

## GC/MS を用いた海水中における有機スズ化合物の定量法の検討

清水潤子：海洋研究室

## Analysis of organotin compounds in seawaters using GC/MS

Junko Shimizu : Ocean Research Laboratory

## 1. はじめに

近年、有機スズ化合物は内分泌攪乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）として注目されている。有機スズ化合物の一種であるトリブチルスズ (TBT) 化合物とトリフェニルスズ (TPT) 化合物は、船底塗料や漁網の防汚剤として、生物の付着防止の目的で使用されてきたが、日本では、1990年から「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」により TBT 及び TPT の使用や製造等に関する規制が行われており、環境庁の報告(環境庁水質保全局, 1998)によると、ここ数年は、TBT や TPT による日本国内の河川及び港湾の汚染はともに横ばいか減少傾向を示している。しかしながら、巻貝の一種であるイボニシの繁殖不能 (Horiguchi et al., 1994) が極低濃度の TBT 汚染海域でも起こることや、外洋性の海棲哺乳類にも高濃度の TBT の蓄積がされている

(田辺, 1998) こと等が明らかになってきており、沿岸部のみならず外洋における低濃度の有機スズ化合物汚染の実態を把握することの必要性が生じてきた。

現在 IMO において、有機スズ化合物の船体への使用を禁止する国際条約締結の準備が行われており、それによれば条約発効後、各締約国は有機スズ化合物による海洋汚染のモニタリング結果を IMO に報告する義務が生じる。そのため水路部では、有機スズ化合物を新たに汚染調査項目に加える準備として、海水及び海底堆積物中の TBT や TPT の検出と定量方法を検討中である。その一環として、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を用いた海水中における TBT 及び TPT 化合物の定量につい

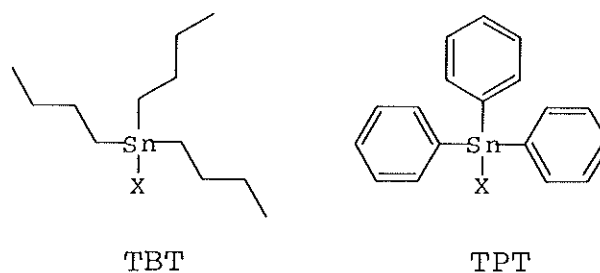
て検討を行ったので、その結果を報告する。

## 2. 分析方法の概要

有機スズ化合物の分析方法は、他の機関によりすでに種々のものが検討されている (環境庁環境保健部保健調査室, 1994, 1998) が、本報では主に「外因性内分泌攪乱物質調査暫定マニュアル」(環境庁水質保全局水質管理課, 1998) を参考にして分析方法を組み立てた。

TBT 化合物及び TPT 化合物は、それぞれ第 1 図に示す化学構造をしている。ここで、X-はハロゲン等の陰イオン原子又は陰イオン性の無機若しくは有機分子である。TBT 及び TPT 化合物は、海洋環境中において、様々な X-基を持って存在しているため、X-基を n-プロピル基 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) に置換した誘導体にする事で化学形を統一し、測定することとした。

海水試料は、塩化トリペンチルスズ (TPeT) を内標準物質として添加した後、塩酸酸性下において n-ヘキサンで抽出して脱水し、濃縮した後、臭化 n-プロピルマグネシウムによりプロピル化した。次にプロピル化体を n-ヘキサンで抽出し、クリーンアップした後、GC/MS-SIM 法により定量した。



第 1 図 TBT 及び TPT の化学構造式

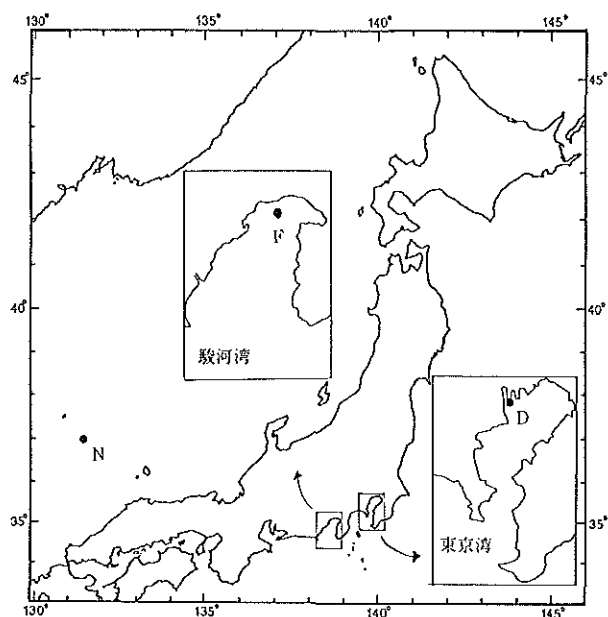
なお、本文中での TBT, TPT および TPET 化合物の濃度はすべて塩化物換算により記述した。

### 3. 試料の採取

本実験に供した海水試料は、1999年8月23日から1999年9月16日までの本庁水路部の測量船拓洋の航海において採取した。試料容器には、洗剤、水、1 M 塩酸-メタノール、蒸留水、n-ヘキサンで洗浄した共栓付ガラス瓶を使用した。海水は、ポリエチレン製バケツ及びロートを用いて瓶の肩口まで採取した。

試料採取点を第2図に示す。駿河湾湾奥部(35-05.5N, 138-43.7E, 8月24日採取)の採取点をF, 島根沖日本海(36-34.4N, 131-29.8E, 8月28日採取)をN, 東京湾13号地, 台場官庁船専用棧橋付近(35-37.3N, 139-46.2E, 9月16日採取)をDとする。

海水試料は、海水中に含まれる有機スズ化合物が容器に吸着することを防ぐため、採取後直ちに塩酸を添加した(海水1ℓ当たり10ml)。試料採取から測定までの間の、有機スズ化合物濃度の変化を調べるため、いくつかの海水試料へ採取後直ちにTBTとTPTの混合標準溶液(それぞれ0.01μg/mlのアセトン溶液)を1mlずつ添加した。また、試料の保存状



第2図 海水試料採取点

第1表 海水試料の採取量, 添加試薬, 及び保存状態

試料採取点	採取容器サイズ	塩酸添加量	有機スズ標準添加	試料数及び保存状態	
				冷蔵	室温
F	2 ℓ	20 ml	あり	3本	3本
F	5 ℓ	50 ml	なし	2本	2本
N	2 ℓ	20 ml	あり	3本	3本
N	5 ℓ	50 ml	なし	2本	2本
D	5 ℓ	50 ml	なし	-	2本

態による有機スズ化合物濃度の変化の差を調べるため、採取した試料を船内冷蔵庫(4℃以下)と実験室(室温)とにわけて、入港日まで保管した。採取した試料の数, 試料への試薬の添加及び試料の保存状態を、第1表にまとめる。

### 4. 実験

#### 4-1. 試薬

n-ヘキサン, アセトン, メタノール, ジエチルエーテル及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用試薬(関東化学製)を, 硫酸及び塩酸は有害金属測定用試薬(関東化学製)を, 臭化n-プロピルマグネシウムは1M臭化n-プロピルマグネシウムテトラヒドロフラン溶液(関東化学製)を, フロリジルミニカラムはSep Pac Florisil(1g/6cc, Waters製)を使用した。また、精製水として蒸留水をn-ヘキサンで2回抽出洗浄したものを使用した。

標準試薬は、有機スズ化合物標準原液セット(関東化学製)の塩化トリブチルスズ標準原液(1mg/ml in toluen 5ml), 塩化トリフェニルスズ標準原液(1mg/ml in toluen 5ml)及び塩化トリペンチルスズ標準原液(1mg/ml in toluen 5ml)をそれぞれn-ヘキサンで希釈して使用した。

#### 4-2. 試験溶液の調整

海水試料は、各試料瓶にTPeT塩化物の0.01μg/ml, n-ヘキサン溶液1mlを添加した後、以下の分析操作によって処理した。分析のフローチャートを第3図に示す。

海水試料瓶にアセトン20mlを加えた後、n-ヘキサン100ml, 次いでn-ヘキサン50mlにより攪拌抽出を行った。攪拌にはテフロン製のプロペラを用いた。

n-ヘキサン層に、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、ろ過した後、回転式すり合わせ減圧濃縮器(ロータリーエバポレーター)を用いて40℃以下において約5mlまで減圧濃縮した。濃縮液を共栓付き試験管に移し、窒素ガスを吹き付けて約1mlまで濃縮した。濃縮した1ml溶液に、臭化n-プロピルマグネシウム

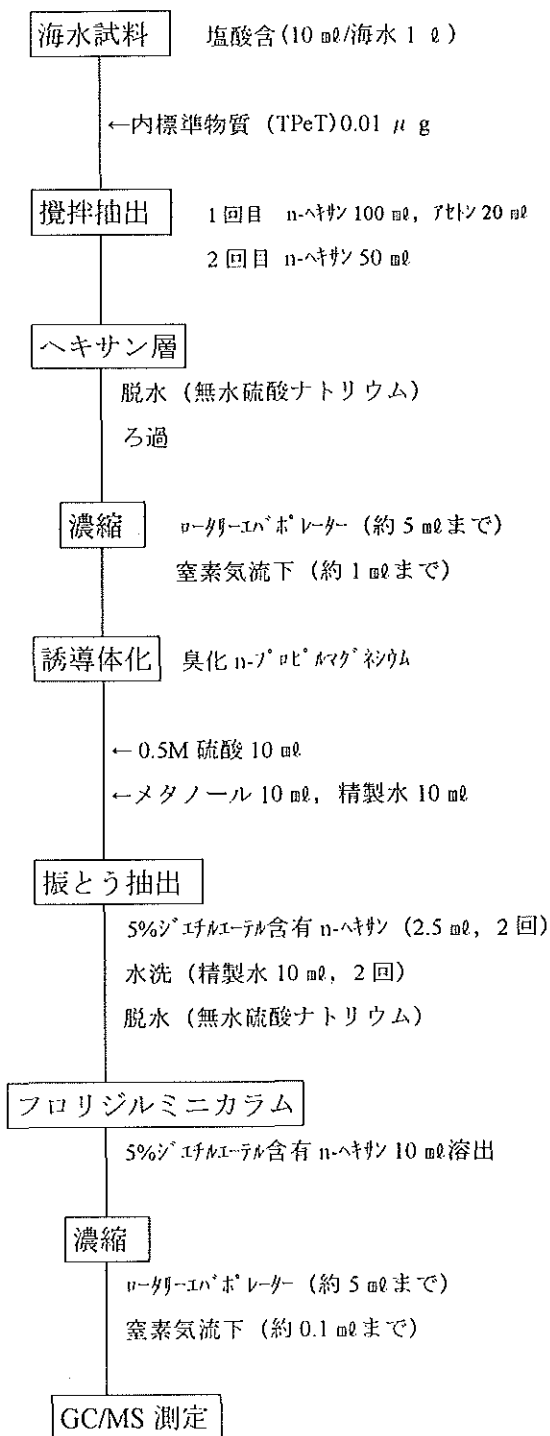
溶液を1ml加え、室温で30分放置してプロピル化を行った。水冷しながら0.5M硫酸10mlを徐々に加え、過剰の臭化n-プロピルマグネシウムを分解した。分液漏斗に移し、メタノール10ml、精製水10mlを加えた。これを5%ジエチルエーテル含有n-ヘキサン2.5mlで2回抽出した。抽出液を精製水10mlで2回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。この溶液を、あらかじめ10mlのn-ヘキサンを通して洗浄したフロリジルミニカラムに負荷し、5%ジエチルエーテル含有n-ヘキサン10mlで溶出させた。溶出液をロータリーエバポレーター、窒素ガスをを用いて約0.1mlまで濃縮したものを、測定用試料溶液とした。

標準試料は、以下の方法で調製した。

TBT, TPT 及び TPeT 塩化物をそれぞれ 1 μg ずつ含む n-ヘキサン溶液 1 ml を臭化 n-プロピルマグネシウム溶液 1 ml でプロピル化した。0.5M 硫酸 10 ml, メタノール 10 ml 及び 精製水 10 ml を加え、n-ヘキサン 2.5 ml で 2 回抽出し、精製水 10 ml で 2 回洗浄した。無水硫酸ナトリウムで脱水した後、n-ヘキサンで 10 ml に定容した。この溶液は TBT, TPT 及び TPeT それぞれ 0.1 μg/ml に相当する。

4-3. GC/MS による測定

GC/MS の測定は第 2 表に示した条件で行った。検量線は、標準溶液 1 μl を GC/MS に注入し、内標準物質 (TPeT) に対する TBT 及び TPT の相対ピーク面積比から作成した。定量は、海水試料抽出試料溶液 1 μl を GC/MS に注入し、TPeT に対する TBT 及び TPT の相対ピーク面積比を検量線と



第 3 図 海水試料分析のフローチャート

第 2 表 GC/MS 測定条件

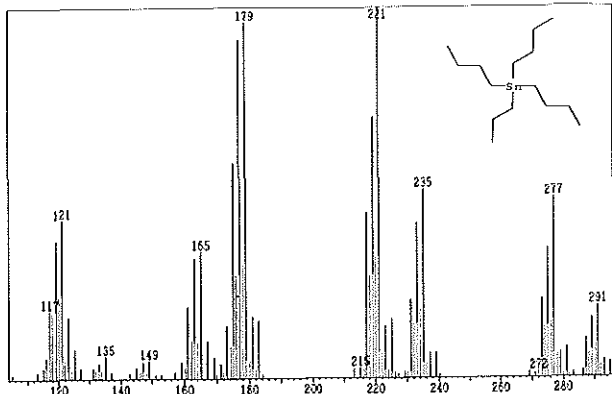
機器	島津 GC-17A, 島津 GCMS-QP5050A
分離カラム	J&W 社製 DB-1 (60m x 0.25 mm φ, 膜厚 0.25 μm)
カラム槽昇温条件	60℃ (2分間保持), 60-200℃ (20℃/分), 200-300℃ (5℃/分), 300℃ (2分間保持)
注入法	スプリットレス法 (1分後バージ)
キャリアーガス	高純度ヘリウム, 流量 1.2 ml/分
気化室温度	280℃
インターフェース温度	300℃
イオン源温度	240℃
イオン化エネルギー	70eV
検出器電圧	1.5kV
SIM モニターイオン	TBT: 277.10(275.10) TPT: 351.00(349.00) TPeT: 305.15(303.15) 括弧内は参照イオン

比較して行った。

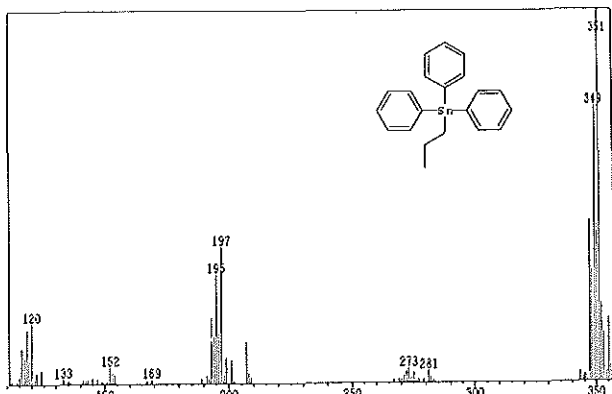
5. 結果と考察

5-1. GC/MS による標準溶液の測定

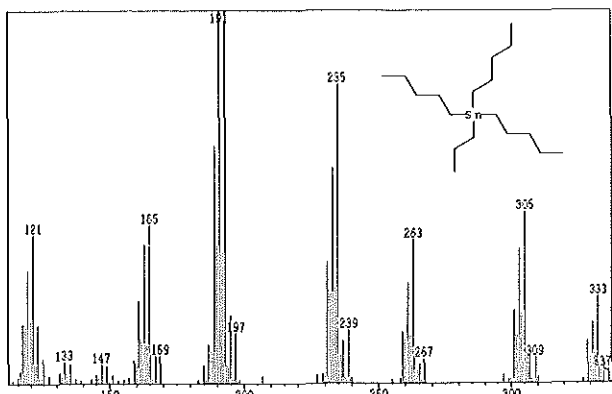
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 標準試料の SCAN 測定 (スキャン範囲 100-300) から得られた, プロピル化 TBT, プロピル化 TPT 及びプロピル化 TPeT のマススペクトル



第4図 プロピル化 TBT のマススペクトル



第5図 プロピル化 TPT のマススペクトル



第6図 プロピル化 TPeT のマススペクトル

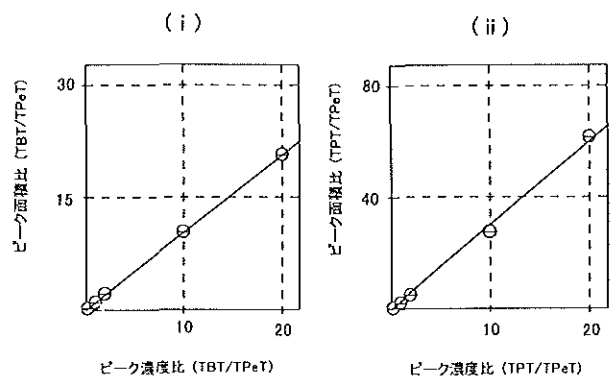
ルをそれぞれ第4図, 第5図及び第6図に示す。

5種類の濃度の標準試料溶液 (各試料にそれぞれ 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の TBT 及び TPT を, また, 全試料に 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ずつの TPeT を含む。) の測定により作成した検量線を第7図に示す。ここで, 横軸は濃度の比, 縦軸はピーク面積の比である。TBT, TPT 共に良い直線性が得られた。

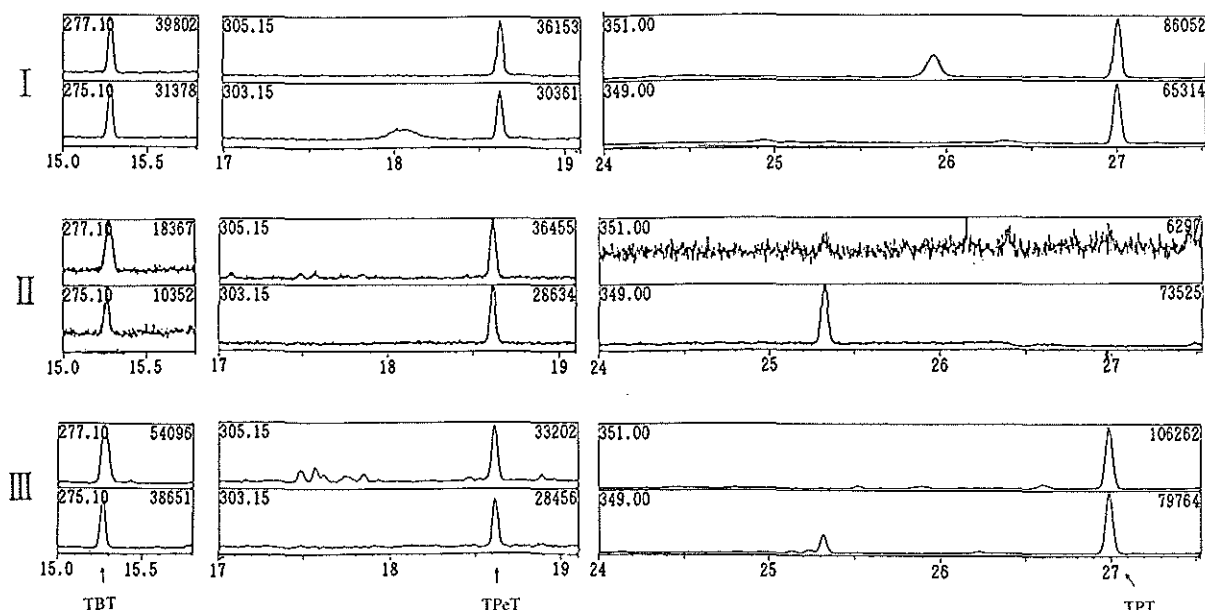
海水抽出試料の定量には, TBT, TPT 及び TPeT をそれぞれ 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$  含む標準の測定による一点検量線を使用した。検量線に用いた標準試料のイオンクロマトグラムを第8図の I に示す。ここで, 横軸はカラム保持時間(分), 縦軸はピーク強度である。TBT, TPT 及び TPeT の参照イオン (275.10, 349.00 及び 303.15) のピーク面積は検量線に用いたイオン (277.10, 351.00 及び 305.15) のピーク面積のそれぞれ 76%, 75% 及び 75% であり, これはスズ元素の安定同位体  $^{120}\text{Sn}$  に対する  $^{118}\text{Sn}$  の存在比 74% と同程度であった。0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$  の標準の測定時に検出ピークのシグナル/ノイズ比 (S/N 比) は TBT が約 2, TPT が約 3 であり, 定量の限界を S/N = 2 以上とすれば, GC/MS による TBT, TPT それぞれの定量限界はそれぞれ 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 0.006 $\mu\text{g}/\text{ml}$  程度であると考えられる。

5-2. GC/MS による海水試料の測定

海水抽出試料の測定結果から, 参照イオンのピーク面積が定量用イオンのピーク面積の 75 $\pm$ 5% であるものをそれぞれの有機スズ化合物のピークと同定し, 濃度を決定した。しかし, 多くの海水抽出試料



第7図 GC/MS-SIM 測定による TBT の検量線(i) 及び TPT の検量線(ii)



第8図 GC/MS-SIM 測定によるイオンクロマトグラム。I；標準試料(0.1 $\mu$ g/l)，II；海水抽出試料(採取点 N, 冷蔵保存)，及びIII；0.01 $\mu$ g 標準添加海水回収試料(採取点 N, 冷蔵保存)

の TBT と TPeT のピーク面積はこの範囲に当てはまらなかった。この範囲に当てはまらなかった試料においては、定量用イオン (277.10, 305.15) のピーク面積が参照イオン (275.10, 303.15) のピーク面積から考えられる値よりも大きめであったことから、夾雑物のピークが重なったと考えられる。これらの試料については、参照イオンには夾雑物のピークが重なっていないと仮定し、参照イオンのピーク面積の比を用いて定量した。参照イオンを定量に用いて得られた定量結果については第3表及び第4表において、\*印を付する。

測点 F, N 及び D において 5 l 瓶に採取した海水試料(TBT と TPT の混合標準溶液を添加していない)の分析結果を第3表に、測点 N の海水(冷蔵保存)から抽出した試料のイオンクロマトグラムを第8図の II に示す。各試料とも、5 l 瓶 2 本分の試料を合わせて得られた抽出溶液を約 0.1ml まで濃縮して測定した。測点 F は湾奥であり汚染が比較的大きい事が予想されたが、検出された TBT 濃度は 0.0009 $\mu$ g/l であった。陸から離れているため比較的汚染が小さいと予想された測点 N からは、TBT が 0.0004 $\mu$ g/l 検出された。これらのイオンピークは S/N 比が 2 から 3 程度と検出限界に近い濃度で

第3表 海水試料中の TBT 及び TPT 濃度  
TBT( $\mu$  g/l) TPT( $\mu$  g/l)

Sample	TBT ( $\mu$ g/l)	TPT ( $\mu$ g/l)
N (冷蔵保存)	0.0004*	検出なし
N (室温保存)	0.0004*	検出なし
F (冷蔵保存)	0.0009*	検出なし
F (室温保存)	0.0009*	検出なし
D (室温保存)	0.0030*	検出なし

あった。このことから、内湾域及び外洋での TBT の定量には少なくとも 5 l から 10 l の海水試料が必要であると考えられる。港湾内にある測点 D では、TBT が 0.0030 $\mu$ g/l 検出された。環境庁の最近の調査結果によると、東京湾晴海運河における海水中的 TBT 濃度は、平成 7 年度は 0.004 $\mu$ g/l、平成 8 年度及び 9 年度は定量下限値 (0.004 $\mu$ g/l) 未満であり、今回の結果と同程度である。また、いずれの測点においても TPT は検出されなかったため、TPT の検出には、10 l の海水試料では不十分であると考えられる。環境庁の調査結果においても TPT は河川水及び港湾内の海水において近年ほとんど検出されておらず、海水中的 TPT の検出はかなり難しいことが予想される。また、測点 F 及び測点 N の冷蔵保存

第4表 0.01 $\mu\text{g}$  標準添加海水試料からの TBT 及び TPT 回収量

	TBT( $\mu\text{g}$ )	TPT( $\mu\text{g}$ )
	0.012*	0.013
N (冷蔵保存)	0.014*	0.014*
	0.010*	0.013
	0.013*	0.013*
N (室温保存)	0.014*	0.012*
	0.012*	0.011
	0.012*	0.012
F (冷蔵保存)	0.013*	0.014*
	—	—
	0.011*	0.010*
F (室温保存)	0.013*	0.013*
	0.011*	0.010

海水試料と常温保存海水試料の TBT 濃度は、いずれも同じ値であった。

2 l 瓶の海水に 0.01 $\mu\text{g}$  の TBT 及び TPT を添加した試料の分析結果を第4表に、測点 N の海水 (冷蔵保存) から抽出した試料のイオンクロマトグラムを第8図のIIIに示す。TBT 及び TPT の検出量は一試料当たり 0.010-0.014 $\mu\text{g}$  であり、同じ条件で採取、保存された試料の間でも、測定値に  $\pm 20\%$  程度のばらつきがあった。このばらつきの範囲内では、試料中の TBT や TPT の分解による減少や、試料の保存状態による濃度の差は見られなかった。

## 6. まとめ

海水試料中の TBT, TPT 濃度を GC/MS で測定する方法を検討した。内湾及び外洋の海水から TBT を検出するためには少なくとも 5 l から 10 l の海水が必要であることが分かった。海水試料からの TPT の検出はなかった。冷蔵保存した海水試料と室温保存したものとの間では、TBT 及び TPT の回収率の差は見られなかった。

海水抽出試料の GC/MS 測定において、TBT のピークに夾雑物ピークが重なり、同定が確実にできなかった。海水中の有機スズ化合物濃度レベルは大

変低く、検出するためには大量の海水を濃縮するので、夾雑物による検出の妨害は避けられない。今後は試料のクリーンアップ法の改善による夾雑物の除去を考えるほか、GC のカラム分離条件や MS の測定条件などの改善により夾雑物の妨害を防ぐ方法を検討する必要がある。

また、有機スズ標準試薬を添加した海水試料の分析結果では、回収率にばらつきがあったが、低濃度の有機スズ化合物の定量においては、高い再現性を出すのは難しいことが予想される。内標準物質と TBT, TPT の抽出率や、分析の繰り返し精度の検証も行う必要があると考えられる。

## 7. 引用文献

- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. and Morita, M.: Imposax and organotin compounds in *Thais Claviger* and *T. bronni* in Japan., *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **74**, 651-669, (1994)
- 環境庁環境保健部保健調査室: ブチルスズおよびフェニルスズ化合物の分析法, 平成5年度化学物質分析法開発報告書, 219-232, (1994)
- 環境庁環境保健部保健調査室: ジブチルスズ化合物, トリブチルスズ化合物, フェニルスズ化合物, ジフェニルスズ化合物, トリフェニルスズ化合物, 平成9年度化学物質分析法開発報告書, 1-33, (1998)
- 環境庁水質保全局: 未規制汚濁源水質調査結果 (有機スズ化合物), 1-27, (1998)
- 環境庁水質保全局水質管理課: トリブチルスズ化合物, トリフェニルスズ化合物の分析法, 外因性内分泌攪乱物質調査暫定マニュアル(水質, 底質, 水生生物), X-1-X-7, (1998)
- 田辺信介: ブチルスズ化合物による海棲哺乳類の汚染, 環境毒性学会誌, **1**(1), 14-25, (1998)