

マグロ類の水銀およびセレン含有に 関する研究—I.*

総水銀分析のための五酸化バナジウム

触媒による湿式灰化法の検討

武田道夫・稲益猷二・富田輝雄

浜田盛承・勝浦 洋**

On Mercury and Selenium Contained in Tuna Fish Tissues - I.
Vanadium Pentoxide-Catalyzed Wet Digestion for the Determination of Total
Mercury in Tuna Tissues

By

Michio TAKEDA, Yuji INAMASU, Teruo TOMIDA, Moritsugu HAMADA,
and Hiroshi KATSUURA

Vanadium pentoxide-catalyzed wet digestion (V_2O_5 -digestion)⁸⁾ was studied for the determination of total mercury in tuna fish tissues on flameless atomic absorption spectrophotometry.

The influence of mercury contamination due to digestion flasks made of ordinary hard glass (250ml volumetric flask) was noticed over more than ten times of the repetitious digestion. The contamination, however, disappeared rapidly when the flasks made of PYREX glass were used.

In a recovery study, about 80% of the mercury added as mercuric bichloride to fish meat (shark, albacore, and horse mackerel) is recovered by means of the V_2O_5 -digestion.

Twenty-two samples of yellow-fin tuna meat digested separately by means of the V_2O_5 - or NAGY's⁷⁾ technique (the digesting reagent is the mixture of sulfuric, nitric, perchloric acids, and hydrogen peroxide) gave similar results. The comparison of the

* 水産大学校研究業績 第734号, 1975年1月20日 受理.

Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 734.

Received Jan. 20, 1975.

** 化学品検査協会九州試験場 (久留米市中央町19の14)

results by means of the V_2O_5 - with those by means of the Uni-seal digestion technique⁹⁾ both using several fish meat and king-crab shell showed that the data obtained by the two methods are in good agreement.

On the V_2O_5 -digestion, samples containing calcium liberated calcium sulfate as a fine precipitate, which was difficult to be separated from the digestion products without any loss of mercury. However, when perchloric or strong phosphoric acid was used instead of sulfuric acid in the V_2O_5 -digesting system, a sufficient digestive action on fish tissues was proved without any interference of precipitation.

1. 緒 言

近時マグロおよびカジキ類は比較的多量の水銀を含有することが明らかとなり¹⁾²⁾ 1970年12月アメリカFDA(食品医薬品局)は、許容基準 0.5ppm 以上の水銀を含むマグロ類の輸出入および販売を禁止する措置を取った。また、その頃より、わが国においても、マグロ漁船員およびマグロ類を多食する人々の毛髪中に多量の水銀が含有されていることが報告され³⁾、社会的関心が喚起された。

一方、マグロ類は、先天的に水銀含有濃度が高い傾向にあり⁴⁾、また併存するセレンが水銀と拮抗作用を持つので毒性が少ないという研究報告が提出されている⁵⁾⁶⁾。

そこで、マグロ類および関連水産物に含まれる水銀とセレンの分布に関する分析を行ない、両者の関係を明らかにすることは、食品衛生の問題のみならず、マグロ類の生態的観点からも、興味ある問題を提示するものと考えられる。

現在、水産物の含有総水銀の分析法としては、湿式により分解した試料溶液中の水銀を、還元気化し、その濃度を原子吸光度計で測定する方式が広く用いられている。この湿式灰化法としては、通常、硝酸、硫酸、過塩素酸および過マンガン酸カリウムまたは過酸化水素の混合物による加熱分解が行なわれる⁷⁾。しかし、最近DEITZ等は⁸⁾、生体組織の灰化法として、五酸化バナジウムを触媒とすることにより、装置の簡略化および灰化時間の短縮が行なえることを発表した(この方法を以下 V_2O_5 法と略す)。

そこで、本研究の第一段階として、マグロ類の含有総水銀の定量に、この V_2O_5 法を採用し、問題となる点を吟味した。また、カルシウムを含む試料の場合、 V_2O_5 法では、微細な硫酸カルシウムの沈殿を生じ、その分離の困難性およびそれに伴う分析値のばらつきが生ずるので、これらの解決法について検討した結果も報告する。

2. 実験方法

2・1. V_2O_5 法: 試料0.5~4gを、250mlメスフラスコ中に精秤し、五酸化バナジウム粉末約40mgおよび濃硝酸8mlを加える。一定温度(160~230°, ±5°)に調節したホットプレート上で5分間予備加熱を行なう。さらに、濃硫酸15mlを加え、15分間加熱分解をする。冷却後、1N硫酸10mlで器壁を洗浄し、さらに5分間加熱を続ける。分解後、油脂等の分解残渣がある場合は、n-ヘキサンで洗浄除去するか、または、ガラス漏斗(G-1)で濾過し、再留水で約100mlに希釈する。なお、上記の条件は標準的なもので、試料の分解の難易により、分解時間、温度、および分解剤量等は適当に変更して実施した。

また、比較対照のために、硫酸-硝酸-過塩素酸-過酸化水素による灰化法⁷⁾(以下 H_2O_2 法と略す)およびユニシール分解容器による灰化法⁹⁾(以下ユニシール法と略す)も併用した。

2・2. 総水銀の定量：希釈分解液に硫酸々性塩化第一スズまたは塩酸々性硫酸第一スズ溶液を10~15ml 加え、発生した水銀蒸気の濃度を、日立508型原子吸光度計にて測定した。なお、発生蒸気は、電子定温器により、年間を通じて約10°を保つように調整した。また電源電圧変動によるノイズに対しては、自動電圧調整器を使用した。

2・3. 試薬：試料の分解および総水銀分析に用いた試薬は、入手出来る限り、精密分析用を、また水は再留水を使用した。

3. 実験結果および考察

3・1. 分解フラスコの水銀汚染：分解フラスコは使用前に、6N硝酸で加熱処理をしたが、分析値が一定せず、水銀汚染の影響が考えられた。カジキ肉を試料とした場合の分析値と、フラスコの使用回数との関係を第1図に示した。すなわち、市販の一般硬質ガラス製フラスコでは、使用始めのうちは、その分析値の

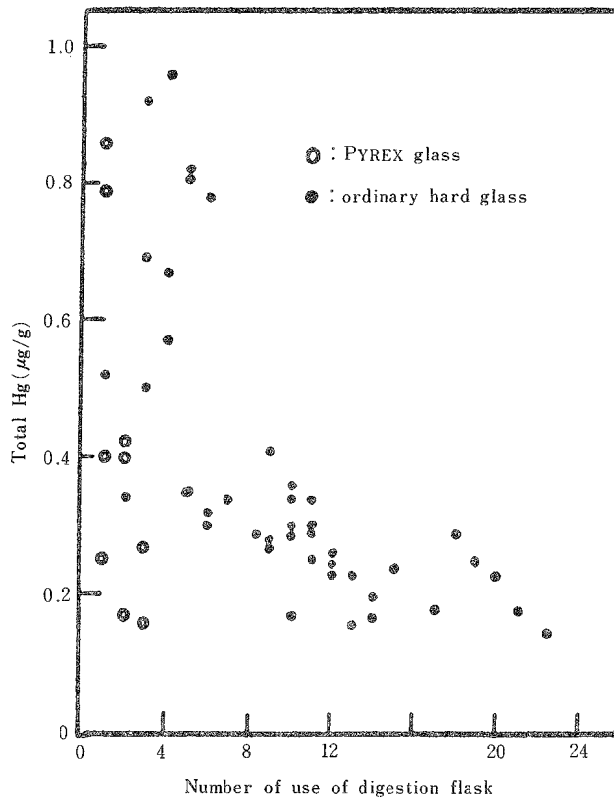


Fig. 1. The effect of mercury contamination caused by digestion flasks (ordinary hard or PYREX glass) on the total mercury analysis of marlin meat by the V_2O_5 -digesting technique.

分布は0.3~1.0 $\mu\text{g/g}$ と大きく、使用回数10回以上で大体平衡値0.2 $\mu\text{g/g}$ 付近に落ち着いている。一方、パイレックス製フラスコでは、2~3回の使用で、約0.2 $\mu\text{g/g}$ の値に達している。また、タラバガニ甲殻粉末を、同一フラスコで分解した時の使用回数と、その分析値の変化を第2図に示した。この場合にも、4回

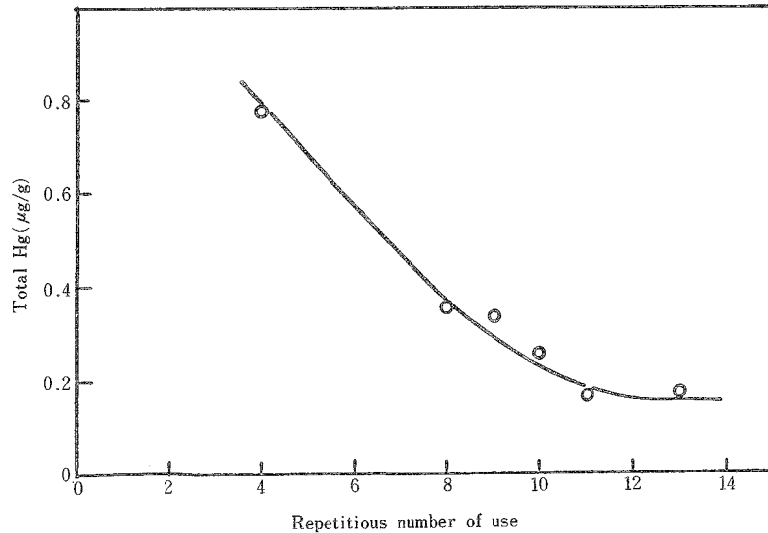


Fig. 2. Variation of the total mercury of king crab shell with the repetitious use of a flask made of ordinary hard glass for the V_2O_5 -digesting technique.

目と11回目の分析値では、約0.6 $\mu\text{g/g}$ の差があり、フラスコの汚染による影響が原因と考えられる。つぎに、パイレックス製フラスコにおける水銀のブランク値とフラスコ使用回数との関係を第3図に示した。なお、図中の添数字は、原子吸光測定において、同じレスポンスを示したフラスコ数を示しており、4回の使用で、すべてブランク値が零となった。以上の結果より、分解用フラスコとしては、水銀汚染の影響の少ないパイレックス製のものを、2~3日間酸洗浄(加熱)して用いた。

3・2. 水銀の回収率: 塩化第二水銀または塩化メチル水銀各1 μg (以下すべてHgとしての量を示す)を灰化処理した後の総水銀回収率は、 H_2O_2 法では、95%および96%であったのに対し、 V_2O_5 法では99%と102%となり、灰化中の水銀の散逸はほとんど無いものと考えられる。

アオザメ、ピンナガ、およびマサバの肉1~3gに、塩化第二水銀0.2~1 μg を加え、 V_2O_5 法により灰化した時の水銀の回収率を第1表に示したが、ほぼ80%前後の値を得た。

3・3. V_2O_5 法と H_2O_2 法による分析値の比較: 22検体のキハダマグロ背肉の同一試料について V_2O_5 法と H_2O_2 法とによる分析値を比較して第2表に示した。これらの結果、 V_2O_5 法による値は、 H_2O_2 法の分析値より、全般に0.12~0.003 $\mu\text{g/g}$ (平均0.06 $\mu\text{g/g}$)大きく、灰化法としては、 V_2O_5 の方がすぐれているのではないかと考える。

3・4. V_2O_5 法とユニシール法による分析値の比較: ピンナガ、アオザメ、ミナミマグロ(3検体)およびタラバガニ甲殻粉末について、 V_2O_5 法とユニシール法とによる分析値を第3表で比較して示した。すなわち V_2O_5 法による値は、ユニシール法の値と比較すると、全般に0.13~0.03 $\mu\text{g/g}$ 小さな値となっており、ユニシール法の方が水銀の揮散が少ないのかも知れない。しかしながら、ユニシール法では容器の大きさの関係で、試料を0.5g以上採取することが困難であるため、水銀含有量の少ない試料に対しての分析には不適であろう。

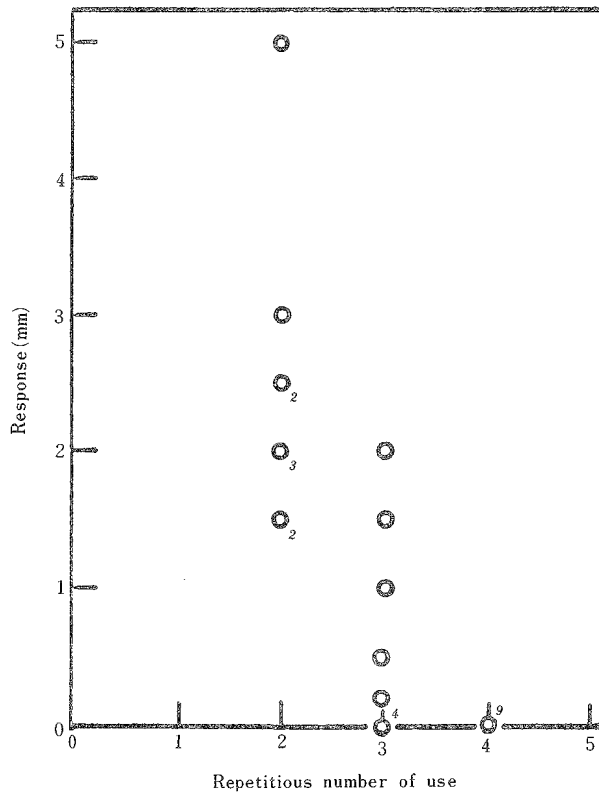


Fig. 3. Decrease in mercury contamination of the digestion flasks made of PYREX glass with repetition of the V_2O_5 -digestion.

Foot figures represent the number of flask whose contaminating extent on mercury were equal in the response on atomic absorption spectrophotometry.

Table 1. Recovery of mercury added to fish meat, using the V_2O_5 -digestion

Sample	No. of detns	Hg in meat ($\mu\text{g/g}$)	Hg added* ($\mu\text{g/g}$)	Recovery (%)	Std. dev. (%)
Shark	17	0.31	1.0	87.1	± 7.4
Albacore	16	0.15	0.5 or 0.6	77.3	± 4.9
Horse mackerel	10	0.06	0.2 or 0.5	82.9	± 13.8

* Added as mercuric bichloride.

3・5. 硫酸の代りに過塩素酸を使用する V_2O_5 法：カルシウムを多量に含む魚体組織の分析にあたって、 V_2O_5 法では、微細な硫酸カルシウムの沈殿を生じ、その分離が困難であると共に、分析値にもばらつきが多かった。これは、硫酸カルシウムの沈殿を減圧濾過するのに長時間を要するので、この間に濾液中の水銀

Table 2. Comparison of the total mercury found in yellow-fin tuna meat by the V_2O_5 - with those by the H_2O_2 *-digesting technique

Sample No.	Hg found ** ($\mu\text{g/g}$)		A - B ($\mu\text{g/g}$)	Sample No.	Hg found** ($\mu\text{g/g}$)		A - B ($\mu\text{g/g}$)
	V_2O_5 (A)	H_2O_2 (B)			V_2O_5 (A)	H_2O_2 (B)	
1	0.112	0.057	0.055	12	0.130	0.088	0.042
2	0.116	0.048	0.068	13	0.235	0.139	0.096
3	0.154	0.111	0.043	14	0.157	0.089	0.068
4	0.082	0.079	0.003	15	0.180	0.086	0.094
5	0.482	0.458	0.024	16	0.332	0.228	0.104
6	0.129	0.061	0.068	17	0.345	0.252	0.093
7	0.439	0.362	0.077	18	0.142	0.098	0.044
8	0.134	0.099	0.035	19	0.135	0.077	0.058
9	0.334	0.262	0.072	20	0.173	0.101	0.072
10	0.381	0.259	0.122	21	0.163	0.146	0.017
11	0.095	0.071	0.024	22	0.360	0.256	0.104

Mean of (A - B) is 0.06 $\mu\text{g/g}$.

* The digestion reagent is mixture of sulfuric, nitric, perchloric acids, and hydrogen peroxide.

** Average of 3 determinations.

Table 3. Comparison of the total mercury found in samples of some fish meat and crab shell by the V_2O_5 - with those of Uni-seal digestion

Sample	V_2O_5 - digestion				Uni-seal- digestion			
	No. of detns	Mean Hg found ($\mu\text{g/g}$)	Std dev. ($\mu\text{g/g}$)	Coeff. of var. (%)	No. of detn	Mean Hg found ($\mu\text{g/g}$)	Std dev. ($\mu\text{g/g}$)	Coeff. of var. (%)
Albacore	31	0.15	± 0.03	± 17.6	9	0.18	± 0.02	± 8.4
Shark	22	0.31	± 0.02	± 6.1	13	0.36	± 0.02	± 6.3
Southern bluefin tuna-1	44	0.63	± 0.10	± 15.8	6	0.76	± 0.05	± 6.3
Southern bluefin tuna-2	31	0.53	± 0.07	± 13.4	7	0.62	± 0.04	± 6.3
Southern bluefin tuna-3	40	0.48	± 0.08	± 15.9	4	0.61	± 0.05	± 8.0
King crab shell	5	0.21	± 0.03	± 14.0	6	0.25	± 0.03	± 12.3

の揮散が考えられる。そこで、モデル分解試薬（硝酸 8 ml, 硫酸 15 ml および 1N 硫酸 10 ml の混液）に、塩化第二水銀 1.4 μg を加えた容器を、アスピレーターで減圧にした時の水銀量の変化の様態を第 4 図に示した。すなわち、吸引開始後 30 分で水銀量は始めの値の 78% に減少し、1 時間以後は 75% の平衡値に達した。この実験の結果、上記のような強酸の存在下でも減圧下では、水銀の散逸は免れないものと考えられる。

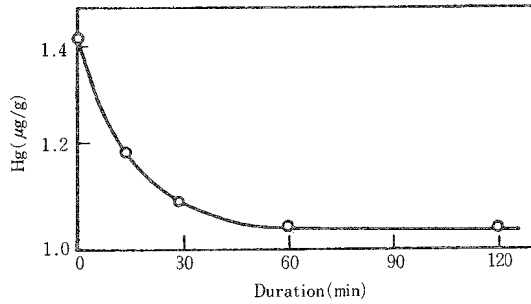


Fig. 4. Decrease in mercury (HgCl_2) in the V_2O_5 -digesting mixture with duration under a reduced pressure.
 V_2O_5 -digesting mixture: HNO_3 8ml + H_2SO_4 15ml + 1N H_2SO_4 10ml.

そこで、硫酸カルシウムの沈殿の原因となる硫酸を用いない V_2O_5 法としては、触媒としての五酸化バナジウムのほかに、硝酸のみ、硝酸-過塩素酸、硝酸-強リン酸等の分解試薬系の使用が考えられる。この中で、五酸化バナジウムと硝酸のみでは、予備実験の結果、魚肉の分解は不十分で、その分析値は V_2O_5 法による値の30%にしか達しなかった。そこで、過塩素酸を使用する灰化法（以下PCA法と略す）を検討し、つぎのようなモデル実験を試みた。塩化第二水銀 $1\mu\text{g}$ 、炭酸カルシウム 0.02 または 0.20g 、五酸化バナジウム 40mg 、硝酸 10ml を分解フラスコに採取し、30分予備加熱する。つぎに過塩素酸（60%） 20ml を加えて1時間加熱する。その後1N塩酸 10ml で器壁を洗浄し、さらに30分加熱する。以下 V_2O_5 法に準じて水銀量を測定する。この方法による水銀 $1.0\mu\text{g}$ の回収結果を V_2O_5 法による値と比較して、第4表に示した。すな

Table 4. Recovery of mercury added as mercuric bichloride to V_2O_5 -digesting mixture containing calcium, using the V_2O_5 - and PCA-* digesting technique

CaCO ₃ added (mg)	Hg added (µg)	Hg found (µg)	
		V_2O_5	PCA
0	1.0	1.000	0.962
200	1.0	0.638	0.962
2000	1.0	0.202	0.956

* Perchloric acid was substituted for sulfuric acid in the V_2O_5 - system.

わち、 V_2O_5 法では、カルシウムが共存すると、硫酸カルシウムの除去操作のために、回収率は60%および20%と小さい。一方PCA法では、沈殿を生じないので、カルシウム共存による水銀の回収への影響は見られなかった。

そこで、実際の魚肉（ミナミマグロ）について、PCA法と V_2O_5 法との分析値を比較して第5表に示した。すなわち、PCA法によっても、 V_2O_5 法と同じ程度の分析値が得られた。また塩化メチル水銀（ $0.83\mu\text{g}$ ）に対する回収率試験においても、 V_2O_5 法、PCA法共に101%と、相等しい結果であった。またキハダ背肉に塩化第二水銀 $1\mu\text{g}$ を添加した試料の、PCA法による回収率は94%（8回の平均値）であった。

Table 5. Comparison of the total mercury found in southern bluefin tuna meat by the V_2O_5 - with those by the PCA-** digestion

Sample No.	Hg found ($\mu\text{g/g}$)*	
	V_2O_5	PCA
1	0.574	0.510
2	0.490	0.463
3	0.410	0.413

* Average of 4 determinations

** Perchloric acid was substituted for sulfuric acid in the V_2O_5 - digesting reagent.

以上の結果、PCA法はカルシウムを多量に含む魚体組織に対する灰化法として、 V_2O_5 法に代って使用できると考えられる。ただし、現在入手出来る過塩素酸には、水銀が不純物として含まれるものが多いので、ブランク値の確認が必要であった。

3・6. 硫酸の代わりに強リン酸を使用する V_2O_5 法：木羽は強リン酸の強い融解力を利用して、種々の分析法を開発した¹⁰⁾¹¹⁾。また先に、タラバガニ甲殻の窒素分析に強リン酸を使用して好結果を得たことを、著者らも報告した¹²⁾。そこで、 V_2O_5 法における硫酸の代わりに、強リン酸を使用する灰化法について検討した。リン酸を300°まで加熱濃縮し、強リン酸を得た。 V_2O_5 法における硫酸15mlの代わりに、この強リン酸10~15ml、また器壁の洗浄に1N塩酸または6N硝酸を使用するほかは、ほとんど V_2O_5 法と同じ条件で分解を試みた。その結果、塩化第二水銀に対する回収率は、0.1~0.5 μg に対し、平均107%であった。

またタラバガニ甲殻およびミナミマグロ背肉を用いて得られたこの方法による分析値を、 V_2O_5 法によるそれと比較して、第6表に示した。すなわち、両者共よく一致しており、カルシウムを含む魚体組織の灰化

Table 6. Comparison of the total mercury found in samples of tuna meat and crab shell by the V_2O_5 - with those by strong phosphoric acid(SP)*- digestion

	King crab shell		Southern bluefin tuna meat	
	SP	V_2O_5	SP	V_2O_5
No. of determinations	7	5	6	31
Average Hg found ($\mu\text{g/g}$)	0.23	0.21	0.58	0.53
Std deviation ($\mu\text{g/g}$)	± 0.05	± 0.03	± 0.01	± 0.07
Coeff. of variation (%)	± 21.9	± 14.0	± 2.3	± 13.4

* Strong phosphoric acid was substituted for sulfuric acid in the V_2O_5 - digesting reagent.

法として、PCA法と共に、利用できるものとする。ただし、強リン酸は、硬質ガラスを侵食するので、長期の分解フラスコの使用には、注意しなければならない。

4. 結 言

マグロの含有総水銀分析のために、五酸化バナジウムを触媒とする灰化法を検討し、つぎのような結果を

得た。

1. 分解用フラスコとしては、バイレックス製が水銀汚染の消滅が早く適当であった。
2. V_2O_5 法による水銀の散逸は、ほとんど見られなかった。魚肉に添加した水銀の V_2O_5 法による回収率は、約80%であった。
3. 22検体のキハダマグロ背肉の同一試料について、 V_2O_5 法と H_2O_2 法とによる分析値を比較すると、全般に、前者による値が平均0.06 $\mu\text{g/g}$ 高かった。
4. ビンナガ、アオザメ、ミナミマグロ、およびトラバガニ甲殻について、 V_2O_5 法とユニシール法とによる分析値を比較すると、 V_2O_5 法の値が0.13~0.03 $\mu\text{g/g}$ 低かった。
5. V_2O_5 法では、カルシウムを含む試料に対しては、微細な硫酸カルシウムの沈殿を生じ、その分離が困難であった。また、その除去過程に水銀の揮散がおこると考えられた。これがため、 V_2O_5 法の硫酸の代りに、過塩素酸を使用する灰化法を検討した。その結果、カルシウムを含む魚体組織の灰化にPCA法が利用できることが明らかとなった。
6. カルシウムを含む試料の灰化法として、 V_2O_5 法における硫酸の代りに、強リン酸を使用しても、好結果が得られた。

本研究は、農林水産技術会議特別研究費によったものである。本研究の実施にあたり、種々御指導を賜った東海区水産研究所生物化学部平尾秀一郎長を始めとして、部員の方々に厚くお礼申しあげる。また、本研究に協力された松崎和夫、内藤 誠、児玉利資、および佐藤守男の諸氏に感謝する。

文 献

1. Inter-American Tropical Tuna Commission, 1972: "Mercury in Tuna: A Review" (Background Paper No. 4).
2. 清水 誠, 土井陸雄, 1973: 科学, 43, 357.
3. 滝沢行雄, 1972: 科学, 42, 512.
4. MILLER, G.E., P.M. GRANT, R. KISHORE, F.J. STEINKRUGER, F.S. ROWLAND, and V.P. GUINN, 1972: *Science*, 179, 1121.
5. GANTHER, H.E., C. GUIDE, M.L. SUNDE, M.J. KOPECKY, P. WAGNER, P. SANG-HWAN OH, and W.G. HOEKSTRA, 1972: *Science*, 175, 1122.
6. IWATA, H., H. OKAMOTO, and Y. OHSAWA, 1973: *Res. Communications in Chem. Path. Pharm.*, 5, 673.
7. NAGY, M., 1971: *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 67, 297.
8. DEITZ, F.D., J.L. SELL, and D. BRISTOL, 1973: *J. AOAC.*, 56, 378.
9. HOLAK, W., B. KRINITZ, and J.C. WILLIAMS, 1972: *J. AOAC.*, 55, 741.
10. 木羽敏泰, 1960: 分析化学, 9, 651.
11. 木羽敏泰, 1967: 化学の領域, 21, 126.
12. 武田道夫, 勝浦 洋, 1964: 本報告, 13, 35.