

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

対象物質及び構造式

ジブチルスズ化合物(DBT)	$(C_4H_9)_2SnX_2$
トリブチルスズ化合物(TBT)	$(C_4H_9)_3SnX$
フェニルスズ化合物(MPT)	$(C_6H_5)SnX_3$
ジフェニルスズ化合物(DPT)	$(C_6H_5)_2SnX_2$
トリフェニルスズ化合物(TPT)	$(C_6H_5)_3SnX$

(X=陰性基)

物理化学的性状値

有機スズ化合物(塩化物)の物理化学的性状値を表1に示す。

表1 物理化学的性状値(塩化物)

	二塩化ジブチルスズ	塩化トリブチルスズ	三塩化フェニルスズ	二塩化ジフェニルスズ	塩化トリフェニルスズ
分子式	$(C_4H_9)_2SnCl_2$	$(C_4H_9)_3SnCl$	$(C_6H_5)_3SnCl$	$(C_6H_5)_2SnCl_2$	$(C_6H_5)_3SnCl$
分子量	303.83	325.49	302.18	343.81	385.46
比重		1.200	1.839		
融点	39-41℃			41-43℃	108℃
沸点	135℃/10mmHg	171-173℃ /25mmHg	142-143℃ /25mmHg	333-337℃	240℃ /13.5mmHg
水溶解度	295mg/L	976mg/L	>10mg/ml	11.5mg/L	
logPow	0.949	1.725	0.831	1.014	2.11
蒸気圧		0.01mmHg/20℃			

§1 分 析 法

生物試料に 1M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液を加えて抽出し、さらに酢酸エチル/ヘキサン混合溶液で再抽出する。抽出液を脱水・濃縮後、エタノールに溶解して水及び緩衝液を加え、テトラエチルホウ酸ナトリウム($NaBEt_4$)溶液を添加して誘導体化する。次に 1MKOH-エタノール溶液を加えて室温で 1 時間振とうし、アルカリ分解を行う。分解液に水及びヘキサンを加えて振とう抽出し、脱水・濃縮後、フロリジルカートリッジカラムによるクリーンアップを行い、GC/MS-SIM で定量する。

試 験 法

【試料の採取及び保存】

有機スズ化合物は保存容器に吸着されやすいため、以下の方法で洗浄した試料容器に保存し、試料採取後速やかに前処理操作を行う。

広口ガラスビンを洗剤で洗浄後、水道水でよくすすぎ、乾燥させる。これを1M 塩酸-メタノールで洗浄し、蒸留水、アセトンの順で洗浄、乾燥する。この容器にホモジナイズした試料を入れて密栓し、 -10°C 以下で保存する。

【試料の前処理】

ホモジナイズした試料 5g を精秤して 200ml 三角フラスコに採り、 $1\mu\text{g/ml}$ サロゲート混合溶液 $50\mu\text{l}$ を添加し、十分攪拌して1時間放置する(注1)。これに1M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液 70ml を加えて 30 分間振とう抽出し、No.5A のろ紙で吸引ろ過する。三角フラスコを1M 臭化水素酸-メタノール/酢酸エチル混合溶液 30ml で洗浄して、洗浄液を抽出液と合わせる。得られた抽出液をあらかじめ飽和 NaBr 溶液 100ml を入れた 300ml 分液ロートに移し、酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液 30ml を加えて 10 分間振とう抽出する(注2)。静置後水層を別の分液ロートに移し、さらに酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液 30ml を加えて、同様の抽出操作を繰り返す。有機層を合わせ、ヘキサン 200ml を加えて混合し、20 分間放置する。生じた水層を廃棄後、無水 Na_2SO_4 で脱水する。これをロータリーエバポレータで約 5ml まで濃縮し、さらに乾固しないように注意しながら窒素ガスを穏やかに吹き付けて溶媒を揮散させる。残渣にエタノール 5ml を加えて溶解し(注3)、試料前処理液を得る。

【試料液の調製】

試料前処理液を少量のエタノールを用いて 200ml の分液ロートに洗い込む。これに酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)5ml 及び精製水 10ml を加えて混合後(注4)、10%NaBEt₄ 溶液 1ml を添加し、10 分間振とうして有機スズ化合物を誘導体化する。これに 1MKOH-エタノール溶液 40ml を加えて 1 時間振とう・アルカリ分解する。分解終了後、精製水 25ml 及びヘキサン 40ml を加えて 10 分間振とう抽出する。水層を別の分液ロートに移し、ヘキサン 40ml を加えて同様の抽出操作を繰り返す。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧 KD 濃縮装置を用いて約 2ml まで濃縮する(注5, 注6)。得られた濃縮液をあらかじめコンディショニングしたフロリジルカートリッジカラムに負荷し、流出液を回収する。さらにカートリッジに 5%ジエチルエーテル含有ヘキサン 6ml を流して有機スズ化合物を溶出する。溶出液を合わせ、窒素ガスを穏やかに吹き付けて 1ml まで濃縮し、 $1\mu\text{g/ml}$ の内標準混合溶液 $50\mu\text{l}$ を正確に添加して、測定用試料液とする。

【空試験液の調製】

試料を用いずに【試料の前処理】及び【試料液の調製】と同様の操作を行って得た試料液を空試験液とする(注 7)。

【標準液の調製】

[対象物質]

三塩化ブチルスズ 10mg、二塩化ジブチルスズ 10mg、塩化トリブチルスズ 10mg、三塩化フェニルスズ 10mg、二塩化ジフェニルスズ 10mg、塩化トリフェニルスズ 10mg を正確に秤り取り、ヘキサンでそれぞれ正確に 100ml として標準原液(100 μ g/ml)を調製する(注 8)。各標準原液の所定量を適宜ヘキサンで希釈混合して、0.1 μ g/ml～10 μ g/ml の混合標準溶液を作成する。さらに混合標準溶液(0.1 μ g/ml)から 1ml を分取し、酢酸エチルで正確に 10ml として、混合標準溶液(0.01 μ g/ml)とする(注 9)。

[サロゲート物質]

三塩化ブチルスズ- d_9 、二塩化ジブチルスズ DBT- d_{18} 、塩化トリブチルスズ TBT- d_{27} 、三塩化フェニルスズ MPT- d_5 、二塩化ジフェニルスズ DPT- d_{10} 、塩化トリフェニルスズ TPT- d_{15} をそれぞれ 10mg 正確に秤り取り、ヘキサンでそれぞれ正確に 100ml としてサロゲート標準原液(100 μ g/ml)を調製する(注 8)。各サロゲート標準原液からそれぞれ 1ml を正確に分取し、酢酸エチルで 100ml としてサロゲート混合溶液(1 μ g/ml)とする(注 9)。

[内標準物質]

テトラブチルスズ(TeBT)- d_{36} を 10mg 正確に秤り取り、ヘキサンで正確に 100ml として内標準原液(100 μ g/ml)を調製する。内標準原液から 1ml を正確に分取し、ヘキサンで 100ml として内標準溶液(1 μ g/ml)とする。

[検量線作成用混合標準溶液]

あらかじめ 3% 塩化ナトリウム溶液 30ml を入れた 50ml 分液ロートに混合標準溶液(0.1 μ g/ml または 1 μ g/ml)の所定量とサロゲート混合溶液(1 μ g/ml)500 μ l を添加した後、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5)1ml を加えて軽く振り混ぜる。次に、2%NaBEt₄ 溶液 0.5ml を添加して 10 分間振とうする。これをヘキサン 3ml で 2 回抽出し、抽出液を合わせて脱水後、内標準溶液(1 μ g/ml)500 μ l を正確に添加し、ヘキサンを加えて 10ml 定容として検量線作成用混合標準溶液とする。

【測定】

[GC/MS 測定条件]

使用機種(例) GC	:HP6890
MS	:HP5973MSD

使用カラム: 5%フェニルメチルシリコン (J&W DB-5ms 30m×0.25mm^φ×0.25μm)

カラム温度: 60℃(2min)→20℃/min→130℃→10℃/min→210℃→5℃/min→260℃→
→10℃/min→300℃(2min)

キャリアーガス流速: 1ml/min (定流量モード)

注入口温度: 270℃

インターフェース温度: 280℃

注入法: スプリットレス(1 分後パージ)

注入量: 1μl

イオン源温度: 230℃

イオン化エネルギー: 70eV

SIM モニターイオン	DBT	: 261 (263)	DBT-d ₁₈	: 279 (281)
	TBT	: 263 (261)	TBT-d ₂₇	: 318 (316)
	MPT	: 253 (255)	MPT-d ₅	: 260 (258)
	DPT	: 303 (301)	DPT-d ₁₀	: 313 (311)
	TPT	: 351 (349)	TPT-d ₁₅	: 366 (364)
	TeBT-d ₃₆	: 318 (316)		
	MBT	: 235 (233)	MBT-d ₉	: 244 (242)

()は確認用イオン

[検量線]

検量線作成用標準溶液 1 μl を GC/MS に注入し、各対象物質の重水素化物(サロゲート)を内標準として、内標準法により検量線を作成する。また、サロゲート物質の回収率を計算するため、TeBT-d₃₆ に対する各サロゲート物質のピーク面積比をそれぞれ求めておく。

[定量]

測定用試料液 1 μl を GC/MS に注入し、対象物質と対応するサロゲート物質とのピーク面積比を求め、検量線から濃度比を求める。また、サロゲート物質と内標準物質とのピーク面積比を同様に求める。

[計算]

トリブチルスズ化合物は、次式により TBTO 換算として試料中の濃度を求める。

$$\text{計算値}(\mu\text{g/g}\cdot\text{wet}) = \frac{\text{濃度比} \times \text{サロゲート物質添加量}(\mu\text{g})}{\text{試料量}(\text{g})} \times 0.916$$

その他の有機スズ化合物は次式により塩化物換算としての濃度を求める。

$$\text{計算値}(\mu\text{g/g}\cdot\text{wet}) = \frac{\text{濃度比} \times \text{サロゲート物質添加量}(\mu\text{g})}{\text{試料量}(\text{g})}$$

[検出限界]

本分析法の検討に用いた GC/MS (HP5973MSD) における装置検出限界 (IDL) を以下に示す (注 10)。

	IDL(pg)	試料量(g・wet)	試料濃度換算値 ($\mu\text{g/kg}\cdot\text{wet}$)
DBT	0.11	5	0.023
TBT	0.47	5	0.094
MPT	1.2	5	0.22
DPT	0.12	5	0.023
TPT	0.13	5	0.025
(MBT)	0.58	5	0.12

本分析法の検出限界を以下に示す (注 11)。

試料	試料量	検出限界($\mu\text{g/kg}\cdot\text{wet}$)		
		(MBT)	DBT	TBT
生物	5g	(6.6)	0.96	1.3

試料	試料量	検出限界($\mu\text{g/kg}\cdot\text{wet}$)		
		MPT	DPT	TPT
生物	5g	3.2	0.13	0.16

試薬・器具

【試薬】

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, 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

三塩化ブチルスズ: Aldrich Chemical Company Inc.

二塩化ジブチルスズ:東京化成工業

塩化トリブチルスズ:東京化成工業

三塩化フェニルスズ:和光純薬工業, Strem Chemicals Inc.

二塩化ジフェニルスズ:Aldrich Chemical Company Inc.

塩化トリフェニルスズ:和光純薬工業, Strem Chemicals Inc.

三塩化ブチルスズ- d_9 , 二塩化ジブチルスズ- d_{18} , 塩化トリブチルスズ- d_{27} , 三塩化フェニルスズ- d_5 , 二塩化ジフェニルスズ- d_{10} , 塩化トリフェニルスズ- d_{15} , テトラブチルスズ- d_{36} :林純薬工業

テトラエチルホウ酸ナトリウム(注 10):Strem Chemicals Inc., 林純薬工業や和光純薬工業などで輸入販売を行っている。

10%NaBEt₄ 溶液:用時調製し、残った溶液は捨てる。

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5):2M 酢酸と2M 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))

【器具】

共栓付三角フラスコ:200ml

減圧ろ過装置

分液ロート:300ml, 200ml

スピッツ管:10ml

ナス型フラスコ:300ml

KD 濃縮管:100ml

振とう機

遠心分離機

ロータリーエバポレータ

フロリジルカートリッジカラム:Sep-Pak Plus Florisil(910mg 充填、1 種類のみ)、または同等品。

使用前にヘキサン 10ml で洗浄する。

ガラス器具を使用前に 1M 塩酸(または臭化水素酸)-メタノール、水、アセトンの順で洗浄する(注 7)。

注 解

- 1) サロゲート物質を試料に十分なじませるため、添加後 1 時間放置する。
- 2) 飽和 NaBr 溶液を加えた際に、NaBr が析出する場合があるが、そのまま水層として操作する。
- 3) MPT はエタノール中で不安定であるため、試料前処理液を長く保存せず、できるだけ早く次

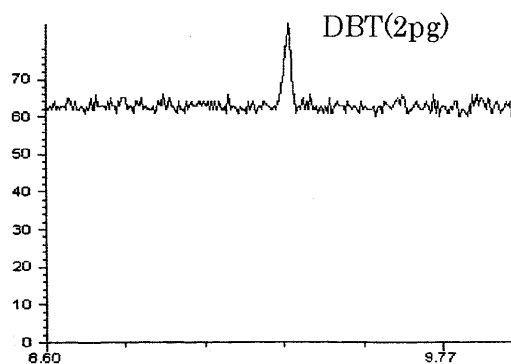
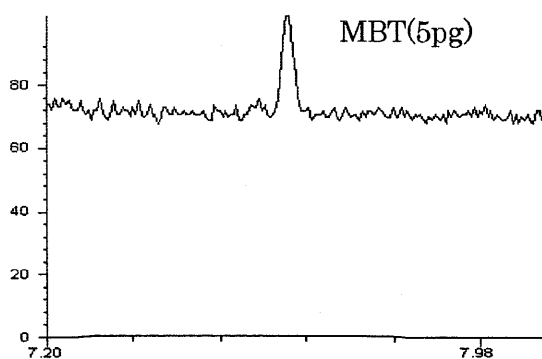
の操作を行う。(詳細は解説を参照)

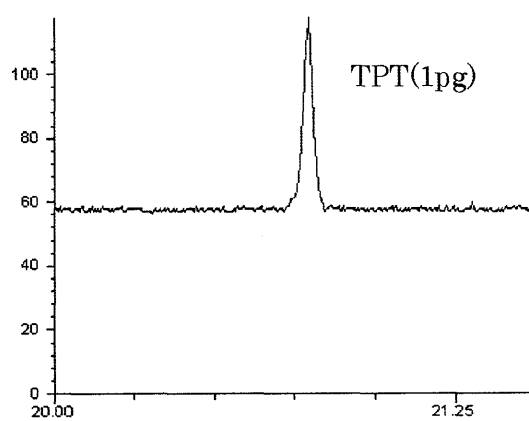
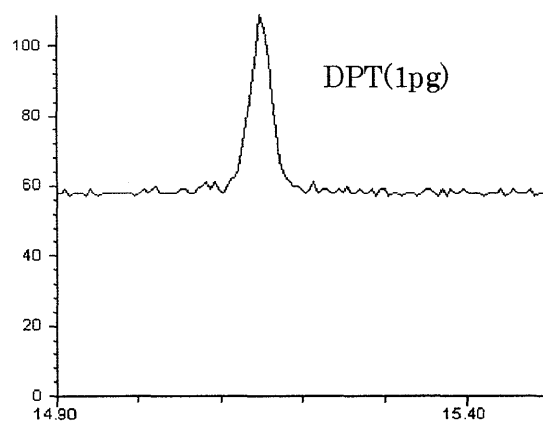
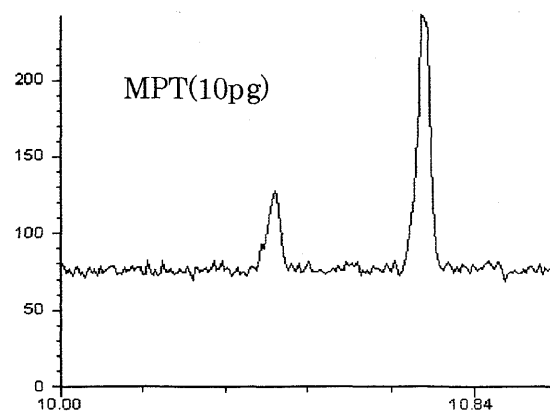
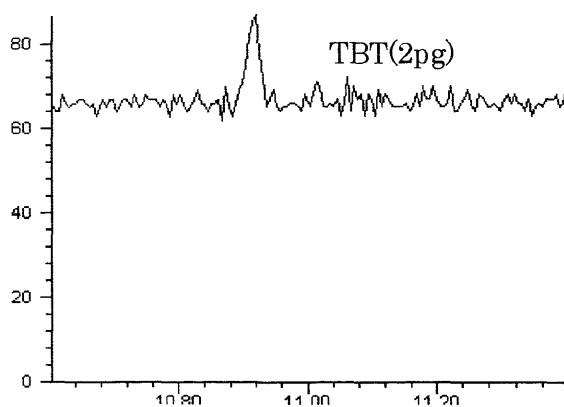
- 4) pH 試験紙を用いて pH5 であることを確認する。pH5 になっていない場合は、緩衝液の添加量を増やす。その場合は、精製水の添加量を減らし、緩衝液と精製水の添加量の合計を 20ml とする。
- 5) 対象物質のエチル化体は、濃縮により損失しやすい。損失をできるだけ避けるため、湯浴の温度を 40℃ 以下とし、必要以上に減圧しない。なお、減圧 KD 濃縮装置がない場合は、ロータリーエバポレータを使用してもよいが、バキュームコントローラ等で所定の圧力に調整することが望ましい。
- 6) 試料によっては濃縮液に濁りが生じて柔らかいゲル状になることがある。このような試料は次のクリーンアップ操作においてカートリッジが詰まるが、注射筒などで上から加圧すればよい。なお、濁りの有無による回収率の差は見られなかった。
- 7) MBT, DBT, MPT 及び DPT がブランクから出ることがある。使用するガラス器具を 1M 塩酸-メタノールで洗浄することで低減できるが、器具以外からの汚染も考えられる。
- 8) MPTCl_3 は有機溶媒中で不安定であり、時間の経過と共に MPT が減少して DPT が生成する現象が見られる。そのため、定期的に DPT の生成の有無を確認し、必要に応じて標準原液を作成し直す。(詳細は解説を参照)
- 9) アセトン及びエタノール中では MPTCl_3 が特に不安定であるため、試料添加用標準溶液は用時調製する。(詳細は解説を参照)
- 10) テトラエチルホウ酸ナトリウムは白色の粉末であるが、開封後は徐々に黄変する。試薬ビンをチェック付きビニール袋に入れて冷凍保存することにより黄変を抑えることができる。また、試薬がキムワイプ等に付着すると数十秒後に発火するため、ふき取ったキムワイプ等は直ちに水に浸ける。
- 11) 装置検出限界は、第 16 回環境科学セミナープログラム・講演要旨集(平成 11 年 3 月)の「検出限界算定方法(案)」に従って次のように算出した。

表 装置検出限界の算出(HP5973MSD)

物質名	MBT	DBT	TBT	MPT	DPT	TPT
試料量(g・wet)	5					
最終液量(ml)	1					
注入液濃度(ng/ml)	5	2	2	10	1	1
装置注入容量(μ l)	1					
結果1	3.51	2.30	2.00	9.89	1.18	1.25
結果2	4.19	2.38	2.41	9.20	1.13	1.12
結果3	3.91	2.19	2.24	10.6	1.23	1.15
結果4	3.82	2.30	2.29	9.03	1.06	1.08
結果5	4.03	2.34	2.07	9.68	1.18	1.05
結果6	4.35	2.32	1.73	8.93	1.09	1.16
結果7	4.33	2.28	2.38	9.73	1.14	1.13
標準偏差	0.300	0.0583	0.242	0.574	0.0593	0.0631
IDL(pg)	0.584	0.113	0.471	1.12	0.115	0.123
IDL 試料濃度換算 値(ng/g・wet)	0.117	0.0227	0.0942	0.223	0.0230	0.0245
S/N	6.2	5.3	5.0	5.0	12.0	17.8
S/N適否	○	○	○	○	○	
平均(pg)	4.02	2.30	2.16	9.58	1.14	1.13
RSD%	7.5	2.5	11.2	5.9	5.2	5.6

繰り返し試験の代表的なクロマトグラムを以下に示す。(注入量は1 μ l)



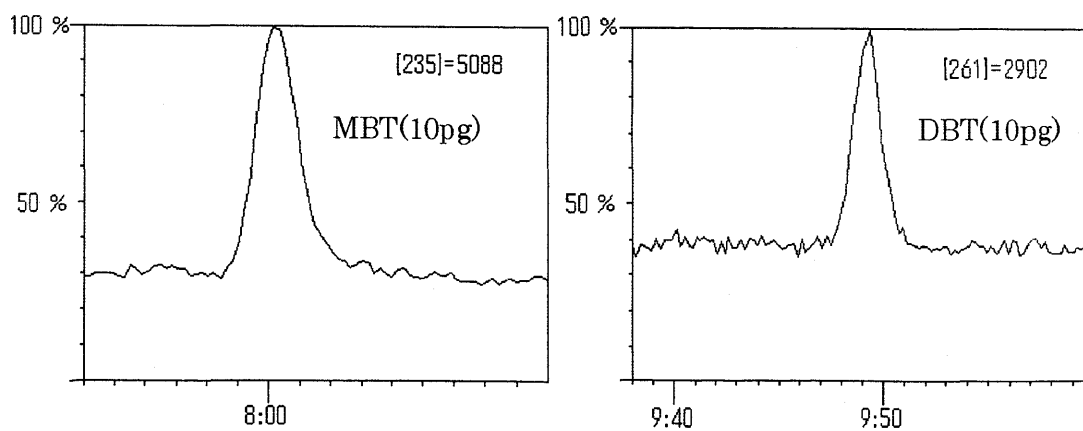


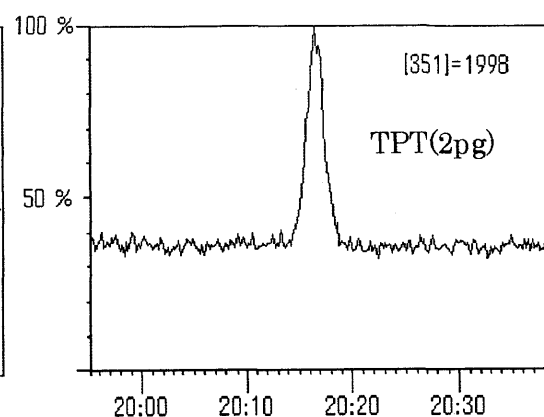
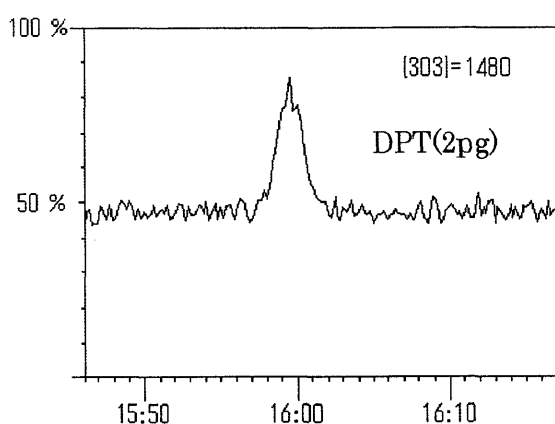
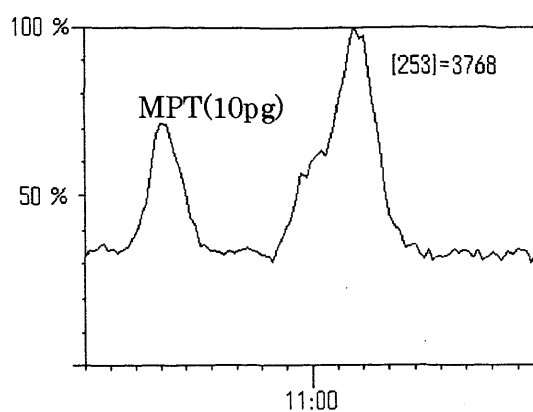
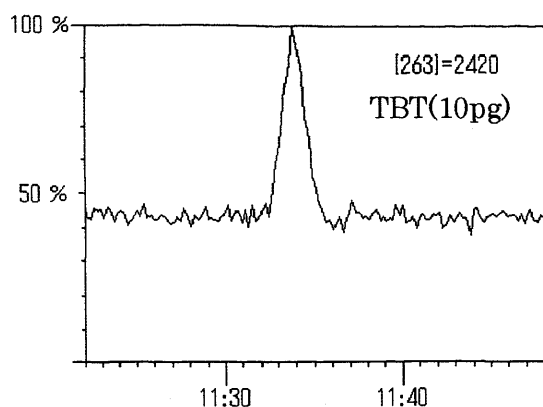
また、参考として日本電子 Automass 20 における装置検出限界を求めた。結果を以下に示す。

表 装置検出限界の算出(Automass 20)

物質名	MBT	DBT	TBT	MPT	DPT	TPT
試料量(g·wet)	5					
最終液量(ml)	1					
注入液濃度(ng/ml)	10	10	10	10	2	2
装置注入容量(μ l)	1					
結果1	9.85	9.95	10.1	10.2	2.05	1.97
結果2	11.2	10.7	9.12	12.4	2.99	1.96
結果3	10.2	10.6	8.94	11.4	2.52	2.12
結果4	11.3	11.6	10.6	11.8	2.36	2.04
結果5	10.9	11.8	7.91	12.1	2.32	1.99
結果6	10.8	11.3	8.83	11.2	2.56	1.94
結果7	10.6	11.9	9.42	11.8	2.48	1.98
標準偏差	0.515	0.714	0.882	0.743	0.288	0.0601
IDL(pg)	1.00	1.39	1.71	1.44	0.560	0.117
IDL 試料濃度換算 値(ng/g)	0.200	0.278	0.342	0.288	0.112	0.0234
S/N	11.7	10.3	9.3	10.8	6.7	10.7
S/N適否	○	○	○	○	○	○
平均(pg)	10.7	11.1	9.27	11.6	2.47	2.00
RSD%	4.8	6.4	9.5	6.4	11.7	3.0

繰り返し試験の代表的なクロマトグラムを以下に示す。(注入量は1 μ l)





12) 検出限界は「検出限界の定め方について」(昭和 63 年 5 月 27 日)に従って次のとおり算出した。なお、水質の検出限界算出表は平成 9 年度化学物質分析法開発報告書を参照した。

DBT	水質				生物
試料濃度(μ g/L)	0.00051	0.0010	0.0021	検出限界推定値 (μ g/kg)	0.42
応答値(X)	0.00072	0.0013	0.0031	試料濃度(μ g/kg)	2.0
標準偏差(σ R)	0.000066	0.000063	0.00016	分析値(X)	2.8
検出力(Dn)	0.00001	0.00001	0.0002	標準偏差(Sc)	0.31
検出限界(D×3)	0.00042			検出限界(μ g/kg)	0.96
定量限界(D×10)	0.0014			95%信頼区間	0.61-2.1
不偏分散(Fd)	7.1				

TBT	水質				生物
試料濃度(μg/L)	0.00051	0.00010	0.00021	検出限界推定値 (μg/kg)	0.31
応答値(X)	0.00053	0.0012	0.0021	試料濃度(μg/kg)	2.0
標準偏差(σR)	0.000042	0.000054	0.00010	分析値(X)	2.4
検出力(Dn)	0.000066	0.000077	0.00016	標準偏差(Sc)	0.43
検出限界(D×3)	0.00031			検出限界(μg/kg)	1.3
定量限界(D×10)	0.0010			95%信頼区間	0.86-3.0
不偏分散(Fd)	6.0				

MPT	水質				生物
試料濃度(μ g/L)	0.039	0.077	0.12	検出限界推定値 (μ g/kg)	5.5
応答値(X)	0.035	0.072	0.11	試料濃度(μ g/kg)	10
標準偏差(σ R)	0.00066	0.00071	0.0018	分析値(X)	14
検出力(Dn)	0.0012	0.0012	0.0031	標準偏差(Sc)	1.0
検出限界(D×3)	0.0055			検出限界(μ g/kg)	3.2
定量限界(D×10)	0.018			95%信頼区間	2.0-7.0
不偏分散(Fd)	7.1				

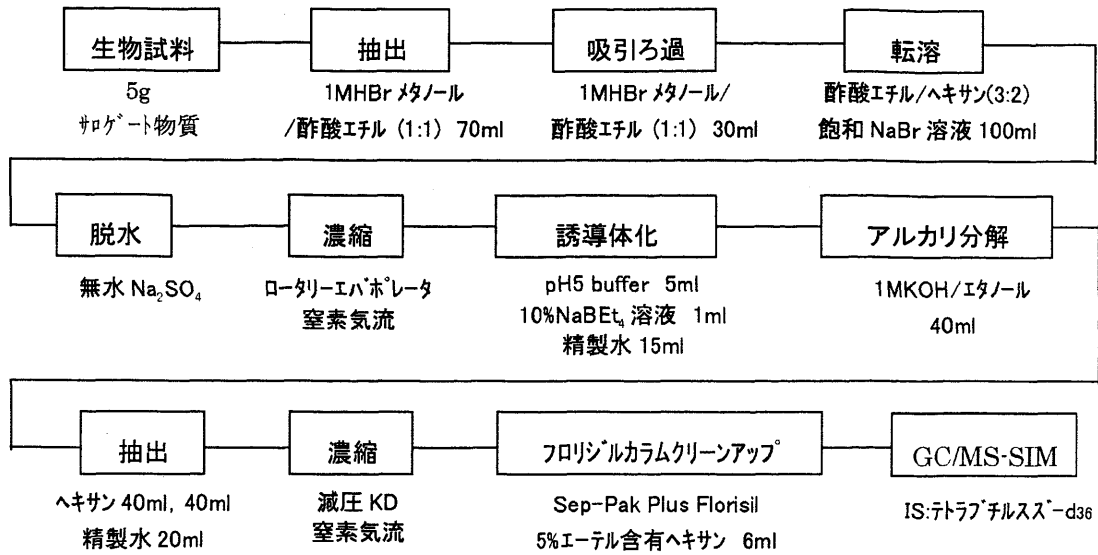
DPT	水質				生物
試料濃度(μg/L)	0.00063	0.0013	0.0025	検出限界推定値 (μg/kg)	0.25
応答値(X)	0.00070	0.0012	0.0026	試料濃度(μg/kg)	0.40
標準偏差(σ R)	0.000048	0.000029	0.000085	分析値(X)	0.41
検出力(Dn)	0.000068	0.000047	0.00013	標準偏差(Sc)	0.043
検出限界(D×3)	0.00025			検出限界(μg/kg)	0.13
定量限界(D×10)	0.00082			95%信頼区間	0.086-0.29
不偏分散(Fd)	8.7				

TPT	水質				生物
試料濃度(μ g/L)	0.00055	0.0011	0.0022	検出限界推定値 (μ g/kg)	0.17
応答値(X)	0.00059	0.0012	0.0024	試料濃度(μ g/kg)	0.40
標準偏差(σ R)	0.000027	0.000025	0.000065	分析値(X)	0.41
検出力(Dn)	0.000040	0.000040	0.000090	標準偏差(Sc)	0.051
検出限界(D×3)	0.00017			検出限界(μ g/kg)	0.16
定量限界(D×10)	0.00057			95%信頼区間	0.10-0.35
不偏分散(Fd)	6.9				

(参考)MBT		生物
試料濃度($\mu\text{g/L}$)	検出限界推定値 ($\mu\text{g/kg}$)	-
応答値(X)	試料濃度($\mu\text{g/kg}$)	0.010
標準偏差(σR)	分析値(X)	0.013
検出力(Dn)	標準偏差(Sc)	0.0021
検出限界($D \times 3$)	検出限界($\mu\text{g/kg}$)	0.0066
定量限界($D \times 10$)	95%信頼区間	0.0042
不偏分散(Fd)		-0.014

§ 2 解 説

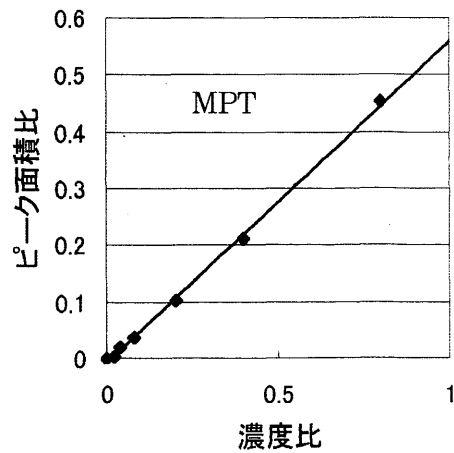
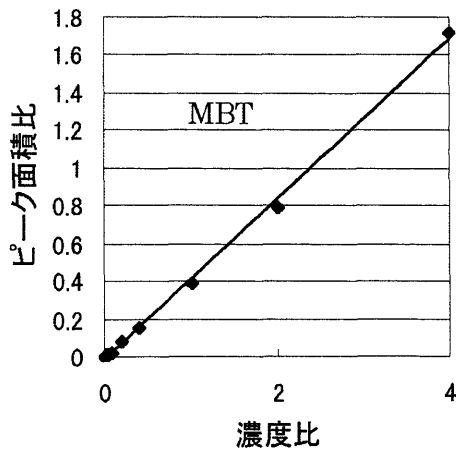
[分析法フローチャート]



[分析法の検討]

1. 検量線

検量線の例を図 1 に示す。



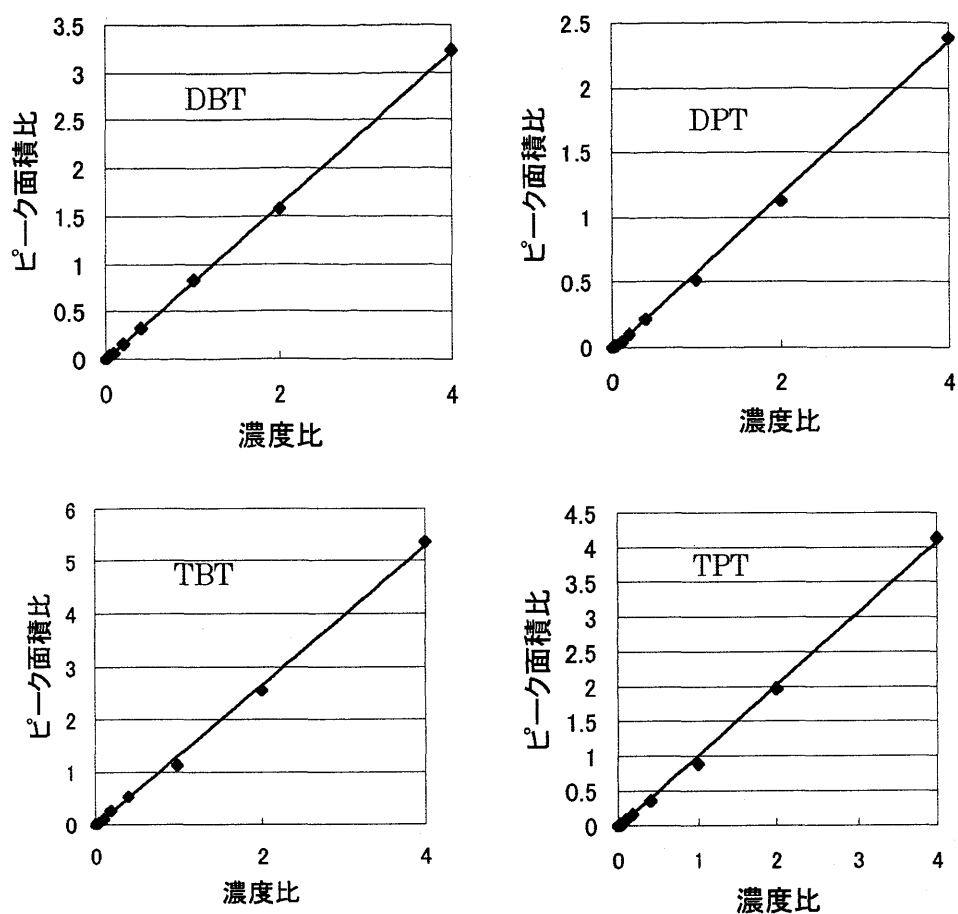


図1 対象物質のエチル化体の検量線

2. 低濃度添加回収実験

生物試料(ノルウェー産ギンザケ)5g に標準物質を添加して回収実験を行った結果を表 2 に示す。

表2 低濃度添加回収実験結果

	試料量(g・wet)	添加量(μg)	測定回数	回収率(%)	変動係数(%)
MBT	5	0.050	7	129	16.2
DBT	5	0.010	7	142	10.7
TBT	5	0.010	7	119	17.9
MPT	5	0.050	7	141	7.2
DPT	5	0.002	7	104	10.3
TPT	5	0.002	7	103	12.4

3. 標準物質の溶媒中での安定性に関する検討

MBT,DBT,TBTと比較してMPT,DPT,TPTの分析値がばらつく傾向にある。そこで、 MPTCl_3 、 DPTCl_2 及びTPTClのヘキサン、酢酸エチル、アセトン及びエタノールでの安定性を検討した。各標準物質のヘキサン溶液($100\text{ }\mu\text{g/ml}$)をそれぞれ調製し、各溶媒について次の7種類の標準混合溶液($10\text{ }\mu\text{g/ml}$)を調製した。

- ・ MPTCl_3 ・ MPTCl_3 , DPTCl_2 ・ MPTCl_3 , DPTCl_2 , TPTCl
- ・ DPTCl_2 ・ DPTCl_2 , TPTCl
- ・TPTCl ・ MPTCl_3 , TPTCl

調製当日から1ヶ月後までの間に、各標準溶液から1mlを分取してエチル化後、内標準物質を加えてGC/MSにより測定した。その結果、 DPTCl_2 及びTPTClは溶媒中で安定であったが、 MPTCl_3 については、図2に示すように、アセトン溶液及びエタノール溶液において時間の経過とともに減少し、DPTが生成することが分かった。なお、 MPTCl_3 を含む混合標準溶液においても各物質毎の組成が変化していたが、これは MPTCl_3 単独の変化によるものであり、相互の影響ではないと考えられる。なお、ヘキサン溶液でも数ヶ月経過するとDPTが生成するので、定期的にMPT標準溶液を測定してDPTの生成がないことを確かめる必要がある。

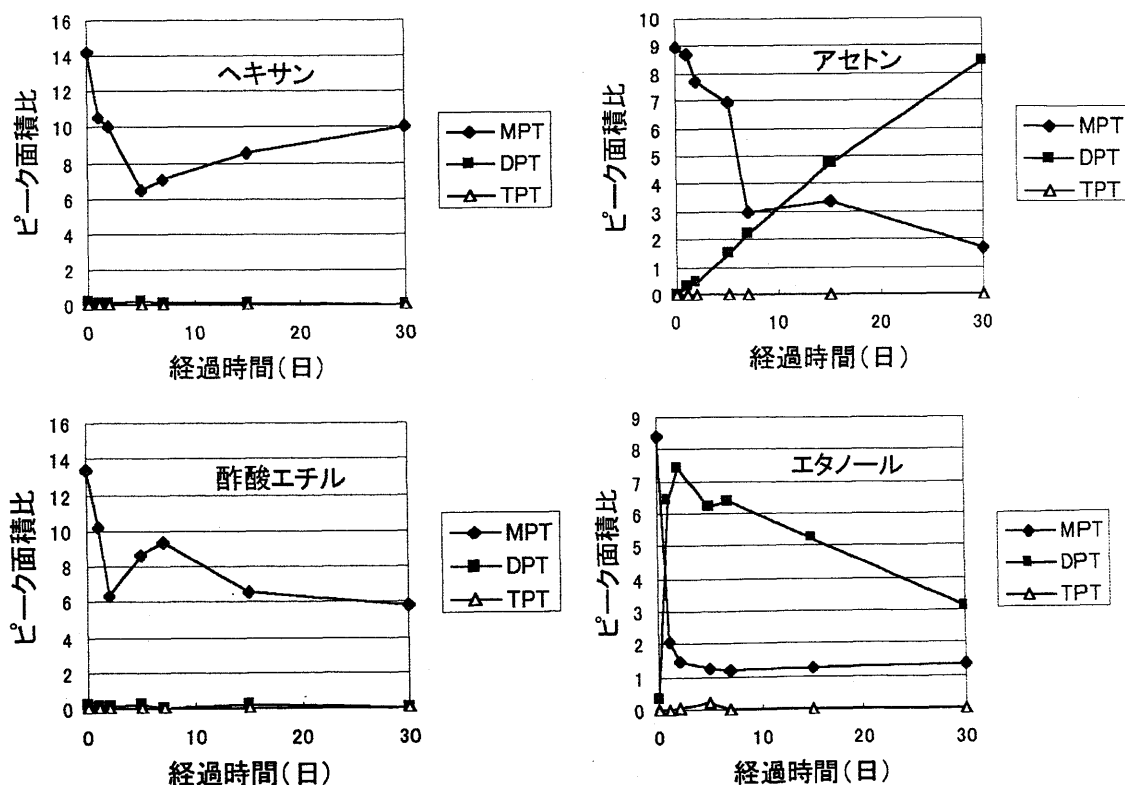


図2 MPTCl_3 の溶媒中での安定性

4. 前処理の検討

3 態の有機スズ化合物を同時に有機溶媒に抽出するため、抽出のされやすさを考慮して対象物質を臭化物として抽出することにした。そこで、生物試料からまず 1M HBr メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液で抽出し、次に酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液で再抽出する方法を検討した。1M HBr メタノール/酢酸エチル(1:1)混合溶液 60ml に対象物質及びサロゲート物質の塩化物各 5 μ g(イオン換算)を添加して混合し、0%～飽和の NaBr 溶液 100ml 及び酢酸エチル/ヘキサン(3:2)混合溶液 20ml を加えて 10 分間振とう抽出した。有機層を合わせ、これにヘキサン 100ml を加えて 20 分放置し、水層を除去してロータリーエバポレータで約 5ml まで濃縮した。濃縮液に 20%NaBr 溶液 30ml、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.0)35ml 及び 2%NaBEt₄ 溶液 1ml を添加して 10 分間振とう・誘導体化し、分取したヘキサン層に内標準物質を添加して GC/MS により測定した。各対象物質及びサロゲート物質の回収率を表3に示す。

表3 抽出に及ぼす塩析効果

NaBr(%)	0	5	10	20	飽和	NaBr(%)	0	5	10	20	飽和
MBT-d ₉	3.2	18.5	39.9	66.9	80.8	MPT-d ₅	2.1	10.4	25.1	48.9	82.5
MBT	3.5	20.1	41.5	68.1	84.9	MPT	2.2	10.8	25.1	49.7	85.8
DBT-d ₁₈	77.6	93.0	95.9	97.2	88.3	DPT-d ₁₀	64.0	85.5	86.8	90.7	89.9
DBT	82.0	96.7	97.2	98.0	91.7	DPT	68.9	90.9	89.6	92.7	94.0
TBT-d ₂₇	82.4	94.1	97.1	99.4	89.9	TPT-d ₁₅	76.9	83.4	81.1	85.0	79.3
TBT	84.7	99.0	97.9	98.6	97.1	TPT	81.2	87.5	82.8	87.2	83.0

以上の結果から、MBT 及び MPT を除く 4 物質では 10%NaBr 溶液で十分な塩析効果が得られたものの、MBTとMPTを定量的に抽出するには飽和 NaBr溶液を用いる必要があることが分かった。

5. アルカリ分解の検討

イオン交換によるクリーンアップに代わる方法として、誘導体化後のアルカリ分解を検討することとし、対象物質のエチル化体の耐アルカリ性を調べた。対象物質のエチル化体各 10 μ g を 1MKOH-エタノール溶液に添加して混合し、1 日放置して回収率を求めた。その結果を表4に示すが、全物質において特に分解は見られなかった。

表4 対象物質(エチル化体)の耐アルカリ性

	回収率(%)
MBT-d ₉	95.1(4.1)
MBT	95.2(4.0)
DBT-d ₁₈	93.0(5.2)
DBT	91.9(4.9)
TBT-d ₂₇	93.4(4.3)
TBT	93.4(3.5)

	回収率(%)
MPT-d ₅	96.6(5.7)
MPT	95.6(6.2)
DPT-d ₁₀	89.8(5.8)
DPT	88.4(4.7)
TPT-d ₁₅	91.0(5.0)
TPT	86.6(4.3)

n=4, ()内は相対標準偏差

そこで、生物試料を用いて高濃度添加回収実験を行った。生物試料(コノシロ)3g に対象物質及びサロゲート物質各 3 μ g を添加して、【試料の前処理】に従って試料前処理液を調製した。試料前処理液に酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 5ml 及び精製水 5ml を加えて混合し、10%NaBEt₄ 溶液 1ml を添加して 10 分間振とうした。これに 1MKOH/エタノール溶液 20ml を加えて 1 時間振とう後、ヘキサン 20ml を及び精製水 10ml を加えて 10 分間振とうし、分取したヘキサン層に内標準物質を添加して GC/MS により測定した。その結果は、MPT の回収率が 54%と低いものの、それ以外の対象物質は 92.7 から 112%回収された。

6. イオン交換樹脂によるクリーンアップの検討

a. 陽イオン交換樹脂によるクリーンアップ

生物試料に含まれる脂肪分を効果的に除去する目的で、クリーンアップ効果の高いイオン交換処理を用いて検討を行った。対象物質及びサロゲート物質の塩化物各 1 μ g(イオン換算)/ml のエタノール溶液 10ml を陽イオン交換カートリッジ(Bond Elute SCX, 500mg)に負荷した。次にカートリッジをエタノール 20ml で洗浄後、2%NaBEt₄ エタノール溶液 5ml を通過してエチル化し、流出したエタノールを分液漏斗に受けた。さらにヘキサン-エタノール(1:1)5, 10 及び 20ml で溶出し、溶出液を先のエチル化時の流出液と合わせ、10%NaCl 水溶液 50ml を加えた後、ヘキサン 10ml で抽出した。抽出液に内標準物質を添加後 GC/MS により測定した。対照として対象物質及びサロゲート物質各 10 μ g に 2%NaBEt₄ エタノール溶液 5ml、ヘキサン-エタノール(1:1) 10ml を加えて激しく振とうし、10%NaCl 水溶液 50ml 及びヘキサン 10ml を加えて同様の操作を行い、これを 100%として回収率を求めた。また、カートリッジを洗浄したエタノール 10ml を分取し、これに 2%NaBEt₄ エタノール溶液 5ml を加えて同様に操作した。各対象物質及びサロゲート物質の回収率を表5に示す。

表5 陽イオン交換カートリッジカラムからの回収率 (%)

	エタノール 洗浄	ヘキサン/エタノール(1:1)		
		5 ml	10 ml	20 ml
DBT-d ₁₈	0	85.2	100.6	92.0
DBT	0	78.1	92.9	85.1
TBT-d ₂₇	0	84.2	103.6	92.6
TBT	0	79.0	95.7	87.6

	エタノール 洗浄	ヘキサン/エタノール(1:1)		
		5 ml	10 ml	20 ml
MPT-d ₅	0	54.5	52.3	55.4
MPT	0	53.0	51.7	91.3
DPT-d ₁₀	0	81.5	97.8	91.2
DPT	0	75.7	91.3	83.4
TPT-d ₁₅	0	87.1	108.6	99.6
TPT	0	91.2	113.9	102.4

以上の結果より、次のことが確認された。

- 1) 対象物質及びサロゲート物質は陽イオン交換樹脂に吸着し、エタノール 20ml で洗浄しても溶出しない。
- 2) 陽イオン交換樹脂に NaBEt₄ エタノール溶液を通過することにより有機スズはエチル化される。
- 3) エチル化された有機スズはヘキサン/エタノールを用いて溶出することができる。

また、誘導体化試薬の濃度を 2～10% の範囲で検討したが、10% 溶液を用いても MPT の回収率の向上は特に見られなかった。

b. 陰イオン交換樹脂によるクリーンアップ

陽イオン交換樹脂に負荷する前のクリーンアップとして陰イオン交換樹脂について検討した。検討には Bond Elute SAX(1mg 充填), TOYOPAK DEAE M 及び三菱化学 MCI GEL CA08P (樹脂 100ml に精製水 100ml 及び硫酸ヒドラジン 1g を加えて処理したもの) 1ml を用いた。対象物質 10 μ g をエタノール 10ml に溶解し、各カートリッジに負荷してエタノールによる溶出パターンを求めた。その結果を表6～8に示すが、TBT 及び TPT については、樹脂により溶出パターンは異なるものの、エタノール 20ml 以内で 62～90% 程度回収されることが分かった。しかし、その他の有機スズ化合物はエタノール 30ml を流しても最大 8% の溶出量に止まった。そのため、陰イオン交換樹脂をクリーンアップに採用しないことにした。

表6 Bond Elute SAX 1mg からの溶出パターン

	負荷時の 流出率	溶出率(%)						回収率(%)
		0-5ml	5-10ml	10-15ml	15-20ml	20-25ml	25-30ml	
MBT	0	0	0	0	0	0	0	0
DBT	0	0	0	0	0	0	0	0
TBT	0	20.5	27.3	12.2	1.58	0.33	0.13	62.1
MPT	0.16	0.17	0.51	0.50	0.02	0.08	0.36	1.80
DPT	0.03	0	0	0	0	0	0	0
TPT	0	2.5	21.7	29.3	12.2	3.0	1.0	69.7

表7 TOYOPAK DEAE M からの溶出パターン

DEAE M	負荷時の 流出率	溶出率(%)						回収率(%)
		0-5ml	5-10ml	10-15ml	15-20ml	20-25ml	25-30ml	
MBT	0	0	0	0	0	0	0	0
DBT	0	0	0	0	0	0	0	0
TBT	86.3	3.76	0	0	0	0	0	90.1
MPT	0.11	0.06	0	0.02	0.38	0.07	0.17	0.82
DPT	0.06	0.04	0	0.02	0.03	0.01	0.01	0.16
TPT	55.2	32.8	1.75	0.41	0.20	0.16	0.16	90.8

表8 MCI GEL CA08P からの溶出パターン

	負荷時の 流出率	溶出率(%)						回収率(%)
		0-5ml	5-10ml	10-15ml	15-20ml	20-25ml	25-30ml	
MBT	3.53	0.15	0.04	0.02	0	0	0	3.72
DBT	0.66	0.52	0.98	1.27	1.41	1.52	1.70	8.06
TBT	85.0	3.6	0	0	0	0	0	88.7
MPT	2.07	0.10	0.06	0.01	0.08	0.43	0.02	2.78
DPT	0.83	0.04	0.01	0	0.06	0.01	0.02	0.97
TPT	71.1	10.3	1.68	0.78	0.58	0.34	0.31	85.1

試料液中に酸が残ると陽イオン交換における回収率が低下することから、洗液が中性付近になるまで抽出液を NaBr 溶液で洗浄する操作が必要である。MBT 及び MPT を回収するためには飽和 NaBr 溶液で洗浄しなければならないが、10%NaBr 溶液と比較して洗浄回数が増えることなどから、今回検討した前処理条件とイオン交換処理を組み合わせることを断念した。

7. フロリジルカートリッジカラムによるクリーンアップ

Sep-Pak Florisilを用いて有機スズ化合物(エチル化体)のクリーンアップ条件を検討した。カートリッジをヘキサン 10mlでコンディショニング後、ヘキサン溶液 1ml(10 μ g/ml)を負荷して、5% ジエチルエーテル含有ヘキサン 10ml で溶出した(1滴/秒)。その結果、表9に示したように4ml でほぼ 100%溶出したため、溶出溶媒量を6mlとした。

表9 Sep-Pak Plus Florisil からの溶出パターン(エチル化体)

	溶出率(%)				
	0-2ml	2-4ml	4-6ml	6-8ml	8-10ml
MBT	94.8	2.3	1.0	0.9	0.8
DBT	96.2	1.6	0.8	0.8	0.6
TBT	95.3	2.5	0.8	0.8	0.7
MPT	54.1	43.4	0.9	0.9	0.7
DPT	2.4	93.4	1.7	1.4	1.1
TPT	2.4	94.0	1.6	1.1	0.9

8. 従来法との比較

生物試料(ギンザケ)5gを採取し、本法(分析法 A)及び平成3年度化学物質分析法開発調査報告書の方法(日本食品分析センター、分析法 B)に従ってそれぞれ分析した。分析結果を表 10 に示す。なお、分析法 Bについては、分析の最初に対象物質の重水素化物各 0.05 μ g を添加し、これを内標準として定量した。

表 10 生物試料の分析値の比較

	分析値 (μ g/kg)	
	A	B
MBT	13(14.9)	—
DBT	2.0(12.5)	—
TBT	10(2.6)	12(0.9)
MPT	ND	—
DPT	0.13(12.6)	—
TPT	0.49(3.2)	0.7(6.9)

n=4, () 内は相対標準偏差

また、東京湾共通底質試料について、本法と平成 9 年度化学物質分析法開発調査報告書の方法(分析法 C)で分析した結果を表 11 に示す。

表 11 東京湾共通底質の分析値の比較

	分析値 (μg/kg)	
	A	C
MBT	730(5.0)	250(2.1)
DBT	300(1.9)	190(6.4)
TBT	150(6.3)	140(5.5)
MPT	48(19.8)	34(13.7)
DPT	2.1(3.8)	2.3(10.5)
TPT	2.9(37.4)	4.3(40.5)

n=4, () 内は相対標準偏差

9. 標準物質のマススペクトル及びSIMクロマトグラム

対象物質および重水素ラベル化物のエチル化体のマススペクトルを図3～16 に示す。また、それらのSIMクロマトグラムを図 17 に示す。

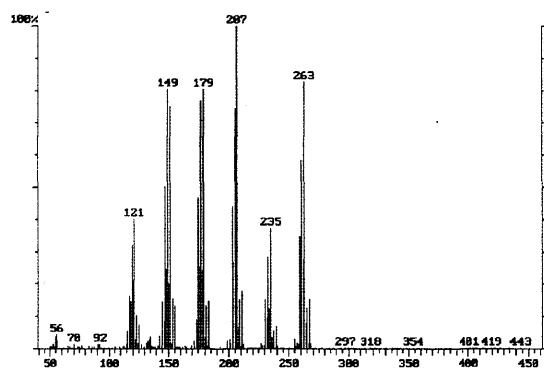


図3 シブチルジエチルスズ (DBT-Et₂) のマススペクトル

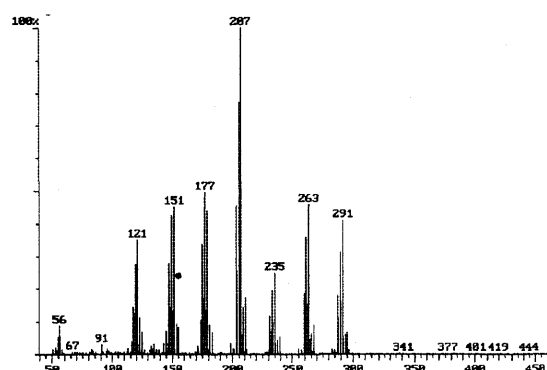


図4 トリブチルエチルスズ (TBT-Et) のマススペクトル

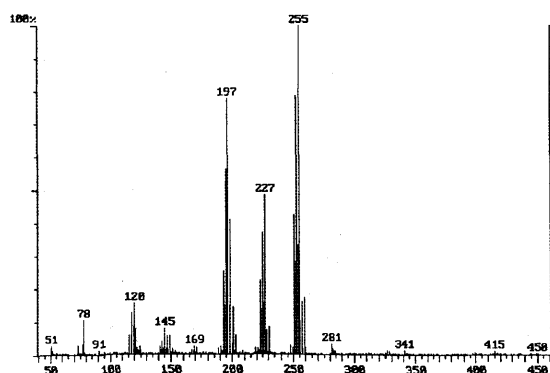


図5 トリエチルフェニルスズ (MPT-Et₃) のマススペクトル

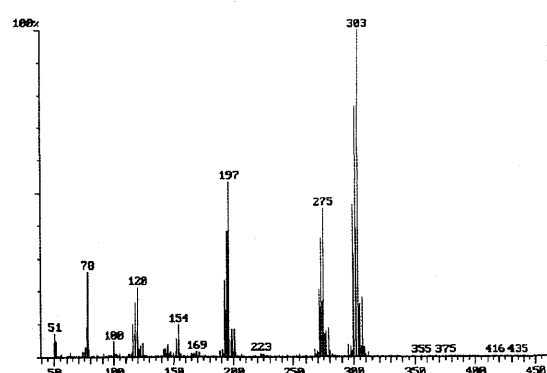


図6 ジエチルフェニルスズ (DPT-Et₂) のマススペクトル

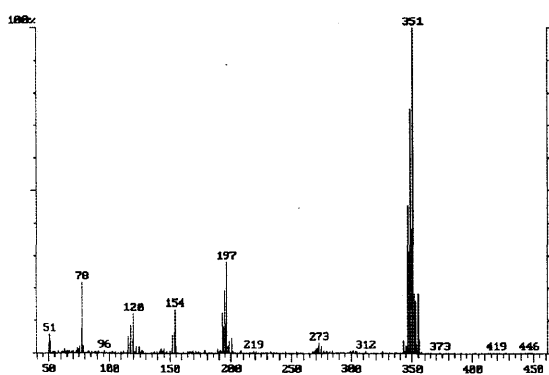


図7 エチルトリフェニルス^{*} (TPT-Et) のマススペクトル

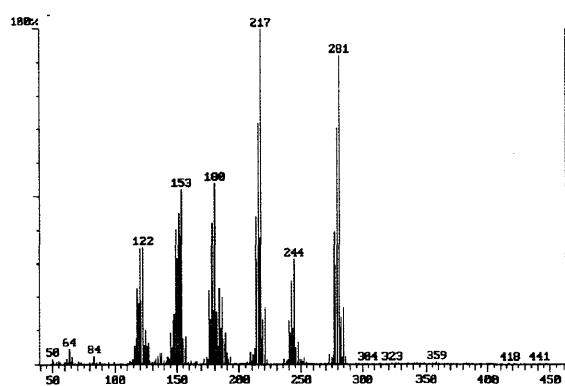


図8 ジフェニルジメチルス^{*}-d18 のマススペクトル

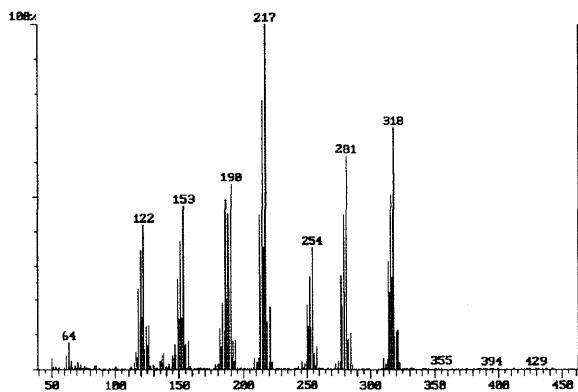


図9 トリフェニルス^{*}-d27 のマススペクトル

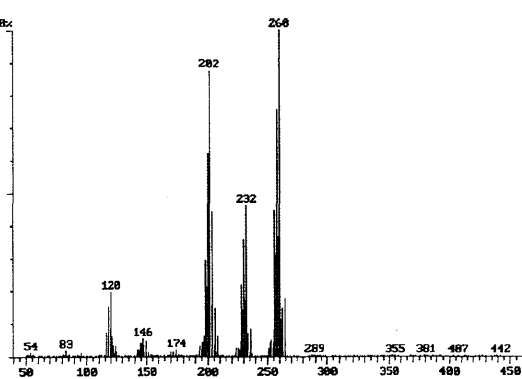


図10 トリエチルフェニルス^{*}-d5 のマススペクトル

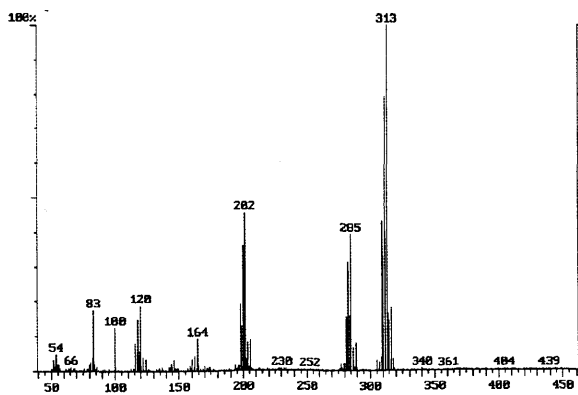


図11 ジメチルジフェニルス^{*}-d₁₀ のマススペクトル

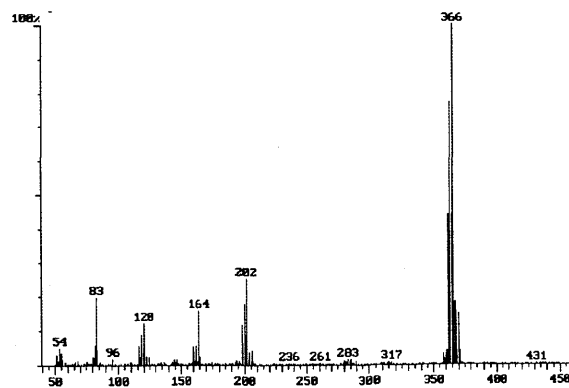


図12 エチルトリフェニルス^{*}-d15 のマススペクトル

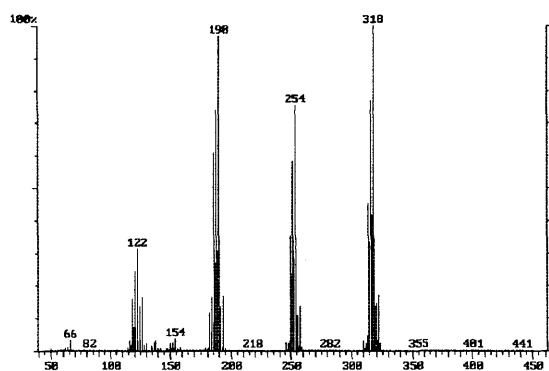


図 13 テトラフェニルシラン-d₃₆ のマススペクトル

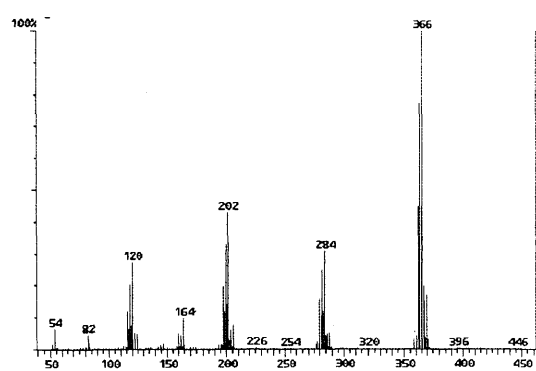


図 14 テトラフェニルシラン-d₂₀ のマススペクトル

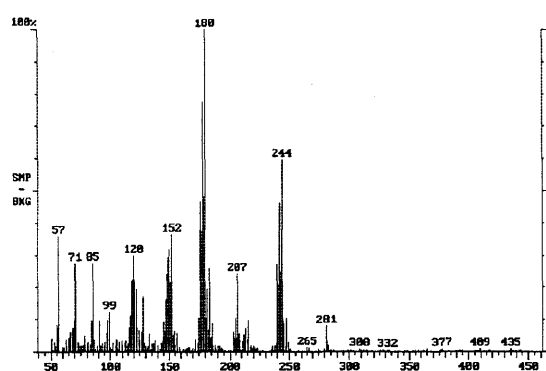


図 15 トリエチルフェニルシラン-d₉ のマススペクトル

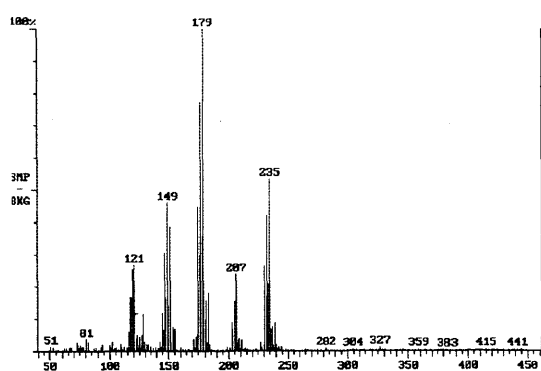


図 16 トリエチルフェニルシランのマススペクトル

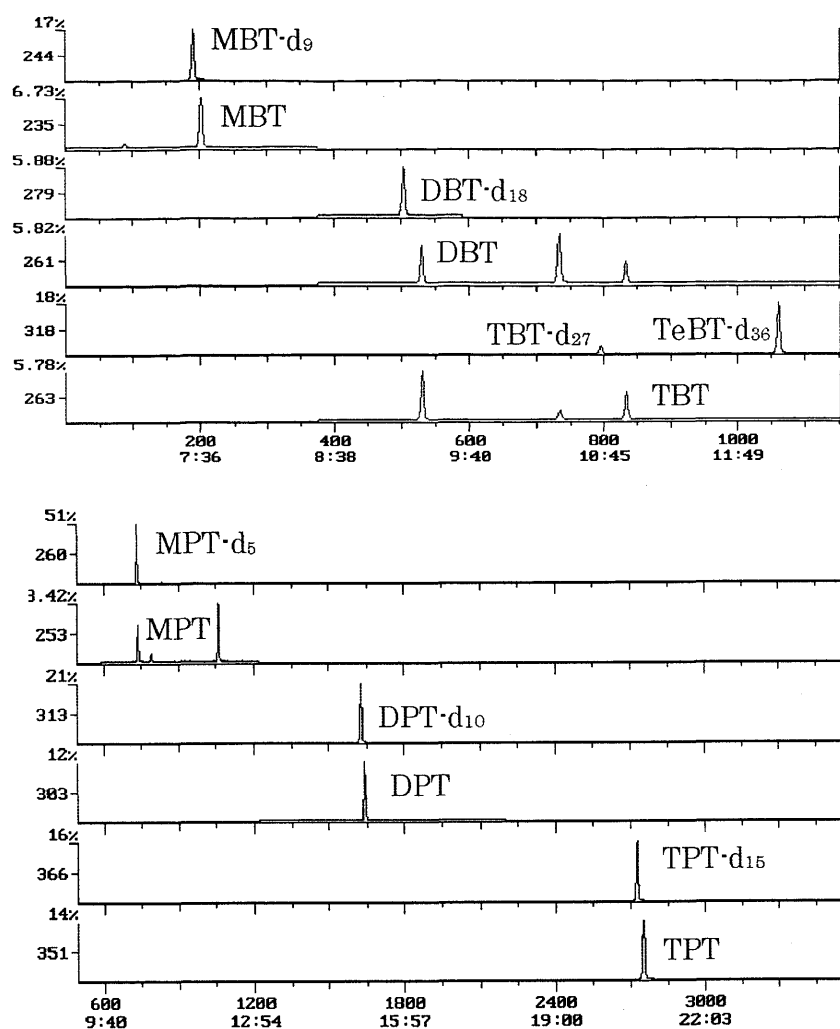


図 17 対象物質及び重水素ラベル化物のエチル化体の SIM クロマトグラム

10. 分解性スクリーニング試験

分解性スクリーニング試験結果の文献値を以下に示す。

三塩化ジブチルスズ(昭和 57 年度 大阪市測定)

pH	初期濃度 (mg/L)	1時間後	5 日後	
			暗所	光照射
5	10	100	95	—
7	10	100	110	90
9	10	100	93	—

塩化トリブチルスズ(昭和 57 年度 大阪市測定)

pH	初期濃度 (mg/L)	1時間後	5 日後	
			暗所	光照射
5	10	118	70	—
7	10	114	44	56
9	10	107	121	—

三塩化フェニルスズ(昭和 63 年度 大阪市測定)

pH	1時間後	5 日後	
		暗所	光照射
5	99	98	—
7	104	100	99
9	107	101	—

二塩化ジフェニルスズ(昭和 63 年度 大阪市測定)

pH	1時間後	5 日後	
		暗所	光照射
5	101	81	—
7	102	95	98
9	105	90	—

【環境試料分析結果】

生物試料(ノルウェー産ギンザケ)に本分析法を適用した。その結果、MPT 以外の全ての対象物質が検出された(分析結果は表 10 の A 法参照)。標準物質を添加した試料と無添加の試料の分析例を図 18 及び 19 に示す。

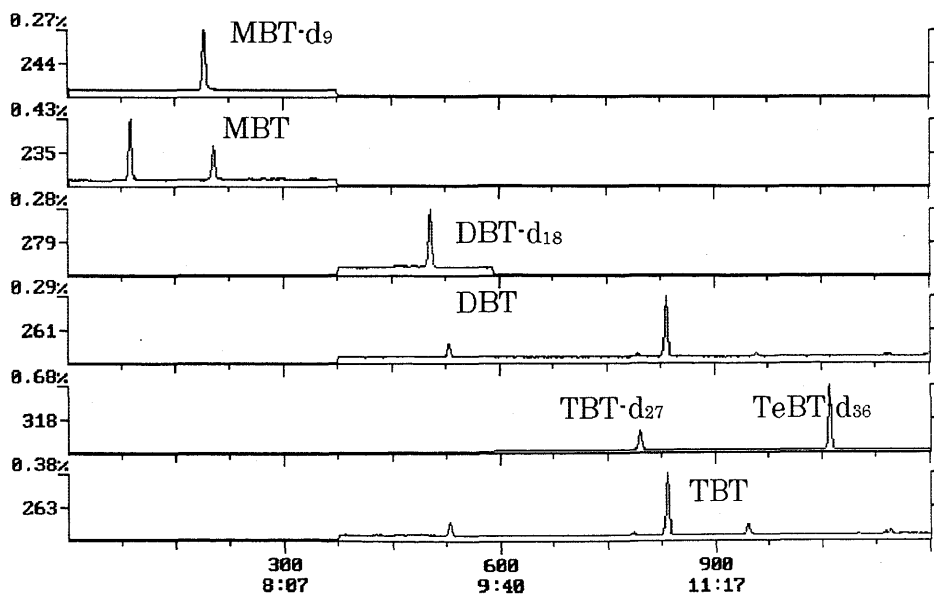


図 18-1 生物試料(ギンザケ, 標準無添加)の分析例

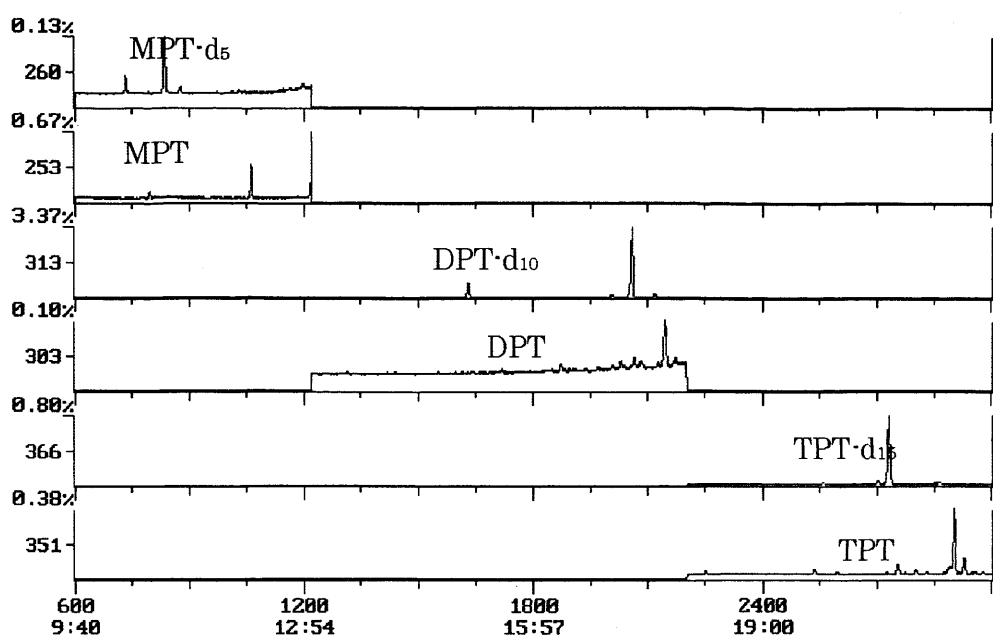


図 18-2 生物試料(ギンザケ, 標準無添加)の分析例

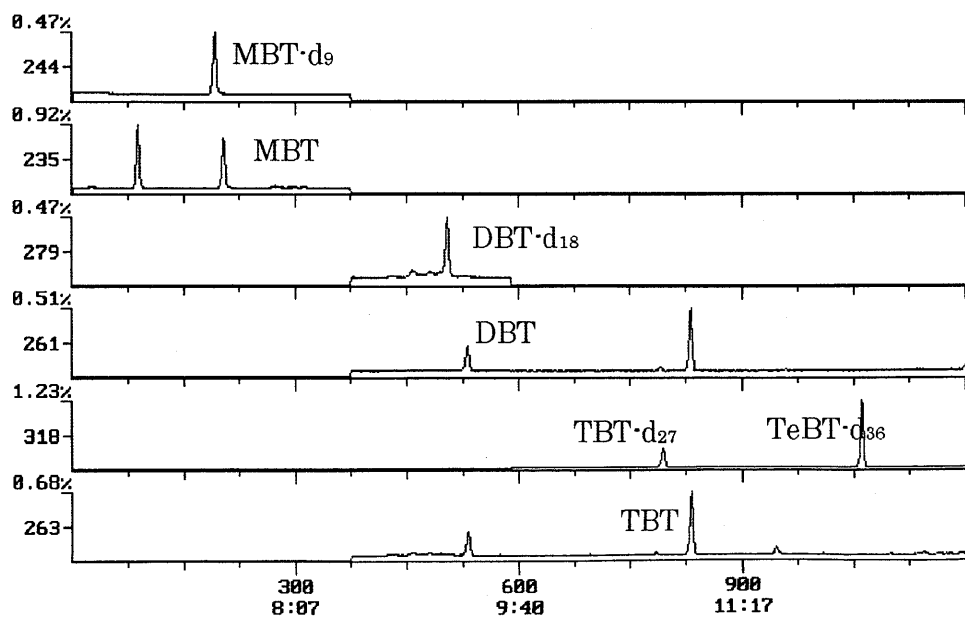


図 19-1 生物試料(ギンザケ, 標準添加)の分析例

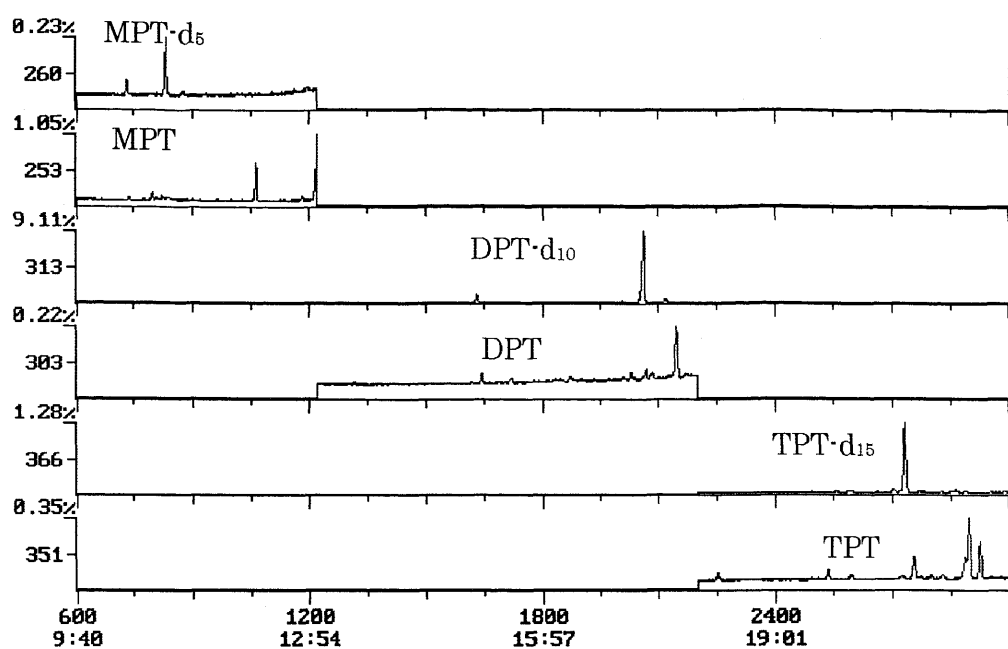


図 19-2 生物試料(ギンザケ, 標準添加)の分析例

【評価】

本分析法により生物試料中に $\mu\text{g/kg}$ レベルで存在する 6 種の有機スズ化合物を定量することができる。

参考文献

- 1) 昭和 59 年度化学物質分析法開発調査報告書
- 2) 昭和 63 年度化学物質分析法開発調査報告書
- 3) 平成 3 年度化学物質分析法開発調査報告書
- 4) 平成 5 年度化学物質分析法開発調査報告書
- 5) 環境庁水質管理課: 外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)

担 当: 北九州市環境科学研究所

住 所: 〒804-0082 北九州市戸畑区新池 1-2-1

電 話: 093-882-0333

FAX: 093-871-2535

担当者: 岩村 幸美、門上 希和夫

分析試料の送付方法

1. 試料の前処理を行わない場合

ホモジナイズした試料を【試料の採取及び保存】に従って洗浄したガラス瓶に入れ、ドライアイスで冷却して冷蔵便で送付する。

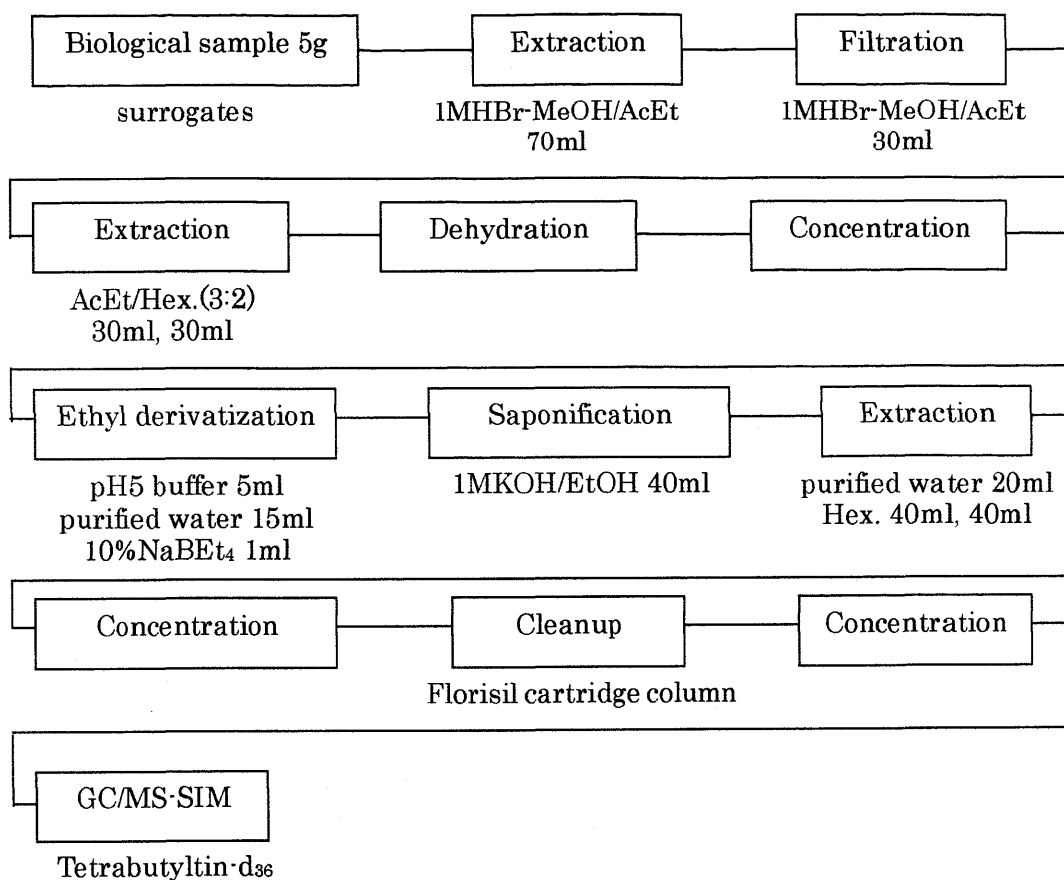
2. 試料の前処理を行う場合

【試料の前処理】及び【試料液の調製】に従って調製した試料液をアンプルまたはバイアルびんに密封して送付する。

物質名	分析法フローチャート	備考
シブチルスス'化合物 トリブチルスス'化合物 フェニルスス'化合物 シフェニルスス'化合物 トリフェニルスス'化合物	(生物) <pre> graph LR A[試料 5g サロゲート物質] --> B[抽出 1M HBr-MeOH / AcEt(1:1) 70ml] B --> C[吸引ろ過 1M HBr-MeOH / AcEt(1:1) 30ml] C --> D[抽出 飽和 NaBr AcEt/Hex(3:2) 30ml, 30ml] D --> E[脱水・濃縮 ロータリーエバポレータ 窒素吹き付け] E --> F[誘導体化 10% NaBBt₄ pH5 buffer] F --> G[アルカリ分解 1M KOH/EtOH 40ml] G --> H[抽出 Hex 40ml, 40ml] H --> I[脱水・濃縮 減圧 KD 窒素吹き付け] I --> J[GC/MS-SIM] </pre>	GC/MS-SIM カラム: DB-5ms 長さ 30m 内径 0.25mm 膜厚 0.25 μm 検出限界 生物 (μg/kg・wet) シブチルスス'化合物 0.96 トリブチルスス'化合物 1.3 フェニルスス'化合物 3.2 シフェニルスス'化合物 0.13 トリフェニルスス'化合物 0.16

Dibutyltin, Tributyltin, Phenyltin, Diphenyltin, Triphenyltin

(1) Flowchart



(2) Abstract

Add surrogates to a homogenized sample (5g), then extract with 1M HBr-methanol/ ethyl acetate (1:1, v/v, 70ml). Filter the extract, and add the filtrate to saturated NaBr soln (100 ml). Extract the sample soln. with ethyl acetate/hexane (3:2, v/v) twice (30ml, 30ml), and combine the extracts. Then dehydrate and concentrate the extract to 5 ml. Add buffer soln. (pH 5.0, 5ml) and 10% of sodium tetraethylborate soln. (1 ml) to the concentrate for derivatizing organotins. Add 1M KOH/ethanol (40 ml) to the derivatized sample and shake for 1 hour at a room temperature to decompose fat. After saponification, extract the sample soln. with hexane, and dehydrate and concentrate the extract to 2 ml. Load the concentrate onto a Florisil cartridge column, and elute targets with 5% diethylether-hexane (6 ml). After concentrating the eluate to 1ml, determine analytes by GC/MS-SIM.