

4) Analysis of Mercurichlorofluorescein

a) Hg の定量：試料中にハロゲン元素を含まないときは，試料を硫硝酸で分解したのち希釈し，Thiocyanometry を行うが，ハロゲンが含まれるときは JP VII 収載のマーキュロクロムの定量法 (Iodometry) に従って Hg を定量した。

b) ハロゲンの定量：マーキュロクロムの臭素の定量法を利用して定量を行った。すなわち試料約 100mg をルツボ中にはかり 10% NaOH 10 ml を加えて蒸発乾固したのち，600~650°C の電気炉内で約 10 分強熱する。熔融塊をビーカー中で希 HNO₃ とにかし，n/10 AgNO₃ 25.0 ml を加えてハロゲン化銀を沈殿させたのち過剰の AgNO₃ を硫酸第二鉄アンモニウム試液を指示薬として n/10 NH₄SCN で還測した (Volhard 法)

5) Phenol coefficient of mercuricompounds.

a) クロロフルオレスセインの Hg 化合物の Na 塩の調製：試料約 1g に 2.0% NaOH 溶液の計算量を加え，水浴上で蒸発乾固し P₂O₅ で乾燥した。

b) ブイヨン：常法にしたがって NaCl 10g ペプトン 20g，肉エキス 10g の水溶液 (pH 6.8) 2l を試験管に 10ml ずつ分注し，120°C，2 atm で15分間高圧滅菌処理した。

c) 菌株：Staphylococcus aureus, FAD 209 p

d) 石炭酸係数：各倍数希釈薬剤液を常法にしたがって 10ml ずつカバー付試験管にとり，石炭酸希釈液とともに 20°C の恒温槽に入れ，白金耳 (径 4 mm) で薬剤を接種し，37°C で 48 hrs 培養し，菌の増殖の有無を観察して石炭酸係数を算出した。(山崎信子，島田敦子協力)

大野武男，岸田弘子，清水則子；毛髪中の水銀の定量法
ならびに水銀量について

Takeo Ohno, Hiroko Kishida, Noriko Shimizu:
Determination of Mercury in Hair of Man.

Mercury contained in hair of the farmers who engaged in sprinkling of mercuric agriculturals (17samples) was determined by Dithizon Method. The relationship between quantity of mercury in the hair and that of agriculturals sprinkled was not found, but 7.5 ± 4.8 ppm of mercury in hair was detected, which was a little more than the normal value (6.0 ± 2.9 ppm) of Japanese, while the determination on mercury in hair of dental doctor shaw 9.8 ± 2.9 ppm, which was pretty more value than that 6.5 ± 2.4 ppm of normal subjects. (6 samples).

本研究は水銀農薬を撒布した農民の毛髪中の水銀 (以下 Hg と記す) の定量を，岐阜市より依頼されたので行ったものである。

毛髪中の Hg の定量法として最近放射化分析法などの新しい方法が発表されたが、¹⁾ 実用的な方法としてはジチゾンを用いる光電比色法²⁾³⁾、ガスクロマトグラフ法⁴⁾⁵⁾などが知られている。著者はこれらのうち、感度がよくかつ普通の実験室で実施しやすいジチゾン法を踏襲して定量を行った。

ジチゾン法による毛髪中の Hg の定量法については末尾に掲げた参考論文^{6)~15)}があり、試料の分解法、妨害金属の除去法、Hg の抽出比色法などについてかなりの実験例が報告されている。著者はこれらの実験例を検討し、つぎの諸点に考慮を払って定量を実施した。

1. 試料の毛髪は洗剤等で洗滌したものを採集するのが望ましいが、多くの場合出来ないで、よく精製した石油エーテルで数回試料を洗滌して付着している油類を除いてから分解を行った。洗滌しないで分解するときは、農薬や落下塵粉など付着することが当然考えられたからである。

2. 毛髪を分解するとき、浮田・星野等は共通摺合せの丸底フラスコ、空気冷却管、還流冷却器を用いているが、著者はさらに 0.25N H₂SO₄ 20ml を入れたガス吸尿管を還流冷却器にビニール管で接続させて分解を行った。分解が完了したのちガス吸尿管内の希 H₂SO₄ は分解フラスコに移し、新たな 0.25N H₂SO₄ 少量で装置内を数回洗滌して揮散して付着した Hg を回収することにつとめた。

Table 1
Mercury contained in Hair of the Farmers who engaged in
sprinkling of Mercuric Agriculturals.

Sample.			a	n	a×n	Quantity of Mercury in Hair (ppm)												
No	Sex	Age				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	♂	29	100	4	400	12.7												
13	♂	51	22	2	44	11.5												
12	♂	67	130	4	520	11.3												
14	♂	52	105	4	420	11.0												
3	♂	58	100	4	400	10.4												
9	♂	54	150	4	600	9.6												
4	♂	53	80	4	320	9.2												
5	♂	42	60	5	300	7.8												
7	♂	47	110	5	550	7.5												
8	♂	30	10	4	40	7.1												
17	♂	57	40	3	120	6.6												
6	♂	33	40	4	160	5.7												
11	♂	55	100	4	400	5.4												
2	♂	60	80	5	400	5.2												
10	♂	38	150	3	450	4.1												
16	♂	37	120	2	240	3.9												
15	♂	50	80	3	240	3.1												

a: Farming area ; n: Sprinkling times of Mercuric agriculturals.

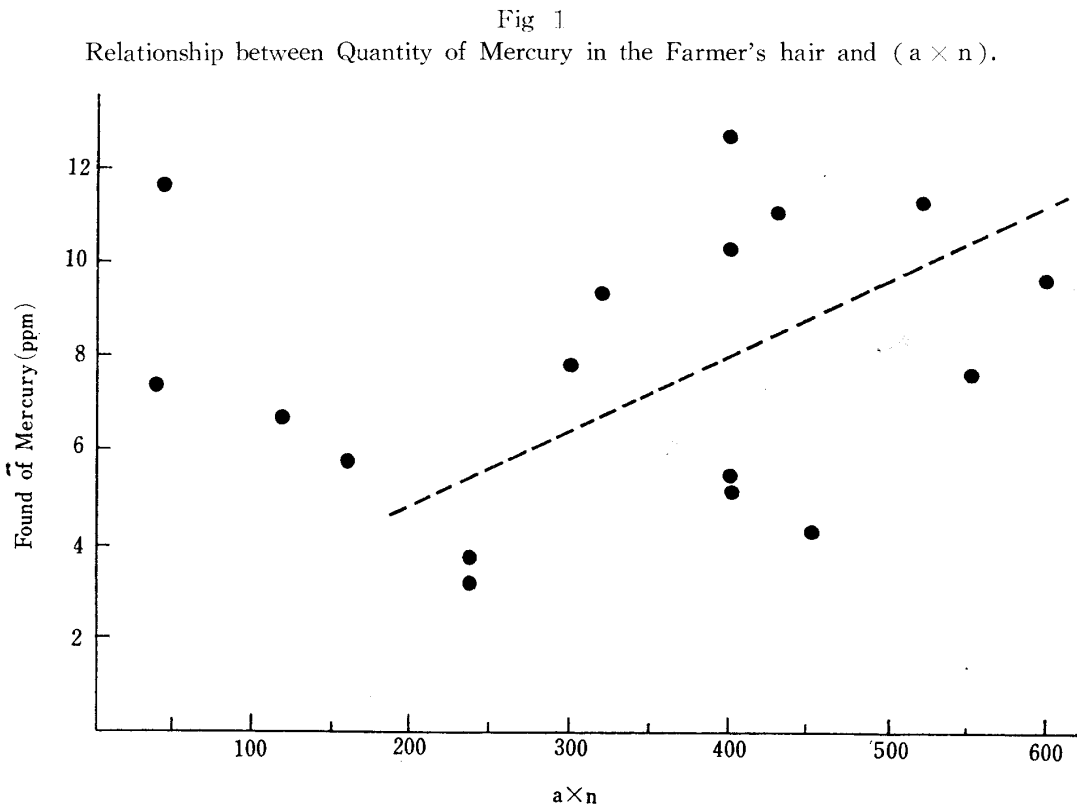


Table 2
Quantity of Mercury in hair of Denter doctors and Normal subject.

Sample		Quantity of Mercury in Hair(ppm)															
Sex	Age	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Dental doctors	♂ 46	15.0															
	♂ 54	13.6															
	♂ 49	12.7															
	♂ 54	12.2															
	♂ 36	10.3															
	♂ 66	9.6															
	♂ 65	8.1															
	♂ 42	8.0															
	♂ 41	7.6															
	♂ 44	2.6															
Normal subjects	♂ 42	7.9															
	♀ 22	7.4															
	♀ 22	7.2															
	♀ 50	7.2															
	♂ 31	5.2															
	♂ 51	4.1															

3. 毛髪1gに対して濃 H_2SO_4 , 濃 HNO_3 をそれぞれ5mlずつ用いるとき, 分解は1~2時間で完了する。分解に際して特にセレン末を用いる必要はない。
4. 分解後生じた HNO_2 を除くには尿素を用いるよりも, 薄い KMnO_4 液を用いた方が良いことを認めた。
5. Hg^{2+} の Dithizone- CHCl_3 による抽出は pH ca 1 で行い, 抽出した $\text{Hg}\cdot\text{Dithizonate}$ は一たん $\text{Hg}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{2-}$ として水層に転溶し, さらに NaClO 溶液で分解したのち, 過剰の ClO^- は $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 溶液で還元し, pH ca 1 において再び Dithizone- CHCl_3 で抽出を行った。
6. かようにして得た $\text{Hg}\cdot\text{Dithizonate}$ を過剰の Dithizone を含んだまま波長 $490\text{m}\mu$ で CHCl_3 をブランクとして光電比色定量した。
7. 以上の方法で Hg^{2+} および酢酸フェニル Hg を用いて pilot-test を行ったところ 95~102% の回収率であった。
8. この方法による Hg 定量の感度はかなり良好であるが, 同一の試料について行なう平行実験では, 定量値についてしばしば 10% 内外のバラツキがあり, 精度の点からみて今後なお改良の余地がある。

今回実験に供した試料は主として PMA 粉剤 (Hg として 0.25% 含有) を自ら散布した農民の毛髪であって, PMA 粉剤 1 回の散布量は 10a あたり ca 3 kg である。

17 例の定量値は Table 1 のような値を示し, この平均値 $7.5 \pm 4.8\text{ppm}$ は日本人の毛髪中の Hg 量の平均値として報告されている $6.0 \pm 2.9\text{ppm}$ にくらべて, 幾分高い値であった。¹⁶⁾ 若月は最近農民の毛髪 19 例について Hg の含量 8.79ppm という値を報告している。

参考のため耕作面積 a と水銀農薬散布回数 n の積を横軸, Hg 定量値を縦軸にとって分散図を作ると Fig 1 に示したようになる。 $a \times n$ 値が 200 以下の場合を除くと, 一応点線で示した回帰直線を考えることができる。この関係については今後多数の実験例より検討を加える予定である。

つぎに金属 Hg を取りあつかう歯科医師の毛髪 8 例 (Table 2) について同様 Hg 量を定量した結果を Table 2 に示す。この中の特に少量を示した例を除くと, 平均 $9.8 \pm 2.9\text{ppm}$ であった。

また同時に行った本学職員および学生の毛髪 6 例 (Table 2) 中の Hg 量の平均値は $6.5 \pm 2.4\text{ppm}$ を示した。このような僅少な実験例から速断することは許されないが, Table 2 の両群の定量結果を比較するとき, 体内に吸入された Hg 蒸気もまた毛髪中に移行するのではないかと考えられる。

本研究にあたり, 研究費の一部を供与された岐阜市長松尾吾策氏に深謝する。また試料を提供された岐阜市農林部の関係各位ならびに歯科医師の毛髪採集に協力された河合年朗博士に感謝の意を表す。

実験の部

毛髪中の水銀の定量法

1. 毛髪はあらかじめ石油エーテルで洗滌して, ポマードなどの油分を除き沓紙上に拡げて風乾する。
2. 毛髪 1.0g (Hg として $4 \sim 8\mu\text{g}$ を含む量) を 500ml の分解フラスコに入れ, 水 10ml (セレン末 0.1g) H_2SO_4 5ml, HNO_3 5ml を加える。分解フラスコには空気冷却管およびその上端に還流冷却器を付し, さらに

Hg の蒸散を防ぐため冷却器の先端には 0.25NH₂SO₄ 20ml を入れた吸尿管をビニール管で連結する。

3. フラスコの内容が澄明になるまで 1～2 時間弱く加熱したのち (マントルヒーターを用いるとよい) 放冷する。この際還流冷却器および空気冷却器はガス吸尿管中の希 H₂SO₄ が逆流して洗滌される。

4. つぎに温 0.25NH₂SO₄ ca 10ml を用い、ガス吸尿管、還流冷却器および空気冷却管を順を追って洗滌し、洗液を分解フラスコ中に流し込む。

5. 分解液をガラスフィルターで濾過し、フラスコおよびフィルターを 0.25 NH₂SO₄ 45ml を 3 回に分けて洗い、洗液は濾液に合す。濾液には 5%KMnO₄ を少量ずつ加えて持続する紅色を呈せしめる。(普通 10～15ml を要した)

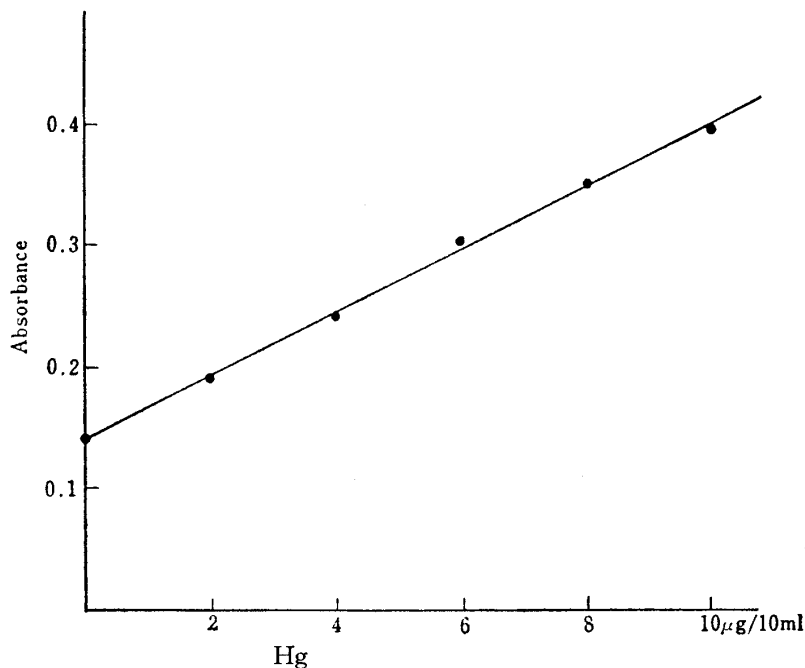
6. この溶液に 40% NH₂OH·HCl 溶液 7 ml を加え、ふりまぜて KMnO₄ を脱色したのち、500ml の分液漏斗に移し、フラスコは水 80ml を数回に分けて洗滌し、洗液は上の分液漏斗に加え全量を ca 200ml とする。

7. これに Dithizone-CHCl₃ (6mg/1L) 10ml を加え、1 分間よくふりまぜた後、CHCl₃ 層を分取し、0.1NHCl 50ml と 20% NH₂OH·HCl 5 ml を入れた第 2 の 100ml の分液漏斗に移す。さらに第 1 の分液漏斗に Dithizone-CHCl₃ 5 ml ずつを加えて抽出を 2 回繰返えし、CHCl₃ 層を第 2 の分液漏斗に加える。

8. 第 2 の分液漏斗を 1 分間よくふりまぜた後 CHCl₃ 層を 0.1NHCl 50ml を入れた第 3 の 100ml の分液漏斗に移す。第 2 の分液漏斗の溶液を CHCl₃ 2 ml で洗い、洗液を第 3 の分液漏斗に加える。

9. a) ついで第 3 の分液漏斗に 1.5% Na₂S₂O₃ 2 ml を加えて 1 分間よくふりまぜたのち分液し、CHCl₃ 層を棄て、さらに CHCl₃ 2 ml で水層を洗滌し、注意して分液して CHCl₃ 層を除く。

Fig 2
An example of Calibration curve.



b) $\text{Hg}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{2-}$ の分解と過量の $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ を酸化するため, 1.5% NaClO 溶液 5 ml を加えて1分間よくふりまぜる.

c) これに 20% $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 7 ml を分液漏斗の栓および口の部分を洗い流すようにして注意して加え, 1分間よくふりまぜる.

10. 分液漏斗の内部にガス状に残っている Cl_2 を spray で送風して除き, これに 30% HOAc 3 ml および CHCl_3 3 ml を加えて1分間よくふりまぜ, CHCl_3 層を注意して分液して除去する.

11. これに Dithizone- CHCl_3 10.0ml を加えて1分間よくふりまぜ, ついで分液漏斗の脚部および活栓の内部を丸めた小汚紙片で除き, 脱脂綿を脚部に挿入して, Dithizone 抽出液を 20ml の共栓付三角フラスコ中に分取して密栓する. さらに Dithizone- CHCl_3 10.0ml を加え, 完了するまで抽出操作を繰返す.

12. 各回の抽出液ごとに 490m μ の吸光度を CHCl_3 をブランクとして測定し, 別に全操作について空実験を行った. 試料について得られた吸光度より空試験値を差引き, 検量線より Hg 量を求めた. 検量線は定量の都度作製した. Hg 量が 10 μg 以上の場合は改めて 10 μg 以下になるよう試料をとって実験をやりなおした.

13. 検量線の作製: 100ml の分液漏斗に 0.1N HCl 50ml, 20% $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 5 ml および 30% HOAc 3 ml を入れ, これに Hg 標準液 (2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) をそれぞれ 0, 1, 2, 3, 4, 5 ml 加え, さらに CHCl_3 3 ml ずつを加えて1分間よく振りまぜ, CHCl_3 層を注意して, できるだけ分液して除く. これに Dithizone- CHCl_3 10.0 ml を加え1分間よくふりまぜて抽出を行い, 11.と同じように操作して吸光度を測定する. 検量線の1例を Fig2 に示す.

文 献

- 1) 星野, 丹沢, 寺尾, 浮田: 衛生化学 **12**, 94, 1966
- 2) 浮田, 星野, 丹沢: 衛生化学 **9**, 138, 1963
- 3) 星野, 丹沢, 長谷川, 浮田: 衛生化学 **12**, 90, 1966
- 4) K. Broderson, U. Schlenker: Z. anal. Chem. **182**, 421, 1961
- 5) 石倉, 小野寺: 分析化学 **16**, 15, 1967
- 6) S. Ishikura, K. Yokota: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) **11**, 939, 1963
- 7) A. K. Klein: J. Assoc. Offic. Agr. Chem. **35**, 537, 1952
- 8) F. R. Barette: Analyst. **81**, 294, 1956
- 9) V. L. Miller, D. Lillis, E. Csonka: Anal. Chem. **30**, 1705, 1958
- 10) 金沢, 佐藤: 分析化学 **8**, 440, 1959
- 11) S. L. Tompsett, D. C. Smith: J. Clin. Path. **12**, 219, 1959
- 12) Official Method of Analysis of A. O. A. C. 327, 1960
- 13) 芦沢: 分析化学 **10**, 443, 1961
- 14) J. C. Gage: Analyst **86**, 457, 1961
- 15) 松島, 野口: 衛生化学 **12**, 106, 1966
- 16) 若月: 科学 **37**, 155, 1967