

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 年 月 日現在

機関番号：82627

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21760675

研究課題名（和文） 防汚塗料起源の海洋中の銅物質挙動解明

研究課題名（英文） Analysis of copper compounds from antifouling paints on ship hull in seawater

研究代表者

山口 良隆 (YAMAGUCHI YOSHITAKA)

独立行政法人 海上技術安全研究所・海洋環境評価系・主任研究員

研究者番号：20344236

研究成果の概要（和文）：海水中の銅状態を把握するために、生物の毒性に関係する labile 銅と溶解している全銅の分析法の開発を行い、2010年から2012年にかけて東京湾を中心として銅濃度分布の実態調査を行った。東京湾での計測結果は、labile 銅が N.D. ～ 3.68 ppb、全銅が N.D. ～ 4.87 ppb であった。また東京湾では、labile 銅濃度の上昇が見られ、このエリアは船舶からの溶出した銅の影響を受けている可能性がある。また東京湾での labile 銅の最大値は、銅に敏感な生物の毒性値と同じレベルにあるので、今後も海洋中の銅について監視と管理が必要である。

研究成果の概要（英文）：For the purpose of the risk assessment of copper substances from ship hull paint, concentrations of copper species in seawater were investigated. Therefore, the analysis methods of labile and total dissolved copper were developed. Concentrations measurement of labile and total dissolved copper was performed from many places on Tokyo Bay and other bay in Japan from 2010 to 2012. The total dissolved copper concentrations ranged from N.D. to 4.87 ppb, with labile fraction ranging from N.D. to 3.68 ppb in Tokyo bay. In those results, the rise of labile copper concentration was seen at the Port of Tokyo. This area has a possibility of the influence of the copper eluted from the antifouling paint on vessel. The maximum of the detected labile copper in Tokyo Bay was on the near level as the toxic value of some living things sensitive to copper. The monitoring and the management of copper in seawater are also need in the future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：総合工学・船舶海洋

キーワード：銅、船底塗料、分析、環境、海洋

1. 研究開始当初の背景

船舶は、航行時に良い燃費を維持するために船底の抵抗増加をさせないシステムがある。その一つに船底塗料があり、メカニズム

として塗料より生物殺傷剤(biocide)を微量溶出させて付着生物を忌避させている[1]。1960年代より使用が始まった防汚塗料の biocide の中で有機スズ化合物のトリブチルズ

(TBT)類があり、その防汚性能がよいため集約し、多数の船舶が有機スズ化合物を使用した。その影響で有機スズ化合物が環境中に残留をしたために様々な環境汚染問題が発生した。その例として貝類の生殖から種の連続性にかかわる海洋汚染や海棲ほ乳類の体内への蓄積などがあげられる。これらの事態を受けて国際海事機関では「船舶の有害な防汚方法の規制に関する国際条約 (AFS 条約)」が批准、そして発効され、TBT 類を含む有機スズ化合物を biocide として使用することが禁止となった。それ以来、船底塗料に使用されている様々な biocide の水生生物に対するリスク評価を行う必要性が、非常に高まっている。

また AFS 条約発効後の状況として、船底用塗料中の biocide で製品数も多く [2]、絶対量としても多いものは亜酸化銅 (Cu_2O) であると言われている。また性能や規制で淘汰された biocide もあるため、その穴を補うためにさらに銅系の biocide にシフトしている。

銅の環境分析や毒性試験については、溶解している全銅総量の濃度が使用されてきた。多数の生物試験では、銅イオン (Cu^{2+}) 下で行われていた。しかし実海洋中では、毒性の実験系で使用されている 2 価の銅イオン (Cu^{2+}) だけではなく、海洋中の化学物質 (例えば塩化物イオン、硝酸イオンなどの小さなイオン (配位子) から枯れ葉由来のフミン酸などの大きな配位子) と結合し錯体を形成し、実海域の銅は様々な形態で水中に存在することがわかっている。また水生生物に対して一般的な銅形態別の毒性は、

Cu イオン (Cu^+ , Cu^{2+}) > 無機 Cu 錯体
>> 有機 Cu 化合物 (1)

と言われている [3]。そのため海水中及び水中の銅の毒性やリスクを評価するためには、環境中に溶解している毒性の比較的高い銅イオンを中心とした labile 銅を計測する必要がある。また labile 銅は、無機銅錯体や有機銅化合物銅と配位子との結合が弱い物質も含まれる。Labile 銅が bioavailability に関係するためである。

また世界のいくつかの港湾で labile 銅についての分析も行われている。例えば連合王国のミルフォード・ヘブーン、ポーツマス、サザンプトン及びハーウィッチで採取された海水中に溶解している全銅の濃度範囲は 0.30 から 6.67 ppb であり、その中で labile 銅の濃度範囲は 0.02 から 2.69 ppb であった [3]。またアメリカ・カリフォルニア州のサン・ディエゴ湾で銅濃度が高い場所として、溶解している銅の最大濃度は 6.54 ppb で labile 銅は 3.71 ppb との報告があった [4]。また別なサン・ディエゴ湾に関する報告 [5] では、特定

な場所が継続的に高い銅濃度であり、その時の最高値が 2.9 ppm であった。溶解している全銅がこれらの港湾で比較的高い濃度で銅が存在する原因のひとつとして考えられているのが船底防汚塗料から溶出した銅系の防汚物質である [4]。

このように世界の港湾、河川で銅濃度及び銅形態別分析が行われ、labile 銅濃度や挙動の実体が明らかになりつつある。一方、日本においては船舶航行量や停泊量が多い港が数多く存在するが、銅形態別分析を含めた海洋環境中の残留銅の研究はかなり少ない。また東京湾のある地点で、全銅濃度が 20 ppb として検出された高濃度地点があり [6]、東京湾の各所における系統的に海水に溶解している全銅濃度および形態別分析を行うことは、重金属の管理及びリスク評価を行う上で重要である。

2. 研究の目的

この課題の大きな流れの最終目標は、船底塗料用 biocide の現実を踏まえた水生生物へのリスク評価である。一般に水生生物に対するリスク評価は、予測環境濃度 (PEC) / 予測無影響濃度 (PNEC) のモデルで行われる。また PEC はシミュレート計算などで予測される。本研究は、PEC に相当する現実の海洋環境中での銅の実態を把握することが目的である。そこで、実海域の現状把握のための銅の形態別分析法の確立を行い、その中で最も重要なものは毒性に起因する bioavailability に関する銅形態、つまり labile 銅の計測法の確立である。本研究では、電気化学的手法のストリッピング・ボルタンメトリー法を用いて labile 銅計測法の確立を行った。また全銅濃度計測についても前処理を含めたストリッピング・ボルタンメトリー法や誘導結合プラズマ質量分析 (ICP/MS) 法での分析法確立を行った。

確立した分析法を用いて、船舶航行量の多い東京湾をモデルケースとして、湾内の多数の場所から系統的に海水の採取を行い、labile 銅と全銅の濃度の分布傾向について調査を行った。さらに東京湾については、季節ごとの経時変化観察についてもを行い、labile 銅と全銅の濃度と分布の傾向について調べた。また日本の他の海域についてスクリーニング的に様々な場所で海水を採取して傾向の調査を行った。

得られたデータより港湾を中心とした海洋での銅分布状態について把握した。

3. 研究の方法

(1) 実験器具

実海域での海水採取容器は、ポリエチレン製容器 (1 L、アズワン社) を使用し、実験室での容器は、ポリプロピレン容器 (125 mL、

SCP SCIENCE 社) を使用した。ストリッピング・ボルタンメトリー法での計測時には、ポリプロピレン容器 (200 mL、サンブラテック社) を用いて、標準試料添加後などの溶液の攪拌時には、テフロン製攪拌子とマグネチックスターラ (1S-3BJ、池田理化社) を使用した。それぞれの海水採取時及び実験時に使用するプラスチック容器や道具は、0.2 mol/L の硝酸溶液で浸漬洗浄を行った。

(2) 海水の採取場所

東京湾では図 1 に示す採取場所において海水を採取した。時期は、2010 年 7 月、2011 年 7 月及び 2012 年 1 月に行った。大阪湾では、図 2 の場所で採取を行った。採取時期は、2011 年 12 月に行った。

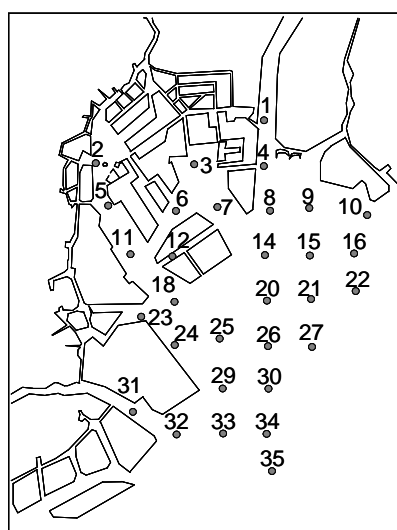


図 1 東京湾海水採取場所

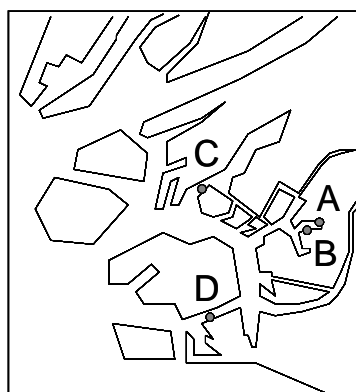


図 2 大阪湾の採取場所

他の採取は、千葉県 (館山、千倉、蓮沼)、神奈川県 (江ノ島)、静岡県 (清水、熱海) で行った。また海水採取の条件として、近日に雨が降らない日を選択した。試料採取は、次の通り行った。陸地および船舶からの海水

の採取は、0 から 0.5 m 程度の深さの海水で共洗いを数回行った後、海水を採取し、中ぶた、外ふたの順番で閉めた。採取場所から前処理及び分析する場所への海水試料輸送は、10℃以下の冷蔵輸送で行った。測定前に海水を 0.45 μm メンブランフィルター (クロマトディスク、水系 25A、GL サイエンス社) でろ過を行った。

(3) 銅形態別分析

海水中の labile 銅濃度及び全銅濃度の分析には、ストリッピング・ボルタンメトリー装置 (ナノバンドエクスプローラー、Trace Detect) を用いた。本装置は、制御用パソコン、電源部及び電極類で構成されている。本研究で用いたストリッピング・ボルタンメトリー装置は、イリジウム電極、銀/塩化銀電極及び白金電極が装備している。計測電極は、銅イオンに対して比較的高感度で検出できるイリジウム電極を採用した。

ストリッピング・ボルタンメトリー法での labile 銅濃度の測定は、ろ過海水 100 mL を直接計測した。また測定値が安定しない場合は、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液で pH 調整を行った後に測定を行った。

ストリッピング・ボルタンメトリー法での全銅濃度計測は、測定前に次の前処理を行った。90 mL ろ過海水に 2 mL の 2 mol/L 硝酸水溶液を入れて、ふたを閉めた後によく攪拌し、一晩置いた。その後、試料海水に 1 mol/L の酢酸-酢酸ナトリウム溶液を用いて 100 mL に定容を行った。この前処理を行った試料溶液を計測したものを海水中に溶解している全銅濃度とした。ストリッピング・ボルタンメトリー装置の計測条件として、電極表面に銅イオンを析出させるプレート・タイムは 50 秒を基本として用いた。しかし溶液中の labile 銅濃度及び全銅濃度のそれぞれの濃度に対する信号強度の状態や海水中の塩濃度等のマトリックスによる違いでピーク強度の変化があった場合は、その都度プレート・タイムやクリーン・タイムについて調整を行った。海水中の labile 銅及び全銅濃度の分析では -200 mV 付近に得られる銅イオンに起因するピークを用いて定性・定量分析を行った。SV 法での定量は、標準添加法を用いた。

(4) 全銅濃度分析

全銅濃度測定の手順について学会等で「見かけ上濃度が少なく見積られる可能性がある」とコメントをもらったため分析法の高度化を行った。高度化後の手順は、酸分解、固相抽出、ICP/MS 測定である。ろ過海水 100 mL に硝酸 2 mL を入れて、温度が 80℃以上、かつ 1 時間以上の加熱での酸分解を行った。これで有機配位子などが分解される。次に酸

分解後試料溶液の pH 調整を酢酸アンモニウムで行い、さらに定容を行った。海水中の目的金属成分を抽出するためにキレート固相抽出ディスク (InertSep ME-1、GLサイエンス) に試料海水を流し、目的成分を保持させ、クリーニング後に 2 mol/L の硝酸 5 ml で再溶出させ、金属成分を回収した。その後、10 mL に定容を行った後に溶出試料を結合誘導プラズマ質量分析装置 (ICP/MS 7500i、Agilent) で計測を行った。ICP/MS 法での全銅定量は、絶対検量線法で行った。

4. 研究成果

(1) 形態別分析法の開発

ストリッピング・ボルタンメトリー法による様々な溶液での銅形態別分析法確立を行った。はじめに 0 ppb、5 ppb 及び 10 ppb の硝酸銅水溶液のストリッピング・ボルタンメトリー法計測を行ったが、バラつきがあり計測精度が悪かった。改善策として、0.1M 酢酸-酢酸アンモニウム緩衝溶液で計測を行った場合、0 ppb、5 ppb 及び 10 ppb での RSD 値が 15% 以下に収まった。さらに人工海水でのストリッピング・ボルタンメトリー法計測においても、硫酸銅の添加値と測定値がほぼ同じであった。ストリッピング・ボルタンメトリー法での銅濃度測定は、溶液の種類によって測定誤差は異なるが、基本的には水、海水などの溶液マトリックスに依存しないで計測ができる手法である。

次に銅形態別分析を行うためにエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) を添加し銅イオンにマスクングを行った。まず銅イオン 10 ppb 溶液に 40 ppm の EDTA 溶液を 0.5 ml 添加し、その後の計測値は半分になった。この実験により銅イオンと有機銅化合物の形態別の分析が可能であることが確認できた。

(2) 東京湾での実態調査 (I・スクリーニング観察)

今回の東京湾においては labile な銅濃度と全銅濃度の範囲は、それぞれ N.D.~3.68 ppb と 0.37~4.81 ppb となった。また labile 銅について濃度の高い場所の傾向を見ると東京湾の採取地域では 3 つグループに分類された。1ヶ所目は荒川河口から東京港に河川が流れ込む場所である (図 3①のライン)。この特徴として河川側の銅濃度が高く海側に行くに従って徐々に濃度が低くなっていった。河口付近では labile 銅濃度については、濃度が下がってからはほぼ一定になっていた。2ヶ所目は、多摩川より東京湾に流れ込んだ場所であった (図 3②のライン)。濃度変化の傾向として河川側の labile 銅と全銅の両者の濃度が高く海側に行くに従って徐々に低くなった。3ヶ所目は隅田川から東京港と通る水路である (図 3③のライン)。河川から東京港入口あたりは隅

田川の影響を受けて、labile 銅と銅の濃度が比較的高かった。今回の観測で河川の影響を受けている場合は、①や②のように一般に下流に行くに従って銅濃度が低くなる傾向にあった。しかしこの③のエリアは荒川や多摩川の傾向とは異なる傾向となっていた。また 2000 年から 2001 年に行われたサン・ディエゴ湾の様々な特徴のある場所での銅分析の結果より、labile 銅及び溶解している全銅濃度が高い場所として、船舶の航行量や停泊量が比較的高い湾内の半閉鎖的な流域であった [4]。③の東京港についてもある程度半閉鎖的な領域であり、かつ船舶が航行または停泊する埠頭が密集している場所であった。そのためここでは、河川からの銅の影響と船舶の船底防汚塗料から溶出している銅の影響が足されて銅濃度が上昇していると考えられる。③の流域は、①と②とは異なる傾向になっていた。

上記以外での採取場所で相対的に濃度の低い場所は、数ヶ所あった。葛西臨海公園及び東京ディズニーランドより南側の海域であった。こちらは船舶が停泊する場所であるが、比較的広い海域のために溶出した銅を含む防汚物質は拡散をしていると考えられる。東京湾人工島群においても labile 銅と溶解している全銅の濃度が比較的濃度が低かった。こちらは、河川の影響を大きく受けておらず、また船舶航行量が少ないと考えられる。また海洋環境中に存在する全銅量の 88 から 99% が有機物と化合しているとの報告がある [7]。本研究での labile 銅の定量値が N.D. となっている場所は、このタイプに属すると考えられる。ストリッピング・ボルタンメトリー法の今回の検出下限値以下で labile 銅が存在していると考えられる。

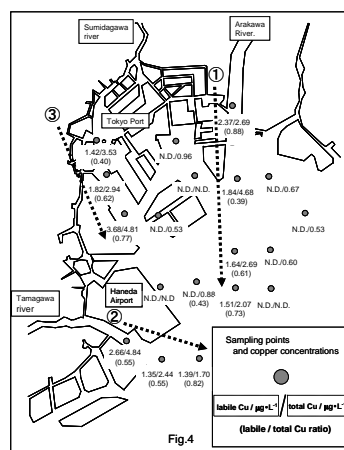


図 3 東京湾の結果

2010 年 7 月の東京湾の採取で、東京湾の銅形態別濃度と分布の傾向がわかった。次に濃度や分布の経時変化について観察を行っ

た。ストリッピング・ボルタンメトリー法による全銅計測法では、配位子との再結合が起こる可能性があるため前処理・分析法の改良を行った。改良後の手法では、数種の実海水計測で1割程度の全銅量増加があった。今後の全銅濃度分析では、ICP/MS法での計測を採用した。

(3) 東京湾での実態調査(II・経時変化)

銅形態別濃度の経時変化を調べるために引き続き東京湾で2011年7月と2011年1月に系統的に海水を採取してlabile銅と全銅の濃度分析を行った。特徴的な採取場所のlabile銅濃度と全銅濃度について表1にまとめた。東京湾での銅濃度の経時変化の傾向として、荒川から東京湾へ流れ込む採取ポイント(St.1、4、8)では、採取した試料でいずれもlabile銅や全銅の濃度が高く、河川からの銅の流入は定常的にあると考えられる。また東京港(St.2、5、11)で計測したlabile銅濃度は最低1.26 ppbと比較的高い値であり、港湾内と言う状況を考えると船底塗料からの銅の影響を受けている可能性が高い。また他の採取場所(St.24、25、26、7、22)ポイントにおいてlabile銅については最大1.14 ppb、全銅については、最大6.64 ppbであり、各採取場所で時間によってN.D.レベルから各最大値までの濃度差がある。これらは一時的な排出源や潮汐などの水流等の環境的要因により変化するものと考えられる。

表1 東京湾でのlabile銅濃度及び全銅濃度比較・抜粋(単位: ppb)

場所	2010年7月		2011年7月		2012年1月	
	labile銅	全銅	labile銅	全銅	labile銅	全銅
1	2.37	2.69			1.14	1.87
4			1.37	4.87	1.09	1.76
8	1.84	4.68	0.84	1.70	0.43	1.65
2	1.42	3.53			0.83	0.94
5	1.82	2.92	1.26	1.73	1.26	2.19
11	3.68	4.81			0.34	0.78
24	N.D.	N.D.			0.83	2.20
25	N.D.	0.88	0.69	1.47	0.69	1.86
26	1.64	2.69	0.53	0.99	0.37	1.65
7	N.D.	N.D.	1.14	1.85	0.93	1.13
22	N.D.	0.53			0.50	1.00

(4) 東京湾以外の銅濃度

また東京湾以外の採取場所でのlabile銅と全銅の計測結果を表2に示す。

大阪湾で採取した海水の銅計測結果は、それぞれlabile銅は0.47から1.38 ppb、銅全量は0.59から1.76 ppbの濃度範囲であった。検出されたlabile銅及び全銅の最大濃度の場所は、図2のBであり閉鎖的な海域でかつ船舶が多い場所であった。この傾向はサン・ディエゴ湾での銅濃度計測と高濃度の場所が同じ傾向であるため[4]、ここで検出された銅は、船舶から影響を受けている可能性が高いと考えられる。

千倉、館山(外海)、蓮沼は、外海なのでlabile銅の値は、検出限界以下であった。また熱海、江ノ島は、港近くで採水を行ったがlabile銅は検出限界以下であった。この結果はもともと銅源が存在しないか、速やかに有機物等と結合をしたか、また銅源が存在はしても速やかに水流などで海洋中に拡散してしまったと考えられる。また清水は、船舶や海洋構造物に使用する材料の浸漬試験所のために試験片由来の銅が存在するために高く、また館山(湾内)も港湾の近くで採取を行ったために河川、生活環境、船舶のいずれかの影響を受けているものと考えられる。

表2 日本各地のlabile銅濃度及び全銅濃度比較(単位: ppb)

場所	labile銅濃度	全銅濃度
大阪湾 A	0.72	0.8
大阪湾 B	1.38	1.76
大阪湾 C	0.47	0.59
大阪湾 D	0.78	1
館山(外海)	N.D.	0.23
館山(湾内)	1.5	2.9
千倉(岩場1)	N.D.	0.59
千倉(岩場2)	N.D.	0.73
清水	1.82	5.54
熱海	N.D.	1.23
江ノ島	N.D.	1.16
蓮沼	N.D.	1.71

(5) まとめ

本研究において東京湾のlabile銅及び全銅の濃度・分布の傾向及び時間的変化を明らかにした。またスクリーニング的に日本各地の海域でのlabile銅と全銅の濃度計測を行った。

東京湾では、labile銅はN.D.から3.68 ppb、銅全量はN.D.から4.87 ppbの濃度範囲であった。東京湾で濃度が定常的に高い場所は、荒川等の河川由来の領域と東京港であった。また大阪港では、labile銅は0.47から1.38 ppb、銅全量は0.59から1.76 ppbと比較的高い濃度のlabile銅が観察された。東京湾及び大阪湾での港湾で銅濃度が高いところは船舶からの影響を受けている可能性が高いと考えられる。

今回計測した地域は、極端に銅濃度が高い場所ではない。しかし銅に感受性の高い生物のEC50は、蠣の幼生、巻き貝の幼生でそれぞれ7 ppb[8]及び5.4 ppbである。今回検出されたlabile銅濃度がこれらの値の数分の1程度であるために、今後も監視が必要であると考えられる。

参考文献

[1] Dafforn, K. A., John A. Lewis, J.A., Johnston, E. L.,: Antifouling strategies: History and regulation, ecological

impacts and mitigation, *Marine Pollution Bulletin*, **62**, 453-465 (2011)

[2] Okamura, H., Mieno, H.,: Present status of antifouling systems in Japan, *The Handbook of Environmental Chemistry* 5.0, Antifouling paint biocide, 201-212 (2005)

[3] Jones, B., Bolam, T.,: Copper speciation survey from U.K. marine, harbours and estuaries, *Marine Pollution Bulletin*, **54**, 1127-138 (2007)

[4] Blake, A. C., Chadwick, B. D., Zirino, A., Rivera-Duarte, I.,: Spatial and temporal variations in copper speciation in San Diego bay, *Estuaries*, **27**, 437-447 (2004)

[5] Twiss M. R., Moffett, J. W.,: Comparison of copper speciation in coastal marine waters measured using analytical voltammetry and diffusion gradient in thin-film techniques, *Environmental Science and Technology*, **36**, 1061-1068 (2002)

[6] Nakajima, T., Fujiwara, Y., Wakabayashi, M., Yamazaki, Y.,: Metal concentrations in Tokyo bay, *Journal of Japan Society on water environment*, **30**, 45-47 (2007)

[7] Kiaune, L. and Singhasemanon N.,: Pesticidal Copper (I) oxide: environmental fate and aquatic toxicity, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **213**, 1-22 (2011)

[8] Brooks, S. J., Bolam, T., Tolhurst, L., Bassett, J., La Roche, J., Waldock, M., Barry, J., Thomas, K. V.,: Effects of dissolved organic carbon on the toxicity of copper to the developing embryos of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), *Environmental Toxicology and Chemistry*, **26**, 1756-1763 (2007)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① 山口 良隆、西野 貴裕、張野 宏也、岡村 秀雄、ストリップピング・ボルタンメトリー法を用いた東京湾海水中の銅モニタリング、環境化学 (投稿中)

[学会発表] (計3件)

- ① 山口 良隆、小島 隆志、古庄 義明、張野 宏也、岡村 秀雄、海水中に溶解している全

銅物質中の銅 (II) イオン分析法の研究、日本分析化学会第 59 年会、2010

- ② 山口 良隆、西野 貴裕、岡村 秀雄、張野 宏也、海洋環境リスク評価のための銅形態別分析の開発と実海域分析、海上技術安全研究所研究発表会、2011

- ③ 山口 良隆、日本の港湾における銅溶存量の形態別計測、海上技術安全研究所研究発表会、2012

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

http://www.nmri.go.jp/energy/en-anl/Copper_yamaguchi.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 良隆 (YAMAGUCHI YOSHITAKA)

海上技術安全研究所・海洋環境評価系・主任研究員

研究者番号 : 20344236

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :