

205 広島湾北部海域における有機スズ代替化合物汚染とカキに与える影響

広島市衛生研究所 ○常政 典貴 神戸大学大学院 海事科学研究科 岡村 秀雄

1. はじめに

従来、船底防汚剤として使用されてきた T B T 等の有機スズ化合物は、その高い残留性、生物蓄積性、毒性から問題となり、2008 年 9 月には世界的に使用禁止となった。我が国においては、1990 年以降、T B T の製造輸入は中止されており、それに代わる有機スズ代替防汚剤が使用されてきた。これらの物質は、有機スズ化合物に比べて分解性が良いと言われて来たが、近年、底質への蓄積例が報告され、海洋生物への影響が懸念される状況となっている。本研究では、海水および底質中の有機スズ代替化合物濃度の調査に加え、広島湾に生息するカキを用い、カキ受精卵に及ぼす 5 種類の有機スズ代替化合物および 2 種類の有機スズ化合物の毒性を評価した。

2. 実験材料および実験方法

2.1 海水および底質中の有機スズ代替化合物濃度調査

調査化合物は Irgarol 1051: 2-methylthio-4-tert-butylamino-6-cyclopropylamino- s-triazine (イルガロール)、その分解生成物 M1: 2-methylthio-4-tert-butylamino-6-amino-s-triazine、Diuron: 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (ジウロン)、TPBP: triphenylborane pyridine、Sea-Nine 211: 4,5-dichloro-2-n-octyl-3(2H)isothiazolone (シーナイン) の 5 種類とした。また調査地点は、大田川河口付近のマリーナ、漁港、海域の環境基準点、ドック前とした。

2.2 有機スズ代替化合物の毒性評価

供試化合物は Irgarol 1051、Diuron、Sea-Nine 211、TPBP、TPBOA: triphenylborane octadecylamine の 5 種類とした。また比較のために、有機スズ化合物の TBT、TPT も用いた。それぞれジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、1000 mg/L の原液を作成し、人工海水で多段階に希釈して試験溶液とした。

カキは広島湾で採取したマガキ (*Crassostrea gigas*) を用いた。毒性試験には 6 穴マイクロプレートを用い、受精後 25℃の暗所で 24 時間静置培養した。2 時間後、24 時間後に各ウェルの受精卵 200 個の発生状況を顕微鏡で観察した。200 個の受精卵について D 型幼生の数、D 型幼生にならなかった数、奇形卵の数をそれぞれ計数した。これをもとに LC10 (10% 死亡濃度) および LC50 (50% 死亡濃度) を ECOTOX-STATICS プログラム (日本環境毒性学会) を用いて計算した。

3. 実験結果および考察

海水中の濃度を調査した結果、Sea-Nine211、Diuron、Irgarol 1051、M1 の濃度範囲は、それぞれ $<0.023 \sim 0.10 \mu\text{g/l}$, $<0.040 \sim 0.43 \mu\text{g/l}$, $<0.092 \mu\text{g/l}$, $<0.031 \sim 1.3 \mu\text{g/l}$ であり、TPBP は検出されなかった。またカキ受精卵の観察結果から、各供試化合物の LC10、LC50 を計算した (Table 1)。Irgarol 1051、Diuron および TPBP 分解生成物は最高供試濃度 (1000ug/L) においてもカキ受精卵に影響を及ぼさなかった。24 時間後の LC10 では、Sea-Nine211 と TPT、TPBP と TBT はほぼ同程度の毒性を示した。奇形は TBT、TPT のみならず、Sea-Nine211、TPBP、TPBOA でも確認された。しかも、高濃度だけでなく低濃度においても、奇形が生じており、今後の発生段階で影響の出ることが予想される。以上の結果から、カキ受精卵の発生に及ぼす影響に関しては、Sea-Nine211 と TPT、TPBP と TBT はほぼ同程度であることが明らかとなった。

Table 1 Lethal effects of antifouling compounds on oyster embryo

	2h		24h	
	LC10	LC50	LC10	LC50
Sea-Nine 211	4.3(4.0-4.5)	27(24-30)	1.3(1.2-1.3)	13(11-15)
Diuron	>1000	>1000	>1000	>1000
Irgarol 1051	>1000	>1000	>1000	>1000
TPBP	1.1(1.0-1.1)	7.5(6.7-8.5)	0.58(0.55-0.60)	6.3(5.4-7.4)
TPBOA	2.7(2.6-2.8)	23(20-26)	2.2(2.1-2.8)	10(9.5-12)
DPB	>1000	>1000	>1000	>1000
MPB	>1000	>1000	>1000	>1000
Biphenyl	>1000	>1000	>1000	>1000
Phenol	>1000	>1000	>1000	>1000
Pyridine	>1000	>1000	>1000	>1000
Benzene	>1000	>1000	>1000	>1000
Boric acid	>1000	>1000	>1000	>1000
TBT	2.7(2.6-2.9)	14(13-16)	0.69(0.64-0.70)	3.3(2.9-3.7)
TPT	4.1(3.9-4.3)	13(12-14)	1.4(1.4-1.5)	2.5(2.4-2.7)

LC50 : 50% lethal concentration(μ g/l)

(): 95% confidence interval

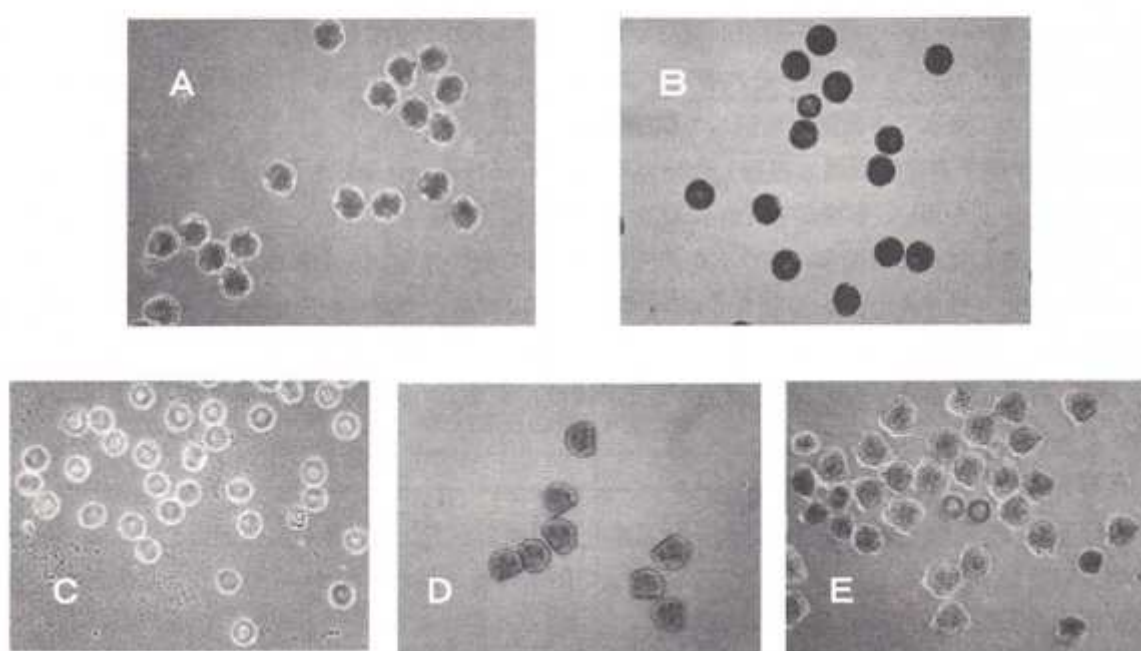
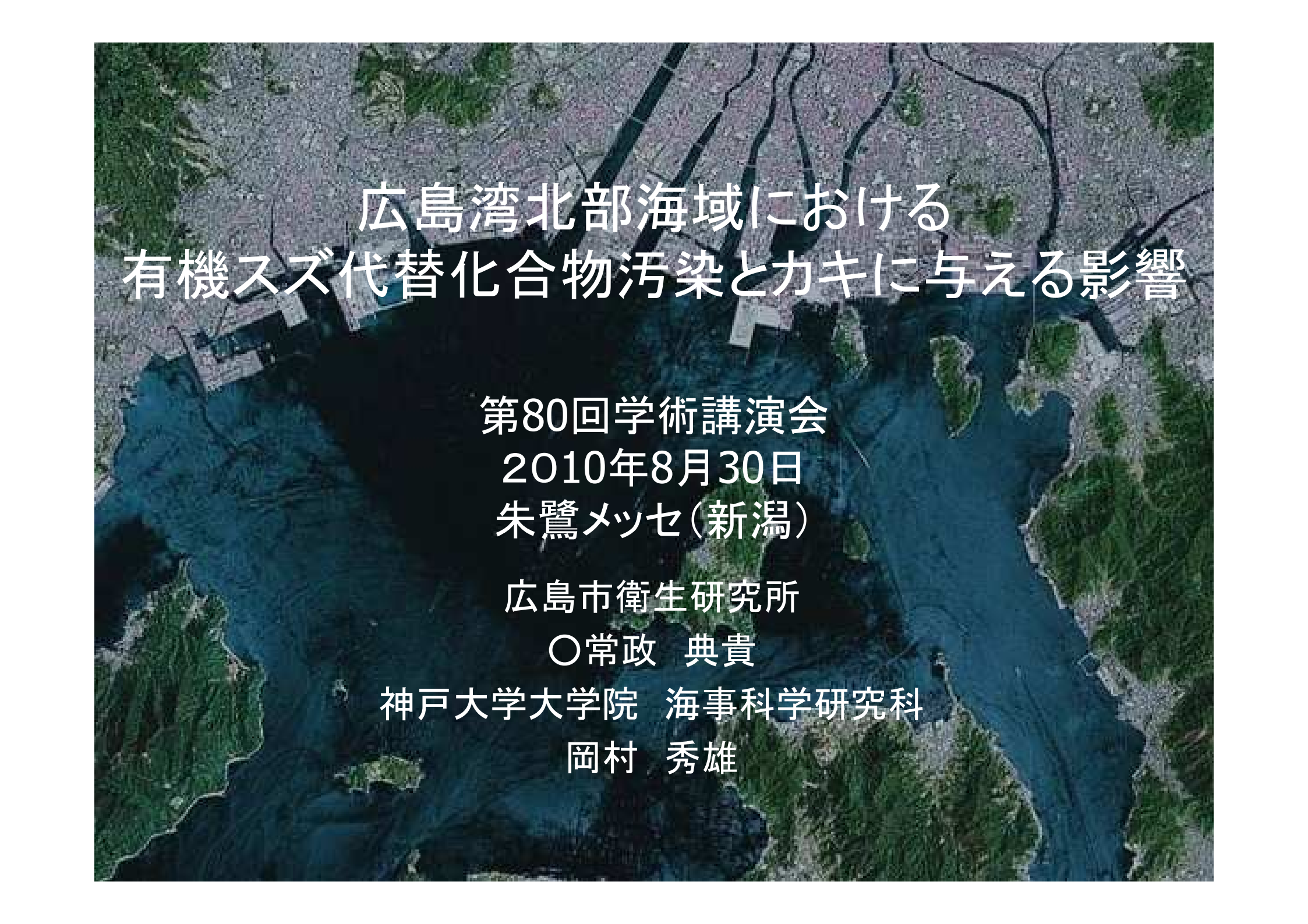
LC10 : 10% lethal concentration(μ g/l)

Fig. 1 試験開始 2 時間後および 24 時間後の受精卵

A : 卵分割が進んでいるカキ卵 (Sea-nine, 1.0ppb, 2hour) 、 B : 卵分割が見られないカキ卵 (TBT, 100ppb, 2hour) C : まったく発生が進んでいないカキ卵 (Sea-nine, 100ppb, 24hour) 、 D : 正常なD型幼生 (Control, 24hour) E : 奇形のあるD型幼生 (TBT, 10ppb, 24hour)

 : 100 μ m

An aerial photograph of Hiroshima Bay, showing the city of Hiroshima and the surrounding mountains. The water is a deep blue, and the land is a mix of green and grey. The text is overlaid on the image in white.

広島湾北部海域における 有機スズ代替化合物汚染とカキに与える影響

第80回学術講演会
2010年8月30日
朱鷺メッセ(新潟)

広島市衛生研究所

○常政 典貴

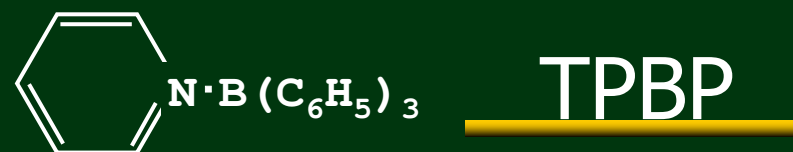
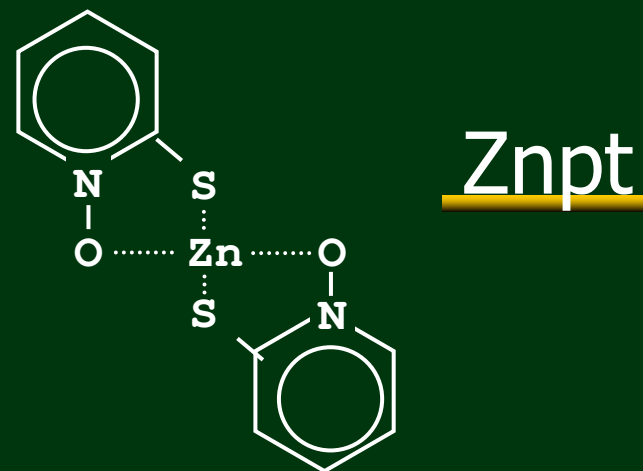
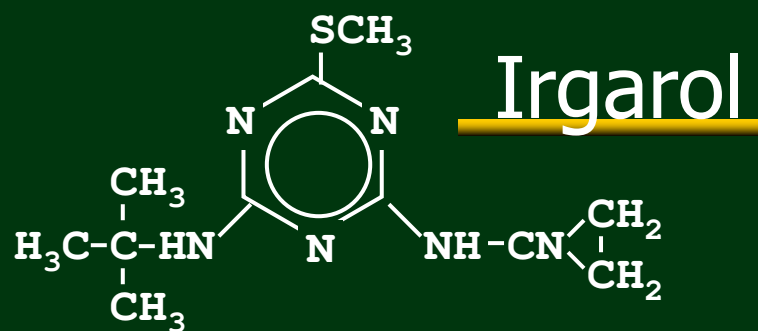
神戸大学大学院 海事科学研究科

岡村 秀雄

研究の背景と目的

- ・ 有機スズ化合物は、高い環境残留性、毒性及び生物蓄積性から使用が禁止されている。
- ・ 有機スズ化合物に代わる代替物質の研究が行われ、現在はそれらが使われている。
- ・ 本研究は、代替防汚剤の環境安全性を明らかにすることを目的とする。

Structures of antifouling compounds



An aerial photograph of Hiroshima Bay, showing the city of Hiroshima on the northern shore and the surrounding green hills. The water is a deep blue, and the city's urban layout is visible. Overlaid on the image is the title '研究内容' (Research Content) in white text, and two numbered research topics in yellow and white text.

研究内容

1. 広島湾北部海域における代替防汚剤の残留

2. 代替防汚剤がカキに及ぼす影響

代替防汚剤の残留

2.1 試薬及び実験材料

- ・分析する防汚剤は、Irgarol 1051(イルガロール)、その分解物M1、Diuron(ジウロン)、Sea-nine211(シーナイン)とした。海水のみTPBPについても分析。
- ・太田川河口付近のマリーナ・漁港・ドック前・海域の環境基準点で、海水・表層底質・柱状底質を採取。

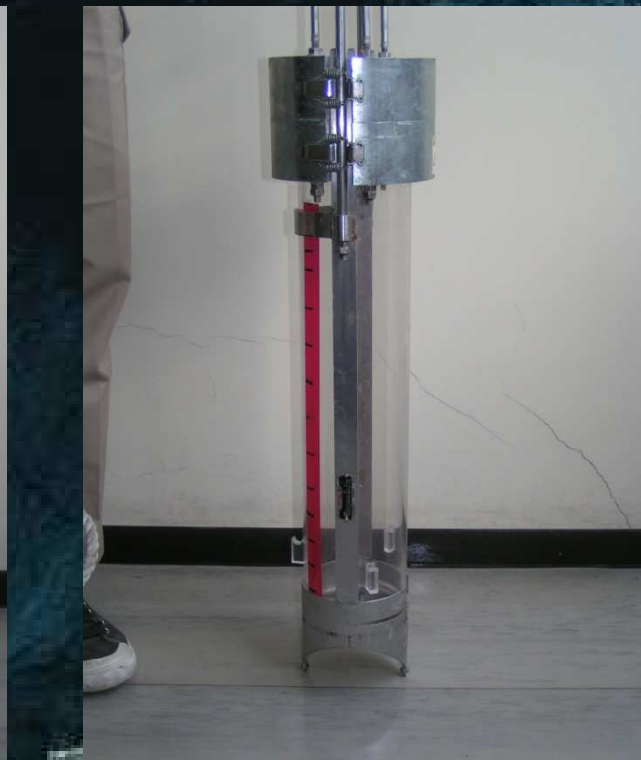
柱状泥採取地点

○
五日市漁港

○
宇品漁港

○
海田湾中央

○
金輪島ドック前



Itsukaichi fishery harbor(south)

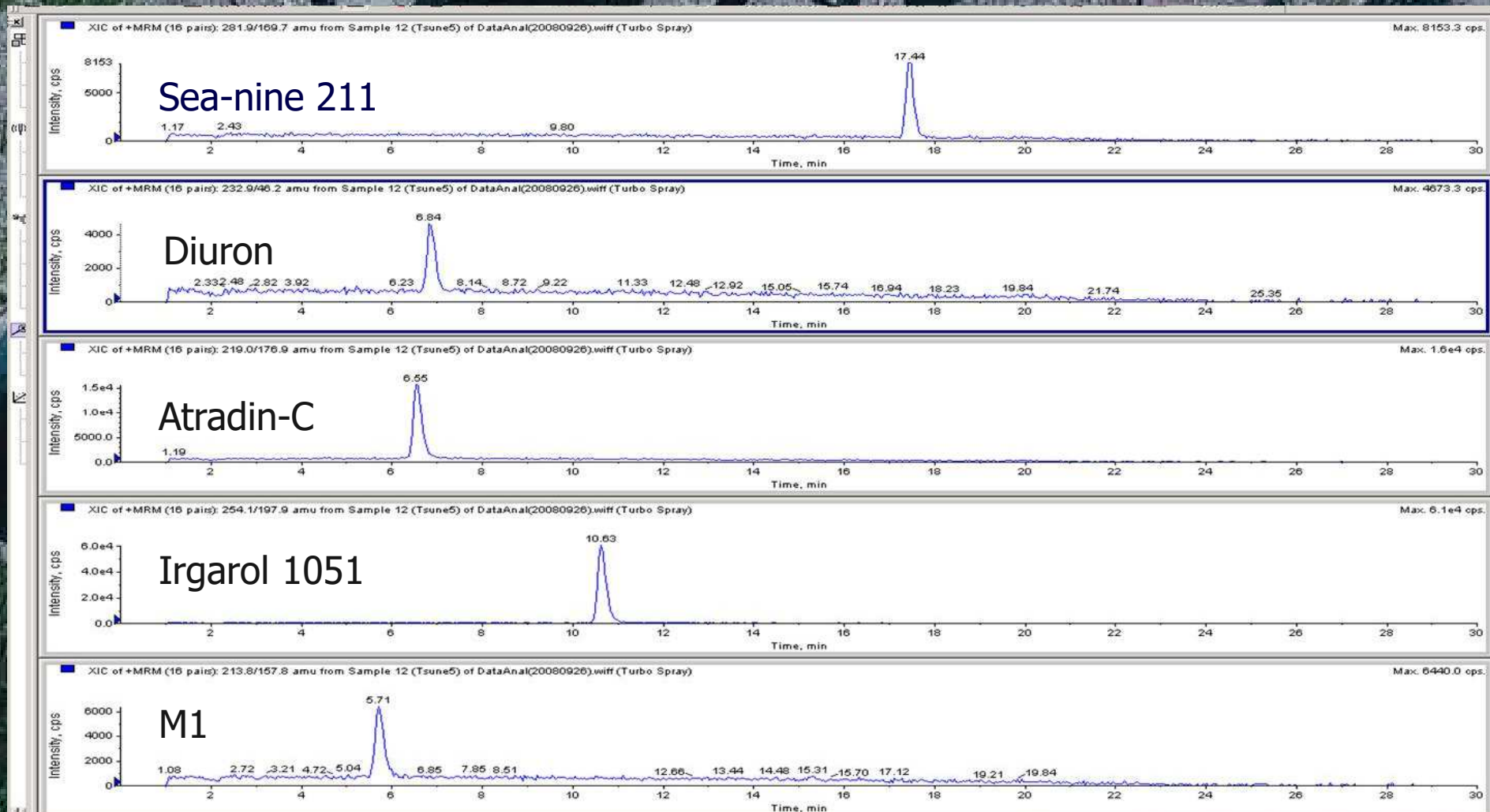


代替防汚剤の残留

2.2 実験機器

- ・分析には、ガスクロマトグラフ質量分析計・液体クロマトグラフ質量分析計・液体クロマトグラフィーを使用した。
- ・前処理には、冷却高速遠心機、遠心濃縮器の他、ロータリーエバポレータ、遠心分離機、振とう機などを使用した。

有機スズ代替防汚剤の分析例



代替防汚剤の残留

物質名	イルガロール	M1	ジウロン	シーナイン
サンプルの種類				
海水	<0.092	<0.031~1.3	<0.040~0.43	<0.023~0.10
表層底質	ND~28	ND~9.0	ND~73	ND~40
柱状底質	0.4~270	ND~13	1.4~220	ND~140

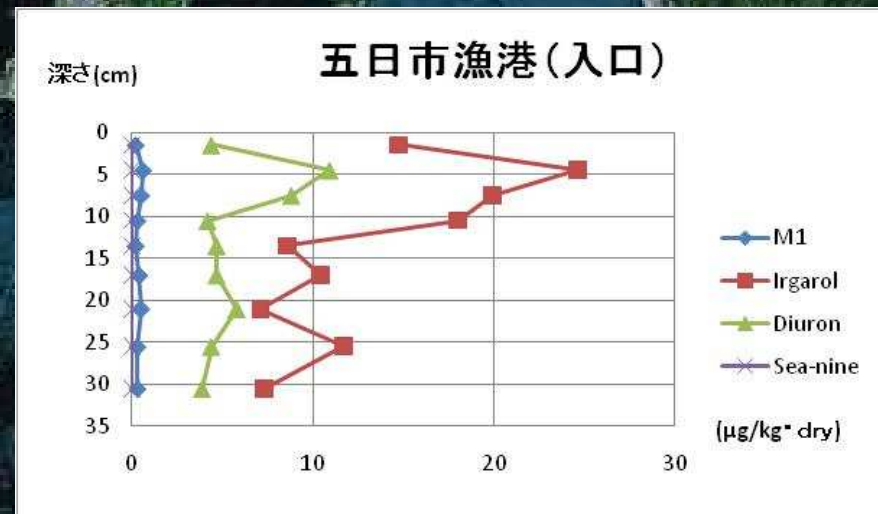
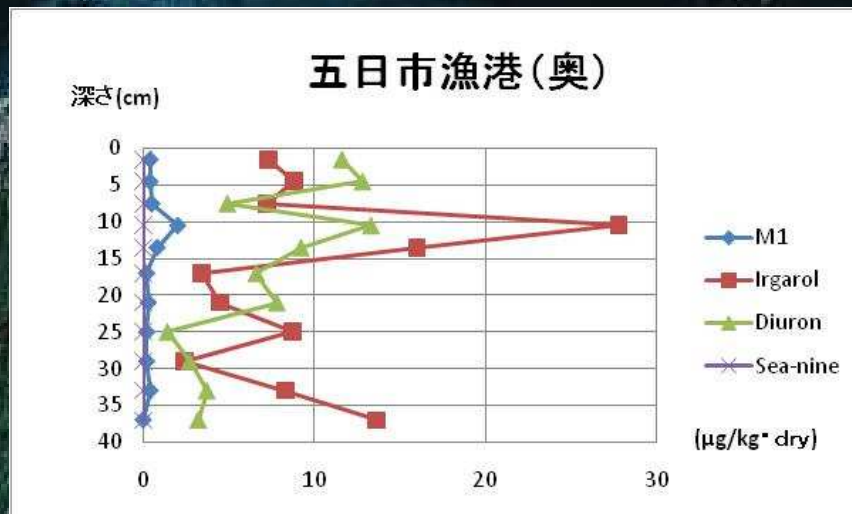
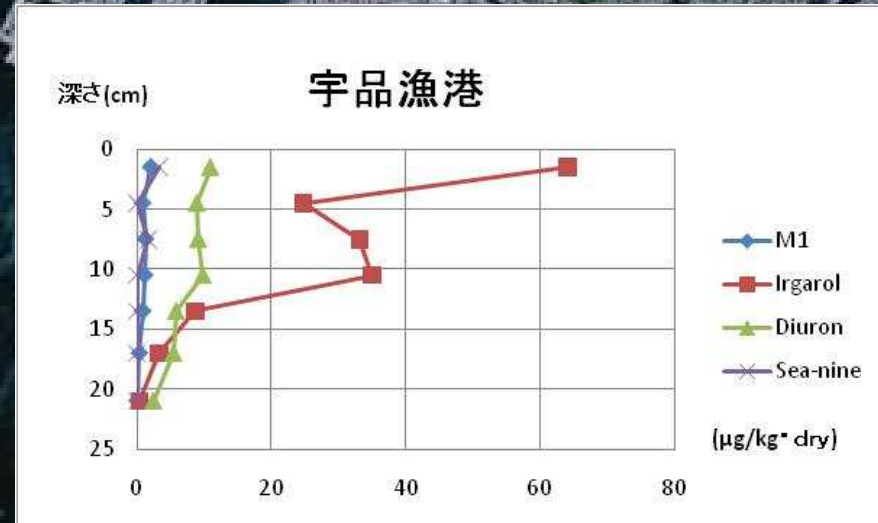
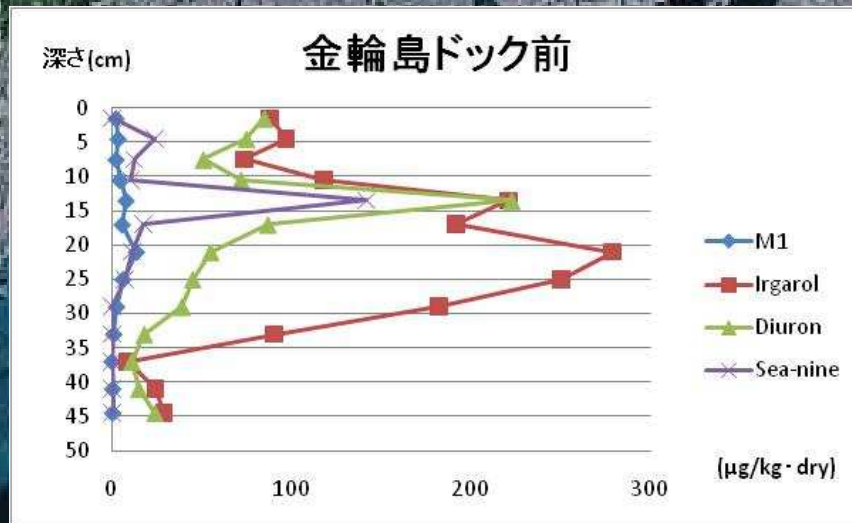
($\mu\text{g/l}$)または ($\mu\text{g/kg-dry}$)

柱状底質中の代替防汚剤の残留

物質名	イルガロール	M1	ジウロン	シーナイン
採取場所				
五日市漁港(入口)	7.1~25	0.2~0.5	3.9~11	ND
五日市漁港(奥)	2.4~28	ND~2.0	1.4~13	ND~0.1
宇品漁港	0.4~64	0.1~2.1	2.5~11	ND~3.3
海田湾中央	2.1~3.5	0.1~0.3	3.0~7.7	ND~0.8
金輪島ドック前	9.1~270	0.4~13	11~220	ND~140

($\mu\text{g}/\text{kg-dry}$)

深度別濃度分布(代替船底防汚剤)

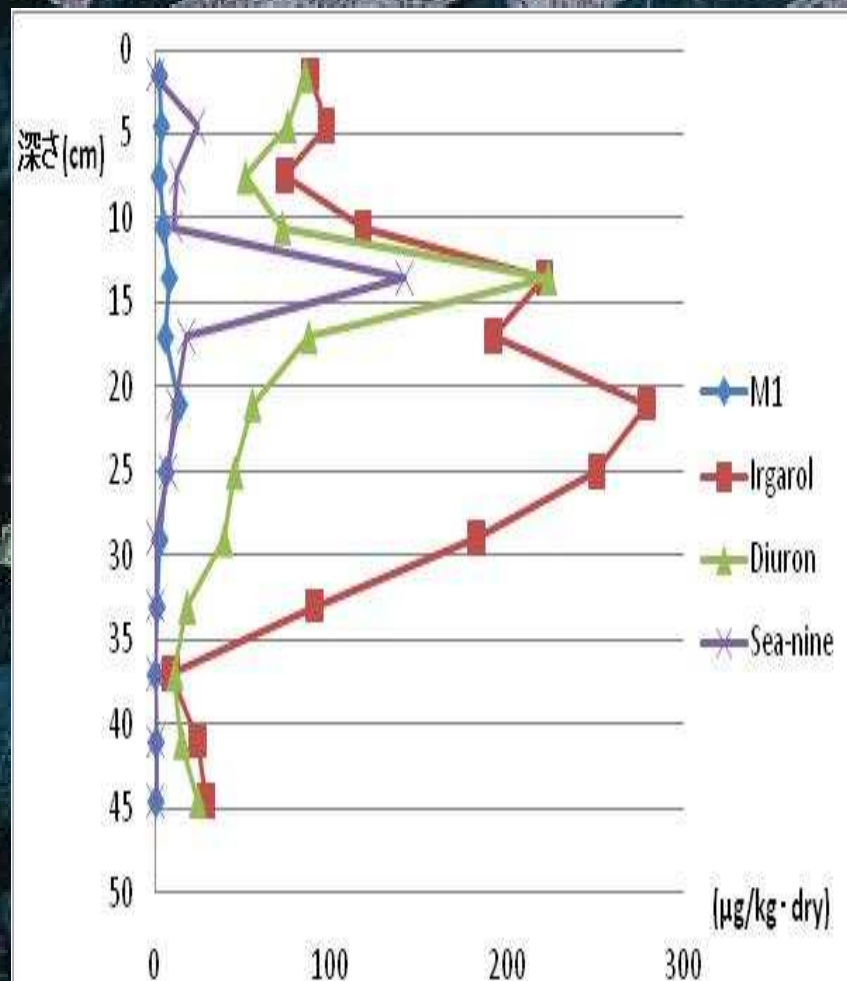


金輪島 Dock 前の分析結果 (代替船底防汚剤)

Sample No. Depth(cm) 堆積年(year)

1	0 - 3	2004.7
2	3 - 6	2003.5
3	6 - 9	2002.3
4	9 - 12	2001.2
5	12 - 15	2000.1
6	15 - 19	1998.5
7	19 - 23	1996.8
8	23 - 27	1995.1
9	27 - 31	1993.2
10	31 - 35	1990.7
11	35 - 39	1985.5
12	39 - 43	1980.4
13	43 - 46	1975.8

深さ別濃度分布 (代替船底防汚剤)

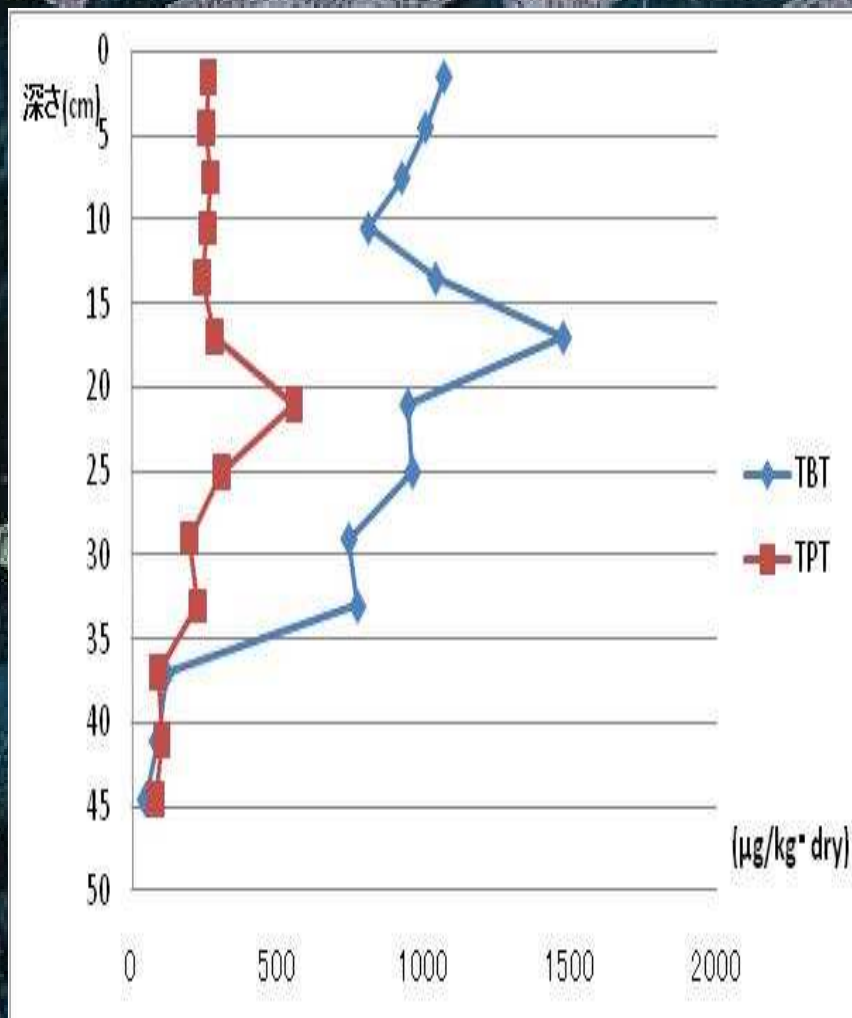


金輪島 Dock 前の分析結果 (有機スズ化合物)

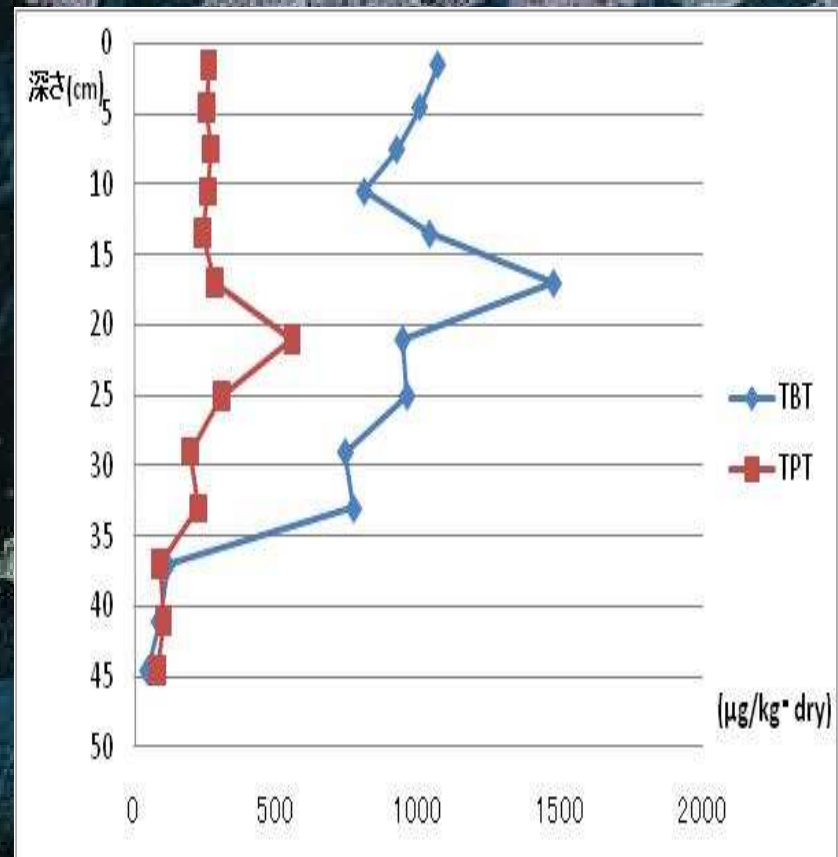
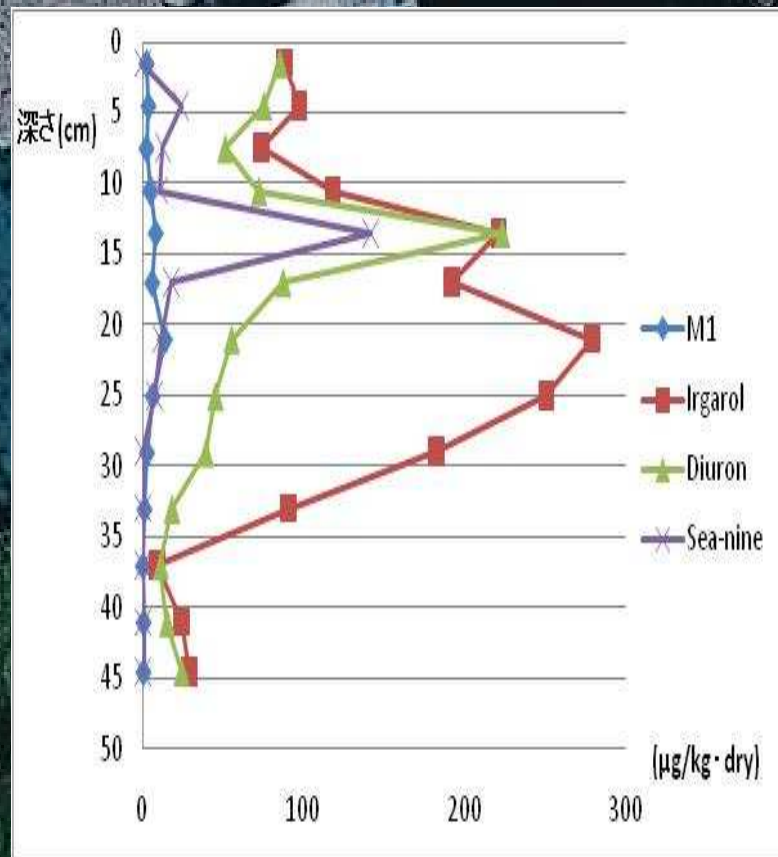
Sample No. Depth(cm) 堆積年(year)

1	0 - 3	2004.7
2	3 - 6	2003.5
3	6 - 9	2002.3
4	9 - 12	2001.2
5	12 - 15	2000.1
6	15 - 19	1998.5
7	19 - 23	1996.8
8	23 - 27	1995.1
9	27 - 31	1993.2
10	31 - 35	1990.7
11	35 - 39	1985.5
12	39 - 43	1980.4
13	43 - 46	1975.8

深さ別濃度分布(有機スズ化合物)



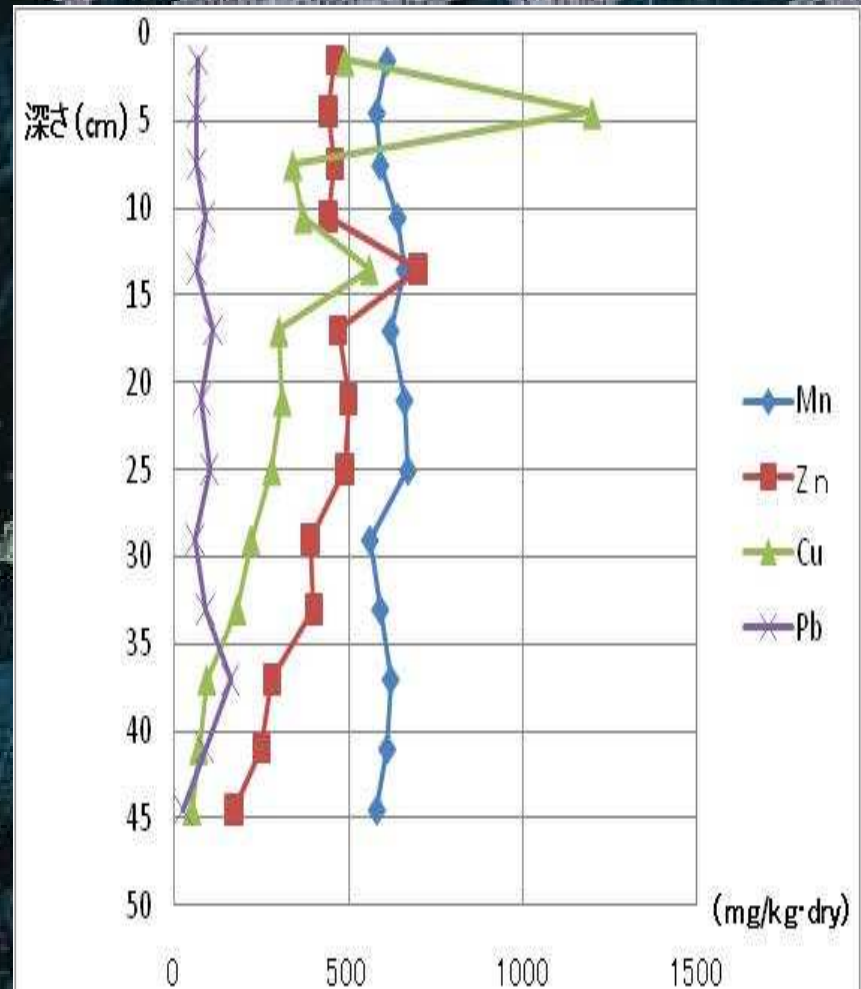
代替防汚剤・有機スズ化合物の深さ別分布



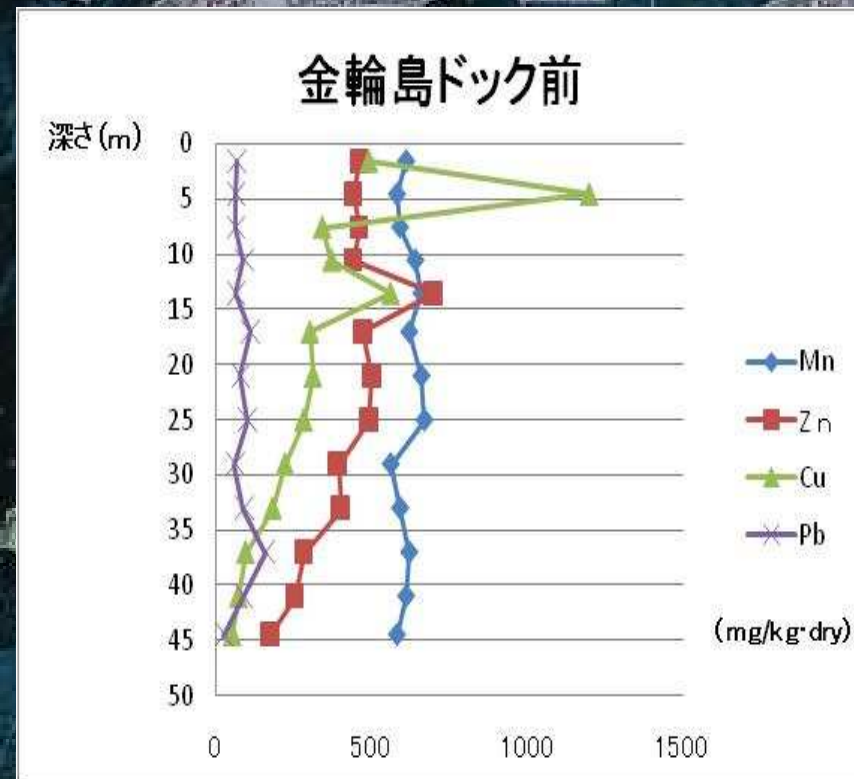
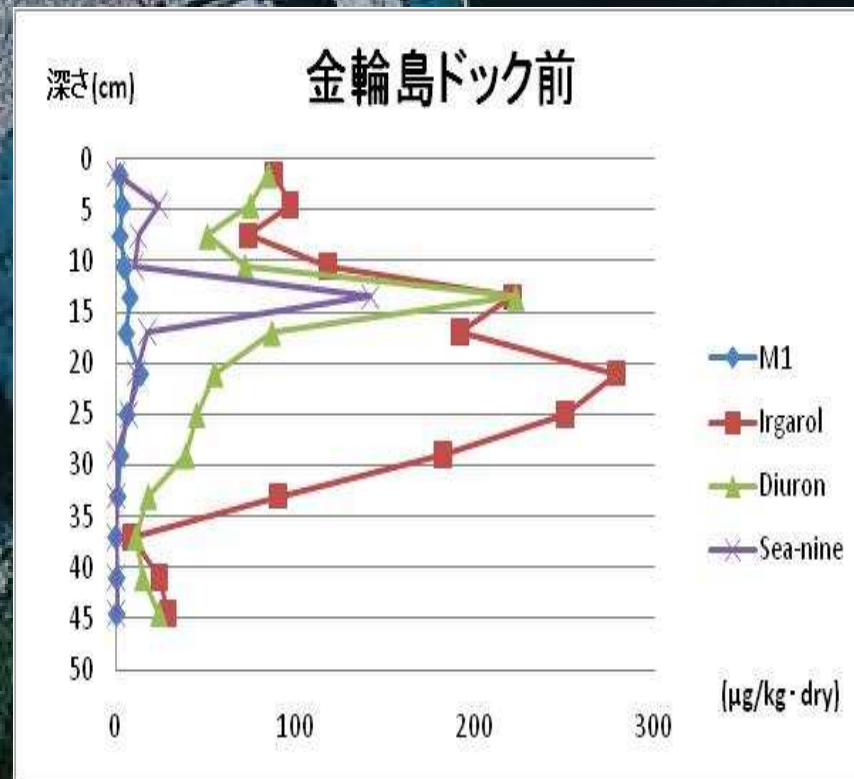
金輪島ドック前の分析結果（重金属）

深さ別濃度分布（重金属）

Sample No.	Depth(cm)	堆積年(year)
1	0 - 3	2004.7
2	3 - 6	2003.5
3	6 - 9	2002.3
4	9 - 12	2001.2
5	12 - 15	2000.1
6	15 - 19	1998.5
7	19 - 23	1996.8
8	23 - 27	1995.1
9	27 - 31	1993.2
10	31 - 35	1990.7
11	35 - 39	1985.5
12	39 - 43	1980.4
13	43 - 46	1975.8



防汚剤・重金属の深さ別分布



An aerial photograph of Hiroshima Bay, showing the city of Hiroshima on the northern shore and the bay extending south. The water is a deep blue, and the surrounding land is a mix of urban development and greenery. The text "研究内容" is centered at the top in white. Below it, two research topics are listed: "1. 広島湾北部海域における代替防汚剤の残留" in white and "2. 代替防汚剤がカキに及ぼす影響" in yellow.

研究内容

1. 広島湾北部海域における代替防汚剤の残留

2. 代替防汚剤がカキに及ぼす影響

代替防汚剤がカキに及ぼす影響

2.1 試薬及び実験材料

- ・供試防汚剤は、Irgarol 1051(イルガロール)、Diuron(ジuron)、Sea-nine211(シーナイン)及び有機ホウ素化合物のTPBP、TPBOAの5種類とした。
また比較のために、TBT、TPTの試験も行った。
- ・カキは、五日市埋立地沖の防波堤に付着しているものを用いた。

力牛採取地点

五日市埋立地

○採取地点



代替防汚剤がカキに及ぼす影響

2.2 実験機器

- ・生物顕微鏡はOLYMPUS CK40を使用し、100倍で検鏡した。
- ・写真撮影時には、画像解析ソフトSHIMADZU moticam 2000を使用した。

2.3 毒性試験の手順

- ・人工海水は、ダイゴ人工海水SPをイオン交換水に溶解して作成し、2時間程度ばっ気した。
- ・取り出した生殖器は、雄の場合はシャーレに取り、冷蔵庫に保管した。雌の場合は、人工海水を入れたビーカーの上に目の細かいネットを敷き、その上で切開し、人工海水で洗いながら卵を取り出した。
- ・卵は、人工海水で数回洗浄した。
- ・供試物質はジメチルホルムアミドに溶解後、人工海水で希釈し、多段階の濃度に調整した。

2.3 毒性試験の手順つづき

- ・試験溶液を6穴マイクロプレートに10mlずつ入れた。同濃度につき3ウェルを用いた。
- ・成熟卵を各ウェルに25 μ lずつ入れた。
- ・精子を人工海水で1000倍に希釈し、各ウェルに25 μ lずつ入れた。
- ・2時間後、ウェルを顕微鏡で観察し、卵の発生状況を200個確認した。
- ・24時間後、ホルマリン溶液で固定後、顕微鏡で観察し、D型幼生の奇形の有無と、幼生にならなかった卵の数を合計200個確認した。

毒性の比較

Table1 Lethal effects of antifouling compounds to oyster embryo

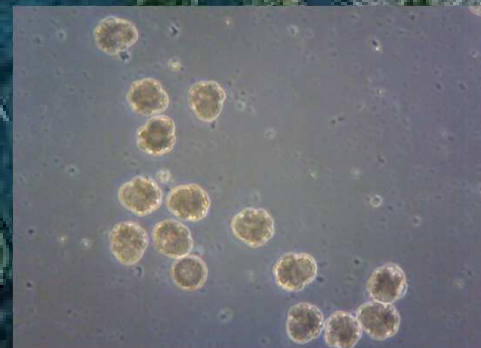
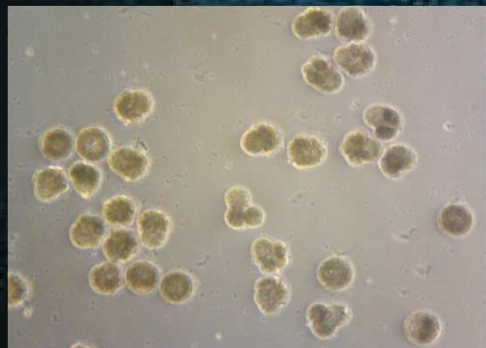
	2h		24h	
	LC10	LC50	LC10	LC50
Sea-Nine 211	7.4(6.8-7.7)	28(26-31)	0.90(0.89-0.91)	17(14-21)
TPBP	1.1(1.0-1.1)	7.5(6.7-8.5)	0.58(0.55-0.60)	6.3(5.4-7.4)
TPBOA	2.7(2.6-2.8)	23(20-26)	2.2(2.1-2.8)	10(9.5-12)
DPB	>1000	>1000	>1000	>1000
MPB	>1000	>1000	>1000	>1000
Biphenyl	>1000	>1000	>1000	>1000
Phenol	>1000	>1000	>1000	>1000
Pyridine	>1000	>1000	>1000	>1000
Benzene	>1000	>1000	>1000	>1000
Boric acid	>1000	>1000	>1000	>1000
Diuron	>1000	>1000	>1000	>1000
Irgarol 1051	>1000	>1000	>1000	>1000
TBT	2.6(2.5-2.7)	16(14-18)	0.36(0.31-0.39)	3.9(3.3-4.5)
TPT	2.4(2.3-2.5)	14(12-15)	0.52(0.48-0.54)	3.7(3.2-4.2)
LC50 : 50% lethal concentration($\mu\text{g/l}$)			() : 95% confidence interval	
LC10 : 10% lethal concentration($\mu\text{g/l}$)				

2時間後の発生状況

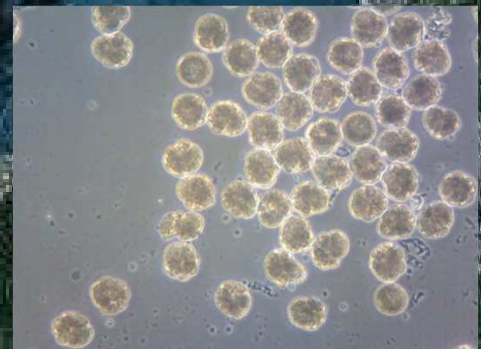
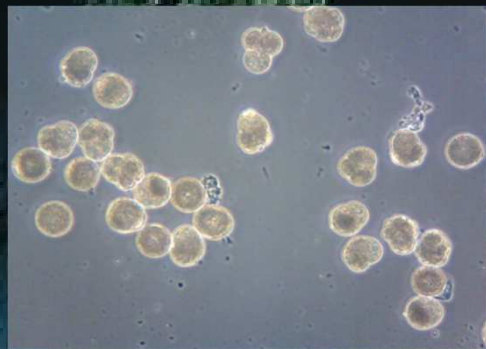
Sea-Nine



TBT



TPT



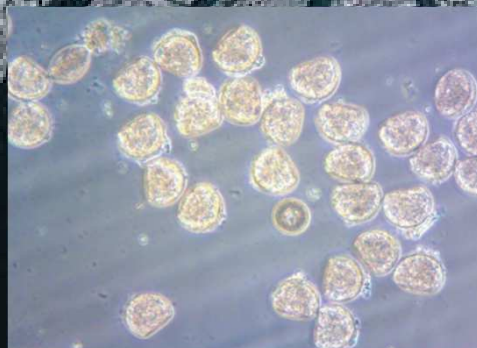
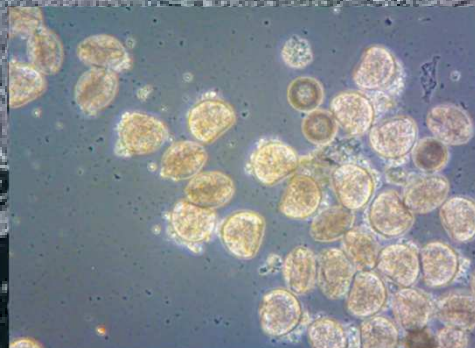
100ppb

10ppb

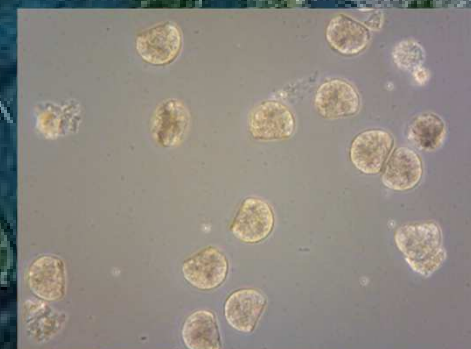
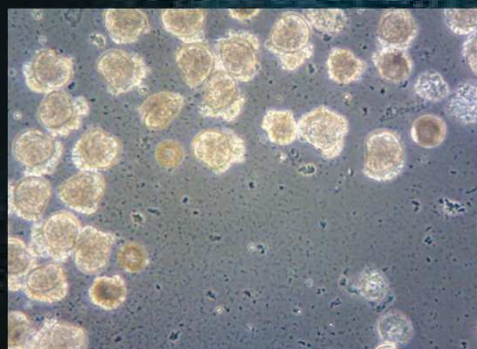
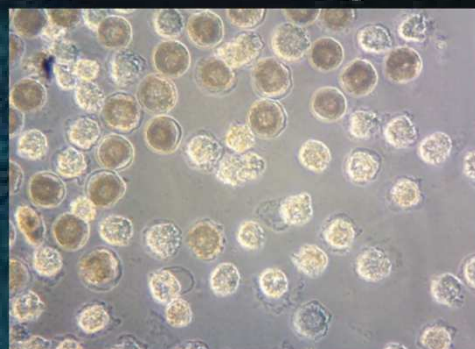
1ppb

24時間後の発生状況

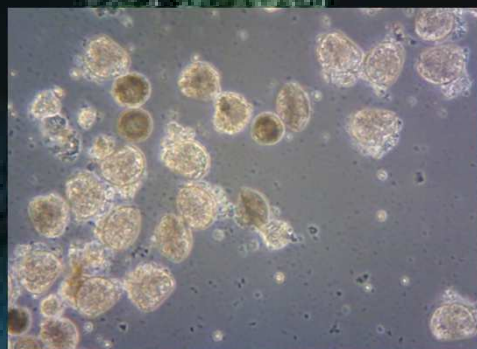
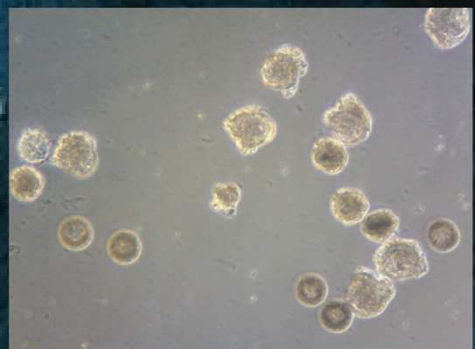
Sea-Nine



TBT



TPT



10ppb

1ppb

0.1ppb

環境リスク評価

- ・環境リスク評価(生態リスク評価)は、予測環境濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比較により行われる。
- ・PEC/PNEC 1以下の場合 : 影響なし
- ・PEC/PNEC 1を超える場合 : 影響あり

環境リスク評価

- ・毒性が強く環境中で検出された化合物

Sea-Nine 211

- ・PEC

検出範囲(海水中) $<0.023 \sim 0.10 \mu\text{g/l}$

- ・PNEC

カキ卵による毒性試験 $0.10 \mu\text{g/l}$ 未満

まとめ

1. 代替防汚剤の残留

- ・イルガロール、M1、ジウロン、シーナインを検出したが、TPBPは検出せず。
- ・検出された濃度は、これまで文献などに報告された中でも高い値であり、特にシーナイン、M1は高い値であった。
- ・各物質とも、表層よりも深い層で最も高い値となった。重金属分析結果との比較から、堆積後に酸化・還元による底質中の移動はないことが示唆された。

まとめ

2. 代替防汚剤がカキに及ぼす影響

- ・イルガロール、ジウロンの毒性は弱く、シーナイン、TPBP、TPBOAは、TBT、TPTとともに毒性が強いことが明らかとなった。
- ・シーナインの海水中最高濃度付近では、PEC/PNEC比が1を超えており、カキ幼生などに影響が出る可能性が示唆された。