Stir Bar Sorptive Extraction/GC-MS を用いた 有機スズ化合物分析法の開発

高久 雄一¹⁾, 秋場 俊介²⁾, 古川 郁³⁾, 久松 俊一¹⁾, 稲葉 次郎¹⁾

¹⁾(財)環境科学技術研究所 環境動態研究部

(〒039-3212 青森県上北郡六ヶ所村大字尾駸字家ノ前1-7)

²⁾東北ニュークリア株式会社 (現青森県警察本部 科学捜査技術研究所)

(〒030-0801 青森県青森市新町2-3-1)

³⁾東北ニュークリア株式会社

(〒033-3212 青森県三沢市東岡三沢2-41-14)

[平成16年 8 月 4 日受理]

Development of Analytical Method for Trace Level of Organotin Compounds Using Stir Bar Sorptive Extraction/GC-MS

Yuichi TAKAKU¹⁾, Syunsuke AKIBA²⁾, Kaoru KOGAWA³⁾,
Syunichi HISAMATU¹⁾ and Jiro INABA¹⁾

¹⁾Institute for Environmental Science Department of Radioecology
(1-7 Ienomae, Obuchi, Rokkasyo-mura, Kamikita, Aomori 039-3212)

²⁾Scientific investigation Laboratory, Aomori Prefectural Police Headquarters
(2-3-1 Shinmachi, Aomori, Aomori 030-0801)

³⁾Tohoku Nuclear Ltd. Co
(2-41-14 Higashi-Okamisawa, Misawa, Aomori 033-3212)

[Received August 4, 2004]

Summary

The analytical procedure for trace level organotin compounds in seawater by TDS-GC-MS method using the stir bar sorptive extraction method was developed. Using this technique, it was possible to shorten the pretreatment time drastically (about 3 hours), and to reduce sample volume to 100mℓ by the simplification of the pretreatment. Background Equivalent Concentration (BEC) of this method are 0.19 for tributyltin (TBT), and 0.14 pg mℓ⁻¹ for triphenyltin (TPT). These blank levels showed the sufficient sensitivity of this method in order to analyze trace organotin compounds in open sea water. In the result, it was possible to analyze under 0.1 pg mℓ⁻¹ concentration range of TBT and TPT using this method. By using this technique, the improvement of simplification of the pretreatment and lower detection became possible.

Key words: Organotin, Stir Bar Sorptive Extraction, GC-MS

1. はじめに

有機スズ化合物であるトリブチルスズ化合物（以下、TBT）やトリフェニルスズ化合物（TPT）は1991年に使用が規制されるまで船底塗料や漁網防汚剤として広く用いられていた。これらの化合物は、イボニシ等の巻き貝類の雌が雄化する現象いわゆるインボセックスを引き起こす内分泌攪乱物質であり、海水中の濃度が 1 pg ml^{-1} 以上で生体に影響を及ぼすことが知られている^{1,2)}。しかし、海洋における有機スズ化合物汚染の実態は、沿岸域、主として港湾では、かなり詳しく把握することができているが海洋全体の汚染についてはほとんどわかっていないのが現状である。

一般的にこれらの化合物の分析を行う際に広く用いられているGC-FPD法では、水試料の検出限界が $1\sim$ 数 ng ml^{-1} と^{3,4)}、モニタリングを行う為には感度が不十分である。また、同位体希釈法を用いたGC-MS法では、検出限界は、 $0.1\sim0.3\text{ pg ml}^{-1}$ と十分な感度が得られるものの⁵⁾、数 ℓ の試料からの濃縮が必要であり、前処理に数日を要することが、有機スズによる海洋汚染実態の解明が進まない原因の一つとなっている。しかし、 1 pg ml^{-1} のTBTで正常な雌のイボニシの9割に異常が発生するという報告⁶⁾もあり、 1 pg ml^{-1} 以下の濃度も正確に求める必要がある。現在もっとも高感度な有機スズ化合物の分析法として、GC-ICP-MS法がある^{4,6)}。この方法の検出限界は、Snとして絶対量で $0.7\sim1.8\text{ fg}$ であり、これは、海水 1ℓ 中の有機スズ化合物を誘導体化後 1 ml に濃縮し、プログラマブル温度気化（PTV）法により $100\mu\ell$ を注入した場合の検出限界は $7\sim18\text{ fg ml}^{-1}$ に相当する。この検出感度は、外洋海水中の有機スズ化合物濃度を定量するのに十分な感度である。しかし、本法は、GCとICPを繋ぐインターフェイスを含めた装置価格が高価であると共に、装置の操作及びメンテナンスに熟練性を要し、現時点では必ずしも汎用な分析法ではない。

一方、stir bar sorptive extraction (SBSE) 法は、抽出に有機溶媒を必要とせず簡単に濃縮率を上げることができることから最近、GC-MSの試料前処理法として用いられるようになってきた⁷⁾。SBSE法は、従来から内分泌攪乱物質の前処理に広く用いられている固相マイクロ抽出（SPME）法⁸⁾に比べても作業が簡便であり、特に、有機溶媒を使用しないことは、省資源及び廃棄物の減量化に繋がると共に、作業の安全性の面でも優れた前処理法であり、将来に向けて有望な試料前処理法の一つである。

そこで、SBSE法を有機スズ化合物の前処理に用い、 1 pg ml^{-1} 以下の低濃度の有機スズ化合物分析法の開発及び試料前処理法の簡略化について検討を行った。その

際の試料の誘導体化には、水中で誘導体化が可能なテトラエチルホウ酸ナトリウム ($\text{NaB}[\text{C}_2\text{H}_5]_4$) によるエチル誘導体化法を用いた^{4,5)}。その結果、良好な結果が得られたのでここに報告する。

2. 実験

2. 1 試薬

テトラエチルホウ酸ナトリウム（林純薬）、塩化トリブチルスズ（TBT-Cl）標準液（関東化学）、塩化トリフェニルスズ（TPT-Cl）標準液（関東化学）、塩化トリブチルスズサロゲート（d-27 TBT-Cl）標準品（関東化学）、塩化トリフェニルスズサロゲート（d-15TPT-Cl）標準品（関東化学）、テトラブチルスズサロゲート（d-36TeBT）標準品（和光純薬）、アセトン（残留農薬試験用、関東科学）、酢酸（特級）、酢酸ナトリウム（特級）を用いた。

2. 2 装置

GC-MS装置として、HP6890/5973（Agilent社製）にTDS2加熱脱着装置（GERSTEL社製）を装着したものをを用いた。操作条件を表1に示す。

2. 3 試料前処理

100 ml バイアル瓶にサロゲート化合物（d-27 TBT-Cl, d-15 TPT-Cl）及び内標準物質としてd-36 TBTを添加した試料溶液 100 ml をとり、GERSTEL社製のTwister（ポリジメチルシロキサンをコーティングした攪拌子）を入れた。次に、 2 M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液（pH5）を 2 ml 、誘導体化剤として 0.1% テトラエチルホウ酸ナトリウム水溶液 0.1 ml を加え密封した。約 100°C の湯浴中でTwisterを60分間攪拌し、湯浴から取り出し放冷させながら更に60分間攪拌した。Twisterを取り出し、加熱脱着装置（TDS）に入れGC-MSで測定を行った。

検量線用試料として、人工海水に、TBT および TPT の標準試料を各 $0.1\sim5\text{ pg ml}^{-1}$ 、 $0.01\sim0.5\text{ pg ml}^{-1}$ になるように添加し実試料と同様の前処理を行った溶液を用いた。

3. 結果及び考察

3. 1 抽出温度条件の検討

抽出条件の検討を行う前に、過去の文献^{4,5)}に基づき誘導体化剤の量の検討を行った。TBT 及び TPT 100 pg ml^{-1} の水溶液 100 ml に対して濃度を $0.01\sim5\%$ に変えたテトラエチルホウ酸ナトリウム水溶液を $100\mu\ell$ ずつ加えて加温抽出を行なった結果、過去の文献と同様に 0.05% テトラエチルホウ酸ナトリウム水溶液 $100\mu\ell$ ($50\mu\text{g}$) で十分誘導体化されることを確認できた。

Table 1 Operating condition of TDS-GC-MS

<u>TDS condition</u>		
Instrument	GERSTEL-TDS2 CIS5	
Condition	TDS2 temperature	20°C[1 min]→[60 °C min ⁻¹]→230°C[6 min]
	CIS4 temperature	-150°C[1 min]→[12 °C sec ⁻¹]→280°C[14 min]
	Transfer line temperature	280°C
	Injection	TDS2 : split less, CIS4 solvent vent
<u>GC-MS condition</u>		
Instrument	Agilent HP6890, HP5973	
Condition	Column	HP-5MS (0.25 mmf×30 m, 0.26 μm)
	Oven temperature	80 °C[4 min]→[8 °C min ⁻¹]→280°C[2 min]
	Carrier Gas	He (1.0 mLmin ⁻¹)
	Interface temperature	280 °C
	SIM mass (m/z)	TBT 263、261 PT 351、349 TeBTd ₃₆ 318、316

次に、試料から Twister に有機スズ化合物を抽出する際の温度条件について検討を行った。湯浴の温度を変えて (20, 40, 60, 80, 90 及び 95°C) 抽出を行い、GC-MS でのシグナル強度を測定した。その結果、図 1 に示す様に、TBT および TPT 共に温度が高いほど抽出効率が良いことが分かった。また、誘導体化を必要としない d-36 TeBT を用いて同様の実験を行ったところ、同様の結果が得られたことから、温度を上げることによって誘導体化の効率が上がっているのではなく、主に Twister への抽出効率が向上しているものと考えられる。次に、抽出時間についての検討を行った。95°C で 15, 30, 60, 120 及び 180 分間湯浴による加温攪拌後、それぞれにおいて放冷しながら 60 分間攪拌をおこない Twister に有機スズ化合物を抽出し比較検討を行った。結果を図 2 に示す。TBT は 60 分、TPT は 30 分で GC-MS のシグナル強度が一定となった。よって、誘導体化及び抽出条件は、95°C で 60 分加温抽出し、放冷しながら 60 分更に攪拌抽出することとした。

3. 2 試料 pH の検討

試料溶液中の pH を 3, 4, 5, 6, 7 及び 8 に調製して、試料の pH がどの様に TBT 及び TPT の誘導体化の進行及び Twister への吸着に影響を及ぼすかの検討を行った。その結果を図 3 に示す。試料の pH が酸性の場合には、誘

導体化が進まず TBT 及び TPT のシグナル強度は低い。同様に、pH が 7 以上では、シグナル強度が減少する傾向が見られた。この検討結果より、最適範囲は TBT で pH 4 ~ 6, TPT は pH 5 ~ 7 であることが判明したので今後の作業における試料の pH を 5.0 とすることとした。

3. 3 加熱脱着温度の検討

TDS の最高温度を 180 ~ 280°C の間で変えて測定をおこない、目的物質の脱離する最適温度の検討を行った。TDS の温度が高いと Twister からのポリジメチルシロキサン の剥離が大きくなる。Twister の寿命及び装置の汚染を低減する為には、TDS の温度はできるだけ低いことが望ましい。図 4 に示す様に、TBT と TPT の最適値は異なるが、およそ 230°C が最適温度である。

3. 4 定量下限

試料と同様の前処理を行った操作ブランク試料を 10 個作成し、本法での TBT と TPT の操作ブランク (BEC) を算出した。その結果、本法の BEC は、TBT で 0.19, TPT で 0.14 pg mL⁻¹ であった。この BEC のレベルは、本法を用いることにより 1 pg mL⁻¹ 以下の濃度レベルの定量が可能であることを示している。

TDS/CIS システムでは、Twister 複数個を一つの試料として加熱脱着を行うことが可能である。そこで、同じ

Fig. 1 Relation of organotin compounds signal to extraction temperature

Fig. 2 Relation of organotin compounds signal to extraction times

条件で同じ量の有機スズ化合物を個別に抽出した Twister の数を変えてそれぞれ TDS に導入し測定した。その結果 Twister の数と GC-MS のピーク面積値の間には、比例関係が見られその直線性も良い。この検討から Twister を複数個同時に加熱脱着おこなうことが可能であり、定量下限値をさらに下げることができると判った。図 5 に、本法のフローチャートを示す。

3. 5 実試料の分析

実試料として、青森県上北郡六ヶ所村にある尾駈漁港と横須賀港、広島港の海水について分析を行った。各海水試料は、採水後、 $0.45\mu\text{m}$ のメンブランフィルターを用いてろ過した後、分析試料とした。分析に際しては、海水試料100mlを用い、各試料とも独立に3回ずつ分析を行い、分析値の変動 (1σ) を求めた。表2に分析結果を示す。TBT は得られた数値に0.916を乗じてビス

Fig. 3 Relation of organotin compounds signal to extraction pH

Fig. 4 Relation of organotin compounds signal to TDS temperature

TBT オキシドに換算し検体中の TBT 化合物濃度とした。今回試料を分析した 3 地点共に、TBT 及び TPT の濃度は、 1 pg ml^{-1} 以下であり、特に TPT の濃度は、TBT の約 1/10 と非常に低濃度であった。このことは国内での有機スズ化合物の使用制限の効果が着実に現れている結果であると考えられる。

本法を用いる事により、約 3 時間で水試料 100ml 中の微量有機スズ化合物（溶存態成分）の定量が可能となっ

た。しかし、試料中に大量の浮遊物質（SS）が存在した場合には、対象物質が、SS に吸着し、十分に抽出されない可能性がある。また、元々 SS に吸着している対象物質の濃度をどの様に求めるかも問題である。この問題は、サロゲート物質を添加する事によりある程度の補正は可能であると考えられるが、同位体平衡がきちんと成り立っているかの検証が必要である。今後、様々な種類の環境水に本法を適用しようとした場合には、さらな

Fig. 5 Analytical procedure of organotin compounds in sea water samples

Table 2 Analytical results of Organotin compounds in sea water samples

Prefecture	Sampling Points		TBT	TPT
	City	Harbor		
Aomori	Rokkasyo	Obuchi	0.67 ± 0.05	0.033 ± 0.002
Kanagawa	Yokosuka	Natushima	0.43 ± 0.05	0.052 ± 0.005
Hiroshima	Hiroshima	Hiroshima	0.15 ± 0.02	0.051 ± 0.002

る検討が必要である。

謝 辞

本研究は、青森県からの受託事業により得られた成果の一部である。試料採集に協力をいただいた、独立行政法人海洋研究開発機構 分析解析センター、篠塚一典博士、広島大学、理学部 日高洋教授、及び、小徳美和氏に感謝する。

要 約

Stir bar sorptive extraction 法を用いた TDS-GC-MS 法による水中の微量有機スズ化合物の分析手法を開発した。本手法を用いることにより使用試料量を低減 (100mL) する事ができると同時に、前処理の簡便化により前処理時間を大幅に短縮 (約 3 時間) する事ができた。又、本法のブランク濃度 (BEC) は、TBT で 0.19,

TPT で 0.14pg mL⁻¹ であり、海水中の微量有機スズ化合物を分析するのに十分な値である。本法を用いて、実海水試料の分析を行った結果、TBT で 1pg mL⁻¹ 以下、TPT で 0.1pg mL⁻¹ 以下の濃度領域での分析を行うことができた。

文 献

- 1) Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., Yamazaki, S. and Morita, M.: *Mar. Pollut. Bull.*, **31**, 402-405 (1995)
- 2) 竹内正博：ぶんせき, **2**, 126-130 (1999)
- 3) Hirano, H., Fukushima, M., Tanaka, M.: *Anal. Chem. Acta.* **256**, 91-96 (1992)
- 4) 打田雅敏, 長谷川圭司, 阪本晶子, 山中葉子, 橋爪 清：三重環境研年報, 第 3 号 (2001)
- 5) 岩村幸美, 門上希和夫, 陣矢大助, 花田喜文, 鈴

- 木 學：分析化学, Vol 48, No.6, 555-561 (1999)
- 6) Tao, H., Rajendran, R.B., Quetel, C.R., Nakazato, T., Tominaga, M. and Miyazaki, A.: *Anal. Chem.* **71**, 4208-4215 (1999)
- 7) David, F., Tienpont, B. and Sandra, P.: *LC·GC Europe*, **7**, 3-7 (2003)
- 8) 環境ホルモンのモニタリング技術－分析測定法の実際－（監修：森田昌敏）：(株)シーエムシー（1999）