

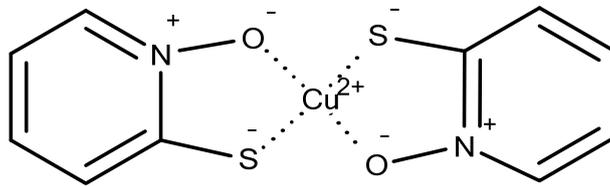
1,2-ビス(2-スルフィドピリジン-1-オラト)銅

1,2-Bis(1-hydroxy-1*H*-pyridine-2-thionato-*O,S*)copper

IUPAC 名：2,2'-spirobi[1-oxa-3-thia-5-aza-2-cupracyclopenta[5,4-*a*]pyridine]-
3,3'-diuide

別名：カッパーピリチオン、銅ピリチオン
Copper pyrithione

【対象物質の構造】



CAS 番号：14915-37-8, 154592-20-8, 17652-46-9

分子式：C₁₀H₈CuN₂O₂S₂

【物理化学的性状】

項目	値	測定条件	備考	出典
分子量	315.85	-		1)
モノアイソトピック質量	314.9321	-		-
比重	1.86 g/cm ³	20°C		2)
沸点	-	-		-
融点	204-250°C	100.42 kPa		2)
蒸気圧	4.3 × 10 ⁻¹⁹ hPa	25°C		2)
水溶解度	0.1 mg/L	-		2)
log P _{ow}	2.84	-		2)
ヘンリー定数	2.46 × 10 ⁻⁸ atm·m ³ /mol	25°C	estimated	3)

【毒性、用途】

〔実験動物に対する急性毒性情報〕⁴⁾

動物種	経路	致死量、中毒量等	
ラット	経口	LD ₅₀	1075 mg/kg
ウサギ	経皮	LC ₅₀	>2000 mg/kg

〔用途〕

船底塗料防汚剤、漁網防汚剤、海洋構造物防汚剤、防藻剤²⁾

出典

- 1) 独立行政法人国立環境研究所 Webkis-plus (化学物質データベース)
 - 2) 独立行政法人産業科学研究所：詳細リスク評価書シリーズ 10 銅ピリチオン (英文版)
 - 3) Web site ; Data from SRC PhysProp Database
- * : 3)は、独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質総合情報提供システム (CHRIP) より引用
- 4) US National Institute for Occupational Safety and Health Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) Database
- * : 4)は、厚生労働省:職場の安全サイト GHS 対応モデルラベル・モデル SDS 情報より引用

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料に 0.1 mol/L 塩酸もしくは 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加え、pH 6.0 ~ 6.5 に調整した試料を固相カートリッジに通水し、更にメタノール/精製水 (2:8) を通水して洗浄する。これを遠心分離で脱水し、アセトンで溶出する。溶出液を濃縮した後メタノールに転溶し、LC/MS/MS-SRM (APCI-Positive) で定量する。

(2) 試薬・器具

【試薬】

銅ピリチオン : Santa Cruz Biotechnology, Inc. 製 純度 99%
アセトニトリル : 関東化学製 高速液体クロマトグラフィー用

アセトン	: 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
メタノール	: 関東化学製 高速液体クロマトグラフィー用
塩酸	: 和光純薬工業製 精密分析用
硝酸	: 関東化学製 有害金属測定用
水酸化ナトリウム	: 和光純薬工業製 特級
酢酸アンモニウム	: 和光純薬工業製 特級
精製水	: Merck Millipore 製超純水製造システム Direct-Q 8UV-R による超純水
固相カートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak Plus tC18 充填量 400 mg 粒子径 37-55 μm

【試薬の調製】

0.1 mol/L 塩酸：塩酸 8.3 mL を精製水で 1 L に希釈する。

0.1 mol/L 硝酸：硝酸 7.6 mL を精製水で 1 L に希釈する。

0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム 4 g を精製水で溶解し 1 L にする。

【標準液の調製】

〔標準原液〕(注1)

1,2-ビス(2-スルフィドピリジン-1-オラト)銅(以下「CuPT」という。)の標準品 10.0 mg を正確に量り取り、アセトニトリルで 200 mL に溶解し 50.0 μg/mL の標準原液を調製する。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノールで順次希釈し、30.0 ng/mL から 500 ng/mL の標準液を作成し、検量線用標準液とする。

【器具】(注2)

pH メータ	: HORIBA 製 LAQUAtwin B-712
試料分取容器	: ジーエルサイエンス製デジチューブ 100 mL
バキュームマニホールド	: スペルコ製
リザーバー	: PP 製 150 mL
試験管	: ガラス製 1 mL 標線付き
メスフラスコ	: 褐色
ホールピペット	
バイアル	: LC 用 1.5 mL 褐色バイアル

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従う。試料は PP 製容器(注 3)に採取後、遮光し、速やかに試験操作を行う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

0.1 mol/L 塩酸もしくは 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加え、pH 6.0~6.5 に調整した水質試料 100 mL を試料分取容器に分取する。あらかじめアセトン 5 mL、0.1 mol/L 硝酸 15 mL、精製水 100 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Sep-Pak plus tC18) (注 4) に 3 mL/min で試料水を通水する(注 5)。通水終了後の固相カートリッジをメタノール/精製水(2:8)50 mL で洗浄を 2 回した後(注 6)、精製水 20 mL を通水する(注 7)。通水終了後の固相カートリッジは、2000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、脱水する(注 8)。アセトン 5 mL で溶出させ、窒素気流下で 0.3 mL まで濃縮後メタノールで 1 mL に定容し、超音波を照射して完全に溶解させたものを試験液とする(注 9)。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従って操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【測定】

〔LC/MS 測定条件〕(注 10)

[LC 条件]

使用機種	: 島津製作所製 Prominence
カラム	: GL Sciences 製 Inertsil C4 2.1 × 150 mm, 5µm
移動相	: A:10 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液、B:メタノール 0→3 min A : B = 95 : 5 3→8 min A: 95 → 5 B: 5 → 95 linear gradient 8→14 min A : B = 5 : 95 14→18 min A: 5→95 B: 95→5 linear gradient 18→23 min A : B = 95 : 5
流速	: 0.5 mL/min
カラム温度	: 40°C
試料注入量	: 10.0 µL

[MS 条件]

使用機種 : AB SCIEX 製 API-3200
 イオン化法 : APCI-Positive (注 11)
 ガス圧 : 10 psi
 ニードル電流 : 5 μA
 脱溶媒温度 : 550°C
 イオンガス1 : 90 psi
 イオンガス2 : 30 psi
 測定モード : SRM

物質名	モニターイオン(m/z)	ドリフト電圧 (V)	コリジョンエネルギー (V)
CuPT	定量用	315.9 > 142.1	21
	確認用	315.9 > 63.0	21

[検量線]

検量線用標準液 10.0 μL を LC/MS/MS に注入して分析する。得られた標準物質のピーク面積と標準物質の濃度から検量線を作成する。

[定量]

試験液 10.0 μL を LC/MS/MS に注入する。検量線を用いて、得られたピーク面積より試験液中の濃度を測定する。

[濃度の算出]

水質試料中の濃度 (μg/L) は次式により算出する。

$$\text{水質試料中の濃度 (}\mu\text{g/L)} = \text{検出濃度 (ng/mL)} \times \text{最終液量 (mL)} / \text{試料量 (mL)}$$

[装置検出下限値 (IDL)] (注 12)

本分析に用いた LC/MS/MS の IDL を表 1 に示す。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (μg/L)
CuPT	7.7	100	1.0	0.077

〔測定方法の検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)〕(注13)

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す。

表 2 MDL 及び MQL 算出の結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
CuPT	100	1.0	0.060	0.15

注解

- (注1) CuPT は溶解しにくいので超音波を照射し、完全に溶解する。
- (注2) 試料採取から抽出に至る過程で金属が混入すると回収率が著しく低下する。このため、全ての器具類は洗剤で洗浄し、十分に水洗した後、一晚以上硝酸槽(硝酸/精製水(1:10))に浸漬し、表面の金属を溶解させる。使用直前に硝酸槽から取り出し、精製水、アセトンの順に洗浄後、室温で乾燥させて使用する。
- (注3) CuPT は金属錯体であることから、ガラスに不純物として含まれる金属が回収率低下の一因となると考えられる。そのため、採取容器には PP 製の容器を使用する。
- (注4) 固相カートリッジは金属不純物を含有しており、回収率低下の原因となるため、0.1 mol/L 硝酸 15 mL を通水し、金属不純物を除去する。
- (注5) 通水速度が速いと回収率が低下するため、注意が必要である。抽出前にあらかじめ通水速度 3 mL/min.における水滴の落下間隔を確認しておくといよい。
また、バキュームマニホールド内の吸引圧力が同じであっても、通水速度は固相カートリッジの個体差や設置位置、抽出する試料水の懸濁物質濃度等によって差が生じるため、複数の試料水を同時に抽出する際には、コックをマニホールドと固相カートリッジの間に接続し、通水速度を個別に調整できるようにすると効率的である。
- (注6) LC 流路系内で CuPT に変化するジンクピリチオン(以下「ZnPT」という。)を除去するため、メタノール/精製水(2:8)で洗浄する。
- (注7) 遠心分離による脱水の際に、固相カートリッジ内の溶媒がメタノール/精製水(2:8)では、回収率が低下することがある。そこで脱水前に精製水を通水する必要がある。
- (注8) バキュームマニホールドで通気吸引して脱水すると回収率が著しく低下

するため、注意が必要である。

(注9) 超音波を照射しながら試験管内壁を洗い込むことで、抽出された対象物質を完全に溶解させる。

(注10) LC/MS の条件は、本測定に使用した機種(SHIMADZU Prominence + AB SCIEX API-3200) 特有のものである。

(注11) 本法では、イオン化法として APCI 法を選択した。APCI 法ではイオン化の際に溶媒の影響を受けず、安定的にプロトン付加イオンを検出できる。ESI 法では、溶媒の影響を受けてプロトン付加イオン以外に Na アダクトイオンが観測され、その強度は Na アダクトイオン > プロトン付加イオン ($n=1$) であったが、Na の意図的添加は行っておらず、従って、Na アダクトイオンとして安定的なピーク強度を得る事は困難と予想される。一方で、ESI 法と APCI 法のプロトン付加イオンのピーク強度は、後者のほうが高かった。これらの事から、安定的なプロトン付加イオンが観測された APCI 法を選択した。

(注12) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成21年3月)に準じて、以下の表3のとおり算出した。また、図1にIDL測定時のクロマトグラムを示す。

表3 IDLの算出結果

対象物質名	CuPT
試料量 (mL)	100
最終液量 (mL)	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	30.0
装置注入量 (μL)	10.0
結果 1 (ng/mL)	30.9
結果 2 (ng/mL)	32.2
結果 3 (ng/mL)	32.0
結果 4 (ng/mL)	35.8
結果 5 (ng/mL)	35.3
結果 6 (ng/mL)	32.3
結果 7 (ng/mL)	35.3
平均値 (ng/mL)	33.40
標準偏差 (ng/mL)	1.99
IDL (ng/mL)*	7.7
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.077
S/N 比	9.4
CV (%)	6.0

*: $IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

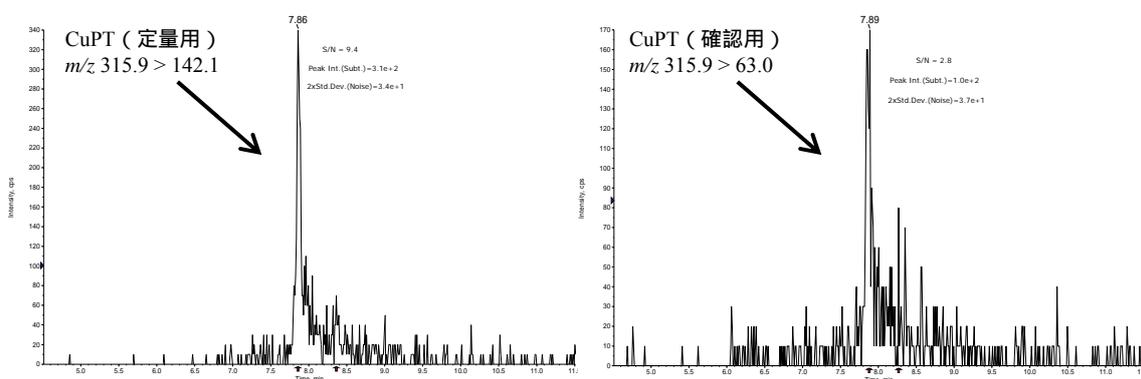


図1 IDL測定時 (30 ng/mL) のクロマトグラム

(注 13) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に準じて、以下の表 4 のとおり算出した。また図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示した。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果

対象物質名	CuPT	回収率 (%)
試料	河川水	-
試料量 (L)	0.100	-
標準添加量 (ng)	50.0	-
試料換算濃度 (µg/L)	0.5	-
最終液量 (mL)	1.0	-
注入液濃度 (ng/mL)	50.0	-
装置注入量 (µL)	10	-
操作ブランク平均 (µg/L) ^{*1}	<0.060	-
無添加平均 (µg/L) ^{*2}	<0.060	-
結果 1 (µg/L)	0.304	61
結果 2 (µg/L)	0.303	61
結果 3 (µg/L)	0.300	60
結果 4 (µg/L)	0.333	67
結果 5 (µg/L)	0.301	60
結果 6 (µg/L)	0.330	66
結果 7 (µg/L)	0.329	66
平均値 (µg/L)	0.3143	62.9
標準偏差 (µg/L)	0.0154	-
MDL (µg/L) ^{*3}	0.060	-
MQL (µg/L) ^{*4}	0.15	-
S/N 比	13	-
CV (%)	4.9	-

*1：操作ブランク平均：試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した平均値 (n = 2)

*2：MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n = 2)

*3：MDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

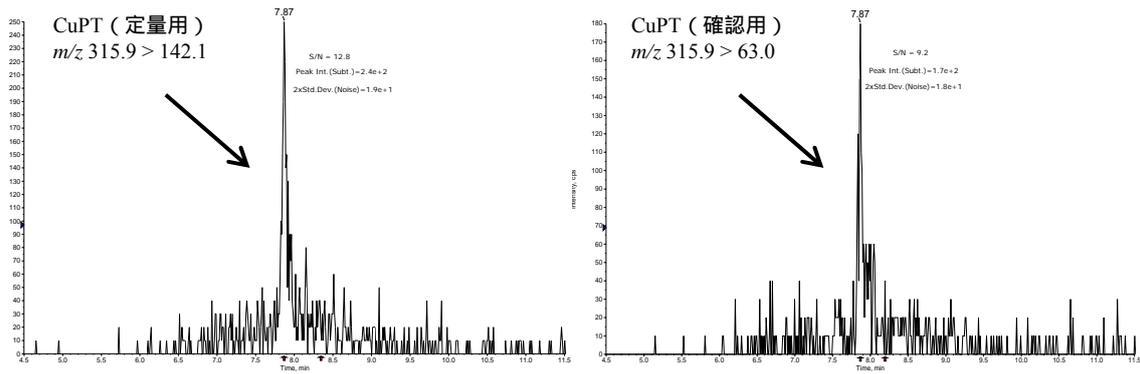


図2 MDL 試験試料のクロマトグラム

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図3に示す。

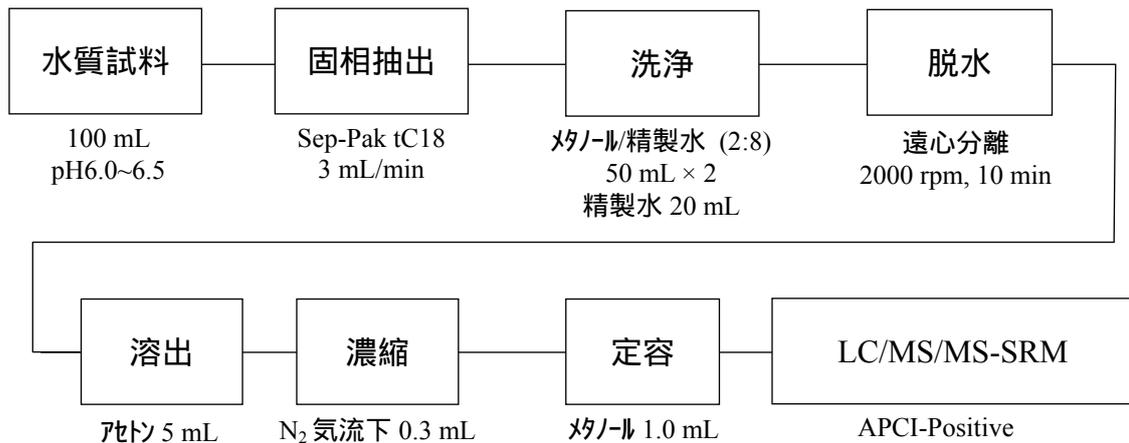


図3 分析法のフローチャート

【検量線】

図4にCuPTの低濃度域 (30.0 ~ 200 ng/mL) 及び高濃度域 (150 ~ 500 ng/mL) の検量線を示す。低濃度域では一次回帰よりも二次回帰の y 切片の絶対値が小さく、相関係数も高くなったため、二次回帰を適用した。

確認イオンと定量イオンのピーク面積比は50.0 ng/mL以上で一定であった(表5)。

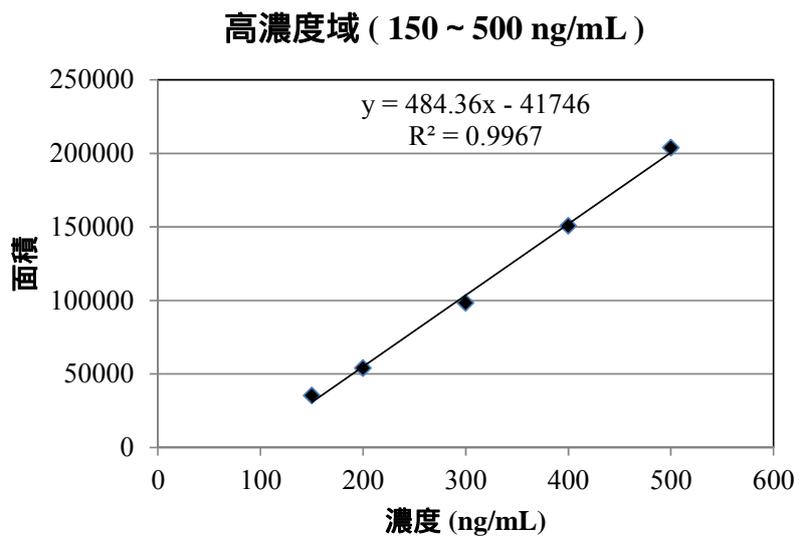
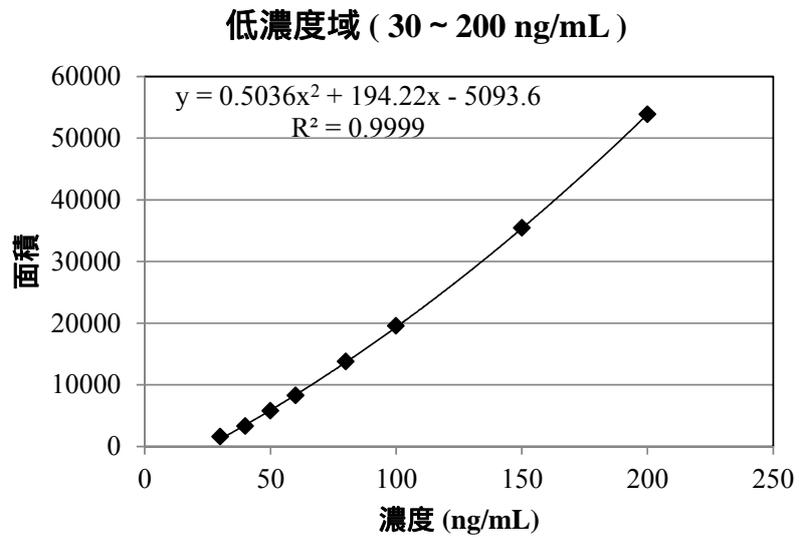


図 4 CuPT の検量線

表 5 検量線作成用データ
低濃度域 (30 ~ 200 ng/mL)

標準液濃度 (ng/mL)	ピーク面積	
	定量イオン (315.9>142.1)	確認イオン (315.9>63.0)
30.0	1528	1048
40.0	3260	2277
50.0	5735	3200
60.0	8204	4367
80.0	13713	7461
100	19513	10139
150	35394	18979
200	53857	29075

高濃度域 (150 ~ 500 ng/mL)

標準液濃度 (ng/mL)	ピーク面積	
	定量イオン (315.9>142.1)	確認イオン (315.9>63.0)
150	35394	18979
200	53857	29075
300	98260	53315
400	150715	81710
500	203808	110764

〔クロマトグラム〕

CuPT の標準液 100 ng/mL のクロマトグラムを図 5 に示す。

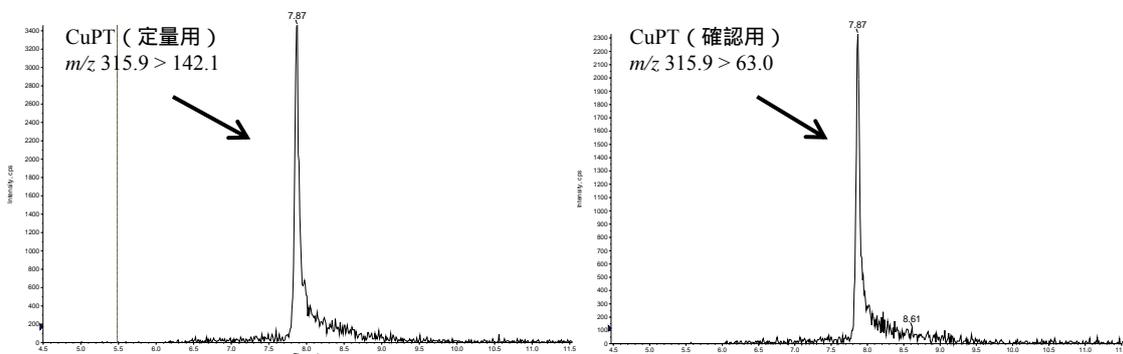


図 5 CuPT (100 ng/mL) のクロマトグラム

〔マススペクトル〕

CuPT のマススペクトルを図 6 及び図 7 に示す。

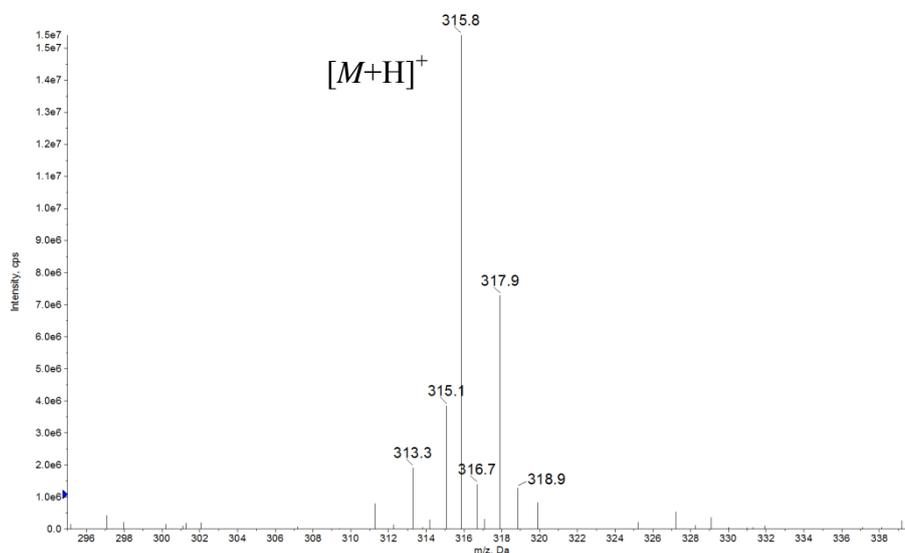


図 6 CuPT のプレカーサーイオンマススペクトル

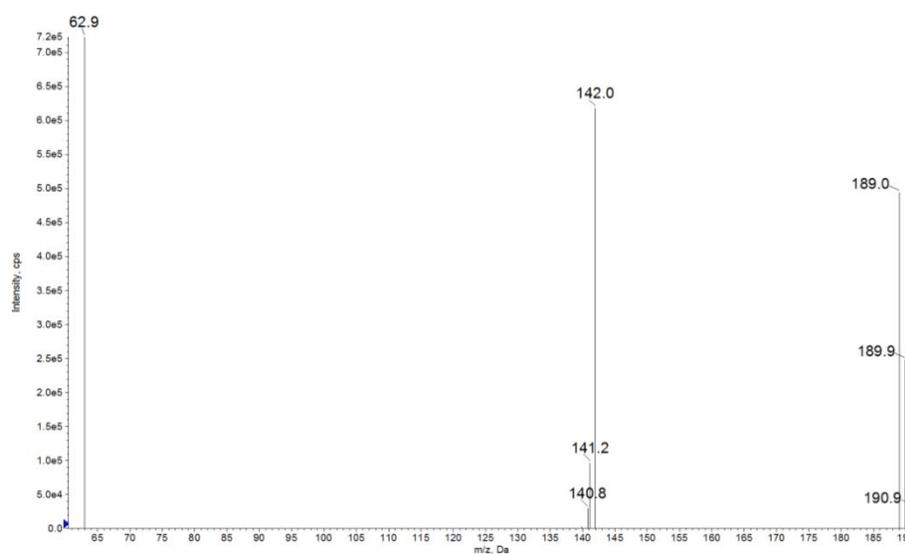


図 7 CuPT のプロダクトイオンマススペクトル
(プレカーサーイオン : m/z 315.8)

〔操作ブランク〕

操作ブランク試験を表 6 に示す。操作ブランクは検出されなかった。

表 6 操作ブランク試験結果

物質名	試験数	検出濃度 (μg/L)
CuPT	2	<0.060

〔添加回収試験〕

河川水（賀茂川）及び海水（大阪湾）への標準物質添加回収試験結果を表 7 に、また測定時のクロマトグラムを図 8 および図 9 に示す。河川水は 75% で良好な結果であったが、海水は 50% 未満であった。

表 7 添加回収試験結果

物質名	試料名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験数	検出濃度 (μg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
CuPT	河川水	100	無添加	1	<0.060	-	-
		100	200	7	1.50	75	8.1
	海水	100	無添加	1	<0.060	-	-
		100	300	7	1.34	45	9.3

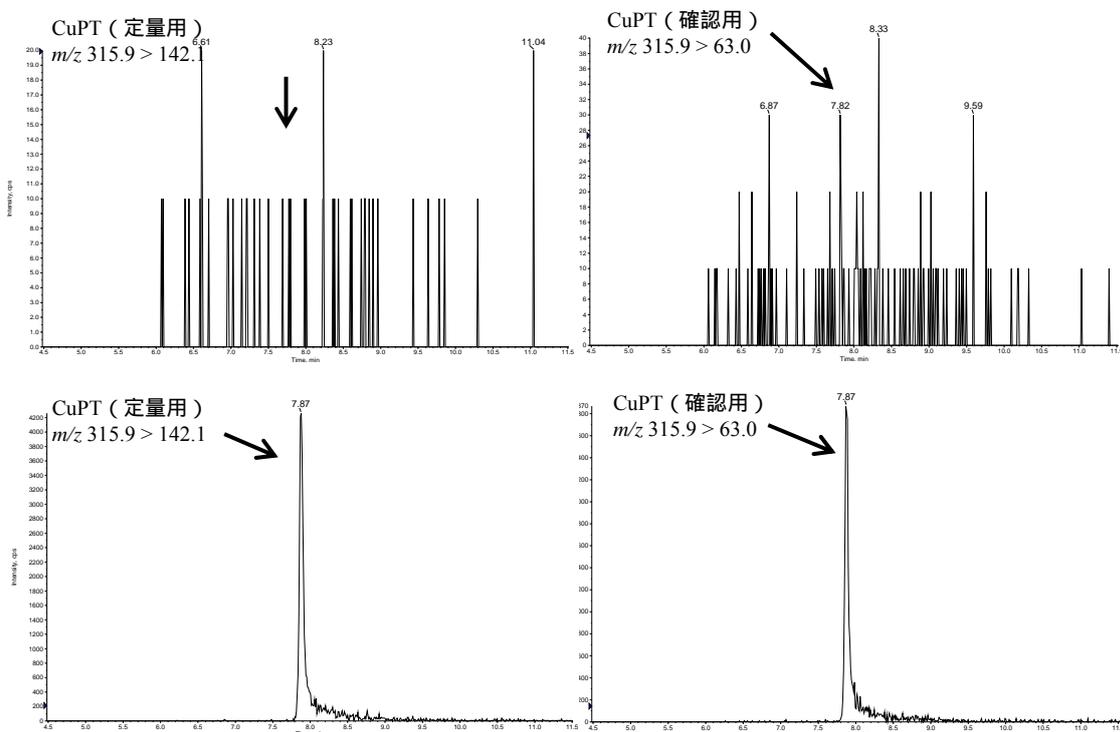


図 8 添加回収試験試料（河川水）のクロマトグラム
（上図：無添加、下図：200 ng 添加）

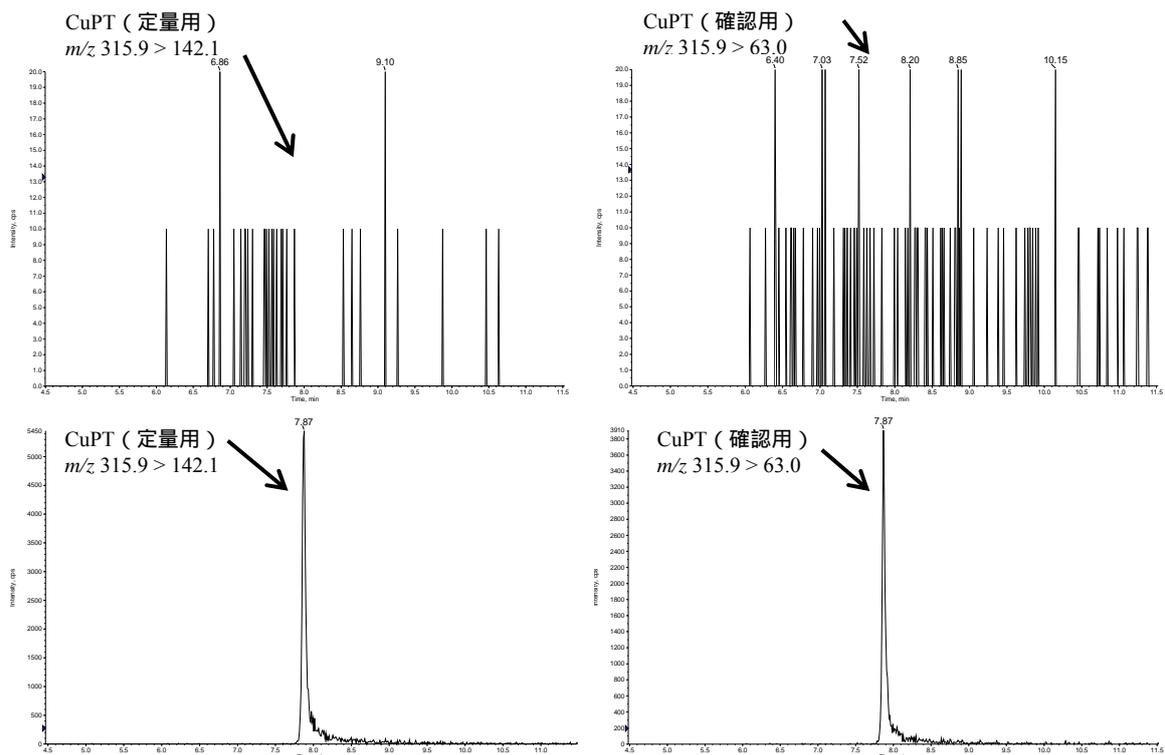


図9 添加回収試験試料（海水）のクロマトグラム
（上図：無添加、下図：300 ng 添加）

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験の結果を表8に示す。

明所では1日後には約50%まで減少し、7日後には22%まで減少した。暗所ではpH9で比較的安定であった。

表8 分解性スクリーニング試験結果

pH	試験数	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	1時間後の 残存率 (%)	1日間後の 残存率 (%)		3日間後の 残存率 (%)		7日間後の 残存率 (%)	
				暗所	明所	暗所	明所	暗所	明所
5	2	2	80	61	-	68	-	54	-
7	2	2	86	70	53	76	55	59	22
9	2	2	87	73	-	78	-	77	-

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表9に示す。

河川水、海水の保存性試験は各試料3Lに6 μg のCuPTを添加し、100mL容PP製容器に分取し、満水で冷蔵保存した。なお、初期濃度はCuPTを添加して

直ちに前処理に供して得られた結果である。

抽出液については、河川水、海水の保存性試験における初期濃度測定時の抽出液を冷蔵保存し、3日後および7日後に測定した。

CuPTは海水中では1日後であっても残存率が59%と低く、従って採取後直ちに抽出する必要がある。

表9 保存性試験結果

試料名	初期濃度 ¹⁾ (µg/L)	残存率 (%)					
		1日間	3日間	7日間	14日間	21日間	
河川水	試料	1.42	97	85	86	-	-
	抽出液	1.42	-	90	97	-	-
海水	試料	1.11	59	28	0	-	-
	抽出液	1.11	-	104	105	-	-
標準液	MDLの5倍程度	30.0	-	107	105	101	109
	MDLの10倍程度	100	-	94	86	101	106
	検量線最高濃度	500	-	107	98	103	94

1) 初期濃度は各試料3Lに6µgのCuPTを添加して直ちに前処理に供して得られた結果である。

【LCカラムの検討】

LCのカラムについて検討を行った。検討したカラムは以下の四種類である。各カラムを使用して得られたクロマトグラムを図10に示す。

1. GL Sciences 製 Inertsil ODS-SP 2.1 × 150 mm, 3 µm
2. 東ソー製 TSKgel Ocradecyl-2PW 2.0 × 150 mm, 5 µm
3. GL Sciences 製 Inertsil C4 2.1 × 150 mm, 5 µm
4. GL Sciences 製 Inertsil C8-3 2.1 × 150 mm, 5 µm

1.はCuPTとの相互作用が強く、ピーク形状が不良であった。
2.は1.と同様にオクタデシル基を官能基とするが、ポリマー系の基材を使用したカラムであることから、シリカゲルベースの1.と比較すると金属不純物の影響は受けにくいと考えられる。そのため、ピーク形状は1.と比較すると改善されたが、ピーク強度が3.、4.と比較して小さかった。

3.によって得られるピークは4.と比較してテーリングの程度は同程度であるが、リーディングが改善されたことから、3.を選択した。

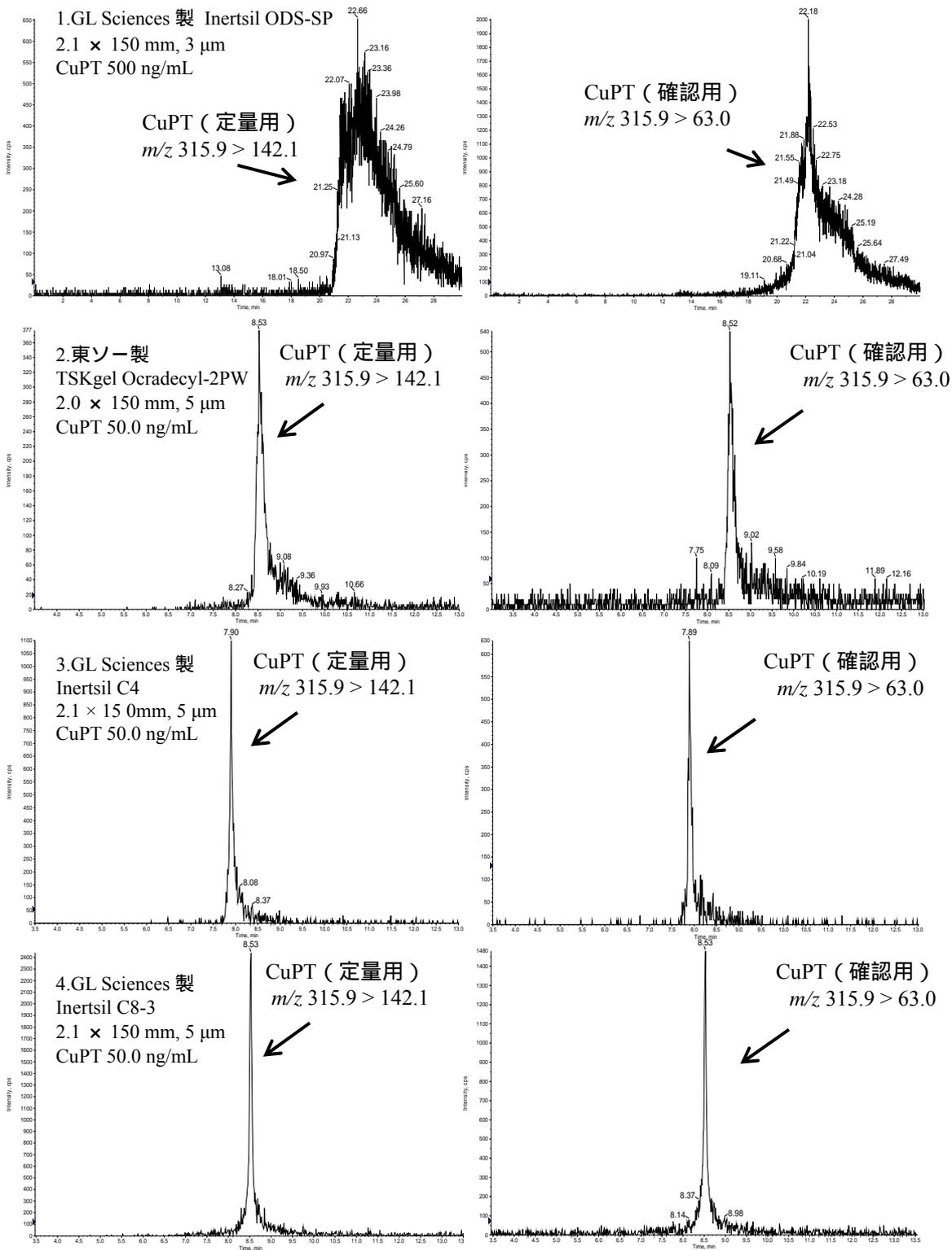


図 10 CuPT のクロマトグラム (LC カラムの比較)

〔ZnPT の LC 流路系内での挙動〕

ZnPT は、LC カラムや移動相に含まれる銅と反応し、CuPT として検出されると報告されている²⁾。そこで、ZnPT 標準液を用いて、LC 流路系内での挙動について確認した。

図 11 及び図 12 に ZnPT のマススペクトルを示す。1000 ng/mL 標準液を質量分析計に直接導入することで、ZnPT のプロトン付加イオンのピーク (m/z 316.8) が確認された。また、ZnPT のプロダクトイオンも確認されたことから、質量分析計の最適化を実施し、表 10 に示す測定条件を得た。

次に、ZnPT 標準液 (30.0 ng/mL, 100 ng/mL, 300 ng/mL) について表 10 に示すモニターイオンと CuPT を同時に測定し、検出されるイオンを確認した。図 13 に ZnPT 標準液のクロマトグラムを示す。ZnPT 単独の標準液にも関わらず、30.0 ng/mL では ZnPT (m/z 316.9 > 78.2) は検出されず、CuPT (m/z 315.9 > 142.1) のみが検出された。100 ng/mL 及び 300 ng/mL ではわずかに ZnPT として検出されたが、圧倒的に CuPT (m/z 315.9 > 142.1) として検出された。カラムを外した状態でオートサンプラーを用いたフローインジェクションでの測定も試みたが同様の結果であった。この結果は、カラムの有無に関わらず、オートサンプラーから MS 導入部に至る LC の流路系内で ZnPT が CuPT に容易に変化する事を示唆している。

従って、ZnPT を LC/MS/MS を用いて分離し、CuPT のみを測定することは困難であると判断されることから、試料の前処理の段階で、ZnPT を除去する必要がある。

表 10 ZnPT 直接測定のための MS 条件

物質名		モニターイオン (m/z)	ドリフト電圧 (V)	コリジョン エネルギー (V)
ZnPT	定量用	316.9 > 78.2	26	69
	確認用	316.9 > 174.1	26	23

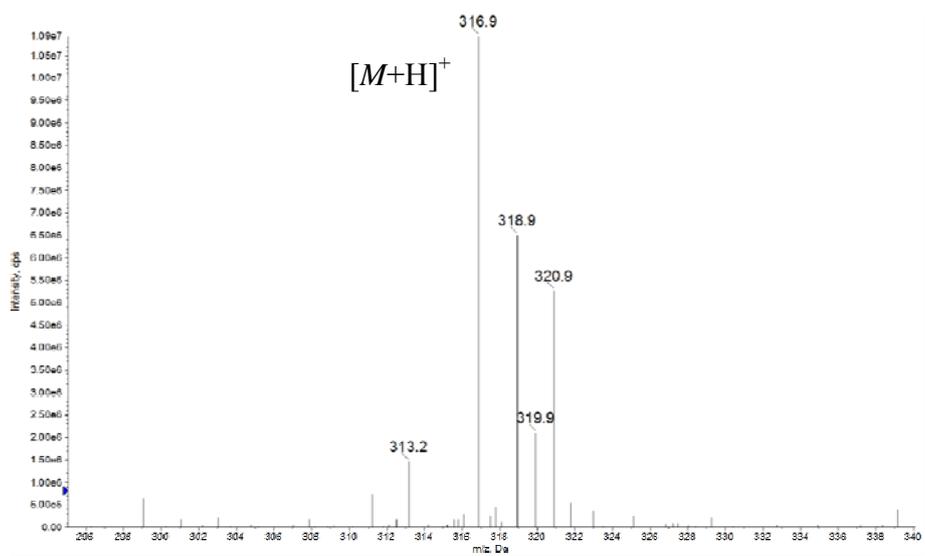


図 11 ZnPT のプレカーサーイオンマススペクトル

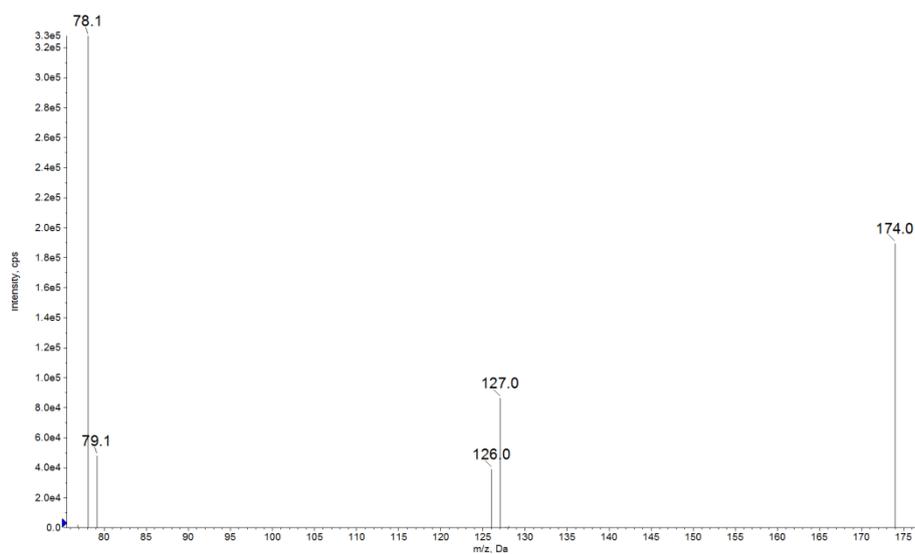
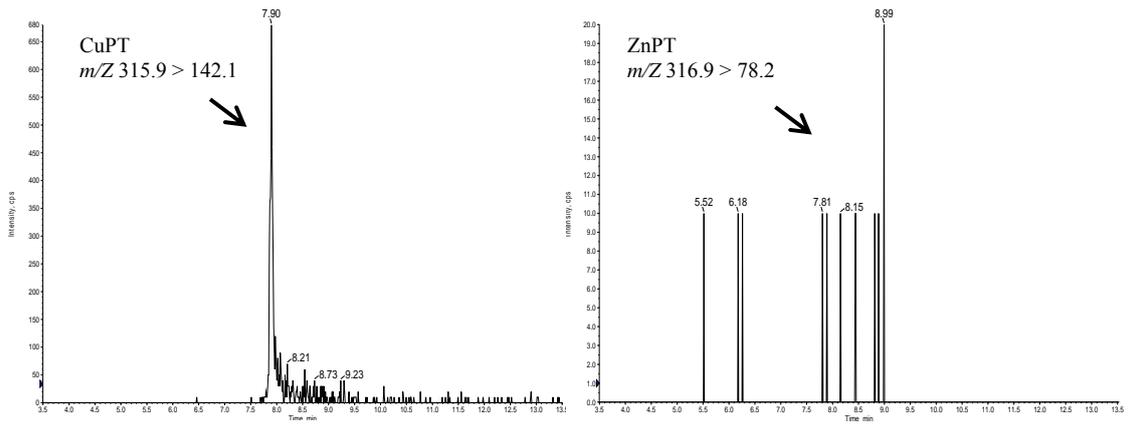
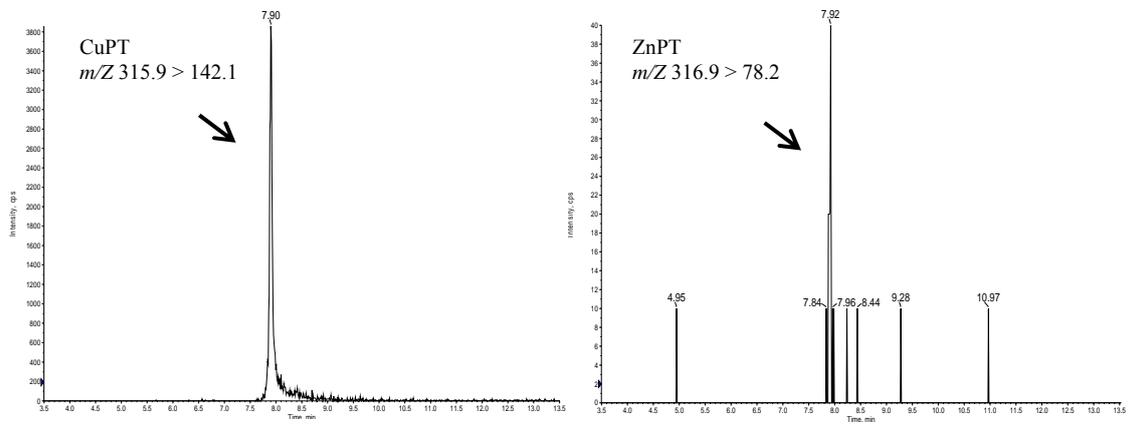


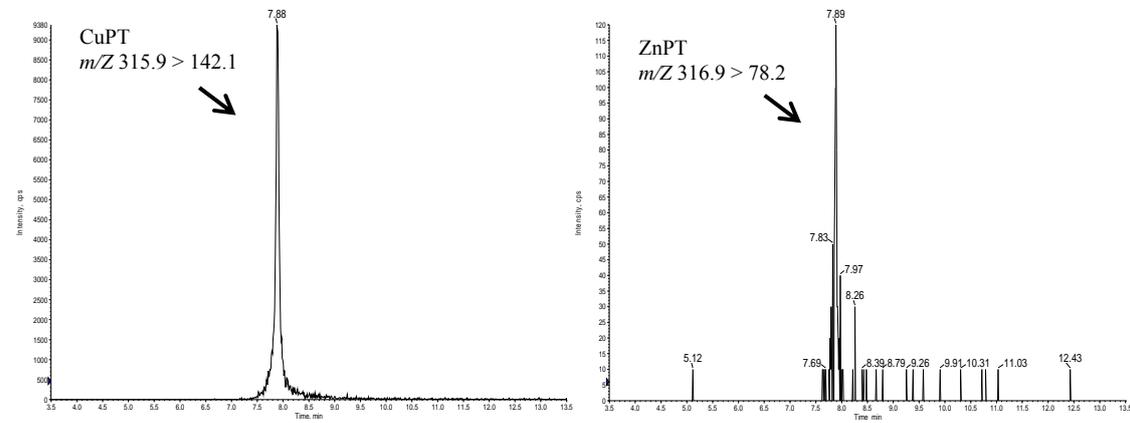
図 12 ZnPT のプロダクトイオンマススペクトル
(プレカーサーイオン : m/z 316.8)



ZnPT 標準液 30.0 ng/mL



ZnPT 標準液 100 ng/mL



ZnPT 標準液 300 ng/mL

図 13 ZnPT 標準液のクロマトグラム

〔洗浄による ZnPT 除去条件検討〕

ZnPT の $\log P_{ow}$ は 0.9 であり³⁾、CuPT($\log P_{ow}$ 2.84)と比較して疎水性相互作用が弱いと考えられる。この点に着目し、固相抽出した後、固相カートリッジを洗浄し、ZnPT を除去する方法を検討した。

(1) 固相カートリッジの検討

まず、固相カートリッジの検討を行った。逆相系の固相である Waters 製 Sep-Pak Plus tC18、C8、PS-2 を選定した。さらに、CuPT は金属錯体であることから一部試料中で解離していることが想定されるため、親油性基と親水性基を併せ持つ Oasis HLB についても検討を行った。各固相をアセトン 5 mL、精製水 10 mL でコンディショニングした後、精製水 50 mL に CuPT 50 ng を添加した試料を通水し、精製水 20 mL で洗浄し、アセトン 5 mL で溶出した時の回収率を図 14 に示す。結果は、tC18 が検討したカートリッジの中で最も良く、次いで HLB であった。

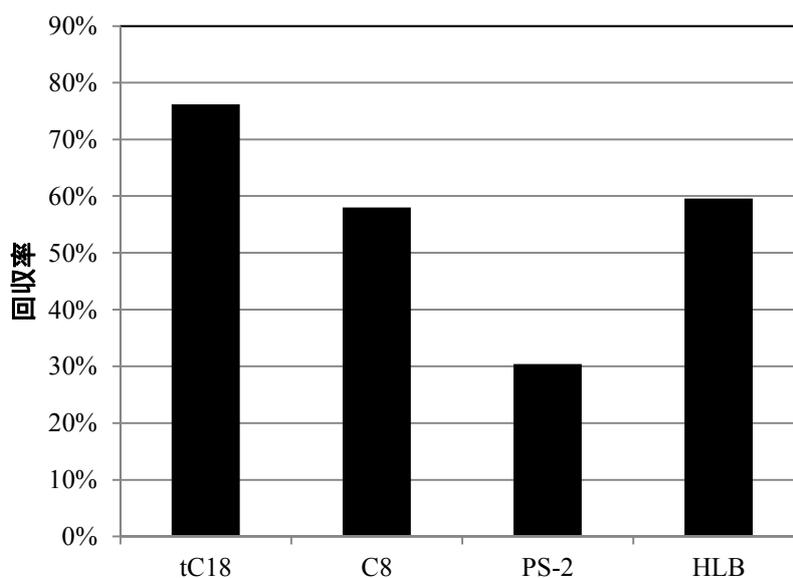


図 14 各カートリッジの CuPT 回収率

(2) 異なる pH 条件下での固相抽出における CuPT 及び ZnPT の挙動確認

回収率が相対的に高かった tC18 及び HLB を用いて、pH 条件を変えて固相抽出時の CuPT と ZnPT の挙動を確認した。

pH を 4 または 10 に調整した精製水及び未調整の精製水 100 mL に CuPT 100 ng、ZnPT 100 ng を別々に添加し、tC18 及び HLB で抽出を行った。抽出操作は (1) と同様である。

図 15 に CuPT と ZnPT の回収率を示す。CuPT は pH10 では検出されなかった。また、pH4 では回収率が低下したことから、pH は中性付近が最適であることが示唆された。

一方、ZnPT はどの条件においても ZnPT としてだけでなく、〔ZnPT の LC 流路系内での挙動〕で述べた CuPT としても検出されなかったことから、tC18 及び HLB では ZnPT を十分に保持できない、あるいは保持力が強いためにアセトン 5 mL では溶出できないことが示唆された。

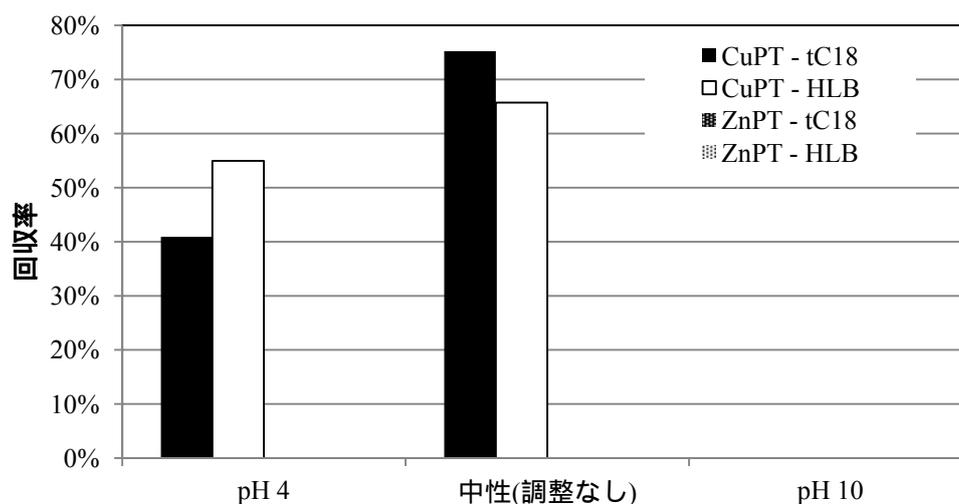


図 15 試料の pH による CuPT および ZnPT 回収率

(3) ZnPT 高濃度含有試料の測定

(2) より 1 $\mu\text{g/L}$ 程度の ZnPT であれば、CuPT 単独での抽出が可能であった。そこで更に高濃度の ZnPT を含有する試料に適応可能か確認を行った。

まず、ZnPT の環境中濃度は実測値のデータがほとんどないことから、公共用水域水質測定結果の全亜鉛濃度を参考に、ZnPT の環境中で想定される最大濃度を見積もった。

公共用水域における全亜鉛濃度の最大値は 0.14 mg/L であり⁴⁾、仮に全亜鉛が全て ZnPT によるものであると仮定すると、その濃度は 680 $\mu\text{g/L}$ となる。更に安全側に見積もって、ZnPT の想定される最大濃度を 1000 $\mu\text{g/L}$ とした。

次に、精製水 100 mL に ZnPT を 1 μg 、10 μg 、100 μg 添加し、tC18 を用いて固相抽出を行った。抽出操作は (1) と同様である。

測定結果を表 11 に示す。ZnPT 濃度 10 $\mu\text{g/L}$ では検出されなかったことから、試料中の ZnPT が CuPT の定量値へ及ぼす影響は極めて小さいと考えられる。しかし、100 $\mu\text{g/L}$ 、1000 $\mu\text{g/L}$ では相当量の ZnPT が抽出され、CuPT として検出された。

表 11 ZnPT 高濃度含有試料の測定結果

試料名	試料量 (mL)	ZnPT 添加量 (μg)	ZnPT 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	ZnPT 回収率 (%)
精製水	100	1.0	10	<0.060	0
	100	10	100	25	25
	100	100	1000	570	57

(4) 固相カートリッジ洗浄条件の検討

ZnPT 高濃度含有試料に適応するため、固相カートリッジ洗浄条件を検討した。

ZnPT 100 μg を添加した精製水 100 mL を tC18 を用いて固相抽出を行った後、洗浄溶媒としてメタノール水溶液を通水し、抽出された ZnPT の除去を試みた。洗浄溶媒のメタノール濃度、通液量、及び結果を表 12 に示す。

メタノール濃度が高いほど、また通液量が多いほど ZnPT が低減することがわかった。

一方、CuPT は 30%メタノール水溶液から回収率が著しく低下した。そこで、洗浄溶媒は 20%メタノール水溶液とし、通液量は前処理の操作性を考慮して、100 mL (50 mL \times 2) とした。

表 12 各洗浄溶媒使用時の ZnPT 残留濃度及び CuPT 回収率

洗浄溶媒	通液量 (mL)	ZnPT 残留濃度 ¹⁾ ($\mu\text{g/L}$)	CuPT 回収率 ²⁾ (%)
超純水	50	470	61
10%メタノール	50	310	71
10%メタノール	100	1.5	68
10%メタノール	200	0.52	60
15%メタノール	100	0.51	64
15%メタノール	200	0.34	61
20%メタノール	50	2.3	73
20%メタノール	100	0.27	60
20%メタノール	200	0.22	65
30%メタノール	50	0.43	69
30%メタノール	100	0.20	20
40%メタノール	50	<0.060	21
50%メタノール	50	<0.060	0

1) ZnPT 濃度 1,000 $\mu\text{g/L}$ 精製水を tC18 に通水し、各洗浄溶媒で洗浄した後、溶出された ZnPT 濃度

2) CuPT 濃度 0.1 $\mu\text{g/L}$ 精製水を抽出後、同様に洗浄した時の回収率

〔金属不純物の影響〕

CuPT は金属錯体であることから、金属不純物による分析精度への影響が大きいことが考えられる。また、抽出までの過程で銅の混在が生じた場合、試料中の ZnPT と置換反応を起こし、CuPT として抽出される可能性がある。そのため、使用する器具は硝酸槽（硝酸/精製水 (1:10)）に浸漬して金属を除去し、また可能な限りガラス器具の使用を避けることが望ましい。

また、使用する固相カートリッジはロットによって含まれる金属不純物の量が異なることが想定される。そのため、コンディショニングの際にアセトン 5 mL を通液した後、0.1 mol/L 硝酸 15 mL を通液し、固相カートリッジ内の金属不純物を除去する。さらに pH が低いと回収率が低下する傾向にあるため、精製水 100 mL を 2 回に分けて通液し、カートリッジ内の酸を十分に除去する必要がある。

〔環境試料の分析〕

本法を用いて、京都府下の河川（木津川、宇治川、桂川）及び石川県金沢市沿岸の海水を測定した結果、CuPT はいずれも MDL 未満であった（図 16）。

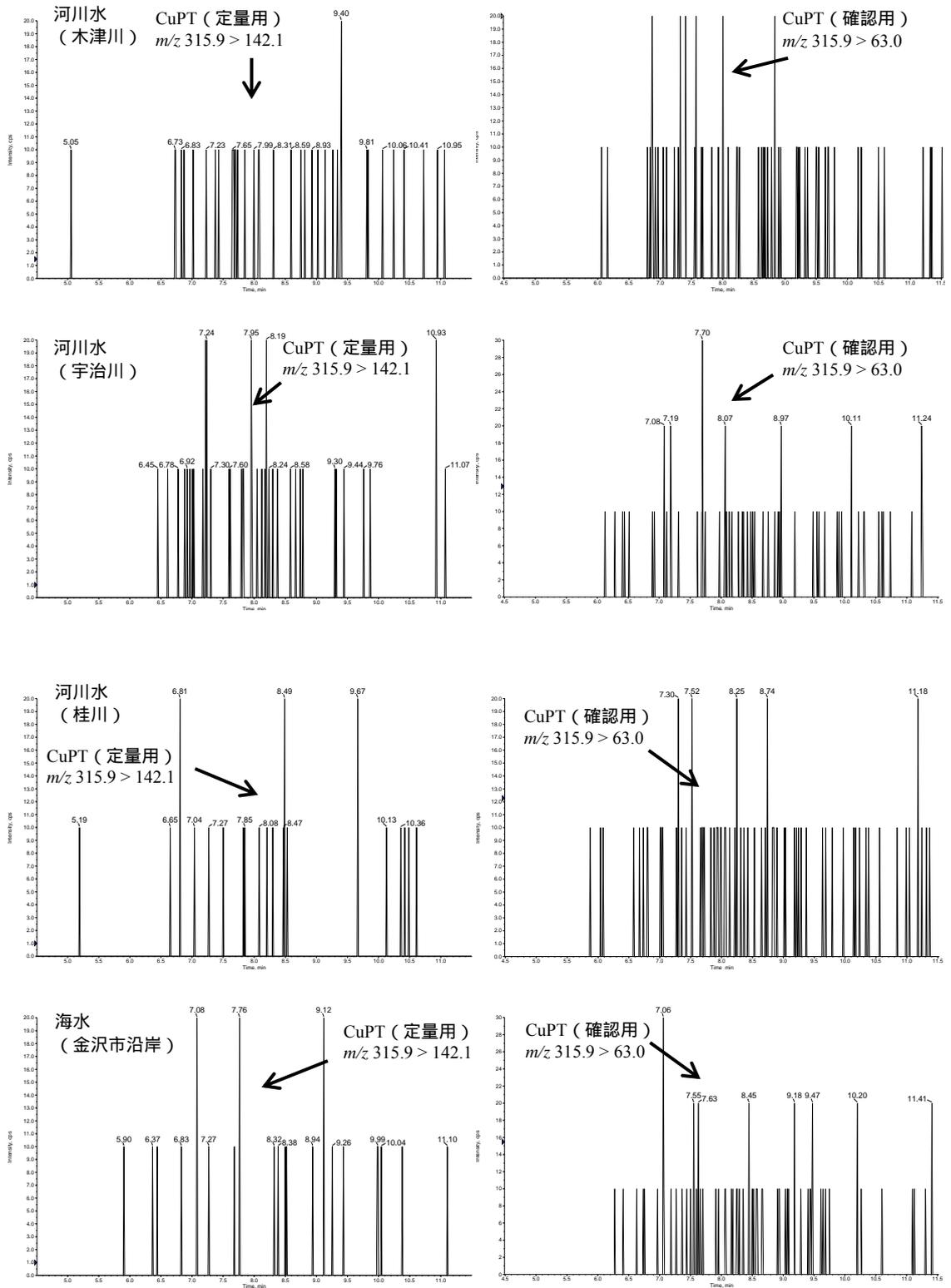


図 16 環境試料のクロマトグラム

【評価】

本分析法における CuPT の MDL は 0.060 µg/L、MQL は 0.15 µg/L であった。河川水 100 mL に対象物質を 200 ng 添加した時の回収率は 75 % (変動係数 8.1 %)、海水 100 mL に対象物質を 300 ng 添加した時の回収率は 45 % (変動係数 9.3 %) であった。ただし、試料中に共存物質として ZnPT が 1000 µg/L 含まれる場合、0.3 µg/L 程度の ZnPT が CuPT として検出されるため、注意が必要である。一方、ZnPT 濃度が 10 µg/L 以下の試料では、CuPT 定量値への影響は極めて小さいと推測される。

環境試料から CuPT は検出されなかった。

【参考文献】

- 1) 環境省環境保健部環境安全課：ビス(2-チオピリジノナト)銅() (大阪市立環境科学研究所)，平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書，126-140 (1998)
- 2) 環境省環境保健部環境安全課：ジンクピリチオンおよび銅ピリチオン (大阪市立環境科学研究所)，平成 11 年度化学物質分析法開発調査報告書，157-171 (2000)
- 3) sigma-aldrich.com：MSDS 1-Hydroxypyridine-2-thione zinc salt
- 4) 環境省水・大気環境局：平成 24 年度公共用水域水質測定結果

【担当者連絡先】

所属先名称：株式会社島津テクノリサーチ 分析研究センター

所属先住所：〒604-8436 京都市中京区西ノ京下合町 1 番地

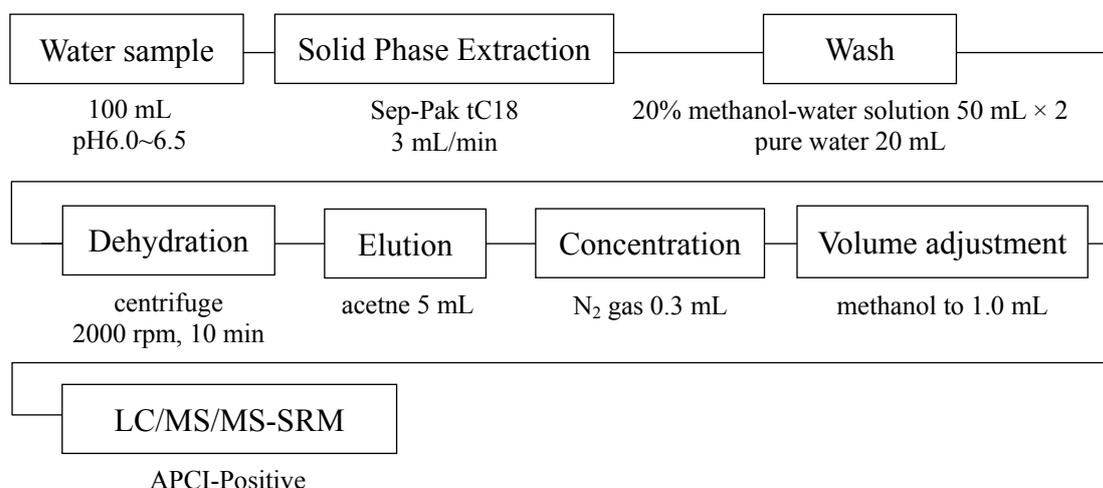
TEL：075-811-3181 FAX：075-821-7837

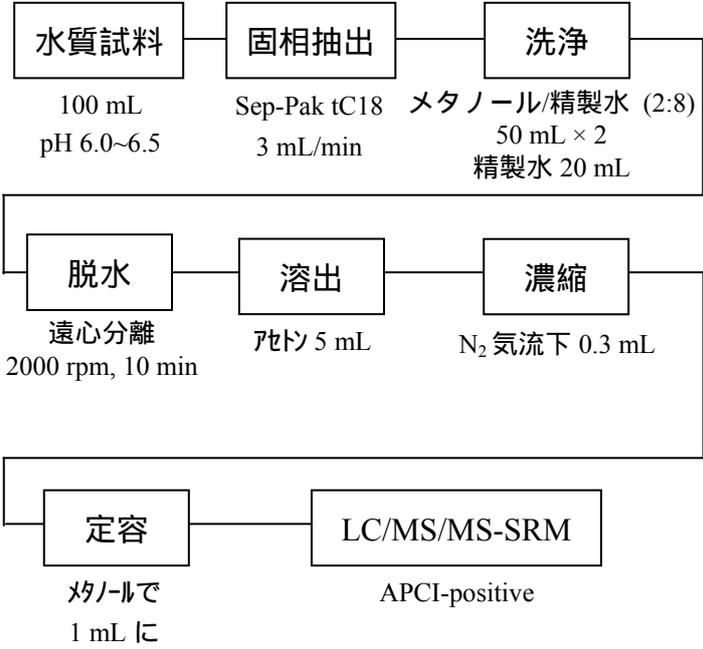
担当者名：峯 孝樹

E-mail：t_mine00@shimadzu-techno.co.jp

1,2-Bis(1-hydroxy-1H-pyridine-2-thionato-*O,S*)copper

This method provides procedures for the determination of 1,2-Bis(1-hydroxy-1H-pyridine-2-thionato-*O,S*)copper (CuPT) in water samples by liquid chromatography / tandem quadrupole mass spectrometry (LC/MS/MS). Positive APCI (Atmospheric pressure chemical ionization) mode is selected in this method. Following the pH adjusting during 6 to 6.5, 100 mL of water sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Sep-Pak plus tC18) at a flow rate of 3 mL/min. The cartridge is washed twice with 50 mL of 20% methanol-water solution in order to remove zinc pyrithione which is captured into the cartridge, because zinc pyrithione is transferred to CuPT in LC system, easily. Then, the cartridge is washed with 20 mL of pure water. The cartridge is dehydrated by centrifuge (2000 rpm, 10 min). And the analyte is eluted with 5 mL of acetone. The eluate is concentrated to 0.3 mL under gentle stream of nitrogen gas. The concentrated eluate is adjusted volume to 1 mL by methanol and applied to LC/MS/MS-SRM. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 0.060 and 0.15 $\mu\text{g/L}$, respectively. The average of recoveries ($n = 7$) from 200 ng of CuPT added to 0.1 L of river water was 75 %, and the relative standard deviation was 8.1%. Similarly, the average recoveries ($n=7$) from 300 ng of CuPT added to 0.1L of seawater was 45%, and the relative standard deviation was 9.3%. It is necessary to care that if the water sample includes 1000 $\mu\text{g/L}$ of zinc pyrithione (ZnPT), about 0.3 $\mu\text{g/L}$ of ZnPT is detected as CuPT. The influence of ZnPT on CuPT concentration is very limited when the concentration of ZnPT is less than 10 $\mu\text{g/L}$. When apply this method for actual surface water, the target compound was not detected.



物質名	分析法フローチャート	備考
<p>1,2-ビス (2-スル フィドピ リジン-1- オラト) 銅</p> <p>別名： 銅パー ピリチオ ン、 銅ピリチ オン、 Copper pyrithione</p>	<p>【水質】</p>  <pre> graph TD A["水質試料 100 mL pH 6.0~6.5"] --> B["固相抽出 Sep-Pak tC18 3 mL/min"] B --> C["洗浄 メタノール/精製水 (2:8) 50 mL × 2 精製水 20 mL"] C --> D["脱水 遠心分離 2000 rpm, 10 min"] D --> E["溶出 アセトン 5 mL"] E --> F["濃縮 N₂ 気流下 0.3 mL"] F --> G["定容 メタノールで 1 mL に"] G --> H["LC/MS/MS-SRM APCI-positive"] </pre>	<p>分析原理： LC/MS/MS-SRM APCI positive</p> <p>検出下限値： 【水質】(μg/L) 0.060</p> <p>分析条件：</p> <p>機器 LC：SHIMADZU Prominence MS：API-3200</p> <p>カラム Inertsil C4 150 mm×2.1 mm, 5 μm</p>