

## ガスクロマトグラフィーによる水産物及び海底土中の トリブチルスズ化合物の定量

赤枝 宏, 原野 雅子, 矢田 殖朗  
高木 保昌, 兼原 壽生, 久野 俊行

## Gas Chromatographic Determination of Tributyltin Compounds in Marine Products and Sediments

Hiroshi AKAEDA, Masako HARANO, Shigeaki YADA,  
Yasuaki TAKAKI, Hisao KANEHARA, and Toshiyuki KUNO

In order to clarify the actual state of biological and environmental pollution by organotin compounds in Nagasaki sea areas and the East China Sea, contents of tributyltin compounds (TBT) in marine products and sediments were analyzed by gas chromatography equipped with an electron capture detector (GC-ECD).

The results obtained were summarized as follows :

1) TBT concentrations in fishes, arranged in decreasing order, were as follows. Nagasaki Harbor (0.065~0.124  $\mu\text{g/g}$ ) > Makishima sea area (0.007~0.019  $\mu\text{g/g}$ ) > Ohmura Bay (0.002~0.009  $\mu\text{g/g}$ ).

2) Low concentrations of TBT (<0.001~0.004  $\mu\text{g/g}$ ) in the East China Sea were found in 20 fishes.

3) Similarly, TBT concentrations in sediments of these sea areas, arranged in decreasing order, were as follows. Nagasaki Harbor (0.34~1.0  $\mu\text{g/g}$ ) > Makishima sea area and Ohmura Bay (0.014~0.044  $\mu\text{g/g}$ ) > East China Sea (<0.001~0.007  $\mu\text{g/g}$ ).

**Key words :** トリブチルスズ化合物 TBT ; ECD付きガスクロ GC-ECD ; 水産物 marine product; 魚 fish ; 底質 sediment.

有機スズ化合物は塩化ビニル用安定剤, 触媒, 殺菌剤, 木材防腐剤あるいは海中防汚剤などとして広く使用されてきた。<sup>1)</sup> 生物殺生剤として最も多用されたのはトリブチルスズとトリフェニルスズの誘導体であり, 船底塗料のマトリックスとして海中生物の船底付着の防止に用いられた。<sup>2)</sup> トリ体の誘導体の中では, 毒性が特に強いTBT O (ビストリブチルスズオキシド)<sup>3)</sup> が養殖生簀の網に一時使用されたこともあった。現在, TBT Oについては化審法(化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律, 昭和48年10月16日, 法律第107号)の第一種特定化学物質に指定され使用不可となり, その他のトリブチ

ルスズとトリフェニルスズの誘導体もほとんどが第二種特定化学物質となり使用が制限されている。

しかし, 長期にわたって使用されてきた有機スズ化合物による海産物や環境の汚染は世界的に広がっている。<sup>4-6)</sup> 近年は使用されなくなってきたとしても, 海底土に濃縮蓄積されたものあるいは規制以前に建造された船舶などの船底塗料は, 有機スズ化合物による生物・環境汚染問題を長期化させることも考えられる。

そこで長崎及び東シナ海海域における有機スズ化合物による生物・環境汚染を明らかにするために, 水産物や底質中のトリブチルスズ化合物(TBT)

を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフィーで分析した。

### 実験方法

**試料** 長崎港, 牧島地先, 大村湾, 東シナ海 (30~32°N, 126~127°E) でそれぞれ採集した魚90試料及び海底土17試料を用いた。また長崎港, 牧島地先及び大村湾で採集したムラサキガイ7試料も用いた。試料は1988~1990年に採集した。水産物は可食部を分析に供し, 底質は間隙水と夾雑物を除いた後分析に供した。

**試薬** 東京化成工業の塩化トリブチルスズ (純度99%以上) をヘキサンに溶解し標準溶液とし, K & K Laboratories の塩化トリフェニルスズ (T P r T) を内部標準物質とした。Clean up のシリカゲルには Merck のキーゼルゲル60 (70-230mesh, Art. No.7754) を, 水素化には和光純薬工業の水素化ホウ素ナトリウム (化学用) を, 有機溶媒 (ヘキサン, 酢酸エチル, エタノール, アセトン) は和光純薬工業の残留農薬試験用を, 無水硫酸ナトリウムは片山化学工業の残留農薬試験用を, その他の試薬は和光純薬工業の特級を使用した。

カラム・パッキングには, 10%KOCL-Sn (柳本商事), 5%Silicon OV-1 (ガスクロ工業), 2% Silicon OV-17 (ガスクロ工業), 10%Thermon-HG (和光純薬工業) を用いた。

**ガスクロマトグラフィー (GC-ECD)** 電子捕獲型検出器 (ECD) 付きの島津製作所のGC-6Aを用い, 分離カラムの充填剤には, 5%OV-1/Chromosorb W (AW-DMCS, 80-100mesh) 及び10%KOCL-Sn / Chromosorb W (AW-DMCS, 80-100 mesh) を使用した。分析条件は, 5%OV-1の時はカラム温度140°Cとパルス周波数2.5kHz, 10%KOCL-Snの時はカラム温度170°Cとパルス周波数10kHzとし, 注入口及び検出器温度はいずれも200°Cとした。ガラスカラムは, 5%OV-1は3mm (i.d.) × 2 m を, 10%KOCL-Snは3 mm (i.d.) × 1 m を使用した。キャリアーガスは N<sub>2</sub>40ml/min を使用し, 注入量は 5 µl とした。

**分析方法** GC-ECD用試験溶液の調製は Tsuda *et al.* の方法<sup>9-10)</sup> に従った。しかし, Clean up に用いるシリカゲルの水分含量については, 5%ではTBTの回収率が悪く10%で完全に回収されたことから, これを変更し Fig. 1 にその概略を示した。要約すれば, ホモジナイズした水産物10g (海底土

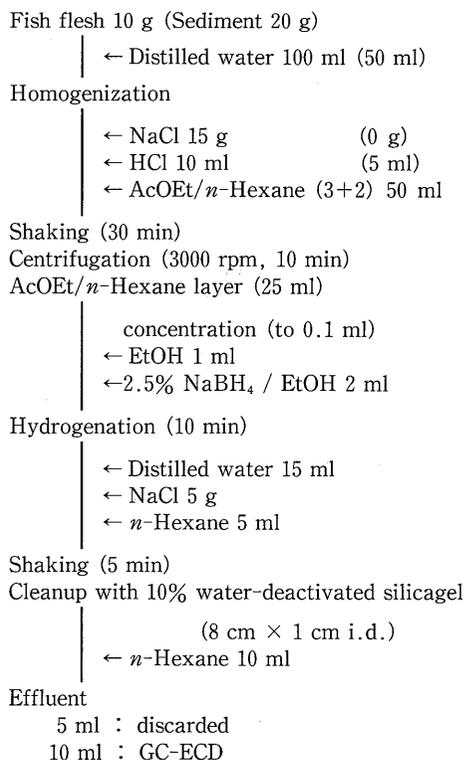
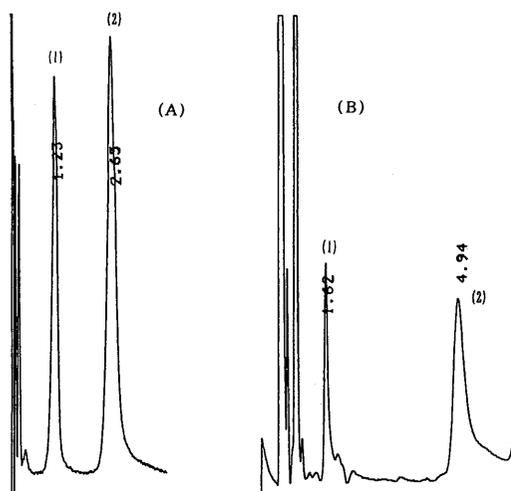


Fig.1. Analytical procedure for tributyltin compounds by electron-capture gas chromatography.

は20g) から塩酸酸性下でTBTを塩化物として酢酸エチル・ヘキサン混液 (3 + 2) で抽出後, 遠心分離して得られた有機溶媒層を濃縮して水素化ホウ素ナトリウム (エタノール溶液) で水素化し, ヘキサンで再抽出したものを10%含水シリカゲルカラムでClean upを行ない試験溶液としGC-ECDで測定した。T P r Tを内部標準物質として使用し, 3回分析による回収率は, 魚肉で約96%, 底質で約95%であった。

### 結果

**GC-ECD分析における分離カラムの検討** TBTをGC-ECDで分析するに当たっては, 塩化物として Thermon-HG (検出限界: 0.01 ng)<sup>11)</sup> や KOCL-Sn (検出限界: 0.15 ng)<sup>12)</sup> の分離カラムで直接測定する方法と, TBTを水素化物に還元してOV-1, OV-17 (検出限界: 0.05 ng)<sup>9-10)</sup> や KOCL-Sn<sup>7)</sup> で測定する方法がある。そこでこれら4種類の分離カラムを用い, TBT標準溶液の塩化物及び水素化物の検出について検討した。その結果塩化物は Thermon-HG で, 水素化物は他の3種類のカラム



**Fig. 2.** Typical GC-ECD gas chromatograms by internal standard method. Peak (1) is tri-*n*-propyltin hydride as internal standard, peak (2) is tri-*n*-butyltin hydride as standard. Operating conditions : (A) column, 10% KOCL-Sn/Chromosorb W (AW-DMCS, 80-100 mesh) 3 mm (i.d.) $\times$ 1 m (glass) ; column temperature, 170°C ; carrier gas, N<sub>2</sub> 40 ml/min. (B) column, 5% Silicon OV-1/Chromosorb W (AW-DMCS, 80-100 mesh) 3 mm (i.d.) $\times$ 2 m (glass) ; column temperature, 140°C ; carrier gas, N<sub>2</sub> 40 ml/min.

で検出された。4種類の分離カラムによるTBTの検出限界(S/N $\geq$ 2)は、10%KOCL-Snと5%OV-1がそれぞれ0.015ngと0.04ngで良かったのに対し、5%OV-17と10%Thermon-HGはそれぞれ0.2ngと0.1 ngで悪かった。10%Thermon-HGは還元操作が不要で直接GC-ECDで測定できる簡便さはあるものの、低濃度のTBTを分析する必要性から水素化後10%KOCL-Sn及び5%OV-1を用い分析することとした。

これら分離カラムによるクロマトグラムをFig.2に示した。TBT標準溶液(内部標準TPrT:0.25 $\mu$ g/ml)0.25 $\mu$ g/mlを5 $\mu$ l注入し10回繰り返し分析したときの内部標準法(TBTとTPrTのピーク高さの比)の精度(変動係数,%)は、10%KOCL-Snの場合1.2, 5%OV-1の場合7.0であり、10%KOCL-Snの方が良かった。

なお5%OV-1の場合、高濃度のTBT(5 $\mu$ g/ml, 5 $\mu$ l)が注入されるとピークの高さが低下する現象が時々見られたが、アセトンの注入によってピークの高さは回復した。

**長崎海域における水産物のTBT** 長崎海域の長崎港, 牧島地先及び大村湾における魚とムラサキイガイの中のTBTの分析結果をTable 1及びTable 2に示した。魚は各魚種について5尾ずつ分析したが平均値で見ると, シロギスのTBT濃度は魚体の大きさに比例して牧島地先の方が長崎港より

**Table 1.** Levels of tributyltin (TBT) found in marine products

Standard Japanese name (English name)		Nagasaki Harbor	Makishima	Ohmura Bay
Shirogisu (Silver whiting)	TBT $\mu$ g/g <sup>a)</sup>	0.027(0.022~0.033)	0.069(0.047~0.118)	0.008(0.002~0.017)
	BL cm <sup>b)</sup>	14.6(13.3~16.5)	16.7(15.2~19.0)	16.0(15.0~17.0)
	BW g <sup>c)</sup>	39.6(28.3~56.5)	61.8(48.1~81.6)	50.3(42.7~66.2)
Haze-no-isshu (Goby like)	TBT $\mu$ g/g	0.116(0.100~0.128)	0.019(0.010~0.041)	0.009(0.004~0.018)
	BL cm	11.2(10.8~11.6)	12.7(10.0~15.2)	12.1(10.0~15.5)
	BW g	27.3(25.4~28.5)	35.5(20.4~52.8)	42.5(21.8~88.7)
Sasanohabera (Bambooleaf wrasse)	TBT $\mu$ g/g	0.065(0.064~0.067)	0.007(0.005~0.012)	0.005(0.002~0.010)
	BL cm	12.2(11.7~12.6)	11.0(10.0~12.2)	15.0(14.2~15.7)
	BW g	53.2(52.0~54.0)	41.1(35.5~42.3)	73.6(65.4~80.0)
Kasago (Scorpionfish)	TBT $\mu$ g/g	0.092(0.072~0.100)	0.007(0.006~0.009)	0.002(0.001~0.004)
	BL cm	11.9(10.5~13.5)	10.7(10.0~12.0)	15.0(14.2~16.3)
	BW g	59.0(41.9~83.3)	44.4(32.6~58.7)	132(120~141)
Maeso (True lizardfish)	TBT $\mu$ g/g	0.124(0.009~0.142)	0.013(0.010~0.015)	
	BL cm	16.5(14.2~17.5)	25.1(22.5~26.3)	
	BW g	50.9(45.2~53.5)	220(190~240)	

a) Expressed as chloride in wet muscle basis (N=5).

b) BL=Body Length.

c) BW=Body Weight.

**Table 2.** Levels of tributyltin (TBT) found in marine products

Standard Japanese name (Scientific name)	English name	Valve length cm	TBT $\mu\text{g/g}^{\text{a}}$	Area
Murasakiigai ( <i>Mytilus edulis</i> )	Common blue mussel	5.2~6.5	0.31	Nagasaki Harbor
		6.3~8.4	0.27	
		5.5~6.6	0.23	
		6.5~7.8	0.26	
		3.8~4.6	0.14	
		6.8~8.5	0.41	Makishima
		5.3~8.6	0.60	Ohmura Bay

a) Expressed as chloride in wet muscle basis.

**Table 3.** Levels of tributyltin (TBT) found in marine products from the East China Sea

Standard Japanese name (Scientific name)	English name	Body length cm	TBT <sup>a)</sup> $\mu\text{g/g}$
Ibodai ( <i>Psenopsis anomala</i> )	Butter fish	15.5	nd <sup>b)</sup>
Matoudai ( <i>Zeus faber</i> )	Targetfish	25.3	0.001
Kintokidai ( <i>Priacanthus macracanthus</i> )	Red bulleye	14.5	nd
Akaamadai ( <i>Branchiostegus japonicus</i> )	Japanese tilefish	25.6	0.001
Shiroguchi ( <i>Argyrosomus argentatus</i> )	White croaker	17.3	nd
Kiguchi ( <i>Pseudosciaena polyactis</i> )	Yellow croaker	11.7	nd
Koichi ( <i>Nibea albiflora</i> )	Yellow drum	29.8	0.002
Fuusei ( <i>Pseudosciaena crocea</i> )	Large yellow croaker	29.6	0.003
Konibe ( <i>Johnius belengerii</i> )	Nibe croaker	30.4	0.004
Tachiuo ( <i>Trichiurus lepturus</i> )	Cutlassfish	65.8	0.002
Maeso ( <i>Saurida undosquamis</i> )	True lizardfish	42.2	0.003
Akakamasu ( <i>Sphyrna pinguis</i> )	Red barracuda	31.3	0.001
Maaji ( <i>Trachurus japonicus</i> )	Japanese horse mackerel	14.7	nd
Masaba ( <i>Scomber japonicus</i> )	Chub mackerel	20.4	nd
Managatuo ( <i>Pampus argenteus</i> )	Silver pomfret	19.6	nd
Kasago ( <i>Sebastes marmoratus</i> )	Scorpionfish	21.3	nd
Houbou ( <i>Chelidonichthys spinosus</i> )	Bluefin searobin	25.6	0.002
Onikanagashira ( <i>Lepidotrigla kishinouyei</i> )	Devil searobin	15.8	0.001
Hamo ( <i>Muraenesox cinereus</i> )	Pike conger	74.2	0.003
Umazurahagi ( <i>Navodon modestus</i> )	Black scraper	14.7	nd

East China Sea : 30-32°N, 126-127°E.

a) Expressed as chloride in wet muscle basis.

b) nd=not detected (<0.001  $\mu\text{g/g}$ ).

**Table 4.** Levels of tributyltin (TBT) found in sediment

Area	Quality	TBT $\mu\text{g/g}^{\text{a}}$	
Nagasaki Harbor	A	sludge	0.53
	B	sludge	0.53
	C	sludge	0.69
	D	sludge	1.0
	E	sand	0.34
	F	mud	0.45
	G	mud	0.94
	H	mud	0.38
Makishima	A	sand	0.044
	B	mud	0.020
Ohmura Bay	A	silt	0.021
	B	silt	0.014
East China Sea (30~32°N 126~127°E)	A	mud including silt	0.001
	B	mud including silt	nd <sup>b)</sup>
	C	mud including silt	0.007
	D	mud including silt	0.001
	E	mud including silt	0.003

a) Expressed as chloride in dry basis.

b) nd=not detected (<0.001  $\mu\text{g/g}$ ).

も高かったが、ハゼの一種、ササノハベラ、カサゴ及びマエソのTBT濃度は、魚体の大きさにかかわらず長崎港 (0.065~0.124  $\mu\text{g/g}$ ) の方が牧島地先 (0.007~0.019  $\mu\text{g/g}$ ) より高く、その倍率はそれぞれ約6, 9, 13, 10倍であった。大村湾のシロギス、ハゼの一種、ササノハベラ及びカサゴのTBT濃度 (0.002~0.009  $\mu\text{g/g}$ ) は長崎港及び牧島地先より小さく、長崎港のそれらは大村湾のそれぞれ約3, 13, 13, 46倍の高い値を示した。これらの中で長崎港のマエソは牧島地先のそれより1/4の魚体重であったがTBT濃度は約10倍高く、また長崎港のカサゴは大村湾のそれより1/2の魚体重であったがTBT濃度は約46倍高かった。

ムラサキガイのTBT濃度は長崎港、牧島地先及び大村湾の中で海域による差は見られず0.14~

0.60  $\mu\text{g/g}$  のレベルであった。

**東シナ海の魚のTBT** 東シナ海(北緯30~32°, 東経126~127°)で採集した魚のTBT分析結果をTable 3に示した。体長20cm以下の魚のTBT濃度はほとんどが検出限界(0.001  $\mu\text{g/g}$  未満)以下で、体長20cmを超えるものでも0.001~0.004  $\mu\text{g/g}$  の範囲にあり、この濃度は長崎港(平均0.085  $\mu\text{g/g}$ )や牧島地先(平均0.023  $\mu\text{g/g}$ )よりも低く、さらに大村湾(平均0.006  $\mu\text{g/g}$ )よりも低レベルであった。特に体長30~70cmの中型魚のコイチ、フウセイ、コニベ、マエソなどでも数pg/gのレベルであった。

**海底土のTBT** 長崎港、牧島地先、大村湾及び東シナ海における海底土中のTBT濃度をTable 4に示した。これらの海域の中では長崎港が平均0.61  $\mu\text{g/g}$  (0.34~1.0  $\mu\text{g/g}$ )と最も高く、牧島地先と大村湾はそれぞれ0.032, 0.018  $\mu\text{g/g}$ と低かった。東シナ海(北緯30~32°, 東経126~127°)は<0.001~0.007  $\mu\text{g/g}$ のレベルで、この濃度は牧島地先や大村湾のレベルよりもかなり低いものであった。

### 考 察

TBTを塩化物としてGC-ECDで分析する方法は簡便であるが、近本ら<sup>12)</sup>が10%KOCL-Snの分離カラムを用いて検出限界0.15ngまで分析しているのに対し、本実験では著しくピークが低く分析できなかった。これは担体のDMCS ( $\text{SiCl}_2\text{Me}_2$ )処理が不十分で、高極性のTBT塩化物(Cl)が担体のシラノール残基の活性点(OH)に吸着したため<sup>11)</sup>と考えられた。しかし、水素化することによってカラムへの吸着がなくなり、検出限界0.015ng及びピーク比(TBT/TPRT)の変動係数1.2%と感度も精度も良好に検出することができた。

TBTは海中防汚剤<sup>1, 2)</sup>として船底塗料や海面養殖生簀の網などに使用されたが、大型船舶の航行が激しい長崎港のハゼの一種、ササノハベラ、カサゴ及びマエソのTBT濃度(平均0.099  $\mu\text{g/g}$ )は、魚体の大きさにかかわらず、海面養殖場が多い牧島地先の約6~13倍、船舶の航行が少ない大村湾の約3~46倍高かった。また上記海域以外の長崎県沿岸(内湾を除く)で採集されたカサゴ(5尾)のTBT濃度(<0.05  $\mu\text{g/g}$ )<sup>7)</sup>よりも高い値を示したことから、長崎港のこれらの魚種がTBT汚染魚に属することは明らかである。

魚中のTBT濃度(塩化物として)の分布は、長崎県沿岸では<0.05~2.7 $\mu\text{g/g}$ (21種類)<sup>7)</sup>、東京の内湾・沿岸では0.00~0.82 $\mu\text{g/g}$ (36種類、平均0.090  $\mu\text{g/g}$ )<sup>8)</sup>などの報告があり、TBT濃度の範囲の大きさは魚種、魚体の大きさ、海域特性(閉鎖性あるいは開放性海域など)に由来することが指摘されている。閉鎖性の港湾である長崎港の魚は、開放性海域の東シナ海の比較的魚体の大きい20魚種のTBT濃度(<0.001~0.004 $\mu\text{g/g}$ )に比較すると、はるかに高濃度にTBTを濃縮していることから、TBTに汚染されていることは明らかである。

なお、長崎港の魚のTBT濃度は東京の内湾・沿岸魚のTBTレベル(平均0.090 $\mu\text{g/g}$ )<sup>8)</sup>とほぼ同じであった。

海底土の場合も同様に長崎港のTBT濃度(平均0.61  $\mu\text{g/g}$ )は、東シナ海海底土の<0.001~0.007  $\mu\text{g/g}$ に比較し著しく高く、長崎港がTBTに汚染されていることは明らかである。

長崎港奥のコアサンプルの重金属の分析結果<sup>13)</sup>によると、海底土表層から約2mの間にTotal-Hg, Cd, Pb, Cu, Znなどが高濃度に濃縮蓄積されていることから、河川によって運ばれてきた堆積土の中に内湾で発生した汚染物が混入されたものと考えられ、港湾底質汚染源の中の重要なものとしては船舶改修時のサビ落とし材sand blastと剝離ペイントと推定している。長崎港は大型船舶の航行が集中し、港全体が造船や船舶修理が中心の閉鎖性海域であり、特に有機スズ化合物が船底塗料に使用されていたことから、前記船舶改修時の剝離ペイントは長崎港のTBT汚染源の中の重要なものの一つと考えられる。長崎港奥(採集地点のBとC)はこれまで何度か浚渫されたがそれでも0.5~0.7 $\mu\text{g/g}$ のTBTが検出されている。

魚のTBT濃縮は一般的には食物連鎖と考えられるが、長崎港の魚は魚体の大きさに関係なくTBTを濃縮していることから、海底土から海水へ回帰したTBTが直接魚に濃縮された可能性も大きいと考えられる。

### 文 献

- 1) 杉井弘一, 新川康利: 有機スズ化合物とその用途. 化学と工業, **30**, 869-872 (1977).
- 2) 吉田豊彦, 居谷滋郎, 寺沢秀夫, 早船義雄編: 塗装の事典. 朝倉書店, 東京, 1985, pp. 385-391.

- 3) J. R. Elsea and O. E. Paynter : Toxicological studies on bis (tri-*n*-butyltin) oxide. *Am. Med. Assoc. Arch. Ind. Health*, **18**, 214-217 (1958).
- 4) R. J. Maguire and R. J. Tkacz : Degradation of tri-*n*-butyltin species in water and sediment from Toronto harbor. *J. Agric. Food Chem.* **33**, 947-953 (1985) .
- 5) J. G. Grovhoug, P. F. Seligman, G. Vafa, and R. L. Fransham : Baseline measurements of butyltin in U. S. harbors and estuaries. *Oceans '86, Proceedings, Volume 4, Organotin Symposium, Washinton, DC, September*, 1283-1288 (1986).
- 6) G. W. Bryan, P. E. Gibbs, L. G. Hummerstone, and G. R. Burt : The decline of the gastro pod *Nucella lapillus* around south-west England : Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, **66**, 611-640 (1986).
- 7) 馬場強三, 力岡有二, 平山文俊 : 魚貝類中TBT Oの測定. 長崎県衛生公害研究所報, **30**, 112-16 (1987).
- 8) 竹内正博 : 海洋環境での挙動と運命 分布と挙動. 「有機スズ汚染と水性生物影響」(里見至弘, 清水誠 編), 恒星社厚生閣, 東京, 1992, pp.56-67.
- 9) T. Tsuda, H. Nakanishi, T. Morita, and J. Takebayasi : Simultaneous gas chromatographic determination of dibutyltin and tributyltin compounds in biological and sediment samples. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **69**, 981-984 (1986).
- 10) T. Tsuda, H. Nakanishi, S. Aoki, and J. Takebayasi : Determination of butyltin and phenyltin compounds in biological and sediment samples by electron-capture gas chromatography. *Journal of Chromatography*, **387**, 361-370 (1987)
- 11) 竹内正博, 水石和子, 山野辺秀夫, 渡辺四男也 : 電子捕獲型検出器を用いるガスクロマトグラフィーによる魚介類中のトリブチルスズ化合物の定量. *BUNSEKI KAGAKU*, **36**, 138-142 (1987).
- 12) 近本武次, 片山益代, 鎌田功, 足立透 : 電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフィー又はガスクロマトグラフィー—質量分析法による魚類中のトリブチルスズ化合物の定量 : 衛生化学. **34**, 164-168 (1988).
- 13) 赤枝 宏 : 微量重金属による生活環境汚染の研究. 長崎医学会雑誌, **52**, 189-221 (1977).