

# 研究報告

## 論文

### FPDガスクロマトグラフィーを用いたブチルスズ化合物の定量 —水域における有機スズ化合物汚染状況調査への応用—

大野木 宏<sup>1</sup>, 伊永 隆史<sup>2</sup>, 田中 雅邦<sup>2</sup>, 篠田 純男<sup>1</sup>

#### 1 はじめに

スズ金属原子に3つのブチル基が共有結合したトリブチルスズ化合物(TBT: Fig. 1)は、殺生物作用を有するため主として貝類や藻類の付着を防ぐ目的で船底塗料や漁網防汚剤として使用されてきたが、近年、閉鎖性水域を中心とした水質、底質への残留、さらに食物連鎖を介しての魚貝類への蓄積が広い範囲で認められ始め、環境問題としてクローズアップされてきた。この新たな環境汚染物質に対してわが国では、環境庁が1991年に「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法)においてビス(トリブチルスズ)オキシド(TBTO)を「第一種特定化学物質」に、そのほかの13種のTBT並びに7種のトリフェニルスズ化合物(TPT)を「第二種特定化学物質」にそれぞれ指定し、環境への適用を制御する措置をとった。しかしながら、TBTの汚染は東京湾、伊勢湾、そして瀬戸内海においては特に深刻化しており、なおppt( $ng/l$ )~ppb( $\mu g/l$ )レベルのTBTが高い頻度で検出されているのが現状である。最近の研究によってTBTの環境中での分解には半減期にして数週~数カ月といった長期間が要されること<sup>1)~4)</sup>、そして水域から検出されるレベルにおいてさえ貝類、甲殻類、魚類などの水棲生物の生育が抑制されること<sup>4), 5)</sup>が明かになるにつれて、水域に存続するTBTそしてその分解産物であるジブチルスズ化合物(DBT)モノブチルスズ化合物(MBT)の分布状況や消長を把握するといった環境化学的研究、対策の重要性がさらに強く認識されてきている。

さて、環境水中のブチルスズ化合物の測定はもとより、実験室におけるTBTの生物分解モデル系などにおいても、できるだけ環境濃度に近いレベルでTBTを生物に作用させる方が好ましいという意味からブチルスズ化合物の微量分析技術が不可欠となる。ここ数年、ブチルスズ化合物の微量定量はガスクロマトグラフィー(GC)の手法を中心におおきな進展を示し、測定において実用可能な段階になってきている。

GCを用いた定量法は試料の処理、検出方法によって以下の3つに大別できる。

岡山大学薬学部<sup>1</sup>, 岡山大学環境管理センター<sup>2</sup>

- 1) 直接法<sup>6),7)</sup> : 酸溶液で前処理を施したカラムに塩化ブチルスズ化合物を直接注入し, 電子捕獲型検出器 (ECD) で検出する。
- 2) 水素化誘導体化法<sup>8)</sup> : カラム吸着性が高くそのままでは測定の困難な塩化ブチルスズ化合物を水素化ホウ素ナトリウムで吸着性の低い水素化誘導体にして炎光光度検出器 (FPD) またはECDで検出する。
- 3) アルキル誘導体化法<sup>9)</sup> : グリニヤール試薬で塩化ブチルスズ化合物を低吸着性のテトラアルキル誘導体にし, FPDで検出する。

これらの方法はいずれも一長一短があり, なお検討の余地が残されているものの今後の環境化学的な面からのアプローチには有効な手法となるであろう。

以上のような背景から今回, われわれはブチルスズ化合物の微量定量のうち水質試料に関してあまり報告されていない3) の基本方法について検討を行い, pptレベルの微量定量法を用いて岡山県下の水域における本化合物の汚染状況について若干の知見を得たので報告する。

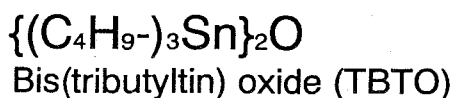


Fig. 1 Butyltin compounds

## 2 試薬と装置

### 2-1 試薬

① 塩化トリブチルスズ (TBTC), 二塩化ジブチルスズ (DBTC) および三塩化ブチルスズ (MBTC) 混合標準溶液:

TBTC (東京化成), DBTC (和光純薬) およびMBTC (Aldrich) それぞれ10mgを秤りヘキサンを加えて10mlとしたものを標準原液とした。それぞれの標準原液を分取, 混合し1 μg/mlになるようにヘキサンで希釈を行い混合標準溶液を調製した。使用の際にはこの溶液を必要に応じて希釈調製して用いた。

② グリニヤール試薬: 3.0 Mエチルマグネシウムブロミドのエーテル溶液 (Aldrich) を使用した。

③ ヘキサン: 高速液体クロマトグラフ用 (片山化学) を使用した。  
エチルエーテル, ジクロロメタン, 塩酸, 無水硫酸ナトリウム, 亜硫酸ナトリウム, ジメチルスルフォキシド (DMSO) : 試薬特級品を使用した。

### 2-2 装置

GC-FPD装置: 島津GC-6AM型ガスクロマトグラフ (FPD: イオウ用干渉フィルター付き) をTable 1の条件で使用した。クロマトグラムはクロマトパックC-R 6A (島津) で記録し, ピーク高を測定した。

Table 1 FPD-GC condition

column	2.0m X 3.0mm i.d. glass
Packing	5% OV-17 / clomosorb W (60-80mesh)
temperature	
column	120°C(1min hold) → 140°C(2°C / min)
FPD	250°C
injector	250°C
carrier gas	Nitrogen 60ml / min

### 2-3 GC用試験溶液の調製

混合標準溶液、もしくは実験試料からの抽出試験溶液を共栓試験管にとりグリニヤール試薬 0.5 mlを加えて室温で30分間放置後冷水10mlを少量ずつ滴下し、次いで亜硫酸ナトリウム 0.1 gを加え軽く振り混ぜた。これに塩酸 0.5 ml, ヘキサン 2 mlを加え3分間激しく振とうしたのちヘキサン層を分取し、さらにヘキサン 2 mlで同様の操作を行い、ヘキサン層を合わせ約30分間無水硫酸ナトリウムで脱水後、ロータリーエヴァポレーター(40°C以下)で濃縮した。これにヘキサンを加え 1.0 mlとし無水硫酸ナトリウムを加えたものをGC用試験溶液とした。

## 3 測定条件および操作の検討

### 3-1 クロマトグラム

上述の方法によって調製したGC用試験溶液(塩化物としてMBT 1.43ng, DBT 1.38ng, TBT 1.23ngを含む)を注入したときのクロマトグラムをFig.2に示す。MBT, DBT, TBTの保持時間はそれぞれ2.2分, 4.4分, 7.9分であり、1回の測定に要する時間は12分程度であった。

### 3-2 水素-空気流量とGC感度の関係

一般に測定感度は水素-空気流量によって大きく影響を受けるため最も高い感度を与える流量を検討せねばならない。Fig.3に水素流量と空気流量を変化させていった時に得られた感度曲線を示した。その結果、水素60ml/min, 空気57ml/minそして水素90ml/min, 空気80ml/minのときに最も高いピークを示した。また、図には示さないがDBTに関してもほぼ同様なパターンがみられた。そこで以下の測定には前者の条件を用いることにした。

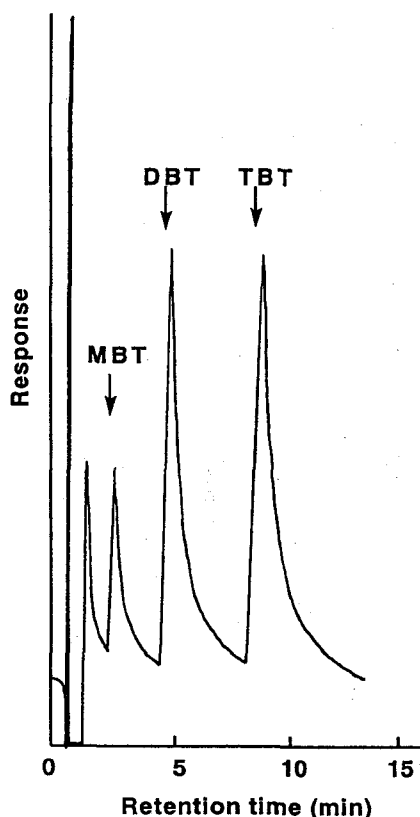


Fig.2 Typical gas chromatogram of butyltin compounds

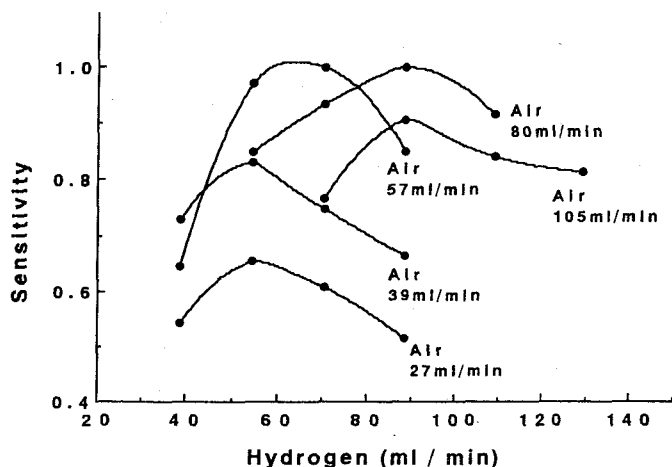


Fig. 3 Effect of hydrogen and air flow rate on sensitivity of FPD-GC

量とピーク高の間には原点を通る良好な直線関係が示された。

### 3-4 定量限界および再現性

クロマトグラムから得られた本条件のTBTC, DBTCの検出限界は5 $\mu$ l注入時においてそれぞれ0.05ngであり, 試料11を用いた場合に相当する定量限界はいずれも0.01 $\mu$ g/lであることがわかった。

また, TBTC, DBTCの量がそれぞれ1.43ng, 1.38ngの試料溶液を用いて5回の繰り返し測定を行った結果, ピーク高の相対標準偏差は1.13%, 1.63%となり良好な再現性が示された。

### 3-5 水試料からのブチルスズ化合物の抽出

環境水試料からのブチルスズ化合物抽出試験溶液の調製は以下に述べる操作で行った。分液ろうとに水試料1lをとり12M塩酸5mlを加え, 40mlジクロロメタンで10分間振とう抽出を行った。10分間静置後下層のジクロロメタンを分取し, さらに水層を同量のジクロロメタンで抽出した。次にジクロロメタン層を合わせ無水硫酸ナトリウムで30分間脱水したものをナス型フラスコに移しロータリーエヴァポレーター(40℃以下)で濃縮して抽出試験溶液とした。高橋ら<sup>8)</sup>が指摘しているように溶媒抽出前に塩酸を加えるのは水中でイオン型をとっているDBTを分子型にするためである。実際に塩酸を加えず抽出を行った場合には水中で分子型をとっていると考えられるTBTCは検出されるがDBTのピークは全く観察されなかった。抽出に用いる溶媒は, 低沸点で濃縮

### 3-3 検量線

0.1~0.8 $\mu$ g/ml程度の範囲でTBTC, DBTCを含む混合標準溶液からGC用試験溶液を調製した。そしてそれらをGC-FPDに3 $\mu$ l注入したときに得られたピーク高を測定し, 検量線を求めた。一般に本検出器のイオンチャンネルによるレスポンスは非直線性をとる特性をもつが, Fig.4に示すように少なくとも0.25~2.5ngの微量濃度範囲ではブチルスズ

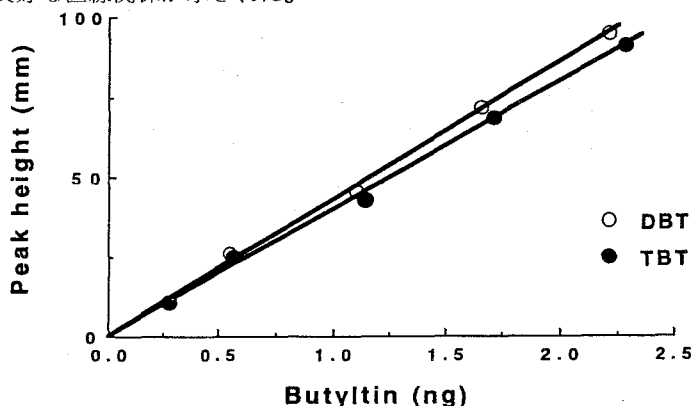


Fig. 4 Working curves for DBT and TBT

時間が短く、環境水中に含まれる有機物とのエマルジョンが生成しにくいことを考慮してジクロロメタンを選択した。この方法によってイオン交換水1ℓに1.00μg分のTBTC（DMSO溶液）を添加した試料から回収操作を行ったときの抽出率は88.7～113.5%（試料数：3）であった。また、調製したテトラアルキルスズ誘導体溶液は4℃、1週間程度の保存において安定であった。

#### 4 水環境試料への応用

##### 4-1 水試料の採取

岡山県下の海域試料（水島港，宇野港，岡山港，渋川海岸，造船所）および河川流域試料（旭川中流，下流，河口）の採取地点をFig. 5に示した。採取は1992年2月から5月までの間，原則として連続した晴天日に行った。表層水を5ℓのポリタンクによって持ち帰ったのち，4℃下に保存し2日以内に定量を行った。

##### 4-2 分析方法

前述の操作に従って水試料からGC用試験溶液を調製し，得られたクロマトグラムのピーク高を測定して検量線より試料中のブチルスズ化合物濃度を定量した。

##### 4-3 岡山県下の水域におけるブチルスズ化合物の濃度

測定の結果，Table 2に示すように旭川中流を除く全ての試料からDBTとTBTがそれぞれ塩化物に換算して0.04～0.12μg/ℓ，0.02～0.13μg/ℓの範囲で検出された。大型船舶の往来，停泊のみられる水島港，宇野港，造船所で比較的高いDBT，TBTが検出されたのをはじめ，渋川海岸や岡山港に至るまで瀬戸内海という広い意味での閉鎖性水域においてブチルスズ化合物の汚染が進んでいることが示された。MBTはいずれの水域からも検出されなかった。DBTからMBTへの分解がかなり長い時間を要するためか，MBTが非常に不安定なためなのかは言及しがたいが，環境中での運命を把握するうえで継続的な濃度調査などによって明かにする必要があるだろう。一見汚染されていないとおもわれる旭川の下流，河口にかけての検出はその流域に

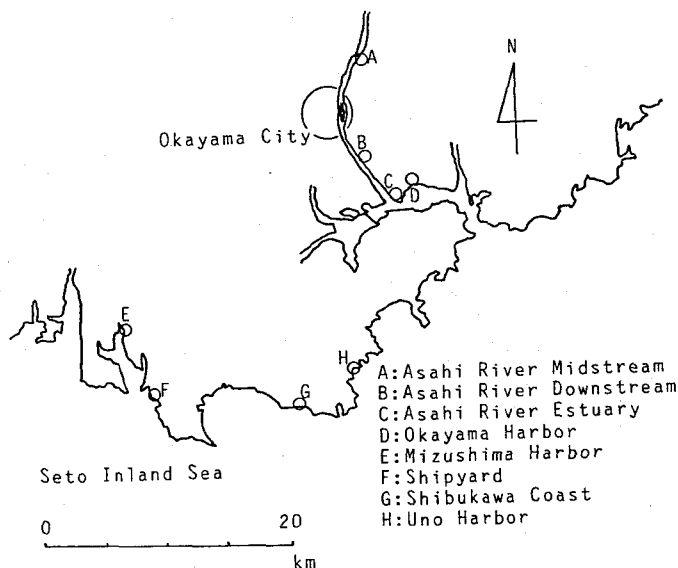


Fig.5 Map showing sampling sites in Okayama prefecture

Table 2 Butyltin concentration in water

sampling site	concentration (μg / l)	
	DBT	TBT
Asahi River Midstream	<0.01	<0.01
Asahi River Downstream	0.04±0.00	0.12±0.01
Asahi River Estuary	0.05±0.01	0.02±0.00
Okayama Harbor	0.04±0.02	0.05±0.02
Mizushima Harbor	0.11±0.02	0.13±0.00
Shipyard	0.07±0.01	0.09±0.01
Shibukawa Coast	0.05±0.02	0.05±0.01
Uno Harbor	0.12±0.01	0.09±0.00

ある多くの漁船，ヨットなどの小型船舶に起因すると推測された。さらに，降雨後の泥分を含んだ両試料についてブチルスズ化合物濃度を測定すると1.5～2倍程度高濃度のDBT，TBTが検出されたことから，水量の増加や攪拌などの刺激がある場合にブチルスズ化合物が物理的吸着をしている底質から溶出してくる可能性があると考えられた。参考のために現在までに報告されているわが国や諸外国の海水中のブチルスズ化合物濃度をTable 3 にまとめてみた。表から明らかかなように港湾域を中心として世界的な規模で0.01～1  $\mu\text{g}/\text{l}$ レベルのTBT汚染がみられている。冒頭で触れたがこのようなレベルのTBTは多くの水棲生物に急性，亜急性毒性をもたらすに十分な濃度であることが知られており，水生生態系の破壊，さらに生物濃縮を経由しての人間の健康への影響を考えると本化合物の環境から除去などの研究や汚染源からの放出に関するさらに積極的な対策が必要であるといえる。

Table 3 TBT concentration in the world

location	concentration ( $\mu\text{g} / \text{l}$ )	Ref
Japan		
Tokyo Bay	N.D - 0.28	7)
Several seawater	N.D. - 0.58	8)
Several seawater	N.D. - 0.11	10)
U.S.A.		
San Diego Bay	N.D. - 0.93	11)
Chesapeake Bay	N.D. - 1.00	12)
England		
Several seawater	0.10 - 0.88	13)
N.D. : < 0.01 $\mu\text{g} / \text{l}$		

## 5 おわりに

GC-FPDを用いた有機スズ化合物の定量分析は水中の $10^3$ 倍程度のレベルで汚染されている底質や魚介類などの生体試料への適用が専らであったが，今回行った方法は $10\text{ng}/\text{l}$ というpptレベルの水質濃度測定が可能であり環境調査の実用に十分適用できるものであることがわかった。また，われわれは現在本化合物の生物分解モデルへの応用という面においても着手しており，将来的に有機スズ化合物分解微生物の探索及び環境中での生物分解のシミュレーションへの適用を考えている。ただし，どの手法も抱えている問題ではあるが，より少量，多数の試料を処理するためにさらなる感度の上昇，操作手順の簡略化を検討してゆく必要性を感じている。

今回の調査結果を含めて有機スズ化合物の汚染は世界的に広がりをもつ深刻な問題であることが改めて認識させられた。幸いながら本化合物は，有機水銀化合物のように人体に対して重篤な影響を与える危険性は今のところ少なく，人為的な製造に基づく適用によってのみ環境に放出されるため汚染源が明確である。これらの点はかつての公害物質ではなく環境汚染物質といわれるものの一面であるといえるが，産業上の有用性と地球環境へのひずみというジレンマにどう対処していくのが現代に課せられた大きなテーマであるといえる。

## 6 参考文献

- 1) P.F.Seligman, A.O.Valkirs and R.F.Lee : Environ.Sci.Technol.,20,1229,1986
- 2) P.F.Seligman, A.O.Valkirs, P.M.Stang and R.F.Lee : Mar.Pollu.Bull., 19, 531, 1988
- 3) R.F.Lee, A.O.Valkirs and P.F.Seligman : Environ.Sci.Technol., 23, 1515, 1989
- 4) R.J.Maguire and R.J.Tkacz : J.Agric.Food Chem., 33, 947, 1985
- 5) S.J.Bushong, L.W.Hall, W.S.Hall, W.E.Johnson and R.L.Herman : Wat. Res., 22, 1027, 1988
- 6) 竹内正博, 水石和子, 山野辺秀夫, 渡辺四男也, 道口正雄 : 分析化学, 38, 522, 1989
- 7) 竹内正博 : 環境と測定技術, 18, 32, 1991
- 8) 高橋一暢 : 日本化学会誌, 5, 367, 1991
- 9) 高見勝重, 奥村為男, 山崎裕康, 中本雅雄 : 分析化学, 37, 449, 1988
- 10) 環境庁環境保健部保健調査室 : 平成2年度版化学物質と環境, 1990
- 11) A.O.Valkirs, P.F.Seligman, P.M.Stang, V.Homer, S.H.Lieberman, G.Vafa and C.A.Dooley : Mar.Pollu.Bull., 17, 319, 1986
- 12) L.W. Hall, M.J.Lenkevich, W.S.Hall, A.E.Pinkney and S.J.Bushong : Mar.Pollu.Bull., 18, 78, 1987
- 13) J.J.Cleary and A.R.D.Stebbing : Mar.Pollu.Bull., 16, 350, 1985