九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

食品中に残留する農薬成分に関する研究 : I. 水銀の微量定量法について

古谷, 貞治
九州大学農学部食品分析学教室

https://doi.org/10.15017/22943

出版情報：九州大學農學部學藝雜誌. 21 (4), pp.363-369, 1965-05. 九州大學農學部
バージョン：
権利関係：

食品中に残留する農薬成分に関する研究

I. 水銀の微量定量法について

古　谷　貞　治

Study on residual components from agricultural chemicals in food

I. Determination of trace of mercury

Sadaji Furutani

最近わが国でも食品中に残留する農薬成分の毒性について関心が持たれるようになつた．農薬として作物に散布された無機および有機水銀剤中の水銀成分の食品内残留量を明らかにすることは農学上はもとより医学上からも重要である．水銀の微量定量法としては重量法に基礎を置く水銀法—塩化第一スズによつて水銀を還元析出させる方法，硫化水銀法—硫化アンモニウムを用いて硫化第二水銀として沈澱させる方法，ライネッケ塩法—ライネッケ塩($NH_4(SCN)_4Cr(NH_3)_2$)を加え $Hg[(SCN)_4Cr(NH_3)_2]_2$ として沈澱させる方法等が，容量法としてはホルハルト法—チオシアン酸カリウムで滴定する方法，EDTA によるキレート滴定法，ジエチルジチオカルバミン酸銅による置換滴定法等が，比色法としてはナフチルカルバゾン法，ジフェニルカルバゾン法，ジチゾン法等が良く知られそれぞれの用途に応じて広く用いられている．これら諸法のうち重量法は mg 単位の水銀に，容量法は数 10 μg 以上の水銀に対して使用されるが比色法は更に微量の水銀に対しても有効とされている．食品中の水銀含量は極めて低く，マイクログラムパーセントの域を出ないものと推察されるので比色法中で最も感度の高いジチゾン法の検討を試みた．ジチゾンは水銀に対して選択的ではなく多くの金属例えば Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, Ag, Sn, Zn 等とも錯体を形成し，これら金属の定量法としても利用されている．したがつてジチゾン法によつて水銀を定量するにはまずこれら重金属とジチゾンとの反応を抑制しなければならない．Milton 等[7]は 0.075～0.1 N 塩酸中でジチゾン—クロロホルム溶液と振盪することによつて 10～50 μg の水銀を 500 μg の銅から分別出来るとし，Irving 等[3]は硫酸酸性下（pH～1）ハロゲンイオンを除いた状態でジチゾン—クロロホルム溶液を用いることによつて銅の妨害を除き得ると報告している．加藤等[4]は EDTA または 1,2-diaminocyclohexane-N·N·N′·N′-tetraacetic acid を用いて銅の masking を試みている．一方 Winkler[8]は銅と水銀のジチゾン錯体を含むクロロホルム層を硫酸酸性下にチオ硫酸ソーダと振ることによつて水銀を水層へ移行させ，Barrett[1]は 40 % 臭化カリを用いて同じく水銀の水層移行—再抽出法を報告している．チオ硫酸は極めて不安定であり，操作中にしばしば硫黄を遊離し，それに伴う水銀複合化力の減退から水銀回収率は極めて悪く，また Laug 等[6]の方法を改良し実用化した Barrett[1] の臭化カリ法は終濃度 4 % の臭化カリを用いてさえも 8 μg 以下の水銀しか水層へ移行し得ない．

著者は沃化カリの低濃度溶液を用いて水銀—ジチゾン錯体を分解し，ジチゾン溶液によつて再抽出する方法を確立し，前記多種の金属なかんずく銀の影響を除くことに成功したので報告する．

実験装置および試薬

吸光度測定には日立分光光電光度計 139 形，10 mm の石英製セルを用いた．pH の測定には堀場製ガラス電極 pH メーター H 型および東洋濾紙製万能試験紙を用いた．

ジチゾン—クロロホルム溶液：ジチゾン 6 mg または 12 mg をクロロホルム 1 *l* に溶かした．

ジチゾン—四塩化炭素溶液：ジチゾン 6 mg を四塩化炭素 1 *l* に溶かした．

ジチゾン 6 mg/*l* の溶液 10 ml はほゞ 15 μg の水銀を抽出し得る．

臭化カリ溶液：臭化カリ 40 g を 100 ml の水に溶かした（40 % w/v）．

沃化カリ溶液：沃化カリ 10 g を 100 ml の水に溶か

した (10% w/v).

緩衝液：第二燐酸ソーダ 150 g と無水炭酸カリ 38 g を 1 l の水に溶かした.

水銀標準液：昇汞 1.354 g を 0.25 N 硫酸に溶かして 1 l とした. この溶液は 1 ml 中に水銀 1 mg を含む. 使用に際しては10ml を 1 l に希釈して 10 μg/ml 溶液とした.

この希釈液は実験のたびに調製した. 使用試薬はすべて和光特級あるいはメルク製を用いた. 一般にジチゾン法においては使用試薬全部について再結, 精製を行なうのを常としているがこれら試薬は特級品で充分であり何等特別の精製を必要としなかつた. 但し水は充分留意し, 器具の洗浄にいたるまですべて脱イオン水 (比伝導度 5 ×10^{-6} ムーオ以下) を使用した.

分液ロート：小倉ガラス製硬質を用いた.

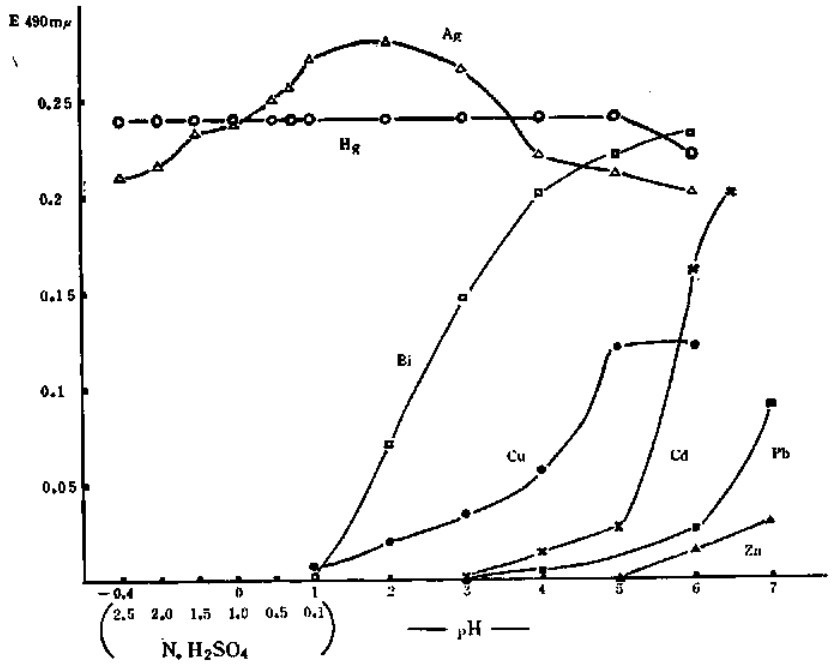
測定法：分液ロート (200～100 ml) に試料溶液 50 ml を取り, ジチゾン溶液 10 ml を加えて 60 秒間振盪し静置後 1～2 ml を流し捨て, 下層の有機層を取つて分光光度計 490 mμ で測定した.

結果および考察

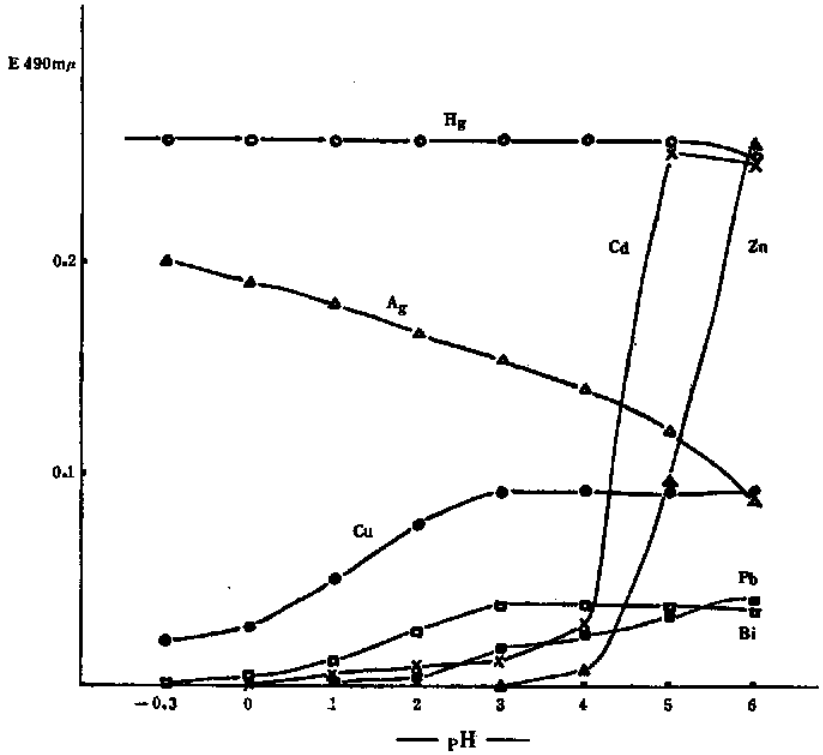
1) 抽出溶媒

水銀抽出溶媒としては一般にクロロホルムまたは四塩化炭素が用いられる. 両溶媒の撰択について特別の理由は無いが銅を含む試料についてはクロロホルムの方が優れているとされている (Irving 等[3]). しかし EDTA によつて銅を masking する際には四塩化炭素の方が多く用いられている (加藤等[4], 金沢等[5]). 水銀の定量にジチゾンを用いる場合, 多くの研究者は銅の妨害についてのみ論じ, その除去法がジチゾン定量法の骨子となつている感すらある. しかし前にも記したように銅以外に Bi, Cd, Fe, Co, Ni, Sn, Mn, Pb, Zn, Ag 等の重金属はすべてジチゾン錯体を形成する. したがつて溶媒の撰択にあたつてはこれらジチゾン感受性金属の抽出性を考慮に入れなければならない. 第1, 2 図は Hg, Ag, Cu, Bi, Cd, Zn, Pb, Sn, Fe, Ni, Co, Mn, Al の 13 種の金属について pH=−0.4 (2.5 N 硫酸) から pH=6 までの範囲にわたつてジチゾン錯体形成能を両溶媒について比較したものである. 各金属は約 10 μg を加え, pH=1 以下は硫酸濃度により, pH=2 以上は 1 N 硫酸と第二燐酸ソーダ・炭酸カリ緩衝液にて調整した.

図から明らかなようにクロロホルムを用いると pH=1 以下でジチゾンと錯体を形成し, 490 mμ の吸収に関係する金属はこの程度の量 (10 μg) では Ag だけである. 四塩化炭素を溶媒として使用すると Ag,



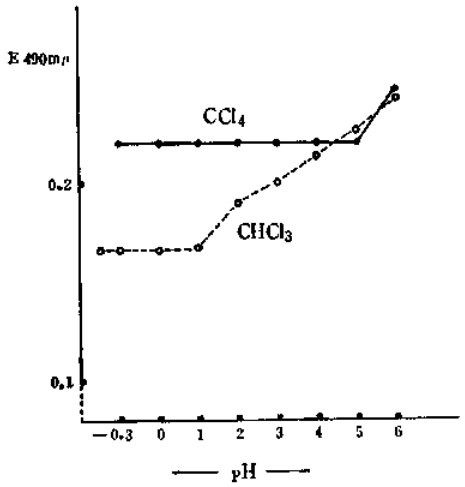
第 1 図.　ジチゾン－クロロホルム溶液による金属の抽出と pH.



第 2 図．　ジチゾン—四塩化炭素溶液による金属の抽出と pH.

Cu, Bi, Cd が関係し，特に銅の干渉は無視し得ない．一方定量感度—吸光値は四塩化炭素中での方が高い．銀は少量ながら自然界にかなり広く分布し，その存在を無視することは出来ない．ジチゾン法により微量の水銀を測定する際には銅以外に銀もまた妨害金属として注意しなければならない．今日まで銀の妨害についてはまつたく省みられなかつたけれども微量に存在する銀の除去は大量に存在する銅の除去と同様に大切であろう．

第3図に盲検値の pH 変化と溶媒の関係を示した．pH＝1 以下の硫酸酸性域では クロロホルムの 方が吸光値低く優れているが pH＝2 を越すと急に増大しはじめる．四塩化炭素溶液はクロロホルム溶媒に比べて約 40 %も高い吸光値を示すが，その値は pH＝−0.3 から pH＝5 までの広い範囲にわたつて変化しない．したがつて pH＝1 以下の酸性領域においてはクロロホルムが，pH＝2 以上5までの領域内では四塩化炭素が溶媒として好ましいようである．加藤等[4]によると四塩化炭素は pH＝1 以下では赤変し定量に供し得ないとあるが著者の実験では pH＝−0.3でも赤変しなかつた．



第 3 図．盲検値の pH 変化と溶媒．

ii) 振盪時間

振盪時間は研究者によりまちまちであり，金沢等[5]の 30 秒間から Irving 等[3]の 10 分間まで広い範囲にまたがつている．水銀 10 μg を含む試料溶液について硫酸濃度を 0.1 N (pH＝1) から 2 N (pH＝−0.3) ま

で変化させて振盪時間と抽出割合の関係を求め，第1表の結果を得た．

第1表．Hg-ジチゾン錯体の形成と振盪時間．

振盪時間 ＼ H_2SO_4, N	0.1	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0
15 sec.	99.3	98.8	98.4	98.0	97.7	95.3
30	100	100	100	100	100	100
60	100	100	100	100	100	100
300	100	100	100	100	100	100

酸濃度が高くなると錯体形成速度は若干遅くなるが，2N以下の酸中では30秒間の振盪で100%錯体を形成する．したがつて振盪時間は充分余裕をみて60秒間が妥当であろう．

iii) ジチゾン錯体の安定性

水銀—ジチゾン錯体は極めて光に対する感受性が高いとされ Laug 等[6]は人工光下で定量しなければならないとし，Winkler[8] は光学器械の強い光もまた水銀—ジチゾン錯体を分解すると報告している．Cholak 等[2]は光感受性の低い発色剤としてジチゾンの誘導体である di-2-naphthylthiocarbazone を使用している（この試薬は純化し難い欠点を有する）．Barrett[1] は暗箱中に分液ロートを置き，さらに2Vの光源を用いた E. E. L. 比色計（Evans Electro selenium Ltd.）を使つて測定している．第2表に水銀—ジチゾン錯体の経時安定性を示した．著者の実験室は二方スリガラス窓で実験台上の螢光燈（20 W）が用を為さない程度の明かるさである．

第2表．Hg-ジチゾン錯体の安定性．

溶媒	錯体	経時（分） 0	15	30	45	60	90	120
クロロホルム	Hg	100	100	—	—	98.4	—	94.4
四塩化炭素	Hg	100	100	100	100	98.9	97.9	96.8
	Ag	100	98.9	94.1	91.8	90.4	86.4	83.8

水銀および銀は10 μg—硫酸溶液（pH＝0）とし，ジチゾン溶液10 mlにて抽出した．水銀—ジチゾン錯体は思つたより安定であり30～45分間変化しなかつた．溶媒による差異は余りなかつた．銀—ジチゾン錯体は水銀—錯体に比べてより光感受性高く15分で早くも吸光値を減ずる．これらの結果から窓際でなければ定量に特別の遮光設備を必要とせず，また30分以内に測定すれば錯体の分解を心配しなくても良いようである．

iv). スリット幅と吸光値

加藤等[4]は測定時のスリット幅が異なるとジチゾン溶液，錯体の吸収波長が変化すると報告している．著者は分光器のスリット幅を 0.05 mm から 0.3 mm まで変化させて吸光値を求めたが変動は認められなかつた．

v) 共存金属による妨害とその排除

第1,2図の結果から共存金属濃度が水銀量に比べていちじるしく高い場合にはたとえ pH＝1 以下で，溶媒としてクロロホルムを使用してもその影響を無視し難いと推定される．第3表に Mn 1g（食品の灰化に $KMnO_4$ を使用するため特に1gを加えた），Cu, Fe, Zn, Pb を各10 mg宛および Co, Bi, Cd, Sn, Ni を各100 μg宛1N硫酸50 mlに加え，生じた硫酸鉛の沈澱を濾別除去した透明な混液を "metals" と称しその影響を調べた．

第3表．共存金属の影響．

組成	吸光値の水銀換算量
Metals	1.4 μg
Metals＋EDTA(10^{-1}M)	1.5
Metals＋Hg 5 μg	6.7
Hg 5 μg	5.0
Metals＋EDTA＋Hg 5 μg	6.8
Metals＋Hg 10 μg	11.5
Hg 10 μg	10.0
Ag 10 μg	11.4
Ag 10 μg＋EDTA	10.8

表から明らかなように 1.045 g の重金属を含む検液は 1.4 μg の水銀に相当する吸光値を示した．加藤等[4]および金沢等[5]は pH＝3 付近で EDTA 10^{-2}M 濃度を用いる時，銅1 mg までの影響は除去出来ると報告している．本実験では pH が低いこと，さらに金属濃度が極めて高いこと等もあつて EDTA 10^{-1}M の濃度によつても共存金属の影響を隠蔽し得なかつた．

Milton 等[7]は銅—ジチゾン錯体の形成を塩素イオンの共存によつて抑制し得ると報告しているが，加藤等[4]や Irving 等[8]によると塩素イオンは水銀—錯体の形成をも抑制するので好ましくないと反論している．Barrett[1] は銅の影響を排除する目的で40%臭化カリ5 mlを含む0.25N硫酸50 mlでジチゾン錯体を振盪して錯体を分解し，水銀を水層へ移行させる方法を報告している．この方法は銅の影響を除く手法としては最良と考えられるが，終濃度4%にも及ぶ臭化カリ溶液をもつてしても水銀量が8 μg を越すと使用出来ない欠点を有している．さらにまた40%のよう

な高い臭化カリ濃度溶液の使用は定量試薬としては取り扱い上好ましいものではない．

水銀は沃化カリの存在時酸性条件において速やかに水銀沃化物を生成し，その平衡はいちじるしく生成系へ傾いている．このことを利用して臭化カリに代るジチゾン錯体の分解—水銀の水層移行剤として沃化カリの検討を試みた．

第4表．Hg-錯体分解剤としての KBr と KI．

試薬	濃度 (%, w/v)	水層移行率 (%)	試薬	濃度 (%, w/v)	水層移行率 (%)
KBr	1	20.4	KI	0.01	70.8
	2	89.0		0.02	98.6
	3	95.3		0.03	100
	4	100		0.05	100
	6	98.0		0.07	100
				0.1	100
				1.0	100

第4表は Barrett[1] の報告に従い 0.25 N 硫酸を用い，水銀—錯体は水銀として 5 μg を加えた．60 秒間振盪後ジチゾン—クロロホルム層の吸光度を求め，その水層移行率を計算した．臭化カリは 4 % (w/v) 濃度でようやく 5 μg の水銀錯体を分解し得るに過ぎないが，沃化カリは 0.03 % で充分に錯体を分解し，臭化カリの 1/100 量で目的を達し得た．水層移行率は 0.03 %以上では一定 (100 %) となり臭化カリに比べて極めて良好であつた．したがつて水層からの水銀再抽出さえうまく行けば沃化カリは申し分のない試薬と云えるであろう．

第5表．ジチゾン溶液による水層移行水銀の再抽出．

pH	1	2	3	4	5	6
回収率 (%)	0	25.0	79.6	96.8	98.5	99.1

水銀—ジチゾン錯体 (Hg として 10 μg) を硫酸酸性沃化カリ溶液で振盪し水銀を水層へ移行させた後有機層を捨て，水層の pH を緩衝液で調整した．新にジチゾン溶液を加えて振盪しジチゾン層の吸光値から回収率を求めた．第5表に示したようにジチゾン溶液による錯体の再形成すなはち水層移行水銀のジチゾン溶液による再抽出 (回収) は pH の高い方が有利であり，pH＝4～6 特に pH＝6 付近では 99 %に達した．

沃化カリ濃度 0.03 % 以上で錯体の分解—水銀の水層移行は 100 %進行するが (第4表) 続いての水銀の再抽出にはある濃度以上の沃化カリを必要とすると推定される．第6表に沃化カリ濃度と水銀回収率の関係を示した．

第6表．水層移行水銀の回収．

KI 濃度 (%, w/v)	水層移行率 (%)	水銀回収率 (%)
0	0	—
0.02	98.6	38.0
0.03	100	77.5
0.04	100	95.6
0.05	100	98.9
0.06	100	99.0
0.07	100	98.7
0.08	100	98.6
0.1	100	95.7

水銀錯体は水銀として 10 μg とし，硫酸濃度は 0.1 N とした．硫酸濃度が高い程沃化カリ量は少なくて済むが，しばしばヨードの酸化析出を来たし，再抽出溶媒中のジチゾンを酸化した．さらに水層の中和に要する緩衝液の量も考慮する時，硫酸濃度は 0.1 N 程度が適当であろう．表に示したように 0.1 N 硫酸を用いた場合，水層移行率は 0.03 %以上で 100 %に達したが，一方水層移行水銀の回収には 0.05～0.08 %程度の沃加カリ濃度を必要とした．沃化カリ濃度 1 %以上になると回収率は逆に低下した．

ジチゾン法の盲点と考えられる銀は一般にハロゲン元素と結合し不溶性となる．その溶解度は 20°C で 100 ml 当り塩化銀 0.15 mg，臭化銀 0.012 mg であるが，一方沃化銀ははるかに溶け難く 0.00023 mg に過ぎない．第5，6表の結果を基にして沃化カリと臭化カリの作用を比較するとともに，銀の妨害排除効果についても検討した．臭化カリは Barrett[1] の報告に準じて 0.25 N 硫酸中 4 %とし，沃化カリは 0.1 N 硫酸中 0.06 %とした．水銀回収の際の pH は臭化カリ法では 6，沃化カリ法では 5 とした．

第7表．KI と KBr の比較—特に Ag の妨害除去について．

ハロゲン試薬	添加量	水層移行率	Hg 回収量
KBr (4 %)	Hg 5 μg	100 %	5.0 μg
	Hg 10 μg	93.0	9.2
	Hg 20 μg	78.1	15.4
	Ag 10 μg	96.5	2.5
	Hg 5 μg, Ag 10 μg	99.8	6.2
KI (0.06 %)	Hg 5 μg	100	4.9
	Hg 10 μg	100	9.9
	Hg 20 μg	100	19.6
	Ag 10 μg	100	0
	Ag 20 μg	100	0
	Hg 10 μg, Ag 30 μg	100	10.0

第7表の結果から明らかなように沃化カリ—硫酸溶液との 60 秒間の振盪によつて銀錯体は水銀錯体と同

じく分解し水層へ移行するが，pH＝5 ではジチゾン溶液との振盪によりジチゾンと錯体を再形成せず水層移行銀はそのまゝ水層へ残留する．臭化カリ法によつてもある程度銀の妨害を排除出来るが，見かけ上水銀として測定される量はかなり大きく無視出来ない．水銀回収率は水銀として 5 μg 程度では両法に差はないが，10 μg 以上になると臭化カリ法は極度に低下し，両法に優劣の差が明瞭となる．

第8表．金属混合物のジチゾン錯体に対する KI の影響．

組　　成	水層移行率	水銀回収量
Metals	0 %	0 μg
Mgetals ＋ Hg 5 μ	—	5.0
Hg 5 μg	100	5.0

第8表は銀以外の金属類のジチゾン錯体の沃化カリによる水層移行，再抽出の際の妨害を試験した結果である．金属混合物としては第3表と同じ組成，すなわち Mn 1 g, Cu, Fe, Zn, Pb 各 10 mg, Co, Bi, Cd, Sn, Ni 各 100 μg を pH＝5 の溶液 50 ml に溶かしジチゾン—クロロホルム溶液（12 mg/l）20 ml を加えて 60 秒間振盪した．生成したジチゾン錯体（有機層）を 0.06 %沃化カリ—0.1 N 硫酸中に加え 60 秒間振盪した．振盪前後の有機層の 490 mμ における吸光度から水層移行率を求めた．有機層を捨て，水層の pH を 5 に合わせ，あらたにジチゾン溶液を加えて 60 秒間振盪し，ジチゾン層の吸光値から水銀回収量を求めた．表が明示するように各金属のジチゾン錯体は沃化カリの存在時 0.1 N 硫酸中へ分解移行しなかつた．

第1，2表の結果から一次抽出溶媒としてはクロロホルムの使用が好ましいが，二次抽出溶媒は妨害金属のジチゾン錯体が水層へ移行しないのでクロロホルムでも四塩化炭素でも差支えない．しかし，第1，2表に示したように水銀錯体の吸光値は四塩化炭素溶液中での方が僅かながら高い．またジチゾンはクロロホルム中では pH＝2 を越えるとエノール型への転移を起すが四塩化炭素中では pH＝5 までケト型の転移を起さない（第3表）．

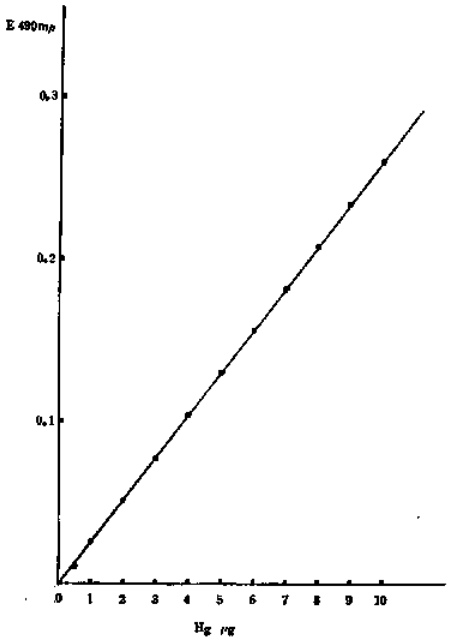
第9表．二次抽出溶媒としての $CHCl_3$ と CCl_4．

溶　媒	一次抽出錯体の組成	二次抽出有機層の吸光値	Hg 回収量
クロロホルム	Hg 5 μg	0.380	4.9 μg
	Hg 10 μg	0.475	9.9
	Hg 10 μg, Ag 10 μg	0.476	9.9
	0	0.247	0
四塩化炭素	Hg 5 μg	0.385	5.0
	Hg 10 μg	0.485	10.0
	Hg 10 μg, Ag 10 μg	0.484	10.0
	0	0.220	0

第9表から明らかなように水銀回収能力としては両溶媒間に差はないが盲検区の吸光値の変動性，実質吸光値の大きさ等を考慮すると二次抽出溶媒としては四塩化炭素を使用し，水層 pH＝5 で抽出するのが最も適当と考えられる．

vi) 定 量 法

以上検討の結果定量法を次のように定めた．硫酸 1～2 N の試料溶液 50 ml を第一の分液ロート(200 ml)に取りジチゾン—クロロホルム溶液（12 mg/l）10 ml を加え 60 秒間振盪する．二層に分離したら下層のクロロホルム層の 1～2 ml を流し捨てた後この層を分取する．抽出液(クロロホルム層) 5 ml を 0.1 N 硫酸 25 ml を入れた第二の分液ロート（100 ml）に取る．10 %沃化カリ 0.15 ml を加え（KI として終濃度 0.06 %）60 秒間振盪する．クロロホルム層を出来るだけ完全に除き水層を残す．試験紙（東洋濾紙製万能試験紙）を使い水層の pH を緩衝液にて 5 に上げる．ジチゾン—四塩化炭素溶液（6 mg/l）5 ml を加え 60 秒間振盪する．成層後下層の四塩化炭素層 0.5～1 ml を流し出して分液ロートの足，活栓等に付着する水分を



第4図．水 銀 検 量 線．

除いてからこの有機層を分取し 490 mμ の吸光値を求める．あらかじめ水銀標準液を用いて作製した検量線から水銀量を求める．

これまでの報告によると有機層採集の際あらかじめジチゾン溶液で洗つた乾燥濾紙または綿を用いて濾過し水分を除かねばならないと記載されている．著者の経験では有機層を 0.5～1 ml 流し捨てることによつて，分液ロートの足を洗つてやればほとんど誤差を生じなかつた．分光光度計のセルはあらかじめアルコールで良く洗いジチゾン溶液で洗つて水分を完全に除かねばならない．水分があると壁面に膜を生じ誤差を生ずる．本定量法によると 1 g 以上の重金属と共存する 5 μg 程度の水銀を銀の妨害なしに正確に測定することが可能である．

総　　括

食品中に含まれる微量水銀の定量を目的として多量の重金属共存下でジチゾンによる水銀 (Hg^{++}) の定量法を検討した．定量法は次の如く略記される．硫酸酸性試料溶液を第一の分液ロートにとり，ジチゾン—クロロホルム溶液 10 ml を加えて振盪する．得られた抽出液 5 ml を 0.1 N 硫酸 25 ml を入れた第二の分液ロートへ加える．10 %沃化カリ溶液 0.15 ml を加え振盪する．クロロホルム層を出来るだけ完全に除去する．水層を pH＝5 とした後ジチゾン—四塩化炭素溶液 5 ml を加えて振盪する．最初の 0.5～1 ml を流し捨てた後四塩化炭素層を分取しその 490 mμ での吸光度を求める．

本法によると Mn 1 g, Cu, Fe, Zn, Pb 各 10 mg および Co, Ni, Bi, Cd, Sn, Al 各 100 μg 合計約 1.05 g の種々重金属と共存する 5～10 μg の水銀を正確に測定し得る．

従来顧みられなかつた Ag はジチゾンに対し水銀と同じ挙動をとり，抽出 pH，抽出溶媒の撰択あるいはキレート剤等の使用によつてはその妨害を抑制し得ないが本法によればその影響を完全に排除し得る．

文　　献

1) Barrett, R., 1956. Analyst, **81**, 204.
2) Cholak, J. and Hubbard, D. M., 1946. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., **18**, 149.
3) Irving, H., Andrew, G. and Risdon, E. J., 1949. J. Chem. Soc., 541.
4) 加藤多喜雄・武井信典・岡上明雄，1956. Japan Analyst, **5**, 689.
5) 金沢　純・佐藤六郎，1956. Japan Analyst, **8**, 440.
6) Laug, E. P. and Nelson, K. W., 1942. J. Ass. Off. Agric. Chem., **25**, 399.
7) Milton, R. F. and Hoskins, J. L., 1947. Analyst, **72**, 6.
8) Winkler, W. O., 1938. J. Ass. Off. Agric. Chem., **21**, 220.

Summary

A colorimetric determination of micro-amount of mercury by dithizone method in the presence of large amounts of heavy metals has been improved for the purpose of measuring trace of mercury in foods.

The method is as follows: Shake the acidic sample solution (1 to 2 N H_2SO_4) with 10 ml of dithizone-chloroform solution (12 mg/*l*) in the first separating funnel. Transfer 5 ml of the extract to a second separating funnel containing 25 ml of 0.1 N H_2SO_4. Add 0.15 ml of 10 % KI and shake. Discard the chloroform layer as completely as possible. Rise the pH of the aqeous phase to 5 with Na_2HPO_4-K_2CO_3 buffer. Add 5 ml of dithizone-carbon tetrachloride solution (6 mg/*l*) and shake. After discarding the first 0.5 to 1 ml, collect the clear carbon tetrachloride layer and measure the absorption at 490 mμ.

It is possible to determine 5 to 10 μg of mercury in the presence of Mn 1 g, Cu 10 mg, Fe 10 mg, Zn 10 mg, Pb 10 mg, Co 100 μg, Ni 100 μg, Cd 100 μg, Bi 100 μg, Sn 100 μg and Al 100 μg by the method.

Interference with silver, disregarded by other workers, has been studied and excluded by the method using KI.