

ポストカラム蛍光誘導体化を用いた逆相高速液体クロマトグラフィーによる繊維製品中のジアルキルスズ化合物の定量

中島晴信[®], 堀 伸二郎, 岩上正蔵*, 中澤裕之, 藤田昌彦**

(1987年7月13日受理)

ポリ塩化ビニルの安定剤やナイロンの劣化防止剤, 重合触媒として家庭用品に用いられているジアルキルスズ化合物の分析法を, 逆相 HPLC を用いて検討した. 分離カラムにポリメタクリレート系の Shodex RSpak DE-613, 移動相に 10 mM リン酸-カリウム緩衝液 (pH 2.3)-メタノール (3:7) 混液を用いて 4 種のジアルキルスズ (メチル, エチル, プロピル, ブチル) を相互分離した. 又, これらの 4 種のジアルキルスズとジオクチルスズの分離は, カラムにポリビニルアルコール系の Asahipak GS-310H, 移動相に 10 mM リン酸-カリウム緩衝液 (pH 2.0)-メタノール (4:6) 混液を用いることによって達成した. 検出には, モリンを用いたポストカラム蛍光誘導体化法を適用し, いずれも ng レベルでの検出を可能とした. 繊維製品について分析法を検討し, 0.05% 塩酸-メタノールで抽出後, アルカリ性にしヘキサンで洗浄を行い, 再び酸性にしてヘキサン-酢酸エチル混液でメタノール相からジアルキルスズを抽出する簡単な操作で妨害なく各ジアルキルスズを測定できた. 本法により 1 試料 (おしめカバー) から 900 µg/g ものジブチルスズを検出すると共に, その不純物であるトリブチルスズが微量含まれていることを電子捕獲型検出器付き GC 及び GC/MS によって確認同定した.

1 緒言

有機スズ化合物は, ポリ塩化ビニル (PVC) の安定剤としての有用性が認められてから, 各種誘導体の合成とその応用が広がり, 現在広範な用途で用いられている¹⁾. これら化合物の生体影響の研究, 環境汚染調査などに, その存在形態も含めた分析法の開発が要求されている. そのために, TLC²⁾³⁾, AAS³⁾⁴⁾, GC^{5)~8)}, HPLC^{9)~12)} などの分析法が試みられているが, それらの方法は各々, 再現性, 操作性, 感度, 精度などに種々問題点が残っている. 今回, 分離分析法としては用いられている逆相 HPLC を用いたジアルキルスズ化合物分析法の検討を行い, 簡便, 迅速な方法を確立した. 更に, 家庭用品 (繊維製品) にその方法を応用したので報告する.

2 実験方法

2.1 試料及び試薬

試料には, 市販の防水加工を施したおしめカバー,

* 大阪府立公衆衛生研究所: 537 大阪府大阪市東成区中道 1-3-69

** 国立公衆衛生院: 108 東京都港区白金台 4-6-1

ナイロン地のストッキング及びパンティストッキング計 30 種を用いた.

塩化ジアルキルスズ標準溶液: 塩化ジメチルスズ (Stream Chemicals 製), 塩化ジエチルスズ (Alfa Products 製, 純度 97%), 塩化ジプロピルスズ (K&K 製), 塩化ジブチルスズ (東京化成工業製, 純度 97%), 塩化ジオクチルスズ (東京ファインケミカル製, 純度 95%), 各々 100.0 mg をメタノール 100 ml に溶解して標準原液を調製した後, メタノールで適宜希釈して用いた.

蛍光ラベル化剤は, 和光純薬工業製モリン (2', 3, 4', 5, 7-ペンタヒドロキシフラボン) 試薬をメタノールで希釈して用いた.

塩化トリブチルスズ標準溶液: 東京化成工業製塩化トリブチルスズ (純度 98%) 100.0 mg をヘキサン 100 ml に溶解したものを標準原液とし, 用時ヘキサンで希釈して用いた.

スズ標準溶液: 和光純薬工業製スズ標準溶液 (AAS 用, 1000 ppm) を適宜 3% 硝酸で希釈して用いた.

2.2 装置

HPLC 装置: 送液ポンプには柳本製 L-4000W 型, 蛍光ラベル化試薬送液ポンプには Eldex 製 A-30-S 型, 検出器には島津製蛍光検出器 RF-530 型を用いた. インジェクターは, Rheodyne 製 7125 型を用いた. 分離カラムには, 昭和電工製 Shodex RSpak DE-613 (150

mm×6 mm i.d.) 及び旭化成工業製 Asahipak GS-310H (250 mm×7.6 mm i.d.) を用いた。

電子捕獲型検出器 (ECD) 付き GC 装置：島津製 7AG 型を用いた。

GC/MS 装置：日本電子製 JMS-DX300 型に Hewlett Packard 製 5710A 型の GC 装置を装着したものを使用した。

AAS 装置：日本ジャーレル・アッシュ製 AA-450 型に同社製 FLA-100 型フレイムレス装置を装着したものを使用した。

2.3 定量法

2.3.1 試験溶液の調製 試料 1.0 g を 200 ml のナス型フラスコに採り、0.05% 塩酸-メタノール 75 ml で 30 分間還流抽出する。細孔番号 G-2 のガラスフィルターで抽出液を吸引濾過し、残留物及びガラス器具を 25 ml のメタノールで洗浄し、洗液を濾液に加える。抽出濾液を 500 ml の分液漏斗に移し、1 M 水酸化ナトリウム 10 ml を加え、ヘキサン 20 ml で 2 回洗浄する。次いで、メタノール相に、蒸留水 125 ml、濃塩酸 15 ml、塩化ナトリウム 15 g を加え、ヘキサン-酢酸エチル混液 150 ml で 3 回抽出する。抽出溶媒中の酢酸エチルの混合比率は、ジメチルスズを分析目的とするなら 90~100% とし、ジエチル及びジプロピルなら 80~90%、ジブチルなら 60~80%、ジオクチルなら 50~60% とする。抽出液（ヘキサン-酢酸エチル混液）を無水硫酸ナトリウムで脱水後、ガラスフィルターで濾過し、濾液をナス型フラスコに採りロータリーエバポレーターで溶媒を留去後、残留物を HPLC の移動相に溶解し HPLC 試験溶液とする。

2.3.2 HPLC 条件 分離カラムに Asahipak GS-310H を用い、10 mM リン酸-カリウム緩衝液 (pH 2.0)-メタノール (60:40) 混液を移動相として、ジオクチルスズと他の 4 種のジアルキルスズ (メチル, エチル, プロピル, ブチル) との分離を行う。0.005% モリノ-メタノール溶液をポストカラム蛍光誘導体化試薬として反応させ、 $E_x=420$ nm, $E_m=500$ nm の波長により蛍光検出器で測定する。ジオクチルスズ濃度は、この条件でピーク面積法による検量線より求める。

分離カラムに Shodex RSpak DE-613 を用い、10 mM リン酸-カリウム緩衝液 (pH 2.3)-メタノール (30:70) 混液を移動相として、他の 4 種のジアルキルスズの分離を行い、各々ピーク面積法により求めた検量線により濃度を求める。

2.3.3 AAS によるスズの定量 有機スズが検出された場合は AAS でスズ量を定量する。2.3.1 に述べた

操作に従ってヘキサン-酢酸エチル抽出液の溶媒を留去後、残留物に硝酸 2 ml を加え還流冷却器を取り付けて直火で穏やかに加熱して灰化する。3% 硝酸 15 ml でガラス器具を洗浄後蒸留水で 20 ml に定容し試験溶液とする。濃度が濃い場合には適宜 3% 硝酸で希釈する。AAS の測定は、波長 286.3 nm, 乾燥条件 150 °C (20 s), 灰化条件 610 °C (50 s), 原子化条件 2710 °C (10 s), アルゴン流量 3 l/min の条件で行う。あらかじめ求めた検量線によりスズ濃度を求める。

2.4 トリブチルスズの確認

既報¹³⁾¹⁴⁾に基づき、ECD-GC 及び GC/MS を用いてトリブチルスズの確認及び定量を行う。

3 結果及び考察

3.1 HPLC 条件の検討

3.1.1 ジメチル, ジエチル, ジプロピル及びジブチルスズの HPLC による相互分離 固定相としてシリカ系及びポーラスポリマー系の充てん剤について検討した。シリカ系では C2 (LiChrosorb RP-2 5 µm Merck 製), C6 (Spherisorb C6 5 µm Phase Sep 製), C8 (UnisilQ C8 10 µm ガスクロ工業製, Chemcosorb 7C8 7 µm ケムコ製), C18 (LiChrosorb RP-18 5 µm Merck 製, Inertsil ODS 5 µm ガスクロ工業製, Diasil C18 5 µm 日本クロマト製, Chemcosorb 7-ODS-H 7 µm ケムコ製) などを用いたが相互分離が悪く、テリングもあり良好な結果が得られなかった。又、ポーラスポリマー系のうちポリスチレン系カラム {昭和電工製 Shodex RSpak DS-613 (150 mm×6 mm i. d.), Polymer Laboratories 製 PLRP-S 5 µm 100A (150 mm×4.6 mm i. d.)} ではシリカ系と同様に良好な結果が得られなかったが、ポリメタクリレートカラム {昭和電工製 Shodex RSpak DE-613 (150 mm×6 mm i. d.)} を用いたところ 4 種のジアルキルスズ (メチル, エチル, プロピル及びブチル) が良好に相互分離ができた。しかし、この充てん剤ではジオクチルスズはカラムに吸着されたままで溶出してこなかった。

一方、移動相については、有機溶媒と酸性緩衝液との組み合わせで検討した。すなわち、有機溶媒としてメタノール, アセトニトリル, テトラヒドロフラン及びイソプロピルアルコールを用い、酸性緩衝液として酢酸塩, リン酸塩, シュウ酸塩及びリン酸-クエン酸の各緩衝液を用いた。その結果メタノール-リン酸塩緩衝液の組み合わせが最もピーク形状の良いクロマトグラムを与えることが分かった。そこでその混合比及び pH を検討した

ところ Fig. 1 に示したようにメタノール-リン酸塩緩衝液 (pH 2.3)=70:30 で最も良い分離結果が得られた。更に、アルキルスズは上記の移動相中ではイオン化するためにピークの形状が悪くなると考えられたので、これを抑制するためにイオン対試薬 (東京化成工業製のペンタンスルホン酸ナトリウム, ヘキサンスルホン酸ナトリウム及びオクタンスルホン酸ナトリウムを用いた) を移動相に添加してみたが何らの効果も認められなかった。

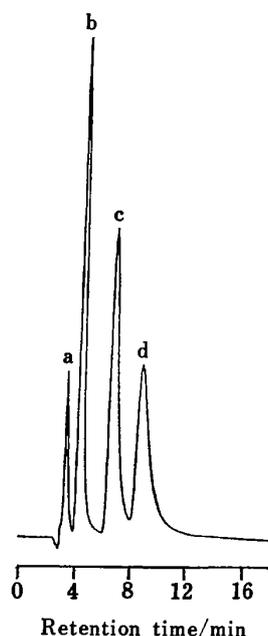


Fig. 1 HPLC chromatogram of a mixture of dialkyltin compounds (methyl, ethyl, propyl, butyl)

Operating conditions for HPLC—Column: Shodex RSpak DE-613 (150 mm×6 mm i.d.); Mobile phase: methanol/0.01 M KH_2PO_4 (pH 2.3)=7/3, flow rate: 1 ml/min; Labeling reagent: 0.005% Morin in methanol, flow rate: 0.5 ml/min; Detection: fluorescence detector, wavelength $\text{Ex}=420$ nm, $\text{Em}=500$ nm. Peaks—a: methyl, b: ethyl, c: propyl, d: butyl

3.1.2 ジオクチルスズの分析 ポリメタクリレートカラムで分析不可能なジオクチルスズは、ポリビニルアルコールコポリマー (PVA) カラム {旭化成工業製 Asahipak GS-310H (250 mm×7.6 mm i. d.)} で他の4種類のジアルキルスズと相互分離ができた。移動相としてメタノール-リン酸塩緩衝液 (pH 2.0)=60:40 を用いたときに最も良い分離結果が得られた。そのクロマトグラムを Fig. 2 に示した。

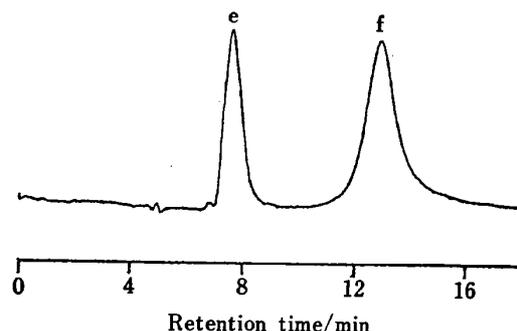


Fig. 2 HPLC chromatogram of a mixture of dialkyltin compounds (butyl, octyl)

Operating conditions for HPLC—Column: Asahipak GS-310H (250 mm×7.6 mm i. d.); Mobile phase: methanol/0.01 M KH_2PO_4 (pH 2.0)=6/4, flow rate: 1 ml/min; Labeling reagent: 0.005% Morin in methanol, flow rate: 0.5 ml/min; Detection: fluorescence detector, wavelength $\text{Ex}=420$ nm, $\text{Em}=500$ nm. Peaks—e: butyl, f: octyl

3.1.3 ジアルキルスズの検出法 有機スズの検出法としてこれまでに、UV 検出器¹¹⁾, 電気化学検出器¹²⁾などを用いた報告があるがいずれも感度及び再現性の点で問題があった。又、Yu らは順相系のシアノプロピルカラムによる分離後にモリン試薬によるポストカラム蛍光ラベル化法を適用した高感度かつ選択的な分析法を報告している⁹⁾。しかし、なおカラムの劣化及び再現性の面で問題が残っている。そこで今回このモリン試薬による検出法をはん用性の高い逆相系にも適用できるかどうか検討したところ、この系でも十分利用できることが分かった。検出感度は酸性緩衝液としてリン酸塩緩衝液を用いた場合が高かった。検出限界は $S/N=3$ としてそれぞれジメチル (4.5 ng), ジエチル (1.8 ng), ジプロピル (2.6 ng), ジブチル (6.0 ng) 及びジオクチル (40 ng) であった。

3.1.4 検量線 ジメチル, ジエチル, ジプロピル, ジブチルスズとも 0.1~1.0 ppm の範囲で原点を通る良好な直線性を示した。又, ジオクチルスズは 1.0~10 ppm の範囲で原点を通る良好な直線性を示した。

3.2 前処理方法の検討

3.2.1 クリーンアップ法 家庭用品は多種多様で, 様々な共存物質を含むものも多くあり, クリーンアップ操作をしないで抽出液をそのまま分析した場合には, 分析対象品によってはカラムの劣化が懸念される。そこでヘキサンによる共存物質の除去について検討を行った。すなわち, 還流抽出して得られた塩酸-メタノール溶液

を水酸化ナトリウムでアルカリ性とした後、ヘキサン 20 ml で 2 回メタノール相を洗浄することとした。このヘキサン相からはいずれのジアルキルスズも検出されず、ほとんどすべてがメタノール相に残存していることが分かった。従ってこのクリーンアップ操作を行うことにより家庭用品を対象とした分析法にも本法の適用が可能と思われる。

3.2.2 抽出溶媒 ジアルキルスズはそれぞれ極性が異なるため、メタノール相から各ジアルキルスズを抽出するためのヘキサン-酢酸エチル混合溶液の最適混合比も各々異なる。そこで、ヘキサン-酢酸エチル混合溶液の最適な抽出効率を示す割合を検討した。良好な抽出効率を与える酢酸エチルの比率は、それぞれジメチルスズが 90~100% (抽出効率 85%)、ジエチルスズが 90% (抽出効率 87%)、ジプロピルスズが 80% (抽出効率 98%)、ジブチルスズが 60~80% (抽出効率 97%)、ジオクチルスズが 50~60% (抽出効率 98%) であった。このことはアルキル基の炭素数の増加と共に極性が低くなるためと考えられる。よって分析目的のジアルキルスズに応じて酢酸エチルの比率を変えることとした。

3.3 添加回収実験

家庭用品の中で繊維製品によく用いられているジブチルスズを対象に添加回収実験を行った。すなわち、塩化ジブチルスズ 50 µg を、有機スズ化合物を含まないおしめカバー及びパンティストッキングに添加し、抽出溶媒の酢酸エチルの比率を 60% として添加回収実験を行った。その結果それぞれ 72.5%, 71.8% ($n=3$) の回収率が得られた。

3.4 市販製品の分析

ジブチルスズは繊維製品の重合触媒や安定剤として利用されている。本法を用いて市販繊維製品 30 試料の分析を行ったところ、1 試料 (おしめカバー) から 900 µg/g ものジブチルスズが検出された。そのクロマトグラムを Fig. 3 に示した。この値は AAS による分析値ともほぼ一致した。又、いずれの試料についても妨害ピークは認められなかった。

3.5 市販製品に混入したトリブチルスズの ECD-GC 及び CG/MS による確認

ジブチルスズが検出された場合、家庭用品に使用が禁止されている毒性の強いトリブチルスズがその不純物として混入している可能性がある。そこで今回ジブチルスズが検出されたおしめカバーについて、ECD-GC 及び

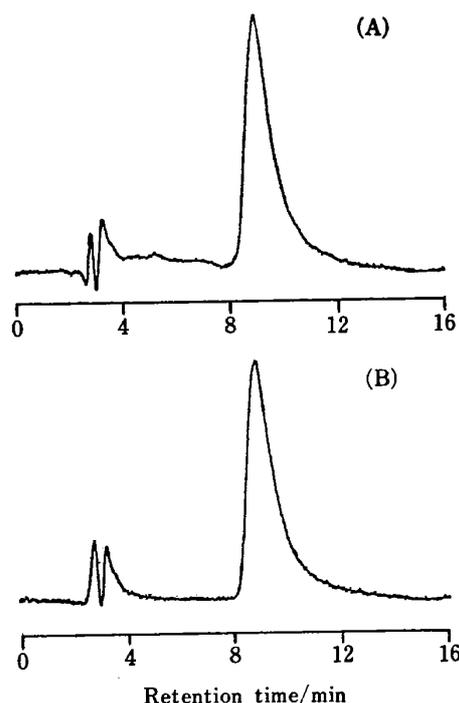


Fig. 3 HPLC chromatograms of dibutyltin in a diapercover sample (A) and dibutyltin standard solution (B)

Operating conditions for HPLC were the same as those in Fig. 1.

GC/MS¹³⁾¹⁴⁾によりトリブチルスズの確認を行った。その結果、微量 (4~5 µg/g) のトリブチルスズが検出された。

本論文の作成に当たり、静岡県磐田保健所石川雅章氏より適切なる御助言をいただきました。ここに謝して記します。

(1987年4月, 日本薬学会第107年会において一部発表)

文 献

- 1) C. J. Evans, S. Karpel: "Organotin Compounds in Modern Technology", (1985), (Elsevier Sci. Pub., Amsterdam).
- 2) H. Akagi, R. Takeshita, Y. Sakagami: 国立公衆衛生院報告, **19**, 185 (1970).
- 3) 小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭: 衛生化学, **25**, 141 (1979).
- 4) S. Kojima: *Analyst* (London), **104**, 660 (1979).
- 5) Y. Arakawa, O. Wada, T. H. Yu, H. Iwai: *J. Chromatogr.*, **216**, 209 (1981).
- 6) R. J. Maguire, H. Huneault: *J. Chromatogr.*, **209**, 458 (1981).
- 7) A. Woollins, W. R. Cullen: *Analyst* (London), **109**, 1527 (1984).
- 8) G. A. Junk, J. J. Richard: Abstract of Ocean's '86 Organotin Symposium, (1986), Washington, D. C.
- 9) T. H. Yu, Y. Arakawa: *J. Chromatogr.*, **258**,

189 (1983).

- 10) W. Langseth : *Talanta*, **31**, 975 (1984).
- 11) D. T. Burns, F Glockling, M. Harriott : *J. Chromatogr.*, **200**, 305 (1980).
- 12) W. A. MacCrehan : *Anal. Chem.*, **53**, 74, (1981).
- 13) 中島晴信, 松永一朗, 宮野直子: 大阪府立公衆衛生研究所報告, **21**, 41 (1983).
- 14) 中島晴信, 松永一朗: 大阪府立公衆衛生研究所報告, **22**, 47 (1984).

☆

Determination of dialkyltin compounds in textiles by reversed phase HPLC based on post-column fluorescence derivatization. Harunobu NAKASHIMA, Shinjiro HORI, Shozo IWAGAMI*, Hiroyuki NAKAZAWA and Masahiko FUJITA** (*Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69, Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka-shi, Osaka 537; **The Institute of Public Health, 4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108)

A simple, selective and highly sensitive method has been developed for the determination of dialkyltin compounds in textiles. Dialkyltin compounds (dimethyl, diethyl, dipropyl and dibutyl) were separated by reversed phase HPLC on a polymethacrylate column using 10 mM phosphate buffer (pH=2.3)-methanol (30 : 70) mixture as the mobile phase. Detection was made by a fluorescence detector with an excitation wavelength of 420 nm and an emission wavelength of 500 nm after postcolumn derivatization with Morin reagent. Dioctyltin was separated from the other dialkyltin compounds on a polyvinyl alcohol-copolymer

column using a 10 mM phosphate buffer (pH=2.0)-methanol (40 : 60) mixture as the mobile phase. The detection limits of dimethyl, diethyl, dipropyl, dibutyl and dioctyltin compounds were 4.5, 1.8, 2.6, 6.0 and 40 ng, respectively. Dialkyltin compounds were extracted from textiles with methanol containing 0.05% of hydrogen chloride. The extract was alkalized by sodium hydroxide and was washed with hexane. The methanolic phase was reacidified by hydrogen chloride and the dialkyltin compounds were extracted into hexane-ethyl acetate. After evaporating the organic solvent, the residue was dissolved in the mobile phase, and the solution applied to the HPLC. Dialkyltin compounds in textiles were successfully cleaned up by this preparation and determined by HPLC with good selectivity. Recoveries of dibutyltin dichloride added to various textiles at the amount of 50 µg were about 72% in average. A large amount of dibutyltin compounds was found in a diapercover (900 µg/g). And a small amount of tributyltin compounds could be detected in the same sample by ECD-GC and GC/MS, as an impurity in the dibutyltin compounds.

(Received July 13, 1987)

Keyword phrases

determination of dialkyltin compounds by reversed phase HPLC; detection by postcolumn fluorescence derivatization of dialkyltin compounds; determination of organotin compounds in textiles; clean-up by using liquid-liquid partition.

.....