

HPLC を用いた船底防汚塗膜および人工海水中に 含まれるジンクピリチオンの定量について

輸送高度化研究領域 *菅澤 忍
環境エネルギー研究領域 柴田俊明、山口良隆、柴田清
研究統括主幹 千田哲也

1. はじめに

従来船底防汚塗料として使われていたTBTに代表される有機スズ系防汚剤は世界的に禁止の方向に向かっている。そのため、現在有機スズ系の代わりとなる防汚剤の研究開発がさかんに行われており、その中でもジンクピリチオン (ZnPT) (図1) は有力な候補の一つとなっている¹⁾。これに伴い、環境影響評価の観点から、ZnPTを含有する船底塗膜の海水中への溶出や溶出後のZnPTの挙動に関する研究が必要になって来ている。現在、いくつかのZnPTの定量法が提案されている²⁻⁴⁾が一長一短があり、信頼できる分析方法の確立が急がれている。このような背景の元に、本研究では船底塗膜中および人工海水中のZnPTの抽出法および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析装置を用いたZnPT分析法の開発を試みた。この結果について報告する。

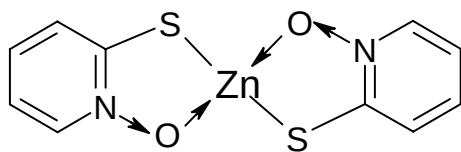


図1 ジンクピリチオン

2. 分析方法

2-1 前処理法

・船底塗膜の場合

塗膜 10 mg 程度を採取し、ジクロロメタン (DCM) 10 mL を加えて超音波抽出 (45 kHz × 30 min) を行う。遠心分離 (3,000 rpm × 30 min) 後、上澄み液を分離し、ロータリーエバポレータを用いて DCM をアセトニトリル (ACN) に置換

する。ACN で適当な容量にメスアップしたものをサンプル溶液とする。

・人工海水または超純水の場合

採取したサンプル溶液の 10 分の 1 程度の量の DCM を加え、振とう機で 10 分間抽出を行う (振とう数は溶液量が 500 mL なら 220 rpm 程度)。有機溶媒層を分離後、再びサンプル溶液に DCM を加え溶媒抽出を行う。DCM 溶液をロータリーエバポレータを用いて ACN に置換し、ACN で適当な容量にメスアップする。

なお、上記の DCM から ACN に置換するときは、以下のように 2 段階に分けて行った。まず、少量の ACN を DCM に加えてから溶媒を乾燥直前まで蒸発させた、その後、再び ACN を加えて、容量が 5 分の 1 以下ぐらいになるまで溶媒を蒸発させた。

2-2 HPLC での測定方法

・標準溶液の調製

ZnPT 標準試薬として、和光純薬製 (純度 90%) を用い、ACN を溶媒として、0.5 mg/L ~ 10 mg/L の範囲で標準溶液を調製した。

・HPLC での測定

表 1 に使用した機器を、表 2 に HPLC での計測条件を示す。カラムの選択にあたっては、ZnPT 中の Zn が他の金属と容易に置換しやすいことに注意して、不純物金属の含有量を極力抑えたものを用いた。また、我々は、後ほど述べるように ZnPT の分解生成物を同定する目的で、各時刻における吸収スペクトルを測定できるダイオードアレイを用いたが、単に定量するだけなら、1 波長しか指定できない UV-Vis 検出器だけでも十分で

表 1 使用機器

- ・ HPLC 装置 Agilent1100 (バイナリーポンプ、ダイオードアレイ付属)
- ・ カラム Inertsil ODS-3V (4.6 I.D.×150 mm、ジーエルサイエンス)

表 2 分析条件

- ・ 移動相：ACN／30 mM H₃PO₄ = 50／50
- ・ 流速：1.0 mL/min
- ・ カラム温度：45℃
- ・ サンプル注入量：20 μL
- ・ ZnPT 検出波長：280 nm

ある。なお、検出波長を 245 nm にすれば、カップピリチオンの定量も可能である。

2-3 原子吸光 (AAS) 分析法による分析

AAS を用いても、ZnPT の定量が可能である。ただし、検出される Zn は、ZnPT 由来の Zn しか存在しないことが必要である。まず、2-1 で述べた前処理法で、DCM 抽出をした時点で、DCM 溶液をホットプレート上で加熱乾燥後、硝酸 (1 : 1) を用いて加熱酸分解を行えばよい。適当な容量にメスアップしたのち、Zn 濃度を AAS により定量する。

3. 分析結果

3-1 定量分析

ZnPT の検量線の一例を図 2 に、クロマトグラフを図 3 に示す。ピークは、保持時間 2.8 min のところで現れ、若干テーリングがある。検量線は、0.5 mg/L から 10 mg/L の間で直線性がよく、相関係数として 0.9999 以上は常に実現できることがわかった。また、ZnPT は水中では不安定と考えられているが、約 1 mg/L 以上の濃度の場合には、ACN 中では非常に安定で、1 週間後の測定でもピーク面積、保持時間とも再現性がよかった。次に、定量下限を求めることも試みた。0.05 mg/L まではピークをはっきり確認できたものの、それより低い濃度ではピークが突然消失するように見えた (図 4)。このため、通常の定量下限を求める方法は適用できなかった。ピークの現れた 0.0505 mg/L でも 24 時間後の測定ではピークは消失した。このことより、ACN 中でも低濃度では ZnPT の

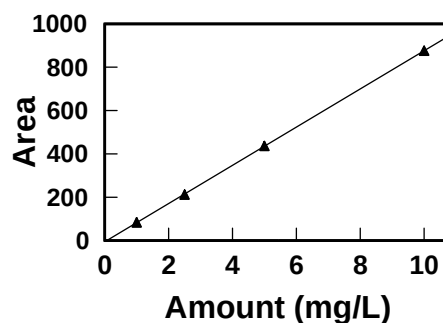


図 2 ZnPT 標準溶液の検量線

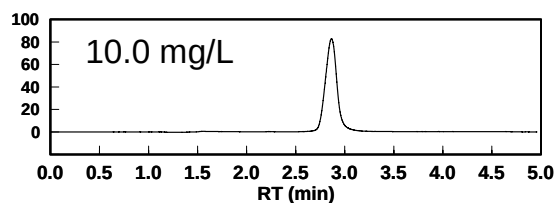
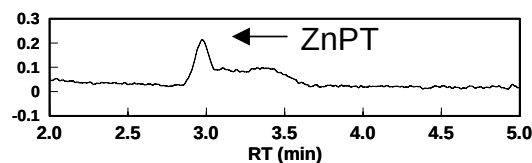
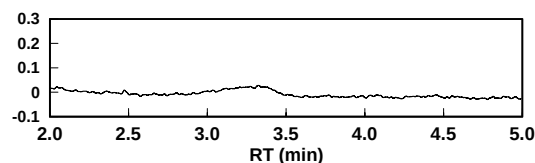


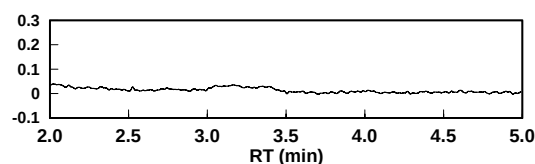
図 3 ZnPT のクロマトグラフ



(a) 0.0505 mg/L



(b) 0.0202 mg/L



(c) 0.0101 mg/L

図 4 ZnPT の定量下限

分解が生じることがわかる。

また、保持時間と UV スペクトルを用いて、クロマトグラフのピークが実際に ZnPT のものか、それとも分解したものかを確認したところ ZnPT の配位子である 2-Mercaptopyridine-N-oxide (PT) によるものであることがわかった (図 5)。標準溶液を吸光光度計で直接測定した場合にはこのような分解は生じていなかった。このため、移動相溶液によって分解が生じたものと考えられる。なお、カップピリチオンの場合には、このような

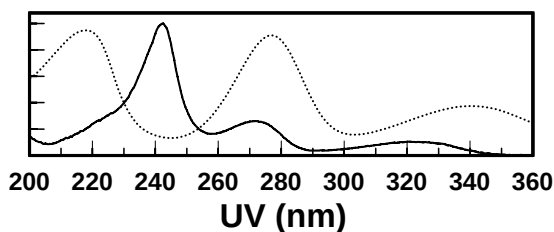


図5 ZnPT（実線）およびPT（点線）の
UV スペクトル

分解は生じなかった。

3-2 塗膜分析

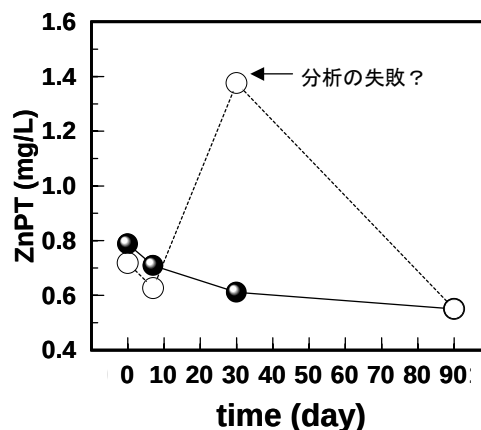
ZnPT を既知の濃度だけ含む塗膜の作製が難しいために、塗膜に対する前処理法の有効性を以下の予備実験によって検証した。まず、塗膜中に20wt%のZnPTが存在し、かつ、塗膜のDCM抽出のときZnPTは100%抽出されると仮定した。そこで、DCMを溶媒としてZnPT 196 mg/L溶液を作り、10 mL ずつ3検体採取し、前述の前処理操作を行い、HPLC法で定量を行った。その結果、回収率は、 $92.0 \pm 1.5\%$ となった。同様に2検体採取して原子吸光法で分析した場合の回収率は、 $99.4 \pm 0.3\%$ となった。さらに、ZnPT由来以外のZnは含まない塗膜を作成してZnPTの含有率を求めることを試みた。分析した結果、HPLC法では2検体測定し $12.2 \pm 0.4\text{wt}\%$ に、AAS法では、4検体測定し $13.9 \pm 0.9\text{wt}\%$ になった。

3-3 純水または海水中でのZnPTの加水分解

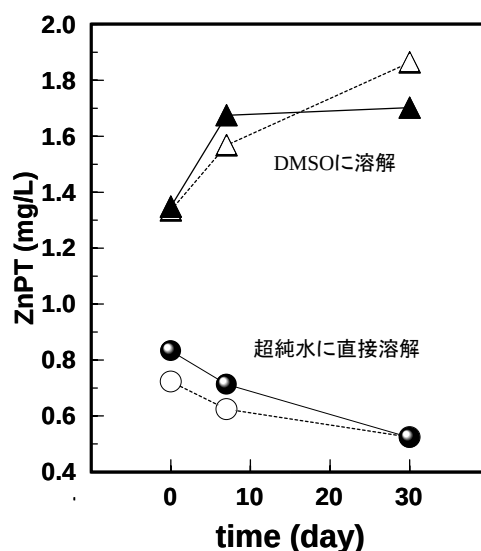
実際の船底塗膜を用いて人工海水中でバブリング方式の溶出試験を行った。試験期間は150日間である。溶出試験前後の塗膜からZnPTの変化量をHPLC法により求め、溶出量に換算すると $4.39 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{day}$ となった。一方、人工海水側からZnPTの溶出量をAAS法より求めると $0.64 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{day}$ となった。すなわち、海水側から求めた溶出量は塗膜側から求めた溶出量に比べて圧倒的に少ないことがわかった。この結果より、ZnPTが水中で加水分解する可能性が示唆されたため、以下の実験を行った。

ZnPT粉末を超音波をかけながら超純水に過剰に溶解させた後、メンブランフィルター（ $0.45 \mu\text{m}$ ）でろ過したものをサンプル溶液とし、暗所・恒温槽内（ 25°C ）で保存した。そして、0日目と

7日目のサンプル溶液中のZnPTを前述の分析法で定量を行った。同様な実験を人工海水（pH8.2に調整）でも行った。試料は前述のように超純水にZnPTを溶解させてから、人工海水の原料を加え調製した。その結果を図6に示す。人工海水の場合は、ZnPTが溶けにくいこともあり、ジメチ



(a) 超純水



(b) 人工海水

図6 ZnPTの水溶液中での分解
(白抜きはAASによる測定)

ルスルホオキシド（DMSO）に溶解させてから、人工海水に溶かすことも試みた。なお、図は2検体測定したときの平均を示している。直接超純水に溶かした場合は、確かにZnPTの濃度は時間が経過するに従い減少していく。この結果に再現性があるかどうかを確認するため、超純水の場合において実験を行ったところ、ZnPTの初期濃度に

違いがあるものの、同様に時間とともに減少していった。以上のことより、ZnPTは水中で加水分解することがわかる。そこで、次に分解生成物を同定することを試みた。分解生成物の候補として熊倉ら⁵⁾が光分解生成物の研究に用いたものと同じものを用いた。7日目のサンプル溶液を直接HPLCにかけて得られたクロマトグラフを図7に示す。ZnPT以外にもA、Bというピークが現れて

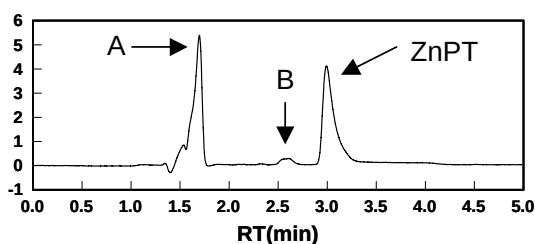


図7 超純水溶解後7日後クロマトグラフ

いる。これらのピークは、0日目の溶液の測定では現れなかったものである。ダイオードアレイを用いて計測したUVスペクトルと保持時間とから、AはZnPTからZnが抜けてS-Sで架橋した2,2'-Dithiobis(pyridine-N-oxide) ((PT)₂) (図8)であることがわかった。図9にAと(PT)₂のUVス

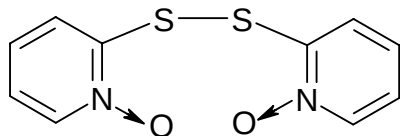


図8 (PT)₂

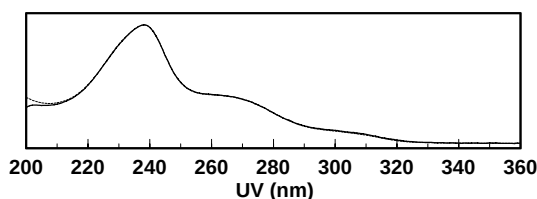


図9 A (実線) および(PT)₂ (点線) のUVスペクトル

ペクトルを示す。しかしBに該当する物質はわからなかった。また、Turley⁴⁾らがZnPT水溶液の光分解で提案したPyridine-2-sulfonic acidは検出されなかった。

4. 考察

2. で述べたように HPLC 法での回収率は、90%程度となった。この原因としては、エバポレ

ータで濃縮するとき、ZnPTの一部がガラス壁面に吸着して取り残されてしまうからだと考えられる。また、本方法はZnPTがPTに分解することを利用して定量する方法なので、分析する試料にPTが含まれるか吸光光度計などを用いて確認する必要がある。なお、このような分解は移動相のpHに依存すると思われる。もしそうならば、ZnPTとPTの間の平衡定数から真のZnPTの濃度を決定できる可能性が出てくる。

3. の結果から、ZnPTが加水分解するために、塗膜の溶出量の評価において、海水側から分析するのは難しいと言える。塗膜側からの分析は可能であるが、試験期間中に塗膜を採取する必要がある、塗膜を傷つけてしまう。溶出速度の測定に限れば、以下の方法が考えられる。すなわち、ZnPT由来以外のZnが含まれないように、塗膜を作成すればよい。そうすれば、ZnPTの溶出量は、水溶液中に存在するZnの濃度をAAS法またはICP/MS分析法によって測定することによって求めることが可能である。

一方、環境リスク評価をするにあたっては、分解生成物の同定が必要になってくる。今回の研究で暗所でも加水分解が生じることが明らかになったので、加水分解生成物の環境影響評価が重要になる。特に、一日の半分は夜であり、また船底には太陽光が届きにくいので、この影響は無視できないであろう。さらに、図6を見ると、HPLCの結果はAASの結果より大きくなる傾向を示している。これは、水溶液中では、分解生成物として、(PT)₂以外にもPTが存在することを示唆するものと考えられる。

謝辞

本研究は地球環境保全等試験研究費（環境省）で実施したものです。ここに関係各位の協力に対して感謝致します。

参考文献

- 1) 山田他、水研センター研報、No.6 (2003)、56-72、2) K. V. Thomas, J. *Chromatogr. A*, 833 (1999) 105-109.、3) Y. Yamaguchi *et al.*, *Int. J. Env. Anal. Chem.* (印刷中)、4) P. A. Turley *et al.*, *Biofouling* 15 (2000), 175-182.、5) 熊倉他、第12回環境化学討論会 (2003)、144-145