

博多湾沿岸部に生息する貝類の有機スズ化合物と インボセックス出現率に関する調査

中牟田啓子・中原亜紀子・木下誠

福岡市保健環境研究所環境科学部門

A survey on relation of imposex occurrence ratio with concentration of organotins in shellfishes around the Hakata Bay in 2003

Keiko NAKAMUTA, Akiko NAKAHARA and Makoto KINOSHITA

Environmental Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

Summary

Concentration of organotin compounds was determined in shellfishes which range over the coast of Hakata Bay. Tributyltin compound(TBT) was the most among the four organotin compounds that were TBT, triphenyltin(TPT), dibutyltin(DBT) and diphenyltin(DPT). In *Thais clavigera*, the range of detected TBT is $<3 \sim 30\text{ng/g-wet}$, the mean value was 13ng/g-wet . There was correlation between the occurrence rate of imposex and TBT concentration, and the correlation coefficient was 0.798. In *Tapes japonica*, TBT concentration is in the range of $15 \sim 19\text{ ng/g-wet}$, and TBT concentration has decreased to $1/4 \sim 1/5$ compared with 1991.

Key Words : トリブチルスズ (TBT) Tributyltin, イボニシ *Thais clavigera*,
アサリ *Tapes japonica*, 博多湾 Hakata Bay

I はじめに

トリブチルスズ(TBT)およびトリフェニルスズ (TPT)に代表される有機スズ化合物は、船舶防汚塗料や魚網の防汚塗料として広く使用されてきた。しかし、巻き貝のインボセックスを引き起こすなど、内分泌攪乱作用が懸念されており¹⁾、平成2年から日本では製造および使用が全面的に禁止されている。

本市では、平成13年にイボニシの形態調査を実施し、博多湾沿岸海域におけるイボニシのインボセックスの出現率や相対ペニス長指数 (RPL Index) について調査を行った²⁾。しかし、貝類の有機スズ化合物濃度については、平成3年にアサリ・カキの調査を実施して以来調査を行っていない。そこで今回は、博多湾に生息するイボニシおよびアサリ・カキの有機スズ化合物濃度の調査を行ったので報告する。

II 実験方法

1. 試料

イボニシは、平成13年に行ったイボニシの形態調査の試料(冷凍保存)を用いた。また、アサリは平成15年4月に東区雁の巣(東部)、中央区地行浜(中部)及び西区今津(西部)の海岸にて採取したもので、殻径が3.5cm前後のものを用いた。カキは平成15年4月に東区雁の

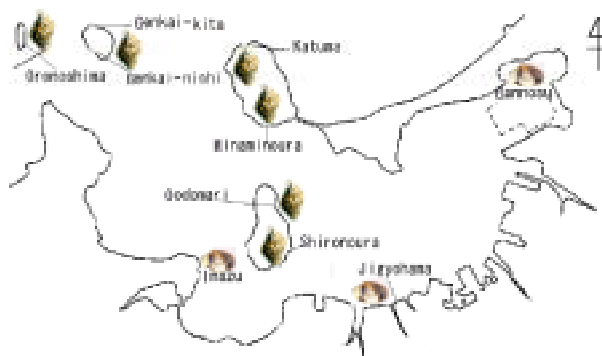


Fig.1 Sampling point

巢の海岸にて採取したもので、殻径が 10cm 前後のものを用いた。試料の採取地点を Fig.1 に示す。分析は、貝殻を除いたむき身の部分を使用し、多数の固体を合わせて行った。

2. 試薬等

ヘキサン、アセトン、メタノール、エタノール、酢酸エチル；残留農薬試験用
酢酸、塩酸、臭化水素酸；特級試薬
酢酸ナトリウム、臭化ナトリウム；特級試薬
水酸化カリウム；特級試薬
無水硫酸ナトリウム；残留農薬試験用
二塩化ジブチルスズ (DBT)；東京化成工業
塩化トリブチルスズ (TBT)；東京化成工業
二塩化ジフェニルスズ (DPT)；Aldrich Chemical Inc.
塩化トリフェニルスズ (TPT)；和光純薬工業
塩化トリブチルスズ-d27(TBT-d27)；林純薬工業
塩化トリフェニルスズ-d15(TPT-d15)；林純薬工業
テトラブチルスズ-d36；林純薬工業
フロリジルカートリッジカラム；Sep-Pak Plus Florosil
テトラエチルホウ酸ナトリウム；和光純薬工業
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)：2mol/L 酢酸と 2mol/L 酢酸ナトリウムを pH5 になるように混合する。
(酢酸：酢酸ナトリウム = 5.9:14.1(v:v))
10%NaBEt₄ 溶液：用時調整

3. 分析方法

化学物質分析法開発報告書^{3,4)} に準拠した。ホモジナイズした試料 5g を 50mL 遠沈管にとり、1μg/mL サロゲート混合溶液 (TBT-d27, TPT-d15) 50μL を添加し、攪拌後 1 時間放置した。これに 1mol/L 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液 30mL を加えて 30 分間振とう抽出し、10 分間遠心分離 (2000rpm) した。上澄みは、あらかじめ飽和臭化ナトリウム溶液 100mL を入れた 300mL 分液ロートに移した。残渣に 1mol/L 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液 30mL を加えて同様に 20 分間振とう抽出、遠心分離 (2000rpm, 10 分間) 後、上澄みを分液ロートに合わせた。これに酢酸エチル/ヘキサン(3:2)30mL を加えて 10 分間振とう抽出した。静置後、水層を同様にもう一度抽出し、有機層を合わせ、ヘキサン 100mL を加えて混合し、20 分間静置した。生じた水層を破棄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。これをロータリーエバポレーターで約 5mL 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た。

残渣にエタノール 5mL を加えて溶解し、200mL の分液ロートに流し込み、酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH

Table 1 MS/MS condition

compound	precursor (m/z)	colligion (eV)	monitor (m/z)
DBT	263	0.75	207
TBT	291	0.75	235
DPT	303	1.0	275
TPT	351	1.4	197
TBT-d27	318	0.85	254
TPT-d15	366	1.4	202
TeBT-d36	318	0.8	254

5) 5mL および精製水 10mL を加えて混合後、2%NaBEt₄ 溶液 5mL を添加し 10 分間振とうした。これに、1mol/L 水酸化カルシウム・エタノール溶液 40mL を加えて 1 時間振とうを行った。これに精製水 25mL 及びヘキサン 40mL を加えて 10 分間振とう抽出し、水層を別の分液ロートに移し、ヘキサン 40 mL を加えて同様に抽出操作を行った。ヘキサン層を合わせ、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 2mL まで濃縮した。ヘキサン 10mL 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、流出液も回収した。次に 5 % ジエチルエーテル・ヘキサン 6mL で溶出し、溶出液を合わせ、窒素ガスで 0.5mL まで濃縮し、内標準物質テトラブチルスズ-d36 溶液 (1.0μg/mL, 50μL) を加えて GC/MS 測定用試料とした。分析結果は、TBT については TBTO (ビス (トリブチルスズ) = オキシド) 換算値、他の有機スズ化合物は塩化物換算値で示した。また、分析は 1 地点について 2 ~ 4 検体分析し、その平均値で示した。

4. 装置及び測定条件

装置及び分析条件を下記に示す。また、MS/MS の条件を Table 1 に示した。

GC/MS：Trace GC2000/GCQ (サーモクエスト株)

カラム：DB-5MS (J&W), 30m × 0.25mm × 0.25μm

カラム温度 60 °C (2min) - 20 °C/min - 130 °C (0min)

- 5 °C/min - 210 °C (0min) - 10 °C/min

- 260 °C (0min) - 20 °C/min - 300 °C (2min)

注入口温度：250 °C

モード：スプリットレス (1min)

イオン源温度：200 °C

トランスファー温度：275 °C

測定モード：MS/MS

III 実験結果及び考察

1. イボニシの有機スズ濃度

Table 2 Organotin concentration in *Thais clavigera*

point	DBT	TBT	DPT	TPT
Katuma	3	6	<2	4
Minaminoura	12	19	<2	6
Jigyohama	3	14	<2	<2
Shironoura	5	30	<2	8
Oodomari	7	25	<2	8
Genkai-nishi	4	8	<2	<2
Genkai-kita	4	10	<2	<2
Oronoshima	<3	<3	<2	<2

unit:ng/g.wet

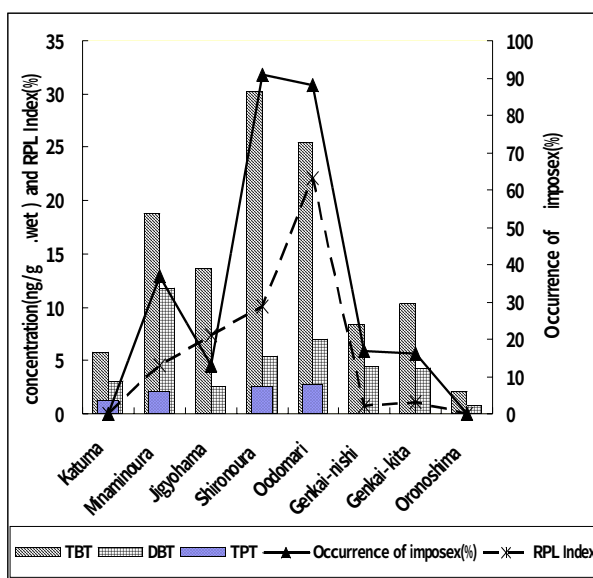


Fig.2 Organotin concentration and occurrence of imposex

市内 8 カ所に生息するイボニシの有機スズ濃度を Table 2 に示す。4 種の有機スズ化合物の中で、最も高濃度に検出されたのは、TBT であり、濃度範囲は<3 ~ 30ng/g.wet、平均値は 13ng/g.wet であった。また、同時に多くの地点で DBT も検出され濃度範囲は<3 ~ 12ng/g.wet、平均値は 5ng/g.wet であった。TPT については 4 カ所で検出されたが濃度範囲は<2 ~ 8ng/g.wet、平均値は 3ng/g.wet と低濃度であり、DPT は全ての地点で不検出(<2ng/g.wet)であった。

次に、有機スズ濃度とインポセックス出現率及び相対ペニス長指数 (RPL Index) との関係を図 2 に示した。TBT が比較的高濃度に検出されたのは城ノ浦 30ng/g.wet、大泊 25ng/g.wet、南ノ浦 19ng/g.wet であり、この地点のインポセックスの出現率は 91、88、37% と高く、RPL Index は 10、22、5 であった。また、これらの地点では TPT も検出されており、それぞれ 8、8、6 ng/g.wet であった。堀口らは、イボニシの体内有機スズ濃度とインポセックスの症状の重さとの間には正の相関が認められることを報告しており^{5,6)}、今回の結果では、

Table 3 Organotin concentration in bivalve

sample name	DBT	TBT	DPT	TPT
<i>Crassostrea gigas</i>	6	36	<2	4
<i>Tapes japonica</i>				
(east)	3	19	<2	2
(center)	<3	18	<2	<2
(west)	<3	15	<2	<2

unit:ng/g.wet

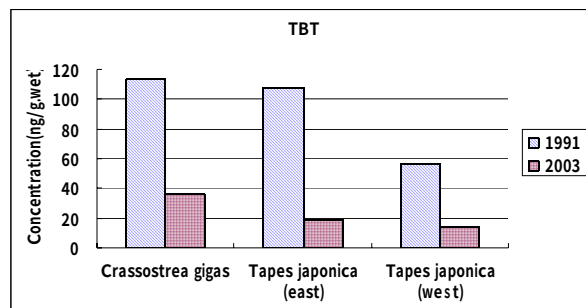


Fig.3 Change of TBT concentration in bivalve

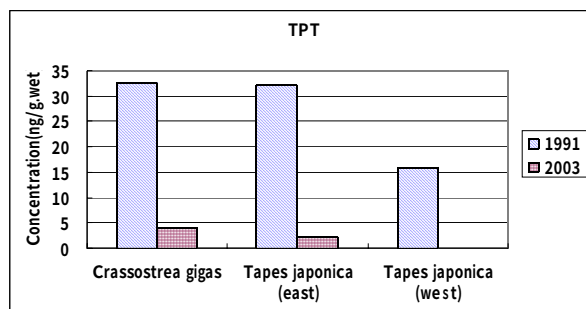


Fig.4 Change of TPT concentration in bivalve

RPL Index との相関は高くなかったが、インポセックスの出現率と高い相関 (相関係数 0.798) を示した。

2. アサリ等の有機スズ濃度

市内 3 カ所でのアサリ及びカキの分析結果を Table 3 に示した。TBT は、いずれの試料からも検出され、その値はアサリで 15 ~ 19ng/g.wet 東部のカキは 36 ng/g.wet で、平成 3 年の調査結果と比較すると 1/4 ~ 1/5 に減少していた (Fig.3)。また、TPT については、東部の貝からは検出されたが、西部及び中部の貝からは検出されず、平成 3 年の調査結果と比較すると 1/10 程度に減少していた (fig4)。

IV まとめ

市内 8 カ所に生息するイボニシの有機スズ濃度を測定した。その結果、4 種の有機スズ化合物の中で、最も高

濃度に検出されたのは TBT であり、TBT 濃度が比較的高かった地点は、インボセックスの出現率も高い（相関係数 0.798）ことが分かった。また、アサリやカキの有機スズ濃度は、平成 3 年の調査結果と比較すると TBT は 1/4 ～ 1/5、TPT は 1/10 程度に減少していることが分かった。

文 献

1)堀口敏宏：解散巻貝類のインボセックス：雌の雄性化現象－内分泌攪乱化学物質による野生生物への影響－，遺

伝，52，16 ～ 21，1998

2)谷口千歳他：福岡市の沿岸部におけるイボニシの形態調査について，福岡市保健環境研究所報，27，66 ～ 68，2002

3)H10 年平成化学物質分析法開発報告書，1 ～ 31

4)H11 年平成化学物質分析法開発報告書，42 ～ 59

5)堀口敏宏他：有機スズ汚染と腹足類のインボセックスの経年変化と現状，沿岸海洋研究，37，89 ～ 95，2000

6)堀口敏広：野生生物の内分泌攪乱現象の現状と原因物質／貝類「水産環境における内分泌攪乱物質」，54 ～ 72，恒星社厚生閣（東京），2000