

【調査研究】

魚介類中の有機すず実態調査（Ⅱ）

山辺真一，武 志保，肥塚加奈江，今中雅章（衛生化学科）

要 旨

魚介類中のトリブチルモノメチルスズ（TBMMT）の分析法の検討，および実態調査，並びに他の有機すず化合物（DBT，TBT，DPT，TPT，MOT，DOT）同時分析法の検討および実態調査を行った。その結果，TBMMTはカキ等から検出された。

[キーワード：有機すず，トリブチルスズ，トリフェニルスズ，トリオクチルスズ，トリブチルモノメチルスズ]

1. はじめに

トリブチルスズ（TBT），トリフェニルスズ（TPT）等の有機すず化合物は，水生生物に対する毒性および内分泌かく乱作用が強いことが知られている¹⁾²⁾。

岡山県では，昭和63年度から継続してTBTOの魚介類汚染をモニタリング調査している。著者らは前報³⁾において，これらのブチルスズ化合物，フェニルスズ化合物，オクチルスズ化合物，計6化合物の同時分析法，および実態調査の結果を報告した。今回はその分析法を一部改良するとともに，新たに，トリブチルモノメチルスズ（TBMMT）についても分析法の検討を行った。TBMMTについては，最近駿河湾沿岸等での検出事例も報告⁴⁾⁵⁾されていることから，主に瀬戸内海産の魚介類中の実態調査も併せて行った。

2. 実験方法

2.1 試 料

岡山県内で採取または販売された魚介類9種類18検体を用いた。その内訳はマダイ（*Pagrus major*）2検体，アジ（*Trachurus japonicus*）2検体，ハマチ（*Seriola quinqueradiata*）2検体，カキ（*Crassostrea gigas*）3検体，アナゴ（*Conger myriaster*）2検体，アカシタビラメ/ゲタ*（*Cynoglossus joyneri*）1検体，カレイ（*Pleuronectes yokohamae*）1検体，ボラ（*Chelon haematocheilus*）2検体，コイ（*Cyprinus carpio*）1検体。

*：地方名

2.2 試薬及び標準液

有機すず標準品：和光純薬(株)，Promochem社，FLUKA社，AZMAX社製

サロゲート化合物標準品：林純薬(株)製

その他の試薬：残留農薬分析用，PCB分析用試薬を用いた

クリーンアップ用固相カラム：スペルコ製 LC-Florisil Glass Tube 1g

2.3 GC/MSの測定条件

使用機器：日本電子 Automass 20

使用カラム：キャピラリーカラム

液相：5% Phenyl Methylpolysiloxane (J&W社，DB-5MS)

膜厚：0.25 μ m

長さ，内径：30m \times 0.25mm

カラム昇温条件：60 $^{\circ}$ C（2分）-20 $^{\circ}$ C/分-130 $^{\circ}$ C-10 $^{\circ}$ C/分-310 $^{\circ}$ C（5分）

注入法：スプリットレス法

注入口温度：270 $^{\circ}$ C 注入量：1 μ L

流速：1 mL/min（ヘリウム：定流量）

ページ開始時間：1.5分

イオン源温度：210 $^{\circ}$ C

測定法：SIM法 モニターイオン

DBT：261 (263) DBT-d18：279 (281)

TBT：263 (261) TBT-d27：318 (316)

DPT：303 (301) DPT-d10：313 (311)

TPT：351 (349) TPT-d15：366 (364)

MOT：291 (289) MOT-d17：308 (305)

DOT：473 (475) DOT-d34：409 (407)

TBMMT：249 (193) TeBT-d36：318 (316)

2. 4 試験溶液の調整

- TBT, DBT, TPT, DPT, MOT, DOT (図1参照)

試料約 5 g を 50 mL 遠沈管に採り、サロゲート化合物混合標準液 (1 µg/mL) を正確に 200 µL 添加する。これに 1 M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル (1 : 1) 混合溶液 (以下 A 液) 20 mL を加えホモジナイズし、15 分間振とう抽出する。これを遠心分離 (2900 rpm, 5 分) し、上澄みを 300 mL 分液ロートに移す。残さに A 液 40 mL を加え、15 分間振とう抽出・遠心分離し、上澄みを分液ロートに移す。分液ロートに飽和臭化ナトリウム溶液 100 mL を入れ、酢酸エチル/ヘキサン (3 : 2) 混合液 30 mL を加えて 10 分間振とう抽出する。さらにもう一度、酢酸エチル/ヘキサン (3 : 2) 混合液 30 mL で同様の抽出操作を行う。有機相を合わせ、ヘキサン 100 mL を加えて混合し 20 分間放置する。生じた水相を廃棄後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。これをロータリーエバポレーターで約 2 mL まで濃縮し、さらに窒素ガスを吹き付けて溶媒を揮散させる。この残留物をヘキサン 50 mL およびヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL を用いて 200 mL の分液漏斗に洗い込み、5 分間振とうする。静置後アセトニトリル相をナス型フラスコに移す。ヘキサン相にヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL を加え、上記と同様の操作を繰り返す。これをロータリーエバポレーターで約 2 mL まで濃縮し、さらに窒素ガスを吹き付けて溶媒を揮散させる。残さにエタノール 5 mL を加えて溶解し、200 mL 分液ロートに移す。これに酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) 10 mL および精製水 5 mL を加えて混合後、10% NaBEt₃ 溶液 1 mL を添加し、10 分間振とうする。これに精製水 40 mL 及びヘキサン 40 mL を加え 10 分間振とう抽出を行う。さらにヘキサン 40 mL で同様の抽出操作を行う。ヘキサン相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレーターで約 2 mL まで濃縮し、試料前処理液とする。

試料前処理液をヘキサン 10 mL でコンディショニングしたフロリジルカラムカートリッジに負荷し、流出液も回収する。次に 5% ジエチルエーテル-ヘキサン 6 mL で溶出し、負荷時の流出液と合わせる。これを窒素ガスで 1 mL まで濃縮し 4 µg/mL の

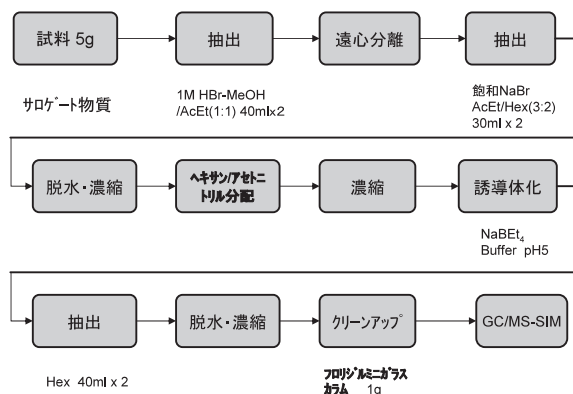


図1 分析法フローチャート (TBMMT 以外)

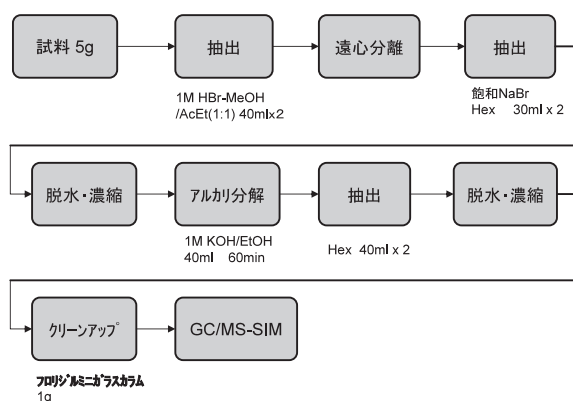


図2 分析法フローチャート (TBMMT)

内標準溶液 (テトラブチルスズ-d36) 50 µL を正確に添加して、測定用試料液とした。

- TBMMT (図2参照)

試料約 5 g を 50 mL 遠沈管に採り、1 M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル (1 : 1) 混合溶液 (以下 A 液) 20 mL を加えホモジナイズし、15 分間振とう抽出する。これを遠心分離 (2900 rpm, 5 分) し、上澄みを 300 mL 分液ロートに移す。残さに A 液 40 mL を加え、15 分間振とう抽出・遠心分離し、上澄みを分液ロートに移す。分液ロートに飽和臭化ナトリウム溶液 100 mL を入れ、ヘキサン 40 mL を加えて 10 分間振とう抽出する。さらにもう一度、ヘキサン 40 mL で同様の抽出操作を行う。有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水する。これをロータリーエバポレーターで約 2 mL まで濃縮し、さらに窒素ガスを吹き付けて溶媒を揮散させる。残さにエタノール 5 mL を加えて溶解し、200 mL 分液ロートに移す。これに 1 M 水酸化カリウム-エタノール溶液 40 mL を加え 1 時間振とうし、アルカリ分解を行う。これに精製水 40 mL 及びヘキサン 40 mL を加え 10 分間振とう抽出を行う。さらにヘキサン 40

mLで同様の抽出操作を行う。ヘキサン相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエバポレータで約2 mLまで濃縮し、試料前処理液とする。

試料前処理液を上記のTBT等の方法と同様に処理して、測定用試料液とした。

3. 結果及び考察

3.1 分析法

有機すずの分析法は前報³⁾でテトラエチルホウ酸ナトリウムで誘導体化後GC/MS-SIMで測定する方法を示した。この方法は脂肪分の多いサンプルの場合、最終のフロリジルカラム溶出液の濃縮の際、グリース状になったり、グリース状にならないまでもSCAN測定時にベースラインの上昇等クリーンアップ不足となりやすいので一部改良した。すなわち、アルカリ分解操作の代わりにヘキサンアセトニトリル分配を行ったところ上記の問題点は解消された。TBMMTはヘキサンアセトニトリル分配でヘキサン相へ移行し分析できないので、ヘキサンアセトニトリル分配の代わりにアルカリ分解で脱脂を行ったが上述のようにクリーンアップ不足となるので、脂肪分の多い試料については採取量を適宜減少させて対応した。そのため、脂肪分の多い試料については定量下限値が上昇するので、低濃度の測定にはGPC処理等の検討が必要になってくるものと考えられる。

3.2 添加回収率

試料(ボラ) 5gに1 µg/mL混合標準液200 µLを添加し添加回収率を求めたところ、TOTは昨年度は70%以上の回収率であったが、今年度は10%以下となり分析対象から除外した。これは分析操作に、ヘキサンアセトニトリル分配を追加したことにより、極性が低いTOTがヘキサン相へ移行したことによる。その他のブチルすず化合物、フェニルすず化合物、オクチルすず化合物は70%~90%と何れも良好であった。一方、今年から分析対象としたTBMMTは沸点が低く濃縮時に失われやすいため68%となった。

3.3 実態調査

魚介類18検体について行った調査結果を表1に示した。各有機すず化合物の合計値(TBMMTを除く)で最大を示したのはカレイの肝臓(0.108 µg/g-wet)。

次いで高濃度であったのは県西部産のカキ3(0.097 µg/g-wet)であった。カレイの肝臓はDBT、DPTが各々40%弱を占めていたが、カキ3はTBTが80%以上を占めていた。前報³⁾でもカキが高濃度を示し、原因としてカキの場合は内蔵も分析に供しているためと考察したので、本年度はハマチおよびカレイについて肝臓の分析を追加して行った。各有機すず化合物の合計値(TBMMTを除く)で肝臓は筋肉と比較してハマチで約2.6、カレイで約5.4倍の値を示し、DPTについてはハマチで約43倍、カレイで約13倍も高い値を示したことより、有機すずは筋肉部よりも肝臓に蓄積しやすいことが確かめられた。このことは、「イカ類の肝臓には、有機すず化合物が、海水中の 10^4 ~ 10^6 倍もの濃度で濃縮・蓄積されている」との報告⁶⁾とも符合した。

また、昨年度から測定を始めたDOTについては検出率が14/16で昨年度(18/22)よりやや高かった。

図3に各有機すず化合物の魚介類中の存在比を示した。存在割合は平均値でみるとTBTが約43%と最も高く、TPT(約26%)、MOT(約14%)がこれに次いだ。タイ、アジ、カキなどの養殖魚介はTBTの比率が高く、アナゴ、カレイ、アカシタビラメおよび肝臓はTPTの比率が高かった。コイはMOTの比率が高かった。

図4にTBMMT標準品のTICおよびマススペクトルを、図5にカキ1のTICおよびマススペクトルを示したが、これらの図よりカキから検出した物質はTBMMTと同定された。

図6にTBMMTおよびその他の有機すず化合物濃度を示した。TBMMTはカキから0.0081~0.0114 µg/g-wet検出されたが、アナゴ、ボラは0.0014~0.0024 µg/g-wetであったので、カキの値は約5倍であった。TBMMT/TBTが海水中で26~27%、海底質中で56~57%との報告⁵⁾があるが今回の魚介類中の値は9~47%であった。Babu R.R. et al⁴⁾によるとTBMMTはTBTから生物学的または化学的にメチル化により生成し、真珠貝中のTBMMTは真珠貝中で生成したのではなく、海水中から移行したと報告している。したがって、本調査の魚介類中のTBMMTも環境中で生成した物を取り込んだものではないかと考えられる。また、TBMMTはTBTより揮発性が高いので汚染拡

表1 調査結果

($\mu\text{g/g}$)

| 魚種 | 産地 | 脂肪 (%) | DBT | TBT | DPT | TPT | MOT | DOT | TBMMT |
|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ハマチ1 (養殖) | 岡山県西部産 | 1.1 | N.D | 0.0045 | N.D | 0.0212 | 0.0011 | 0.0009 | — |
| ハマチ2 (養殖) | 岡山県西部産 | 7.2 | N.D | 0.0108 | N.D | 0.0036 | N.D | 0.0029 | — |
| タイ1 (養殖) | 高知県産 | 3.2 | N.D | 0.0081 | N.D | 0.0013 | N.D | 0.0015 | — |
| タイ2 (養殖) | 愛媛県産 | 3.7 | N.D | 0.0045 | N.D | N.D | N.D | 0.0010 | — |
| アジ1 (養殖) | 愛媛県産 | 18.0 | N.D | 0.0030 | N.D | N.D | N.D | 0.0024 | — |
| アジ2 (養殖) | 高知県産 | 18.5 | N.D | 0.0127 | N.D | 0.0005 | N.D | 0.0019 | — |
| カキ1 (養殖) | 岡山県東部産 | 2.1 | 0.0011 | 0.0243 | N.D | 0.0050 | N.D | 0.0017 | 0.0114 |
| カキ2 (養殖) | 岡山県中部産 | 2.1 | 0.0016 | 0.0191 | N.D | 0.0037 | 0.0004 | 0.0025 | 0.0081 |
| カキ3 (養殖) | 岡山県西部産 | 3.0 | 0.0054 | 0.0831 | N.D | 0.0064 | N.D | 0.0025 | 0.0090 |
| アナゴ 1 | 岡山県中部産 | 13.7 | N.D | 0.0061 | 0.0015 | 0.0104 | 0.0046 | 0.0010 | 0.0014 |
| アナゴ 2 | 岡山県西部産 | 13.1 | N.D | 0.0038 | 0.0040 | 0.0129 | 0.0021 | 0.0009 | — |
| カレイ | 岡山県西部産 | 1.0 | 0.0028 | 0.0012 | 0.0009 | 0.0075 | 0.0077 | N.D | N.D |
| ゲタ | 岡山県中部産 | 1.0 | N.D | 0.0035 | 0.0038 | 0.0104 | 0.0057 | 0.0004 | — |
| ボラ 1 | 岡山県西部産 | 0.8 | N.D | 0.0106 | N.D | 0.0043 | 0.0133 | 0.0011 | — |
| ボラ 2 | 岡山県中部産 | 2.2 | N.D | 0.0255 | 0.0007 | 0.0073 | 0.0065 | 0.0007 | 0.0024 |
| コイ | 岡山県北部産 | 2.3 | N.D | 0.0004 | N.D | N.D | 0.0039 | N.D | N.D |
| ハマチ (肝臓) | 岡山県西部産 | — | 0.0029 | 0.0048 | 0.0146 | 0.0476 | 0.0005 | 0.0022 | — |
| カレイ (肝臓) | 岡山県西部産 | — | 0.0396 | 0.0045 | 0.0124 | 0.0399 | N.D | 0.0123 | — |

注：TBTはTBTO換算値で、他の物質は塩化物換算値で表した。

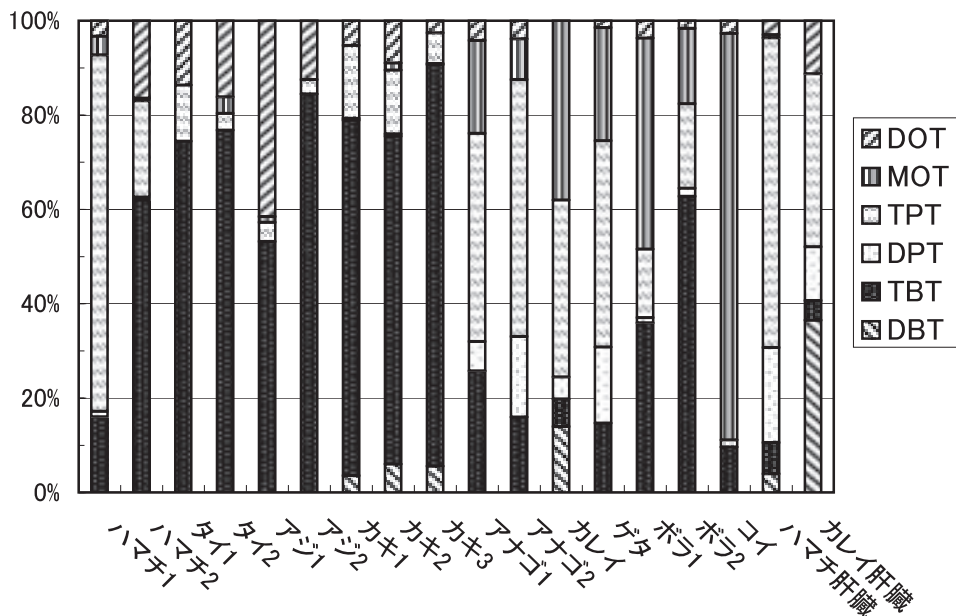


図3 各有機すずの存在割合

大の恐れがあり、今後も継続的にモニタリングを行うことが必要である。

4. まとめ

魚介類中の有機すず (DBT, TBT, DPT, TPT,

MOT, DOT) のテトラエチルホウ酸ナトリウムによる誘導体化法を用いた同時分析並びに TBMMT の分析を試みたところ次の結果を得た。

1) DBT, TBT, DPT, TPT, MOT, DOT の添加回収率を求めたところ70%~90%であった。

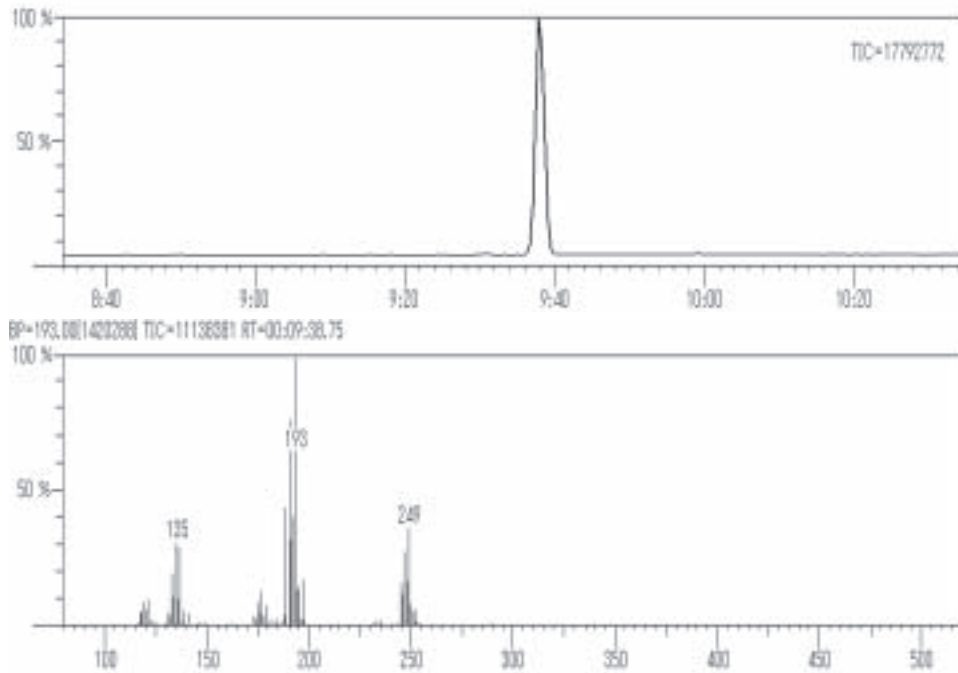


図4 TBMMT標準液のTICおよびマススペクトル（上段がTIC；下段がスペクトル）

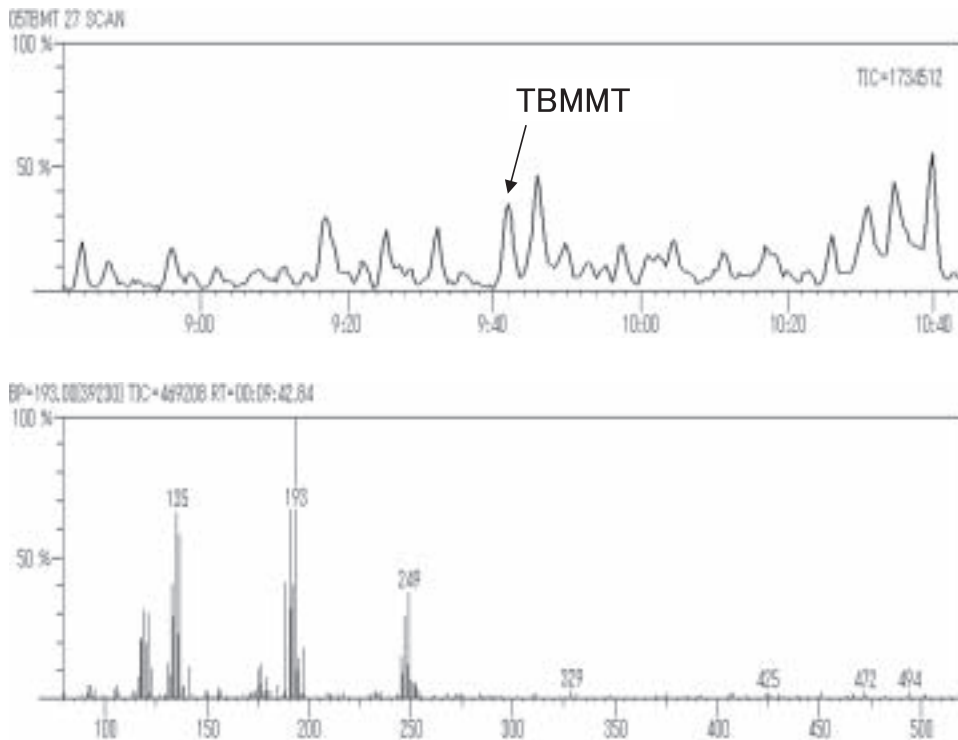


図5 カキ1（岡山県東部海域で養殖）のTICおよびマススペクトル（上段がTIC；下段がスペクトル）

- 2) 調査対象魚介類中ではカキが高い値を示し、筋肉と肝臓を比較すると肝臓が3～5倍高い値であった。
- 3) 各有機すず化合物の存在比は一様でなく魚種によ

り大きな差がみられ、養殖魚介類ではTBTの比率が高かった。

- 4) TBMMTを分析したところカキが他の魚類より高い値を示し、TBMMT/TBTの値は9～47%で

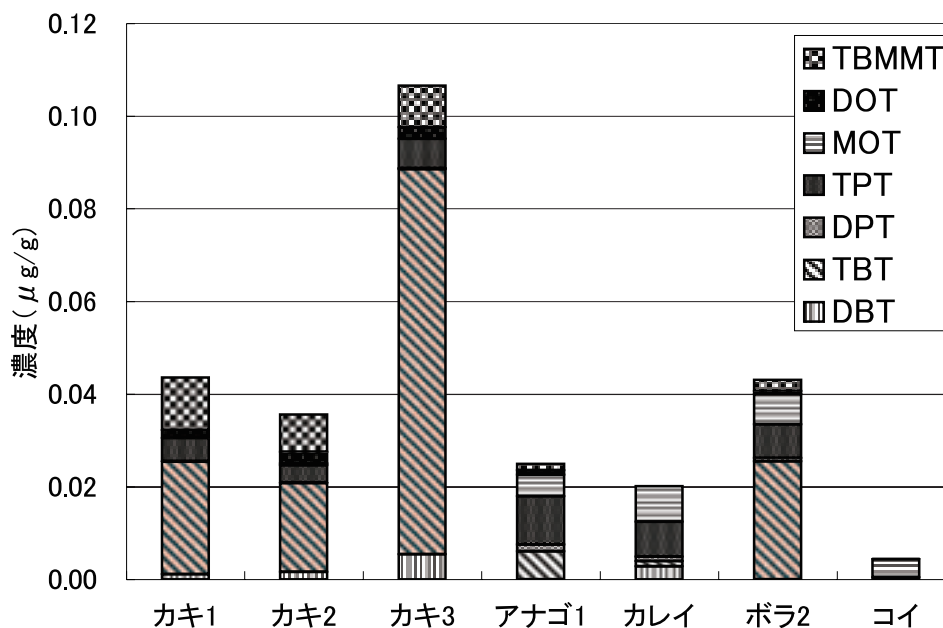


図6 TBMMT および他の有機スズ化合物濃度

あった。

文 献

- 1) 化学物質リスク管理研究センター：詳細リスク評価書 トリブチルスズ (TBT) Ver1.1, 2004
- 2) 柴田康行：野生生物等における内分泌攪乱の実態の解明, <http://www.nies.go.jp/edc/edrep/report/3-1-19-1.htm>
- 3) 山辺真一 他：魚介類中の有機スズ実態調査, 岡山県環境保健センター年報 N028, p115-119, 2004
- 4) Babu R. R. et al : Contamination and Biomethylation of Organotin Compounds in Pearl / Fish Culture Areas in Japan, ANALYTICAL SCIENCES VOL.20 45~53 2004
- 5) 栗原 龍 他：GC/ICP-MS を用いた日本沿岸海水中の有機スズ化合物の動態評価, 環境 ホルモン学会 第7回研究発表会要旨集, p72, 2004
- 6) 中央水産研究所：イカ肝臓の蓄積化学物質による全海洋汚染監視手法の開発, 平成6年度研究成果情報, http://www.affrc.go.jp/ja/db/seika/data_suisan/h06/nrifs94001.html