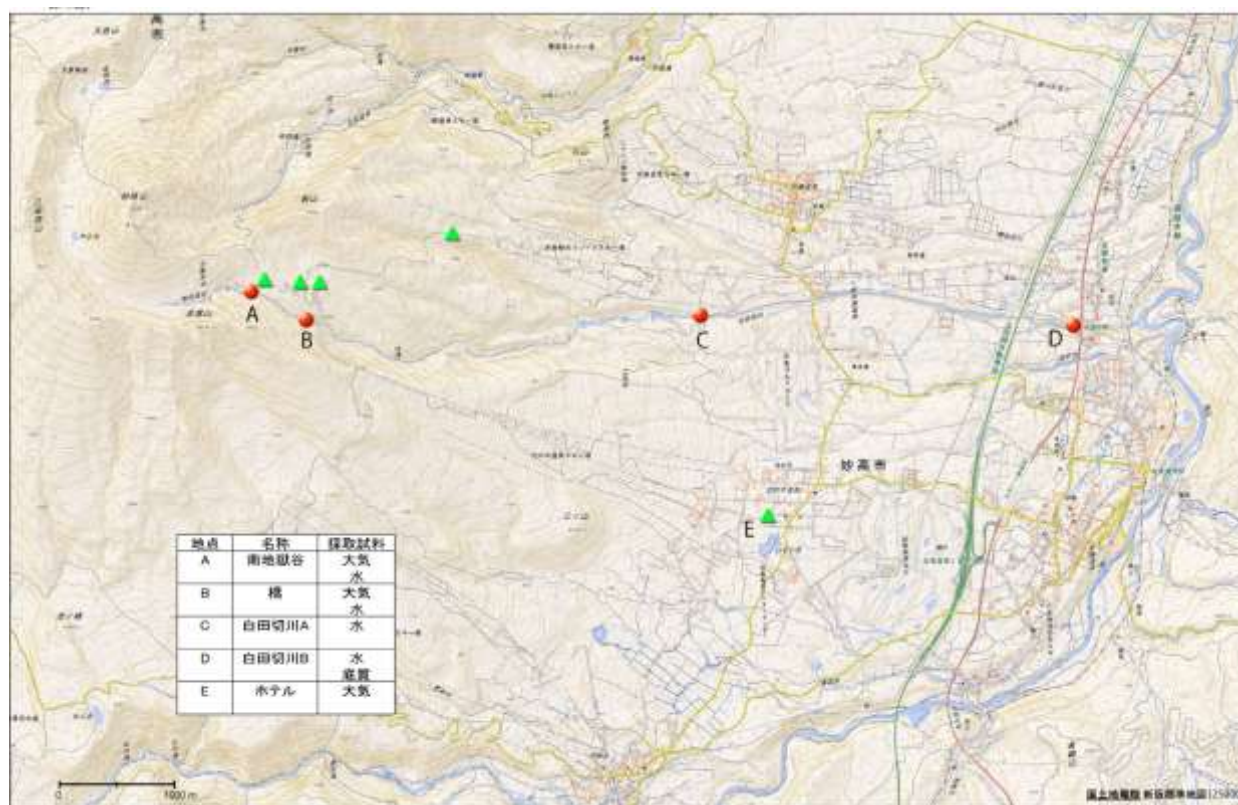
土壌・底質はその化学組成が環境により大きく異なるため、メチル水銀分析法を確立するうえで、様々な由来の土壌・底質試料を確保することが重要となる。そのため、国内外の水銀濃度が高い地域で試料採取を行う必要があった。そこでこの試料採取と同時に水、大気、生体などについても調査を行うことで、土壌・底質中の水銀の由来や環境中における水銀の挙動に関する知見も同時に集積することを目指した。

採取した土壌・底質、植物試料の総水銀測定には湿式分解－還元気化冷原子吸光法、水試料の総水銀測定にはBrCl-紫外線酸化分解－還元気化冷原子蛍光法、大気中の水銀測定は、水銀捕集管（金コート多孔質セラミック）を取り付けた定流量（0.5 L/min）ポンプで一定時間大気を吸引し研究室に持ち帰り、加熱気化－冷原子吸光装置により測定を行った。また土壌・底質の化学組成を明らかにするため、蛍光X線分析、元素分析（CNS）、総有機炭素（TOC）測定を行い。水試料の測定には各種電極、イオンクロマトグラフィー、総有機炭素測定をおこなった。

1) 妙高山南地獄谷（新潟県）周辺

新潟県妙高市を流れる関川とその支流である白田切川の水質が、水銀の環境基準を超過する事案がたびたび報告されている（新潟県HP <http://www.pref.niigata.lg.jp/>）。この水銀の由来は、妙高山南地獄谷の噴気活動に由来するものとされている。Fukuzakiらは南地獄谷の噴気活動に伴って放出される水銀のその影響について確認するため、周辺土壌や植物中の総水銀の測定を行い、噴気による水銀放出により周辺土壌や樹皮の水銀濃度が高くなっていることを示している⁽¹³⁾。しかしながら、メチル水銀について測定は行われておらず、噴気由来の水銀により、周辺環境でメチル水銀がどの程度生成しているのか調査された報告はない。妙高山周辺は国立公園の特別地域であるため、土壌や植物の採取には許可が必要となる。2013年度(2013年9月24～25日)は予備調査として、水および大気試料を採取して測定をすすめた。そして2014年度（2014年5月26～27日）は、国立公園内での土石採取許可を得て、植物、土壌、底質、水、大気の採取をおこない測定を行った。

2013年度の試料採取ポイントと採取試料の一覧を図(1)-24に示す。白田切川の源泉である南地獄谷付近Aから下流域に向かい、B、C、関川との合流前Dで水試料を採取した。またDは国立公園外となるため底質も採取した。さらにA、BおよびEでは大気中Hgの測定を行った。



図(1)-24 妙高山周辺での試料採取ポイントと採取試料（2013年）

表(1)-6、表(1)-7に水質データを示す。採取した水試料は、実験室での保存の間に茶色の沈殿物が生成していたため、 $0.45\ \mu\text{m}$ の親水性PTFEメンブレンフィルターでろ過した後、各種測定を進めた。またフィルターに捕獲された沈殿物についても総水銀濃度の測定おこなった。結果を表(1)-5に示す。上流ほど総水銀量が高く、下流に行くほど減少し、さらに生成した沈殿に多量の水銀が含まれることから、噴気熱水に含まれる水銀が、河川を流れる間に他成分と共沈している可能性が示唆された。また、大気の測定結果を表(1)-6に示す。南地獄谷周辺と山麓にあるホテルでは、大気中の水銀濃度に差が見られた。

表(1)-6 南地獄谷から白田切川下流における水質変化（現場測定）

地点	名称	pH	温度(°C)	ORP(mV)	伝導度($\mu\text{S}/\text{cm}$)
A	南地獄谷	4.11	13.3	360	71.1
B	橋	3.6	14.4	404	92.2
C	白田切川A	5.33	14.9	204	41.4
D	白田切川B	5.1	17.6	210	38.8

表(1)-7 水試料中の有機炭素濃度および主要陰イオン（ $0.45\ \mu\text{m}$ 親水性PTFEろ過済み）

地点	名称	総有機炭素 (mg/L)	イオンクロマトグラフィー(mg/L)		
			塩化物イオン	硝酸イオン	硫酸イオン
A	南地獄谷	0.223	1.0	0.8	373.2
B	橋	0.276	3.2	1.0	594.9
C	白田切川A	0.233	4.0	1.0	207.5
D	白田切川B	0.22	4.8	1.1	191.3

表(1)-8 水試料の総水銀濃度

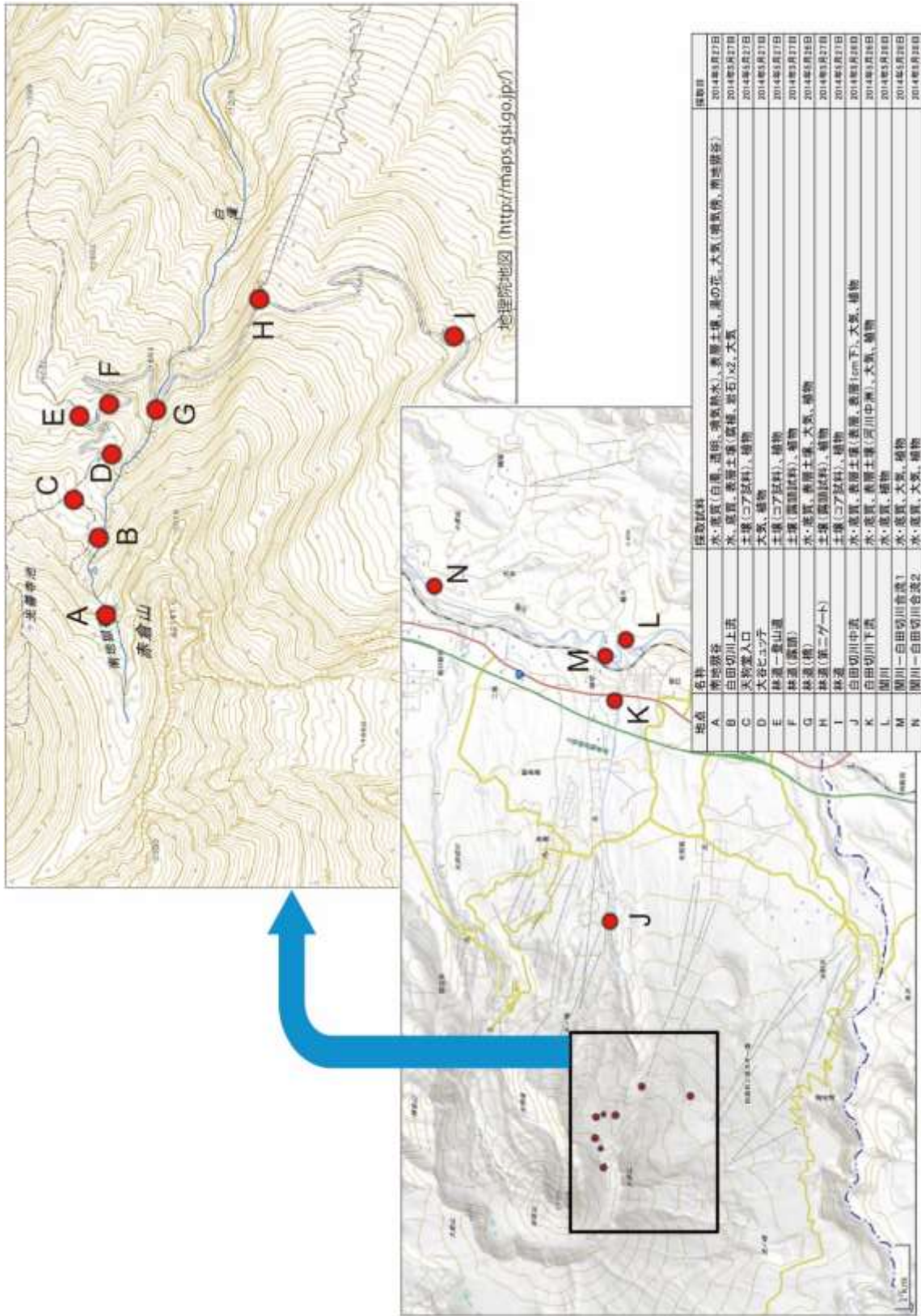
地点	名称	ろ過済み水中総水銀		沈殿中総水銀 (ng/500mL)	総水銀量 (ng)
		ng/L	sd(n=2)		
A	南地獄谷	4.83	0.02	146.25	148.67
B	橋	8.88	0.02	121.83	126.27
C	白田切川A	1.16	0.02	42.72	43.30
D	白田切川B	1.95	0.03	46.79	47.76

表(1)-9 妙高山周辺の大气中水銀濃度

地点	名称	Hg(ng/m ³)	sd(n=2)
A	南地獄谷	3.50	0.14
B	橋	2.25	0.07
E	ホテル	1.45	0.07

2014年度の試料採取ポイントと採取試料の一覧を図(1)-25に示す。土壌試料は表層のみ、コアサンプラーによる円柱状試料採取、露頭が確認された場所での地層ごとの採取を行った。まだ雪が残っている環境であった。植物試料は土壌を採取したポイントでクマザサを採取した。特に植物試料は虫食い等のない生葉と落葉をそれぞれ採取し、葉1枚をそのまま測定に用いた。水試料は南地獄谷から白田切川、そして関川との合流前後で、現場でろ過したものと未濾過のものをそれぞれ500 mLずつテフロンボトルに採取した。また同時に底質を採取した。また大気試料も5地点で採取した。

水試料は、立ち入ることができた最奥部の南地獄谷（A地点）で、白濁した流れと透明の流れが合流し、途中、噴気地帯の温泉源泉などからの流れも合わさり、白田切川（B→G→J→K地点）の流れで関川（L地点）と合流し、M、L地点と流れていく。各地点の水質を表(1)-10に示す。pHは下流に向けて上昇し、ORP、電導度は下流ほど減少する傾向が見られた。表(1)-11に水中総水銀の測定結果を示す。また現地でろ過した試料、そのまま研究室に持ち帰った試料とも茶褐色の沈殿の生成が見られた。現地ろ過したものは、そのままBrCl酸化分解して測定に用い、ろ過せず研究室に持ち帰ったものは、測定前にろ過して試料とした。いずれの試料も上流域で濃度が高く、下流ほどの濃度が低下することが確認された。また特に上流域の試料で、現地ろ過したものと、研究室でろ過した試料で水銀濃度に大きな差が見られた。この結果は、南地獄谷からは水銀濃度が高い水が噴き出しているが、下流に下る間に水銀が共存物質と沈殿を形成し、水中から除去されていると考えられた。そこで、沈殿物の組成を確認したところ鉄が主成分であった。鉄が酸化され沈殿を形成するときに水銀も共沈することはよく知られている⁽¹⁴⁾。また、表(1)-12に底質の総水銀濃度を示す。下流に行くほど水銀濃度は低下しており、熱水に含まれていた水銀が沈殿し、底質に移行したという結論を支持する結果となった。



図(1)-25 妙高山での試料採取ポイントと採取試料一覧 (2014年)

表(1)-10 各地点における水質

地点	説明	温度(°C) 現地	pH		ORP (mV)		電導度 (µS/cm)		イオンクロマトグラフィー(mg/L)			
			現地	大学	現地	大学	現地	大学	F ⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻
A	噴気熱水								0.13	20.16	nd	1362.7
A	源泉(白濁)	15	3.14	2.78	393	597	1323	1634	0.75	0.50	1.22	896.9
A	源泉(透明)	6	3.75	3.11	546	615	485	721	0.11	0.59	0.14	301.3
B	白田切川	13.6	3.4	2.93	403	605	844	1194	0.33	0.63	0.42	563.7
G		10.5	3.51	2.97	425	598	771	1209	0.41	2.21	0.55	550.6
J		11.2	4.89	3.79	287	526	249	350	0.15	2.28	0.51	135.4
K		12.8	4.84	3.82	288	515	265	356	0.15	3.16	0.51	150.3
L	関川	10.4	7.41	6.87	186	338	56.4	86	nd	5.70	0.85	5.2
M	関川合流	9.9	7.14	6.84	55	340	61.8	78	nd	5.91	0.79	8.2
M	関川合流2	11.6	7.3	6.93	46	334	84.7	100.2	nd	6.41	0.81	13.4
現地ろ過、大学ろ過でイオンクロ成分に差なし												

表(1)-11 各地点における水中総水銀濃度

地点	説明	水中総水銀濃度 (ng/L)			
		現地ろ過		大学ろ過	
		現地ろ過	sd(n=2)	大学ろ過	sd(n=2)
A	噴気熱水			1149.88	8.12
A	源泉(白濁)	231.70	5.79	22.47	0.07
A	源泉(透明)	44.12	0.99	3.01	0.04
B	白田切川	30.59	0.31	15.21	0.07
G		15.90	0.01	13.79	0.04
J		3.02	0.01	4.81	0.03
K		2.69	0.02	4.98	0.09
L	関川	0.15	0.09	1.04	0.03
M	関川合流	1.71	0.05	0.75	0.00
M	関川合流2	0.42	0.02	0.76	0.00

表(1)-12 各地点の底質中総水銀濃度

地点	説明	総水銀濃度 (mg/kg)	メチル水銀(µg/kg)	エチル水銀(µg/kg)
A	噴気熱水	11.41	0.5	nd
A	源泉(白濁)	8.67	0.7	nd
A	源泉(透明)	4.52	0.5	nd
B	白田切川上流	8.81	0.2	nd
G		5.96	0.5	nd
J	白田切川中流	2.21	0.4	nd
K	白田切川下流	3.63	0.4	nd
L	関川	0.03	0.6	nd
M	関川合流	0.17	0.3	nd
N	関川合流2	0.64	0.5	nd
nd: not detected				

表層土壌の総水銀測定結果を表(1)-13に示す。南地獄谷の崩落した斜面の表層土壌で21 mg/kgと最も高い濃度が確認された。そして白田切川沿いの地点となるB、G、J、K地点で比較的高い総水銀濃度が確認された。これは、南地獄谷の水銀濃度の高い土壌が、過去に発生した土石流により下流に拡散したものや、水銀濃度の高い河川底質からの影響を受けているためと考えられる。また、有機水銀（メチル水銀、エチル水銀）濃度は、総水銀濃度に依存していなかった（詳細は後述）。

表(1)-13 各地点の表層土壌の総水銀濃度

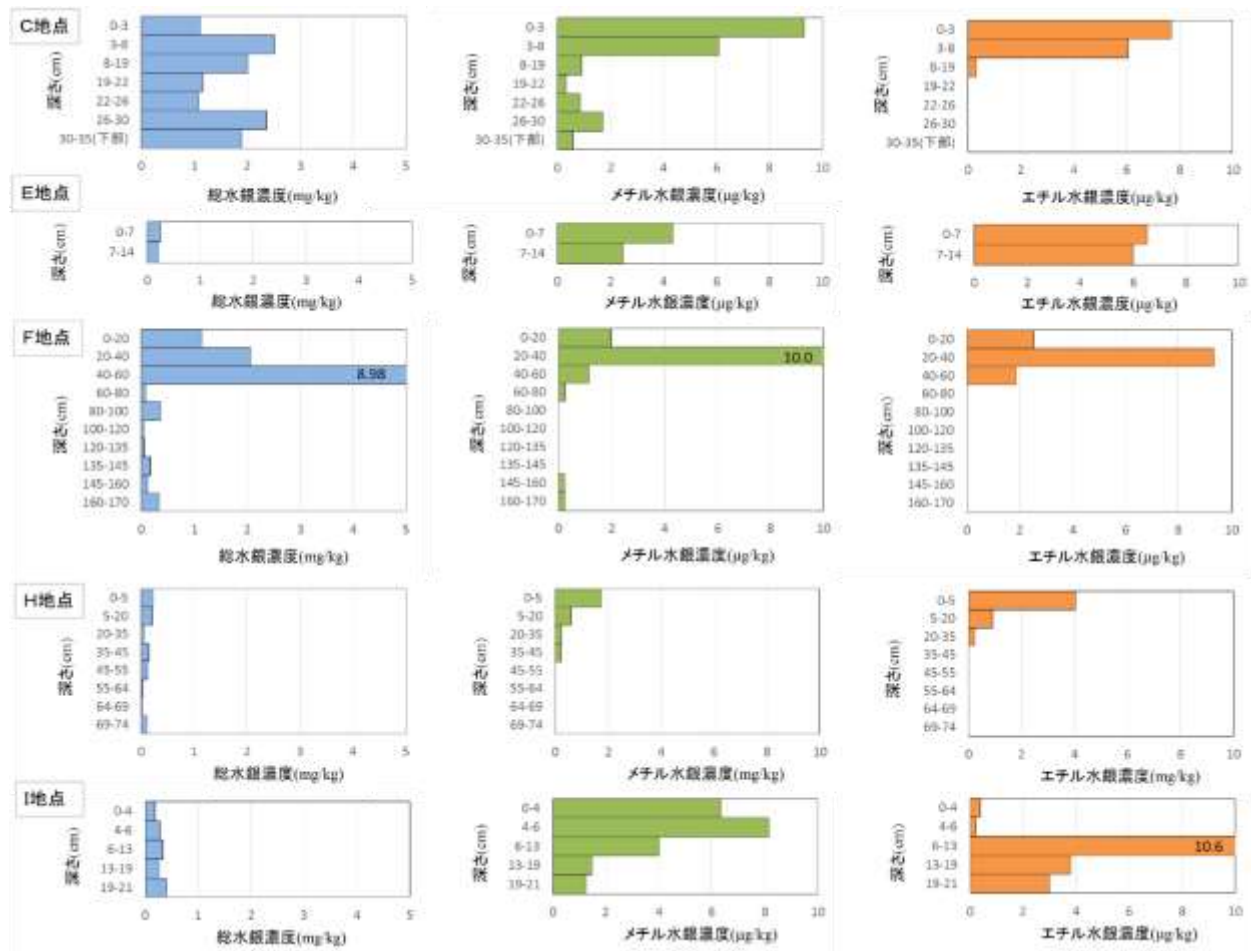
地点	試料説明	総水銀濃度(mg/kg)	メチル水銀(μg/kg)	エチル水銀(μg/kg)
A	南地獄谷 (崩落現場表層)	21.69	1.1	0.8
B	白田切川上流	7.42	0.5	0.3
B	白田切川上流(クマザサ下の土壌)	2.88	0.6	nd
C	天狗堂コア試料(0-3cm)	1.11	9.3	7.7
C	天狗堂入口(クマザサ下の土壌)	2.00	1.2	nd
E	登山道-林道 コア試料(0-7cm)	0.25	4.4	6.5
F	林道 露頭試料(0-20cm)	1.14	2.0	2.5
G	林道(橋)(クマザサ下の土壌)	3.20	3.8	0.7
H	林道(第二ゲート)露頭試料(0-5cm)	0.23	1.7	4.0
I	林道 コア試料(0-4cm)	0.19	6.3	0.4
J	白田切川中流(表層コケはがして1cm)	1.41	0.9	nd
J	白田切川中流(表層1cm下)	2.50	0.3	nd
K	白田切川下流(中州の植物下、底質)	6.09	1.7	0.3
				nd: not detected

大気及び植物中の総水銀濃度を表(1)-14に示す。噴気傍で採取した大気試料で最も高い0.0917 μg/m³の総水銀濃度が得られ、南地獄谷から離れると大気中総水銀濃度が低下することが確認された。しかし、大気中総水銀濃度は風向き等によっても大きく変化するため、中長期の水銀バイオモニターとしてクマザサを用いた。また生葉だけでなく枯葉も採取して測定を行ったところ、枯葉の方が高い総水銀濃度を示した。これは葉表面で呼吸が行われている間、葉が水銀を取り込むため、長く育成した枯葉の方が高い、もしくは葉表面の腐植が進んだことで、大気や雨からの水銀をより多く吸着するためと考えられる。バックグランド言えるN地点と比べ、白田切川沿いから離れたH地点でもクマザサ(生葉)中の水銀濃度が高いことから、大気輸送によっても周辺に水銀が供給されていることを示していると考えられる。

表(1)-14 大気と植物(クマザサ)の総水銀濃度

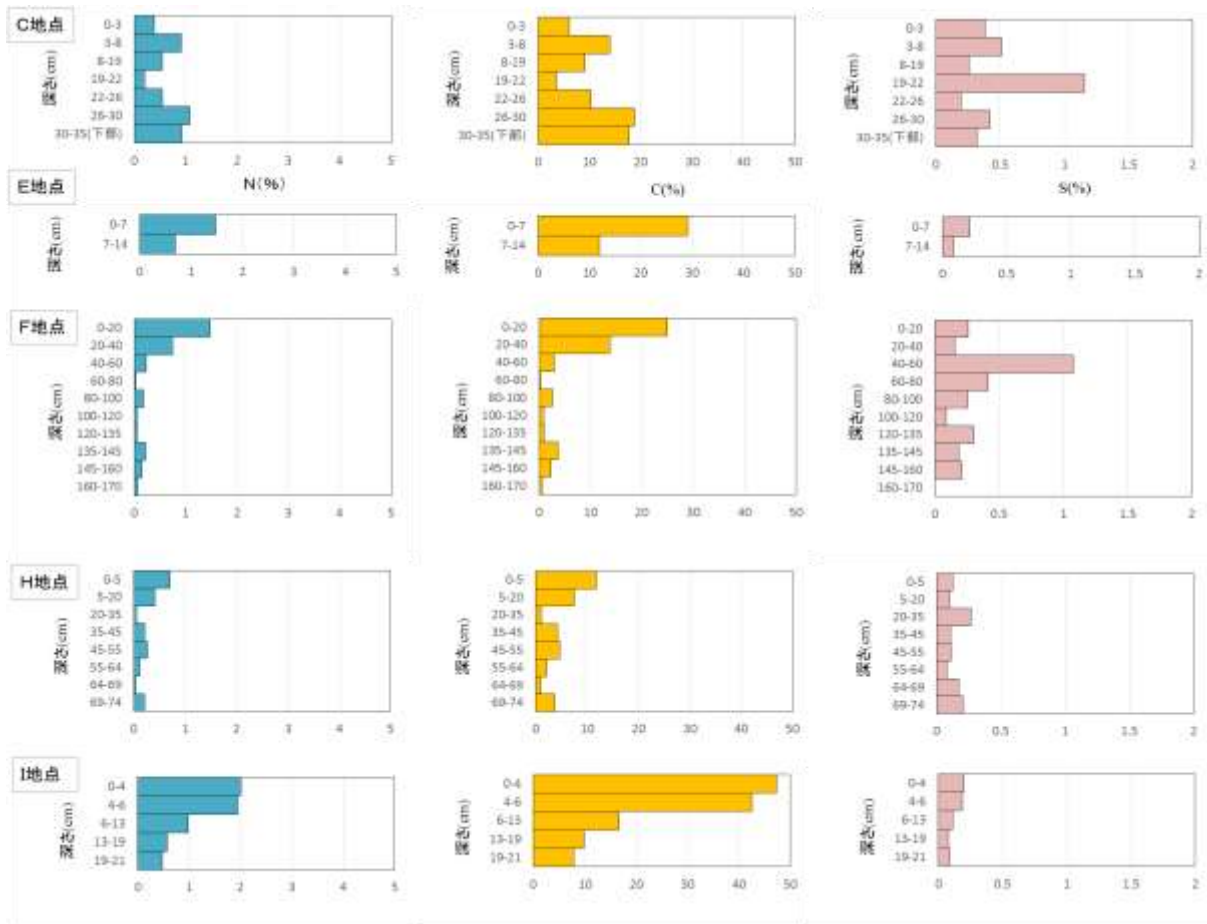
地点	説明	大気中総水銀濃度 (μg/m ³)	植物中総水銀濃度(mg/kg)			
			生葉	sd(n=3)	枯葉	sd(n=3)
A	噴気傍	0.0917				
A	源泉付近	0.0210				
B		0.0139	0.0719	0.0109	0.2193	0.0695
D		0.0019	0.0153	0.0051	0.0382	0.0099
E			0.0183	0.0058	0.0218	0.0049
G		0.0021	0.0500	0.0222	0.0618	0.0224
H			0.0208	0.0061	0.0237	0.0130
J		0.0023				
K		0.0029	0.0046	0.0002	0.0291	0.0019
L			0.0084	0.0012	0.4952	0.0367
M		0.0010	0.0043	0.0006	0.0090	0.0012
N			0.0055	0.0004	0.0107	0.0027
			クマザサの葉1枚を1試料として測定			

コア試料、地層試料中の総水銀濃度、メチル水銀濃度、エチル水銀濃度の鉛直分布を図(1)-26に示す。総水銀濃度は南地獄谷に近い地点ほど高いが、特に地層試料などは古い時代の火山活動等の影響を反映していると考えられる水銀濃度が高い層も確認された。一方、メチル水銀、エチル水銀は基本的に表層で濃度が高いことが確認された。



図(1)-26 総水銀濃度、メチル水銀濃度、エチル水銀濃度の鉛直分布

これらコアおよび地層試料の総炭素、窒素、硫黄の鉛直分布を図(1)-17に示す。後述するイトムカ旧水銀鉱山周辺で得られた試料では、有機炭素量とメチル水銀濃度の間に相関関係が見られたが、この試料では明確な関係は見られなかった。



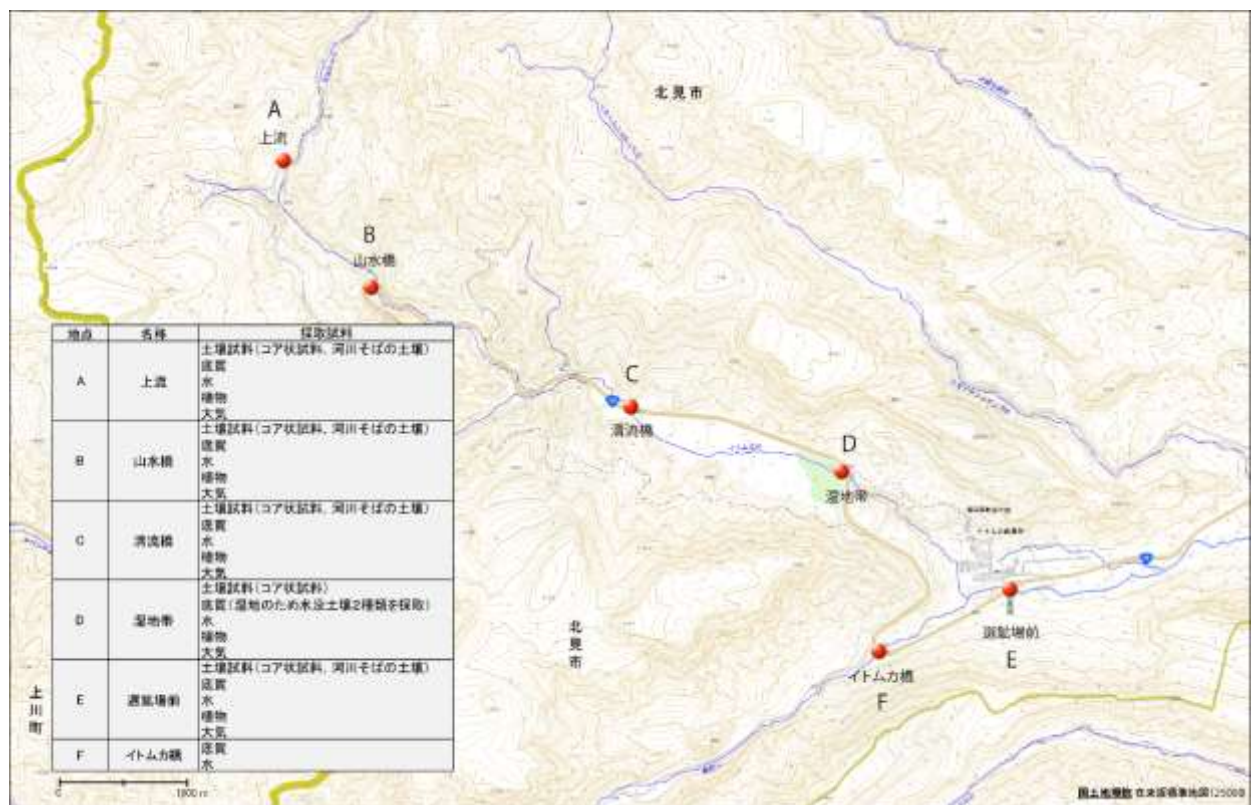
図(1)-27 総窒素、総炭素（有機炭素）、総硫黄の鉛直分布

妙高山南地獄谷の噴気活動により環境中に放出された水銀は、水に含まれていたものは同時に溶出した鉄と共に沈殿することで、その大部分が水相から取り除かれ底質に移行し、一方、大気により拡散した水銀は、植物等に吸収され土壤中に蓄積されているものと考えられた。拡散した水銀は、その一部が有機水銀に変化しているものと考えられ、底質に比べ土壤中での存在割合が高いことが確認された。また、この妙高山南地獄谷付近で得られた試料は、エチル水銀がメチル水銀と同程度存在するという特徴を有していた。環境中におけるエチル水銀の生成についてはほとんど報告がなく、この解明のためにも今後も調査を続けていく必要がある。

2) イトムカ旧水銀鉱山周辺

北海道北見市にあるイトムカ旧水銀鉱山（1974年閉山）は、世界的にも珍しい自然水銀（金属水銀）が産出する鉱山として、最盛期は年間200トンの水銀を生産していた国内有数の水銀鉱山である。環境中で自然水銀が、どのような挙動を示すのかは非常に興味深い。北見市の常呂川水系環境保全対策協議会により、付近を流れるイトムカ川底質の総水銀濃度や魚類（ウグイ）の総水銀濃度、メチル水銀濃度が監視され続けているが（北見市HP <http://www.city.kitami.lg.jp/>）、イトムカ水銀鉱山周辺の土壌の水銀濃度やメチル水銀濃度の報告は見当たらない。またイトムカ川中流には、メチル水銀が生成しやすい環境であることが知られている湿地帯が存在している。これらの点から、2013年イトムカ川沿いに水試料、底質試料、土壌試料、大気試料を採取して分析を進めた。

図(1)-28に試料採取ポイントと採取試料の一覧を示す。鉱石の採掘地点であったイトムカ川の上流（A地点）から下流に向けてサンプルを採取した（いずれも国有林内）。



図(1)-28 イトムカ水銀鉱山周辺の試料採取ポイントと採取試料

河川そばの表層土壌および底質の測定結果を表(1)-15、表(1)-16にそれぞれ示す。土壌では高い総水銀濃度と共にメチル水銀も数十 $\mu\text{g}/\text{kg}$ レベルで検出され、またエチル水銀の存在も確認された。一方、底質では同程度の総水銀濃度であってもメチル水銀濃度は1/10以下となった。

コアで採取した土壌試料の総水銀の測定結果を図(1)-29に示す。コア試料は、図(1)-30のように土壌の層の変化（見た目）で分割してそれぞれ試料とした。コア試料は、清流橋では河川敷で、他は山の中のできるだけ土石の移動が起こっていないと考えられる場所で採取した。コア試料中の総水銀濃度は、清流橋を除き、上層で高く下層に行くに従い大きく低下する傾向が見られた。清流橋のコア試料は、細かい層がいくつも見られた（図(1)-30）。総水銀濃度も他のコアと比べ高く、下層ほど高い水銀濃度が確認されるなど他とは異なる傾向が確認された。清流橋は河川敷であったため、川の氾濫等による土石の移動などの要因があるためと考えられる。

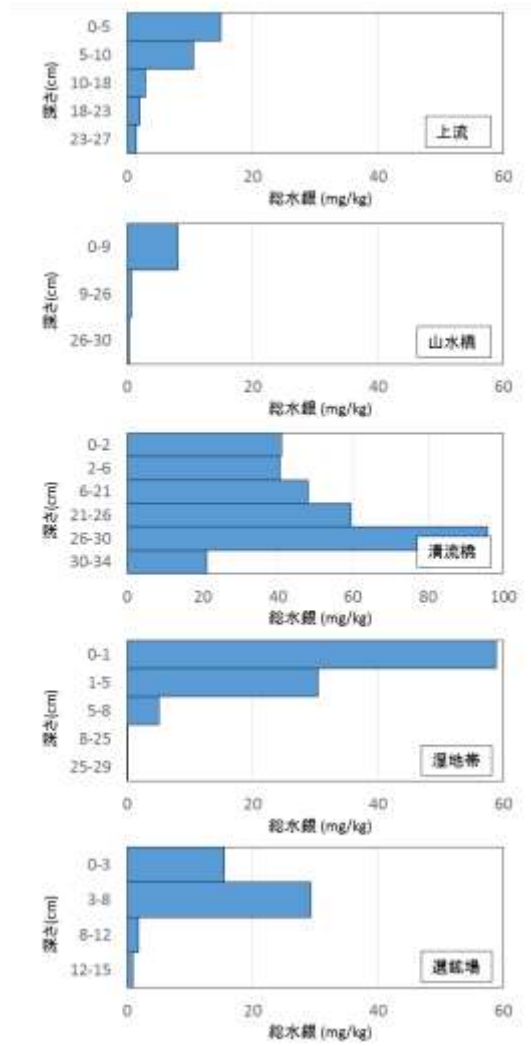
表(1)-15 土壌中の総水銀およびメチル水銀の測定結果

地点	名称	総水銀(mg/kg)	sd(n=3)	メチル水銀($\mu\text{g}/\text{kg}$)	sd(n=3)	エチル水銀($\mu\text{g}/\text{kg}$)	sd(n=3)
A	上流(川そば土壌)	2.3	0.1	6.4	0.2	1.6	0.1
B	山水橋(川そば土壌)	14.6	1.9	12.4	0.1	1.9	0.0
D	湿地帯(林の中, 水没土壌)	54.2	0.5	32.3	0.0	1.5	0.1
D	湿地帯(橋の下, 水没土壌)	71.1	5.0	7.5	0.2	nd	
E	選鉱場前(川そば土壌)	10.0	0.8	24.3	0.8	2.7	0.0

表(1)-16 底質中の総水銀およびメチル水銀の測定結果

地点	名称	総水銀(mg/kg)	sd(n=3)	メチル水銀($\mu\text{g}/\text{kg}$)	sd(n=1)	エチル水銀($\mu\text{g}/\text{kg}$)	sd(n=1)
A	上流底質	0.4	0.1	0.1		nd	
B	山水橋底質	12.6	0.4	0.3		nd	
D	清流橋底質	17.8	1.2	1.8		nd	
E	選鉱所底質	5.7	1.6	0.6		nd	
F	イトムカ橋底質	0.2	0.0	nd		nd	

湿地帯は土壌と底質の区別がつかないため土壌とした

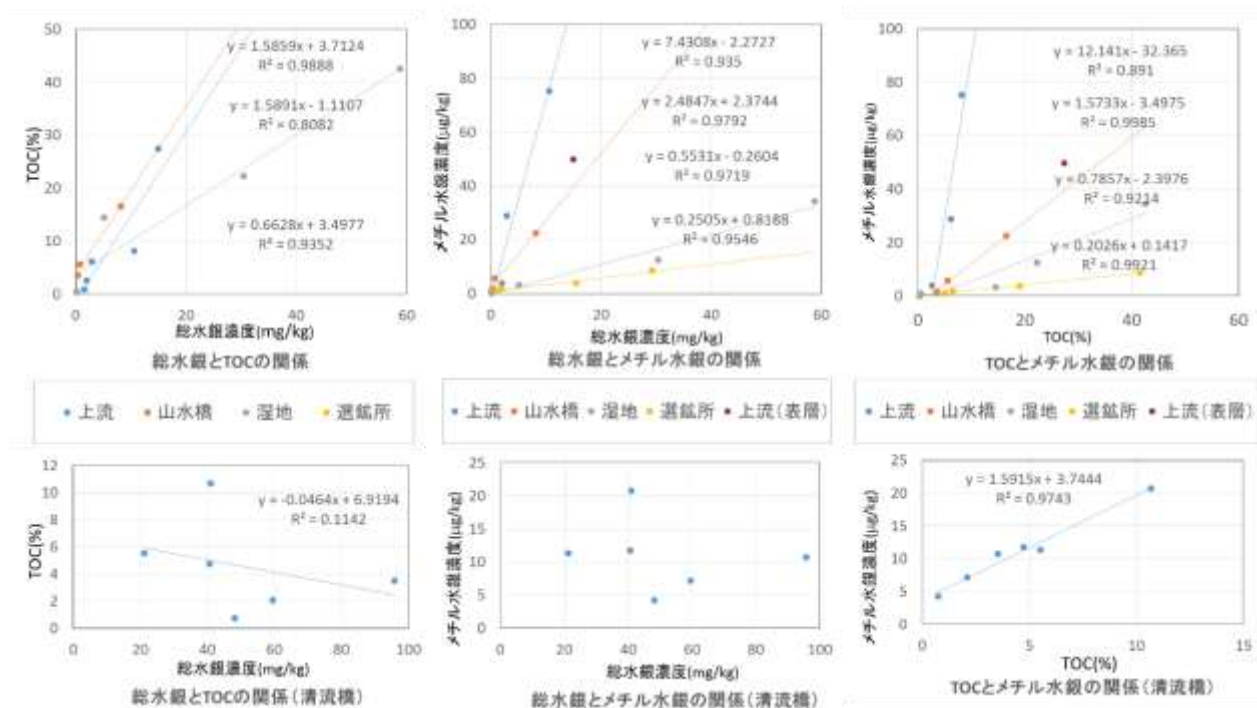


図(1)-29 コア試料中の総水銀濃度の鉛直分布

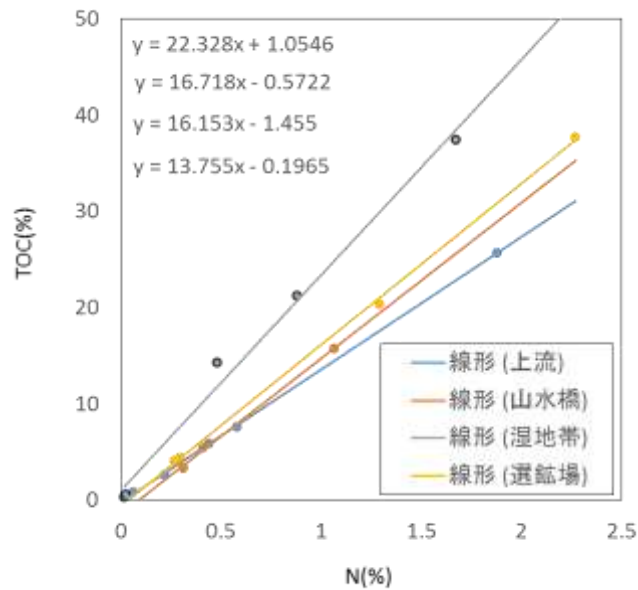


図(1)-30 コア試料の断面図 (清流橋)

図(1)-31にコア試料中の総水銀濃度、総有機炭素量濃度（TOC）、メチル水銀濃度の関係を示す。総水銀濃度は、清流橋以外のコアでは表層ほど高い。そして清流橋を除くコアでは、総水銀とTOCの間に相関関係がみられている。これは水銀が大気から供給され、土壌の有機物（植物の葉に吸収された後土壌化も含む）に強く保持されているためであると考えられる。このTOCと総水銀の相関関係とTOCとメチル水銀の相関関係の結果として、メチル水銀と総水銀の間にも相関関係がみられているものと考えられる。すべてのコアで高い相関がみられたTOCとメチル水銀の関係であるが、これは有機物の多い環境であれば、無機水銀からメチル水銀が生成しやすいことを示しているといえる。それぞれ傾きが異なる理由は不明であるが、土壌化学成分、微生物量などの環境要因が関与しているものと考えられる。上流コアで一点だけ大きくプロットが外れる点（赤丸で記載）があるが、これは表層土壌試料であり、微生物による分解が進んでいない試料であったためメチル水銀があまり生成しておらず、プロットが大きく外れたものと考えられた。そこで土壌化の過程を追跡する目的で、これら試料の総窒素、総炭素、総硫黄の分析を進めた（無機炭素の存在は確認されなかったことから、総炭素＝総有機炭素となる）。各コア内で腐植の進んだ層と進んでいない層のC/N比が異なると考えていたが、図(1)-32のようにコアごとにほぼ一定のC/N比を持っていた。水分量など存在状況が大きく異なる湿地帯コアや清流橋コアを除くと、傾きが小さい（C/N比が小さい）コアほど、メチル水銀と総有機炭素（TOC）の直線関係の傾きが大きいことが確認された。しかし、C/N比の違いが植生の違いによるものか、腐植の進行の違いによるものかは分かっていない。



図(1)-31 コア試料における総水銀濃度と総有機炭素量(TOC)とメチル水銀濃度の関係



図(1)-32 各コア試料のC/N比

大気の測定結果および植物の測定結果を表(1)-17、表(1)-18にそれぞれ示す。大気中の水銀を評価することは容易ではないため、バイオモニターとしてクマザサを利用した。大気中の水銀濃度は風向き等によっても大きく異なるため、一定期間の大気中水銀濃度を評価するためには植物等のバイオモニターを利用することが有用である。クマザサを用いた評価でも、大気中水銀濃度が最も高い選鉱場前で採取したクマザサが高い水銀濃度を示していた。また、植物に吸収された水銀が、植物が土壌化していく過程でメチル水銀化していくプロセスを考えていくうえでも植物中の水銀濃度の情報は重要と考えている。

表(1)-17 大気測定結果

地点	名称	Hg ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
A	上流	0.0033
B	山水橋	0.002
D	湿地	0.0038
E	選鉱所	0.1524

表(1)-18 クマザサ測定結果

地点	名称	総水銀 (mg/kg)	sd	試料数(n)
A	上流	0.09	0.01	4
B	山水橋	0.14	0.03	4
C	清流橋	0.31	0.05	3
D	湿地帯	0.94	0.27	4
E	選鉱場前	1.21	0.28	4

水試料の測定結果を表(1)-19、表(1)-20に示す。上流から山水橋の間で、電導度、硫酸イオン濃度、水銀濃度に大きな変化が確認された。今回の調査では確認できなかったが、支流の流れ込みがあるものと考えられる。また、湿地帯以降では、特に水銀濃度が高くなり、その水銀の形態は0.45 μm の親水性PTFEフィルターに捕獲されるものであった。表(1)-15に示したように湿地帯の土壤に含まれる水銀濃度は高く、またTOC濃度も底質が0.5%であるのに対し、湿地帯で水没している土壤(林の中、橋の下)では9.7%、5.6%と高いTOC濃度となっている。つまり、湿地帯の土壤から0.45 μm より大きなサイズの有機物と錯体を形成した水銀が、下流に向け流出していているものと考えられる。

表(1)-19 水質の現場測定結果

地点	名称	水温(°C)	pH	ORP(mV)	伝導度 ($\mu\text{S/cm}$)
A	上流	3.5	6.69	201	5.8
B	山水橋	4.3	6.47	153	10.0
C	清流橋	5.1	6.25	234	12.4
D	湿地帯	5	6.31	124	12.1
E	選鉱場前	4.7	6.65	174	8.7
F	イトムカ橋	4.8	6.97	246	6.5

表(1)-20 水中の水銀および水質測定結果

地点	名称	ろ過水総水銀 (ng/L)	フィルタ捕獲 総水銀(ng/L)	水中総水銀 (ng/L)	ろ過水有機 炭素量(mg/L)	イオンクロマトグラフィー(mg/L)		
						塩化物イオン	硝酸イオン	硫酸イオン
A	上流	2.3	3.9	6.2	1.45	1.5	1.2	2.2
B	山水橋	10.2	60.0	70.2	1.55	1.8	1.3	10.1
C	清流橋	11.1	76.3	87.4	1.74	3.0	1.4	11.3
D	湿地帯	18.5	306.3	324.8	2.08	3.4	1.5	11.6
E	選鉱場前	13.6	318.6	332.2	1.68	2.4	1.9	6.4
F	イトムカ橋	2.3	2.6	4.9	1.45	1.5	2.0	2.6

(4) 土壌・底質中の有機水銀

本研究をすすめるにあたり測定した土壌・底質の試料数は、288種（乾燥法の違いなどの重複含む）である。水銀の由来としては、火山活動（地熱を含む）、アマルガム法による金精錬活動、水銀鉱山活動、工場排水などで、試料の種類としては、海底質、河川底質、森林土壌、水田土壌などであった。これらの試料の化学組成を湿式分解－還元気化冷原子吸光法による総水銀、蛍光X線分析、元素分析（CNS）、総有機炭素（TOC）測定などにより明らかにして、メチル水銀分析法の開発に利用してきた。

測定した土壌・底質試料の主要化学組成をまとめたものを表(1)-21に、全データを表(1)-22に示す。一般的に還元的環境である底質からメチル水銀が生成し、食物連鎖を通じて大型魚類に蓄積していくとされているが、検討した試料では底質より土壌、特に水銀放出源を近くに持ち大気輸送で水銀が蓄積したと考えられる森林土壌表層で、高いメチル水銀濃度が確認された。水銀汚染の経路やレベル、水銀の存在形態が異なるため単純に比較はできないが、総水銀に占めるメチル水銀の割合は、海底質や河川底質では0.1%以下であるのに対し、大気輸送で水銀が蓄積したと考えられる森林土壌では、最大3%に達するものも存在し、乾燥重量で0.4 mg/kgを超えるメチル水銀濃度を持つ土壌も存在した。よって、森林土壌で生成したメチル水銀がどのような挙動を示すのか、今後解明していく必要があると考えられる。また、水田土壌も全体的に高いメチル水銀濃度を持っており、生成実験の結果からも無機水銀が容易にメチル水銀に変化することが明らかになった。最近、米に含まれるメチル水銀が問題視されており、米のメチル水銀取り込み抑制のためにも水田土壌におけるメチル水銀の生成挙動をより詳細に明らかにする必要がある。

表(1)-21 測定を進めた土壌・底質試料の化学組成(n=288)

	最小値	最大値	平均	標準偏差	中央値
総水銀濃度(mg/kg)	0.02	1649.85	67.41	187.62	11.24
メチル水銀濃度(μg/kg)	0.00	444.35	21.39	51.79	4.41
エチル水銀濃度(μg/kg)	0.00	17.40	3.42	3.83	1.94
メチル水銀の存在割合 (メチル水銀/総水銀、%)	0.00	3.28	0.16	0.38	0.04
総有機炭素濃度(%)	0.00	54.61	7.25	11.64	2.28
総窒素濃度(%)	0.00	3.08	0.48	0.61	0.23
総炭素濃度(%)	0.09	52.33	8.89	11.71	3.39
総硫黄濃度(%)	0.00	93.52	1.17	7.32	0.08
(蛍光X線分析 as Oxide)					
Al ₂ O ₃ (%)	0.41	36.43	15.93	5.94	16.88
SiO ₂ (%)	0.61	80.78	51.74	18.34	57.98
CaO(%)	0.14	73.96	12.12	18.52	2.84
Fe ₂ O ₃ (%)	0.06	21.91	9.13	3.48	9.57

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧

番号	採取場所	乾燥情報	試料名	総水銀濃度		メチル水銀濃度		エチル水銀濃度		有機炭素濃度		元素分析				蛍光X線分析			
				濃度 mg/kg	濃度 µg/kg	濃度 µg/kg	濃度 µg/kg	TC/%	IC/%	TOC/%	(TC-IC)	N	C	S	Al ₂ O ₃	SiO ₂	CaO	Fe ₂ O ₃	単位mass/%
	認証標準物質		ERM CC580																
	認証標準物質		IAEA 405																
1	クワスエック試料	40°C乾燥	Kagoshima Bay 2010(St. 2, near submarine)	1.57	72.70	1.26	13.00	7.19	5.81	0.13	11.69	0.03	54	14.6	64.7	4.0			
2		40°C乾燥	Mitamata Bay (Fukuro Bay St13)	2.98	0.42	0.25	2.67	0.73	1.94	0.18	2.49	0.05	19.5	54.1	6.3	7.0			
3		40°C乾燥	Okuchi Gold mine (near Okuchi Denshi)	74.26	0.98	0.48	1.91	0.73	1.18	0.07	1.86	0.40	19.0	53.8	6.9	10.5			
4		40°C乾燥	Okuchi Gold mine (St.6)	138.48	9.04	1.62	2.53	0.00	2.53	0.17	2.61	0.09	16.2	68.5	1.4	6.5			
5		40°C乾燥	Idrija mercury mine (mix soil)	516.85	3.30	3.30	7.05	5.90	1.15	0.08	6.81	0.00	14.5	42.0	26.1	5.8			
6		40°C乾燥	Puddy field in Indonesia	7.69	7.59	0.60	2.34	0.01	2.33	0.20	2.13	0.05	23.3	58.1	1.6	11.5			
7		40°C乾燥	Soil in Indonesia	0.99	0.60	0.60	6.44	0.00	2.34	0.22	2.23	0.03	26.2	54.4	0.5	15.4			
8		40°C乾燥	Idrija mercury mine (Reka1mix)	52.52	1.61	0.98	6.44	5.91	0.53	0.13	6.27	0.00	14.6	47.0	21.8	5.2			
9		40°C乾燥	Idrija mercury mine (Reka2mix)	238.09	10.51	4.11	7.48	5.20	2.28	0.30	6.92	0.00	14.5	49.2	18.2	5.3			
10		40°C乾燥	Idrija mercury mine (Reka3mix)	6.73	0.98	0.98	4.27	0.05	4.22	0.34	3.84	0.00	18.7	60.0	3.0	7.6			
11		40°C乾燥	Idrija mercury mine (Reka4mix)	3.35	4.02	4.02	1.88	0.07	1.81	0.11	1.66	0.00	19.3	64.4	1.5	6.5			
12		40°C乾燥	Idrija mercury mine (Chimney1mix)	85.11	19.02	7.44	16.81	11.23	5.58	0.49	14.90	0.00	7.3	13.0	52.7	3.3			
13		40°C乾燥	Idrija mercury mine (St2mix)	648.51	2.55	1.09	9.97	9.69	0.27	0.08	9.38	0.00	9.6	30.4	39.0	4.4			
14		40°C乾燥	Kagoshima Bay 2011(St. 2, near submarine)	1.28	0.00	0.00	1.64	0.04	1.60	0.15	1.42	0.85	15.0	58.9	4.4	6.7			
15		40°C乾燥	Gulf of Trieste	9.08	1.03	1.03	7.95	7.26	0.69	0.10	7.43	0.05	9.9	35.8	36.5	5.3			
16		40°C乾燥	Yamagano Gold mine (near water mill)	15.70	3.63	1.05	1.23	0.02	1.21	0.10	1.12	0.02	12.5	72.7	0.8	6.9			
17		40°C乾燥	Puddy field in Indonesia (lukut)	25.70	18.10	18.10	2.12	0.04	2.09	0.20	2.02	0.00	20.9	61.7	1.5	10.0			
18	大口金鉱山周辺	凍結乾燥	大口電子(3号排水プール傍)水田	25.16	2.19	2.19	3.28	0.00	3.28	0.36	3.43	0.05	17.6	67.2	1.9	6.3			
19	(2012年8月)	凍結乾燥	大口電子(商店となり)水田	23.57	7.01	7.01	2.11	0.00	2.11	0.24	2.22	0.02	17.9	67.1	1.7	7.3			
20		40°C乾燥	シルナサリ(水銀イオン添加実験)	11.24	56.13	56.13	2.44	0.00	2.44	0.23	2.29	0.04	24.9	57.7	0.7	12.9			
21	山ヶ野金鉱山周辺	凍結乾燥	ヤマガノ水車0-5cm凍結乾燥	10.51	6.91	0.77	5.06	0.00	5.06	0.40	4.75	0.00	17.0	63.7	2.5	9.8			
22	(2012年8月)	40°C乾燥	ヤマガノ水車0-5cm 40°C乾燥	11.01	5.88	0.69	5.00	0.00	5.00	0.35	4.52	0.00	15.9	65.9	2.3	10.0			
23		凍結乾燥	ヤマガノ水車5-15cm凍結乾燥	11.94	14.91	2.29	3.99	0.00	3.99	0.35	3.85	0.00	17.5	64.3	1.8	9.4			
24		40°C乾燥	ヤマガノ水車5-15cm 40°C乾燥	11.82	13.25	1.91	3.84	0.00	3.84	0.33	3.80	0.00	16.5	64.5	2.0	9.9			
25	インドネシア		Wet冷凍保存(ルクト2012)	—	20.76														
26			Wet冷蔵保存(ルクト2012)	—	25.80														
27			Wet32°C保存(ルクト2012)	—	15.63														
28			凍結乾燥(ルクト2012)	47.43	25.18														
29			110°C24h(ルクト2012)	49.40	19.21														
30			110°C6h(ルクト2012)	49.51	19.53														
31			40°C3day(ルクト2012)	49.36	38.59														
32	イドリア水銀鉱山周辺	凍結乾燥	スロベニアチムニ①mix凍結	59.90	10.08	2.71	15.91	13.90	2.01	0.32	13.49	0.01	8.3	14.8	53.1	3.2			
33	(2012年5月採取)	40°C乾燥	スロベニアチムニ①mix40°C	57.40	8.85	2.58	15.97	14.36	1.62	0.28	13.47	0.00	7.1	12.3	53.8	3.3			
34		凍結乾燥	スロベニアチムニ②mix凍結	68.60	76.74	11.09	24.07	8.76	15.30	1.08	20.86	0.00	10.3	18.0	47.2	5.3			
35		40°C乾燥	スロベニアチムニ②mix40°C	72.29	81.21	10.94	24.10	7.39	16.71	1.10	21.66	0.01	8.0	16.7	50.0	6.4			
36		凍結乾燥	スロベニアチムニ③mix凍結	40.72	6.90	1.04	17.89	6.18	11.71	0.46	12.39	0.00	15.7	29.0	34.0	6.6			
37		40°C乾燥	スロベニアチムニ③mix40°C	42.02	6.67	0.97	17.66	4.58	13.08	0.50	12.48	0.00	13.8	26.2	37.3	6.0			

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧 (継続)

38	凍結乾燥	スロベニアチムニ④mix凍結	32.62	8.97	1.45	14.69	13.68	1.01	0.12	13.47	0.00	3.7	6.8	63.3	1.2
39	40°C乾燥	スロベニアチムニ④mix40°C	34.89	9.45	1.66	14.59	13.56	1.03	0.15	13.73	0.00	3.2	6.3	67.2	1.2
40	凍結乾燥	スロベニアチムニ⑤mix凍結	165.80	12.45	1.84	5.49	1.84	3.65	0.31	5.22	0.00	18.8	52.0	7.8	9.7
41	40°C乾燥	スロベニアチムニ⑤mix40°C	179.00	12.75	1.95	6.32	2.33	3.99	0.32	5.96	0.00	18.5	50.4	10.8	8.6
42	凍結乾燥	スロベニアSt2①mix凍結	228.27	11.08		2.24	0.00	2.24	0.20	2.14	0.00	19.6	60.7	0.8	9.3
43	40°C乾燥	スロベニアSt2①mix40°C	218.80	4.41		2.06	0.00	2.06	0.19	1.99	0.00	19.5	59.4	0.8	9.3
44	凍結乾燥	スロベニアSt2②mix凍結	254.02	11.82	0.91	4.28	0.00	4.28	0.33	4.04	0.00	19.7	57.6	1.6	9.7
45	40°C乾燥	スロベニアSt2②mix40°C	260.10	9.50	0.64	4.90	0.00	4.90	0.35	4.47	0.00	19.4	58.4	1.8	10.2
46	凍結乾燥	スロベニアチムニ②1/3(表層)	7.04	12.37	2.39	54.95	0.34	54.61	1.40	42.77	0.07	3.9	8.4	66.3	5.4
47	凍結乾燥	スロベニアチムニ②2/3(中層)	13.10	26.94	0.00	48.32	1.28	47.04	1.75	42.94	0.09	4.3	9.3	65.6	4.6
48	凍結乾燥	スロベニアチムニ②3/3(下層主に葉根)	7.92	69.27	2.49	45.88	0.00	45.88	1.56	40.15	0.08	2.6	5.1	72.0	3.4
49	凍結乾燥	スロベニアチムニ②3/3(下層主に土)	23.90	118.56	4.00	48.16	0.00	48.16	2.49	44.32	0.18	4.4	13.0	56.0	10.1
50	インドネシア	マラサリ水田凍結	1.48	3.11	0.00	2.87	0.00	2.87	0.23	2.64	0.00	22.4	62.5	0.9	9.7
51	(2013年3月)	マラサリ水田40°C	0.37	2.59		2.65	0.01	2.64	0.23	2.51	0.00	21.4	64.0	0.8	9.9
52	凍結乾燥	チサルワ①水田凍結	18.69	17.21		3.16	0.00	3.16	0.28	3.22	0.00	24.1	57.9	1.1	12.9
53	40°C乾燥	チサルワ①水田40°C	18.43	20.41		3.14	0.00	3.14	0.29	2.79	0.00	24.2	57.1	1.1	12.2
54	凍結乾燥	チサルワ1.5水田凍結	132.21	28.96		2.59	0.00	2.59	0.23	2.40	0.00	18.1	63.9	1.3	11.4
55	40°C乾燥	チサルワ1.5水田40°C	136.44	34.98		2.63	0.01	2.62	0.23	2.37	0.00	17.4	64.3	1.3	12.0
56	凍結乾燥	チサルワ②水田凍結	11.90	6.94		1.46	0.00	1.46	0.15	1.44	0.00	21.8	58.4	2.2	12.6
57	40°C乾燥	チサルワ②水田40°C	11.20	5.24		1.46	0.00	1.46	0.15	1.48	0.00	21.2	58.8	2.1	12.5
58	凍結乾燥	チサルワ③水田凍結	3.97	5.59		3.97	0.01	3.96	0.44	3.82	0.00	24.9	54.0	0.9	15.2
59	40°C乾燥	チサルワ③水田40°C	3.67	6.57		3.79	0.00	3.79	0.41	3.45	0.00	25.0	56.1	0.8	14.3
60	凍結乾燥	チカニキ①水田凍結	13.39	13.67		4.09	0.03	4.05	0.39	3.88	0.00	26.9	54.3	1.3	13.0
61	40°C乾燥	チカニキ①水田40°C	10.57	18.14		4.01	0.00	4.01	0.37	3.75	0.00	27.0	54.5	1.3	12.5
62	凍結乾燥	チカニキ②水田凍結	7.00	4.97		2.01	0.00	2.01	0.17	1.91	0.00	21.6	59.9	2.0	11.4
63	40°C乾燥	チカニキ②水田40°C	7.00	10.35		2.01	0.02	1.99	0.17	2.08	0.00	20.4	60.6	2.1	12.1
64	凍結乾燥	チカニキ③水田凍結	6.43	5.08		2.83	0.00	2.83	0.31	2.87	0.00	24.0	58.5	1.4	9.5
65	40°C乾燥	チカニキ③水田40°C	5.74	8.46		2.76	0.00	2.76	0.29	2.83	0.00	23.5	57.8	1.5	10.8
66	凍結乾燥	チカニキ③'水田凍結	11.35	2.88		2.00	0.02	1.99	0.19	1.88	0.00	22.1	61.2	2.0	9.6
67	40°C乾燥	チカニキ③'水田40°C	11.17	5.03		2.07	0.02	2.06	0.21	2.08	0.00	21.2	60.7	1.9	10.0
68	凍結乾燥	チカニキ④水田凍結	4.40	6.73		1.26	0.00	1.26	0.15	1.31	0.00	20.6	59.1	2.0	11.8
69	40°C乾燥	チカニキ④水田40°C	3.90	10.96		1.35	0.01	1.34	0.14	1.20	0.00	20.2	58.5	2.0	12.7
70	凍結乾燥	ナンガン水田凍結	2.44	2.10		2.55	0.01	2.54	0.24	2.20	0.00	22.1	60.0	1.8	10.4
71	40°C乾燥	ナンガン水田40°C	1.89	2.12		2.42	0.00	2.42	0.24	2.13	0.00	22.2	60.2	1.9	9.8
72	凍結乾燥	チタラハブ河川底質凍結	7.26	5.90		2.55	0.00	2.55	0.21	2.21	0.03	28.2	44.0	1.2	21.9
73	40°C乾燥	チタラハブ河川底質40°C	1.49	1.07		2.57	0.01	2.56	0.21	2.25	0.02	28.3	47.2	1.1	18.7
74	凍結乾燥	マラサリ河川底質凍結	12.94	1.02		2.29	0.01	2.28	0.12	1.46	0.05	36.4	41.8	0.7	16.6
75	40°C乾燥	マラサリ河川底質40°C	2.75	0.52		2.21	0.00	2.21	0.13	1.48	0.06	35.8	42.8	0.7	16.3
76	凍結乾燥	チサルワ①河川底質凍結	29.00	3.14	0.60	0.28	0.00	0.28	0.02	0.30	0.10	13.1	73.3	1.5	7.1
77	40°C乾燥	チサルワ①河川底質40°C	29.29	0.66		0.26	0.00	0.26	0.03	0.29	0.08	13.5	72.6	1.5	7.0
78	凍結乾燥	チサルワ②河川底質凍結	43.40	4.42	0.54	0.37	0.01	0.36	0.04	0.42	0.14	14.1	71.5	1.8	8.0
79	40°C乾燥	チサルワ②河川底質40°C	43.22	2.32		0.43	0.02	0.41	0.04	0.38	0.11	12.7	73.3	1.6	6.8
80	凍結乾燥	チサルワ③河川底質凍結	59.20	5.57	0.74	0.30	0.02	0.29	0.03	0.36	0.09	10.6	79.0	1.1	5.7
81	40°C乾燥	チサルワ③河川底質40°C	59.60	1.54		0.36	0.04	0.32	0.03	0.31	0.12	9.3	80.8	1.0	5.1

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧 (継続)

82	凍結乾燥	チカニキ①河川底質凍結	54.90	358		0.33	0.19	0.14	0.01	0.32	0.14	7.5	80.1	1.5	52
83	40°C乾燥	チカニキ①河川底質40°C	66.10	058		0.43	0.15	0.28	0.01	0.32	0.12	6.9	80.4	1.7	58
84	凍結乾燥	チカニキ②河川底質凍結	79.21	623		0.98	0.18	0.81	0.05	0.75	0.06	10.7	72.3	1.7	74
85	40°C乾燥	チカニキ②河川底質40°C	79.25	693		1.09	0.15	0.93	0.05	0.76	0.06	10.7	73.0	1.7	73
86	凍結乾燥	チカニキ③河川底質凍結	42.60	293		0.28	0.04	0.24	0.02	0.35	0.05	10.8	72.5	1.7	76
87	40°C乾燥	チカニキ③河川底質40°C	41.10	065		0.30	0.03	0.27	0.02	0.35	0.06	10.3	74.2	1.6	6.7
88	凍結乾燥	チカニキ④河川底質凍結	36.79	2.70		0.41	0.03	0.39	0.03	0.44	0.08	13.2	71.7	1.7	72
89	40°C乾燥	チカニキ④河川底質40°C	37.39	685		0.33	0.07	0.26	0.03	0.41	0.07	11.9	73.6	1.7	74
90	凍結乾燥	ナングン河川底質凍結	71.86	685		0.86	0.15	0.72	0.06	0.87	0.08	10.2	75.5	1.5	6.7
91	40°C乾燥	ナングン河川底質40°C	74.58	2.47		0.85	0.13	0.72	0.06	0.90	0.07	9.2	76.2	1.4	6.5
92	凍結乾燥	ルクト河川底質凍結	42.30	465		0.55	0.00	0.55	0.04	0.61	0.07	14.0	70.4	1.7	7.6
93	40°C乾燥	ルクト河川底質40°C	43.50	055		0.56	0.02	0.54	0.04	0.59	0.07	14.6	70.2	1.7	7.5
94	凍結乾燥	Reka2新mix	266.85	1521	4.78	7.56	3.87	3.68	0.35	7.82	0.02	15.2	51.0	16.7	5.6
95	40°C乾燥	Reka2新mix	279.53	11.96	4.74	7.48	3.94	3.54	0.36	7.78	0.01	14.4	49.8	17.4	6.2
96	凍結乾燥	Chimny 1 新mix	125.52	41.07	11.76	16.49	7.52	8.97	0.67	16.91	0.01	9.3	17.2	49.4	5.0
97	40°C乾燥	Chimny1 新mix	120.40	33.58	11.90	16.70	7.90	8.80	0.66	16.67	0.00	7.7	15.8	52.2	5.0
98	凍結乾燥	大口St6A	2.97	4.49	1.60	18.75	0.00	18.75	0.86	19.54	0.10	17.9	55.4	9.5	9.2
99	40°C乾燥	大口St6A	2.71	4.28	1.70	17.01	0.00	17.01	0.78	17.95	0.09	18.3	55.5	9.5	9.1
100	凍結乾燥	大口St3上流	19.93	33.53	9.31	16.66	0.00	16.66	0.82	17.31	0.08	18.3	56.8	6.1	11.7
101	40°C乾燥	大口St3上流	21.46	38.31	9.39	16.66	0.00	16.66	0.86	17.35	0.09	18.1	57.1	6.4	12.0
102	凍結乾燥	大口商店裏水田	18.04	1.93		1.54	0.00	1.54	0.18	2.07	0.04	18.0	65.7	1.9	7.4
103	40°C乾燥	大口商店裏水田	17.96	1.39		1.62	0.00	1.62	0.16	1.65	0.02	18.3	65.1	2.2	7.1
104	凍結乾燥	大口沈殿池水田	23.11	2.04		2.77	0.00	2.77	0.23	2.65	0.05	18.6	66.7	1.8	6.6
105	40°C乾燥	大口沈殿池水田	22.63	1.85		2.68	0.00	2.68	0.24	2.60	0.02	17.8	66.7	1.7	6.5
106	凍結乾燥	大口St6A(500mLボトル入り)	2.57	3.48	2.20	21.86	0.00	21.86	1.05	23.24	0.13	16.8	51.7	14.6	9.9
107	凍結乾燥	大口St3上流(500mLボトル入り)	19.42	37.59	9.16	20.75	0.00	20.75	1.06	21.98	0.11	17.3	51.7	8.9	13.4
108	凍結乾燥	鹿児島湾	2.70	0.68		0.79	0.00	0.79	0.08	0.84	0.50	13.8	55.9	5.4	6.6
109	凍結乾燥	スロベニアSt2左岸川傍	682.16	6.59	0.70	7.89	8.55	0.00	0.02	8.64	0.01	9.3	28.5	41.6	4.2
110	インドネシア	ルクト水田(2013)40°C	34.65	15.15		1.65	0.00	1.65	0.13	1.59	0.01	18.3	63.5	1.5	10.8
111	(2013年3月)	ルクト水田(2013)110°C	35.33	13.18		1.69	0.00	1.69	0.14	1.77	0.03	18.3	64.2	1.5	9.9
112		ルクト水田(2013)凍結乾燥	35.07	15.35		1.77	0.00	1.77	0.14	1.76	0.05	18.8	63.4	1.4	10.4
113		ルクト水田(2013)4°CWet保存	-	4.17				0.00							
114		ルクト水田(2013)凍結保存Wet	-	11.80				0.00							
115		チタラハブ水田(2013)凍結	0.37	1.83		5.27	0.00	5.27	0.54	5.58	0.05	31.0	52.6	0.7	11.5
116		チタラハブ水田(2013)40°C	0.25	2.65		4.75	0.00	4.75	0.50	4.94	0.05	29.6	53.2	0.7	12.0
117		チタラハブ水田(2013)110°C	0.29	1.51				0.00	0.51	5.28	0.04	30.9	52.1	0.8	12.5
118	凍結乾燥	ルクト水田2013(冷蔵保存半年ジップロック)	34.22	3.87		1.72	0.00	1.72	0.15	1.77	0.02	19.6	64.1	1.5	9.8
119	凍結乾燥	チタラハブ水田2013(冷蔵保存ジップロック)	0.30	2.47		5.48	0.00	5.48	0.55	5.56	0.03	31.8	51.9	0.8	11.4
120	妙高山南地獄谷周辺	白田切川B 底質(500mLより)	2.62	0.23		0.00	0.00	0.00	0.06	0.11	3.37	19.0	59.4	2.1	8.3
121	(2013年)	白田切川B 底質(500mLより)	2.47	0.10		0.04	0.00	0.04	0.05	0.11	2.99	17.7	57.4	2.5	9.1
122		凍結乾燥 白田切川B 底質(ポリ袋より)	2.79	0.13		0.00	0.00	0.00	0.06	0.10	4.15	18.7	56.0	2.5	9.6
123		凍結乾燥 白田切川B 底質(ポリ袋より)	2.88	0.06		0.04	0.00	0.04	0.05	0.09	4.23	17.5	53.7	2.7	11.0
124	阿賀野川流域	凍結乾燥 昭和電工そば土壌	0.79	13.40	1.73	7.97	0.00	7.97	0.45	7.85	0.05	17.1	60.1	5.2	7.4
125		凍結乾燥 昭和電工そば土壌	0.74	13.46	1.61	8.46	0.00	8.46	0.48	8.70	0.08	17.4	61.7	5.9	8.4

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧(継続)

126	水俣湾(2013年)	凍結乾燥	袋湾0-5	4.40	1.60		2.46	0.51	1.95	0.12	2.50	0.80	18.4	52.5	6.5	12.5
127		40°C乾燥	袋湾0-5	4.77	3.26		2.45	0.43	2.02	0.12	2.41	0.79	17.8	50.5	5.8	12.6
128		凍結乾燥	袋湾5-10	4.59	1.30		2.10	0.61	1.49	0.10	2.21	0.93	18.6	52.0	5.9	11.9
129		40°C乾燥	袋湾5-10	4.32	3.13		2.26	0.66	1.60	0.10	2.29	0.87	18.7	50.8	6.5	11.7
130		凍結乾燥	袋湾10-15	4.08	0.77		1.37	0.59	0.78	0.05	1.37	0.63	19.1	52.9	5.6	12.6
131		40°C乾燥	袋湾10-15	4.91	2.58		1.94	0.49	1.45	0.09	2.21	0.92	19.3	53.3	5.4	11.2
132		凍結乾燥	袋湾15-20	4.70	1.18		2.06	0.47	1.59	0.09	1.98	0.93	19.3	53.5	5.5	11.6
133		40°C乾燥	袋湾15-20	4.25	1.07		1.57	0.58	0.99	0.07	1.63	0.62	19.0	52.5	6.3	11.8
134		凍結乾燥	水俣湾0-5	2.05	0.76		2.68	1.20	1.49	0.11	2.69	0.48	16.3	50.7	13.4	8.2
135		40°C乾燥	水俣湾0-5	2.08	1.68		2.65	1.53	1.12	0.11	2.71	0.44	14.5	53.0	15.0	9.2
136		凍結乾燥	水俣湾5-10	1.78	0.63		2.59	1.30	1.29	0.10	2.61	0.52	14.4	52.0	13.5	8.5
137		40°C乾燥	水俣湾5-10	1.80	1.20		2.54	1.42	1.12	0.10	2.56	0.53	14.5	51.6	13.3	8.6
138		凍結乾燥	水俣湾10-15	0.29	0.32		2.65	1.47	1.19	0.10	2.69	0.64	14.8	51.8	13.3	8.4
139		40°C乾燥	水俣湾10-15	0.32	0.28		2.59	1.52	1.07	0.09	2.66	0.61	14.2	51.6	14.9	8.7
140	イトムカ旧水銀鉱山(2013)	凍結乾燥	上流(川傍)土壌	2.35	6.36	1.59	7.36	0.00	7.36	0.58	7.36	0.07	14.0	68.4	3.3	7.2
141		凍結乾燥	山水橋(川傍)土壌	14.61	12.45	1.88	17.78	0.00	17.78	1.27	16.56	0.12	14.2	57.1	8.4	10.8
142		凍結乾燥	湿地帯(林の中、水没)	54.18	32.32	1.45	9.72	0.02	9.70	0.72	9.59	0.14	16.1	57.6	2.4	16.5
143		凍結乾燥	湿地帯(橋の下)	71.14	7.52		5.63	0.00	5.63	0.37	5.38	0.11	15.6	62.2	3.5	11.6
144		凍結乾燥	選鉱所前土壌	10.03	24.32	2.75	7.46	0.00	7.46	0.51	7.28	0.07	14.2	61.4	7.0	7.9
145		凍結乾燥	上流底質	0.37	0.15		0.26	0.00	0.26	0.05	0.34	0.02	15.3	69.8	2.5	6.3
146		凍結乾燥	山水橋底質	12.59	0.84		0.38	0.00	0.38	0.08	0.45	0.31	17.3	64.0	2.9	8.7
147		凍結乾燥	清流橋底質	17.84	1.79		0.52	0.00	0.52	0.09	0.55	0.11	16.3	67.5	2.5	7.4
148		凍結乾燥	選鉱所底質	5.68	0.72		0.23	0.01	0.22	0.03	0.29	0.01	15.0	70.1	3.7	5.3
149		凍結乾燥	イトムカ橋底質	0.15	0.16		0.34	0.00	0.34	0.14	2.16	0.03	15.0	68.2	5.3	6.4
150		凍結乾燥	昭和電工そば土壌(長期冷蔵)	0.87	12.60	1.65	6.76	0.00	6.76	0.27	4.13	0.05	18.0	59.7	5.6	8.4
151		凍結乾燥	スロベニアSt2左岸川傍(長期冷蔵)	1027.68	3.19	0.33	7.58	8.32	-0.74	0.02	7.69	0.03	9.3	29.4	42.7	5.0
152		凍結乾燥	ヤマガノ水車2012 0-5cm(長期冷蔵)	10.04	4.81	0.73	5.83	0.00	5.83	0.41	5.17	0.05	17.7	63.2	2.3	9.6
153		凍結乾燥	ヤマガノ水車2012 5-15cm(長期冷蔵)	11.67	10.88	1.94	3.88	0.00	3.88	0.37	4.24	0.04	18.8	63.7	1.8	10.4
154		凍結乾燥	大口商店裏水田(2014)	23.67	1.72		2.21	0.00	2.21	0.22	2.40	0.04	18.6	66.3	1.4	7.1
155		凍結乾燥	大口3号沈殿池水田(2014)	19.15	2.43		3.16	0.00	3.16	0.30	3.22	0.06	19.0	65.7	1.7	6.4
156		凍結乾燥	大口1号沈殿池底質(2014)	2.15	0.88		10.01	0.00	10.01	0.91	10.23	0.42	17.3	53.5	4.2	14.4
157	海底熱水鉱床	凍結乾燥	Hatoma M01 0-6	9.94	0.62		0.69	0.00	0.69	0.08	0.87	2.09	15.7	56.2	2.5	7.1
158		凍結乾燥	Hatoma M01 6-10	23.20	0.62		0.37	0.00	0.37	0.02	0.30	3.60	13.0	50.9	2.8	3.7
159		凍結乾燥	Hatoma M01 10-14	13.94	0.84		0.27	0.00	0.27	0.03	0.40	2.71	12.3	57.1	2.7	4.6
160		凍結乾燥	Hatoma M01 14-20	23.04	0.55		0.31	0.00	0.31	0.03	0.55	3.95	13.8	55.9	2.2	4.8
161		凍結乾燥	Hatoma M02 0-6	2.71	0.29		0.67	0.00	0.67	0.08	0.67	0.22	16.2	59.7	3.0	9.0
162		凍結乾燥	Hatoma M02 6-10	1.82	0.00		0.33	0.00	0.33	0.05	0.38	0.09	16.3	61.5	2.4	9.2
163		凍結乾燥	Hatoma M02 10-14	1.05	0.00		0.16	0.00	0.16	0.04	0.29	0.05	16.5	63.4	2.6	7.7
164		凍結乾燥	Hatoma M02 14-21	4.03	0.12		0.10	0.00	0.10	0.02	0.20	0.08	15.6	64.9	3.6	6.6
165		凍結乾燥	Lion M01 0-6	1.22	0.33		1.22	0.00	1.22	0.13	1.22	0.17	16.7	54.8	1.8	10.2
166		凍結乾燥	Lion M01 6-10	1.50	0.40		1.08	0.00	1.08	0.15	1.11	0.06	16.8	57.7	1.5	9.5
167		凍結乾燥	Lion M01 10-14	1.34	0.23		1.00	0.00	1.00	0.15	1.13	0.04	16.9	59.5	1.4	10.0
168		凍結乾燥	Lion M02 0-6	70.79	5.03		0.86	0.00	0.86	0.10	0.89	20.51	10.4	33.6	1.2	15.7
169		凍結乾燥	Lion M02 6-10	65.31	3.06		0.61	0.00	0.61	0.10	0.69	25.71	13.1	35.0	0.8	13.6

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧(継続)

170		凍結乾燥	Lion M02 10-14	67.33	4.11		0.60	0.00	0.60	0.09	0.64	24.39	12.7	35.7	0.7	12.6
171	イトムカ旧水銀鉱山(20)	凍結乾燥	選鉱場コア0-3	15.51	3.69	1.30	19.00	0.00	19.00	1.29	20.40	0.11	10.6	59.7	11.9	9.4
172		凍結乾燥	選鉱場コア3-8	29.26	8.65	0.00	41.51	0.00	41.51	2.27	37.68	0.20	7.6	43.5	21.7	11.9
173		凍結乾燥	選鉱場コア8-12	1.84	1.84	0.00	6.51	0.00	6.51	0.27	4.13	0.05	13.3	65.4	8.0	6.8
174		凍結乾燥	選鉱場コア12-15	0.90	0.99	0.00	5.08	0.00	5.08	0.30	4.44	0.03	13.1	67.7	6.6	6.8
175		凍結乾燥	湿地コア0-1	58.82	34.35	0.00	42.56	0.00	42.56	1.67	37.40	0.12	9.5	45.4	17.5	13.2
176		凍結乾燥	湿地コア0-5の木	14.13	11.16	4.87	37.33	0.00	37.33	0.81	35.41	0.08	14.4	47.7	13.8	14.9
177		凍結乾燥	湿地コア1-5	30.41	12.43	2.89	22.25	0.00	22.25	0.88	21.21	0.07	12.8	60.9	8.3	10.3
178		凍結乾燥	湿地コア5-8	5.10	3.21	2.10	14.50	0.00	14.50	0.48	14.28	0.04	11.5	72.3	4.4	5.8
179		凍結乾燥	湿地コア8-25	0.11	0.02	0.00	0.31	0.00	0.31	0.02	0.35	0.01	10.7	78.1	1.7	1.5
180		凍結乾燥	湿地コア下部	0.10	0.98	0.00	0.54	0.00	0.54	0.03	0.62	0.00	11.4	79.3	1.8	1.6
181		凍結乾燥	清流橋コア0-2	41.03	20.74	1.56	10.67	0.00	10.67	0.62	10.20	0.09	16.3	60.8	3.7	10.8
182		凍結乾燥	清流橋コア2-6	40.84	11.72	2.01	4.75	0.00	4.75	0.40	5.23	0.07	16.9	64.4	2.8	9.9
183		凍結乾燥	清流橋コア6-21	48.13	4.25	0.00	0.76	0.00	0.76	0.11	0.66	0.04	16.9	62.9	2.7	9.9
184		凍結乾燥	清流橋コア21-26	59.48	7.18	2.09	2.09	0.01	2.08	0.19	1.78	0.06	17.8	62.8	2.5	9.6
185		凍結乾燥	清流橋コア26-30	95.85	10.73	1.74	3.53	0.00	3.53	0.29	3.26	0.09	17.7	62.7	2.3	11.0
186		凍結乾燥	清流橋コア下部	21.23	11.32	1.97	5.52	0.00	5.52	0.46	5.06	0.08	17.0	63.4	2.6	9.4
187		凍結乾燥	山水橋コア0-9	8.13	22.50	2.22	16.57	0.00	16.57	1.06	15.71	0.09	13.4	61.9	6.1	9.8
188		凍結乾燥	山水橋コア9-26	0.70	5.74	3.20	5.58	0.00	5.58	0.41	5.48	0.06	17.8	63.3	2.5	10.5
189		凍結乾燥	山水橋コア下部	0.35	1.68	2.03	3.54	0.00	3.54	0.31	3.35	0.08	20.0	60.2	1.9	11.3
190		凍結乾燥	上流コア0-5	14.93	49.76	1.96	27.39	0.00	27.39	1.88	25.65	0.14	11.5	59.1	6.2	12.1
191		凍結乾燥	上流コア5-10	10.55	75.13	3.46	8.13	0.00	8.13	0.58	7.65	0.06	15.9	63.1	3.8	10.2
192		凍結乾燥	上流コア10-18	2.89	28.86	6.45	6.16	0.00	6.16	0.44	5.89	0.04	16.9	61.3	2.7	12.3
193		凍結乾燥	上流コア18-23	1.99	3.82	1.43	2.58	0.00	2.58	0.22	2.82	0.03	18.8	59.0	2.3	11.9
194		凍結乾燥	上流コア下部	1.52			0.83	0.00	0.83	0.06	0.81	0.00	20.4	56.3	3.4	11.9
195	妙高山南地獄谷(2014)	凍結乾燥	南地獄谷1底質 河川	8.67	0.68	0.31	0.12	0.00	0.12	0.09	0.12	2.72	18.5	63.2	1.1	6.1
196		凍結乾燥	南地獄谷1底質 源泉	4.52	0.51	0.34	0.06	0.00	0.06	0.06	0.18	1.57	18.9	62.9	1.3	7.9
197		凍結乾燥	噴気側底質 噴気口堆積	11.41	0.46	0.30	0.16	0.00	0.16	0.35	0.23	4.20	17.2	58.1	1.7	6.1
198		凍結乾燥	湯の花	0.71			1.43	0.00	1.43	0.27	1.44	69.35	5.1	4.4	0.3	0.6
199		凍結乾燥	南地獄谷2底質	8.81	0.50	0.32	0.06	0.00	0.06	0.05	0.11	8.55	17.4	52.8	1.8	12.1
200		凍結乾燥	橋底質	5.96	0.44	0.29	0.01	0.00	0.01	0.05	0.10	7.56	18.0	52.7	1.6	12.2
201		凍結乾燥	白田切川1底質	2.21	0.41	0.29	0.05	0.00	0.05	0.04	0.17	4.31	18.6	53.8	2.1	13.8
202		凍結乾燥	白田切川2底質	3.63	0.64	0.32	0.00	0.00	0.00	0.03	0.15	4.49	17.2	54.9	3.2	11.9
203		凍結乾燥	白田切川一関川1底質	0.17			0.15	0.00	0.15	0.01	0.21	0.13	17.4	59.8	7.3	9.2
204		凍結乾燥	白田切川一関川2底質	0.64	0.49	0.29	0.71	0.00	0.71	0.04	0.72	0.43	19.0	58.5	5.5	9.4
205		凍結乾燥	関川底質	0.03	0.30	0.15	0.09	0.00	0.09	0.00	0.12	0.03	15.6	57.2	7.4	13.4
206		凍結乾燥	天狗堂コア0-3cm	1.11	9.33	7.68	18.47	0.00	18.47	0.39	6.12	0.38	17.6	61.0	1.7	11.6
207		凍結乾燥	天狗堂コア3-8cm	2.52	6.11	6.04	18.47	0.00	18.47	0.92	14.01	0.51	17.0	63.7	1.2	9.7
208		凍結乾燥	天狗堂コア8-19cm	2.01	0.92	0.32	10.25	0.00	10.25	0.55	9.18	0.26	13.9	64.5	3.2	9.8
209		凍結乾燥	天狗堂コア19-22cm	1.16	0.32		4.88	0.00	4.88	0.20	3.58	1.16	21.2	60.5	0.9	9.0
210		凍結乾燥	天狗堂コア22-26cm	1.08	0.86		9.64	0.00	9.64	0.55	10.28	0.19	15.4	61.0	3.3	10.9
211		凍結乾燥	天狗堂コア26-30cm	2.36	1.73		13.62	0.00	13.62	1.08	18.77	0.42	14.9	67.2	1.6	7.4
212		凍結乾燥	天狗堂コア下部	1.90	0.59		6.88	0.00	6.88	0.92	17.72	0.32	13.0	70.0	0.7	9.7

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧 (継続)

213	凍結乾燥	コア2本目 0-4cm	0.19	6.34	0.37	7.70	0.00	7.70	2.00	47.30	0.20	4.7	48.5	20.5	9.7
214	凍結乾燥	コア2本目 4-6cm	0.28	8.16	0.21	9.49	0.00	9.49	1.94	42.49	0.19	5.3	66.5	9.4	7.0
215	凍結乾燥	コア2本目 6-13cm	0.34	4.02	10.63	16.36	0.00	16.36	0.98	16.62	0.11	15.5	62.9	3.1	10.6
216	凍結乾燥	コア2本目 13-19cm	0.26	1.46	3.80	40.38	0.00	40.38	0.58	9.79	0.08	19.1	60.6	3.2	11.1
217	凍結乾燥	コア2本目 19-21cm	0.40	1.23	2.99	44.76	0.00	44.76	0.47	7.81	0.09	21.0	57.4	2.9	11.9
218	凍結乾燥	登山道横崖 0-20cm	1.14	1.99	2.53	0.00	0.00	0.00	1.48	24.95	0.26	11.7	69.2	2.1	8.8
219	凍結乾燥	登山道横崖 20-40cm	2.07	10.04	9.33	0.00	0.00	0.00	0.75	13.72	0.16	17.3	61.2	2.8	10.8
220	凍結乾燥	登山道横崖 40-60cm	8.98	1.15	1.86	0.00	0.00	0.00	0.23	2.95	1.08	22.4	58.5	2.0	10.6
221	凍結乾燥	登山道横崖 60-80cm	0.09	0.24	0.12	0.00	0.00	0.00	0.04	0.32	0.42	21.6	59.9	1.3	8.6
222	凍結乾燥	登山道横崖 80-100cm	0.37			0.00	0.00	0.00	0.18	2.62	0.26	19.7	61.3	1.2	12.7
223	凍結乾燥	登山道横崖 100-120cm	0.05			0.00	0.00	0.00	0.05	0.89	0.09	20.7	63.7	3.8	5.3
224	凍結乾燥	登山道横崖 120-135cm	0.07			0.00	0.00	0.00	0.06	0.99	0.30	24.0	55.1	3.1	9.2
225	凍結乾燥	登山道横崖 135-145cm	0.18			0.00	0.00	0.00	0.23	3.66	0.19	21.3	59.8	2.5	10.5
226	凍結乾燥	登山道横崖 145-160cm	0.11	0.23		0.00	0.00	0.00	0.15	2.31	0.21	24.8	56.0	2.6	10.6
227	凍結乾燥	登山道横崖 160-170+	0.34	0.21		0.00	0.00	0.00	0.06	0.57	0.00	25.5	63.1	0.5	4.7
228	凍結乾燥	第2ゲート 0-5cm	0.23	1.75	4.05	0.00	0.00	0.00	0.70	11.80	0.12	14.1	64.6	3.2	9.6
229	凍結乾燥	第2ゲート 5-20cm	0.22	0.61	0.90	0.00	0.00	0.00	0.41	7.45	0.10	15.9	65.0	2.6	9.0
230	凍結乾燥	第2ゲート 20-35cm	0.06	0.26	0.23	0.00	0.00	0.00	0.05	1.11	0.27	21.0	58.2	1.6	11.4
231	凍結乾燥	第2ゲート 35-45cm	0.15	0.21		0.00	0.00	0.00	0.21	4.21	0.11	19.1	61.0	1.6	11.1
232	凍結乾燥	第2ゲート 45-55cm	0.12			0.00	0.00	0.00	0.26	4.70	0.11	22.0	58.8	2.7	9.5
233	凍結乾燥	第2ゲート 55-64	0.04			0.00	0.00	0.00	0.12	2.14	0.08	23.7	58.0	3.9	8.2
234	凍結乾燥	第2ゲート 64-69	0.02			0.00	0.00	0.00	0.04	1.05	0.17	20.4	58.5	4.1	9.4
235	凍結乾燥	第2ゲート 69-74	0.11			0.00	0.00	0.00	0.21	3.73	0.21	23.0	57.4	2.5	9.8
236	凍結乾燥	登山道-林道 0-7cm	0.25	4.35	6.54	11.74	0.00	11.74	1.48	29.17	0.22	11.3	63.7	4.0	12.1
237	凍結乾燥	登山道-林道 7-14cm	0.20	2.47	5.98	28.24	0.00	28.24	0.69	11.99	0.09	18.2	60.9	3.0	10.4
238	凍結乾燥	南地獄谷1 崖表層	2.169	1.12	0.78	0.18	0.00	0.18	0.04	0.22	0.41	16.2	70.1	2.4	3.8
239	凍結乾燥	噴気側 砂の花	4.80	0.17	0.15	1.27	0.00	1.27	0.32	1.39	93.52	0.7	2.2	0.1	0.1
240	凍結乾燥	南地獄谷2	7.42	0.52	0.31	0.33	0.00	0.33	0.06	0.36	0.73	16.2	65.6	1.9	7.3
241	凍結乾燥	南地獄谷2 ササの下	2.88	0.57		4.66	0.00	4.66	0.28	4.86	0.65	16.8	64.3	2.0	9.6
242	凍結乾燥	天狗堂入口	2.00	1.19		32.00	0.00	32.00	1.97	33.90	0.29	9.6	68.9	1.6	7.1
243	凍結乾燥	橋土壌	3.20	3.85	0.88	11.62	0.00	11.62	0.81	12.14	0.33	14.4	62.3	1.3	14.0
244	凍結乾燥	白田切川1 表層1cm下くらい	2.50	0.33		0.64	0.00	0.64	0.05	0.72	0.36	19.4	56.9	3.6	13.3
245	凍結乾燥	白田切川1 表層コケがし	1.41	0.91		0.00	0.00	0.00	0.14	1.90	0.27	18.4	53.4	3.1	14.3
246	凍結乾燥	白田切川2(川の中州)	6.09	1.65	0.31	0.00	0.00	0.00	0.17	2.76	0.54	16.1	60.7	2.5	11.5
247	インドネシア	凍結乾燥 チサルワ15(そのま凍結保存)	139.60	115.91		2.80	0.00	2.80	1.99	41.80	0.06	18.5	63.5	1.3	11.9
248	インドネシア	凍結乾燥 slo2014 chim6-1	32.37	48.17	1.74	42.49	0.00	42.49	1.35	21.88	0.07	15.5	34.3	20.8	14.8
249	(2014年)	凍結乾燥 slo2014 chim6-2	86.96	111.57	3.82	21.55	0.02	21.53	1.19	18.36	0.06	21.5	43.5	9.4	13.3
250		凍結乾燥 slo2014 chim6-3	89.29	80.71	4.91	17.86	1.65	16.21	0.75	15.11	0.03	20.9	40.6	14.5	11.9
251		凍結乾燥 slo2014 chim6-4	65.13	24.73	3.10	14.43	4.69	9.74	0.66	14.13	0.02	18.6	34.1	24.6	9.5
252		凍結乾燥 slo2014 chim6-5	59.32	13.29	2.46	12.39	5.62	6.78	0.63	13.47	0.00	19.0	31.1	26.6	8.7
253		凍結乾燥 slo2014 chim6-6	61.54	9.38	2.03	11.71	5.23	6.48	0.55	11.95	0.00	20.4	34.4	23.3	8.5
254		凍結乾燥 slo2014 chim6-7	46.21	6.57	1.43	10.90	6.09	4.81	0.36	11.70	0.00	18.7	32.8	26.3	8.4
255		凍結乾燥 slo2014 chim6-8	20.09	3.41	0.64	11.04	8.10	2.94	2.31	42.81	0.17	15.9	27.1	36.2	6.9
256		凍結乾燥 slo2014 chim7-1-1	77.29	213.83	3.61	41.03	0.00	41.03	2.20	35.40	0.22	8.4	24.5	42.4	14.1

図(1)-22 検討した土壌底質試料の測定結果一覧 (継続)

257	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-2	253.93	22423	6.76	3326	0.00	3326	2.13	3904	0.28	12.1	30.4	32.2	138
258	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-3	362.69	12199		3692	0.00	3692	2.11	3237	0.24	14.4	37.2	17.5	172
259	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-4	267.78	18109	11.21	3031	0.00	3031	1.81	2735	0.19	12.6	32.8	26.3	133
260	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-5	192.65	10641	12.42	2318	2.29	2088	1.01	1982	0.07	11.7	24.7	39.1	9.6
261	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-6	106.66	4024	6.41	1897	6.04	1293	0.24	1449	0.01	8.8	18.4	52.3	5.7
262	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-7	15.87	866	2.10	1417	11.01	317	0.07	1332	0.00	3.4	5.7	67.5	1.3
263	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-8	1.78	228	1.00	1318	12.32	0.87	0.03	1306	0.00	1.0	1.6	70.0	0.5
264	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-9	0.45	130	0.76	12.81	12.68	0.14	0.03	1313	0.02	0.9	0.9	71.3	0.3
265	凍結乾燥	slo2014 chim7-1-10	1.19	142		12.80	12.94	0.00	2.93	5233	0.08	0.4	0.6	70.6	0.4
266	凍結乾燥	slo2014 chim7-2-1	13.15	11709		45.48	0.04	45.44	3.08	5043	0.18	5.1	15.1	55.5	11.2
267	凍結乾燥	slo2014 chim7-2-2	254.79	8063		44.66	0.00	44.66	2.38	3370	0.10	9.3	26.2	20.1	19.7
268	凍結乾燥	slo2014 chim7-2-3	197.13	11291	10.74	27.08	2.79	2429	0.84	1862	0.05	11.9	26.6	36.5	10.1
269	凍結乾燥	slo2014 chim7-2-4	73.89	3522	7.22	17.82	7.99	9.83	0.22	1421	0.01	7.5	14.8	54.8	4.4
270	凍結乾燥	slo2014 chim7-2-5	11.65	534	2.14	13.87	11.25	2.62	0.05	1320	0.00	2.7	5.1	67.7	1.3
271	凍結乾燥	slo2014 chim7-2-6	1.71	241	1.18	12.80	12.60	0.20	1.83	4735	0.13	1.4	1.9	64.5	0.3
272	凍結乾燥	slo2014 chim8-1	2.76	1046	1.56	47.25	0.00	47.25	2.21	4735	0.18	2.5	8.4	74.0	4.7
273	凍結乾燥	slo2014 chim8-2	16.71	9707	1.72	47.36	0.00	47.36	2.49	4580	0.23	3.2	8.6	64.7	5.6
274	凍結乾燥	slo2014 chim8-3	42.15	20158	6.28	45.45	0.00	45.45	2.44	4307	0.24	5.5	13.9	56.3	13.4
275	凍結乾燥	slo2014 chim8-4	78.51	37908	5.86	43.51	0.00	43.51	2.15	3589	0.22	6.3	16.0	49.6	13.0
276	凍結乾燥	slo2014 chim8-5	162.18	44435	12.04	35.60	1.33	34.27	1.68	2740	0.17	9.9	21.7	41.4	11.3
277	凍結乾燥	slo2014 chim8-6	260.35	32577	17.40	26.94	2.55	24.39	1.44	2349	0.17	12.8	24.8	37.4	9.6
278	凍結乾燥	slo2014 chim8-7	247.58	19643	16.82	23.12	3.89	19.23	1.24	2200	0.17	13.6	26.7	37.1	9.0
279	凍結乾燥	slo2014 chim8-8	213.80	9128	14.71	19.00	5.11	13.89	0.96	1802	0.13	14.0	24.4	38.7	7.3
280	凍結乾燥	slo2014 chim8-9	184.76	7312	12.92	17.31	6.25	11.06	0.91	1746	0.12	12.9	25.0	41.6	6.1
281	凍結乾燥	slo2014 chim8-10	155.48	6698	10.98	16.62	6.70	9.92	0.88	1719	0.10	13.0	23.8	40.9	6.7
282	凍結乾燥	slo2014 chim8-11	139.81	5362	9.38	16.40	7.04	9.36	1.15	1729	0.17	11.7	23.3	43.3	6.0
283	凍結乾燥	slo2014 chim9-2	1649.85	95.94	6.07	16.24	0.63	15.60	0.92	1347	0.16	19.1	43.6	10.2	12.5
284	凍結乾燥	slo2014 chim9-3	1599.52	56.98	6.75	12.51	1.17	11.34	0.69	1078	0.11	19.3	44.1	11.0	11.5
285	凍結乾燥	slo2014 chim9-4	1240.63	31.53	5.79	10.19	2.81	7.38	0.53	898	0.08	19.5	40.5	14.9	9.9
286	凍結乾燥	slo2014 chim9-5	648.37	24.91	5.46	8.40	2.92	5.48	0.46	770	0.07	18.2	42.0	14.6	10.3
287	凍結乾燥	slo2014 chim9-6	369.26	20.48	3.19	7.24	2.87	4.37	0.44	901	0.07	19.2	42.0	13.2	11.1
288	凍結乾燥	slo2014 chim9-7	329.37	16.12	2.51	8.71	4.30	4.41				18.3	37.8	19.4	9.9

※エチル水銀の空欄は検出下限以下、他の空欄は未測定

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

既存の土壌・底質中メチル水銀分析法と比べ少なくとも2倍の試料測定処理能力を持つ、簡易かつ迅速な測定法を確立した。感度的にも1 g以下の試料量でsub- $\mu\text{g}/\text{kg}$ レベルの定量が可能で、土壌・底質中のメチル水銀濃度を評価するだけでなく、土壌・底質で生成したメチル水銀の挙動（移動や生体への取込）を追跡するための分析法としても十分な能力を有している。また、採取試料が持つ情報（本来のメチル水銀濃度）を正確に引き出すための採取試料の処理・保存法の検討を進めた。この結果は、土壌・底質のメチル水銀を評価するための標準的な処理・保存法の確立に非常に有用なものとなる。さらに本研究を通し、国内外の様々な要因で水銀濃度が高い地域の土壌・底質試料を収集して測定を進め、森林土壌や水田土壌において高濃度のメチル水銀が存在していることを明らかにした。また、これらの結果から土壌・底質中のメチル水銀の存在濃度は、総水銀濃度（水銀汚染レベル）だけに依存せず、土壌の化学組成（特に有機炭素量）や存在環境により大きく異なることを確認した。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

該当なし。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究により開発された分析法は、土壌・底質中のメチル水銀のモニタリングや環境動態解明研究に利用できるだけでなく、装置の導入維持や分析法の簡易さから、発展途上国等への技術移転等も容易に実施できるため、水俣条約における発展途上国支援に貢献できるものとなると考える。また、採取した試料の取り扱いに関する検討結果は、土壌・底質中のメチル水銀を分析していくうえで指針となるものといえる。さらに国内外の試料採取を通して得られた環境中におけるメチル水銀の存在濃度データは、環境政策を立案していくうえで重要な情報となることが期待できる。

6. 国際共同研究等の状況

(1) 土壌底質中メチル水銀測定の信頼性評価

富安卓滋・鹿児島大学・日本、松山明人・国立水俣病総合研究センター・日本、Milena Horvat・Jožef Stefan Institute・スロベニア共和国、Vesna Fajon・Jožef Stefan Institute・スロベニア共和国、Steven J. Balogh・Metropolitan Council・米国、Yabing H. Nollet・Metropolitan Council・米国、異なるメチル水銀分析法を用い土壌底質中メチル水銀濃度を測定することで、互いの分析法の信頼性評価を進めている。

(2) 土壌・底質試料中メチル水銀に与える試料処理の影響

Steven J. Balogh・Metropolitan Council・米国、Yabing J. Nollet・Metropolitan Council・米国、土壌底質試料の乾燥や保存がメチル水銀濃度に及ぼす影響について検討を進めている。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

該当なし。

<査読付論文に準ずる成果発表>

該当なし。

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 水銀に関する水俣条約と最新対策・技術 シーエムシー出版 監修：高岡昌輝
第8章 土壌、底質試料中のメチル水銀分析法とその信頼性評価(富安卓滋、児玉谷仁)

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 旧水銀鉱山周辺土壌における総水銀およびメチル水銀の分布、児玉谷 仁、前田 千尋、外
 菌 寿宗、神崎 亮、富安 卓滋、2014年度日本地球化学会年会、富山大学(2014年9月16
 -18日)
- 2) 土壌中メチル水銀の選択的抽出法の確立、児玉谷 仁、神崎 亮、富安卓滋、第33回溶媒
 抽出討論、ホテルプラザ神戸(2014年12月11~12日)
- 3) The influence of sample drying and storage conditions on methylmercury determination in soils
 and sediments、Hitoshi Kodamatani, Chihiro Maeda, Steven J. Balogh, Yabing H. Nollet, Ryo
 Kanzaki, Takashi Tomiyasu, ICMGP2015(2015年6月発表予定、採択済み、韓国)。
- 4) 旧水銀鉱山周辺における水銀分布とその化学形態、重富 あずさ、児玉谷 仁、外菌 寿宗、
 勝間 創太、山崎 仁美、神崎 亮、富安 卓滋、第77回日本分析化学討論会(2014年5月発
 表予定、受理済み)
- 5) Emission and behavior of Mercury, from the fumarolic activity of Minamigigokudani, Mt. Myoko,
 Japan, Hitoshi Kodamatani, Souta Katsuma, Azusa Shigetomi, Toshimune Hokazono, Ryusuke
 Imura, Ryo Kanzaki, Takashi Tomiyasu, PACIFICHEM2015(2015年12月発表予定、受理済み、
 米国)

(3) 出願特許

該当なし。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

該当なし。

(5) マスコミ等への公表・報道等

該当なし。

(6) その他

該当なし。

8. 引用文献

- (1) 環境省環境保健部環境安全課「水銀に関する水俣条約」について
- (2) S.M. Ullrich, T.W. Tanton, S.A. Abdrashitova, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 31 (2001) 241.
- (3) S.E. Rothenberg, L. Windham-Myers, J.E. Creswell, *Environmental Research* 133 (2014) 407.
- (4) H. Kodamatani, R. Kanzaki, T. Tomiyasu, K. Saito, Y. Kono, *Analytical Letters* 44 (2011) 2769.
- (5) H. Kodamatani, A. Matsuyama, K. Saito, Y. Kono, R. Kanzaki, T. Tomiyasu, *Analytical Sciences* 28 (2012) 959.
- (6) H. Kodamatani, T. Tomiyasu, *Journal of Chromatography A* 1288 (2013) 155.
- (7) J. Starý, K. Kratzer, J. Prášilová, *Analytica Chimica Acta* 100 (1978) 627.
- (8) L. Liang, N.S. Bloom, M. Horvat, *Talanta* 41 (1994) 371.
- (9) 環境省 水銀分析マニュアル(2004).
- (10) J.H. Huang, *Analytica Chimica Acta* 532 (2005) 113.
- (11) H. Kodamatani, Y. Komatsu, S. Yamazaki, K. Saito, *Talanta* 78 (2009) 227.
- (12) B.B.M. Muhaya, M. Leermakers, W. Baeyens, *Water Air and Soil Pollution* 107 (1998) 277.
- (13) N. Fukuzaki, Y. Tominaga, I. Kifune, R. Tamura, T. Maruyama, Y. Shinoda, K. Horii, *Chikyu Kagaku* 17 (1983) 10.
- (14) Y. Inoue, M. Munemori, *Environmental Science & Technology* 13 (1979) 443.

Development of simple, rapid, and sensitive determination method for measurement of methylmercury in mercury contaminated soil/sediment

Principal Investigator: Hitoshi KODAMATANI

Institution: Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University, 1-21-35 Korimoto, Kagoshima-City, Kagoshima 890-0065, JAPAN
Tel: +81-99-285-8108 / Fax: +81-99-259-4720
E-mail: kodama@sci.kagoshiam-u.ac.jp

[Abstract]

Key Words: Methylmercury, Ethylmercury, Determination method, Soil, Sediment

Mercury is among the most toxic metals in the environment whose toxicity is known to be highly dependent on its chemical form. Methylmercury (MeHg) is more toxic than other mercury species. The main MeHg exposure pathway for humans is through the consumption of marine foods. In general, the contamination source of marine foods is considered to be bioaccumulation through the food chain, where the primary producers of MeHg are microorganisms in marine sediments. Therefore, the accurate determination of MeHg in sediments is critical to understanding the mercury cycle in the environment.

Herein, a method for the measurement of MeHg in soil and sediment samples was improved based upon measurement of various soil and sediment samples in comparison with two other MeHg determination methods. The calibration curve for MeHg, determined using the peak height, was linear up to 250 ng (with respect to Hg). The method detection limit for MeHg was 0.07 ng/g.

For soils and sediments, sample preparation procedures, such as drying and grinding, are also necessary before analysis. The influence of various drying conditions on the MeHg concentrations in various soils and sediments, was investigated (n=43). The ratio between the MeHg concentrations in oven-dried subsamples divided by the concentrations in freeze-dried subsamples ranged from 0–336%. Hg(II) ions were added at 15 mg/kg to paddy soil samples, which were stored at 30 °C to ensure the generation of MeHg. The MeHg concentrations at 4 d after Hg(II) ion spiking was 36.0 ± 5.0 (n=3). The MeHg concentration 4 d after Hg(II) ion spiking and sterilization (121 °C, 30 min) was 1.8 µg/kg. These results indicated that bacterial Hg-methylation occurred within days when this soil was stored under these conditions. Thus, the best way to preserve MeHg in soil and sediment samples was to freeze the samples immediately after collection, followed by subsequent freeze-drying, grinding, homogenization, and storage in a freezer until measurement.

To perform above experiments, the chemical compositions of various soil and sediment samples containing MeHg (n=288) were measured. It is generally believed that sediment is the major source of MeHg; however, the forested soils had high MeHg concentrations and MeHg ratios (MeHg/total-Hg). The highest MeHg concentration was observed in a forested soil at 0.4 mg/kg. In addition, we confirmed that the MeHg concentration in soils and sediments was affected by its total Hg concentration and its organic carbon content and the environment they were collected from.