

有機スズ化合物の海域環境における挙動と魚類による 生物濃縮に関する研究

山田 久

Studies on Behaviour of Organotin Compounds in Marine Environment and Bioaccumulation by Marine Fish

Hisashi Yamada

Abstract Organotin compounds have been widely used in diverse industries as biocides, heat stabilizers for polyvinyl chloride (PVC), and catalysts in a variety of chemical reactions. It was recognized by experiments using mammals that lesions in the liver, kidney, brain, and nervous system were caused by the organotin compounds. Several kinds of acute and/or chronic toxicity such as mortality, suppression of growth, imposex of snails, decrease in fertilization of oyster eggs, and suppression of gonadal maturity of fish etc. were recognized in many aquatic organisms. Organotin compounds are known to be considerably bioaccumulated in fresh water fish, however, only a few reports have been published for the bioaccumulation of organotin compounds in marine fish. The bioaccumulation characteristics of organotin compounds by marine fish and the behaviour in the coastal environment are not clarified. Therefore, the purpose of this study was to investigate (a) distribution and behaviour in marine environment, (b) bioaccumulation kinetics and metabolism in marine fish, and (c) biomagnification through the coastal marine food chain in order to elucidate the countermeasure to the organotin pollution in marine environment.

1. Global distribution and behaviour in coastal waters

The current status of global marine pollution by tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPT) was examined by determining their concentrations in squid liver and their global distributions were compared with polychlorinated biphenyls (PCBs). TBT and TPT concentrations in squid livers were higher in coastal waters than in open oceans. The highest values of TBT and TPT of 279 and 519 ng/g, respectively, were detected off Japan. TBT concentrations were higher in the northern hemisphere than those of the southern hemisphere squids. TPT was not detected in squid livers collected in the southern hemisphere. The variation in TBT and TPT concentrations between the northern and the southern hemisphere was greater than those recognized for PCBs distribution in the world oceans. This global distribution pattern of TBT, TPT and PCBs seemed to reflect their usage (amount, period and manner of utilization).

TBT concentration in seawater changed seasonally in accordance with application of TBT containing paint on ship bottom, and it was higher in early summer at coastal area near the yacht harbour in Aburatsubo Bay. TBT was incorporated into the suspended materials through the bioaccumulation by phytoplankton, and was eventually accumulated in the bottom sediments through the deposition of the suspended TBT.

2. Procedure of bioconcentration experiments using marine fish

Several kinds of experimental conditions such as fish species, body weight of fish, water temperature, density, and feeding rate etc. were examined in order to establish the experimental procedures using marine fish. Red sea bream and sand borer accumulate a large amount of organic hazardous chemicals, on the contrary, the higher bioconcentration factor (BCF) of heavy metals were recognized in file fish. Uptake rate constant (k_1) and the elimination rate constant (k_2) declined with a increase of a body weight of fish. k_1 and k_2 at 25°C was larger than that at 20°C, however, BCF,

1999年2月26日受理 (Accepted on February 26, 1999)

本報告は、1998年8月に東北大学に提出、受理された学位審査論文を一部改筆したものである。

瀬戸内海区水産研究所業績A第7号 (Contribution No. A 7 from National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea)

山田 久: 瀬戸内海区水産研究所 〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (H. Yamada: National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-0452, Japan)

which is expressed as k_1/k_2 , was independent on these experimental condition. The present results indicated that suitable body weight of test fish for bioconcentration experiment is 2–5 g for sand borer and 2–10 g for red sea bream. The present study also indicated that both 20 and 25°C were suitable for the bioconcentration experiment using these fish, and that body weight and/or water temperature in the experiment, in which determines k_1 and k_2 , should be fixed exactly. Suitable density (<4.6 g/l of aquarium capacity and <0.3 g/l of daily used seawater volume) and the suitable feeding rate (<4% of body weight) was determined. These results were used in the experiments carried out in the chapter 3.

3. Bioaccumulation, metabolism and elimination of organotin compounds

BCFs of TBTO and TPTCl by marine fish were larger than those in freshwater fish, and BCF of TBTO and TPTCl was 9400 and 3300, respectively. The BCF of TBTO was largest value among the BCFs determined by marine fish, and larger BCFs were generally determined in fish having smaller elimination rate constant.

BCFs of TBT compounds as TBTCl, TBTF and TBTBr etc. were smaller than that of TBTO, and did not change by kinds of anionic ion combined with tin atom. Moreover, relationships between BCF and octanol/water partition coefficient (Pow) was not recognized in TBT compounds. It was supposed from these results that TBT compounds were dissolved in seawater in the form of TBT ion, and that the mechanism of bioconcentration was different from those of organic hazardous chemicals such as PCBs.

Red sea bream bioaccumulated TBT and TPT compounds in feed by dietary uptake, and the biomagnification factor (BMF) were 0.26 to 0.38 for TBT and 0.57 for TPT. BMF was not significantly altered by the concentration nor the species of chemicals in the feed. The tissue distribution TPT in red sea bream was not altered by the uptake pathways of dietary uptake and direct uptake from water, and no correlation was found between lipid content and the concentration of TBT or TPT in fish. These results also suggest that bioaccumulation of organotin compounds is similar to those of heavy metals rather than the organic hazardous chemicals such as PCBs.

The TBT accumulated in red sea bream was metabolized by the drug metabolizing enzyme (cytochrome p450) existing in the microsomal fraction of liver. Butyl base was separated from tin atom after the hydroxylation, and these metabolic pathways were similar to those recognized in mammals. When TBT in muscle of red sea bream was fractionated into two fractions of lipid fraction and the residual fraction after extraction of lipids, relatively large amount of TBT was detected in the residual fraction. The TBT concentration in the residual fraction did not excreted in the elimination experiment. These results suggested that TBT combined to the connective tissue was not easily released from the fish, and that the metabolism and liberation of TBT depended on the behaviour and the chemical form (combination with protein) of TBT in organisms.

TBT and TPT were accumulated in polychaetes from sediments, and moreover, TPT was accumulated in organisms of higher trophic level through the food chain. Since deposition of TBT to sediments was recognized from the survey in Aburatsubo Bay, it was pointed out that organotin pollution was prolonged by the transfer of organotin compounds to organisms from sediments.

4. Conclusions

The accumulation of organotin compounds were different from that of the organic hazardous chemicals such as PCBs on the several points described in the above section. It was concluded from these results that the bioaccumulation of organotin compounds were similar to methylmercury and several kinds of heavy metals, because organotin compounds exist in seawater and organisms in the form of cation.

The TBT and TPT were transferred to the fish by the dietary uptake from the food, and TPT was bioaccumulated in the higher trophic organisms through the food chain. It was also shown that organotin compounds in sediments were transferred to the bottom dwelling organisms through the ingestion of sediments by these organisms. It was pointed out from the present results that improvement of sediment contamination is one of the important research in order to recover the marine pollution by organotin compounds.

Allowable organotin concentration in seawater for the production of fish and shellfish suitable for the food is determined from the viewpoint of human health by using allowable daily intake of organotin compounds, feeding rate of fish and shellfish, and the bioaccumulation factor. Allowable concentration was 89 ng/l for TBT, and 56 ng/l for TPT, and these values were higher than the

concentration causing the imposex in snail. These results suggest that the seawater area satisfying the water quality criteria of organotin compounds (2 ng/l) is appropriate for the production of fish and shellfish for the food.

Key words: organotin, global distribution, marine environment, marine fish, bioaccumulation kinetics, water criteria

目 次

緒 言

第1章 海域環境における有機スズ化合物の分布と挙動

- 1.1 地球的規模での分布
- 1.2 油壺湾における有機スズ化合物の分布および挙動
- 1.3 分布と挙動に関する考察

第2章 海産魚を用いる生物濃縮試験法

第3章 有機スズ化合物の蓄積および代謝・排泄

- 3.1 生物濃縮の魚種による差異
- 3.2 有機スズ化合物の種類による取込み・排泄の kinetics の差異
- 3.3 マダイによる有機スズ化合物の経口濃縮
- 3.4 マダイによる TBTO の代謝機構
- 3.5 食物連鎖を通じた有機スズ化合物の蓄積
- 3.6 魚類による有機スズ化合物の蓄積・代謝および排泄に関する考察

第4章 総 合 考 察

謝 辞
文 献

緒 言

有機スズ化合物は、スズ原子にアルキル基やフェニル基が共有結合する構造を有し、アルキル基が1個結合するモノ体から4個結合するテトラ体まで多くの化合物から構成される化合物群である。これらの有機スズ化合物は、プラスチックの可塑剤や化学反応の触媒として各種化学工業で使用される (Blunden and Chapman 1986) とともに、その殺生物能を利用して農薬や木材防腐剤として、さらに、船底塗料や漁網防汚剤の殺生物剤として使用されてきた (杉田 1992)。哺乳類に対する毒性は、アルキル基の鎖長が C_4 のブチル基で、また、トリ体で最も強く、したがって、船底防汚塗料などの殺生物剤として使用されている有機スズ化合物は、一般的にトリブチルスズ化合物とトリフェニルスズ化合物 (以下 TBT および TPT とする) である。これらの有機スズ含有船底塗料は防汚効果に優れ、耐久性があり、かつ比較的安価であることから広く普及した。水流で塗料表面を研磨し、絶えず新しい殺生物能の強い塗料面を露出させるように設計された自己研磨型塗料の開発に伴って、有機スズ化合物含有塗料は入渠船の機会の少ない大型タン

カーなどの商業船や漁船の他にプレジャーボートや海中構造物、さらに漁網防汚剤として幅広く使用されてきた。欧米各国では、船底塗料の殺生物剤としてもっぱら TBT が使用されたのに対し、わが国では一時期 TPT も使用されたことが特徴的である。

有機スズ化合物の生産は1950年代に開始され、1965年からその生産は次第に増加し、1985年の世界の年間生産量は 36,000 t に達する。1950年から1985年までの世界の総生産量は、310,000 t と推定される (日本水質汚濁研究協会 1986)。また、有機スズ化合物の総生産量に対するトリオルガノスズの割合は25~30%であると報告されている (日本水質汚濁研究協会 1990)。したがって、35年間に生産された毒性の強いトリオルガノスズの実生産量は 78,000~93,000 t と推定され、ポリ塩化ビフェニール (PCBs) の生産量 (UNEP, ILO and WHO 1993) の約1/10であると考えられる。

わが国における TBT および TPT 化合物の用途別出荷数量を見ると (日本水質汚濁研究協会 1990)、TBT 及び TPT 化合物の生産量のうち TBT 化合物で46.8%が、また TPT 化合物の39.9%が船底塗料および漁網防汚剤原料として使用されている。したがって、有機スズ化合物は、船底塗料や漁網防汚剤の使用により水域へ直接流入するために、海洋環境への影響が大きい。

わが国沿岸域における TBT および TPT 化合物による汚染状況は環境庁 (環境庁 1993) によって報告されている。1992年の調査では海水、底泥および生物から有機スズ化合物が検出され、海水中濃度は Fig. 0-1 に示したように、大阪港で 37~67 ng/l と最も高く、次いで犀川河口 (5~35 ng/l)、伊万里湾 (8~33 ng/l)、大和川河口 (7~24 ng/l)、横浜港 (6~12 ng/l) や四日市港 (11~16 ng/l) などで高かった。底泥の TBT 濃度は、市原・姉崎海岸 (44~420 ng/g)、大阪港 (120~280 ng/g)、洞海湾 (200~280 ng/g) で特に高く、東京湾、隅田川河口、横浜港や広島湾でも比較的高かった。これらの調査結果から明らかなように、TBT 化合物による水質および底質の汚染は全国的に広がり、特に、船舶航行の多い沿岸・内湾や港湾域で高いことが明らかであった。また、1989年から1992年までの調査結果を比較すると、その濃度はほぼ横ばい状態である。TPT 化合物の濃度は、海水で <5~16 ng/l、底泥で <1~35 ng/g の範囲であり、TBT 化合物に比較して濃度が低く、また、経年

Table 0-1. History of marine pollution by organotin compounds and measures by the Japanese Government

Year	Month	Measures
1965		An increase of usage of organotin containing antifouling agents for boats and fishnets became widespread.
1972	Mar.	Fisheries Agency provided a guidance by issuing circular on restrict usage of organotin containing antifouling agents.
1985	April May	Ministry of Helth and Welfare (MHW) reported 1.6 TBTO $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ as an acceptable daily intake. Fisheries Agency provided a guidance by issuing circular on decrease in the usage of organotin containing antifouling agents.
1986	Aug. Oct.	Environment Agency released biological monitoring results: As high as 1.7 mg/kg of TBTO was detected in fish captured in the Seto Inland Sea. Fisheries agency again provided guidance by issuing circular on furhter enforcement of restricted usage of organotin containing antifouling agents.
1987	Feb. Oct.	National Federation of Fisheries Cooperative Associations agreed with complete ban on the usage of organotin containing antifouling agents. US-EPA banned the application of organotin containing antifouling paints to small boats less than 20 m in boat length.
1988	April July Nov.	Ministry of Trade and Industry (MITI), and MHW listed 8 tributyltin compounds including TBTO as designated chemicals because their possible chronic toxicity. MITI and MHW listed 7 triphenyltin compounds as designated chemicals because their possible chronic toxicity. Fisheries Agency provided a guidance by issuing circular on restricted usage of organotin containing antifouling agents to fishnets and fishing boats.
1989	July	Environment Agency released environmental survey results. The results revealed that organotin contamination has been widespread and high concentrations have been found in fish. Fisheries Agency provided a guidance by issuing circular on complete ban of organotin containing antifouling agents, especially ban of TPT compounds.
1990	Jan. July Sep. Oct.	MITI and MHW listed TBTO as Class I specified chemical substances and TPT compounds as Class II specified chemical substances under "The Law Concerning the Examination and Regulation of Manufacture, etc, of Chemical Substances". Fisheries Agency provided a guidance by issuing circular on complete ban of the usage of organotin compounds in antifouling agents and paints. MITI and MHW listed TBT compounds excluding TBTO as Class II specified chemical substances. Ministry of Transport tighten the enforcement of restricted usage of TBT compounds containing antifouling paints and banned their application to domestic area going vessels.

1992, 堀口・清水 1992) が確認された。さらに, Osada *et al.* (1993) はマガキ幼生に対する急性毒性を研究し, 発生段階の初期の幼生は TBTO に対する感受性が高いことを確認した。一方, Alzieu *et al.* (1986) によりカキの石灰化異常および形態異常が TBT 化合物によって引き起こされることが報告されている。カキ貝殻の石灰化の異常を指標とすると, カキへの無影響濃度は 20 ng/l 以下であると報告されている (Thain *et al.* 1987)。このような各種の水生生物に対する急性・亜急性や慢性等の各種の影響レベルを整理するとともに水生生物に対する影響を生態系の保全の観点に立って検討することが重要である。

TBT や TPT 化合物は水生生物に高濃度に濃縮され, 生物濃縮係数 (BCF) がオクタノール・水分係数 (Pow) のような化合物の物性に依存せず, すなわち, TBT や TPT の生物濃縮機構が PCBs などの脂溶性有害物質のそれと異なることが次第に明らかにされている。

しかし, これらの有機スズ化合物の生物濃縮は, 淡水魚を中心にして研究され, 浸透圧調節機構などの生理機構が異なる海産魚による生物濃縮機構の研究は非常に乏しい。

有害物質の水質環境基準は, ヒトが 1 日に 2000 ml の水道水を飲むことを前提にして ADI から計算された水道水水源水質基準を準用してきた。しかし, 各種の水生生物に対する影響を評価し, 水域生態系の保全の観点から水質環境基準が検討されるべきである。さらに, ヒトは飲料水以外に各種の食物を摂取する。特に, 水産生物は海域の食物連鎖を通して有害物質を濃縮する可能性があり, ADI と魚介類の摂取量を基礎にして人の健康の保護や食品としての魚介類の安全性の立場からも水質環境基準が検討されるべきである。特に, 海域の水質環境基準を検討するためには, 海産魚による生物濃縮特性の解明は, 水質環境基準検討のための基礎情報として重要な課題である。

このような背景において、本研究の第1章では、試料としてイカ肝臓を用いる生物モニタリング手法により有機スズ化合物の全地球的な分布を明らかにするとともに多数のプレジャーボートが係留され、多量な有機スズ化合物が流入した油壺湾をモデル水域に選定し、浅海・内湾における挙動や環境化学的運命を検討する。

第2章では、海産魚の生物濃縮試験におけるマダイなどの海産魚の適性を評価するとともに各種試験条件を検討して海産魚を用いる標準的な生物濃縮試験法を確立する。

第3章では、確立された生物濃縮試験法を基本的な試験方法として採用し、TBT および TPT 化合物の海産魚類による生物濃縮特性（魚種による BCF の差異、TBT 化合物の分子種による BCF の差異、経口濃縮の寄与）や代謝・排泄機構を解明する。さらに、底泥に堆積した有機スズ化合物の底生生物への移行ならびに食物連鎖を通じた蓄積の可能性についても検討する。

第4章では、ここで得られた TBT や TPT 化合物の海産魚による生物濃縮を PCBs や重金属と比較し、有機スズ化合物の生物濃縮の特徴ならびに特異性を明らかにする。一方、水生生物に及ぼす影響（生態影響）に関する知見を総合的に考察し、これらの議論を通して、有機スズ化合物に関する水質環境基準の設定に関する基本的な考え方および基準値を考察する。また、検討された基準値を達成する（海洋汚染防止）ために検討しなければならない対策・方策について述べる。さらに、TBT および TPT 化合物による汚染防止のために今後推進する必要のある研究方向や研究課題についても述べる。

本論文では、有害化学物質を以下に示した略記号を用いて記載した。

- TBTO: ビストリブチルスズオキシサイド（酸化トリブチルスズ）
- TBTCl: トリブチルスズクロリド（塩化トリブチルスズ）
- TBTAc: トリブチルスズアセテート（酢酸トリブチルスズ）
- TBTf: トリブチルスズフルオリド（フッ化トリブチルスズ）
- TBTBr: トリブチルスズブロミド（臭化トリブチルスズ）
- TPTCl: トリフェニルスズクロリド（塩化トリフェニルスズ）
- TPTAc: トリフェニルスズアセテート（酢酸トリフェニルスズ）
- BT: ブチルスズ化合物
- TBT: トリブチルスズ化合物
- DBT: ジブチルスズ化合物

- MBT: モノブチルスズ化合物
- TPT: トリフェニルスズ化合物
- TBP: トリブチルフォスフェート（リン酸トリブチル）
- PCBs: ポリクロロビフェニール
- α -HCH: ヘキサクロロシクロヘキサン
- HCB: ヘキサクロロベンゼン
- PCP-Na: ペンタクロロフェノールナトリウム塩
- DMSO: ジメチルスルホキシド

さらに、下記の熟語は本文中でも断っているが略記号を用いて記載した。

- 経鰓の生物濃縮係数: Bioconcentration factor (BCF)
- 経口の生物濃縮係数: Biomagnification factor (BMF)
- 経鰓及び経口の両経路による生物濃縮係数:

Bioaccumulation factor (BAF)

1日許容摂取量: Acceptable daily intake (ADI)

オクタノール・水分係数: Octanol water partition coefficient (Pow)

第1章 海域環境における有機スズ化合物の分布と挙動

本章では、有機スズ化合物（TBT および TPT）の地球規模での分布状況を試験生物としてイカを用いた生物モニタリング手法で明らかにする。さらに、有機スズ化合物含有船底塗料が多量に使用される油壺湾のマリーナにおける TBT および TPT の海水や底泥における分布状況、濃度の季節変化並びに海域環境における挙動を解明するとともに、海域環境における TBT および TPT の環境化学的運命を推察する。

1.1 地球規模での分布状況

有機スズ化合物の沿岸域における濃度は、海水 (Champ and Pugh 1987; Batley *et al.* 1989a; Cleary and Stebbing 1985, 1987; Alzieu *et al.* 1989), 底泥 (Langston *et al.* 1987; Makkar *et al.* 1989) や生物 (Langston *et al.* 1987; Batley *et al.* 1989b) など多くの研究者によって報告されている。Champ and Pugh (1987) は種々の水域における TBT 濃度をとりまとめ、港湾やマリーナなど沿岸域における TBT 濃度は検出限界（通常のモニタリング調査では 10 ng/l）以下から 1,300 ng/l の範囲であると報告した。また、環境庁の調査 (1989) は、TBT および TPT がわが国沿岸域の海水や底泥に広く分布することを初めて明らかにした。しかし、外洋海水の TBT および TPT 濃度を測定した研究はなく、地球規模での汚染状況は明確でない。

外洋海水の有害物質の濃度は沿岸域に比較して非常に低いと推察される。したがって、海水を直接分析して海水中濃度を測定することは困難なために、生物に蓄積し

た有害物質濃度により海洋汚染状況を評価（生物モニタリング調査）することが考えられる。生物モニタリング調査は、海洋汚染の現状やその変動傾向を把握する上で非常に有効であり、カキやムラサキガイの二枚貝を試験生物として用いる生物モニタリング調査（Mussel Watch）は国際的にも広く普及している（Goldberg *et al.* 1978）。しかし、二枚貝は定着性で沿岸域に生息するために、モニタリングできる水域もおおのずと沿岸域に限定される。

イカ類は全球的に分布し（FAO 1984）、その寿命は一般的に1年であると報告されている（窪寺 1991）。また、イカ類はアミなどの動物プランクトン、小魚あるいはイカそれ自体を餌として摂取し、その栄養段階は海洋食物連鎖において比較的高いと考えられ、多くの微量な汚染物質を蓄積している可能性がある。Tanabe *et al.* (1984) や Kawano *et al.* (1986) の研究結果によれば、イカは PCBs、ヘキサクロロシクロヘキサンやクロルデンなどの有害物質を蓄積していることが報告されている。したがって、イカ肝臓を試料とする生物モニタリングは、微量な有害物質による海洋汚染の現状を全地球的に把握することが可能である。

そこで、本節では、イカ肝臓の TBT および TPT 濃度から外洋海水中の濃度を推定し、地球規模での TBT および TPT の分布の特徴を PCBs と比較しながら考察する。

材料および方法

イカ：Fig. 1-1, 1-2 および 1-3 に示した77の観測点で漁獲した13種のイカを研究に用いた。これらの試料は、1989年から1993年に水産庁北海道区水産研究所、日本

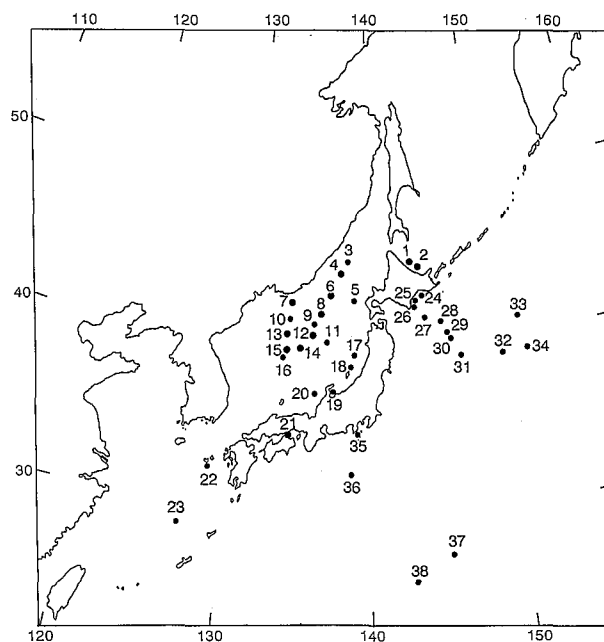


Fig. 1-1. Sampling stations in the waters around Japan.

海区水産研究所および遠洋水産研究所が実施した調査において漁獲され、分与されたものである。フランス西岸ビスケー湾における調査で漁獲されたイカは、フランス国立海洋開発研究所（IFREMER）の好意によって分与された。研究に用いたイカの種、漁獲水域および漁獲年を Table 1-1 にまとめて示した。瀬戸内海ではコウイカ、東シナ海ではコウイカおよびアオリイカ、フランス沖合の大西洋ではヨーロッパヤリイカも分析に用いた。しかし、この3種以外の大部分のイカは、ツメイカ科、テカギイカ科とアカイカ科に分類されるものであった。これ

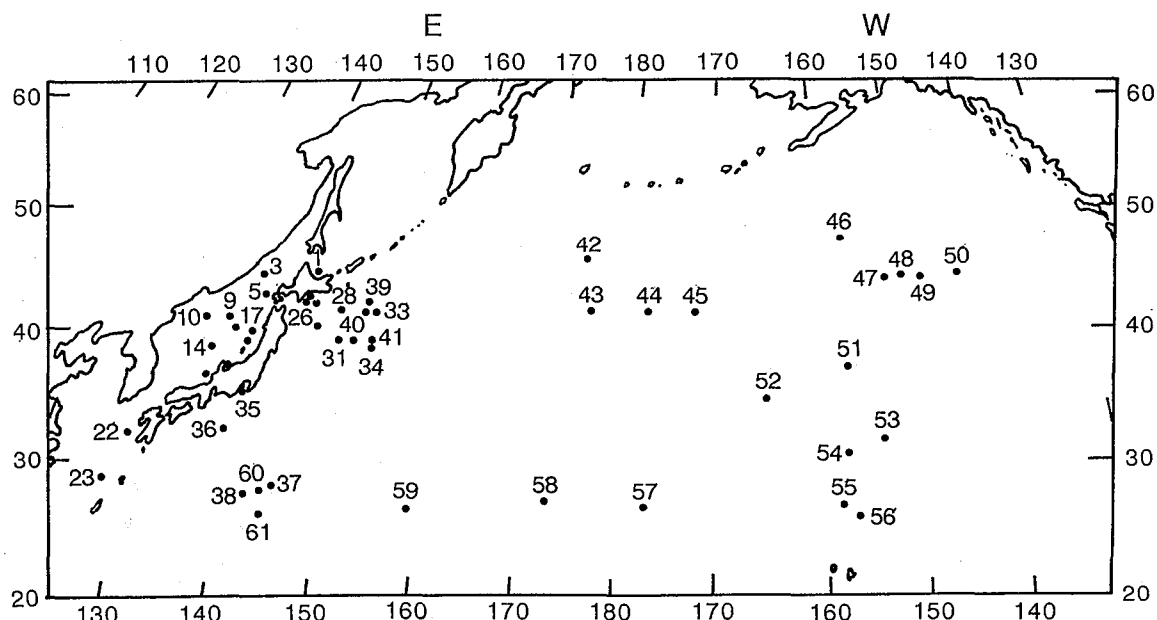


Fig. 1-2. Sampling stations in the North Pacific.

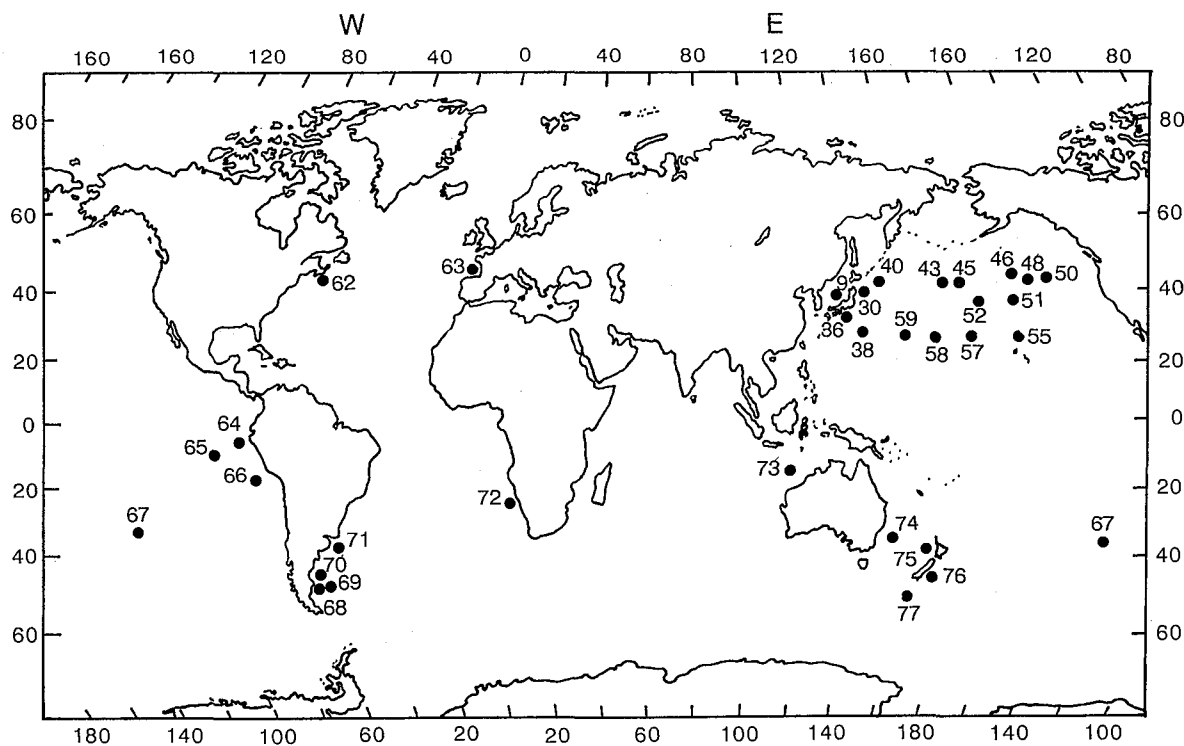


Fig. 1-3. Sampling stations in the world oceans.

らのイカは分析時まで -20°C で凍結保存された。

生物蓄積係数の推定：生物蓄積係数 (Bioaccumulation factor: BAF) を測定するために、日本海および北海道沖合の北西太平洋で漁獲されたスルメイカ肝臓とスルメイカの生息域と考えられる水深 50 m の海水の TBT および TPT 濃度を測定した。海水と肝臓濃度の比から BAF を計算した。

分析方法：イカ肝臓の TBT および TPT は高見他 (1987, 1988) の方法で分析した。すなわち、過剰な脂質を除くために試料を 2N KOH エタノールにより室温で冷餾化した後、不鹼化物を *n*-ヘキサン-酢酸エチル混液 (1:1, v/v) で抽出し、不鹼化物中の TBT および TPT は、陽および陰イオン交換樹脂で精製し、さらに、*n*-プロピルマグネシウムブロミドを用いてプロピル誘導体に変換した。TBT および TPT のプロピル誘導体は、キャピラリーカラム (Ultra 1, 30 m, $0.25\ \mu\text{m}$) を装備した FPD 検出器付きガスクロマトグラフ (GC-FPD, Shimadzu 15A) を用いて分離・定量した。本分析方法による TBT および TPT の定量限界は、それぞれ、1 ng/g および 2 ng/g であった。

一方、海水の TBT および TPT は、Harino *et al.* (1992) および張野・福島 (1994) の方法に準拠して分析した。すなわち、10 l の海水から 0.1% トロポロン含有ベンゼンを用いて抽出し、肝臓の有機スズ化合物の分析と同様に *n*-プロピルマグネシウムブロミドを用いてプロピル誘導体に変換した。この誘導体を Sep-Pak フロリ

ジルカラムにより精製し、GC 用試料とした。本法の定量限界は TBT で $0.2\ \text{ng/l}$ 、また、TPT で $0.4\ \text{ng/l}$ であった。

肝臓の PCBs は、脇本他 (1971) のアルカリ-鹼化法を修正した方法 (Tanabe *et al.* 1987) で分析した。すなわち、イカ肝臓を 1 N KOH アルコール溶液を用いて沸騰水浴中で 1 時間鹼化した後に PCBs を *n*-ヘキサンで抽出した。抽出物は濃硫酸およびシリカゲルクロマトグラフィーで精製し (Tanabe *et al.* 1987)、ECD 検出器付きガスクロマトグラフ (ECD-GC, Hewlett Packard, 5890) で分析した。GC の分析条件は、Tanabe *et al.* (1994) と同様であった。

結果および考察

1) 海水の TBT 濃度とイカ肝臓の TBT 濃度との関係

イカを採集した海域の TBT 濃度、イカ肝臓の TBT 濃度およびイカ肝臓における TBT の生物蓄積係数 (海水と肝臓の TBT 濃度の比) を Table 1-2 に示した。海水の TBT 濃度は、日本海で $1.0\sim 2.4\ \text{ng/l}$ 、北海道沖合の北西北太平洋で $1.0\sim 8.5\ \text{ng/l}$ であり、その濃度は沿岸域で高い傾向であった。

イカ肝臓の TBT 濃度は、日本海で $48\sim 85\ \text{ng/g}$ 、北西太平洋で $44\sim 243\ \text{ng/g}$ であった。海水およびイカ肝臓の TBT 濃度から計算された BAF は、18,000 から 101,000 の範囲であり、平均では 43,000 であった。この値は、本論文の第 3 章で測定した海産魚類の生物濃縮係数 (BCF) に比べ 2 倍から 10 倍 (平均で約 4 倍) 大きかった。

Table 1-1. Surveyed area and year, and squid species used in this research

St. No.		Area	Species	Year
1, 2		Sea of Okhotsk	<i>Todarodes pacificus</i> (スルメイカ)	1993
3-20		Sea of Japan	<i>Todarodes pacificus</i> (スルメイカ)	1991-1993
21		Seto Inland Sea	<i>Sepia esculenta</i> (コウイカ)	1993
22		East China Sea	<i>Sepioteuthis lessoniana</i> (アオリイカ)	1992
23		East China Sea	<i>Sepia esculenta</i> (コウイカ)	1992
24-29	North	Northwestern Area	<i>Todarodes pacificus</i> (スルメイカ)	1991-1992
30	Pacific	off Hokkaido	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1991
31-34			<i>Todarodes pacificus</i> (スルメイカ)	1992
39, 41			<i>Onychoteuthis borealijaponica</i> (ツメイカ)	1992
35		Northwestern Area	<i>Todarodes pacificus</i> (スルメイカ)	1991-1992
36		off Honshu	<i>Eucleoteuthis luminosa</i> (スジイカ)	1991
42-45		Northern Central Area	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1992-1993
46-50		Northeastern Area	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1992-1993
37, 38		Western Area	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1992
60, 61			<i>Sthenoteuthis aulaniensis</i> (トビイカ)	1993
57-59		Cetral Area	<i>Sthenoteuthis aulaniensis</i> (トビイカ)	1993
51-56		Eastern Area	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1992-1993
64, 66	South	Eastern Area	<i>Dosidicus gigas</i> (アメリカオオアカイカ)	1988, 1991
65	Pacific	off Peru	<i>Sthenoteuthis aulaniensis</i> (トビイカ)	1989
67		Central Area	<i>Dosidicus gigas</i> (アメリカオオアカイカ)	1989
74		Tasman Sea	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1989
75			<i>Netotodarus gouldi</i> (オーストラリアスルメイカ)	1991
76, 77		Southwestern Area off New Zealand	<i>Netotodarus sloani</i> (ニュージーランドスルメイカ)	1991-1992
62	North Atlantic	Northwestern Area off Canada	<i>Illex illecebrosus</i> (カナダイレックス)	1989
63		Biscay Bay	<i>Loligo vulgaris</i> (ヨーロッパヤリイカ)	1992
68-70	South	Scotia Sea	<i>Illex argentinus</i> (アルゼンチンイレックス)	1989, 1991-1992
71	Atlantic		<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1989
72		Southeastern Area off Angola	<i>Ommastrephes bartrami</i> (アカイカ)	1991
73	Indian Ocean	Eastern Area off Australia	<i>Sthenoteuthis aulaniensis</i> (トビイカ)	1991

10 lの海水を使用する本研究の分析法では海水中にTPTは検出されず、TPT濃度は検出限界の0.4 ng/l以下であると推察される。TPTはスルメイカ肝臓中にTBTと同レベルで検出されるので、イカ肝臓によるTPTのBAFは、75,000以上であると推察される。

2) 地球規模における肝臓TBT濃度の分布の特徴

日本近海、北太平洋および全球におけるイカ肝臓のTBT濃度の分布をFig. 1-4, 1-5および1-6にそれぞれ示した。TBT濃度は、オホーツク海で153~217 ng/g、日本海で28~219 ng/g、北海道沖合の北西北太平洋で33~256 ng/g、本州沖合の北西北太平洋で17~279 ng/g、

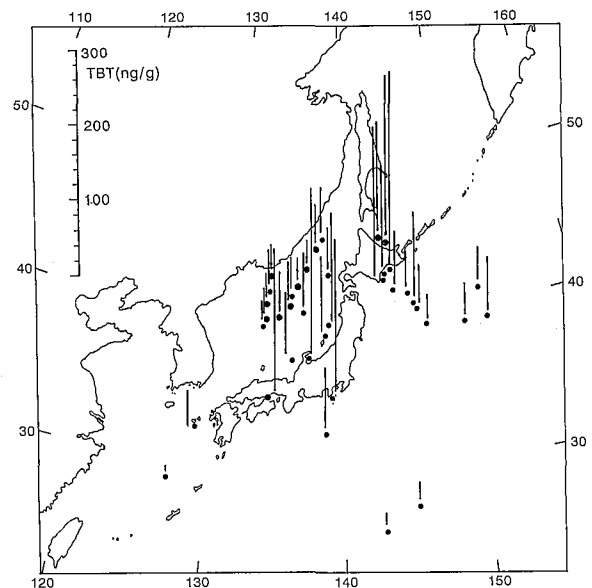
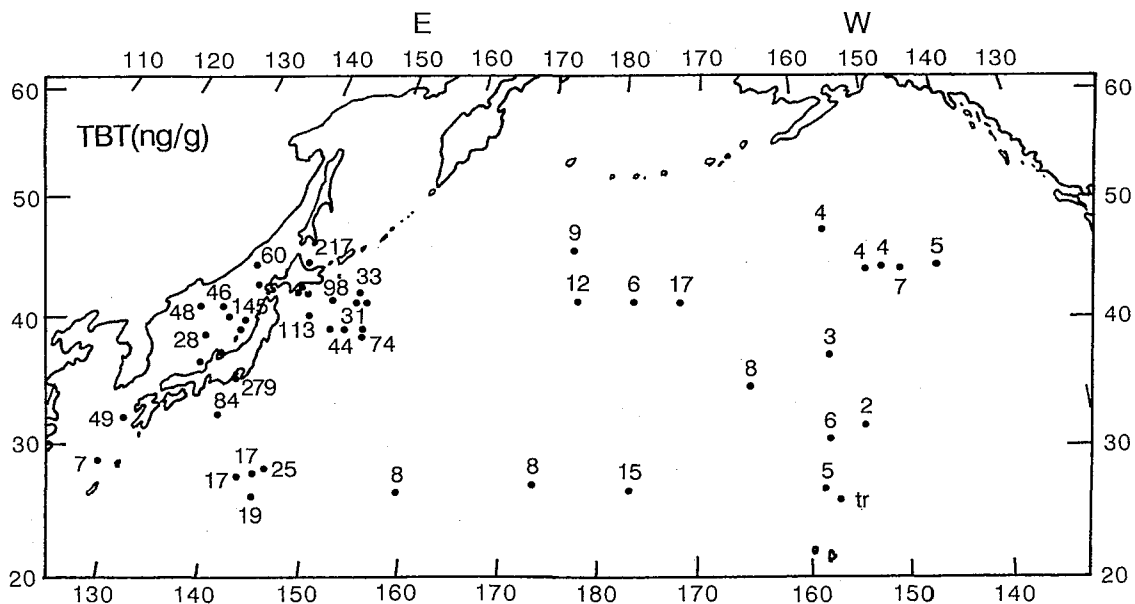
瀬戸内海で187 ng/g、また、東シナ海で7~49 ng/gであり、沖合域に比較して沿岸域で高い傾向であった。有機スズ化合物は船底塗料からの溶出や工場排水からの流入などにより海域に供給されると推察されるので、イカ肝臓のTBT濃度は、TBT汚染の実態をある程度反映しているものと考えられる。

北太平洋におけるTBT濃度 (Fig. 1-5) は、北太平洋西部域 (Sts. 37, 38, 60 および 61) では17~25 ng/g、また、北太平洋中部から東部域では、tr~8 ng/gであり、日本近海の28~279 ng/gに比較して低く、北太平洋の西部から東部に移動するに従ってその濃度が低下した。

Table 1-2. TBT concentrations in squid liver and seawater, and bioaccumulation factor

Area	Sample No.	TBT concentration		Bioaccumulation factor (BAF)
		Seawater (ng/l)	Squid liver (ng/g)	
Sea of Japan	1	2.0	85 ± 11	43,000
	2	1.8	60 ± 6	33,000
	3	1.0	70 ± 2	70,000
	4	2.4	48 ± 9	20,000
Northwest Pacific	1	2.4	243 ± 124	101,000
	2	8.5	209 ± 25	25,000
	3	2.1	136 ± 61	65,000
	4	1.0	48 ± 14	48,000
	5	1.6	44 ± 10	28,000
	6	2.4	44 ± 6	18,000
	7	2.2	51 ± 13	23,000

Mean and standard deviation of BAF was 43,000 and 25,000, respectively.

**Fig. 1-4.** TBT concentration in squid liver in the waters around Japan.**Fig. 1-5.** TBT concentration in squid liver in the North Pacific. Numbers in the figure exhibit the concentration.

全球における分布 (Fig. 1-6) をみると、TBT 濃度は日本近海で特に高く、次いでビスケー湾 (36 ng/g)、北太平洋 (tr~25 ng/g)、カナダ沖合の北西北大西洋 (18 ng/g) で高かった。南半球では、TBT 濃度は、アルゼンチン沖合の南西南大西洋で 8~18 ng/g、オーストラリア沖合のインド洋で 13 ng/g、ニュージーランド近海で tr~11 ng/g、アンゴラ沖合の南東南大西洋で 3 ng/g、また、ペルー沖合の南大西洋で tr~1 ng/g であった。北半球に比較すると南半球における濃度は低かった。船舶の航行も含めて経済活動が南半球に比較して北半球で活発

であると考え、有機スズ化合物の流入も北半球で大きく、海水あるいはイカ肝臓の TBT 濃度が北半球で高いことは当然の結果であると考えられる。

富山湾で漁獲された12種および北海道沖合の北西北太平洋で漁獲された4種のイカ肝臓の TBT および TPT を測定し、肝臓の TBT および TPT 濃度の種による差異を検討した山田他 (未発表) による研究では、肝臓の TBT および TPT 濃度の種による差は、ツメイカ科、テカギイカ科およびアカイカ科のイカ類では小さいことが明らかであった。すなわち、TBT および TPT の BAF の

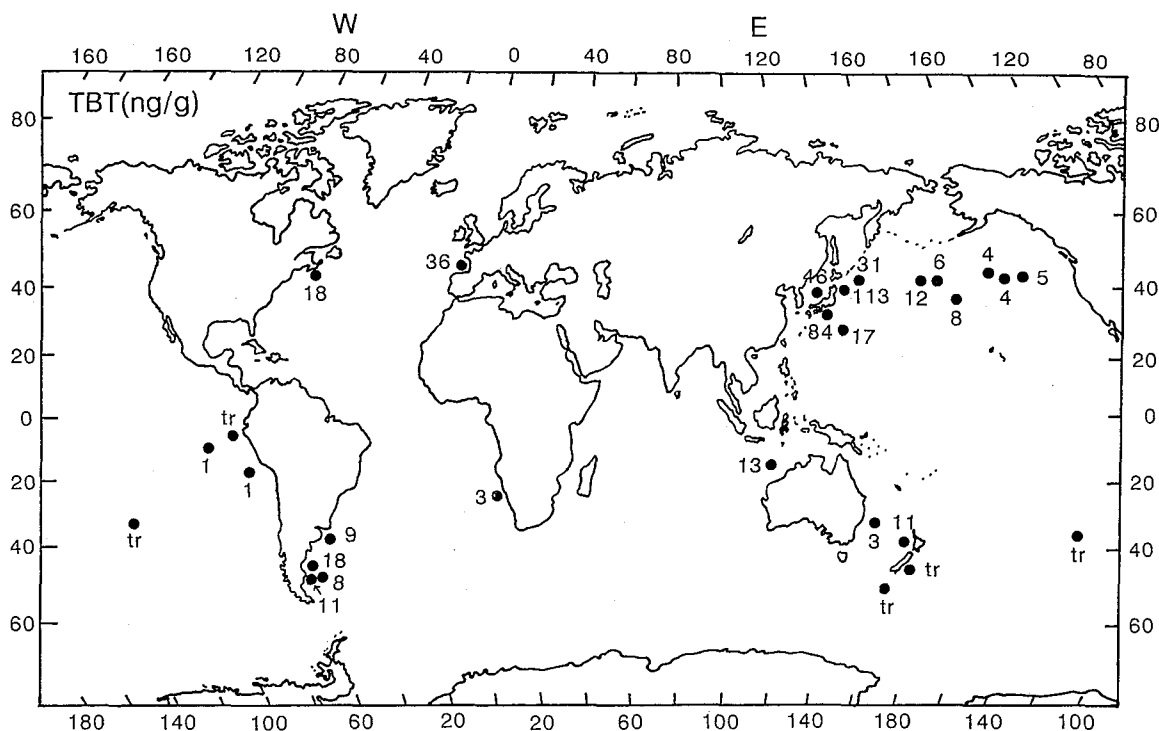


Fig. 1-6. TBT concentration in squid liver in the world oceans. Numbers in the figure exhibit the concentration.

種による差異は、これらの分類群のイカ類では小さいことが示唆された。

TBT の BAF を 43,000 とすると、海水の TBT 濃度は、日本近海で 0.1~5.8 ng/l、北半球で 0.8 ng/l 以下、また、南半球で 0.4 ng/l 以下と推察され、外洋水の TBT 濃度は沿岸に近い 2, 3 の測定値を除外すると、一般的には、新腹足目の巻貝に生殖障害を引き起こす濃度、2 ng/l (Gibbs *et al.* 1986, 1987) よりは低かった。

3) 地球規模における肝臓 TPT 濃度の分布の特徴

日本近海、北太平洋および全球における肝臓中 TPT 濃度の分布を Fig.1-7, 1-8 および 1-9 にそれぞれ示した。オホーツク海のイカからは TPT が検出されなかったが、日本海では 8~312 ng/g、北海道沖合の北西北太平洋では 30~229 ng/g、本州沖合では、168~428 ng/g、瀬戸内海で 101 ng/g、また、東シナ海で 25~252 ng/g であった。TPT 濃度は、本州沖合の北西北太平洋、瀬戸内海および東シナ海で高く、TBT 濃度が高かった北海道沖合の北西北太平洋では低かった。特に本州沖合の西部北太平洋 (Sts 37 および 38) で高く、その濃度は 309~519 ng/g であった。すなわち、日本近海における TPT の分布は、TBT とは異なっていた。

北太平洋のイカ肝臓の TPT 濃度は、日本近海において高いが、北太平洋の中央部あるいは東部水域ではその濃度は著しく低かった。

全球について見ると、TPT 濃度は、ビスケー湾で 85

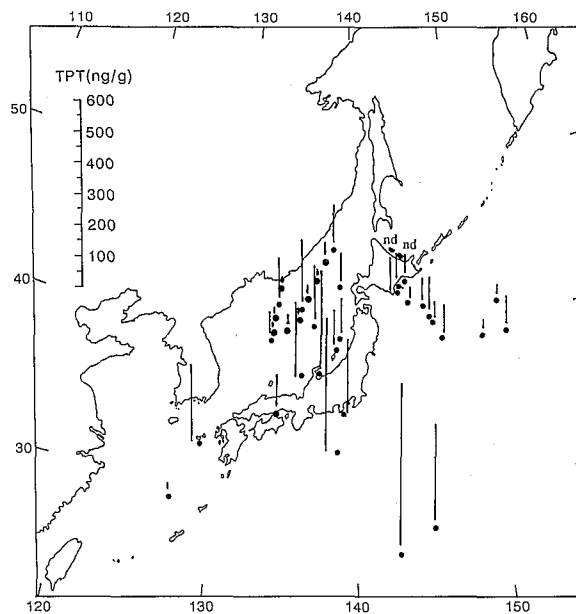


Fig. 1-7. TPT concentration in squid liver in the waters around Japan.

ng/g であるのに対し、北太平洋東部海域、カナダ沖合および南半球の水域において TPT は検出されなかった。すなわち、TPT の汚染は北半球で特に著しいことが明らかであった。

イカ肝臓の TPT 濃度は、日本近海においては TBT 濃度とほぼ同レベルであったが、その他の水域では TPT

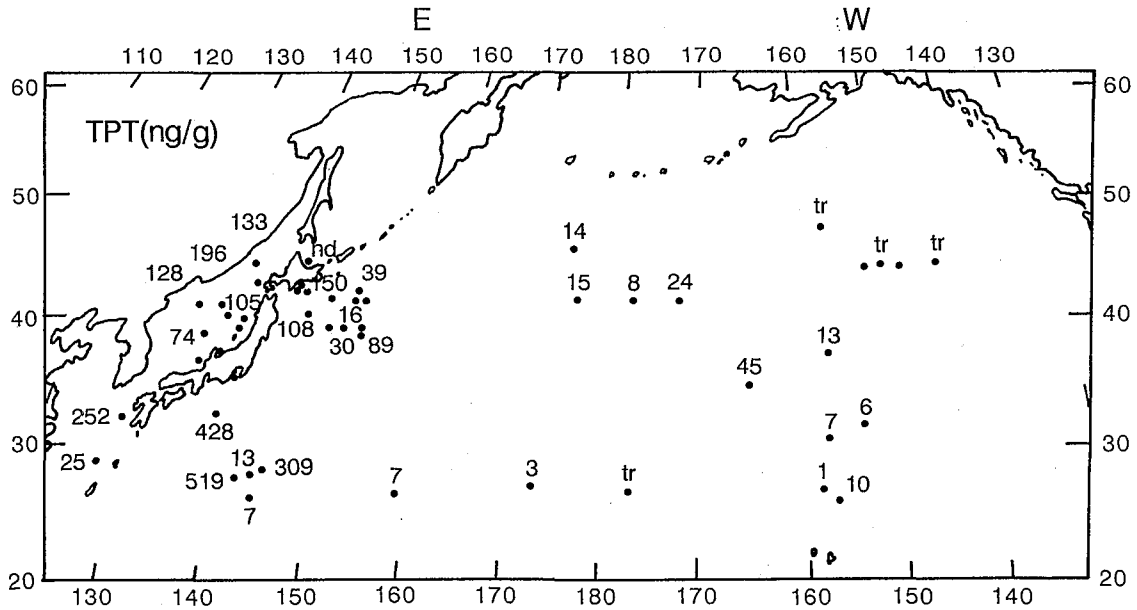


Fig. 1-8. TPT concentration in squid liver in the North Pacific. Numbers in the figure exhibit the concentration.

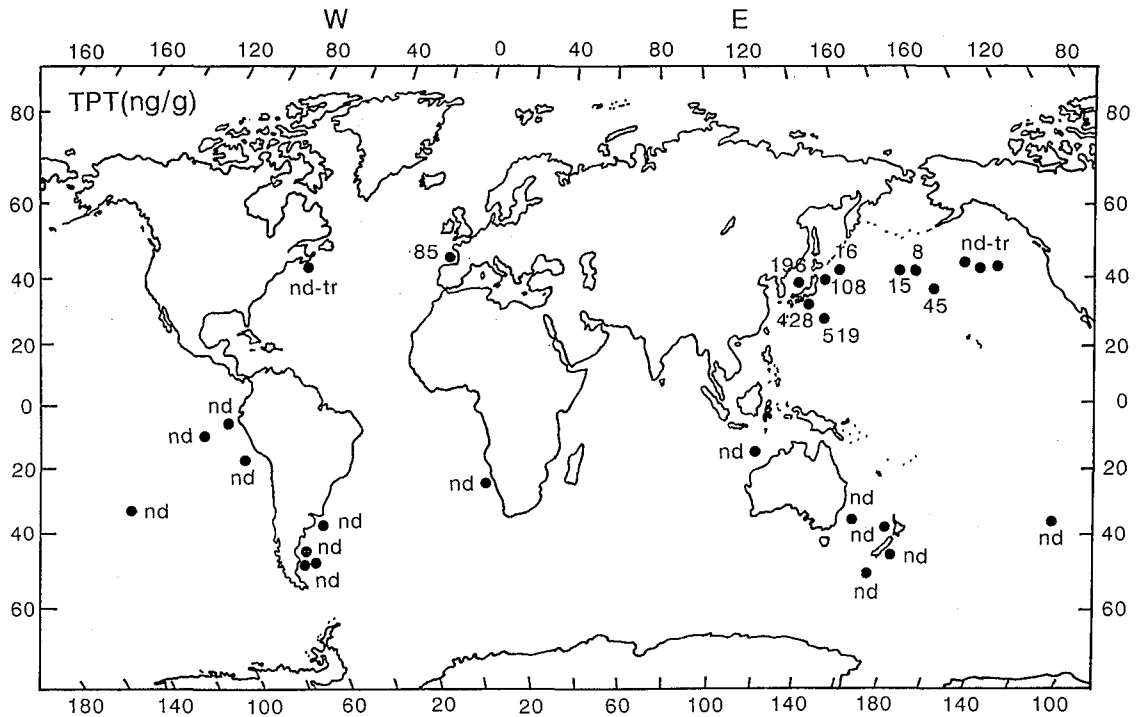


Fig. 1-9. TPT concentration in squid liver in the world oceans. Numbers in the figure exhibit the concentration.

濃度は TBT に比較して低かった。わが国では、TPT も船底塗料の殺生物剤として使用された経緯から判断すると、イカ肝臓の TPT 濃度がわが国近海で高いことは当然であり、イカ肝臓の TPT 濃度はある程度 TPT 化合物による海洋汚染の実態を反映しているものと推察される。イカ肝臓における TPT の BAF は TBT のそれに比較して大きく、したがって、海水の TPT 濃度は TBT に

比較して低いことが明らかである。

4) 地球規模における肝臓 ΣPCBs 濃度の分布の特徴

全球において漁獲されたイカ肝臓中の ΣPCBs 濃度を Fig. 1-10 に示した。ペルー、アルゼンチンおよびニュージーランド沖合などの南半球における ΣPCBs 濃度は、検出限界 (10 ng/g) 以下から 25 ng/g であった。一方、北半球の ΣPCBs 濃度は、日本近海で 50~310 ng/g、カ

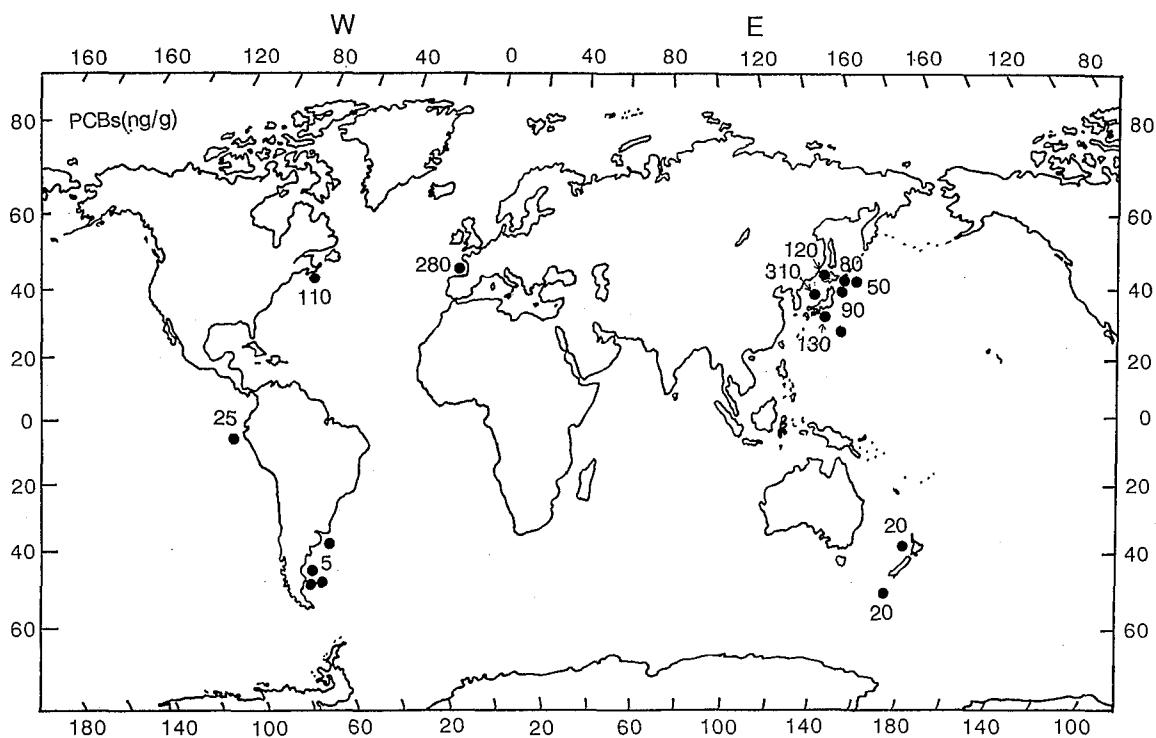


Fig. 1-10. Σ PCBs concentration in squid liver in the world oceans. Numbers in the figure exhibit the concentration.

ナダ沖合の北西北大西洋で 110 ng/g, また, フランス沖合のビスケー湾で 280 ng/g であった。ΣPCBs 濃度も TBT や TPT と同様に南半球に比較して北半球で高かった。この傾向は Iwata *et al.* (1993) による海水の ΣPCBs 濃度の分布と同様な傾向であり, イカ肝臓の ΣPCBs 濃度は海洋汚染の実態が反映されていることが示唆された。

5) 全球における TBT, TPT および PCBs の分布の差異

TBT, TPT および PCBs ともにイカ肝臓の濃度は南半球に比較していずれも北半球で高かった。その濃度の差は, PCBs で 60 倍であるのに対し, 有機スズ化合物濃度の最大較差は, TBT で 279 倍, また, TPT で 260 倍であった。すなわち, 北半球と南半球の濃度差は, PCBs の場合に比較して TBT や TPT で大きかった。

有害物質の地球上での分布は, 有害物質の製造・使用量や使用期間などの使用実態および大気への拡散や分解など有害物質の環境での挙動等多くの要因によって支配される。したがって, ここでは, PCBs と TBT および TPT について使用実態や挙動を比較してそれらの分布の相違を考察する。

UNEP, ILO and WHO (1993) の報告によれば, PCBs は 1930 年代から製造され, 生産量は着実に増加し, 年間生産量は 1970 年代に最大に達した。アメリカ, フランス, イギリス, 日本, スペインおよびイタリアにおける 1980 年代までの総生産量は 1,054,800 t である。

わが国では, 「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」で 1972 年に第 1 種特定化学物質に指定され, その製造・使用が禁止された。

有機スズ化合物は, 1950 年代に製造が開始され, 1965 年からその生産量は次第に増加し, 1985 年の世界の年間生産量は 36,000 t である。1950 年から 1985 年までの総生産量は, 310,000 t と推定されている。有機スズ化合物の総生産量に対する TBT のようなトリ体の有機スズ化合物の占める割合は 25~30% であると報告されている。したがって, 35 年間におけるトリ体の有機スズ化合物の生産量は 78,000~93,000 t と推定され, PCBs の生産量に比較して 1/10 以下である。

PCBs は, 難燃剤, 熱媒体, プラスチックの可塑剤やノーカーボン紙等として主として陸上において使用されてきた。一方, 有機スズ化合物は船底塗料の殺生物剤として主として海洋環境において使用され, 有機スズ化合物が直接海水に放出される点において PCBs の海洋への流入経路とは異なる。

大気を経由する有害物質の海洋への流入は, 有害物質が短期間に地球全体に分布するためには重要な経路である (UNEP, ILO and WHO 1993, Iwata *et al.* 1993)。しかし, 有機スズ化合物の大気を通じた輸送の実態は明らかでない。

有機スズ化合物と PCBs の南半球および北半球における濃度の差異は, 使用実態の相違によると考えられる。

すなわち、有機スズ化合物は PCBs に比較して使用量が少なく、かつ、使用期間も短いために PCBs のように南半球にまで分布していないと推察される。

要 約

全地球的な有機スズ化合物の分布状況に関する知見は世界的に見て最初のものであり、それらは以下のように要約される。

- ① イカ肝臓の TBT および TPT 濃度は沖合域に比較して沿岸域で高かった。また、その濃度を北半球と南半球で比較すると、北半球で特に高かった。
- ② TBT および TPT 濃度の北半球と南半球における濃度差は、PCBs に比較すると大きかった。PCBs は TBT や TPT に比較して多量に、また長期間使用されたために南半球にも高濃度で分布すると考えられた。
- ③ TBT のイカ肝臓の濃度と BAF から推察された海水中 TBT 濃度は、日本近海で 0.1~5.8 ng/l、北半球の外洋水で tr~0.8 ng/l および南半球の外洋水で tr~0.4 ng/l と推定された。

1.2 油壺湾における有機スズ化合物の分布と挙動

海域に流入した有害物質は、海水中に溶存するとともに一部分は懸濁物質に吸着したり、あるいは植物プランクトンによる吸収・蓄積を通して懸濁物質中に移行する。懸濁物質に取り込まれた有害物質は、沈降して底泥に堆積する。底泥に堆積した有害物質は、底泥からの溶出により海水中に回帰することも考えられる。一方、有害物質は、海水や底泥中に生息する微生物によって分解を受け、無害化される。このような海域環境における有害物質の挙動は、水生生物に及ぼす有害性とも密接に関連し、さらに、有害物質汚染の対策の検討においても重要、かつ有益な情報である。

有害物質の水系における挙動は、有害物質の物理化学的な特性、特に水への溶解度やオクタノール・水分配係数 (Pow) によって著しく異なる。例えば、logPow が 2~4 の有害物質は水中に溶存状態で存在するために水汚染物質として機能し、logPow が小さくなると同時に蒸気圧も高くなることが多く、大気に揮散する。逆に、logPow が 4~6 の有害物質は懸濁物質との親和性が高く、また、脂溶性も高くなるために底泥や生物に蓄積される。さらに Pow が大きくなると反応性や極性が小さくなるために懸濁物質に吸着することなく有害物質そのものが微粒子となり底泥に蓄積すると言われている (田辺・立川 1981)。水汚染型有害物質は代謝分解され易く、水生生物に対して急性毒性的に作用する物質が多く、短期的あるいは中期的影響が憂慮される物質が多いのに対し、底泥・生物汚染型有害物質は、代謝分解が遅

Table 1-3. log Pow of several organotin compounds

Organotin compound	log Pow
TBTO	3.3
TBTCl	1.9
TBTAc	2.3
TBTF	2.3
TBTBr	1.7
TPTCl	2.0
TPTAc	2.5

いために急性的な毒性よりも慢性的かつ長期的な影響が憂慮される (山田 1994)。

ここで取り扱う有機スズ化合物は、Table 1-3 に示したように log Pow は 1.7~3.3 である。しかし、水中では TBT の一部分がイオン化して存在することが示唆され (Laughlin *et al.* 1986b)、上で述べた挙動と Pow との関係は必ずしも一致せず、単に Pow によって挙動が推察できないと考えられる。したがって、本節では、多数のプレジャーボートが係留されている油壺湾とその隣接海域において主として海水の TBT 濃度の季節変動や海域環境における分布様式を検討してその挙動を解明する。

調査水域の概要

三浦半島の西岸に位置する湾 (小網代湾、油壺湾および諸磯湾) とそれらの沖合域を研究対象水域に選定した。Fig. 1-11 に示したように、これらの湾は水深が 10 m 以下の浅海であるが、500 m 沖合では水深が 10 m となり相模湾につながっている。

Fig. 1-12 には、これらの湾におけるプレジャーボートの係留場所 (図の斜線の部分) およびヨットサービス並びに小造船所の位置を示した。小網代湾の湾奥に約 50 隻、油壺湾に約 100 隻、また、諸磯湾の湾奥に約 120 隻のプレジャーボートが係留されている。さらに陸上にも多数のプレジャーボートが保管されているが、その数は不明である。

調査研究方法

1) 調査方法

TBT の水平分布: Fig. 1-11 に示した K1~K5, A1~A6 および M1~M2 の観測点において夏季 (1990年 7月) および冬季 (1991年 1月) の 2 回、バンドーン採水器を用い表層、10 m 層および底層から採水した。同時にスミスマッキンタイヤー型採泥器を用いて同じ観測点で底泥を採取した。海水および底泥の TBT 濃度および底泥の炭素および窒素濃度も併せて測定した。有機スズ測定用の底泥は、遠心分離 (3000 rpm, 15 min) して間隙水を除去し、分析時まで冷凍庫 (-20°C) で保存した。海水 TBT 濃度の季節および経年的変化: K1, A1, A2, M1 および M2 の観測点において海水の TBT 濃度の季

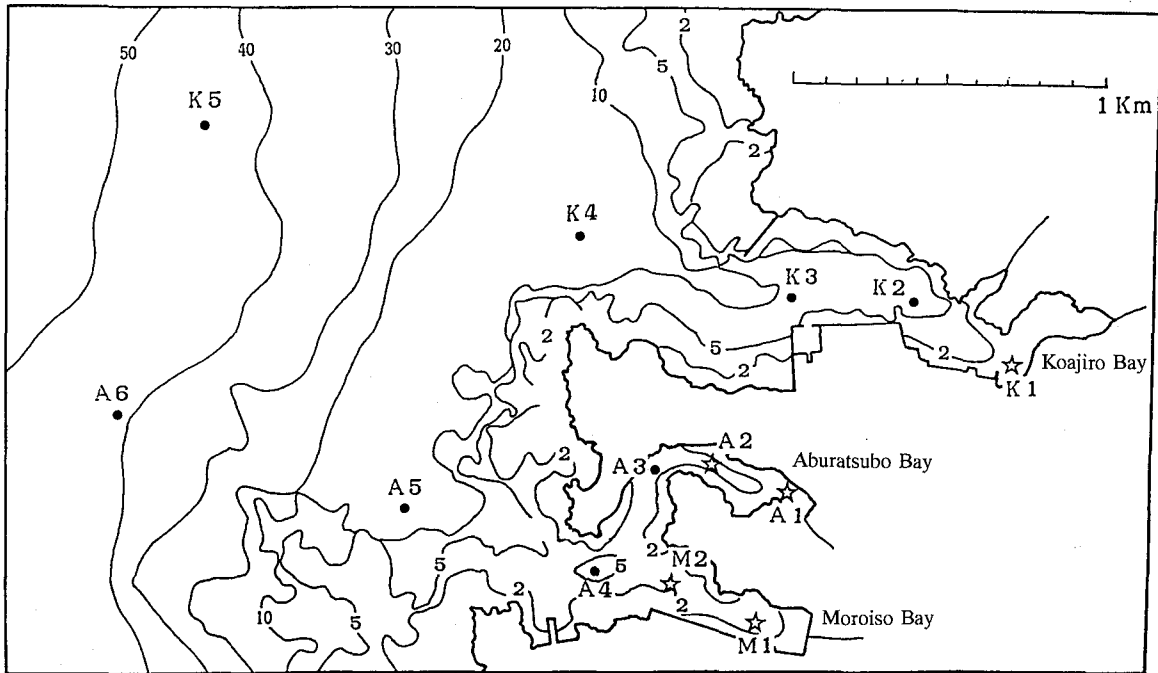


Fig. 1-11. Depth and the location of stations in Koajiro, Aburatsubo, and Moroiso Bay. The survey was repeated once a month at the stations marked with star (☆).

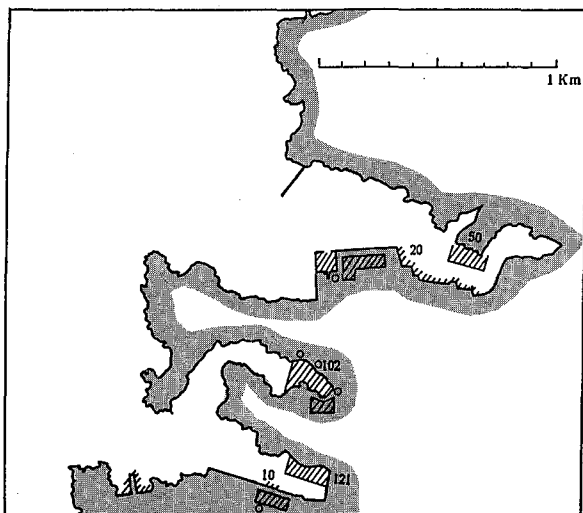


Fig. 1-12. Location of marinas and the number of pleasure boat. The open circle exhibit the marinas.

節変化を検討するために、1990年6月から1991年6月まで毎月バンドーン採水器を用いて表層および底層の海水を採集し、TBTの分析に供した。海水のTBT濃度の経年変化を把握するために、同じ観測点で1992~1994年まで年数回の調査を実施した。

A1およびA2の観測点では海水をガラス繊維ろ紙(Whatman GF/C)でろ過し、ろ液と懸濁物質のTBTを測定し、それらの濃度の季節変化を検討した。また、同時に懸濁物量および懸濁物質のクロロフィルa量も併

せて測定した。懸濁物質は、有機スズ化合物やクロロフィルの分析時まで冷凍庫(-20°C)に保存した。沈降物および底泥間隙水の採集：沈降物捕集器として口径77.6 mm、高さ240 mmの広口ポリ瓶を用い、これをA1およびA4の海底直上1 m層に24時間設置し、沈降物を捕集した。この調査を1990年8月、1991年1月および1992年8月の3回実施した。8本のポリ瓶に捕集された沈降物を合わせてよく攪拌・混合しながらろ過し、沈降物をガラス繊維ろ紙上に捕集した。ろ紙上に捕集された沈降物の重量を測定し、沈降物捕集器の捕集表面積および捕集時間を補正して単位面積および単位時間当たりの沈降量を求めた。沈降物のTBT濃度と先に測定した沈降量から底泥へのTBTの沈降量を計算した。有機スズ化合物測定用の沈降物試料は、分析時まで-20°Cで凍結保存した。

自重力式採泥器(コアサンプラー)を用いて採集した泥柱を各深度毎に区分し、各層の底泥試料を遠心分離(3000 rpm, 15 min)して間隙水を採集した。底泥間隙水はガラス繊維ろ紙(Whatman GF/F)でろ過した後に直ちにTBT濃度を分析した。

2) 試料の分析方法

海水の有機スズ化合物の分析：海水のTBTは、Harino *et al.* (1992)によって報告された方法に準拠して分析した。すなわち、海水1000 mlにNaCl (100 g) および濃塩酸 (5 ml) を添加し、極性の高いMBTおよびDBTも分析するために0.1%トロポロン含有ベンゼン 50 mlを用いて2回抽出した。抽出液をn-プロピルマグネシ

ウムプロミドでプロピル化処理をした後に TBT のプロピル誘導体を *n*-ヘキサンで抽出し, Sep-Pak フロリジルカラムで精製した後に GC-FPD で測定した。

懸濁物および底泥の TBT の分析も張野・福島 (1994) の方法に準拠して行った。すなわち, 試料 10 g に 1N HCl メタノール 50 ml および 0.1% トロポロン含有ベンゼン 50 ml を添加した後によく攪拌した。有機層に 30% NaCl 溶液 350 ml を加えて振とうし, ベンゼン層を分取して TBT を抽出した。TBT 抽出物は上で述べた海水試料と同様にプロピル化, 精製および濃縮して GC 用試料とした。テトラブチルスズを内部標準物質とし, 内部標準法で定量した。

底泥間隙水の TBT は, Muller (1987) の方法に従って分析した。トロポロンで処理した Sep-Pak C₁₈ カラム上に有機スズ化合物を捕集した後にジエチルエーテルで溶出した。溶出液を海水中有機スズ化合物の分析と同様にプロピル化処理した後に Sep-Pak フロリジルカラムを用いて精製, 濃縮して GC 用試料とした。

間隙水を遠心分離した底泥を乾燥・粉碎し, CN コーダー (Yanaco MT700) で全炭素および窒素を測定した。

懸濁物質のクロロフィル濃度は, Suzuki and Ishimaru (1990) の方法に従って *N*, *N*-ジメチルホルムアミドを

用いて抽出した後に蛍光光度計を用いて定量した。また, 沈降物量は乾燥重量を求めた。

結果および考察

1) 有機スズ化合物の水平分布

海水: 小網代湾, 油壺湾および諸磯湾の夏季と冬季の海水中ブチルスズ化合物濃度を Fig. 1-13, 1-14 および 1-15 に示した。

夏季の調査では, 小網代湾の K 定線の TBT 濃度は, 沖合の K5 における 48 ng/l からマリーナに近い K2 の 84 ng/l まで変化した。小網代湾では, 湾口と湾奥における TBT 濃度の差は大きくないが, 湾奥域で高い傾向が認められた。油壺湾の A および諸磯湾の M の定線では, TBT 濃度は A6 の 20 ng/l から M1 の 381 ng/l, A1 の 1,170 ng/l まで変化した。沖合域に比較して湾奥の汚染源に近い水域で著しく高かった。これら 3 水域の TBT 濃度を比較すると, TBT 濃度は油壺湾で最も高く, 諸磯湾, 小網代湾の順に TBT 濃度は低下した。係留されているプレジャーボートの数は小網代湾で少なく, TBT 汚染は他の 2 水域に比較して小さい傾向である。また, 小網代湾および諸磯湾は油壺湾に比較して隣接海域との海水交換が良いと推察される。したがって, 閉鎖的な油壺湾では

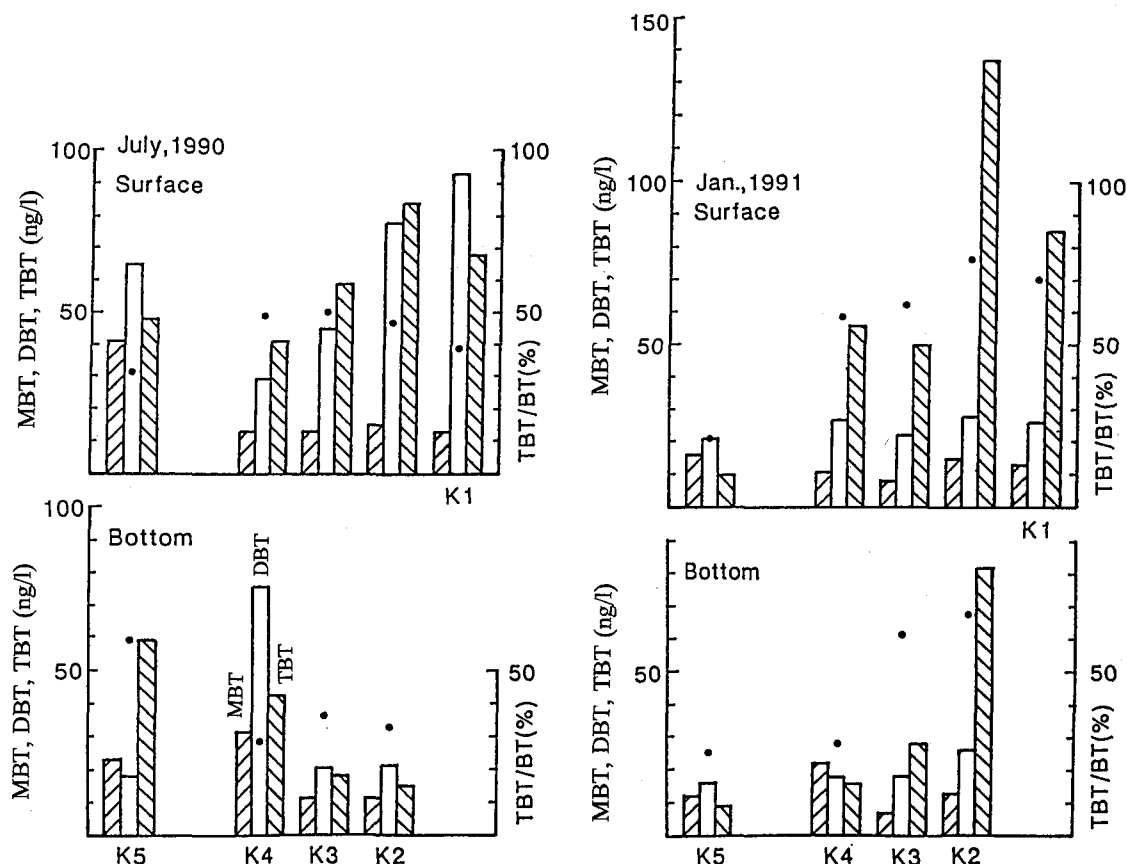


Fig. 1-13. Concentrations of MBT, DBT and TBT in seawater at K stations. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

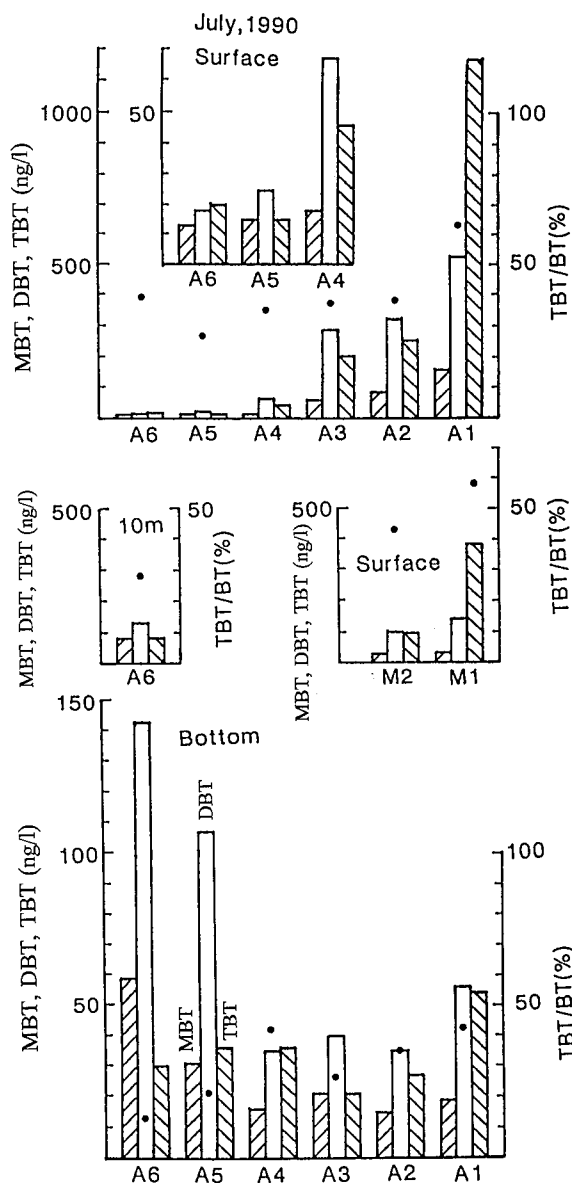


Fig. 1-14. Concentrations of MBT, DBT and TBT in seawater at A and M stations. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

ボートからの TBT の溶出量が多く、また溶出した TBT が容易に隣接海域に拡散しないために特に海水の TBT 濃度が他の 2 水域に比較して高いことが明らかである。

TBT の分解物質の DBT および MBT も検出された。DBT および MBT 濃度には TBT 濃度に認められたような明確な地域的な差はなかった。ブチルスズ化合物 (MBT, DBT と TBT の合計) に対する TBT の割合 (TBT/BT 比) も沖合域に比較して湾奥で高く、TBT 濃度の地域的な変化と同様な傾向であった。TBT 濃度や TBT/BT 比の地域的な変化から、湾奥域で海域に流入した TBT が分解を受けながら沖合域に拡散していることが示唆される。

冬季の調査では、TBT 濃度が夏季に比較して低い

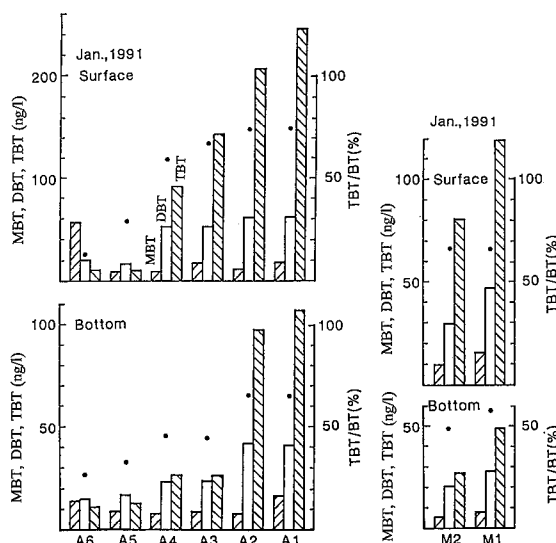


Fig. 1-15. Concentrations of MBT, DBT and TBT in seawater at A and M stations. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

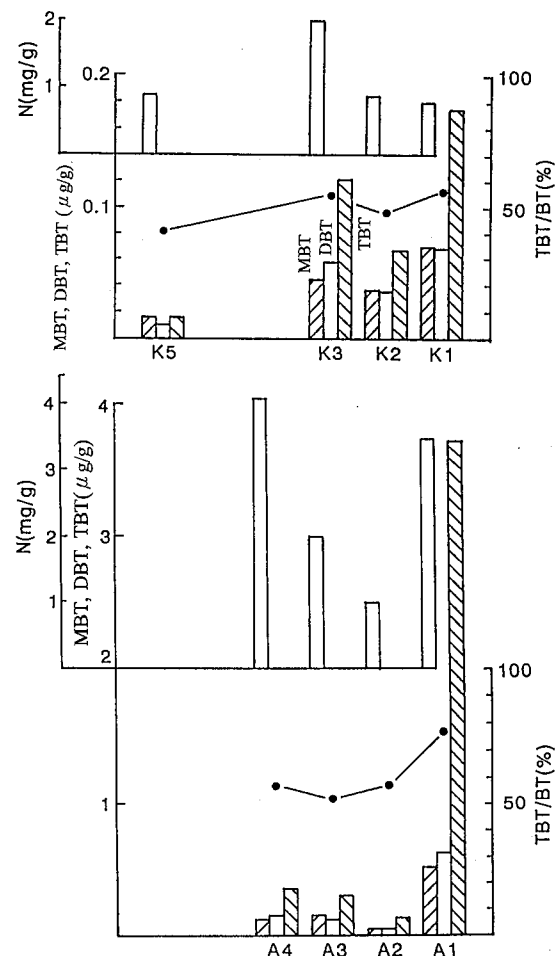


Fig. 1-16. Concentrations of MBT, DBT, TBT and nitrogen in sediments at K stations. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

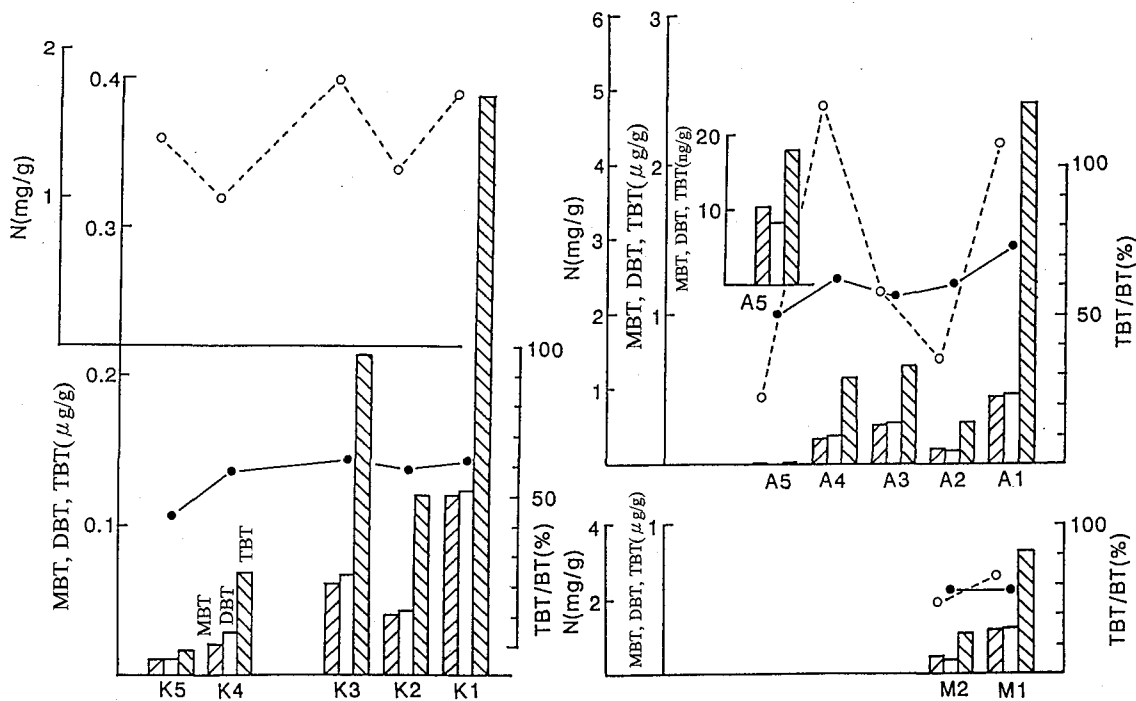


Fig. 1-17. Concentrations of MBT, DBT, TBT and nitrogen in sediments at A and M stations. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

が、地域的な分布パターンは夏季と同様であった。

底層水の TBT 濃度は表層水に比較して低かった。また、底層水の TBT 濃度の水平分布は、夏季の成層期の表層水に認められるような明確な地域的な変化が認められなかった。しかし、冬季の循環期では、底層水の TBT 濃度は沖合域に比較して湾奥域で高い傾向であった。すなわち、循環期には、TBT 濃度の高い表層水の影響が底層にも及び、底層水中の TBT 濃度の分布に影響することが考えられる。

底泥：底泥の有機スズ化合物の水平分布を Fig. 1-16 および 1-17 に示した。底泥の TBT 濃度も海水と同様に沖合域より湾奥域で高く、特に A1 の底泥の TBT 濃度は冬季の調査で 2.4 μg/g であり、M1 の 0.8 μg/g および K1 の 0.4 μg/g に比較して著しく高い。また、海水の場合と同様に TBT/BT 比も沖合域に比較して汚染源に近い湾奥で高かった。

底泥の TBT 濃度は、Fig. 1-18 に示したように A1 の観測点のデータを除けば、底泥の全窒素濃度と高い相関が認められた。すなわち、TBT は有機物が堆積しやすい海域に沈降・堆積していることが示唆される。A1 の観測点では、特に多量の TBT を含有する懸濁物質が堆積しているものと推察される。

Fig. 1-19 には底泥への TBT の見かけの吸着係数（底泥中の TBT 濃度 (mg/kg) / 底層水中の TBT 濃度 (mg/l) の比）と底泥の全窒素濃度との関係について示した。底泥への TBT の見かけの吸着係数は、 $10^2 \sim 10^4$ であり、

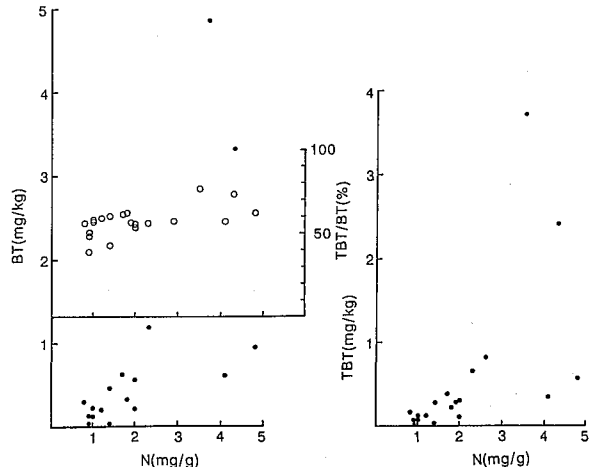


Fig. 1-18. The relationships between butyltin and nitrogen concentration in sediments.

全窒素濃度との相関が良く、全窒素濃度の高い湾奥水域において大きかった。この結果から、底泥への TBT の供給に関して、①有機物の多い底泥（全窒素濃度が高い）は有機物の少ない砂質の底質（全窒素濃度が低い）に比較して TBT 吸着能力が高い、あるいは②懸濁物質に取り込まれた TBT が懸濁物質とともに底泥に沈降することにより結果的に有機物の多い底泥（全窒素濃度が高い）で TBT 濃度が高くなるという 2 つの可能性が考えられる。

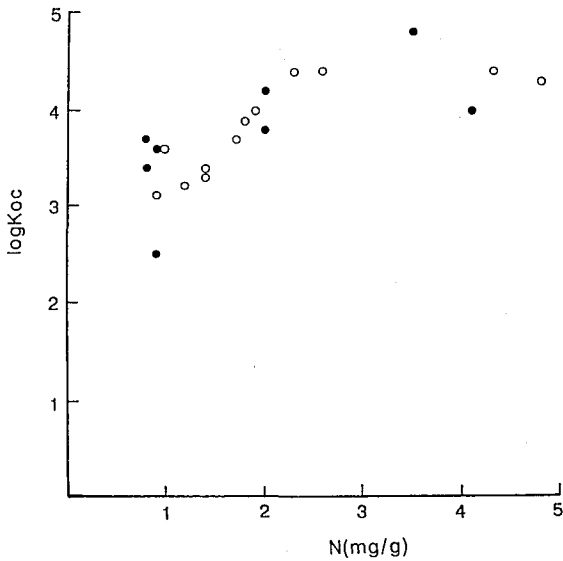


Fig. 1-19. The relationships between the adsorption coefficient (Koc) and nitrogen concentration in sediments. ●, Jul. 1990; ○, Jan. 1991.

2) 海水及び懸濁物質中の有機スズ化合物の季節変化
 海水：油壺湾の A1, A2, 諸磯湾の M1, M2 および小網代湾の K1 の各観測点における海水有機スズ化合物濃度の経時的な変化を Fig. 1-20 および 1-21 に示した。いずれの観測点においてもブチルスズ化合物 (MBT, DBT, TBT の合計) の中で TBT の占める割合は、底層水に比較して表層水で大きかった。したがって、水深数メートルの海域においても表層と底層で有機スズ化合物の組成が変化していることが示唆された。

油壺湾奥の A1 の表層水では、TBT 濃度は、7 月の 1,200 ng/l から 1 月の 250 ng/l まで変化し、その差は 5 倍にも達した。A1 と比較的類似した季節変動は、A2 および M1 においても認められた。すなわち、汚染源に近い定点の表層水の TBT 濃度は、初夏に高く秋から冬に次第に低下する傾向が認められたが、小網代湾の K1 および諸磯湾の M2 ではこのような季節変動が認められなかった。

海水の TBT 濃度は、海水への TBT の流入、光分解や

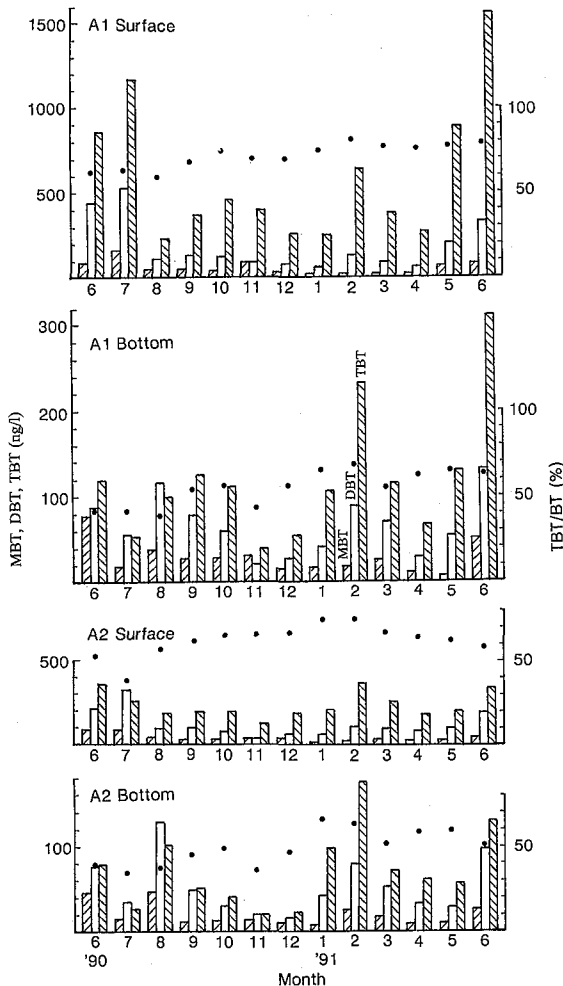


Fig. 1-20. Seasonal changes of MBT, DBT and TBT concentrations in seawater at A1 and A2. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

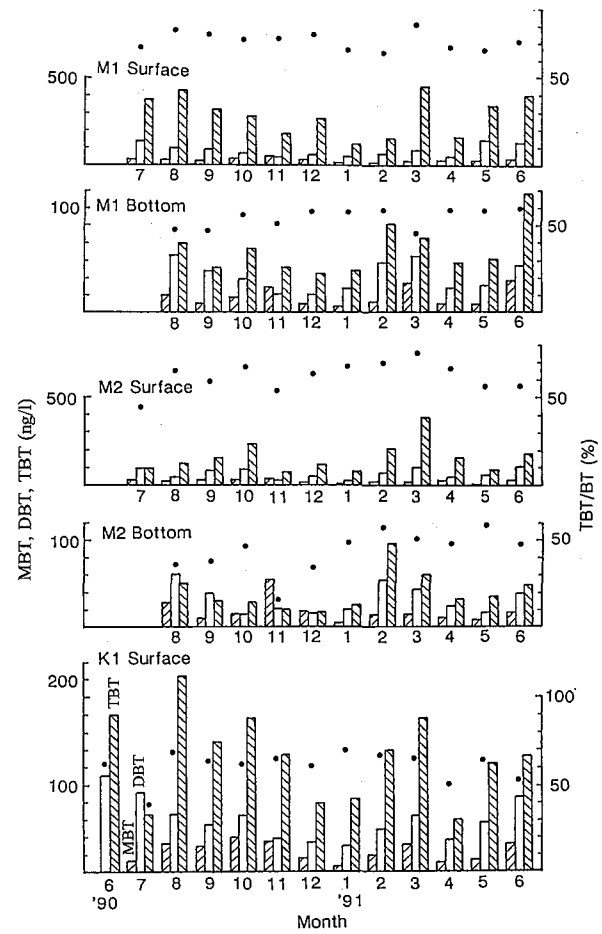


Fig. 1-21. Seasonal changes of MBT, DBT and TBT concentrations in seawater at M1, M2 and K1. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

微生物分解など海水中的の変化や潮汐による移動・拡散などの多くの要因によって変動する。三浦半島西岸のマリーナでは、プレジャーボートの塗装作業がマリーナレジャーシーズン前の春から初夏にかけて行われる。Langston *et al.* (1987) がイギリスのプールハーバーで海水の TBT 濃度が船底塗料の塗装時期に高くなると報告しているが、油壺湾や諸磯湾の海水の TBT 濃度の季節変動も船底の塗装作業が密接に関連していることが示唆された。

懸濁物質：ガラス繊維紙に捕集した懸濁物質の有機スズ化合物濃度の季節変化を Fig. 1-22 および 1-23 に示した。海水と同様に有機スズ化合物の主成分は TBT であり、A1 の表層では、6月の 142 ng/l から9月の 28 ng/l まで変化し、その差は 5 倍に達した。A1 の観測点では 11月に 111 ng/l の高い TBT 濃度が観測されたが、A1 および A2 の表層水では、懸濁物質中の TBT 濃度は春から初春にかけて高く、秋から冬にかけて低くなる海水中の TBT 濃度の変化と同様な傾向を示した。

底層水の懸濁物質中の有機スズ化合物濃度は、表層に比較して低く、また、表層水に比較すると有機スズ化合物の中で MBT の占める割合が大きい。すなわち、底層懸濁物質の有機スズ化合物は表層水に比較してより分解されていることが推察される。A1 の11月や A2 の8月のような例外はあるが、表層と底層の懸濁物質中の有機スズ化合物濃度は相互に関連が認められ、表層水の濃度の高い季節には底層水の濃度も高い傾向であった。

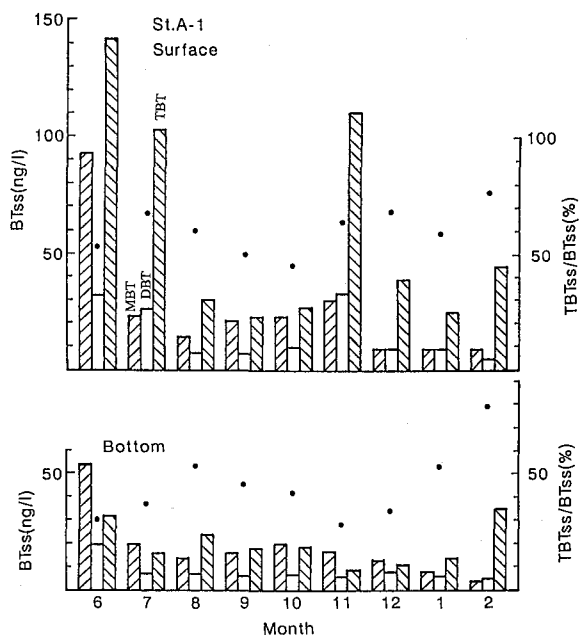


Fig. 1-22. Seasonal changes of MBT, DBT and TBT concentrations in suspended materials at A1. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

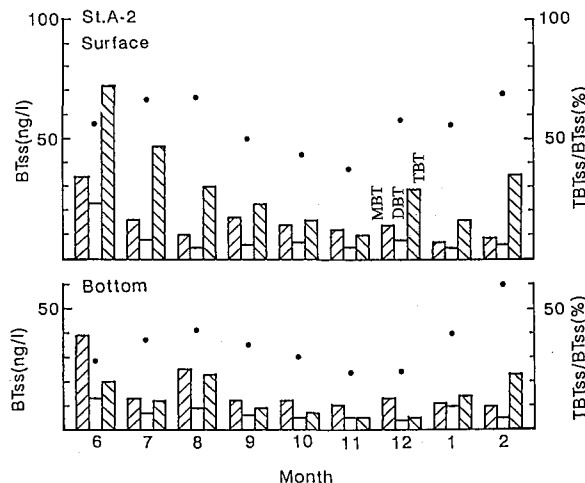


Fig. 1-23. Seasonal changes of MBT, DBT and TBT concentrations in suspended materials at A2. Solid circle exhibits the ratio of TBT to total butyltin compounds.

懸濁物質中の TBT 濃度は、A1 の観測点の表層の例外的な値（クロロフィル濃度に比較して著しく TBT 濃度が高い）を除くと、Fig. 1-24 に示したように懸濁物質のクロロフィル濃度に相関する傾向が認められた。したがって、植物プランクトンによる TBT の取り込みが TBT の懸濁物質への移行の重要な過程の一つであることが推察される。

海水（懸濁物質も含む）の TBT 濃度に対する懸濁物

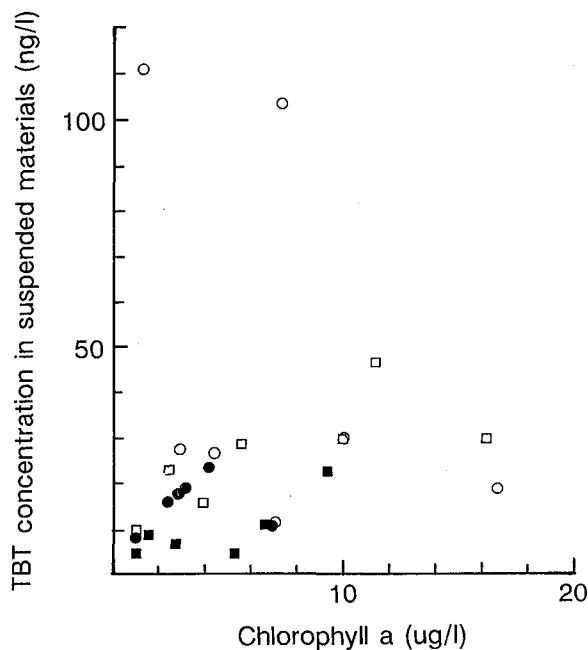


Fig. 1-24. The relationships between TBT and chlorophyll a concentration in suspended materials. ○, Surface (A1); □, Surface (A2); ●, Bottom (A1); ■, Bottom (A2).

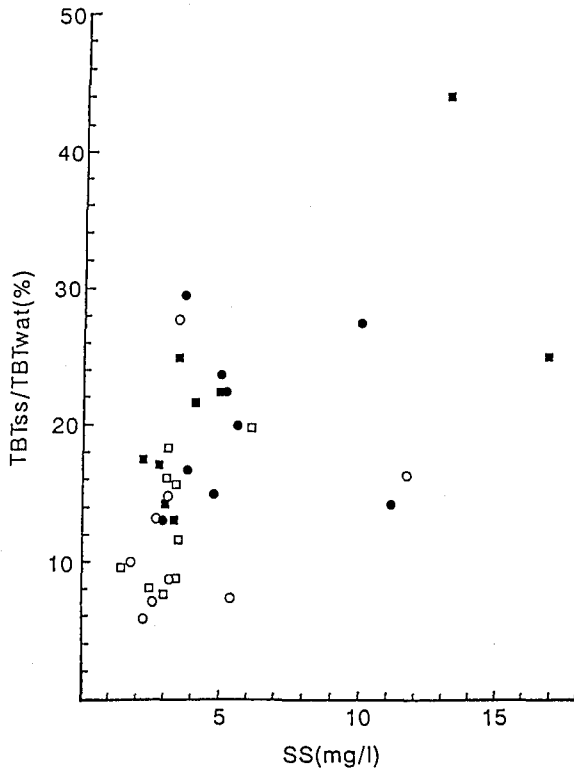


Fig. 1-25. The relationships between percent of suspended TBT in seawater and amount of suspended materials.
○, Surface (A1); □; Surface (A2); ●, Bottom (A1); ■, Bottom (A2).

質 TBT 濃度の割合 (TBTss/TBTwat) を求め、懸濁物質量との関係を Fig. 1-25 に示した。TBTss/TBTwat は、表層で 6~28%, 底層で 13~43% であった。TBTss の占める割合は底層で大きく、底層水の TBT 濃度は、表層から沈降してくる懸濁物質によって強く影響されることが示唆される。TBTss/TBTwat は、懸濁物質量に依存し、懸濁物質量が大きいほど TBTss/TBTwat が大きく、TBTss の占める割合が相対的に大きくなることが明らかであった。すなわち、底層水の TBT 濃度には懸濁物質の沈降が重要な役割を演じていることが示唆された。

3) 海水および底泥の TBT 濃度の経年変化

A1, A2, M1, M2 および K5 の表層海水と A1 と A2 の底層海水の TBT 濃度の 1990 年 7 月および 1993 年 11 月までの経時変化を Fig. 1-26 に示した。海水の TBT 濃度は、前項で述べたように季節的に変化することが明らかであった。したがって、同じ季節 (月) について海水中の TBT 濃度を比較すると、1990 年から 1992 年までの間に TBT 含有塗料の使用規制に伴って急激に低下することが認められた。しかし、マリナーの TBT の汚染源に近い観測点 (A1, A2, M1 および K2) では、1993 年 6~8 月の表層海水の TBT 濃度は、1992 年 7 月の値と同じレベルか少し高い値であり、海水の TBT 濃度の変化は

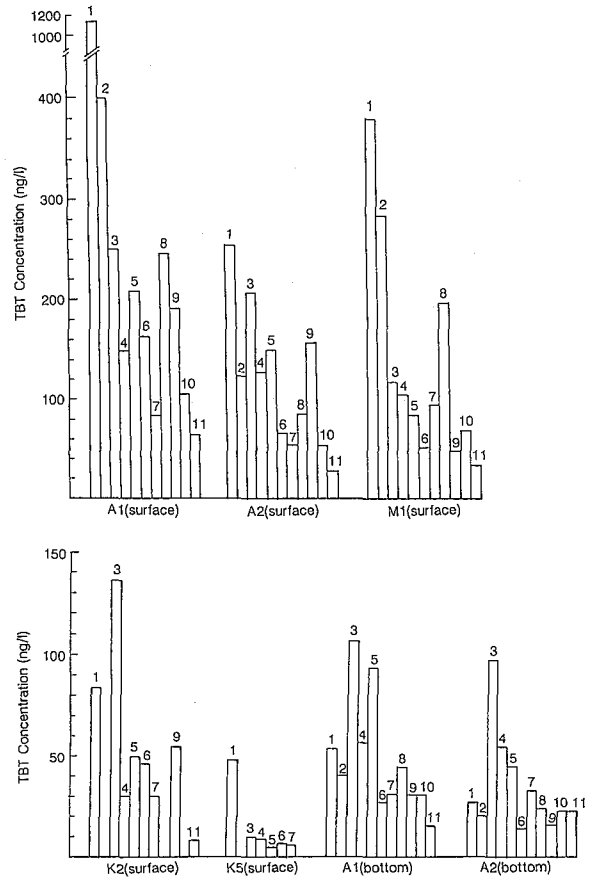


Fig. 1-26. Yearly changes of TBT concentration in seawater.
1: Jul. 1990; 2, Nov. 1990; 3, Jan. 1991; 4, Nov. 1991; 5, Jan. 1992; 6, Jul. 1992; 7, Nov. 1992; 8, Jun. 1993; 9, Jul. 1993; 10, Aug. 1993; 11, Nov. 1993.

1992 年 7 月以降小さかった。

底泥の TBT 濃度を Table 1-4 にまとめて示し、その

Table 1-4. Yearly change of TBT concentration in sediments

St. No.	TBT concentration (μg/g)					
	July, 1990	Jan., 1991	Nov., 1991	Jan., 1992	July, 1992	Nov., 1992
K1	0.175	0.389	0.348	0.494	0.149	0.158
K2	0.066	0.121	0.817	0.266	0.056	0.053
K3	0.121	0.214	0.431	0.290	0.280	0.107
K4		0.069	0.011	0.006	0.003	0.002
K5	0.016	0.017	0.022	0.049	0.015	0.015
A1	3.725	2.422	1.698	1.614	1.842	2.323
A2	0.133	0.278	0.734	0.466	0.248	0.344
A3	0.304	0.665	0.359	0.659	0.306	0.305
A4	0.353	0.580	0.482	0.464	0.061	0.102
A5		0.019	0.030	0.053	0.209	0.005
M1		0.816	0.923	0.615	0.443	0.422
M2		0.280	0.322	0.100	0.046	0.167

経年的な変化を検討した。底泥の TBT 濃度は数倍の変動を示すが、プレジャーボートの係留場所で、汚染の著しい A1 では、底泥の TBT 濃度は1990年7月の $3.725 \mu\text{g/g}$ から変動しながら1992年11月には $2.323 \mu\text{g/g}$ に低下した。また、同様な汚染域の観測点 M1 においても底泥の TBT 濃度は、1991年1月の $0.816 \mu\text{g/g}$ から1992年11月には $0.422 \mu\text{g/g}$ に低下した。しかし、汚染の程度が弱い K1~K3, A2~A4 および M2 の観測点では、底泥の TBT 濃度の経年的な低下傾向は認められなかった。これらの結果から、汚染の程度の強い水域の底泥 TBT 汚染状況は、種々の規制により改善されているが、これら

の規制の効果が汚染の程度の弱い沖合域まで波及していないことが明らかである。

4) 沈降物中の有機スズ化合物濃度と底泥への沈降量

沈降物の有機スズ化合物濃度は、Table 1-5 に示したように、A1 の夏季の調査では、MBT; $0.60\sim 1.64 \mu\text{g/g}$, DBT; $0.38\sim 0.86 \mu\text{g/g}$, TBT; $1.96\sim 3.26 \mu\text{g/g}$ であった。一方、冬季におけるこれらの濃度は、それぞれ、1.02, 0.77 および $4.20 \mu\text{g/g}$ であり、その濃度に著しい違いは認められなかった。油壺湾湾口の A4 では、沈降物の MBT, DBT および TBT の濃度は、それぞれ、 0.53 , 0.18 および $0.40 \mu\text{g/g}$ であり、湾奥の A1 に比較して低

Table 1-5. Sedimentation of butyltin compounds in Aburatsubo Bay

Year/Month	St. No.	Butyltin compounds	Concentration in deposit materials ($\mu\text{g/g}$)	Sedimentation rate ($\text{g/m}^2/\text{day}$)	Sedimentation of butyltin ($\mu\text{g/m}^2/\text{day}$)
1990, 8.	A1	MBT	1.64	8.34	13.68
		DBT	0.86		7.17
		TBT	3.26		27.15
1991, 1.	A1	MBT	1.02	25.55	25.96
		DBT	0.77		19.60
		TBT	4.20		107.22
1992, 8.	A1	MBT	0.60	12.20	7.32
		DBT	0.38		4.63
		TBT	1.96		23.91
1992, 8.	A4	MBT	0.53	26.80	14.20
		DBT	0.18		4.82
		TBT	0.40		10.72

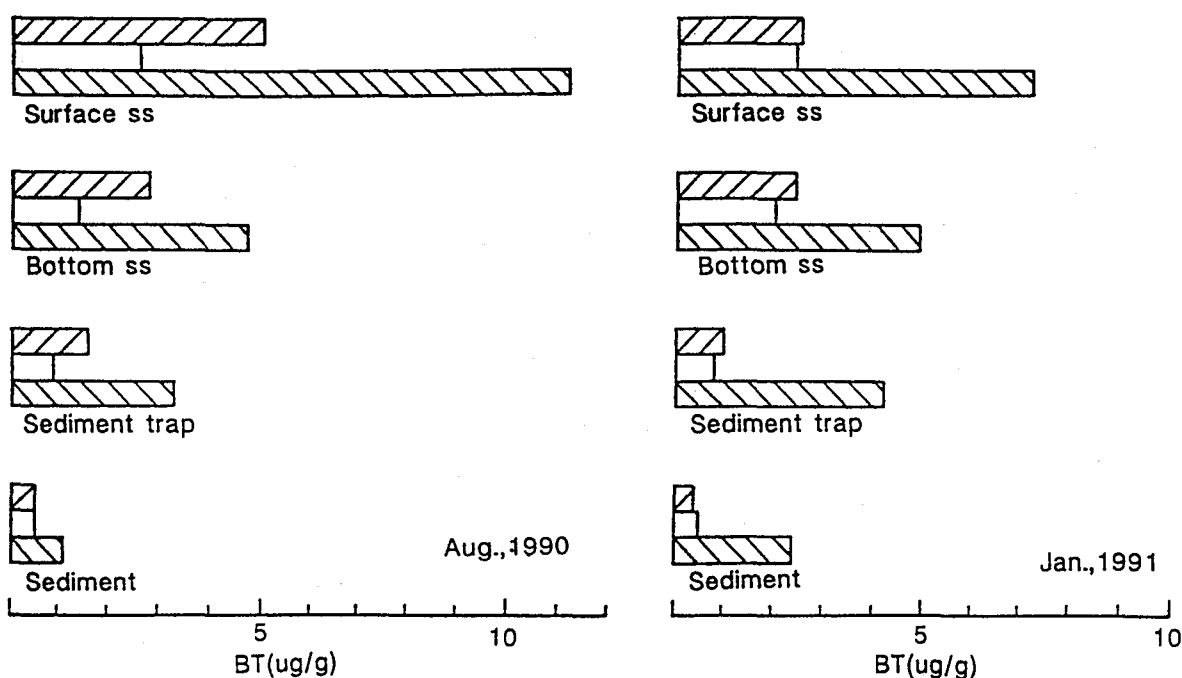


Fig. 1-27. Butyltin concentrations in surface and bottom suspended materials, deposit materials and sediments.

かった。

Fig. 1-27 には、夏季および冬季における表層と底層の懸濁物質、沈降物および底泥の有機スズ化合物濃度を示した。図から明らかなように、夏季および冬季のいずれにおいても、懸濁物質の有機スズ化合物濃度は表層より底層で低く、さらに、沈降物、底泥の順に低下した。したがって、この有機スズ化合物の濃度変化は、表層に流入した TBT が、懸濁物質の TBT 濃度とクロロフィル濃度との関係について述べたように植物プランクトンによる取り込みによって懸濁物質に蓄積され、沈降過程で分解を受けながら底泥に堆積する経路の存在を示唆する。

有機スズ化合物の底泥への沈降堆積量は Table 1-4 に要約したが、夏季の調査では、A1 で MBT; 7.32~13.68 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$, DBT; 4.63~7.17 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$, TBT; 23.91~27.15 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$ であった。同じ A1 における冬季の MBT, DBT および TBT の沈降堆積量は、それぞれ、25.96, 19.60 および 107.22 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$ であり、懸濁物質の沈降量と同様に夏季に比較して大きかった。夏季の A4 における有機スズ化合物の沈降量は、MBT; 14.2 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$, DBT; 4.82 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$, TBT; 10.72 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$ であり、沈降物中の有機スズ化合物濃度が低いために湾奥域に比較して小さかった。

本研究で測定した 4 回の沈降量の測定結果を平均すると、油壺湾の平均的な TBT の沈降量は 42.25 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$ と計算される。一方、プレジャーボートからの TBT の溶出速度を 4 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$ と仮定すると、油壺湾に係留されているプレジャーボートの隻数から油壺湾への TBT 負荷量は 200 g/day (313 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{day}$) と試算されている (日本水質汚濁研究協会, 1991)。したがって、油壺湾に流入した TBT の約 13.5% が底泥に沈降・堆積し、底泥は有機スズ化合物の貯蔵場所とも考えられる。

5) 間隙水中の有機スズ化合物濃度と底泥からの溶出の可能性

油壺湾の A1 の観測点において底泥間隙水の有機スズ化合物濃度を 6, 8, 10, 12 および 2 月に測定した結果を Table 1-6 に示した。底泥間隙水には TBT 濃度は検出限界の 50 ng/l 以下であり、間隙水中に検出されなかった。一方、間隙水の有機スズ化合物の主成分は MBT であり、次いで DBT が検出された。間隙水の MBT および DBT の濃度は、底泥の表層 (0~2 cm) で高く、底泥の深度を増すに従って次第に低くなった。また、間隙水中の MBT 濃度は季節的に変化し、冬季に比較して夏季で高かった。また、DBT 濃度も 12 月の 0~2 cm 層の 2,870 ng/l を除けば、6~8 月の高水温期において高かった。すなわち、水温の高い時期には微生物による分解が促進されたものと考えられる。

間隙水の TBT 濃度は、A1 の底層海水の TBT 濃度 (Fig. 1-20) より低かった。底泥表層 (0~2 cm) の間隙

Table 1-6. Concentrations of MBT and DBT in the interstitial water

Depth of sediment column (cm)	MBT concentration ($\mu\text{g}/\text{l}$)					DBT concentration ($\mu\text{g}/\text{l}$)				
	June	Aug.	Oct.	Dec.	Feb.	June	Aug.	Oct.	Dec.	Feb.
0-2	2.43	5.87	1.74	1.06	0.54	1.37	1.21	0.71	2.87	0.40
2-4	1.73	5.91	1.29	0.42	0.69	1.29	1.11	0.23	0.91	0.29
4-8	0.79	1.72	2.54	0.47	1.30	0.93	0.53	0.26	0.35	0.35
8-12	0.65	1.62	2.08	0.46	0.62	1.09	0.60	0.26	0.35	0.41
12-16	1.01	3.85	1.44	0.36	0.77	1.22	1.05	0.23	0.44	0.42
16-20	0.38	2.95	2.19	0.24	0.79	0.72	1.09	0.31	0.31	0.35

TBT concentration was below the detection limit of 0.05 $\mu\text{g}/\text{l}$.

水の MBT および DBT 濃度は、それぞれ、540~5,870 ng/l および 400~2,870 ng/l であり、A1 の底層海水の濃度 (MBT; 10~78 ng/l, DBT; 18~116 ng/l) に比較して著しく高かった。底泥間隙水に溶存する有機スズ化合物が、底層水と底泥境界面における濃度勾配に依存して拡散溶出する機構 (Yamada and Kayama 1987) を想定すると、底泥から溶出する主要な有機スズ化合物は MBT および DBT である。TBT は底泥から溶出ししないと推察されるが、仮に溶出しても溶出量は非常に小さいと考えられる。

要 約

本研究での知見は以下のように要約されるが、TBT が懸濁物質に取り込まれた後に沈降し、底泥に沈降した TBT は再溶出せず、底泥は TBT の貯蔵場所であることなどの新しい知見が得られた。

- ① 海水および底泥の有機スズ化合物濃度は汚染源に近いほど高かった。汚染源に近い油壺湾湾奥の観測点では、海水中 TBT 濃度は季節的に変化し、その季節的变化は塗料の塗装に関連すると推察された。
- ② 海水中に存在する有機スズ化合物のかなりの部分 (~50%) が懸濁物質に存在した。懸濁物質中の TBT 濃度がクロロフィル濃度に依存し、TBT の懸濁物質への蓄積において植物プランクトンによる吸収が重要であることが示唆された。
- ③ 懸濁物質の沈降は、有機スズ化合物の底泥への移行において重要な経路である。油壺湾に流入した TBT の約 13.5% が底泥に堆積し、底泥は TBT の集積する場所として重要であることが示唆された。
- ④ 底泥間隙水に MBT および DBT が高濃度に溶存するが、TBT は検出限界以下であった。底層水と底泥間隙水の濃度勾配から判断して、底泥から MBT および DBT は溶出するが TBT の溶出の可能性は小さいと考えられた。

1.3 分布と挙動に関する考察

TBT および TPT 化合物は、沿岸域のみならず沖合域や外洋域に生息するイカ肝臓から検出され、有機スズ化合物汚染が全球的に拡大していることが本研究の結果明らかになった。沖合・外洋域における TBT 化合物濃度は、Gibbs *et al.* (1986, 1987) が明らかにした巻貝に imposex を引き起こす濃度 (2 ng/l) よりも低い、今後その濃度の推移をさらに詳細に追跡する必要がある。また、全球的に広く汚染域が拡大するには、移動速度の速い移行過程が必要である。すなわち、有機塩素系化学物質や PCBs が大気中存在し、大気を通して全球的に速やかに拡散することが確認されているが (Iwata *et al.* 1993)、有機スズ化合物についても同様な過程が存在するかどうか、大気中の TBT および TPT 濃度の把握を含めて今後検証する必要がある。

油壺湾のような沿岸域においては、有機スズ化合物濃度はその使用実態に応じて季節あるいは経年的に変化した。すなわち、沿岸域の有機スズ化合物濃度を支配する重要な要因は、これらの化合物の海水への流入であることが本研究において明らかになった。したがって、沿岸域における有機スズ化合物汚染の防止のためには先ずその使用を規制することが効果的であることがわかった。

海域に流入した有機スズ化合物は種々の過程を経て時空間的に変動しながら海水、懸濁物質や底泥等に分配される。油壺湾における調査では、海水中に存在する TBT 化合物のかなりに部分が懸濁物質として存在し、また、懸濁物質の TBT 濃度は懸濁物質のクロロフィル濃度に関連性のあることが本研究の結果明らかになった。したがって、水中に溶存する TBT 化合物が植物プランクトンによる吸収を通して懸濁物質に移行する過程の存在が示唆されるとともに、その過程は底泥への沈降・堆積において重要であると考えられた。油壺湾での調査および試算によると、海域に流入した TBT の 13.5% が底泥に移行すると結論することができた。底泥間隙水の TBT 濃度は低く、間隙水と底層水の TBT 濃度差によって拡散過程 (Yamada and Kayama 1987) で底泥から溶出する可能性は非常に小さい。また、嫌気的な底泥での TBT の微生物分解は非常に小さいことが Maguire and Tkacz (1985) によって報告されている。したがって、底泥は TBT 化合物の堆積の場所であると考えられ、底泥堆積 TBT 化合物の水生生物に対する影響と海域生態系における移行・循環は本研究の結果から判断して今後の重要な研究課題であると考えられる。

海洋微生物による有機スズ化合物の分解過程は、海域環境における挙動や環境化学的な運命の考察において重要である。しかし、有機スズ化合物は微生物により容易に分解されるとする報告と容易に分解されないという報告があり、微生物分解については実験方法を含めてさら

に検討する必要がある。すなわち、分解細菌の探索、分解活性の種特異性並びに分解活性と環境諸条件との関連性など解明する必要がある。

さらに、有機スズ化合物は海表面のサーフェイスマイクロレイヤーに高濃度に存在することが Cleary and Stebbing (1987) によって報告されている。海表面は光を強く受けることから、有機スズ化合物の光化学的な分解機構についても研究する必要がある。

第 2 章 海産魚を用いる生物濃縮試験法

魚類による有害物質の生物濃縮に関する情報は、化学物質の安全性の評価、魚介類の許容濃度、有害物質に係る水質環境基準の設定や有害物質の水域環境への影響の評価において必要・不可欠である。化学物質の有害性評価のために「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(「化審法」) (通商産業調査会 1985)、OECD (化学品検査協会 1984) において魚類による生物濃縮試験法が定められている。「化審法」の方法では、試験魚としてコイが、また、OECD の方法では、ゼブラフィッシュ、コイやヒメダカなどの 7 種類の淡水魚が試験魚として選定されている (北野 1981)。しかし、淡水魚と海産魚では浸透圧の調節機構などの生理機構が異なるので、有害物質の海域環境への影響を評価するためには、海産魚を用いる生物濃縮試験法を開発する必要がある。

OECD の試験方法 (化学品検査協会 1984) では、止水式試験法、段階的止水式試験法、半止水式試験法、流水式試験法 (MITI 法) および流水式試験法 (加速法) が、また、「化審法」では、流水式試験法 (MITI 法) が有害物質の生物濃縮試験法として採用されている。これらの試験では、有害物質を含有する飼育水で魚類を一定期間飼育して有害物質を魚類に蓄積させ、魚体の有害物質濃度と飼育水のそれに対する比を生物濃縮係数 (Bioconcentration factor: BCF) と定義して生物濃縮度の指標とする。したがって、飼育水の有害物質の濃度変化が小さいこと、魚体内の有害物質濃度が試験期間中に平衡状態 (試験期間を延長しても魚体内の有害物質濃度が増加しない。) に達することが基本的に必要である。

魚類による有害物質の生物濃縮係数は、試験魚の種類や大きさなどの生物的要因、飼育水温や飼育水の有害物質濃度などの理化学的要因や飼育密度や試験期間など魚類の飼育方法によっても大きく異なる。

そこで、本研究では、適用範囲の広い流水式試験法を基本として (1) 試験海産魚の選定と生物濃縮度の評価、(2) 試験魚の大きさ、(3) 飼育水温、(4) 溶剤や海面活性剤などの溶解助剤の毒性、(5) 飼育水としての人工海水の使用の可否などの試験諸条件を検討した。これらの成果と既往の研究成果を取りまとめ、海産魚を用いる生物濃縮試験法を構築する。

材料および方法

1) 試験魚の種による BCF の差異

試験魚：試験魚としてわが国に広く生息するシロギス *Sillago japonica* とアミメハギ *Rudarius ercodes* を、また、種苗生産技術が確立し、一度に多量な試験魚が入手できるマダイ *Pagrus major* の 3 魚種を用いた。酸化トリブチルスズ (TBTO) と有機リン酸エステル類のトリブチルフォスフェート (TBP) の実験では、ボラ *Mugil cephalus* も試験魚として用いた。シロギスおよびアミメハギは、(財)海洋生物環境研究所、(財)温水養魚開発協会の種苗を、また、マダイは (財)静岡県温水利用研究センターあるいは (財)温水養魚開発協会の種苗を実験に用いた。ボラは研究所地先の荒崎海岸のタイドプールで採集した。

生物濃縮試験：有害物質として、有機塩素化合物のヘキサクロロベンゼン (HCB) および α -ヘキサクロロシクロヘキサン (α -HCH)、有機スズ化合物の酸化トリブチルスズ (TBTO) と塩化トリフェニルスズ (TPTCl)、有機リン酸エステル類のトリブチルフォスフェート (TBP) と重金属のコバルトを選定した。Table 2-1 に示した 20 実験区を設定し、選定した有害物質の蓄積と排泄

の実験を行った。

アクアトロンで水温を 20°C に調整した海水を用いて、定濃度流水式装置で 8 週間 (シロギスを用いた HCB の実験と TBP の実験では 2 週間) の生物濃縮実験を行った。生物濃縮実験終了後、清浄海水で 3~4 週間飼育して排泄実験を行った。

有機化合物の有害物質は、アセトンと dimethyl sulfoxide (DMSO) (1:9) の混液に溶解 (コバルトは蒸留水に溶解) させた後にその所定量を水道水で希釈して中間原液を作成した。この中間原液を 5 ml/分の流量で魚類飼育水槽に添加して飼育水の有害物質濃度を一定に維持した。また、エアレーションを行って飼育水の溶存酸素の低下を防止した。魚体の有害物質は個体毎に分析したが、試料量が不足する場合 (主としてアミメハギの実験) には数個体まとめて 1 試料として分析した。

2) 試験魚の大きさによる生物濃縮の相違

有害物質として α -HCH を選定し、0.59~10.45 g の範囲で体重の異なる 6 群のシロギス、0.16 g と 0.34 g の 2 群のアミメハギおよび 1.25~9.87 g の 5 群のマダイを試験に用いた。14 日間の生物濃縮と 2~3 日の排泄実験を行い、BCF や排泄速度定数 (k_2) の試験魚の大き

Table 2-1. Experiments on bioconcentration and elimination of hazardous chemicals by several kinds of marine fish species

Chemical	Species	Weight of fish* ¹ (g)	Concentration of chemical in seawater (μ g/l)	Duration of bioconcentration experiment (week)
TBTO	<i>Sillago japonica</i>	2.50±0.05	0.066±0.004	8* ²
	<i>Rudarius ercodes</i>	0.30±0.04	0.115±0.017	8* ²
	<i>Pagrus major</i>	11.70±1.10	0.038±0.008	8* ²
	<i>Mugil cephalus</i>	3.20±0.80	0.122±0.016	8* ²
TPTCl	<i>Sillago japonica</i>	2.78±0.48	0.152±0.024	8* ²
	<i>Rudarius ercodes</i>	0.57±0.13	0.124±0.012	8* ²
	<i>Pagrus major</i>	8.00±1.40	0.083±0.009	8* ²
TBP	<i>Sillago japonica</i>	2.53±0.70	57±7	2
	<i>Rudarius ercodes</i>	1.10±0.20	85±9	2
	<i>Pagrus major</i>	11.10±1.00	33±4	2
	<i>Mugil cephalus</i>	1.50±0.60	84±8	2
HCB	<i>Sillago japonica</i>	1.88±0.22	0.115±0.011	2* ²
	<i>Rudarius ercodes</i>	0.42±0.10	0.105±0.013	8* ²
	<i>Pagrus major</i>	9.47±1.86	0.066±0.012	8* ²
α -HCH	<i>Sillago japonica</i>	3.38±0.69	0.227±0.025	8* ²
	<i>Rudarius ercodes</i>	0.41±0.09	0.299±0.035	8* ²
	<i>Pagrus major</i>	9.91±2.12	0.254±0.023	8* ²
Co	<i>Sillago japonica</i>	3.04±0.60	950±40	8* ²
	<i>Rudarius ercodes</i>	0.23±0.07	990±40	8* ²
	<i>Pagrus major</i>	2.43±0.32	990±90	8* ²

TBTO: Bis (tributyltin) oxide, TPTCl: Triphenyltin chloride, TBP: Tributylphosphate, HCB: Hexachlorobenzene, α -HCH: Hexachlorocyclohexane, Co: Cobalt, *¹ initial body weight, *² The elimination experiment for 2 or 4 weeks was carried out after the bioconcentration experiment of TBTO, TPTCl, HCB, α -HCH, and Co.

さによる変化を解明した。その他の試験条件は、1) 試験魚の種による BCF の差異の飼育実験と同様であった。

3) 生物濃縮特性に及ぼす飼育水温の影響

シロギス (4.34~4.37 g), アミメハギ (0.33~0.34 g) およびマダイ (2.40~2.46 g) を用いて有害物質として選定した α -HCH の生物濃縮 (14日間) と排泄実験 (2日間) を20および25°Cの飼育水温で行った。シロギスおよびアミメハギの飼育水の α -HCH 濃度は、20°Cの試験では 232 ± 13 ng/l, 25°Cの試験では 283 ± 23 ng/l であった。マダイの試験では、20および25°Cの飼育実験の飼育水の α -HCH 濃度は、それぞれ、 203 ± 11 ng/l, 208 ± 5 ng/l であった。BCF や排泄速度定数 (k_2) の飼育水温による変化を解明した。その他の試験条件は、上で述べた 1) および 2) の飼育実験と基本的には同様であった。

4) 人工海水の試験用水としての適性評価

試験用水：人工海水は、Table 2-2 に組成を示したように12種類の塩類を含有する APHA (American Public Health Association 1989) と6種類の主要な塩類を含有する LF (Lyman and Fleming 1940) を脱塩素した水道水を用いて調製した。比較のための自然海水として伊豆七島沖合の海水を用いた。

Table 2-2. Chemicals used for the preparation of two types of artificial seawater of APHA and LF*1

Chemicals	Amount (mg/l)	
	APHA *2	LF*3
NaF	3	—
SrCl ₂ · 6H ₂ O	20	—
H ₃ BO ₃	30	—
KBr	100	—
KCl	700	660
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1,470	1,459
Na ₂ SO ₄	4,000	3,912
MgCl ₂ · 6H ₂ O	10,780	10,631
NaCl	23,500	23,477
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	20	—
NaHCO ₃	200	192
Na ₄ EDTA *4	1	—

*1 These chemicals were dissolved with tap water without chlorine.

*2 artificial seawater prepared according to APHA (1989).

*3 artificial seawater prepared according to Lyman and Fleming (1940).

*4 Na₄EDTA was added just before the beginning of the experiment.

生物濃縮試験：飼育用水として自然海水と人工海水、有害物質としてカドミウム (Cd), α -HCH, TBP およびペンタクロロフェノール-Na 塩 (PCP-Na) を選定し、シロギスを用いて14日間の生物濃縮実験を行った。飼育水

と魚体中の有害物質濃度から BCF を求め、BCF の試験用水による差異を解明した。

5) 分析方法

TBT および **TPT**：飼育水および魚体の TBT および TPT は、高見他 (1987, 1988) の方法に準拠して測定した。飼育水の TBT および TPT は酢酸エチル/*n*-ヘキサン (3:2, v/v) 混液を用いて、また、魚体の TBT と TPT は 1N HCl メタノール/酢酸エチル (1:1, v/v) 混液を用いて抽出した。抽出物を陰イオンと陽イオン交換樹脂を用いて精製した後に、*n*-プロピルマグネシウムプロミドを用いてプロピル誘導体に変換した。TBT と TPT のプロピル誘導体をキャピラリーカラム (Ultra-1) 付きガスクロマトグラフ (GC) を用いて分析し、FPD (Sn フィルターを使用) 検出器を用いて定量した。

TBP：飼育水の TBP は酢酸エチルで抽出し、濃縮した後に FPD (P フィルターを使用) 検出器付き GC を用いて分析した。魚体の TBP は、立川他 (1975) の方法に準拠して分析した。すなわち、魚体から *n*-ヘキサンを用いて TBP を抽出し、抽出物をフロリジルカラムを用いて精製・濃縮した後に飼育水の場合と同様に FPD-GC を用いて分析した。

HCB および α -HCH：飼育水の HCB および α -HCH は *n*-ヘキサンで抽出し、濃縮した後に ECD 検出器付き GC を用いて分析した。魚体の HCB および α -HCH はアセトンで抽出した。アセトン抽出物を *n*-ヘキサンに転溶し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した後に飼育水と同様に ECD-GC を用いて分析した。この両物質は一般的に脂質に蓄積されるために、魚体濃度 ($\mu\text{g/g}$) を魚体単位重量当たりで表示すると、試験魚各個体の脂質含量の影響を受け、誤差が大きかった。したがって、魚体の HCB と α -HCH 濃度は、得られた結果の誤差を小さくするためにアセトン抽出物当たり ($\mu\text{g/g ext}$) に補正して示した。

PCP-Na：飼育水中の PCP-Na は、*n*-ヘキサンで抽出し、濃縮した後に ECD-GC を用いて測定した。魚体中の PCP-Na は硫酸酸性下でアセトンを用いて抽出した。*n*-ヘキサンに転溶し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した後に飼育水と同様に ECD-GC を用いて分離・定量した。

Co および **Cd**：飼育水の Co および Cd は、海水を直接フレイム原子吸光分光光度計に導入して測定した。魚体の Co の分析では、試料を濃硝酸に8時間以上浸した後に、さらに80°Cの温浴上で4時間加熱して完全に溶解した。この溶液を適宜希釈して原子吸光分光光度計を用いて魚体の Co 濃度を測定した。魚体の Cd は硫酸と硝酸を用いて加熱分解した後にジエチルカルバミン酸ナトリウムを加えてキレート化合物とした。これをメチルイソブチルケトンを用いて抽出し、原子吸光光度法 (JIS

1984) で測定した。

6) 解析方法

飼育水と魚体の有害物質濃度の測定結果から(2-1)式を用いてBCFを計算した。HCBおよび α -HCHのBCFは、魚体の濃度をアセトン抽出物当たりに補正して求めたために、BCFをアセトン抽出物へのBCF(BCF in Ext)として計算した。TPT, TBT, HCBおよび α -HCHは、実験開始時の魚類から検出されなかったため、BCFの計算において対照実験の魚類中濃度(C_{f_0})を補正しなかった。

$$\text{BCF (BCF in Ext)} = (C_{f_1} - C_{f_0}) / C_w \quad (2-1)$$

BCF: 生物濃縮係数

BCF in Ext: アセトン抽出物への生物濃縮係数

C_{f_1} : 実験区の魚体の有害物質濃度

C_{f_0} : 対照区の魚体の有害物質濃度

C_w : 飼育水の有害物質濃度

蓄積と排泄実験における魚体中有害物質濃度の経時変化を指数関数モデル((2-2), (2-3)および(2-4)式)に適用して k_1 , k_2 および平衡状態でのBCF(BCF_{eq})を算出した。

$$C_{f_1} = (k_1/k_2) C_w (1 - e^{-k_2 t}) \quad (2-2)$$

$$C_{f_2} = C_{f_3} e^{-k_2 t} \quad (2-3)$$

$$\text{BCF}_{\text{eq}} = k_1/k_2 \quad (2-4)$$

C_{f_1} : 蓄積実験における魚体の有害物質濃度

C_{f_2} : 排泄実験における魚体の有害物質濃度

C_{f_3} : 排泄実験開始時における魚体の有害物質濃度

k_1 : 取り込み速度定数

k_2 : 排泄速度定数

BCF_{eq} : 平衡状態でのBCF

結果および考察

1) 試験魚の種によるBCFの差異

シロギス, アミメハギおよびマダイによる有害物質のBCFをTable 2-3にまとめて示した。方法の項で述べたように、魚体のHCBおよび α -HCH濃度はアセトン抽出物当たりに補正して示したので、ここで示す両物質のBCFはアセトン抽出物画分への濃縮係数である。

アミメハギによるHCBのBCFは512000であり、シロギスやマダイに比較して大きかった。アミメハギによるHCBの例外的なBCFの値を除くと、アミメハギに

Table 2-3. Bioconcentration factor, uptake rate constant, and elimination rate constant of hazardous chemicals by several fish species

Chemical	Species	Uptake rate constant (k_1)	Elimination rate constant (k_2)	BCF	k_1/k_2
TBTO* ¹	<i>Sillago japonica</i>	583	0.070	8400±800	8300
	<i>Rudarius ercodes</i>	360	0.094	3200±400	3800
	<i>Pagrus major</i>	324	0.024	9400±100	13500
	<i>Mugil cephalus</i>	430	0.174	3000±200	2500
TPTCI* ¹	<i>Sillago japonica</i>	101	0.024	4000±200	4200
	<i>Rudarius ercodes</i>	120	0.039	2200±200	3100
	<i>Pagrus major</i>	120	0.037	3100±200	3200
TBP* ²	<i>Sillago japonica</i>			50±7	
	<i>Rudarius ercodes</i>			5±1	
	<i>Pagrus major</i>			27±3	
HCB* ³	<i>Sillago japonica</i>	55900	0.463	125000±10000	121000
	<i>Rudarius ercodes</i>	13000	0.016	512000	813000
	<i>Pagrus major</i>	7700	0.015	324000±26000	513000
α -HCH* ³	<i>Sillago japonica</i>		0.353	24500±1500	
	<i>Rudarius ercodes</i>		0.540	19900±100	
	<i>Pagrus major</i>		0.261	20100±400	
Co* ¹	<i>Sillago japonica</i>		0.056	0.59±0.02	
	<i>Rudarius ercodes</i>		0.030	2.16	
	<i>Pagrus major</i>		0.050	0.73±0.11	

*¹ k_1 and k_2 were calculated by using the concentration in fish expressed in the unit of ng/g fish. The unit of k_1 and k_2 is ml/g fish/day and day⁻¹, respectively.

*² As the elimination experiments were not carried out, k_1 and k_2 of TBP were not calculated.

*³ k_1 and k_2 values in these experiments were calculated by using the concentration in fish expressed in the unit of ng/g ext. The unit of k_1 and k_2 is ml/g ext./day and day⁻¹ respectively.

よる TBTO, TPTCl, TBP および α -HCH の BCF は、シロギスやマダイに比較して小さかった。したがって、アミメハギによる有機有害物質の BCF は、シロギスやマダイに比較して小さい傾向であると考えられる。また、アミメハギでは、排泄速度定数 (k_2) がシロギスやマダイに比較して大きく、アミメハギの TBTO などの有機有害物質の代謝・排泄能力がシロギスやマダイに比較して大きいことが明らかであった。

有機有害物質は一般的に魚類の脂肪組織に多量に蓄積され、BCF が魚体の脂質濃度に依存することも考えられる。粗脂肪はシロギスで 5.1~9.2%, アミメハギで 5.6~11.6%, マダイで 5.1~9.2% であり、魚種による差は小さく、有機有害物質の生物濃縮の魚種による差異は、主として取込みや排泄の蓄積機構の魚種による差異に起因するものと考えられる。

Co の BCF はアミメハギで 2.16 であり、シロギス (0.59) やマダイ (0.73) に比較して大きかった。アミメハギによる Co の k_2 は 0.030 day^{-1} であり、シロギス (0.056 day^{-1}) やマダイ (0.050 day^{-1}) に比較して小さかった。また、アミメハギでは Co を高濃度に蓄積する肝臓の魚体に占める割合が 7.5% とシロギスおよびマダイの 1.3% に比較して大きかった。すなわち、アミメハギでは Co を高濃度に濃縮できる肝臓の魚体に占める割合が大きく、かつ、濃縮した Co の排泄が遅いことが BCF を大きくする原因であると考えられる。

以上の結果から、アミメハギはマダイおよびシロギス

と異なり、有機有害物質より重金属元素を高濃度に蓄積し易い傾向が認められた。したがって、アミメハギによる有害物質の生物濃縮特性は、シロギスやマダイとは異なることが明らかであった。マダイは、わが国の代表的な栽培漁業種であり、その種苗生産技術は確立されている。したがって、周年にわたってマダイ稚魚を入手することは困難であるが、4月から9月までの間では多量な稚魚を試験魚として一度に入手することは可能である。シロギスの種苗生産は、木下他 (1992) によって成魚の飼育法、成熟・産卵技術および初期飼料系列が検討されるとともに、成熟の抑制技術並びに産卵親魚の再成熟技術が開発され、成熟・繁殖時期の調整が可能となりつつある。したがって、本研究で検討した魚種では、種々の有害物質に対する生物濃縮特性や飼育・繁殖技術などから判断してシロギスおよびマダイが生物濃縮試験の試験魚として最適であると考えられる。

2) 試験魚の大きさによる生物濃縮の相違

種々の大きさのシロギス、アミメハギおよびマダイによる α -HCH の生物濃縮と排泄実験から求めた BCF および k_2 を Table 2-4 に示した。0.59~10.45 g のシロギス、1.25~9.87 g のマダイおよび 0.16 g と 0.34 g のアミメハギのいずれの試験魚においても、 α -HCH の BCF は試験魚の大きさによって著しい差は認められなかった。しかし、 k_2 は、1.25 g および 9.87 g のマダイでそれぞれ 1.660 day^{-1} および 0.709 day^{-1} であり、魚体が大きくなるに従って k_2 が小さくなった。同様に成長に伴

Table 2-4. Bioconcentration factor and elimination rate constant of α -HCH by several fish species of various weight

EXP. No.	Fish species	No. of fish ^{*1}	Weight of fish ^{*2}	α -HCH concentration		Lipid content ^{*4} (%)	BCF in Ext	k_2 (day ⁻¹)
				Seawater ^{*3} (ng/l)	Fish ^{*4} ($\mu\text{g/g ext.}$)			
1	<i>S. japonica</i>	52	0.59±0.09 ^{*5}	330±15	5.37±0.66	1.3±0.05	16300±2000	—
2		43	1.10±0.15	221±6	5.40±0.21	4.4±0.5	24400±900	1.305
3		40	1.97±0.20	263±11	5.77±0.11	4.3±1.2	22000±400	1.394
4		39	3.60±0.27	276±36	7.01±1.48	4.6±0.4	25400±5000	0.942
5		32	5.51±0.33	236±15	4.52±0.39	5.0±1.9	19200±1600	0.707
6		33	10.45±1.84	269±22	6.09±0.17	6.8±0.6	22600±600	0.908
7	<i>R. ercodes</i>	94	0.16±0.05	241±17	5.68	4.8	23600	1.319
8		51	0.34±0.06	232±13	5.78	6.7	24900	1.010
9	<i>P. major</i>	40	1.25±0.15	290±18	5.40±0.29	3.1±0.5	18600±1000	1.660
10		40	2.96±0.27	191±12	3.66±0.03	3.0±0.2	19200±100	1.757
11		40	4.64±0.37	282±27	4.71±0.38	3.0±0.4	16700±1300	1.052
12		39	6.33±0.44	271±52	4.20±0.31	3.7±0.9	15500±1200	0.970
13		40	9.87±0.74	247±44	4.69±0.27	3.6±0.3	19000±1100	0.709

*1 Number of fish introduced into an aquarium at the beginning of the experiment

*2 Weight of fish at the beginning of the experiment

*3 α -HCH concentration in seawater was determined 7 times during the bioconcentration experiment.

*4 Three samples of *S. japonica* and *P. major* and two samples of *R. ercodes* were analyzed at the end of 14 days bioconcentration experiment.

*5 mean±SD

う k_2 の低下はシロギスおよびアミメハギにおいても認められた。一般に、BCF と k_1 および k_2 の間には $BCF = k_1/k_2$ の関係が認められる。魚体が大きくなるにしたがって k_2 は小さくなるが BCF には著しい変化が認められないので、 k_1 も魚体が大きくなるにしたがって小さくなると推察される。この結果から、成長過程の初期の小さい魚類は有害物質の取り込みおよび排泄の両者が大きいことが明らかである。すなわち、魚体の小さい成長過程の初期では、一般に代謝が活発であると言われているが、このことは有害物質の取込みや排泄においても認められた。

生物濃縮実験の試験魚の大きさの決定には、(1) 試験魚の生物濃縮特性、(2) 魚類飼育実験において取扱いが容易なこと、(3) 魚体内化学物質の測定において分析精度の確保のために十分な試料量が得られること、など実験手法も考慮されるべき重要な要因であると考えられる。シロギスおよびマダイを試験魚として用いて有害化学物質の BCF を測定することが目的であれば、BCF や脂質濃度が大きく変化しなく、かつ、試験魚の取扱いの容易さや分析試験量を考慮して 2~5 g のシロギス、2~10 g のマダイが試験魚として適していると考えられる。しかし、 k_1 および k_2 は試験魚の大きさによって変化するので、有害化学物質の取込みおよび排泄の kinetics の解析や生物学的半減期などを検討する場合には試験魚の大きさを特に厳密に定める必要がある。

3) 生物濃縮特性に及ぼす飼育水温の影響

20°C と 25°C の試験水温でシロギス、アミメハギおよびマダイ稚魚を用いて α -HCH の 2 週間の取り込み実験とそれに続く 2 日間の排泄実験を行い、魚体内の α -HCH 濃度の経時変化を compartment model により解析し、各水温による BCF および k_2 をそれぞれ Table 2-5 および 2-6 に示した。

シロギス、アミメハギおよびマダイによる BCF は、Table 2-5 に示したように生物濃縮実験の開始後 1~2 日の間に著しく大きくなった。生物濃縮実験の 4 日以降では BCF の変化は小さく、魚体中濃度が平衡状態に達している傾向であった。生物濃縮実験 14 日目の BCF に注目すると、シロギスによる BCF は、20°C で 20200、25°C で 22300 であった。アミメハギでは、20°C および 25°C における BCF は、それぞれ、24900 および 26000 であり、マダイでは、20°C で 18000、25°C で 20400 であった。すなわち、検討した 3 魚種において、20°C と 25°C の両飼育水温による BCF には著しい差異が認められなかった。

k_2 は、Table 2-6 に示したようにシロギスでは 20°C で 0.527 day^{-1} 、25°C で 0.837 day^{-1} であった。アミメハギの 20°C および 25°C における k_2 は、それぞれ、 1.010 day^{-1} および 1.524 day^{-1} であり、マダイでは 20°C で

Table 2-5. Bioconcentration factor of α -HCH by three fish species at two water temperatures of 20 and 25°C

Species	Duration of bioconcentration experiment (day)	BCF in Ext ^{*1}	
<i>Sillago japonica</i>	1	(20.1±0.5°C) 9200± 600 ^{*2}	(25.0±0.3°C) 8000± 900
	2	12700± 700	12200
	4	18200± 400	17200± 500
	6	17200±3500	17900± 900
	8	17500±1100	18500±1800
	11	20900± 700	19500± 500
	14	20200± 300	22300± 300
<i>Rudarius ercodes</i>	1	(20.1±0.5°C) 13100 ^{*3}	(25.0±0.3°C) 13900
	3	19500	19400
	5	21100	20500
	8	22600	19700
	14	24900	26000
<i>Pagrus major</i>	1	(20.4±0.4°C) 10100± 600	(25.3±0.3°C) 13600± 500
	2	10400±2300	12200± 1800
	4	14500±1600	14200± 800
	6	17300±2200	15900± 700
	8	16800± 400	15600±1000
	14	18000±1300	20400±1500

*1 Bioconcentration factor in acetone extract of fish,

*2 mean±SD. *3 Mean of 2 samples

Table 2-6. Elimination rate constant of α -HCH by several kinds of fish species at two water temperatures of 20 and 25°C

Exp. No.	Species	Water temperature (°C)	Elimination rate constant (k_2) (day^{-1})
1	<i>Sillago japonica</i>	20.1±0.5 ^{*1}	0.527
2	<i>Sillago japonica</i>	25.0±0.3	0.837
3	<i>Rudarius ercodes</i>	20.1±0.5	1.010
4	<i>Rudarius ercodes</i>	25.0±0.3	1.524
5	<i>Pagrus major</i>	20.4±0.4	1.428
6	<i>Pagrus major</i>	25.3±0.3	1.697

*1 mean±SD.

1.428 day^{-1} 、25°C で 1.697 day^{-1} であった。検討した 3 魚種ともに k_2 は 20°C に比較して 25°C で大きく、25°C での k_2 は、20°C での k_2 に比較してシロギスで 1.59 倍、アミメハギで 1.51 倍、また、マダイで 1.19 倍であった。したがって、これら 3 魚種は 20°C に比較して試験水温の高い 25°C において速やかに α -HCH を排泄することが明らかであった。 k_1/k_2 の比が BCF であり、

また、BCF が水温によって変化しないことから k_1 は k_2 と同様に 20°C に比較して 25°C で大きいと推察される。すなわち、20°C に比較して 25°C では魚類による取り込み速度も大きいと推察されるので結果的にこれらの比である BCF は水温によって著しく変化しないと結論できる。

20°C~25°C の水温は、山口 (1971)、田中他 (1978) および木下他 (1992) の研究結果から判断してシロギス、アミメハギやマダイにとって好適な水温であると考えられる。したがって、BCF を求めることが目的であれば、生物濃縮試験は 20°C あるいは 25°C のいずれの水温で実施しても良いが、取込みや排泄の kinetics の解析や生物学的半減期の測定など k_1 や k_2 を議論しなければならぬ場合には、水温を厳密に調整して試験を実施するべきである。

4) 人工海水の試験用水としての適性評価

自然海水および人工海水 (APHA と LF) を用いて 14 日間の生物濃縮実験を行い、シロギスによる Cd, α -HCH, TBP および PCP-Na の BCF の試験用水による差異を比較した結果を Table 2-7 に示した。

Cd の試験期間 7 日 (n=3) および 14 日 (n=8) の BCF は、自然海水でそれぞれ 1.03 ± 0.24 , 1.66 ± 0.56 , APHA で 1.03 ± 0.30 , 1.52 ± 0.34 , LF で 0.80 ± 0.04 , 1.82 ± 0.26 であった。自然海水と人工海水の試験用水において、7 日と 14 日の両試験期間の BCF に著しい差異は認められず、人工海水を Cd の生物濃縮実験の試験用水として利用できることが明らかであった。

飼育水の α -HCH が $0.22 \mu\text{g/l}$ の実験 4 と 5 では、実験期間 7 日 (n=3) の α -HCH の BCF は、自然海水で 1120 ± 50 , APHA で 1230 ± 130 であり、また、14 日

(n=8) の BCF は自然海水と APHA でそれぞれ 1000 ± 100 および 1200 ± 300 であった。2 つの実験期間における BCF は、自然海水と人工海水によって著しい差は認められず、 α -HCH の BCF は 14 日の生物濃縮実験ではほぼ平衡状態に達していた。飼育水の α -HCH 濃度が $0.45 \mu\text{g/l}$ の実験 6 および 7 における実験期間 14 日 (n=8) の BCF は、自然海水で 620 ± 130 , LF で 600 ± 70 であり、BCF は自然海水, APHA および LF で著しく異ならなかった。すなわち、 α -HCH の BCF は自然海水と人工海水で大きな差はなかった。

TBP を用いた実験 8 と 9 では、自然海水での BCF は、実験期間 7 日 (n=3) で 41 ± 5 , 14 日 (n=8) で 44 ± 3 であり、また、LF を用いた実験の 7 日 (n=3) と 14 日 (n=8) の BCF は、それぞれ、 39 ± 3 と 42 ± 2 であった。以上の結果から、TBP の BCF は、自然海水と人工海水で著しい差はなかった。

自然海水を用いて測定した PCP-Na の BCF は、実験期間 7 日 (n=3) および 14 日 (n=8) でそれぞれ 360 ± 30 と 460 ± 60 であった。また、LF を用いた実験 11 では、BCF は 7 日 (n=3) で 380 ± 20 , 14 日 (n=8) で 530 ± 70 であった。BCF は、Cd, α -HCH, TBP と同様に自然海水と人工海水の間には有意差が認められなかった。

以上の結果から、Cd, α -HCH, TBP と PCP-Na の BCF は、自然海水と人工海水 (APHA および LF) において明確な差異 (1% の危険率で有意差) が認められないと要約される。(財) 残留農薬研究所の研究結果 (1992) は、マダイ 0 年魚を 56 日間自然海水および APHA (+ EDTA) と LF の人工海水で飼育したマダイにおいて、成長、行動、血液学および生化学的検査および病理学的

Table 2-7. Concentration and BCF of several kinds of chemicals in *Sillago japonica* by the bioconcentration experiments

Exp. No	Seawater	Hazardous chemical	Concentration in seawater ($\mu\text{g/l}$)	Concentration in fish ($\mu\text{g/g}$)	Bioconcentration factor (BCF)
1	natural	Cd	0.11 ± 0.01	0.18 ± 0.06	1.66 ± 0.56
2	APHA	Cd	0.11 ± 0.01	0.17 ± 0.04	1.52 ± 0.34
3	LF	Cd	0.12 ± 0.01	0.22 ± 0.03	1.82 ± 0.26
4	natural	α -HCH	0.22 ± 0.03	0.23 ± 0.03	1000 ± 100
5	APHA	α -HCH	0.22 ± 0.02	0.27 ± 0.06	1200 ± 300
6	natural	α -HCH	0.45 ± 0.08	0.28 ± 0.06	620 ± 130
7	LF	α -HCH	0.45 ± 0.12	0.27 ± 0.03	600 ± 70
8	natural	TBP	91 ± 4	4.00 ± 0.30	44 ± 3
9	LF	TBP	91 ± 2	3.78 ± 0.17	42 ± 2
10	natural	PCP-Na	12 ± 2	5.47 ± 0.78	460 ± 60
11	LF	PCP-Na	11 ± 2	5.84 ± 0.79	530 ± 70

The period of bioconcentration experiment was 14 days.
Eight individuals were used for the determination of BCF.

検査の結果は、人工海水と自然海水飼育魚で明確な差が認められなかった。一方、木下他 (1992) は、シロギスとアミメハギの成長と産卵を自然海水と人工海水で比較し、自然海水と人工海水で差がないことを確認した。これらの研究結果は、マダイ、シロギスやアミメハギが人工海水で正常に飼育されていることを示唆する。生物濃縮試験と魚類飼育実験の結果から、生物濃縮試験の試験用水として人工海水を使用することができ、また、主要な6種の塩類を用いて調製される人工海水 (LF) を使用しても差し支えないことが明らかであった。

既往の研究成果のまとめ

著者らの研究グループ (堀他 1995, 高柳他 1997) では、試験生物として各種の海産魚類を用いて①有害物質の溶解助剤の適性、②生物濃縮試験のための飼育密度並びに③飼料投与量の基礎的飼育条件を検討した。以下にその概要について述べる。

1) 溶解助剤の毒性と適性

難水溶性有害化学物質の生物濃縮試験では、これらの化学物質を試験用水に分散・溶解させる必要がある。溶解助剤としてアセトンや Dimethylsulfoxide (DMSO) 等の溶剤や Polyoxyethylene hydrogenated castor oil (HCO100) や Polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween 80) の界面活性剤がしばしば用いられる。これらの溶解助剤の毒性は海産魚と淡水魚とは異なることが推察され、海産魚を用いる毒性試験に使用できる溶解助剤の種類と量を検討する必要がある。このために、数種の溶解助剤のシロギスおよびアミメハギに対する急性毒性が堀他 (1995) によって検討され、その結果を Table 2-8 に示した。

Table 2-8. Acute toxicity of solvents and surfactants for *Rudarius ercodes* and *Sillago japonica*

Solvents and Surfactants	Acute toxicity (LC ₅₀ , mg/l)			
	<i>R. ercodes</i>		<i>S. japonica</i>	
	24hr	48hr	24hr	48hr
acetone	6,100	5,600	6,600	6,600
DMSO* ¹	27,000	24,000	13,000	11,000
HCO100* ²	>10,000	>10,000	>10,000	>10,000
Tween80* ³	>5,000	750	1,500	420

*¹ dimethyl sulfoxide

*² polyoxyethylene hydrogenated castor oil

*³ polyoxyethylene sorbitan monooleate

アセトンの 48h LC₅₀ は、シロギスとアミメハギで、それぞれ、5600 mg/l および 6600 mg/l であり、ヒメダカの 48h LC₅₀ (11200 g/l) に比較して約 1/2 であった。DMSO の 48h LC₅₀ は、シロギスで 24000 mg/l、アミメハギで 11000 mg/l であった。アミメハギに対する

DMSO の 48h LC₅₀ は、ヒメダカ (33000 mg/l) に比較して小さく、1/3 であった。HCO100 のシロギスおよびアミメハギによる 48h LC₅₀ は 10000 以上であった。試験用水中の HCO100 の濃度を 10000 mg/l 以上に設定できないために、シロギスおよびアミメハギの LC₅₀ とヒメダカの LC₅₀ (>100000 mg/l) を明確に比較することはできなかった。以上の三種類の溶解助剤の海産魚に対する急性毒性は淡水魚に比較してわずかに高い傾向であった。

一方、Tween 80 のシロギスとアミメハギによる 48h LC₅₀ は、それぞれ、750 mg/g および 420 mg/l であり、ヒメダカの 48h LC₅₀ (50000 mg/l) に比較してシロギスで約 1/70、アミメハギで約 1/120 と著しく小さかった。また、Tween 80 の LC₅₀ は、シロギスでは 24h と 48h の試験期間でそれぞれ >5000 mg/l および 750 mg/l、また、アミメハギでは 24h LC₅₀ は 1500 mg/l、48h LC₅₀ は 420 mg/l であり、試験期間が延長するにしたがって急激に小さくなった。したがって、Tween 80 の場合、魚体に蓄積されるにしたがってその毒性が次第に強く発現することが推察され、毒性の発現機構がアセトン、DMSO や HCO100 とは異なることが示唆される。

シロギスとアミメハギによる急性毒性実験において得られた最小の 48h LC₅₀ の 1/100 を溶解助剤の最大使用許容量とすると、アセトンで 56 mg/l、DMSO で 110 mg/l、HCO100 で 100 mg/l、また、Tween 80 で 4.2 mg/l と推定できる。Tween 80 の使用許容量が他の溶解助剤に比較して特に小さく、Tween 80 は海産魚を用いる毒性試験では使用できないと考えられる。

2) 試験魚の収容密度

小型水槽における魚類の収容密度は、飼育水の NH₄-N 濃度の増加や DO の低下から検討された。4段階 (2.3 g/l, 4.6 g/l, 6.9 g/l および 9.2 g/l) の収容密度でマダイ稚魚を流水式飼育装置 (飼育水槽に流量約 600 ml/分で注水し、1日に15回換水) を用いて56日間飼育し、試験魚の成長や飼育水の溶存酸素濃度および NH₄-N 濃度の変動を追跡し、収容密度を定めた (高柳他 1997)。

飼育水中の NH₄-N は、9.2 g/l の実験区で最も高く 31.9 μM であった。非イオン化アンモニアの濃度は 0.84 μM 以下であり、魚類に有害な影響を及ぼす濃度 (71 μM) に比較すると低い濃度であった。飼育水の溶存酸素飽和度は、2.3 g/l および 4.6 g/l の実験では56日の飼育実験終了時においても60%以下に低下しなかったが、6.9 g/l の実験区では飼育実験の35日以降、また、9.2 g/l の実験区では実験開始直後から溶存酸素飽和度が60%以下に低下した。マダイ稚魚の成長は、4.6 g/l および 6.9 g/l の実験区で他の実験区に比較して良かった。したがって、成長や飼育水の水質から判断すると、収容密度は飼育水槽の容積に対して 4.6 g/l 以下、1日に使用した

総水量当たりになると 0.3 g/l が適正であると考えられる。

溶存酸素の要求量がマダイとシロギスで著しく異ならないと考えられるのでシロギスの収容密度もマダイに準拠して定められる。

3) 飼料の投与量

有機塩素系化学物質のような脂溶性の有機化学物質の生物濃縮は、脂質濃度に影響される。したがって、脂溶性の化学物質の生物濃縮実験では、試験魚に過剰に脂質を蓄積させないようにする必要がある。例えば、未査定液体テストガイドラインでは、試験魚の脂質濃度は、3～10%と定められている。魚体の脂質濃度は飼料量によって変化するので、飼料投与量も検討する必要がある。

飼料としてマダイ用初期飼料（協和発酵製 C-2000）を選定し、平均体重 4 g のマダイ稚魚に 1 日当たり魚体重の 2%、4%、6% の飼料を投与して 56 日間の飼育実験を行った。マダイの成長、飼料効率や魚体の脂質濃度の変動から適正な飼料投与量を定めた（高柳他 1997）。

56 日の飼育実験の終了時のマダイ魚体重は、2%投与区で 8.2 g、4%投与区で 20.8 g、6%投与区で 17.7 g であり、4%投与区で成長が最も良かった。しかし、飼料効率は、4%および 6%投与区では 2%投与区に劣り、特に 6%投与区では残餌も認められた。マダイの脂質濃度は実験開始時の 3.8%から実験の終了時には 4%投与区で 5.7%に、また、6%投与区では 7.4%に増加した。したがって、成長は劣るが魚体脂質濃度を高くしないためには、1 日当たり体重の 4%以下の飼料投与量が妥当と判断される。

以上の本章で得られた研究成果をとりまとめた標準的な試験条件にしたがって第 3 章の有機スズ化合物の生物濃縮に関する魚類飼育実験を行った。

第 3 章 有機スズ化合物の蓄積および代謝・排泄

3.1 生物濃縮の魚種による差異

水生生物による有害物質の蓄積は、①水中に溶存する有害物質を鰓から濃縮する経路（経鰓濃縮 Bioconcentration）、②飼料中の有害物質を消化管から濃縮する経路（経口濃縮 Biomagnification）の大きく 2 経路に区分される。これら両者の濃縮経路が明確に区分できない生物濃縮を Bioaccumulation と定義されている（Connell 1988）。したがって、第 3 章では、これら濃縮経路別に有機スズ化合物の生物濃縮を検討し、有機スズ化合物の BCF の魚種による差異、有機スズ化合物の種類による BCF の差異、経口濃縮係数の把握、魚体内での濃縮部位および有機スズ化合物の代謝経路と排泄速度を明らかにする。

有機スズ化合物の生物濃縮は、二枚貝（Waldock and Thain 1983; Laughlin *et al.* 1986a; Wade *et al.* 1988;

Laughlin and French 1988; Zuolian and Jensen 1989; Ebdon *et al.* 1989; Batley *et al.* 1989a, 1989b) や巻貝（Bryan *et al.* 1987, 1989）で飼育実験あるいは野外で採集した生物の分析により研究されてきた。これらの研究により有機スズ化合物が水生生物に高濃度に蓄積されることが報告された。

魚類による有機スズ化合物の生物濃縮は主としてコイやニジマスなどの淡水魚を用いて研究され、Tsuda *et al.* (1988) は、多量の TBTO がコイに蓄積され、BCF は腎臓で 3200、胆嚢で 1300、肝臓で 600 および筋肉で 500 であることを報告した。64 日間の生物濃縮実験による TBTO のニジマスによる BCF は Martin *et al.* (1989) により 406 と報告された。Tas *et al.* (1990) は、取り込みおよび排泄の kinetics の解析あるいは 30 日間の曝露実験で TPTH の BCF はグッピーで 2100、ニジマスで 650 であることを明らかにした。汽水性のミノー（Ward *et al.* 1981）では、TBTO の BCF が 2600 であった。しかし、海産魚による有機スズ化合物の生物濃縮の報告例は少ない。

有機スズ化合物は、主として船底塗料の殺生物剤として使用されるために、海域に直接流入する。したがって、海洋環境の保全のためには海産生物を使用した影響評価（生物濃縮も含めて）が必要である。そこで、本節では、各種海産魚類による TBTO と TPTCl の生物濃縮実験を行い、BCF の魚種による差異を明らかにすることが目的である。

材料および方法

有機スズ化合物：酸化トリブチルスズ（TBTO; Aldrich 製）と塩化トリフェニルスズ（TPTCl; 東京化成製）を購入して使用した。TBTO および TPTCl の純度は、それぞれ 96% および 98% であったが、精製しないで本研究に用いた。

試験魚：本研究の試験魚としてマダイ *Pagrus major*、ボラ *Mugil cephalus*、アミメハギ *Rudarius ercodes* を用いた。マダイは（財）温水養魚開発協会で産卵・ふ化させた稚魚を入手した。ボラは研究所地先の荒崎海岸のタイドプールで、また、アミメハギは、研究所近くの小田和湾の藻場で採集した。これらの試験魚は、試験開始までに 2 週間以上配合飼料を投与しながら予備飼育し、健全な稚魚を選定して試験に用いた。試験魚の実験開始時における魚体重を Table 3-1 に示した。

魚類飼育装置および飼育方法：Fig. 3-1 に示した定濃度流水式魚類飼育装置を用いて魚類の飼育を行った。研究所地先の海水を活性炭ろ過筒を通した後にアクアトロンで水温を 20～25°C に調整した。海水は、魚類飼育水槽（容積；60 l）に 500 ml/min の流速で注水した。

TBTO あるいは TPTCl は、アセトン・ジメチルスル

Table 3-1. The experimental conditions: body weight, organotin concentration in the rearing seawater and water temperature

Organotin compounds	Species	Exp. No.	Initial body weight (g)	Organotin concentration (ng/l)	Water temperature (°C)
TBTO	<i>Pagrus major</i>	1	11.7±1.1	37.9± 8.1	21.2±0.8
		2	12.2±1.7	659±122	20.1±0.8
	<i>Mugil cephalus</i>	3	1.5±0.5	89.1±12.2	20.7±0.5
		4	3.2±0.8	122±16	22.6±1.1
	<i>Rudarius ercodes</i>	5	0.08	106±14	20.7±0.5
		6	0.30	116±17	20.7±0.5
TPTCl	<i>Pagrus major</i>	7	13.3±2.7	1650±190	24.5±0.5
		8	24.3±3.4	63.3±9.6	24.5±0.5
	<i>Rudarius ercodes</i>	9	1.1±0.2	148±17	19.8±0.1

TBTO: bis (tributyltin) oxide; TPTCl: triphenyltin chloride

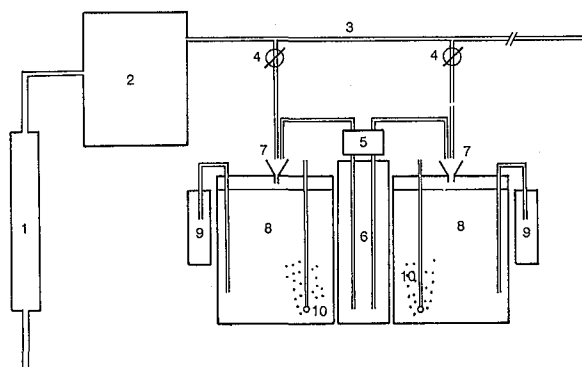


Fig. 3-1. The continuous flow-through system used in this research.

1, activated carbon column; 2, thermocontroller; 3, polyvinyl chloride pipe; 4, cock; 5, micro glass pump; 6, TBTO or TPTCl stock solution; 7, funnel; 8, aquarium; 9, overflow; and 10, air.

ホキシド (DMSO) 混液 (1:9 V/V) に溶解し, この有機スズ化合物溶液の 0.5~1.0 ml を 20 l の脱塩素した水道水に攪拌しながら希釈した。この有機スズ化合物溶液をガラスポンプ (東京理科器械; GMW-16A) を用いて 5 ml/分の流量で魚類飼育水槽に供給した。飼育水の有機スズ化合物濃度は, マダイに対する 48h LC₅₀ の 1/100~1/200 に設定した。また, 飼育水の TBT および TPT 濃度の実測値は, Table 3-1 に示した。

有機スズ化合物を含有する飼育水で第 2 章で述べた生物濃縮試験法を参考にして 56 日間魚類を飼育し, 有機スズ化合物の魚体への蓄積を調べた。蓄積実験の終了後有機スズ化合物を含有しない自然海水 (TBT 濃度は 5.7±2.8 ng/l) でさらに 14~28 日間飼育し, 魚体からの有機スズ化合物の排泄を調べた。魚体重の 3% の飼料 (協和発酵製海産魚初期飼料 C-3000) を投与した。また, 水槽内の溶存酸素濃度の低下を防止するために通気した。

この飼育条件下では, 試験期間中に魚類の異常な行動および死亡は認められなかった。

魚体の TBT あるいは TPT 濃度は, 蓄積実験の 2 週間毎に, また, 排泄実験の 1 週間毎に測定した。ボラおよびアミメハギの排泄実験では, 排泄実験の 3 日目に試験魚を取り上げ, 魚体重を測定し, このものの有機スズ化合物濃度も測定した。飼育水の TBT あるいは TPT 濃度は蓄積実験期間中に毎週測定した。

分析方法: TBT および TPT は高見他 (1987, 1988) の方法に準拠して分析した。海水の TBT と TPT は, 酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液 (3:2, V/V) を用いて塩酸性下で抽出し, 濃縮後, 陰・陽イオン交換樹脂を用いて精製した。精製された TBT 及び TPT は, *n*-プロピルマグネシウムブロミドを用いてプロピル誘導体に変換し, 炎光度計検出器を備えている高分解能ガスクロマトグラフ (GC-FPD) を用いて分析した。

試験魚を 1N 塩酸メタノールと酢酸エチルの混液 (1:1 V/V) でホモジナイズし, TBT および TPT を抽出した。抽出された TBT および TPT は, 海水試料で述べた方法に従って, 精製・誘導体化された後に GC-FPD を用いて分析した。TBT および TPT は, テトラブチルスズを内部標準に用いて内部標準法で定量した。本分析方法の誤差は 5% 以内であり, 定量限界は, 海水で 5 ng/l, 魚体試料で 0.01 µg/g であった。

魚体の脂質は, Bligh and Dyer (1959) に準拠し, クロロホルム-メタノール抽出法で定量した。マダイ, ボラ, アミメハギおよびシロギスの脂質含量は, 実験終了時において, それぞれ, 10~11%, 9~11% および 7% であった。

BCF および排泄速度定数の計算方法: 生物濃縮係数 (BCF) は次の (3-1) 式で計算した。

$$BCF_n = (CE_n - CB_n) / C_w \quad (3-1)$$

ここで、 BCF_n は n 週目の BCF , CE_n は n 週目の魚体の TBT (TPT) 濃度, CB_n は n 週目の対照実験の魚体の TBT (TPT) 濃度, また、 C_w は 8 週間の生物濃縮実験における飼育水の TBT (TPT) 濃度の平均値である。

排泄速度定数 (k_2) は次の (3-2) 式で計算された。

$$C_{f1} = C_{f0} e^{-k_2 t} \quad (3-2)$$

ここで、 C_{f0} は排泄実験開始時における魚体の TBT (TPT) 濃度, C_{f1} は排泄実験期間における魚体の TBT (TPT) 濃度, t は排泄実験期間, また、 k_2 は排泄速度定数である。

結果および考察

1) 魚体の TBT および TPT 濃度の変化

蓄積実験期間中のマダイ, ボラおよびアミメハギにおける TBT 濃度の変化を Fig. 3-2 に示した。対照実験のマダイの TBT 濃度は $0.03 \mu\text{g/g}$ 以下であり, また, 実験期間中に次第に低下した (実験 1)。一方, 実験区の魚体の TBT 濃度は生物濃縮実験の経過とともに著しく高くなった。したがって, これらの結果から飼育水の TBT がこれらの魚類によって蓄積されたことが明らかであった。ボラの TBT 濃度は, 実験開始時の $0.06 \mu\text{g/g}$ から 8 週間の生物濃縮実験の終了時には $0.37 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ に増加した (実験 4)。アミメハギの TBT 濃度の変化はボラに類似していた。アミメハギの TBT 濃度 (実験 6) は, 8 週間の生物濃縮実験の間に 0.03 から $0.37 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$ に増加した (Fig. 3-2 (D))。Fig. 3-2 (C) および (D) に示したように, アミメハギの大きさによって TBT 濃度に著しい差異は認められなかった。また, ア

ミメハギおよびボラの実験において, TBT 濃度は 6 週と 8 週で大きな差はなく, TBT 濃度が 6 週間の生物濃縮実験で平衡状態に達していることが示唆された。マダイの TBT 濃度 (実験 1) は, 実験開始時の $0.03 \mu\text{g/g}$ から生物濃縮実験の 6 週では $0.41 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$ に増大したが, 生物濃縮実験の 8 週では $0.36 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$ に僅かに低下した (Fig. 3-2 (A))。したがって, TBT の濃度変化からマダイ中 TBT 濃度が平衡状態に達しているかどうかは明確でなく, さらに長期の生物濃縮実験が必要であると推察される。Connell (1988) の取り込み・排泄の kinetics の解析によれば, 魚体中濃度が平衡状態に達するまでに必要な時間は排泄速度定数 (k_2) から計算できる。魚体中濃度が平衡状態になるまでに要する時間は, マダイで 192 日, ボラで 89 日, また, アミメハギで 49~59 日であった。

海産魚が浸透圧調整のために海水を飲むことは一般的によく知られている。Maetz (1970) は, 海水に馴化したマミチヨグ *Fundulus heteroclitus* とティラピア *Oreochromis mossambicus* が摂取する海水量を測定した。これら 2 種の魚類の海水を飲む速度は $1 \sim 2 \text{ ml/h/100 g fish}$ であった。マダイの海水飲水量がマミチヨグやティラピアと同じレベルと仮定し, また, マダイが飲んだ海水中の TBT が全て消化管から吸収されると仮定すると, 2 週間の生物濃縮実験の間にマダイに蓄積された TBT 濃度は $0.13 \sim 0.26 \text{ ng/g}$ に相当する。この濃度は, Fig. 3-2 (A) に示したように生物濃縮実験 2 週間のマダイ中 TBT 濃度 ($0.15 \mu\text{g/g}$) に比較すると著しく小さい。したがって, マダイに蓄積された TBT の大部分は鰓からの吸収に由来し, 海水中の TBT を消化管から吸収する経路は小さいことが明らかである。立川・澤村 (1988) もヒメダカ *Oryzias latipes* によるペンタクロロ

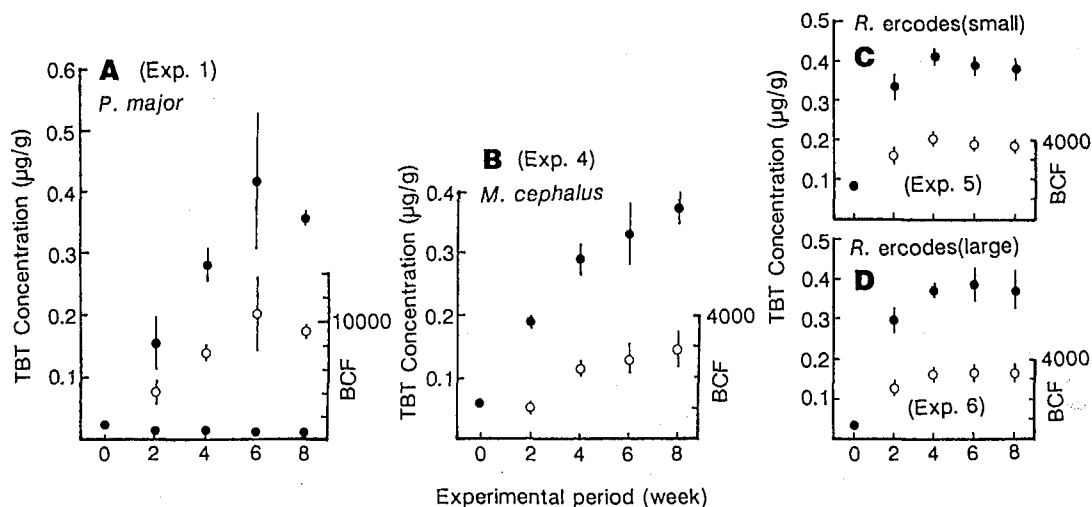


Fig. 3-2. Changes in the TBT concentration and BCFs with time in the three marine fishes during the 8-week bioconcentration experiment.

●, TBT concentration; ○, BCF. Bars indicate the standard deviation.

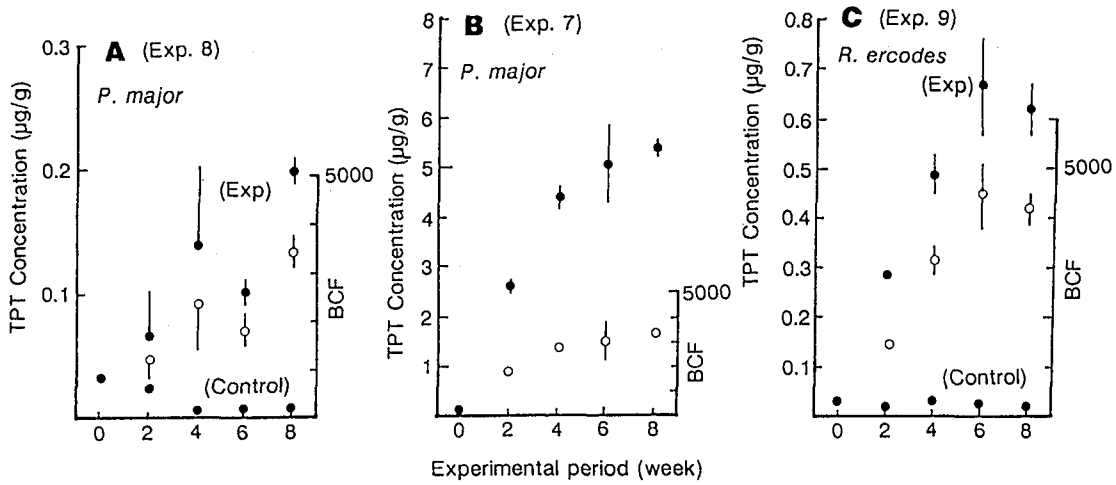


Fig. 3-3. Changes in the TPT concentration and BCFs with time in *P. major* and *R. ercodes* during the 8-week bioconcentration experiment.
 ●, TPT concentration; ○, BCF. The TPT concentrations in the rearing seawater of (A), (B) and (C) in this figure were 63, 1650 and 148 ng/l, respectively. Bars indicate the standard deviation.

フェノールの生物濃縮において、海水のペンタクロロフェノールの消化管を通した蓄積は少なく、ヒメダカに蓄積されたペンタクロロフェノールのたかだか0.2%であることを報告した。この結果は、本研究のTBTの結果とも一致するものであり、海水に溶存する有害物質の取り込みは鰓を中心にして行われることが確認された。

マダイ (実験7, 8) とアミメハギ (実験9) によるTPTの生物濃縮における魚体内濃度の変化をFig. 3-3に示した。TPT濃度が63 ng/l (実験8) および1650 ng/l (実験9) の海水で飼育されたマダイのTPT濃度は、8週間の生物濃縮実験終了時には、それぞれ、 $0.197 \pm 0.011 \mu\text{g/g}$ および $5.44 \pm 0.15 \mu\text{g/g}$ に増加した。マダイの2つの実験 (Fig. 3-3 (A), (B)) を比較すると、マダイのTPT濃度は飼育水中TPT濃度に依存し、飼育水濃度が高い実験で魚体の濃度も高くなった。アミメハギのTPT濃度 (実験9) は、実験開始時の $0.025 \mu\text{g/g}$ から8週間の生物濃縮実験終了時には $0.622 \pm 0.056 \mu\text{g/g}$ へと上昇した。アミメハギの生物濃縮実験の6週と8週におけるTPT濃度の差は小さく、魚体中TPT濃度は8週間でほぼ平衡に達していると考えられた。

2) 魚体からのTBTの排泄

マダイ、ボラおよびアミメハギの排泄実験における魚体内TBT濃度の変化をFig. 3-4に示した。これらの魚類のTBT濃度は排泄実験の試験期間が長くなるに従って次第に低下し、魚体のTBT濃度の経時的変化は(3-2)式を用いて解析された。魚体の濃度と排泄実験期間の間の相関係数は、マダイで-0.78、ボラで-0.68およびアミメハギで-0.94~-0.97であり、有意であった。回帰直線の傾きが排泄速度定数 (k_2) であるが、 k_2 はマダイで 0.024 day^{-1} 、 0.052 day^{-1} 、アミメハギで $0.078 \sim$

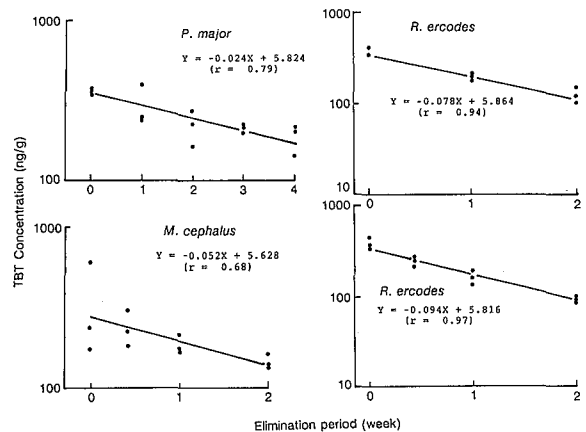


Fig. 3-4. Changes in the TBT concentrations with time in the three marine fishes during the elimination experiments.

Table 3-2. The BCF, elimination rate constant and biological half-life of TBT in three marine fishes

Species	BCF	Elimination rate constant (k_2) (day^{-1})	Biological half-life ($t_{1/2}$) (day)
<i>Pagrus major</i>	9400-11000	0.024	28.8
<i>Mugil cephalus</i>	2300- 3000	0.052	13.4
<i>Rudarius ercodes</i>	3200- 3600	0.078-0.094	7.4-8.9

0.094 day^{-1} であった。 k_2 から計算した生物学的半減期をTable 3-2に示したが、マダイの生物学的半減期は28.8日であり、ボラ (13.4日) やアミメハギ (7.4~8.9日) に比較して2~4倍であった。これらの結果はマダイがボラおよびアミメハギに比較して効率的にTBTを排泄できないことを示唆する。

3) TBTO と TPTCI の生物濃縮係数

(3-1)式を用いて計算された TBTO と TPTCI の BCF を既往の値とともに Table 3-3 に示した。マダイとアゴハゼ *Chasmichthys dolichognathus* (清水・木村 1987) は高濃度に TBT を蓄積し、BCF は8000~10000であった。他方、ボラやアミメハギの魚体の TBT 濃度は低く、これらの魚類による TBTO の BCF は、2400と3600の範囲であった。また、本研究で測定した海産魚による TBTO の BCF は、コイ (Tsuda *et al.* 1988) やニジマス (Martin *et al.* 1989) などの淡水魚の値に比較して大きかった。マダイによる TBTO の BCF は、汽水性のミノ *Cyprinodon variegatus* (Ward *et al.* 1981) に比較しても大きかった。魚類以外の生物による TBTO の BCF は二枚貝や巻貝で測定され、その値は、マガキで 1500~4000 (Osada *et al.* 1993), 2300~11400 (Waldock and Thain 1983), ムラサキイガイで 1500~7300 (Laughlin, Jr and French 1988), ヨーロッパチジミボラ *Nucella lapillus* で 6000~20000 (Bryan *et al.* 1987) および *N. lima* で 2200~2900 (Stickle *et al.* 1990) が報告されている。マダイによる TBTO の BCF をこれらの値と比較すると、マダイは TBTO を比較的

高濃度に濃縮する生物であることは明らかである。

BCF の大きいマダイの k_2 は、ボラやアミメハギなど BCF の小さい魚類の k_2 に比較して小さかった。この結果は、BCF が k_2 に依存すること、すなわち TBT を効率的に排泄できる魚種は多量な TBTO を蓄積しないものと推察される。

Murphy and Murphy (1971) は、魚体が小さいほど多量な有害物質を蓄積することを報告したが、第2章の α -HCH の試験でも BCF は魚体の大きさに関連性がなく、本研究の2種類の大きさのアミメハギの試験でも BCF は魚体の大きさにより変動することは認められなかった。

マダイによる TBTO の BCF は、飼育水中の TBT 濃度が 659 ng/l の実験 (実験2) に比較して飼育水中濃度が 38 ng/l の実験 (実験1) で大きかった。この結果から海産魚による TBTO の生物濃縮において濃度依存性が推察され、飼育水中 TBT 濃度が高い場合には BCF が小さくなることが示唆された。

Table 3-3 に示したように、マダイおよびアミメハギによる TPTCI の BCF は、それぞれ 3100~3300 および 4100 であった。これらの海産魚による TPTCI の BCF

Table 3-3. The BCFs of TBTO and TPTCI in marine fish

Organotin compounds	Species	Exp. No.	Concentration (ng/l)	Period (day)	BCF	Reference
TBTO	<i>Pagrus major</i>	1	38	14	4100±1200	This study
				28	7400±700	
				42	11000±3000	
				56	9400±100	
		2	659	14	2500±100	This study
				28	4800±1300	
				42	5200±100	
				56	5000±300	
	<i>Mugil cephalus</i>	3	89	56	2400±200	This study
				56	3000±200	
	<i>Rudarius ercodes</i>	5	106	56	3600	This study
				56	3200±400	
<i>Chasmichthys dolichognathus</i>			84	2000-3000	Shimizu & Kimura (1987)	
			84	3000-5000		
			84	8000-11000		
<i>Cyprinodon variegatus</i>			1600	58	Whole body 2600	Ward <i>et al.</i> (1981)
					Muscle 1800	
					Head 2100	
			180-1000	117	Entrails 4500	
					Muscle 1600	
					Entrails 3900	
TPTCI	<i>Pagrus major</i>	7	1650	56	3300±80	This study
				56	3100±200	
	<i>Rudarius ercodes</i>	9	148	56	4100±400	This study

は、コイ (Tsuda *et al.* 1987) やニジマス (Tas *et al.* 1990) の淡水魚に比較して大きかったが、Tas *et al.* (1990) によって報告されているグッピー *Poecilla reticulata* とほぼ同レベルであった。マダイによる TPTCl の BCF は TBTO に比較して小さいが、アミメハギでは TBTO と TPTCl の蓄積に差はなかった。したがって、TBTO と TPTCl の代謝が魚種によって相違することが推察され、代謝の差異が BCF を変化させる重要な要因であると考えられる。マダイでは、飼育水の TPT 濃度による BCF の差は小さく、TPTCl の生物濃縮には TBTO において認められたような飼育水の TPT 濃度への依存性が認められなかった。魚類による有機スズ化合物の蓄積・排泄の機構の有機スズ化合物の種類による差異はさらに検討される必要がある。

有害物質の BCF が、オクタノール・水分係数 (Pow) に依存することは多くの有害物質によって確認されている (Davies and Dobbs 1984)。Table 1-3 に示した Pow (TBTO; 3.3, TPTCl; 2.0) と Davies and Dobbs (1984) が提案した BCF と Pow との関係式を用いて TBTO と TPTCl の BCF を求めると、BCF は TBTO で 146, TPTCl で 28 と計算される。すなわち、本研究で測定した TBTO と TPTCl の BCF は Pow からの推定値とは大きく異なる。この差異が海産魚類による取り込み・排泄機構に依存するのか、あるいは TBTO や TPTCl の海水中での化学形態によるのか不明であるが今後の重要な研究課題である。

4) マダイの組織・器官における TBT および TPT 濃度

TBT あるいは TPT を含有する飼育水中で 8 週間飼育されたマダイから頭部、肝臓、鰓、消化管 (腹腔内脂肪を含む)、筋肉、皮膚および残部 (腎臓を含む) の 7 部位を採取し、それぞれについて TBT と TPT 濃度および脂質含量を測定した。TBT および TPT 濃度と脂質含量との関係を Fig. 3-5 に示した。これから明らかなように、TBT および TPT 濃度と脂質含量との間には明瞭な

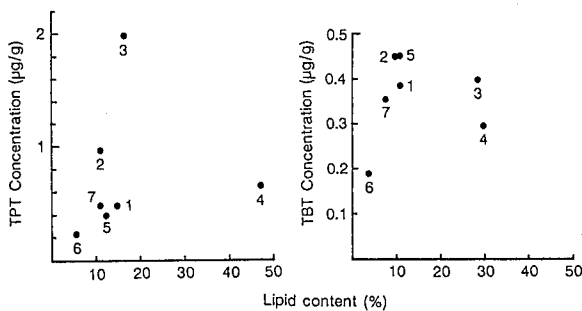


Fig. 3-5. The relationships between the TBT or TPT concentration and lipid content in several tissues and organs of *P. major*. 1, head; 2, gill; 3, liver; 4, digestive tracts; 5, skin; 6, muscle; and 7, the residue.

関係を見いだすことができなかった。TBT 濃度は皮膚と鰓で最も高く、肝臓、頭部、残部、消化管および筋肉の順に低下した。一方、TPT 濃度は肝臓で最も高く、鰓、消化管、頭部、残部、皮膚および筋肉の順に低下した。TBT および TPT 濃度は、定量した組織・器官では筋肉で低く、Ward *et al.* (1981) や Tsuda *et al.* (1987, 1988) による結果と同様であった。マガキによる TBTO の生物濃縮による研究 (Li *et al.* 1997) では、TBT 濃度は鰓で最も高く、生殖腺と消化管、外套膜、閉殻筋の順に濃度が低下することが報告されている。TBTO が筋肉に蓄積されない傾向は、マダイと同様にマガキでも認められた。各組織・器官毎の濃度差は、TBT に比較して TPT で大きく、また、マダイ魚体内での TPT と TBT の分布パターンは異なっていた。このことは、マダイでこれら 2 種の有機スズ化合物の代謝、魚体内での分配、移動が異なることが示唆され、さらに、TBTO の鰓や皮膚への吸着の可能性も否定できない。

トリアルキルスズはアミノ酸、ペプチドあるいは蛋白質に結合することが報告されている (Davies and Smith 1980)。メチル水銀 (有馬・梅本 1976) でも報告されているようにトリアルキルスズと蛋白質との結合には SH 基が関与し、蛋白質との結合は魚体内での分布を変化させるものと考えられる。したがって、TBT や TPT の魚体内での分布が脂質含量に依存するものではなく、PCBs などの脂溶性物質と異なることが明らかである。

要 約

有機スズ化合物の BCF を数種の海産魚について比較検討した。これらの BCF の値は海産魚について初めて測定されたものであり、本研究で測定した BCF は淡水魚による既往の値に比較すると大きかった。これら海産魚による新知見は以下のように要約される。

- ① マダイ、ボラおよびアミメハギによる TBTO の BCF は、それぞれ 9400~11000, 2400~3000, 3200~3600 であった。マダイは TBT の排泄が遅いために BCF が大きく、検討した魚種の中で最も大きかった。TBTO の BCF は飼育水の TBT 濃度に依存し、飼育水の TBT 濃度が低い時に大きな BCF が得られた。
- ② TPTCl の BCF は、マダイで 3100~3300, アミメハギで 4100 であった。マダイによる TPTCl の BCF は飼育水中の TPT 濃度に関係なかった。TBTO と TPTCl の BCF は、Pow から推定した値に比較して著しく大きかった。
- ③ TBTO や TPTCl の蓄積は、マダイ筋肉では他の組織・器官に比較して小さかった。そして各組織・器官における TBT および TPT 濃度と脂質含量の間には明確な関連性が認められなかった。

TBTO および TPTCl の魚体内での分布・挙動が PCBs などの脂溶性有害物質と異なることが示唆された。

3.2 有機スズ化合物の種類による取り込み・排泄の kinetics の差異

有機スズ化合物は緒言でも述べたように Sn 原子にアルキル基が共有結合した化合物の総称であり多くの化合物が存在する。アルキル基が1個結合したモノ体, 2個結合したジ体, 3個結合したトリ体および4個結合したテトラ体がある。Sn 原子には, エチル基からヘキシル基までのアルキル基が, またフェニル基が結合することもある。結合するアルキル基の種類と数によって有機スズ化合物の物性や生物への影響は著しく異なり, 一般にブチル基やフェニル基が結合するトリ体が生物に対する毒性が強いため船底塗料や防汚剤の殺生物剤として使用されてきた。

殺生物剤として主として使用されてきたトリブチルスズ化合物は Sn 原子に結合する陰イオンによって多くの種類がある。これら各種の有機スズ化合物の Pow は, Table 1-3 に示したように異なるが, これら各種の有機スズ化合物の魚類への生物濃縮は必ずしも明らかにされていない。そこで, 有機スズ化合物汚染の対策に資するために有機スズ化合物の種類と海産魚類による蓄積・排泄 kinetics や BCF の差異を明らかにし, さらに各種有機スズ化合物の蓄積・排泄機構を考察することが本節の目的である。

材料および方法

試験魚: (財) 温水養魚開発協会で産卵・ふ化させたマダイ稚魚を試験に用いた。研究所に運搬後2週間以上予備飼育して試験に用いた。実験開始時のマダイの大きさは, Table 3-4 に示した。

有機スズ化合物: 本研究に用いた有機スズ化合物の種類と Pow などを Table 1-3 に示した。トリブチルスズ化合物として TBTO, TBTCI, TBTAc, TBTf および TBTBr を, また, トリフェニル化合物として TPTCl および TPTAc を用いた。5種類の TBT 化合物は Aldrich 製を, また, 2種類の TPT 化合物は東京化成製を使用した。TBTBr の純度が90%であるが, その他の化合物の純度は96%以上であり, 精製しないで試験に用いた。試験生物の飼育方法: 3-1 において述べた方法に準じて行った。

分析方法: 3-1 の方法と同様にして行った。

解析方法: 生物濃縮および排泄実験における魚体中の TBT および TPT 濃度の経時変化を (3-3) および (3-4) 式のコンパートメントモデルを用いて取り込み速度定数 (k_1) および排泄速度定数 (k_2) および (3-5) 式により平衡状態での BCF を計算した。

$$C_{f1} = (k_1/k_2) C_w (1 - e^{-k_2 t}) \quad (3-3)$$

$$C_{f3} = C_{f2} e^{-k_2 t} \quad (3-4)$$

$$BCF_{eq} = k_1/k_2 \quad (3-5)$$

ここで, k_1 は取り込み速度定数 ($ml/g/day$), k_2 は排泄速度定数 (day^{-1}), C_w は飼育水の有機スズ化合物濃度 ($\mu g/l$), C_{f1} は生物濃縮実験における魚体の有機スズ化合物濃度 (ng/g), C_{f2} は排泄実験開始時における有機スズ化合物濃度 (ng/g), C_{f3} は排泄実験における有機スズ化合物濃度 (ng/g), t は濃縮および排泄実験の期間 (day) であり, BCF_{ep} は平衡状態での BCF である。

結果及び考察

1) 有機スズ化合物による BCF の差異

5種類の TBT 化合物と2種類の TPT 化合物のマダイによる BCF を Table 3-5 にまとめて示した。TBT 化合物の BCF は, TBTO で 9400 ± 100 , TBTCI で $6800 \pm$

Table 3-4. The experimental conditions: body weight, organotin concentration in the rearing seawater and water temperature

Organotin compounds	Species	Exp. No.	Initial body weight (g)	Organotin concentration (ng/l)	Water temperature (°C)
TBTO	<i>Pagrus major</i>	1	11.7±1.1	37.9± 8.1	21.2±0.8
TBTCI		2	8.7±0.8	51.9± 5.5	20.1±0.8
TBTAc		3	7.5±1.0	75.4± 7.4	20.1±0.8
TBTf		4	7.8±1.5	76.1±10.7	20.7±0.5
TBTBr		5	7.8±1.5	122.7±15.7	20.7±0.5
TPTCl	<i>Pagrus major</i>	6	8.0±1.1	83.1± 9.3	20.7±0.5
TPTAc		7	7.9±1.2	122.1±19.6	20.7±0.5

TBTO: bis (tributyltin) oxide, TBTCI: tributyltin chloride, TBTAc: tributyltin acetate, TBTf: tributyltin fluoride, TBTBr: tributyltin bromide, TPTCl: triphenyltin chloride, TPTAc: triphenyltin acetate

Table 3-5. BCF, uptake rate constant (k_1), and elimination rate constant (k_2) of several organotin compounds

Exp. No.	Organotin compound	log Pow	BCF	k_1 (ml/g/day)	k_2 (day ⁻¹)	k_1/k_2
1	TBTO	3.31	9400±100	324.13	0.024	13500
2	TBTCl	1.9	6800±900	174.05	0.029	6000
3	TBTAc	2.3	5400±600	169.49	0.031	5500
4	TBTF	2.3	5300±500	249.95	0.044	5700
5	TBTBr	1.7	5500±600	226.19	0.035	6500
6	TPTCl	2.0	3100±200	119.61	0.037	3200
7	TPTAc	2.5	4100±600	154.86	0.032	4800

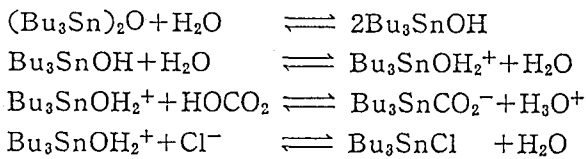


Fig. 3-6. Equilibrium of TBTO in seawater.

900, TBTAc で 5400±600, TBTF で 5300±500, また, TBTBr で 5500±600 であった。TBTO は他の TBT 化合物に比較して BCF が大きい, TBT に結合する陰イオンの種類による BCF の差はなかった。Laughlin *et al.* (1986b) は, 海水中に溶存する TBTO が Fig. 3-6 に示す平衡状態で種々の分子種の混合物として TBTO あるいは TBTCl として存在することを報告した。したがって, TBTO を海水に溶存させた場合に, 加えた TBTO の一部分は TBTO として存在するが, TBTCl などの TBT 化合物を溶存させた場合には少なくとも TBTO としては存在し得ない。また, TBTCl, TBTF や TBTBr は海水に溶存した時に類似した形態で存在することが推察される。したがって, TBTO と他の TBT 化合物の BCF が異なること, また, TBTO 以外の TBT 化合物の BCF が著しく異なることは水中でのこれらの化合物の存在状態に依存していることが示唆された。

TPTCl と TPTAc の 2 種類の TPT 化合物の BCF は, それぞれ 3100±200 および 4100±600 であり, TPT 化合物の種類による差は小さかった。TBTCl などの TBT 化合物と同様に, TPTCl と TPTAc の海水中での存在状態が類似しているために, これらの BCF に著しい違いが認められないものと考えられる。

有機スズ化合物の BCF と Pow との関係を図 3-7 に示した。測定された BCF は, 有機塩素系化合物や有機リン化合物に比較して大きく, また, BCF と Pow との間には明確な相関関係が認められなかった。すなわち, 有機スズ化合物の BCF は単純に Pow から推定できないことが明らかになった。

2) 有機スズ化合物による k_1 および k_2 の差異

マダイによる 5 種類の TBT 化合物と 2 種類の TPT 化

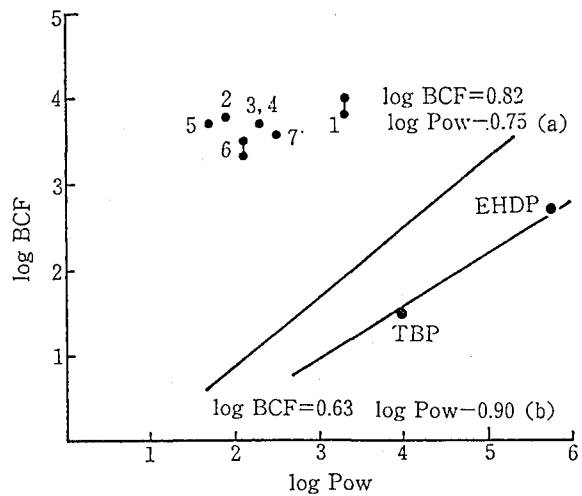


Fig. 3-7. Relationships between BCF and Pow. 1, TBTO; 2, TBTCl; 3, TBTAc; 4, TBTF; 5, TBTBr; 6, TPTCl; 7, TPTAc; 8, TBP. Equation (a) was calculated by Hoshikawa *et al.* (1983), equation (b) was obtained from BCF of phosphoric triesters. (Yamada 1987)

合物の取り込みと排泄の実験における魚体の有機スズ化合物濃度の変化を TBT 化合物の場合を一例として Fig. 3-8 に示した。これら魚体の濃度の経時変化を compartment model (3-3) (3-4) 式を用いて解析し, 各種有機スズ化合物の k_1 および k_2 を求めた。この結果を Table 3-5 にまとめて示した。

TBTO, TBTCl, TBTAc, TBTF および TBTBr の 5 種類の TBT 化合物の k_2 は, それぞれ, 0.024, 0.029, 0.031, 0.044 および 0.035 day⁻¹ であり, TBTF および TBTBr の k_2 が他の TBT 化合物に比較して大きい傾向であるが, 著しい差異は認められなかった。マダイの各組織・器官における TBTO と TBTCl の分布が類似し, さらに排泄速度が著しく異なることからマダイに取り込まれた TBTO と TBTCl は, 同様な存在状態で同様な代謝経路により代謝・排泄されることが推察される。さらに, TBTAc, TBTF および TBTBr も魚体内で TBTO や TBTCl と同様な挙動を示すと考えられる。

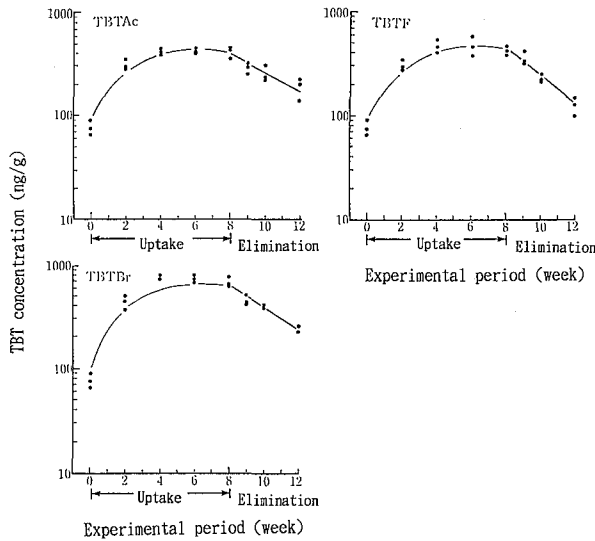


Fig. 3-8. Changes in TBT concentration in bioconcentration and elimination experiment of several kinds of TBT compounds.

k_1 は TBTO で 324 ml/g/day であるのに対し, TBTCI, TBTAc, TBTF および TBTBr では, それぞれ, 174, 169, 250 および 226 ml/g/day で 170~250 ml/g/day の範囲にあり, TBTO に比較して小さい傾向であった。このことは, 海水中の TBT の存在形態の考察において述べたように, TBTO と TBTCI などの TBT 化合物の海中での存在形態の相違によるものと考えられる。

TPT 化合物の k_2 は TPTCI で 0.037 day^{-1} , TPTAc で 0.032 day^{-1} であり, TPTCI と TPTAc で大きな差異は認められなかった。また, k_1 も TPTCI および TPTAc でそれぞれ 112 および 155 ml/g/day である。したがって, マダイによる TPTCI と TPTAc の取り込みおよび排泄が著しく異なるらないために BCF も著しく変化しないことが明らかであった。

Hawker and Connell (1988) は, 魚類による多くの有機塩素系化合物の取り込み, 排泄および蓄積の kinetics を解析して, k_1 および k_2 が Pow に関連することを明らかにした。すなわち, k_1 および k_2 が (3-6) (3-7) 式に近似することを確認した。

$$k_1 = 0.048 \text{ Pow} / (1.42 \times 10^{-3} \text{ Pow} + 12.01) \quad (3-6)$$

$$1/k_2 = 1.42 \times 10^{-3} \text{ Pow} + 12.01 \quad (3-7)$$

ここで k_1 および k_2 の単位は, それぞれ, ml/g/h, h^{-1} である。(3-6) および (3-7) 式を図示すると, Fig. 3-9 に示した図の曲線になる。マダイによる各種有機スズ化合物の k_1 および k_2 を Fig. 3-9 に合わせて図示すると, k_2 は Pow に依存しないことが明らかであった。一方, k_1 は Pow の小さい有機スズ化合物で小さい傾向であり, TBT 化合物の k_1 と Pow との間に $\log k_1 = 0.134 \log \text{Pow} + 0.659$ の関係が求められた。しかし, その相関係数は

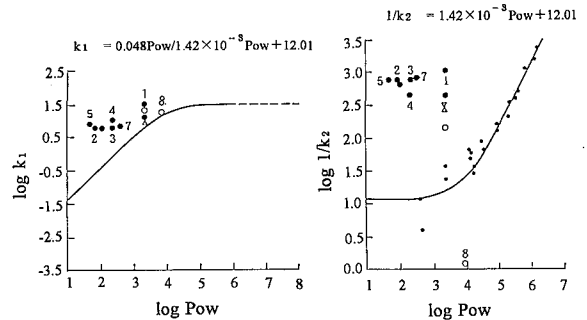


Fig. 3-9. The relationships between k_1 or k_2 and Pow.

●, *P. major*; ○, *M. cephalus*; △, *R. ercodes*;
1, TBTO; 2, TBTCI; 3, TBTAc; 4, TBTF; 5, TBTBr;
6, TPTCI; 7, TPTAc; 8, TBP.

0.71 であり, 有意な相関関係ではなかった。したがって, TBT 化合物の k_1 は Pow に依存しないと考えられる。このように有機スズ化合物では, k_1 が Pow からの推定値よりも大きく, また, k_2 が推定値より小さいために結果的に測定された BCF が Pow に依存しなく, かつ推定値に比較して著しく大きくなることが考えられる。

要 約

本節では, 有機スズ化合物の取り込みと排泄の kinetics を解析した結果, 有機スズ化合物の取り込みおよび排泄が有機塩素系化学物質とは以下に要約する点において異なることが明らかになった。

- ① マダイによる TBTO の BCF は, TBTCI などの他の TBT 化合物の BCF より大きい, 一方, TBTCI など TBTO 以外の TBT 化合物の BCF には大きな差がなかった。これらの TBT 化合物による BCF の差には水中での TBT 化合物の形態が関連していることが示唆された。
- ② 有機スズ化合物の k_1 および k_2 は, ともに有機塩素系化合物で認められているように Pow に依存しなかった。 k_1 が Pow からの推定値に比較して大きく, また k_2 が推定値に比較して小さかった。したがって, k_1/k_2 の比である BCF は, 結果的に Pow からの推定値に比較して著しく大きくなることが明らかであり, BCF が Pow から推定できないことが確認された。

3.3 マダイによる有機スズ化合物の経口濃縮

経口濃縮による有害物質の蓄積の評価は, 有害物質の水域生態系を構成する食物連鎖による濃縮の検討において重要であり, また, 有害物質の水域環境におけるリスクの評価においても基礎的で重要な情報である。

有機スズ化合物の経口濃縮は, 試験生物としてムラサキガイ *Mytilus edulis* (Laughlin *et al.* 1986a), カニ *Rhithropanopeus harrisi* (Evans and Laughlin 1984),

Table 3-6. Experimental conditions for the bioaccumulation of organotin compounds by dietary and/or direct uptake from water

Exp. No.	Organotin in feed	Kind of feed	Concentration in seawater (ng/l)	Concentration in feed ($\mu\text{g/g}$)	Initial body weight (g)
1	TBT	No. 2	67.3 ± 8.4	0.944 ± 0.105	6.6 ± 1.1
2	—	Formula (C-3000)	59.2 ± 5.1	0.008 ± 0.001	7.0 ± 1.2
3	TBT	No. 2	14.9 ± 2.0	0.944 ± 0.105	7.0 ± 1.3
4	TBTO	No. 1	10.9 ± 1.2	0.887 ± 0.025	7.2 ± 1.3
5	TBTCl	No. 1	11.2 ± 1.4	0.913 ± 0.048	7.5 ± 1.3
6	—	Formula (C-3000)	7.7 ± 1.4	0.008 ± 0.001	7.1 ± 0.9
7	TPT	No. 2	79.4 ± 19.5	0.322 ± 0.027	8.2 ± 1.1
8	—	Formula (C-3000)	83.1 ± 9.3	<0.005	8.0 ± 1.4
9	TPT	No. 2	<5	0.322 ± 0.027	7.8 ± 1.1
10	—	Formula (C-3000)	<5	<0.005	7.7 ± 1.5
11	TPTCl	No. 1	<5	1.084 ± 0.054	4.8 ± 0.8
12	TPTCl	No. 1	<5	8.310 ± 1.620	4.7 ± 0.7
13	—	Formula (C-3000)	<5	<0.005	5.6 ± 1.0

巻貝 *Nucella lima* (Stickle *et al.* 1990), 巻貝 *N. lapillus* (Bryan *et al.* 1989) やキンギョ (Tsuda *et al.* 1991) を用いて研究された。これらの研究によると TBTO の経口的蓄積に係る濃縮係数 (Biomagnification Factor; BMF) は 0.2~0.5 の範囲であり, 生物中濃度は餌料中濃度以上にはならなかった。Evans and Laughlin (1984) は, 経鰓的蓄積では TBTO が鰓に蓄積するのに対し, 経口的蓄積では肝臓に蓄積されることを明らかにし, 蓄積経路によって濃縮部位が異なることを報告した。しかし, 海産魚類については有機スズ化合物の経口的蓄積についてはほとんど解明されていない。

したがって, 本研究では, 試験生物としてマダイ *Pagrus major* を用い, 飼育水からの経鰓蓄積, 飼料中有機スズ化合物の経口濃縮, また, 両経路による蓄積を長期間の飼育実験で検討した。これらの結果から, TBT および TPT 化合物の BMF, 取込み・排泄の kinetics および蓄積経路による魚体内分布の差異を明らかにした。さらに, 有機スズ化合物の食物連鎖を通じた蓄積の可能性について考察した。

材料及び方法

有機スズ化合物: 試薬の TBTO と TBTCl (Aldrich 製) および TPTCl (東京化成製) を使用した。TBTO, TBTCl および TPTCl の純度は, それぞれ, 96, 96 および 98% であったが, 精製しないで試験に使用した。
 試験魚: (財) 温水養魚開発協会で産卵・ふ化させ, 配合飼料 (協和発酵 C-1000 あるいは C-3000) を投与して予備飼育したマダイを試験に用いた。実験開始時のマダイの大きさは Table 3-6 に示したように 4.7~5.6 g, 6.6~7.5 と 7.7~8.2 g の 3 グループである。これらのマダイ

には, Fig. 3-10 に示したように低濃度ではあるが実験開始時に TBT が検出され, その濃度は $0.010 \pm 0.002 \mu\text{g/g}$ であった。一方, マダイの TPT 化合物濃度は検出限界 ($0.005 \mu\text{g/g}$) 以下であった。

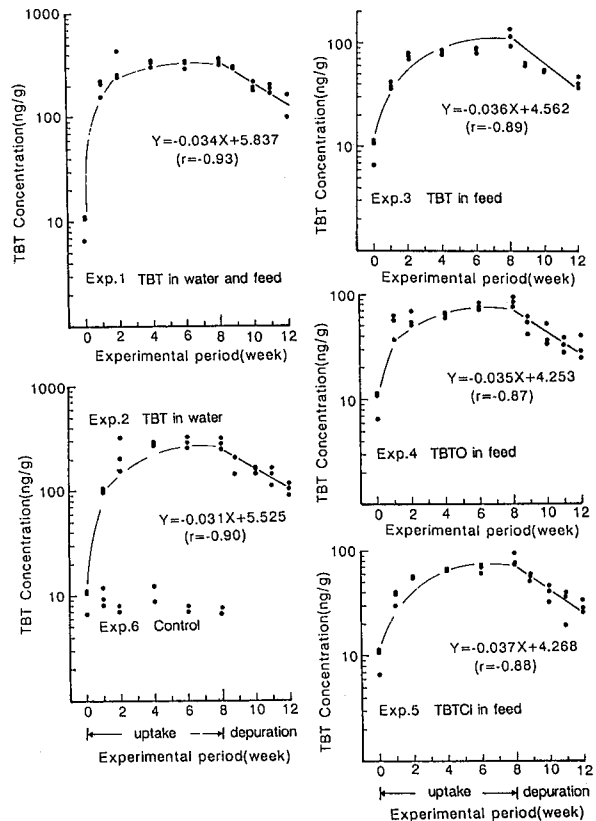


Fig. 3-10. Changes of TBT concentration in red sea bream exposed to TBT-containing seawater and/or TBT-containing feed.

有機スズ含有飼料の調製方法：各種の有機スズ化合物を含有する飼料は、2つの方法で調製した。先ず第1の方法では、有機スズ化合物の所定量を50 mlのジエチルエーテルに溶解した。この溶液を配合飼料（協和発酵C-1000）に少しずつ添加し、さらによく混合して均一にした。溶媒のジエチルエーテルを揮散させた後に水を加え、よく練り合わせた。ペレット状に成形し、約10°Cの暗室で乾燥した。TBTO, TBTCI および TPTCI を含有する飼料がこの方法で調製され、第1の方法で調整した飼料をNo.1飼料とする。

トリオルガノスズは1価の陽イオンとして存在し、生物中では蛋白質に吸着して存在することが報告されている（Davies and Smith 1980）。自然環境では生物は生きた生物を餌として摂取するので、生物は有機スズ化合物を必ずしもTBTO, TBTCI や TPTCI の形で摂取していない。それゆえ、自然界の餌中での形態に類似した有機スズ化合物を含有する飼料を第2の方法で調製した。

先ず、コイをTBTOあるいはTPTCIを含有する飼育水中で3週間飼育し、飼育水中の有機スズ化合物をコイに蓄積させた。コイの筋肉と内臓をミンチにした後に配合飼料（協和発酵C-1000）とよく均一に混合した。有機スズ化合物を蓄積したコイと配合飼料の混合物をペレット状に成形し、さらに10°Cの暗室で乾燥した。この第2の方法で調製した飼料をNo.2飼料とする。No.2飼料の有機スズ化合物の形態を同定することができないので、本研究ではNo.2飼料のTBT化合物およびTPT化合物を、それぞれTBTおよびTPTとする。No.2飼料のTBTおよびTPT濃度は、それぞれ $0.944 \pm 0.105 \mu\text{g/g}$ および $0.322 \pm 0.027 \mu\text{g/g}$ であった。

飼育装置とマダイ飼育方法：定濃度流水式試験装置を用いてTable 3-6に示した種々の試験条件で8週間の蓄積実験とそれに続く4週間の排泄実験を行った。飼育水は水温を20°Cに調整し、60 l容の飼育水槽に500 ml/minの流量で注水した。マダイの飼育実験は、実験1～6、実験7～10と実験11～13の3回に分けて実施した。

a) 経鰓濃縮実験（実験2と8）：TBTOあるいはTPTCIがアセトン・Dimethylsulfoxide (DMSO) (1:9 v/v)に溶解された。この溶液の0.5 mlを20 lの脱塩素した水道水に分散・溶解し、マイクロガラスポンプを用いて飼育水槽に5 ml/minの流量で加えた。飼育水中のTBTおよびTPT濃度は毎週測定した。魚体重の3%の配合飼料（協和発酵C-3000）をマダイに投与した。

b) 経口濃縮実験（実験3, 4, 5, 9, 11と12）：TBTおよびTPTを含有しない海水を用いて定濃度流水式装置でマダイを飼育した。No.1あるいはNo.2飼料をマダイに投与した。

c) 経鰓および経口濃縮実験（実験1と7）：TBTOあるいはTPTCIを含有する飼育水中でNo.2飼料を投与

してマダイを飼育した。

d) 対照実験（実験6, 10および13）：対照実験のマダイは、TBTあるいはTPTを含有しない飼育水で配合飼料（協和発酵C-3000）を投与して飼育した。飼育水と配合飼料のTBTおよびTPT濃度は、検出限界の0.005 $\mu\text{g/g}$ （飼料）と5 ng/l（飼育水）以下であった。

全ての実験で飼料の1日当たりの投与量は、魚体重の3%であった。8週間の蓄積実験の後に、マダイはTBTあるいはTPTを含有しない飼育水で配合飼料（協和発酵C-3000）を投与してさらに4週間飼育し、魚体からのTBTあるいはTPTの排泄を調べた。マダイの飼育実験の間飼育水槽にエアレーションし、飼育水の溶存酸素の低下を防止した。このような飼育条件でマダイの異常な行動や死亡は認められなかった。

蓄積実験の6日, 2週, 4週, 6週および8週に、また、排泄実験の1週, 2週および4週にそれぞれマダイ3尾を取り上げ、魚体のTBTおよびTPT濃度を測定した。分析方法：TBTおよびTPTの分析は高見他（1987, 1988）によって報告されている方法で分析した。この分析方法による海水中TBT及びTPTの回収率は、それぞれ、76および92%であった。魚体中の回収率は、TBTでは81%、TPTでは73%であった。検出限界は、海水で5 ng/l、飼料と魚体で0.005 $\mu\text{g/g}$ であり、また、変動係数は5%以下であった。

経口濃縮に係る濃縮係数（BMF）、取り込み（ k_1 ）および排泄速度定数（ k_2 ）の計算：BMFは、経口濃縮実験の魚体のTBTおよびTPT濃度の変化から次式(3-8)を用いて計算した。

$$\text{BMF}_n = (C_{0n} - C_{bn}) / \text{CF} \quad (3-8)$$

ここで、 BMF_n はn週目のBMF、 C_{0n} は経口濃縮実験のn週目の魚体のTBTあるいはTPT濃度（ $\mu\text{g/g}$ dry weight）、 C_{bn} は対照実験のn週目の魚体のTBTあるいはTPT濃度（ $\mu\text{g/g}$ dry weight）そしてCFは飼料のTBTあるいはTPT濃度（ $\mu\text{g/g}$ dry weight）である。対照実験の魚体中TPT濃度は経口濃縮実験の全期間を通じて検出限界（0.005 $\mu\text{g/g}$ ）以下であったので、本研究では0としてBMFを計算した。

取り込み（ k_1 ）および排泄速度定数（ k_2 ）は次の(3-9)および(3-10)式を用いて計算した。

$$C_{t1} = (k_1/k_2) \text{CF} (1 - e^{-k_2 t}) \quad (3-9)$$

$$C_{t3} = C_{t2} e^{-k_2 t} \quad (3-10)$$

ここで、 C_{t1} は経口濃縮実験の時間tにおける魚体のTBTあるいはTPT濃度、 C_{t3} は排泄実験の開始時における魚体のTBTあるいはTPT濃度、 C_{t2} は排泄実験の時間tにおける魚体のTBTあるいはTPT濃度、 k_1 は取り込み速度定数、 k_2 は排泄速度定数、tは取り込みおよび排泄実験の

実験期間、CFは飼料のTBTあるいはTPT濃度である。

結果および考察

1) 魚体中のTBT濃度

対照実験(実験6)の魚体中TBT濃度は、Fig. 3-10に示したように実験期間を通してほぼ一定であり、 $0.010 \pm 0.002 \mu\text{g/g}$ と $0.007 \pm 0.001 \mu\text{g/g}$ の間であった。

TBT(実験3)、TBTO(実験4)およびTBTCI(実験5)を投与したマダイのTBT濃度は、8週間の生物濃縮実験の間に、それぞれ、 0.010 ± 0.002 から $0.115 \pm 0.018 \mu\text{g/g}$ 、 $0.083 \pm 0.008 \mu\text{g/g}$ および $0.080 \pm 0.010 \mu\text{g/g}$ に増大した。TBT、TBTOおよびTBTCIのTBT化合物がマダイに経口的に蓄積された。飼育水のTBTOを経口的に蓄積させた実験2では、マダイ中のTBT濃度は、実験開始時の $0.010 \pm 0.002 \mu\text{g/g}$ から8週間の生物濃縮実験の終了時には $0.278 \pm 0.027 \mu\text{g/g}$ に増大した。

経口および経鰓の両経路からTBTを取り込ませた実験1のマダイ中TBT濃度は、 $0.010 \pm 0.002 \mu\text{g/g}$ から次第に増大し、8週間の生物濃縮実験の終了時には $0.340 \pm 0.019 \mu\text{g/g}$ になった。マダイ中TBT濃度は、経口的に取り込ませた実験2と比較して両経路から取り込ませた実験1において高かった。全ての実験において、生物濃縮実験の4週から8週のTBT濃度の差は小さく、マダイ中TBT濃度が、4週の生物濃縮実験でほぼ平衡状態に達していることが示唆された。

排泄実験期間中のマダイのTBT濃度の変化を、Fig. 3-10に併せて示した。TBT濃度は排泄実験期間が長くなるにしたがって次第に低下し、マダイの濃度変化は(3-10)式に近似させることができた。相関係数は -0.87 と -0.93 の間であり、有意であった。この回帰直線の傾きが k_2 であるが、 k_2 は、実験1で 0.034 day^{-1} 、実験2で 0.031 day^{-1} 、実験3で 0.036 day^{-1} 、実験4で 0.035 day^{-1} および実験5で 0.037 day^{-1} であった。実験1~5のTBT化合物を用いた実験では、各実験における k_2 は大きな差はなく、魚体からのTBTの排泄は、経口あるいは経鰓の取り込みの経路に関連しないことが明らかであった。

2) 魚体中のTPT濃度

対照実験(実験10と13)では、マダイ中TPT濃度は生物濃縮と排泄の全実験期間を通して検出限界($0.005 \mu\text{g/g}$)以下であった。

TPT(実験9)あるいはTPTCI(実験11および12)を含有した飼料を投与したマダイのTPT濃度は、Fig. 3-11に実験9の結果のみを示したが、検出限界以下から8週間の生物濃縮実験の終了時には実験9で $0.064 \pm 0.010 \mu\text{g/g}$ 、実験11で $0.181 \pm 0.023 \mu\text{g/g}$ 、また、実験12で $2.099 \pm 0.097 \mu\text{g/g}$ に増大した。マダイ中TPT濃度は、飼料のTPT濃度に依存し、TPT濃度の高い飼料

を投与した実験12のマダイ中TPT濃度は他の実験と比較して特に高かった。これらの結果は、TPT化合物がTBT化合物と同様に飼料の摂取を通して経口的に蓄積されることを示した。

経鰓濃縮実験(実験8)のマダイ中TPT濃度は、8週間の生物濃縮実験の終了時には $0.261 \pm 0.017 \mu\text{g/g}$ の値を示した。経鰓と経口の両経路からの蓄積実験(実験7)のマダイ中TPT濃度は $0.005 \mu\text{g/g}$ 以下から次第に高くなり、生物濃縮実験終了時におけるマダイ中TPT濃度は $0.251 \pm 0.012 \mu\text{g/g}$ であった。経口あるいは経鰓濃縮のいずれの実験においても、生物濃縮実験の6週目と8週目のマダイ中TPT濃度の差異は小さく、魚体中TPT濃度が6週間の生物濃縮実験で平衡状態に達していることが明らかであった。

排泄実験におけるマダイ中TPT濃度の変化をFig. 3-11に示した。TPT濃度は、TBTと同様に排泄実験期間が長くなるにしたがって次第に低下し、TPTの濃度変化を(3-10)式に当てはめて解析することができた。実験7、8および9における相関係数は、それぞれ、 -0.81 、 -0.85 および -0.79 であり、相関関係は有意であった。回帰直線の傾きから k_2 を求めると、 k_2 は実験7で 0.022 day^{-1} 、実験8で 0.037 day^{-1} 、また、実験9で 0.020 day^{-1} であった。これらの k_2 を比較すると、実験8の k_2

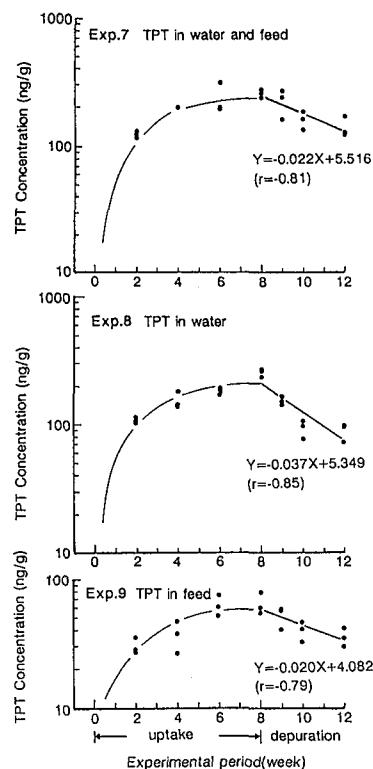


Fig. 3-11. Changes of TPT concentration in red sea bream exposed to TPT-containing seawater and/or TPT-containing feed.

Table 3-7. Contribution of dietary uptake in TBT or TPT accumulation in red sea bream

Organotin compound	Day of rearing (day)	Concn. in fish by dietary and direct uptake (A, $\mu\text{g/g}$)	Concn. by direct uptake only (B, $\mu\text{g/g}$)	Estimated concn. by dietary uptake (C ^a , $\mu\text{g/g}$)	Determined concn. by dietary uptake (D, $\mu\text{g/g}$)	Contribution dietary uptake (E ^b , %)
TBT		(Exp. 1)	(Exp. 2)		(Exp. 3)	
	6	0.193	0.101	0.092	0.039	20.2
	14	0.310	0.233	0.077	0.074	23.9
	28	0.328	0.280	0.048	0.082	25.0
	42	0.318	0.290	0.028	0.058	18.2
	56	0.340	0.278	0.062	0.115	33.8
TPT		(Exp. 7)	(Exp. 8)		(Exp. 9)	
	14	0.123	0.108	0.015	0.030	24.4
	28	0.204	0.154	0.050	0.038	18.6
	42	0.234	0.184	0.050	0.063	26.9
	56	0.256	0.261	-0.005	0.064	25.0

$$^a (C) = (A) - (B), \quad ^b (E) = 100 \times (D) / (A)$$

が大きく、飼育水から鰓を通して蓄積された TPT がより速やかに排泄される傾向であるが、さらに詳細な研究が必要である。

3) 生物濃縮における経口濃縮の寄与

全生物濃縮（経鰓濃縮と経口濃縮の合計）に対する経口濃縮の寄与を検討し、その結果を Table 3-7 にまとめて示した。経口濃縮によるマダイの TBT 濃度（C 欄）は、経鰓・経口濃縮の（実験 1）によって蓄積されたマダイの TBT 濃度（A 欄）と実験 2 の経鰓濃縮によるマダイの TBT 濃度（B 欄）の差として推定された。経口濃縮による TBT 濃度の推定値は、経口濃縮実験（実験 3）による TBT の測定値（D 欄）と比較すると、両者の差異は小さかった。したがって、経鰓と経口の両経路からの生物濃縮によるマダイの TBT 濃度は、経鰓濃縮と経口濃縮のそれぞれ単独の経路により TBT 濃度の合計として評価しても差し支えないことが明らかであった。経口濃縮の役割（E 欄）は、両経路による魚体の濃度（A 欄）に対する経口濃縮による魚体中濃度（D 欄）の比として計算した。経口濃縮の寄与率は TBT の生物濃

縮において 18.2%～33.2% であり、経口濃縮の平均寄与率は 24.2% であった。本研究の試験条件下では、TBT の全蓄積量の約 1/4 は経口的な蓄積に由来し、経口濃縮は TBT の生物濃縮において無視できないことが明らかになった。

TPT の蓄積に対する経口濃縮のはたす割合を TBT の場合と同様に計算した。Table 3-7 に示したように、経口濃縮の全 TPT の生物濃縮に対する割合（E 欄）は、18.6～26.9% であり、TPT の生物濃縮において経口濃縮を無視できないことが明らかであった。

4) TPT の組織・器官における分布の濃縮経路による差異

TPTCI を含有する飼料が投与された実験 11 のマダイを、頭部、肝臓、鰓、消化管（腹腔内脂肪を含む）、筋肉、皮膚と残部（腎臓を含む）の 7 部位に区分し、それぞれの組織・器官中の TPT 濃度を測定した。経口濃縮による TPT の各組織・器官における濃度は、経鰓濃縮による TPT の魚体内分布と比較し、Table 3-8 に示した。

経口濃縮では、TPT 濃度は肝臓で高く、消化管、鰓、頭部、残部、皮膚、筋肉の順番に濃度が低下した。経鰓

Table 3-8. Concentration and percentage distribution of TPTCI in several tissues and organs of red sea bream

Tissue and organ	Dietary uptake			Direct uptake from water		
	Order	TPT concn. ($\mu\text{g/g}$)	Percent distribution	Order	TPT concn. ($\mu\text{g/g}$)	Percent distribution
Liver	1	0.41	6.0	1	1.99	6.2
Digestive tracts	2	0.36	15.3	3	0.66	11.1
Gills	3	0.24	3.7	2	0.95	2.8
Head	4	0.22	20.1	5	0.47	23.9
Residue	5	0.21	19.9	4	0.48	23.0
Skin	6	0.16	9.2	6	0.40	8.1
Muscle	7	0.11	25.9	7	0.24	25.0

濃縮では、TPT 濃度は肝臓で最も高く、鰓、消化管、残部、頭部、皮膚、筋肉の順に低下した。両濃縮経路による主要な差異は、経鰓濃縮では鰓で TPT 濃度が高いのに対し、消化管の TPT 濃度が経口濃縮に比較して小さいことであった。

魚体内の各組織・器官における TPT 総量を濃度と組織・器官重量から求めた。また、マダイ全魚体における TPT 総量を求め、両者の比として各組織・器官における存在割合を計算し、Table 3-8 に併せて示した。二枚貝 (Laughlin *et al.* 1986) やカニ (Evans and Laughlin 1984) を用いた研究では、生物体内の TBT の分布様式が、TBT の濃縮経路によって異なることが報告されているが、マダイにおける TPT の分布の差が、取り込み経路によって認められなかった。

魚類、二枚貝やカニによる TBTO や TPTCI の取り込み経路による生物体内の分布の差異は、TBTO と TPTCI の有機スズ化合物の化合物による差であるのか、あるいはこれらの生物による差であるのか詳細に検討する必要がある。魚類の鰓あるいは消化管から吸収された TPTCI は、血液に移行し、循環系を通して魚体全体に分布される。したがって、魚体に吸収された TPT は全魚体に同様に運搬されるので、分布様式に差が現れなかったものと考えられる。

5) BMF

Table 3-9 に示したように、飼料中 TBT 濃度に対するマダイ中 TBT 濃度の比は、実験 3, 4 および 5 でそれぞれ 0.114 ± 0.019 , 0.086 ± 0.009 および 0.080 ± 0.011 であり、これらの3実験ではほぼ同レベルであった。マダイの水分 (71.85~72.11%) と飼料の水分 (7.45~8.44%) を用いて乾燥重量当りに補正した BMF は、実験 3 で 0.38 ± 0.06 , 実験 4 で 0.28 ± 0.03 , また、実験 5 で 0.26 ± 0.04 であった。飼料に添加した TBT 化合物の分子種による BMF の著しい差異は認められなかった。

飼料とマダイにおける TPT 濃度の関係も Table 3-9 に示した。マダイ中 TPTCI 濃度は飼料中濃度に依存して

変化し、飼料中濃度が高くなるに従って高くなった。しかし、両者の比は、実験 9, 11 および 12 でそれぞれ 0.200 ± 0.032 , 0.167 ± 0.021 および 0.252 ± 0.012 であり、比較的類似した値であった。これらの結果から、TPT 化合物の経口生物濃縮が TBT 化合物と同様に TPT 化合物の化学種によって変化しないことが示唆される。実験 9 の飼料とマダイの水分は、それぞれ $11.2 \pm 0.1\%$ および $69.1 \pm 0.5\%$ であり、水分を補正した乾燥重量当たりで求めた BMF は 0.57 であった。マダイによる TPTCI の BMF は、Tsuda *et al.* (1991) がキンギョで測定した BMF に比較して大きかった。

上述したように TBT, TBTO および TPTCI の BMF の差異は小さく、また、TPT の BMF は TPTCI の BMF と著しく異ならなかった。これらの結果から TBT および TPT 化合物の経口生物濃縮が有機スズ化合物の分子種によって変化しないことが明らかであった。Cl⁻ の存在する酸性条件下では、TBT あるいは TPT 化合物が TBTCl や TPTCl の塩化物として存在することが報告されている (森田 1992)。空腹時の魚類消化管の pH は、ニジマスで 2.7 (Dauble and Curtis 1990), ティラピアで 1.1 (Maier and Tullis 1984) であると報告されている。したがって、飼料とともに摂取された TBT や TPT 化合物は、消化管からの吸収に先立ってそれらの塩化物に変換されるものと考えられる。このように消化管内で TBT や TPT 化合物の形態が統一されることが、TBT や TPT 化合物の経口生物濃縮が分子種によって異なる原因の 1 つであると考えられる。

6) 摂取された TBT および TPT のマダイへの保持率

TBT および TPT の実験期間中の総投与量に対するマダイへの総蓄積量の比をマダイへの保持率と定義し、TBT および TPT 化合物のマダイへの蓄積度を比較するために実験 3 (TBT) と実験 9 (TPT) の結果を用いて計算し、Fig. 3-12 に示したが、TBT の最大保持率は 24.2% であった。一方、TPT の保持率は経口濃縮実験の間次第に大きくなり、8 週間の生物濃縮実験の終了時に

Table 3-9. Concentration ratio of organotin in fish to organotin in feed, and BMF

Exp. No.	Organotin in feed	Day of rearing (day)	Concn. in feed ($\mu\text{g/g}$ wet wt)	Concn. in fish ($\mu\text{g/g}$ wet wt)	Concn. ratio	BMF
3	TBT	56	0.944 ± 0.105	0.115 ± 0.018	0.114 ± 0.019	0.38 ± 0.06
4	TBTO	56	0.887 ± 0.025	0.083 ± 0.008	0.086 ± 0.009	0.28 ± 0.03
5	TBTCl	56	0.913 ± 0.048	0.080 ± 0.010	0.080 ± 0.011	0.26 ± 0.04
9	TPT	56	0.322 ± 0.027	0.064 ± 0.010	0.200 ± 0.032	0.57 ± 0.09
11	TPTCl	56	1.084 ± 0.054	0.181 ± 0.023	0.167 ± 0.021	—
12	TPTCl	56	8.310 ± 1.620	2.099 ± 0.097	0.252 ± 0.012	—

Concentration ratios were calculated on a wet-weight basis by using Equation 2. Three data on the TBT or TPT concentration in fish were used for calculations in every experiment. The TBT concentration in the control fish was $0.007 \mu\text{g/g}$ at the end of eight weeks exposure. Mean \pm SD. For calculation of BMF, see Equation 1.

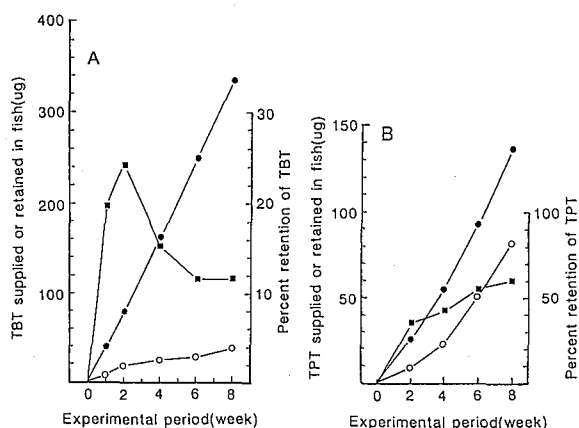


Fig. 3-12. Changes of cumulative amounts of TBT and TPT supplied to and retained in red sea bream, and percentage retention of TBT (Exp. 3) and TPT (Exp. 9) during dietary uptake experiments. Solid circle: Cumulative amount of TBT and TPT supplied to fish. Open circle: Cumulative amount of TBT and TPT retained in fish. Solid square: Percentage retention.

は60.1%に達した (Fig. 3-12(B))。これら TBT および TPT の保持率は, Tsuda *et al.* (1991) がキンギョについて報告した値に比較して大きく, マダイでは有機スズ化合物の経口濃縮は金魚に比較して大きいことが明らかであった。

本研究で測定した TBT あるいは TPT の保持率は, 鈴木・畑中 (1974) によって報告されたメチル水銀の保持率 (66~103%, 平均88%) に比べ小さく, TBT や TPT の有機スズ化合物がメチル水銀ほど経口的に蓄積されることが示唆された。

7) 経口的生物濃縮の kinetics

Fig. 3-10 および 3-11 に示された TBT および TPT の経口生物濃縮実験における魚体内の TBT および TPT 濃度の経時変化が(3-9)と(3-10)式の compartment model を用いて解析された。 k_1 および k_2 を計算するとともに, Opperhuizen and Schrap (1988) に準拠して, 飼料の有機スズ化合物濃度および有機スズ化合物の摂取量から TBT ならびに TPT の消化管からの吸収率を計算した。これらの解析結果は, BMF や保持率とともに Table 3-10 に示した。

TBT 化合物の k_2 は $0.035\sim 0.037 \text{ day}^{-1}$ の範囲であり, TBT 化合物の種類によって大きく変化しなかった。したがって, TBTO や TBTCI などの各種の TBT 化合物は魚体内では類似した形態で存在し, その代謝・排泄が TBT 化合物の化学種によって変化しないことが推察された。TPT の k_2 は 0.020 day^{-1} であり, TBT 化合物に比較して小さい傾向であった。したがって, 魚体から TPT 化合物の排泄は TBT 化合物に比較して遅く, TPT 化合物が代謝され難いと推察される。

TBT, TBTO および TBTCI の k_1 は, それぞれ, $0.0038, 0.0031$ および 0.0029 day^{-1} であり, TBT 化合物の種類による差異は著しくなかった。TPT の k_1 は 0.0060 day^{-1} であり, TBT 化合物に比較して大きかった。経口濃縮における k_1 は TPT 化合物に比較して TBT 化合物で大きく, 経口生物濃縮とは異なっていた。したがって, TBT と TPT 化合物の鰓と消化管における取り込みの機構が異なっていることが推察される。

消化管を経由する吸収効率は, k_1 および有機スズ化合物の摂取量から計算される。8 週間生物濃縮試験の平均的な吸収効率は, TBT 化合物で10.8%, また, TPT 化合物で19.6%であり, TBT 化合物に比較して TPT 化合物で大きかった。本研究で測定された BMF および保持率も TBT 化合物に較べて TPT 化合物で大きいため, TPT 化合物は TBT 化合物に比較して経口的に蓄積されやすいことが明らかであった。

TBT や TPT の吸収効率は, Tanabe *et al.* (1982) が餌と糞の濃度の差から直接的に測定した PCBs の吸収効率 (67~93%) に比較すると小さい。また, TBT および TPT の保持率はメチル水銀に比較すると小さい。したがって, これらの結果を総合的に評価すると TBT や TPT 化合物は, PCBs やメチル水銀のように経口的に高濃度に蓄積されないことが考えられる。

要 約

海産魚による有機スズ化合物の経口濃縮に関する研究は本研究が最初のものであるが, 海産魚類による経口濃縮は淡水魚に比べて大きいことなどの新しい知見を得た。以下に要約する。

- ① 飼料中の TBT および TPT 化合物は経口的にマダ

Table 3-10. Kinetic parameter on the bioaccumulation of organotin compounds by dietary uptake

Organotin	Uptake rate constant (k_1) (1/day)	Elimination rate constant (k_2) (1/day)	Rate of absorption ($\mu\text{g/g/day}$)	Assimilation efficiency (%)	BMF	Percent retention (%)
TBT	0.0038	0.036	0.0036	12.7	0.38	24.2
TBTO	0.0031	0.035	0.0027	10.2	0.28	
TBTCI	0.0029	0.037	0.0026	9.5	0.26	
TPT	0.0060	0.020	0.0019	19.6	0.57	60.1

イに蓄積された。経鰓および経口濃縮の合計に対する経口濃縮の寄与率は、本研究の試験条件では TBT で 24.2%，TPT で 23.7% であった。

- ② 有機スズ化合物の経口生物濃縮は TBT や TPT 化合物の種類によって著しい差は認められなかった。
- ③ 経鰓と経口的に取り込ませた TPTCl のマダイ体内分布に差がなかった。
- ④ TBT と TPT の BMF は、それぞれ 0.26~0.38 および 0.57 であった。また、保持率は、TBT で 24.2%，TPT で 60.1% であり、金魚で測定された値に比較して大きかった。したがって、マダイは有機スズ化合物を高濃度に経口的に蓄積する魚種であると推察された。
- ⑤ TBT 化合物の BMF、保持率および吸収率は TPT に比較して小さく、TPT 化合物の方がより経口的に蓄積され易いことが明らかであった。

3.4 マダイによる TBTO の代謝機構

生物に蓄積された有機スズ化合物のような有害物質は、肝ミクロゾームの薬物代謝系酵素によって代謝・排泄される。薬物代謝酵素系は、哺乳動物に比較するとその活性は弱い、魚類にも存在することが小林 (1979) によって報告されている。したがって、魚類は哺乳動物に比較して代謝・排泄の活性が弱いものの、取り込んだ有害物質を代謝・排泄すると考えられる。

有機スズ化合物の代謝は、主としてラットなどの哺乳動物で研究されてきた。Kimmel *et al.* (1977) は、ラット肝ミクロゾームの薬物代謝酵素系による tetra-butyltin の代謝経路を検討し、P450 モノオキシゲナーゼによるブチル基の水酸化とそれに続いてブチル基の遊離が起こる代謝経路の存在を解明した。すなわち、tetra-butyltin はブチル基を遊離させながら tri-butyltin (TBT)、di-butyltin (DBT)、mono-butyltin (MBT) を経由して無機スズにまで代謝・分解されることを解明した。DBT (Ishizaka *et al.* 1989) や TBT (Matsuda *et al.* 1993) のラットによる代謝が検討され、DBT や TBT を投与したラットからブチル基の水酸化された多数の中間代謝物が検出された。これらの結果は、DBT や TBT がブチル基の水酸化とそれに続くブチル基の遊離によって代謝されること、すなわち、Kimmel *et al.* (1977) が報告したのと同様な代謝経路によって代謝されること示している。

しかし、魚類における有機スズ化合物の代謝に関してはほとんど解明されていない。したがって、本実験では TBTO を曝露したマダイにおいて TBT 代謝産物を検索し、TBTO を代謝する器官、代謝経路を明らかにする。TBT 化合物は生物体内では、イオンとしてアミノ酸や蛋白質に結合して存在するとともに分子として脂質に溶解して存在するなど種々の存在状態で存在すると推察され

る。したがって、魚体内での存在状態によって代謝や排泄が異なることが考えられる。本実験では魚体の TBT を分画してその存在状態を検討するとともに、存在状態による代謝・排泄の差異を解明する。

材料および方法

TBTO 代謝器官の検討：魚体重が 180.5~307.7 g のマダイを試験生物として用い、TBT 濃度が 58.2 ± 3.6 ng/l に維持された定濃度流水式魚類飼育装置を用いてマダイを飼育し、4 週間 TBTO を曝露させた。曝露実験終了後、マダイを清浄海水に移し、さらに 3 週間の飼育実験を行った。

曝露実験の 2 週間毎、また、排泄実験では毎週マダイを取り上げ、肝臓、腎臓、鰓、脳、消化管 (胆嚢および腹腔内脂肪を含む) および筋肉に区分した。これら各組織・器官における TBT および代謝産物 (DBT と MBT) の濃度変化を測定し、TBT 化合物を代謝する器官を特定した。

ブチルスズ化合物の分析は、張野・福島 (1994) の方法に準拠して行った。すなわち、0.1% トロポロン含有ベンゼンを用いてブチルスズ化合物 (TBT、DBT および MBT) を抽出した。抽出液を脱水した後に濃縮し、プロピルマグネシウムプロミドを用いてプロピル誘導体に変換した。プロピル誘導体を抽出・濃縮した後にフロリジルカラムを用いて精製・濃縮してガスクロマトグラフ用試料とした。キャピラリーカラム (Ultra-1) と FPD 検出器を用いて MBT、DBT および TBT に分離し、テトラブチルスズを内部標準物質に用いて定量した。

マダイによる TBTO の代謝経路：TBT 濃度が 1296 ng/l の飼育水中でマダイを 8 週間飼育した。マダイ肝臓における TBTO の代謝産物を検索し、代謝産物から代謝経路を検討した。

マダイ肝臓中 TBT および代謝産物は、Ishizaka *et al.* (1989) や Matsuda *et al.* (1993) の方法に準拠して抽出した。抽出物を精製・濃縮した後にメチルマグネシウムプロミドを用いてメチル誘導体に変換した。メチル誘導体を抽出・濃縮し、ガスクロマトグラフ用試料とした。

ブチルスズ化合物のメチルスズ誘導体の分析は、キャピラリーカラム (DB-5) 付きガスクロマトグラフと Microwave-Induced Plasma Emission Detector (AED 検出器) を用いて行った (Suzuki *et al.* 1994)。代謝産物は Suzuki *et al.* (1992) が合成した 12 の標準物質 (Table 3-11) の保持時間と比較して同定した。

TBT 化合物の魚体内での存在状態と取り込み・排泄との関係：TBT 濃度が 60.5 ± 4.9 ng/l、 247.3 ± 25.7 ng/l および 1044 ± 174 ng/l の飼育水中でマダイを 8 週間飼育したマダイを用いて、Fig. 3-13 に示した方法で蓄積した TBT 化合物を①脂質とともに抽出される画分と②脂質抽出残渣の画分に分画してその濃度を測定した。両画分と全画分の TBT を高見他 (1987, 1988) の方法に準

Table 3-11. Metabolites of TBTO and their abbreviations

Metabolites	Abbreviation
n-butyltin trichloride	MBTC
di-n-butyltin dichloride	DBTC
n-butyl (3-hydroxybutyl) tin dichloride	D3OH
n-butyl (3-oxobutyl) tin dichloride	D3CO
tri-n-butyltin chloride	TBTC
n-butyl (4-hydroxybutyl) tin dichloride	D4OH
n-butyl (3-carboxypropyl) tin dichloride	DCOOH
di-n-butyl (3-hydroxybutyl) tin chloride	T3OH
di-n-butyl (3-oxobutyl) tin chloride	T3CO
di-n-butyl (4-hydroxybutyl) tin chloride	T4OH
di-n-butyl (3-carboxypropyl) tin chloride	TCOOH

抽出して抽出し、陰・陽イオン交換樹脂で精製した後にプロピル誘導体に変換してガスクロマトグラフで分離・定量した。

結果および考察

1) TBTO 代謝器官の検討

52.8 ng/l の TBT 濃度の飼育水で 4 週間飼育し、さらに清浄水中で 3 週間飼育したマダイの腎臓、肝臓、消化管、鰓および脳における TBT, DBT および MBT 濃度の経時的変化を Fig. 3-14 に示した。

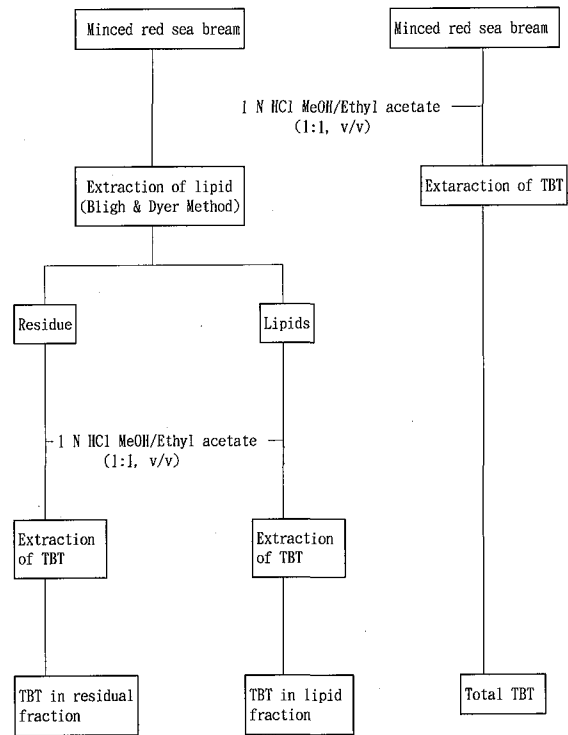


Fig. 3-13. Method of TBT fractionation into two fraction of lipid and residue.

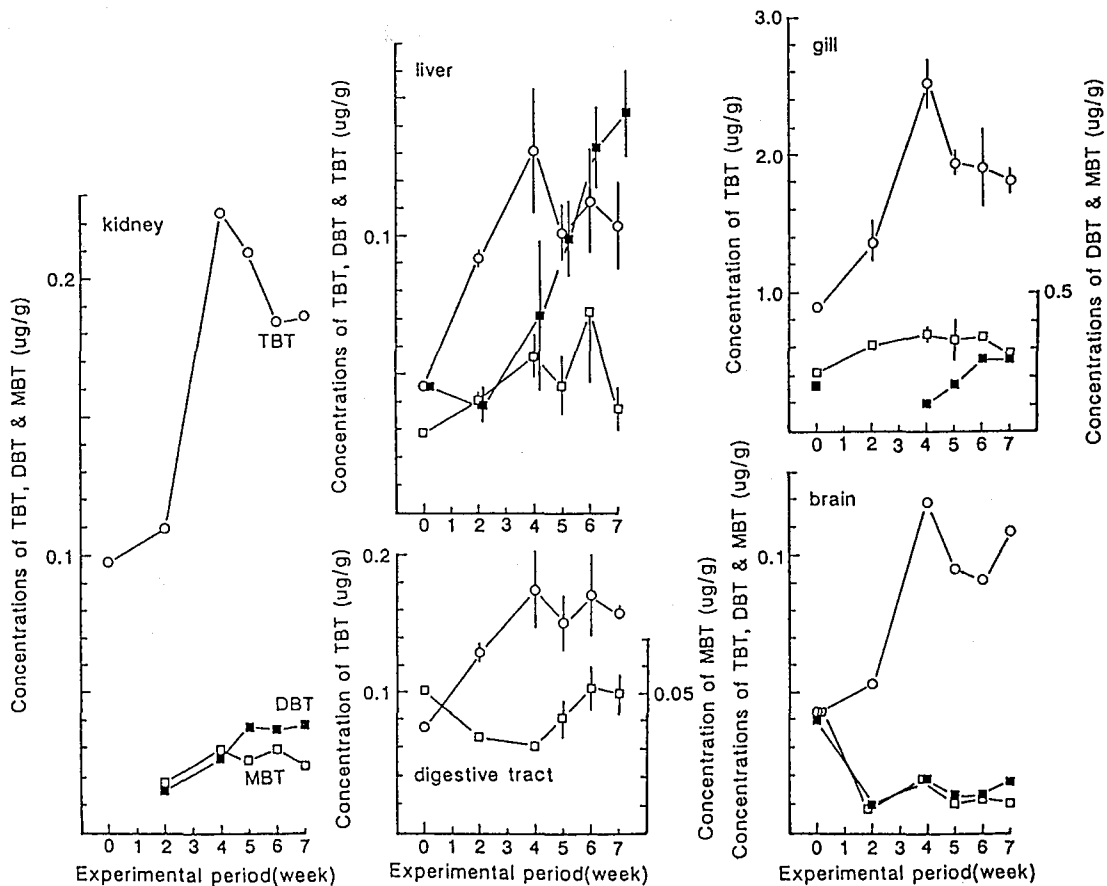


Fig. 3-14. Changes of TBT and its metabolite concentration in the several tissues and organs in red sea bream. Elimination experiment for 3 weeks was carried out after the bioconcentration experiment of 4 weeks.

腎臓、鰓、脳および消化管では、生物濃縮実験の開始に伴って TBT 濃度が次第に高くなり、4 週間の生物濃縮実験の終了時には、TBT 濃度は、腎臓で $0.221 \mu\text{g/g}$ 、鰓で $2.5 \mu\text{g/g}$ 、脳で $0.12 \mu\text{g/g}$ 、また、消化管で $0.166 \mu\text{g/g}$ であった。排泄実験における TBT 濃度は腎臓および鰓では急速に低下するのに対し、消化管および脳では TBT 濃度の低下は緩やかであった。腎臓、鰓、脳および消化管における TBT の代謝産物である DBT および MBT の濃度は低く、経時的な変化も小さかった。4 週間の生物濃縮実験の終了時において、これらの器官における TBT に対する代謝産物 (DBT と MBT) の割合は、腎臓で 20%、鰓で 15%、脳で 17%、また、消化管で 14% であった。Fig. 3-14 に示したように、肝臓における TBT、DBT および MBT 濃度の経時変化は他の器官とは異なっていた。すなわち、生物濃縮実験の経過に伴って他の器官において認められたように肝臓の TBT 濃度が次第に増加し、また、排泄実験では TBT 濃度は次第に低下した。代謝産物の DBT は生物濃縮実験の 2 週から 4 週目の生物濃縮実験とそれに続く 3 週の排泄実験終了時まで次第に増加し、排泄実験においては TBT 濃度よりも高くなった。MBT 濃度は TBT や DBT に比較して小さく、その濃度変化も大きくなかった。このマダイ肝臓における TBT から DBT および MBT への分解過程で DBT 濃度は高く、DBT が肝臓に蓄積する傾向が認められた。したがって、TBT のマダイにおける代謝において、TBT から DBT への代謝は、DBT から MBT への代謝に比較して速やかであることが推察される。TBT 濃度に対する DBT および MBT 濃度の割合は、4 週間の生物濃縮実験の終了時で 50% であった。したがって、以上の結果から、マダイにおいても肝臓が TBT を代謝する中心的な器官であることが明らかであり、魚類においても哺乳類と同様に肝臓の薬物代謝系酵素が TBT の代謝にとって重要な役割をはたすことが示唆された。

2) TBT 化合物の代謝経路

TBT の代謝産物と考えられる標準物質 (Table 3-11) とマダイ肝臓から抽出した TBT 化合物のガスクロマトグラムを Fig. 3-15 に示した。標準物質の保持時間との比較から代謝産物を同定し、TBT のブチル基の 3 および 4 位が水酸化された化合物 (T3OH および T4OH)、TBT ブチル基の 3 位の炭素がケト化された化合物 (T3CO)、TBT ブチル基の 4 位炭素がカルボキシル基になった化合物 (T4COOH) が、また、DBT ブチル基の 3 および 4 位が水酸化された化合物 (D3OH および D4OH)、DBT ブチル基の 3 位炭素がケト化された化合物 (D3CO) および DBT ブチル基の 4 位炭素がカルボキシル基になった化合物 (D4COOH)、DBT および MBT の中間代謝物質が検出された。TBT および DBT の 1 位と 2 位の炭素の水酸化物は、酸性条件下での抽出

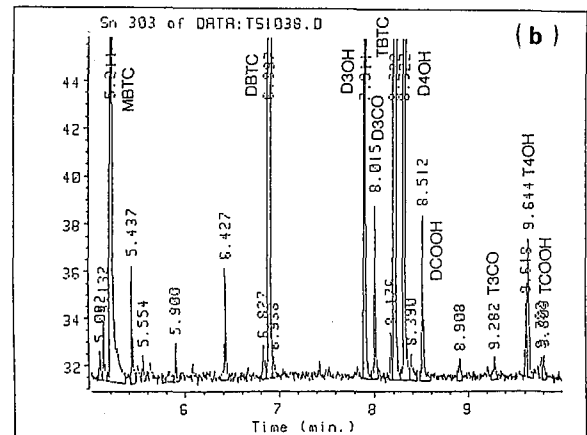
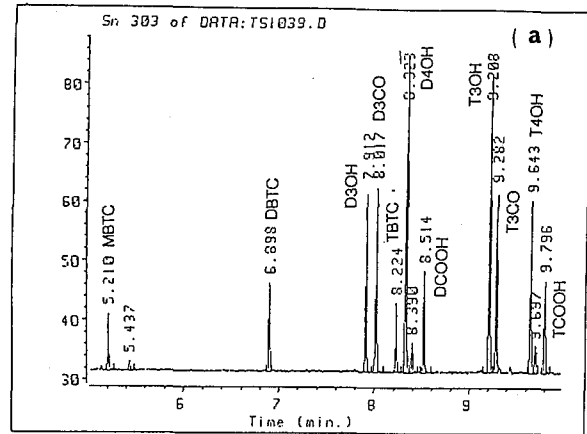


Fig. 3-15. Gas chromatogram of TBT and its metabolites. (a) Standard materials, (b) liver of red sea bream

過程で水酸化されたブチル基が遊離し、それぞれ、DBT および MBT に変換されると報告されている (Kimmel *et al.* 1987)。マダイ肝臓から検出された TBT 化合物の代謝産物から、TBT 化合物のマダイにおける代謝経路は Fig 3-16 のようにまとめることができる。この代謝経路から、マダイに蓄積された TBTO はブチル基が水酸化、ケト化あるいはカルボキシル化された後にブチル基を遊離してブチル基の 1 個少ない化合物に順次代謝され、最終的には無機スズに変換され得ることが明らかであった。マダイ肝臓に検出される代謝産物は哺乳類においても検出されるので、TBTO の代謝経路は魚類と哺乳類で基本的には異なることが確認された。

3) TBT 化合物の魚体内での存在状態と取り込み・排泄の関係

TBT 濃度が $60.5 \pm 4.9 \text{ ng/l}$ 、 $247.3 \pm 25.7 \text{ ng/l}$ および $1044 \pm 174 \text{ ng/l}$ の飼育水中でマダイを 8 週間飼育してマダイに蓄積した TBT を Fig. 3-13 に示した方法で分画し、それぞれの濃度を測定した。また、別に総 TBT 濃度を測定し、これらの結果を Table 3-12 に示した。表が

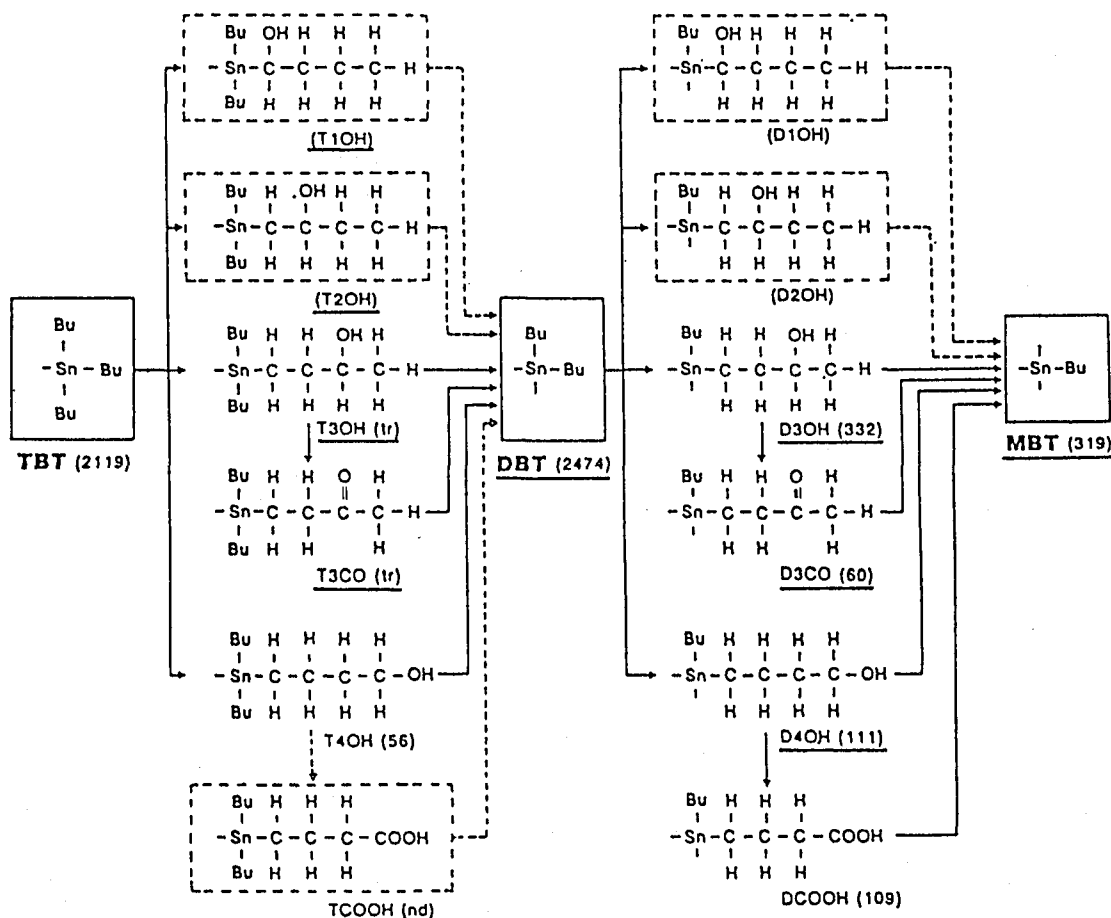


Fig. 3-16. Metabolic pathway of TBT in the liver of red sea bream.

Table 3-12. TBT concentrations in lipid and residual fractions and the percentage of the lipid fraction

TBT concentration in seawater (ng/l)	TBT concentration ($\mu\text{g/g}$)				Percentage of lipid fraction (%)
	Residual fraction (1)	Lipid fraction (2)	Sum of two fraction (1)+(2)	Not fractionated sample (Total)	
60.5 \pm 4.9	0.238	0.090	0.328	0.296	30.4
	0.221	0.082	0.303	0.317	25.9
	0.234	0.105	0.339	0.321	32.7
247.3 \pm 25.7	0.405	0.574	0.979	0.931	61.6
	0.266	0.818	1.084	1.054	77.6
	0.453	0.718	1.171	1.209	59.4
1044 \pm 174	1.479	1.505	2.984	3.253	46.3
	0.908	1.903	2.811	2.905	65.5
	1.016	1.731	2.747	2.893	59.8

ら明らかのように、脂質画分と残渣画分の TBT の合計は総 TBT 濃度によく一致し、両者の差異は10%以内であった。したがって、Fig. 3-13 に示した分画方法によりマダイ中 TBT は両画分に分画され、分画過程において著しい損失がないことが明らかであった。

種々の濃度でマダイに蓄積された TBT を両画分に分画し、総 TBT 濃度に対するこれら両画分の TBT 濃度の割合を検討した。TBT 濃度が 60.5 \pm 4.9 ng/l の飼育水で飼育したマダイ (総 TBT 濃度 : 0.296 ~ 0.321 $\mu\text{g/g}$) では、脂質画分および残渣画分の TBT 濃度は、それぞれ、

0.082~0.105 $\mu\text{g/g}$, 0.303~0.339 $\mu\text{g/g}$ であり, 総 TBT 濃度に対する脂質画分 TBT 濃度の割合は $29.7 \pm 2.8\%$ であった。一方, TBT 濃度が $247.3 \pm 25.7 \text{ ng/l}$ の飼育水で飼育したマダイ (総 TBT 濃度: $0.931 \sim 1.209 \mu\text{g/g}$) では, 脂質画分および抽出残渣画分の TBT 濃度は, それぞれ, $0.574 \sim 0.818 \mu\text{g/g}$ および $0.266 \sim 0.453 \mu\text{g/g}$ であり, 総 TBT 濃度にしめる脂質画分 TBT の割合は $66.2 \pm 8.1\%$ であった。飼育水の TBT 濃度が $1044 \pm 174 \text{ ng/l}$ の実験では, 総 TBT 濃度に対する脂質画分 TBT 濃度の割合は $57.2 \pm 8.1\%$ であり, 飼育水 TBT 濃度が $247.3 \pm 25.7 \text{ ng/l}$ の実験と大きく異ならなかった。これらの結果から, マダイ中の TBT 濃度がある程度の濃度 ($1 \mu\text{g/g}$) まではマダイ中 TBT 濃度の増加に伴って優先的に脂質画分に TBT が蓄積され, 脂質画分 TBT の魚体内で占める割合が高くなることが明らかである。しかし, 飼育水の TBT 濃度が $1044 \pm 174 \text{ ng/l}$ の実験のように, 魚体の TBT 濃度がさらに高くなると脂質画分だけでなく残渣画分にも TBT が蓄積され, 総 TBT 濃度に対する脂質画分 TBT の割合は変化しないことが明らかであった。したがって, マダイに取り込まれた TBT は脂質と残渣の両画分に蓄積されるが, 蓄積量が少ない場合には脂質画分に優先的に, また, 蓄積量が多くなると脂質と残渣の両画分に蓄積されることが確認できた。

TBTO を蓄積したマダイからの TBT 化合物の排泄を脂質と残渣の両画分に区分して検討し, 結果を Fig. 3-17 に示した。マダイの総 TBT 濃度は排泄実験の開始時の $0.340 \mu\text{g/g}$ から次第に低下し, 4 週間の排泄実験の終了時には $0.129 \mu\text{g/g}$ になった。マダイ中総 TBT 濃度の対数値と排泄実験期間は Fig. 3-17 に示したように直線関係に回帰させることができ, 脂質と残渣の両画分を合わせた TBT の排泄速度定数 (k_2) は 0.034 day^{-1} であった。脂質画分 TBT 濃度も総 TBT と同様に排泄実験開始時の $0.247 \mu\text{g/g}$ から排泄実験の終了時には $0.056 \mu\text{g/g}$

に低下した。濃度と排泄実験期間の回帰直線の傾きから求めた k_2 は 0.054 day^{-1} であった。残渣画分 TBT は, 排泄実験において明確な濃度の低下が認められなかった。残渣画分 TBT 濃度と排泄実験期間の間の相関係数は -0.48 であり, この両者の関係は有意な相関関係ではなかった。したがって, 残渣画分の TBT が排泄されるかどうか明確でなく, 排泄されたとしても排泄速度は非常に小さいと推察される。また, 脂質画分 TBT の k_2 は 0.054 day^{-1} であり, 残渣画分 TBT の k_2 (0.034 day^{-1}) に比較して約 1.6 倍大きく, 脂質画分 TBT がより速やかにマダイから排泄されるものと考えられる。

以上のように TBT 化合物の魚体内での存在状態によって魚体内での挙動が著しく異なることが明らかになった。脂質画分の TBT は, 脂質に可溶化している TBT あるいは脂肪酸, アミノ酸や蛋白質に緩やかに結合している TBT であり, また, 残渣画分 TBT はタンパク質に強く結合している TBT であると考えられる。したがって, 魚体中の labile な状態で存在する TBT が蓄積・排泄などの魚体内での挙動において重要な役割を有することが示唆される。

要 約

マダイによる TBTO の代謝経路を *in vivo* 系で解明することを試みた初めての研究であり, 以下に要約するよう多くの新しい知見が得られた。

- ① マダイの腎臓, 鰹, 肝臓などの各器官における TBT, DBT や MBT 濃度およびそれらの組成を検討した結果, TBT の代謝産物の DBT と MBT 濃度および TBT に対するそれらの割合が肝臓で高く, 肝臓が TBT 代謝の中心的な器官であることを確認した。
- ② TBTO を蓄積させたマダイ肝臓において代謝産物を検索した結果, プチル基に水酸基, ケト基やカルボキシル基が導入され, プチル基の酸化された中間代謝産物を検出した。プチル基を酸化した後に遊離し, プチル基を減少させながら DBT や MBT を経由して無機スズにまで代謝される代謝経路の存在を確認した。このマダイによる代謝経路は哺乳類による TBT の代謝経路と同様であった。
- ③ マダイに蓄積した TBT を脂質と残渣に分画して測定した。TBTO は脂質画分に多量に蓄積されるとともに, 脂質画分の TBT が優先的に排泄された。魚体内での存在状態によって挙動が異なること, さらに脂質画分における TBT が蓄積・排泄において重要な役割をはたすことを確認した。

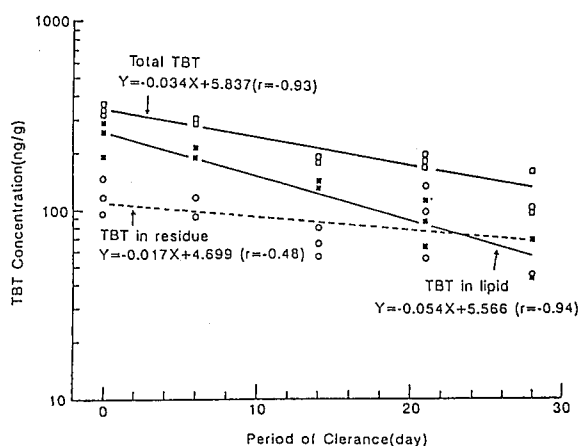


Fig. 3-17. Changes of TBT concentration in lipid, the residual, and total fraction during the elimination experiment.

3.5 食物連鎖を通じた有機スズ化合物の蓄積

自然界に生息する生物は、互いに捕食・被食の関係、すなわち食物連鎖を形成し、それらのエネルギーを獲得している。したがって、海域に流入した有害物質は、食物連鎖によって高次栄養段階の生物に転移される。PCBs等の残留性の高い有機塩素系化合物は海洋食物連鎖により濃縮され、高次栄養段階の生物において高濃度に蓄積されることが報告されている。

食物連鎖を経由して有害物質が蓄積される場合には、魚介類中残留濃度を環境水中の有害物質の鰓を通じた直接的な蓄積、いわゆる生物濃縮係数だけでは予測できなく、残留濃度は生物濃縮係数からの推定値に比較して大きくなる。したがって、有害物質の食物連鎖経由の濃縮は、魚介類中残留濃度の予測・評価において重要な検討事項である。

有機スズ化合物は、疎水性でかつ懸濁物質に吸着されやすい性質を有するために、海水中よりは底泥に高濃度に残留する傾向である。底泥では一般的に嫌気的な状態が卓越し易い。有機スズ化合物は嫌気的な条件下では好気的条件下に比較して微生物分解され難いので、底泥に堆積した有機スズ化合物は、使用規制など各種の対策のために海水中濃度が低下した後も長期間残留する可能性がある。また、底泥に堆積した有機スズ化合物は、底泥に生息する底生生物により蓄積され、さらに、海洋食物連鎖を通して魚介類に移行・蓄積されることが危惧されている。

東京湾の現地調査で採集した海水、底泥、底生生物やプランクトンの有機スズ化合物濃度を測定し、底泥中有機スズ化合物の底生生物への移行をPCBsと比較・検討した。また、七尾湾の現地調査で採集した各種魚介類の栄養段階と有機スズ化合物濃度との関係を解析し、食物連鎖を通じた蓄積の可能性を検討した。

調査および分析方法

1) 東京湾調査

採水：Fig. 3-18に示す東京湾の観測点において表層海水はバケツ、底層海水はバンドーン型採水器（20 l）を用いて100 l採水した。採水は、1994年8月、1995年8月および1996年1月の3回行った。海水は採水した後可能な限り速やかにガラス繊維ろ紙（Whatman GF/C）を用いて懸濁物質とろ過海水に区分し、それぞれの試料について有機スズ化合物（TBTおよびTPT）とPCBsを定量した。

採泥：1995年5月に実施した東京湾の現地調査においてFig. 3-18に示した観測点でスミス・マッキンタイヤー型採泥器を用いて底泥を採集した。底泥は採集後速やかに遠心分離して間隙水を除去した後にTBT、TPTおよびPCBsの分析時まで -20°C で凍結保存した。

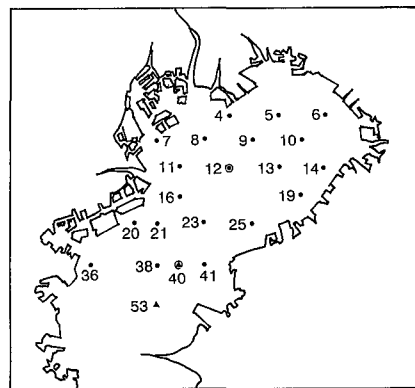


Fig. 3-18. Position of sampling stations in Tokyo Bay.
●, sediments; ○, plankton; ▲, benthos

プランクトンの採集：1996年1月の調査でSt. 12およびSt. 40においてプランクトンネット（XX13）を用いて表層を曳網してネットプランクトン試料を採集した。ガラス繊維ろ紙（Whatman GF/C）上に捕集し、有機スズ化合物とPCBsの分析時まで -20°C の冷凍庫で凍結保存した。この試料は動・植物プランクトンの混合物であるが、動物プランクトンとして各種のコペポダが、また、植物プランクトンとして*Skeletonema*、*Chaetoceros*および*Thalassiosira*が認められた。しかし、この試料の大部分は植物プランクトンにより占められていた。

底生生物の採集：採泥を実施した1995年5月の調査において、St. 40および53において底生生物を採集した。スミス・マッキンタイヤー型採泥器で底泥を採集し、底泥を1 mm目のフルイ上に残った生物を底生生物試料とした。分析に必要な量の底生生物を集めるために数回の採泥を繰り返した。この底生生物試料には、数種の多毛類とナマコ類などが含まれていた。

2) 七尾湾調査

魚介類の採集：1995年9月に実施した七尾湾（南湾）における調査において底曳き網により底生魚介類を採集した。魚類は個体全体を、また、甲殻類は可食部を分析用試料とした。湾内の5観測点において底泥をスミス・マッキンタイヤー型採泥器で採泥し、遠心分離して間隙水を除去した。スミス・マッキンタイヤー型採泥器で採集した底泥を東京湾の調査と同様に1 mm目のフルイで底生生物を採集した。これらの魚介類、底生生物および底泥試料は -20°C で分析時まで凍結保存した。

3) 分析方法

有機スズ化合物：海水、底泥および魚介類のTBTおよびTPTの分析は、それぞれ、高見他（1987, 1988）の方法、張野・福島（1994）の方法および高見他（1987, 1988）の方法に準拠して行った。懸濁物質中のTBTおよびTPTは、魚介類の分析方法に準拠して分析した。これらの分析法では、TBTおよびTPTを溶剤で抽出し、

カラムクロマトグラフィーで精製，プロピルスズ誘導体に変換後，必要に応じて Sep-Pak フロリジルカラムで精製し，GC-FPD (Sn フィルター) 定量することが基本的に共通している。

PCBs の分析：海水，懸濁物質および生物試料（底生生物とプランクトン試料）の PCBs は，脇本他（1971）のアルカリ・鹼化法を修正した方法（Tanabe *et al.* 1987）に従って前処理し，Tanabe *et al.*（1994）の GC 分析条件により GC-ECD を用いて分析した。パターン合わせ法で ΣPCBs として定量した。

底泥の有機炭素：水分を測定するために乾燥した底泥を粉末にし，1 N 塩酸で処理して主として炭酸カルシウムに由来する無機炭素を除去した。0.1 N NaOH 溶液で

塩酸を中和した後に乾燥，粉末にした底泥を分析用試料とした。有機炭素は，CHN コーダー（YanacoMT-5）で分析した。

結果および考察

1) 東京湾調査

東京湾海水中の **TBT** 及び **TPT** 濃度：1994年8月，1995年8月および1996年1月の海水中 TBT および TPT 濃度を Table 3-13 にまとめて示した。ろ過海水の TBT 濃度は，1994年8月，1995年8月および1996年1月でそれぞれ 0.4~1.4 ng/l, 0.5~1.4 ng/l および 0.1~1.1 ng/l であった。懸濁物質の TBT 濃度は，1994年8月で 0.2~1.0 ng/l, 1995年8月で 0.1~0.37 ng/l, 1996

Table 3-13. Concentrations of TBT and TPT in filtered seawater and suspended materials

St. No.	Depth (m)	Concentration (ng/l)			Percentage of TBT in SS	Concentration (ng/l)			Percentage of TBT in SS	Concentration (ng/l)			Percentage of TBT in SS
		FSW ¹⁾	SS ²⁾ (Aug., 1994.)			FSW ¹⁾	SS ²⁾ (Aug., 1995.)			FSW ¹⁾	SS ²⁾ (Jan., 1996.)		
TBT 4	0												
	10	0.4	0.3	43									
6	0												
	10	0.7	0.5	42									
9	0				0.9	0.3	25	0.6	0.1	14			
	15				0.7	0.4	36	0.2	<0.05				
11	0												
	17	0.2	0.9	18									
13	0												
	18	0.8	0.4	33									
23	0	0.6	1.0	63	1.1	0.1	8	0.3	0.2	40			
	24	1.0	0.6	38	0.5	0.3	38	0.1	<0.05				
38	0				1.4	0.3	18	1.1	0.2	15			
	27	1.4	0.4	22	0.5	0.2	29	0.1	0.1	50			
TPT 4	0												
	10	<0.1	<0.1										
6	0												
	10	<0.1	<0.1										
9	0				0.16	0.08	33	0.11	<0.05				
	15				0.20	<0.05		0.16	<0.05				
11	0												
	17	<0.1	<0.1										
13	0												
	18	<0.1	<0.1										
23	0	<0.1	<0.1		0.17	0.24	59	0.07	<0.05				
	24	<0.1	<0.1		0.09	<0.05		<0.05	<0.05				
38	0				0.22	<0.05		0.23	<0.05				
	27	<0.1	<0.1		0.08	<0.05		<0.05	<0.05				

¹⁾ filtered seawater, ²⁾ suspended materials

年1月で $<0.05\sim 0.23$ ng/lであった。懸濁態 TBT の海水の TBT (溶存および懸濁態) に占める割合は 0~63% の範囲内で大きく変動するが、この変動は、海水の TBT 濃度、調査水域の相違あるいは表層と底層の水深の相違などに関連するものではなかった。

東京湾海水の TPT 濃度を Table 3-13 に合わせて示した。1994年8月の調査では TPT の分析に使用した海水量が 1 l と少なかったために、ろ過海水および懸濁物の濃度はすべて検出限界以下であった。1995年8月および1996年1月の調査では、ろ過海水の TPT 濃度は、それぞれ、 $0.08\sim 0.22$ ng/l および $<0.05\sim 0.23$ ng/l であった。一方、懸濁物質の濃度は、1995年8月で $<0.05\sim 0.24$ ng/l、1996年1月で <0.05 ng/l であった。海水の TPT 濃度は TBT 濃度に比較して低く、約 1/10 であった。

ろ過海水と懸濁物質の TBT および TPT 濃度は、表層と底層で明瞭な差異は認められなく、また、経年的な変動も著しくなかった。

東京湾海水中 PCBs 濃度：東京湾の3回の調査における海水の PCBs 濃度を Table 3-14 に示した。東京湾ろ過海水の PCBs 濃度は、1994年8月で $0.16\sim 0.53$ ng/l、1995年8月で $0.13\sim 0.33$ ng/l、1996年1月で $0.13\sim 0.24$ ng/l であった。懸濁物質の PCBs 濃度は、1、2 および 3 回の調査において、それぞれ、 $0.10\sim 0.25$ ng/l、 $0.09\sim 0.17$ ng/l および $0.06\sim 0.10$ ng/l であった。これらの濃度は、表層水と底層水で著しい差異は認められなかった。懸濁態 PCBs の海水中 PCBs において占める割合は 17~61% の間を大きく変動した。この割合は、有機

スズ化合物の場合と同様に、水域、水深あるいは海水中 PCBs 濃度などに関係なく変動した。

東京湾底泥中の TBT、TPT および PCBs 濃度：東京湾底泥の有機スズ化合物と PCBs 濃度の分布を Fig. 3-19 に示した。底泥中の TBT 濃度は、 $0.05\sim 0.25$ $\mu\text{g/g}$ の範囲であり、多摩川河口、横浜港沖合や木更津沖合に濃度の高い水域が認められた。TPT 濃度は $0.002\sim 0.029$ $\mu\text{g/g}$ の範囲であり、TBT に比較すると 1 オーダー低かった。TPT 濃度の高い水域は、横浜および東京港の沖合の湾の西部水域の沿岸部であった。

東京湾底泥の PCBs 濃度は、 $0.05\sim 0.34$ $\mu\text{g/g}$ の間を変動し、東京都と横浜市沖合の湾の西部域および千葉県沖合の水域で高かった。

東京湾の底泥の C および N 濃度は、それぞれ $12.0\sim 34.2$ mg/g および $1.5\sim 4.3$ mg/g であった。これらの分布は、Fig. 3-20 に示したように、湾の中央部で高く、湾に流入あるいは湾内で生産された有機物が東京湾中央部の停滞水域に沈降・堆積することが明らかである。しかし、有機スズ化合物や PCBs のなど疎水性の有害物質の分布は C や N で代表される有機物とは異なり、有機スズ化合物や PCBs は流入域近傍に堆積していることが示唆される。

東京湾プランクトン試料中の TBT、TPT および PCBs 濃度：TPT は東京湾の2観測点 (St. 12 および 40) で採集したプランクトン試料において検出されなかった。TBT 濃度は、12 および 40 の両観測点においていずれも 0.004 $\mu\text{g/g wet wt}$ であった。上述したように、東京湾の表層ろ過海水中 TBT 濃度が 0.9 ng/l であるので、プラ

Table 3-14. Concentrations of Σ PCBs in filtered seawater and suspended materials

St. No.	Depth (m)	Concentration (ng/l)			Concentration (ng/l)			Concentration (ng/l)		
		FSW ¹⁾	SS ²⁾ (Aug., 1994.)	Percentage of Σ PCBs in SS	FSW ¹⁾	SS ²⁾ (Aug., 1995.)	Percentage of Σ PCBs in SS	FSW ¹⁾	SS ²⁾ (Jan., 1996.)	Percentage of Σ PCBs in SS
4	0									
	10	0.26	0.12	32						
6	0									
	10	0.16	0.25	61						
9	0				0.19	0.13	41	0.13	0.06	32
	15				0.13	0.17	57	0.16	0.08	33
11	0									
	17	0.29	0.11	28						
13	0									
	18	0.16	0.10	38						
23	0	0.20	0.11	34	0.19	0.12	39	0.16	0.07	30
	24	0.53	0.11	17	0.28	0.16	36	0.24	0.07	23
38	0				0.18	0.13	42	0.17	0.09	35
	27	0.48	0.12	20	0.33	0.09	21	0.17	0.10	37

¹⁾ filtered seawater, ²⁾ suspended materials

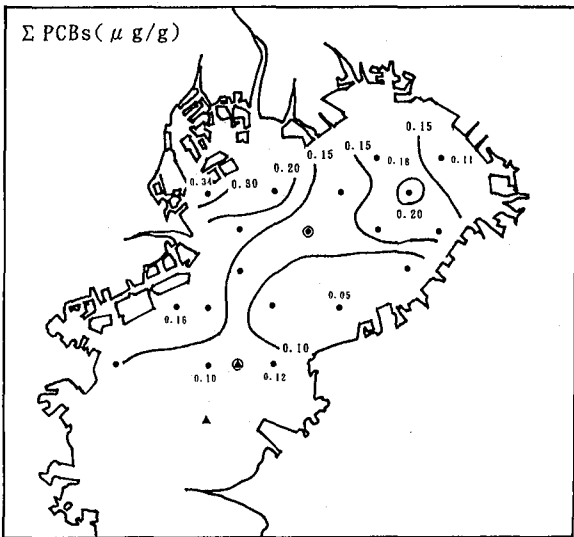
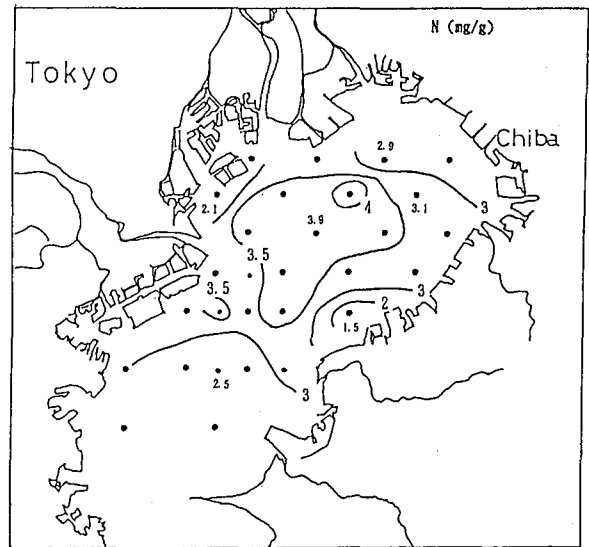
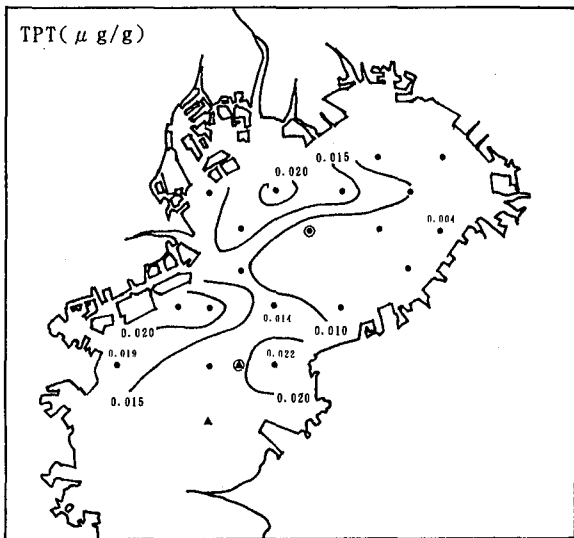
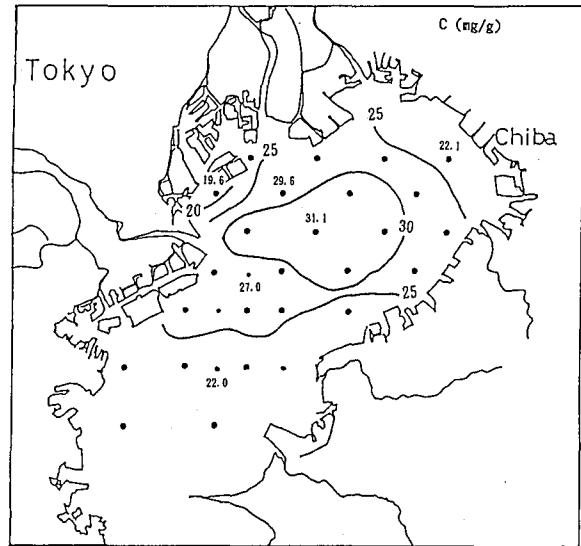
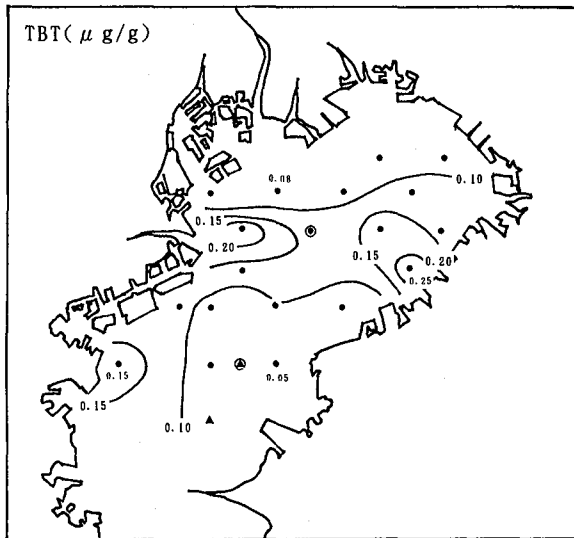


Fig. 3-19. Distributions of TBT, TPT and ΣPCBs in sediments of Tokyo Bay.

Fig. 3-20. Distributions of carbon and nitrogen in sediments of Tokyo Bay.

ンクトンによる生物濃縮係数 (BCF: プランクトン中濃度/ろ過海水中濃度の比) は4400であり, 植物プランクトン培養実験による BCF (Maguire *et al.* 1984) と概ね一致する値であった。

東京湾プランクトン試料の PCBs 濃度は, St. 12 で 0.9 ng/g wet wt, St. 40 で 1.3 ng/g wet wt であった。東京湾表層のろ過海水中 PCBs 濃度の平均値は 0.17 ng/l と試算され, プランクトンによる PCBs の BCF は5,000~8,000と試算することができる。

以上の結果から, TBT の海水からプランクトンへの濃縮は PCBs に比較すると小さいことが明らかである。東京湾底生生物の TBT, TPT および PCBs 濃度: 多毛類などの数種の底生生物で構成される底生生物試料 (以後底生生物と言う) の有機スズ化合物と PCBs 濃度を

Table 3-15. Concentration and bioaccumulation factor of TBT, TPT and Σ PCBs in polychaete collected in Tokyo Bay

Chemicals	St No	Concentration in sediments	Concentration in polychaete		Bioaccumulation factor ^b	
Organotin		($\mu\text{g/g dry wt}$)	($\mu\text{g/g wet wt}$)	($\mu\text{g/g dry wt}$) ^a		
	TBT	40	0.079	0.018	0.090	1.14
		53	0.047	0.028	0.140	2.98
TPT		($\mu\text{g/g dry wt}$)	($\mu\text{g/g wet wt}$)	($\mu\text{g/g dry wt}$)		
		40	0.007	0.006	0.030	4.29
		53	0.003	0.010	0.050	16.67
Σ PCBs		(ng/g dry wt)	(ng/g wet wt)	(ng/g dry wt)		
		40	24.4	33.3	166.5	6.82
		53	5.6	15.0	75.0	13.39

^a Concentrations were determined on a dry-weight basis by correcting water content of the polychaete (80%) reported by Tamai (1989).

^b Bioaccumulation factors were calculated as a ratio of concentration in polychaete to that in sediments.

Table 3-15 に示した。TBT, TPT および PCBs が底生生物から検出され、その濃度は、それぞれ、0.018~0.028 $\mu\text{g/g wet wt}$, 0.006~0.010 $\mu\text{g/g wet wt}$ および 0.015~0.033 $\mu\text{g/g wet wt}$ であった。この底生生物の水分を玉井 (1989) により 80% と仮定して乾燥重量濃度に換算すると、底生生物中 TBT (0.090~0.140 $\mu\text{g/g}$), TPT (0.030~0.050 $\mu\text{g/g}$) および PCBs (0.075~0.167 $\mu\text{g/g}$) の濃度は、底泥の濃度 (TBT: 0.047~0.079 $\mu\text{g/g}$, TPT: 0.003~0.007 $\mu\text{g/g}$, PCBs: 0.006~0.024 $\mu\text{g/g}$) に比較して高かった。底泥濃度に対する濃縮係数 (生物中濃度/底泥中濃度の比) を求めると、濃縮係数は、TBT で 1.1~3.0, TPT で 1.3~16.7, PCBs で 6.8~13.4 であり、この濃縮係数は Tamai (1994) がイソゴカイの飼育実験から求めた濃縮係数 (TBT: 2.8, TPT: 5.7) に近い値であった。すなわち、底生生物は底泥の有害物質を生物濃縮するが、TBT は PCBs に比較して生物濃縮され難いものの TPT は PCBs と同程度の生物濃縮度を示すことが明らかであった。

2) 七尾湾調査

七尾湾魚介類中の TBT および TPT 濃度：七尾湾の調査で採集された底生生物 (主として多毛類), 甲殻類 (シャコおよびエビ類) 並びに魚類 (ハタテヌメリ, シロギス, ハゼ類およびヒイラギ) の TBT および TPT 濃度を七尾湾の推定食物連鎖構造との関係を Fig. 3-21 に示した。多毛類の TBT 濃度は 86.0 ng/g dry wt であり、底泥の TBT 濃度に比較して 10 倍高かった。したがって、底泥の TBT が底生生物に移行することが明らかであった。底泥中の TBT 濃度に対する多毛類の TBT 濃度の比、すなわち、濃縮係数は、東京湾に比較して大きかった。この原因として、東京湾と七尾湾で多毛類の種類が異なること、また、七尾湾の底泥の TBT 濃度が

東京湾に比較して小さいために濃縮係数は大きくなることなどが考えられる。七尾湾の底泥および底生生物から TPT は検出されないため TPT の底生生物への濃縮係数を把握することはできなかった。

甲殻類のシャコおよびエビ類の TBT 濃度は、それぞれ、23.0 ng/g dry wt および 36.4 ng/g dry wt であった。一方、魚類の TBT 濃度は、ハタテヌメリで 75.0 ng/g dry wt, シロギスで 164.8 ng/g dry wt, ハゼ類で 13.0 ng/g dry wt, ヒイラギで 67.0 ng/g dry wt であった。餌料として底生生物を摂取する割合が大きい魚類ほど TBT 濃度が高い傾向であったが、生物の栄養段階と TBT 濃度との関係は明確でなかった。

TPT は、海水、底泥、底生生物およびエビ類では検出されなかったが、シャコでは 128 ng/g dry wt であり、また、ハタテヌメリ, シロギス, ハゼ類およびヒイラギの TPT 濃度は、それぞれ、224.9, 325.2, 99.0 および 84.2 ng/g dry wt であった。TBT と同様に餌料が底生生物に依存する割合が大きい魚類ほど TPT 濃度が高い傾向であり、また、栄養段階の高い魚類ほどその濃度が高い傾向であった。

Stab *et al.* (1996) は、オランダのウェスタインダー湖における野外調査において食物連鎖構造と TBT および TPT 濃度との関係を解析した。TBT では、主な生物群ごとの平均体内濃度は、動物プランクトンで 610 ng/g, 小型肉食魚で 886 ng/g, 大型肉食魚で 442 ng/g, 水鳥で 27 ng/g であり、栄養段階が上位になる程体内濃度が高くなる傾向は認められなかったという。しかし、TPT では、動物プランクトンで 407 ng/g, 小型肉食魚で 994 ng/g, 大型肉食魚で 1,363 ng/g, 水鳥で 2,242 ng/g であり、TBT とは反対に栄養段階が上がると体内濃度が高くなる傾向が認められた。また、湖内の大型肉食魚

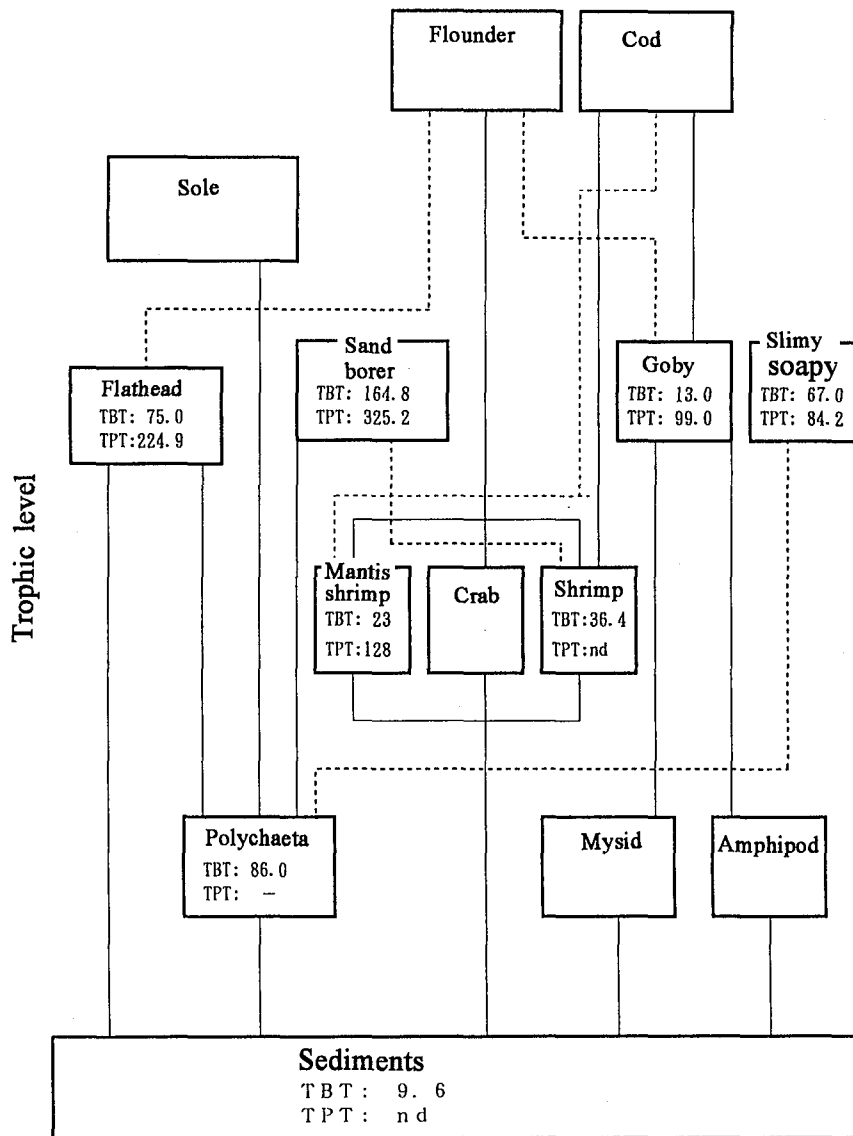


Fig. 3-21. TBT and TPT concentration in several fish species of different trophic level.

(perch) と小型肉食魚 (ruffe) では、体長 (年齢) の増加に連れて TPT 濃度が高くなっており、少なくとも数年間にわたって TPT が体内に蓄積されていく可能性の大きいことが示唆された。

3-1の生物濃縮の魚種による差異の項で述べたように、TPT 化合物の環境水からの鰓を通した直接的な蓄積 (BCF) は、TBT 化合物に比較して小さい。3-3のマガイによる有機スズ化合物の経口濃縮の項で述べたように、TPT 化合物の排泄速度定数は 0.020 day^{-1} であり、TBT 化合物に比較して小さかった。すなわち TPT 化合物は TBT 化合物に比較して排泄され難く、したがって、長期間にわたって魚体濃度が高くなることが示唆される。一方、TPT 化合物のマガイによる経口濃縮係数 (0.57) は TBT 化合物のそれ (0.26~0.38) に比較して大きかった。したがって、TPT 化合物は TBT 化合物に

比較して経口的に蓄積され易いことが明らかであり、また、経口的な濃縮経路が海水から直接濃縮する経路より相対的に重要であることが示唆される。以上のマガイによる経口濃縮の飼育実験からも明らかのように、TPT 化合物は TBT 化合物に比較して蓄積され易く、排泄され難いために、さらに、TPT 化合物の生物濃縮において経口的な経路が重要であるために、TPT 化合物は食物連鎖を通して高次栄養段階の生物に蓄積されることが推察される。

要 約

本節では、飼育実験により求められた経口濃縮係数などから推定される食物連鎖を通した TBT および TPT 化合物の移行・蓄積を東京湾および七尾湾の現地調査結果で確認することを目的とした。以下に要約するように、

実験結果を支持する多くの新しい知見が得られた。

- ① 東京湾プランクトン試料中の TBT および TPT 濃度は、 $0.004 \mu\text{g/g wet wt}$ であった。プランクトンによる TBT の生物濃縮係数は4400と計算され、植物プランクトン培養実験で求めた BCF とオーダーとして一致した。
- ② 東京湾の底生生物には TBT および TPT が検出され、その濃度は、それぞれ、 $0.018\sim 0.028 \mu\text{g/g wet wt}$ および $0.006\sim 0.010 \mu\text{g/g wet wt}$ であった。また、底生生物の PCBs 濃度は、 $0.015\sim 0.033 \mu\text{g/g wet wt}$ であった。底生生物の水分を80%と仮定して乾燥重量濃度に換算し、乾燥重量の濃度で底泥濃度に対する濃縮係数（生物中濃度/底泥中濃度の比）を求めると、濃縮係数は、TBT で1.1~3.0, TPT で1.3~16.7, PCBs で6.8~13.4 であった。TBT および TPT の濃縮係数はイソゴカイの飼育実験から求めた濃縮係数（TBT: 2.8, TPT: 5.7）に近い値であった。すなわち、底生生物は底泥中の TBT, TPT および PCBs を生物濃縮し、生物体内に蓄積することが明らかであった。
- ③ 七尾湾で漁獲された各種魚介類中 TBT および TPT 濃度を魚介類の栄養段階に区分して測定すると、TBT 濃度は栄養段階の上昇に伴って高くなるが、TPT 濃度は栄養段階の高い魚介類で高い傾向であり、TPT は食物連鎖を通して生物濃縮されることが示唆された。

3.6 魚類による有機スズ化合物の蓄積・代謝および排泄に関する考察

TBT および TPT 化合物の海産魚類による BCF は淡水魚で測定された値に比較して大きい傾向であり、さらに魚種により数倍の差があった。この魚種による BCF の差は、取込みと排泄の魚種による差異に起因し、排泄速度の遅い魚類で BCF が大きくなる傾向であることが本研究の結果わかった。生物濃縮試験の代表的な試験魚に選定したマダイは高濃度に TBT および TPT 化合物を蓄積し、BCF は TBT で 10^4 、また、TPT で 5×10^3 のレベルであった。マダイによる BCF は、現在までに測定された魚類による有機スズ化合物の BCF の中で最も大きい値であった。したがって、1日許容摂取量 (ADI) から BCF を用いる水質環境基準の推定において、マダイで測定した BCF 値を用いれば水質環境基準をより安全サイドで評価することが可能となると考えられる。

TBTO の BCF は他の TBT 化合物に比較して大きい。TBTO 以外の TBT および TPT 化合物の BCF は分子種 (Sn に結合する陰イオンの種類が異なる) によって変化しなかった。このことは、Laughlin *et al.* (1986b) によって指摘されるように TBT 化合物は結合する陰イ

オンには関係なく、海水中では TBTCI などの共通した分子種に変換された後に魚類により取り込まれるためと思われる。

TBT や TPT 化合物の BCF は、Pow のような化合物の物性には関連性が見いだされなく、多くの脂溶性有機化合物の生物濃縮のように BCF を Pow から推定できないことがわかった。このことは、多くの脂溶性の有機化学物質が海水中で分子として存在するのに対し TBT や TPT 化合物の一部分は TBT⁺あるいは TPT⁺イオンとして海水に溶存するために、取り込み過程が PCBs のように海水で分子として溶存する物質とは異なることが考えられる。一方、魚体での存在形態とは別に、有機スズ化合物は有害物質の代謝・排泄に関係する酵素チトクローム P450 の活性を抑制することが、ラット (Rosenberg *et al.* 1980) や魚類 (Bruschweiler *et al.* 1996) を用いた実験で確認されている。したがって、PCBs が薬物代謝系酵素を誘導するのに反し、有機スズ化合物は薬物代謝系酵素を阻害し、その代謝・排泄を抑制することが示唆される。

マダイはその速度は遅いが、蓄積した TBTO を代謝・排泄した。代謝は肝臓で行われ、哺乳類で確認されているのと同様にブチル基を水酸化した後にブチル基を離脱する様式で代謝されることを魚類飼育実験で初めて確認した。ブチル基が水酸化された多くの中間代謝物やさらに酸化されたブチル基にケト基やカルボキシル基が導入された中間代謝産物が検出された。これらの中間代謝物の魚類に及ぼす毒性や影響機構はほとんど解明されていなく、今後、検討しなければならない重要な課題である。

魚類による蓄積・排泄は、魚体内の TBT 化合物の存在状態に大きく依存することが明らかであった。Bligh and Dyer 法による脂質抽出残渣に存在するような組織に強く結合する画分への蓄積、あるいは排泄は非常に遅かった。張野他 (1996) は、魚類の骨など硬組織にも比較的高濃度に TBT が存在することを報告しているが、魚体内での存在状態の特異性がこれらの生物濃縮に密接関連することが明らかになった。

本研究の生物濃縮に関する知見は以下のように要約できる。

- ① 有機スズ化合物は海水中で部分的にイオン化した状態で存在することも考えられるので、 k_1 や BCF は Pow のような物性では評価できない。
- ② 魚体では蛋白質などに強固に結合して存在し、これらは容易に代謝・排泄されない。
- ③ 有機スズ化合物それ自身が有機スズ化合物を代謝する薬物代謝系酵素活性を抑制し、代謝・排泄を遅くする。

これらの要因が組合わさって機能し、有機スズ化合物の

生物濃縮が、有機塩素系化合物に代表されるような有機有害化学物質の生物濃縮とは異なり特異的であることが本研究で明らかになった。

魚類は有機スズ化合物を経口的にも蓄積し、経鰓と経口濃縮を合わせた全生物濃縮に対する経口濃縮の寄与は本研究の試験条件下では約1/4であった。BMFは、TBT化合物で0.26~0.38、TPT化合物で0.57であった。経口濃縮では、TBTやTPT化合物の化学形態によってBMFが変化しなかった。摂取されたTBTやTPT化合物の化学形態が、消化管からの吸収の前に消化管内の消化液(胃酸)により変化し、例えばTBTCIに変換されるために摂取した化学形態とBMFの間には関連性が認められないものと考えられる。魚体における分布や排泄速度は、経鰓あるいは経口の蓄積経路とは関係なく、魚体内で同様に振る舞うことが本研究の結果明らかになった。

BMFや魚体への残留率の結果からTPT化合物の方がTBT化合物より経口的に蓄積されやすく、また、食物連鎖を通じた蓄積が危惧される。東京湾のおよび七尾湾の現地調査の結果から、TPTは食物連鎖を通して蓄積される傾向が認められ、実験的データによる予測を確認することができた。さらに、底生生物のTBTあるいはTPT濃度は、底質中のそれらの濃度に比較して高く、底生生物の摂餌に伴って摂取された底質中のTBTおよびTPTが底生生物中に蓄積され、底質中TBTおよびTPTが食物連鎖を通して再循環することが推察される。第1章有機スズ化合物に挙動において明らかになったように、海域に流入した有機スズ化合物は底泥に堆積し、底泥での分解活性が弱いために長期間残存することが考えられる。すなわち、水中濃度が低下した後でも底泥中濃度が高いことも考えられ、底泥—底生生物—魚類の食物連鎖での経口的移行・蓄積により有機スズ化合物の海洋生態系に及ぼす影響が長期化することが本研究の知見から示唆される。したがって、底質中の有機スズ化合物の許容基準の検討と底質の浄化が、陸上や船底塗料からの溶出を削減した後においても重要な検討課題であろう。

第4章 総合考察

有害物質の魚類による生物濃縮をとらえる際に、着眼点として以下に示した側面が含まれていると考えられる。

- ① 取り込みや代謝・排泄の機構、生物体内での存在状態、分布および生物濃縮度の検討など生物濃縮特性の解明
- ② 食物連鎖を通じた移行・蓄積過程の予測など生態化学的側面の検討
- ③ 食品として安全な水産物の生産を保障する環境の保全基準の予測など食品衛生および環境科学的側面からの検討である。

以下には上記の側面から今後の課題を含めて若干の考察を加えてみたい。

1. 有機スズ化合物の魚類による生物濃縮の特徴

有機スズ化合物の魚類による生物濃縮は、①BCFがPowからの推定値に比較して著しく大きい。②排泄速度定数がPowによる推定値に比較して著しく小さい。③有機スズ化合物は魚体内濃度は脂質に関係しない。④有機スズ化合物が蛋白質に結合して存在する。ことなど多くの点で有機塩素系化学物質と異なることが明らかであった。この原因として、①海水で有機スズ化合物は一部分イオンとして存在する(Laughlin *et al.* 1986b)ために取り込み機構が異なる。②魚体内で組織に強く結合して代謝・排泄されがたい状態で存在する。③有機スズ化合物は薬物代謝系酵素(P450)の活性を抑制し、それ自体の代謝・排泄を阻害する。ことなどが考えられ、有機金属化合物の生物濃縮機構は有機塩素系化合物のそれとは異なることが明らかになった。今後、アルキル鉛化合物など多くの有機金属化合物による生物濃縮を研究し、アルキル鉛化合物と有機スズ化合物との生物濃縮の類似性や差異を解明することにより、有機金属化合物の生物濃縮機構の特異性を詳細に解明する必要がある。

生物濃縮過程の特異性はそれらの魚体内での分布にも関連する。有機スズ化合物と類似する有機金属化合物のメチル水銀の生物濃縮はMatida *et al.* (1971)により研究され、メチル水銀の蓄積濃度は、腎臓(30 µg/g)、肝臓(23 µg/g)、脳(16 µg/g)、筋肉(13 µg/g)、残部(8.8 µg/g)の順に高いことが報告された。すなわち、メチル水銀蓄積の主要な部位は腎臓であり、その部位別濃度は必ずしも脂質濃度に依存しなく、筋肉にも比較的高濃度の蓄積が認められた。メチル水銀の部位別濃度は、無機水銀の部位別濃度(腎臓および肝臓に高濃度に蓄積される)に類似することが報告されており、メチル水銀の生物濃縮では、重金属としての濃縮特性が強く反映されていると考えられる。上述した有機スズ化合物の魚体内分布はメチル水銀に近く、その生物濃縮では金属的な性格も合わせて示すことが明らかである。

以上のことから、これら有機スズ化合物の取り込み及び排泄機構は飼育水や魚体内において分子として振る舞うPCBsに代表される有機化合物とは異なり、その濃縮機構が疎水性の特性(Pow)のみに依存しない原因を本研究で解明することができた。

2. 食物連鎖を通じた蓄積の可能性

TBTおよびTPT化合物の経口濃縮実験において①TPTおよびTBTのBMFが測定され、それぞれ、0.57および0.29~0.38であった。②有機スズ化合物のBMFはPCBsの1.70(山田 1996)に比較すると小さい。こ

とが本研究において明らかになった。

有機スズ化合物の BMF などの経口濃縮特性から、有機スズ化合物は PCBs に比較して食物連鎖を経由して生物濃縮される可能性は小さいと考えられるが、有機スズ化合物で比較すると TBT より TPT で食物連鎖経由の生物濃縮が危惧される。東京湾および七尾湾の現地調査で、底泥の TBT 及び TPT は堆積物食者の底生生物に移行・蓄積することが確認され、その濃縮度は TPT で大きいことが明らかであった。また、食物連鎖を構成する魚介類の TBT 濃度は、栄養段階との関連性が見いだされなかったが、TPT 濃度は魚介類の栄養段階の上昇に伴って高くなる傾向であり、TPT は食物連鎖経由で蓄積されることが示唆された。したがって、魚類飼育実験で推察されたことが現場調査において確認され、飼育実験による経口濃縮特性の解明により食物連鎖における有害物質の挙動を予測できることが示唆された。

3. 水域環境の保全基準

有機スズ化合物の 1 日許容摂取量 (ADI) が、TBTO については我国厚生省が暫定的に、また TPT については WHO 及び FAO が定めている。それらの値は TBTO で $1.6 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 、TPT で $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ である。ADI からヒトの健康障害を引き起こさない魚介類の許容濃度や海水中許容濃度が次式にしたがって日本人の平均体重、魚介類の摂取量や生物濃縮係数のデータを用いて試算される。

$$\text{魚介類の許容濃度}(\mu\text{g}/\text{g}) = \frac{\text{ADI}(\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}) \times \text{体重}(\text{kg})}{1 \text{ 日の魚介類の摂取量}(4.1)} \quad (4-1)$$

$$\text{海水中許容濃度}(\mu\text{g}/\text{l}) = \frac{\text{魚介類許容濃度}(\mu\text{g}/\text{g})}{\text{BCF}(\text{l}/\text{kg})} \quad (4-2)$$

魚介類許容濃度から海水中許容濃度の試算において一般的には生物濃縮係数 (BCF) が使用されてきた。しかし、本研究で明らかになったように魚類は有機スズ化合物を経口および経口的に蓄積することが明らかであり、海水許容濃度の推定では BCF よりは生物蓄積係数 (BAF) を使用することが妥当であると考えられる。

本研究で解明された TBT 化合物の BCF (10^4) および BMF (0.4) を用い、餌生物の BCF も 10^4 と仮定すると、水の TBT 濃度が a の場合、TBT 化合物の魚類による BAF は下記の計算式に示すように 14000 と試算される。

$$\begin{aligned} \text{経口濃縮による魚体濃度} &: \text{水中濃度} \times \text{BCF}, \\ &10000 \times a = 10000a \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{経口濃縮による魚体濃度} &: \text{餌濃度} \times \text{BMF}, \\ &10000a \times 0.4 = 4000a \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{生物蓄積係数} &: (\text{経口濃縮} + \text{経口濃縮}) / \text{水中濃度} \\ &= (10000a + 4000a) / a = 14000 \end{aligned}$$

同様に、TPT 化合物の BCF (5×10^3) および BMF

(0.6) を用い、餌生物の BCF も 5×10^3 と仮定すると、TPT 化合物の魚類による BAF は 8000 と試算される。

ヒトが摂取する有機スズ化合物の全てが魚介類に由来し、体重を 50 kg、1 日当たりの魚介類の摂取量を 90 g と仮定し、BCF の代わりに上記で試算した BAF を用いると、TBT および TPT 化合物の海水中許容濃度は、それぞれ $64 \text{ ng}/\text{l}$ および $35 \text{ ng}/\text{l}$ と計算される。ここで試算した考え方では食物連鎖経由の濃縮の概念は含まれていないが、経口濃縮の他に経口濃縮も考慮しているために BCF を用いて試算するよりは精度の高い試算であると考えられる。

有機スズ化合物の水域生態系に及ぼす影響は、生態系を構成する各種の水生生物を用いて多くの研究者によって生態毒学的側面からも研究された。Osada *et al.* (1993) が指摘するように、有機スズ化合物の水生生物に対する毒性は成体に比較して発生初期の段階では感受性が高く、強く発現する傾向である。有機スズ化合物の水生生物に対する種々の影響の中で特に特異的で鋭敏な現象は、新腹足目巻貝 (パイ、イボニシやレイシガイ) に観察される imposex (ペニスや輸精管などの雄性生殖器官が雌に形成され、産卵不能に陥る一連の症状) である。堀口・清水 (1992) および Horiguchi *et al.* (1994) により我が国における imposex の発生状況が詳細に研究され、また、Bryan *et al.* (1987, 1988) による一連の研究により、海水の TBT 濃度が $2 \text{ ng}/\text{l}$ で誘導されることが報告されている。これらの水生生物影響の概要は Table 4-1 のようにまとめられる。

巻貝の imposex を除くと、水生生物影響は、TBT 濃度 $10 \text{ ng}/\text{l}$ 以下では認められず、TBT 濃度 $10 \text{ ng}/\text{l}$ は水生生物の保護のための海域環境濃度の目標値の 1 つであると考えられる。一方、パイなど巻貝資源の保護を目的とするとさらに低濃度の TBT 濃度 $1 \sim 2 \text{ ng}/\text{l}$ を海域環境濃度の目標値として設定する必要がある。

TPT 化合物の水生生物に対する影響の研究は、TBT 化合物に比較して乏しい。魚類に対する亜急性や慢性毒性試験の結果では、TPT 濃度 $0.14 \sim 0.22 \mu\text{g}/\text{l}$ で魚類の成長の抑制が認められたが、この濃度は TBT の魚類への亜急性あるいは慢性影響濃度 ($0.1 \sim 3.0 \mu\text{g}/\text{l}$) と著しい差異は認められなかった (小山・清水 1992)。TPT 化合物も TBT 化合物同様に新腹足目の巻貝に対して imposex を誘導することが、堀口 (1992) により確認された。したがって、以上の結果から、水生生物の保護の観点から検討した場合、TPT 化合物の海域環境基準の目標値は TBT 化合物と同様のレベルで良いことが示唆される。

上述したように食品の安全性の観点から TBT および TPT 化合物の海水中許容濃度は、それぞれ $64 \text{ ng}/\text{l}$ および $35 \text{ ng}/\text{l}$ と試算されるが、この濃度は水生生物の保護

Table 4-1. Hazardous effects caused by various TBT concentrations

Concentration of TBT (ng/l)	Effects on aquatic organisms
2	Threshold concentration to induce imposex in several kinds of snails such as <i>Nucella lapillus</i> and <i>Thais clavigera</i> etc. No effect is expected in other aquatic organisms.
5	Imposex is observed in most of snails. May exceed the no observed effect concentration (NOEC) for some sensitive zooplankton, if the NOEC is assumed to be 1/100 of LC ₅₀ .
10	Exceed the NOEC for sensitive zooplankton such as <i>Acartia</i> and <i>Mysidopsis</i> , but believed to be NOEC for many kind of zooplankton. Believed to be NOEC on sensitive fish such as guppy.
20	Exceed the NOEC for most of zooplankton. Hazardous effects are observed on sensitive aquatic animals such as juvenile fish and crustacea. Chronic effects such as inhibition of ovary formation are observed on oysters.
50	Sub-acute effects such as a decrease of O ₂ consumption and feeding rate are observed in oyster. Believed to be NOEC for animals such as polychaetes and fish.
100	Exceed the NOEC for most of fish, polychaetes and mussels. Various hazardous effects such as suppression of growth are observed in fish and juvenile oyster. Twelve day exposure is mortal to oyster.

の観点から推定された海域環境基準の目標値に比較して数倍大きい。すなわち、10 ng/l の海域環境濃度が維持されれば、魚介類の摂取を通して人の健康に障害を及ぼす可能性は小さい。

環境庁による近年の水質調査の結果（環境庁 1996）では、我が国沿岸域海水の TBT 濃度は <3~25 ng/l であり、多くの地点で 2 ng/l の海域環境基準の目標濃度を越える水域が多く見られる。

一方、我が国沿岸域の海水の TPT 濃度は、1995年の調査（環境庁 1996）では検出限界の 5 ng/l 以下であった。10 ng/l の海域環境基準の目標値は達成しているが、検出限界が 5 ng/l のモニタリング調査の分析法では 2 ng/l の基準を達成しているかどうか不明である。

第 1 章で述べたように外洋域の TBT 濃度は、日本近海で 0.1~5.8 ng/l、北半球外洋水では tr~0.8 ng/l およ

び南半球外洋水で tr~0.4 ng/l と推定された。これらの濃度は概ね海域環境基準の目標値を達成していることが明らかであった。

4. 有機スズ化合物汚染対策に対する提言

TBT および TPT 化合物は、その製造、輸入並びに使用が「化学物質の審査および製造等の規制に関する法律」において規制され、さらに船底塗料や漁網防汚剤など水域環境に直接放出するような使用は自粛されてきた。したがって、海域環境の濃度は次第に低下しているものと期待される。

環境庁が東京湾や大阪湾で海水中の TBT や TPT 化合物濃度を測定した。海水中 TBT 濃度は、1988年から1992年の間に濃度の低下は認められず、むしろ大阪湾ではその濃度が1991および1992年には高くなっている傾向であった。海水中 TPT 濃度は、大阪湾では1990年以降、また、東京湾では1990年および1992年には検出されず、経年的に次第に低下している傾向が認められた。多くのマリナーが立地する油壺湾における海水中 TBT 濃度は、Fig 1-26 に示したように有機スズ含有塗料の使用に規制に伴って経年的に次第に低下してきた。しかし、マリナーの近傍の油壺湾奥の観測点では、1993年夏季の海水中 TBT 濃度は1992年の同時期の濃度と大きな違いが認められず、海水中 TBT 濃度の低下が近年緩やかになっていることが推察される。すなわち、有機スズ化合物の現在の使用規制では、海水中 TBT 濃度のこれ以上の低下が期待できないことが示唆される。

堀口他（1996）による近年のわが国沿岸域における巻貝の imposex の発症状況調査では、imposex の発生率や強度は、1990年の有機スズ化合物の使用の規制が開始された時期とほとんど変化のないことが報告されている。この調査結果は、海水中の TBT や TPT 化合物濃度が次第に低下して高濃度汚染域は減少したが、海水中 TBT 濃度が、先に述べた巻貝の imposex を引き起こす 2 ng/l を越える水域が内湾・沿岸および港湾域を中心に広く分布することを示唆する。

現行の有機スズ化合物の使用規制は、沿岸域の直接的な汚染域（例えば、港湾やマリナー周辺海域）の水質の改善には当然寄与してきた。しかし、第 1 章でも述べたように TBT 化合物が、沖合あるいは外洋域からも検出されることから明らかなように、その汚染は地球的にも拡大している。すなわち、沿岸域の汚染をさらに改善し、さらに地球規模での汚染を防止するためには、例えば、外洋域航行船舶にも使用禁止するなど、国際的な協調のもとに現行の規制を強化する必要がある。

油壺湾での研究において湾内に負荷された TBT 化合物の約13.5%が底泥に堆積すると試算された。また、底泥の TBT 濃度は海水中 TBT 濃度の $10^2 \sim 10^4$ 倍であっ

た。底泥に堆積したTBTは、間隙水に可溶化した後に間隙水と底泥直上水の濃度差による拡散によって底泥から再溶出し、さらに水生生物に影響を及ぼすことが想定される。しかし、油壺湾の底泥間隙水ではMBTおよびDBT濃度が高いのに対し、TBT濃度は50 ng/l以下で底層水のTBT濃度に比較して低かった。したがって、底泥からのNH₄-Nの溶出(Yamada and Kayama 1987)などに認められる底泥間隙水を通した拡散によるTBTの溶出の可能性は少ないと考えられる。

一方、底泥に堆積した有害物質は、底泥に生息する底生生物によって蓄積され、底層の生物によって構成される食物連鎖によってヒラメなどの底層魚など高次栄養段階の生物に移行・濃縮される。Irie (1994)は水俣湾の水生生物中の水銀濃度を測定し、水銀濃度が生物の摂餌生態に関連し、底生生物を摂餌する栄養段階に高い魚食性の底層魚(アイナメ)で最も高いことを確認した。Tamai (1994)は、底生生物イソゴカイ *Perinereis nuntia* var. *vallata* を用いた飼育実験を行い、底泥中TBTおよびTPT化合物のイソゴカイへの生物濃縮を確認した。底泥に堆積されるPCBs (Fowler *et al.* 1978; Clark *et al.* 1986; McLeese *et al.* 1980; Tatem 1989)や多環芳香族化合物(Weston 1990)は、底生生物、特に、表在性堆積物食者の多毛類などにより蓄積されることが報告されている。すなわち、底泥の有害物質が食物連鎖を通して再循環することが示唆され、底泥が有害物質の汚染源になることが危惧される。

このように、底泥は2次的な汚染源になり、さらにその影響が長期間持続することが危惧されるために、生態毒性試験や魚介類中許容濃度から底質環境基準を策定する手法(山田 1994)を開発するとともに底泥の保全目標を確立することが今後の重要な課題であることが本研究の成果から指摘できる。

謝 辞

本研究を纏めるに当たって適切なるご助言と懇切なる御指導を賜った東北大学農学部竹内昌昭教授に厚く感謝致します。また、多くの貴重な御助言と示唆に富んだ御意見をいただいた東北大学農学部森 勝義教授並びに東北大学大学院秦 正弘教授に厚く御礼申し上げます。

本研究は、著者が水産庁南西海区水産研究所(現瀬戸内海区水産研究所)から東海区水産研究所(現中央水産研究所)に配置換えになった昭和59年から開始した。船底塗料の殺生物剤である有機スズ化合物による水域汚染と水生生物影響が顕在化しつつある時期であったが、本研究の機会を与えていただくとともに終始懇篤なる御指導並びに絶大な御支援を賜った元中央水産研究所環境保全部長里見至弘博士に深甚なる謝意を表します。

本研究では、試験魚として各種の海産魚類を用いまし

た。栽培漁業の放流用種苗として生産している魚類を快く有害物質の毒性や生物濃縮の研究に提供していただきました。床嶋純孝氏((財)温水養魚開発協会)、木下秀明博士((財)海洋生物環境研究所)および堀内敏明氏(浜岡温水利用研究センター)には、試験魚の提供と取扱い方および飼育法について多くのご教示をいただき、厚く御礼申し上げます。

研究を開始する時点では確立していなかった有機スズ化合物の分析法については、大阪市立環境科学研究所の福島 実博士および張野宏也博士および(財)日本冷凍食品検査協会の手塚義博氏、北島邦裕氏、立石晶浩氏および田形 肇氏には多くの示唆に富むご教示をいただきました。謹んで御礼申し上げます。有機スズ化合物の代謝の研究では、中間代謝産物をプラズマ発光検出器付きガスクロマトグラフによる高感度分析により検索しました。分析装置の使用並びに中間代謝産物の合成標準物質の分与など絶大な御支援を賜った厚生省国立医薬品食品衛生研究所の鈴木 隆博士に厚く御礼申し上げます。

東京湾の調査では水産工学研究所所属調査船「たか丸」を使用させていただきました。「たか丸」の使用をご許可下さった水産工学研究所歴代所長並びに調査の実施に協力していただいた「たか丸」戸部希介船長および乗組員の方々に厚く感謝の意を表します。

共同研究者として試料の採集や魚類飼育実験の実施において多大な協力をいただき、また、研究の遂行において多くのご教示や示唆に富んだ討議をいただいた高柳和史博士(現養殖研究所飼育環境技術部)および池田久美子氏はじめ瀬戸内海区水産研究所環境保全部の職員の方々には厚く感謝の意を表します。最後に、本研究で使用した試験魚の官用車による活魚輸送および本研究の遂行において不可欠な施設である海水取水施設およびアクアトロンの維持・管理および修理のために多大な協力を賜った中央水産研究所総務部の遠藤 正氏および梶ヶ谷義一氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- Alzieu, C., J. Sanjuan, J. P. Deltreil, and M. Borel, 1986. Tin contamination in Arcachon Bay: Effects and oyster shell anomalies. *Mar. Pollut. Bull.*, **17**, 494-498.
- Alzieu, C., J. Sanjuan, P. Michel, M. Borel, and J. P. Dreno, 1989. Monitoring and assessment of butyltins in Atlantic coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.*, **20**, 22-26.
- American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation, 1989. Standard Methods, For the Examination of Water and Waste Water, 17th Edition (ed by Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Trussell, R. R.), American Public Health Association, Washington, D.C., pp. 8.1-8.143
- 有馬郷司・梅本 滋, 1976. 水産生物中の水銀-II, マグロ, カジキ肉における水銀分布. *日水誌*, **42**, 931-937.
- Batley, G. E., K. J. Mann, C. I. Brockbank, and A. Maetz,

- 1989a. Tributyltin in Sydney Harbour and Georges River Waters. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.*, **40**, 39–49.
- Batley, G., C. Huhua, C. I. Brockbank, and K. J. Flegg, 1989b. Accumulation of tributyltin by the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.*, **40**, 49–54.
- Bligh, E. G. and W. J. Dyer, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911–917.
- Blunden, S. J. and A. Chapman, 1986. Organotin compounds in the environment. In *Organometallic compounds in the environment — principles and reactions* (ed. by Craig, P. J.) Longman, London, pp. 111–159.
- Bruschweiler, B. J., F. E. Wurgler, and K. Fent, 1996. Inhibition of cytochrome P4501A by organotins in fish hepatoma cells PLHC-1. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, 728–735.
- Bryan, G. W., P. E. Gibbs, L. G. Hummerstone, and G. R. Burt, 1986. The decline gastropod *Nucella lapillus* around the south west England: evidence for the effect of tributyltin from the antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **66**, 611–640.
- Bryan, G. W., P. E. Gibbs, G. R. Burt, and L. G. Hummerstone, 1987. The effect of tributyltin (TBT) accumulation on adult dog-whelk, *Nucella lapillus*: long-term field and laboratory experiments. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **67**, 525–544.
- Bryan, G. W., P. E. Gibbs, L. G. Hummerstone, and G. R. Burt, 1989. Uptake and transformation of ¹⁴C-labelled tributyltin chloride by the dog-whelk, *Nucella lapillus*: Importance of absorption from the diet. *Mar. Environ. Res.*, **28**, 241–245.
- Champ, M. A. and W. L. Pugh, 1987. Tributyltin antifouling paints: introduction and overview. *Ocean 87, Organotin Symposium Proceedings*, vol. 4, Marine Technology Society, Washington, D. C., pp. 1298–1308.
- Clark, J. R., J. M. Patrick, Jr., J. C. Moore, and J. Forester, 1986. Accumulation of sediment-bound PCBs by fiddler crabs. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **36**, 571–578.
- Cleary, J. J. and A. R. D. Stebbing, 1985. Organotin and total tin in coastal waters of Southwest England. *Mar. Pollut. Bull.*, **16**, 350–355.
- Cleary, J. J. and Stebbing, A. R. D., 1987. Organotin in the surface microlayer and subsurface waters of Southwest England. *Mar. Pollut. Bull.*, **18**, 238–246.
- Connell, D. W., 1988. Bioaccumulation behavior of persistent organic chemicals with aquatic organisms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **101**, 117–154.
- Dauble, D. D. and L. R. Curtis, 1990. Influence of digestive processes on the absorption and fate of quinoline by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.*, **9**, 505–512.
- Davies, A. G. and P. J. Smith, 1980. Recent advances in organotin chemistry. *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.*, **23**, 1–77.
- Davies, R. P. and A. J. Dobbs, 1984. The prediction of bioconcentration in fish. *Wat. Res.*, **18**, 1253–1262.
- Ebdon, L. K., K. Evans, and S. Hill, 1989. The accumulation of organotins in adult and seed oyster from selected estuaries prior to the introduction of U. K. regulations governing the use of tributyltin based antifouling paints. *Sci. Total Environ.*, **83**, 63–84.
- Evans, D. E. and R. B. Laughlin, Jr., 1984. Accumulation of bis (tributyltin) oxide by mud crab, *Rhithropanopeus harrisi*. *Chemosphere*, **13**, 213–219.
- FAO, 1984. FAO Species Catalogue, vol 3, Cephalopods of The World, An Annotated and Illustrated Catalogue of Species of Interest to Fisheries, FAO Fisheries Synopsis No. 125, Volume 3, pp 277.
- Fowler, S. W., G. G. Polikarpov, D. L. Elder, P. Parsi, and J. P. Villeneuve, 1978. Polychlorinated biphenyls: Accumulation from contaminated sediments and water by the polychaete *Nereis diversicolor*. *Mar. Biol.*, **48**, 303–309.
- Gibbs, P. E., and G. W. Bryan, 1986. Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **66**, 767–777.
- Gibbs, P. E., G. W. Bryan, P. L. Pascoe, and G. R. Burt, 1987. The use of dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **67**, 507–523.
- Goldberg, E. D., V. T. Bowen, J. E. Farrington, G. R. Harvey, J. H. Martin, P. L. Parker, R. W. Risebrough, W. E. Robertson, E. Schneider, and E. Gamble, 1978. The mussel watch. *Environ. Conseq.*, **5**, 101–125.
- Harino, H., M. Fukushima, and M. Tanaka, 1992. Simultaneous determination of butyltin and phenyltin compounds in the aquatic environment by gas chromatography. *Anal. Chim. Acta*, **264**, 91–96.
- 張野宏也・福島 実, 1994. プ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調査報告書, 環境庁環境保健部保健調査室, 東京, pp. 219–232.
- Hawker, D. W. and D. W. Connell, 1988. Influence of partition coefficient of lipophilic compound on bioconcentration kinetics with fish. *Wat. Res.*, **22**, 701–707.
- 堀 英夫・立石晶浩・山田 久, 1995. 溶剤及び界面活性剤の海産魚に与える影響. 海産魚短期毒性試験法確立事業総合報告書, 水産庁, 東京, pp. 105–112.
- 堀口敏宏, 1992. 有機スズ化合物による海産巻貝の imposex. 東京大学博士学位論文, 東京, pp. 18–26.
- 堀口敏宏・清水 誠, 1992. IV. 水生生物に対する影響, 7. 貝類および他の水生生物. 有機スズ汚染と水生生物影響 (里見至弘・清水 誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 99–135.
- Horiguchi, T., H. Shiraishi, M. Shimizu, and M. Morita, 1994. Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **74**, 651–669.
- 堀口敏宏・白石寛明・清水 誠・柴田康行・相馬光之・森田昌敏, 1996. イボニシ等におけるインボセックスと有機スズ汚染に関する第二次全国実態調査 (1993–1995年度). 1996年度日本海洋学会春季大会講演要旨集, No. 365, pp. 368–369.
- 星川欣孝・藤本敏雄・深井堅次・篠原好幸, 1983. 分配係数と濃縮倍率の相関性について. 生態化学, **6**, 45–53.
- Irie, T., 1994. Bioaccumulation of mercury by marine fish. In *Proceedings of Japanese – French Workshop on Recent Progress on Knowledge of the Behaviour of Contaminants in Sediments and their Toxicity to Aquatic Organisms*. National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, pp. 102–106.
- Ishizaka, T., T. Suzuki, and Y. Saito, 1989. Metabolisms of dibutyltin dichloride in male rats. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 1096–1101.
- Iwata, H., S. Tanabe, N. Sakai, and R. Tatsukawa, 1993. Dis-

- tribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 1080-1098.
- JIS, 1984. 原子吸光光度法. 工場排水試験方法, JIS K 0102, (財)日本規格協会, pp. 176-178.
- (財)化学品検査協会, 1984. OECD Guidelines for Testing of Chemicals (日本語版), 第1巻, (OECD 化学品テストガイドラインデータ解釈指針—化学物質の初期有害性評価のために—通商産業省基礎産業局化学品安全課監修), 第一法規出版, 東京, pp. 1701-1837.
- 環境庁環境保健部保健調査室, 1989. 化学物質と環境 (平成元年版), 公害研究対策センター, 東京, pp. 432.
- 環境庁環境保健部保健調査室, 1993. 化学物質と環境 (平成5年度版), 公害研究対策センター, 東京, pp. 245-263.
- 環境庁環境保健部保健調査室, 1996. 化学物質と環境 (平成8年度版), 公害研究対策センター, 東京, pp. 243-255.
- 川合真一郎・張野宏也, 1992. 5 微生物分解. 有機スズ汚染と水生生物影響 (里見至弘・清水 誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 68-85.
- Kawano, M., S. Matsushita, T. Onoue, H. Tanaka, and R. Tatsukawa, 1986. Biological accumulation of chlordane compounds in marine organisms from the northern North Pacific and Bering Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **17**, 512-516.
- Kimmel, E. C., R. H. Fish, and J. E. Casida, 1977. Bioorganotin chemistry, Metabolisms of organotin compounds in microsomal monooxygenase systems and in mammals. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 1-9.
- 北野 大, 1981. 生物濃縮試験法, 実験動物としての魚類, (江上信夫 編), ソフトサイエンス社, 東京, pp. 551-563.
- 木下秀明・城戸勝利・瀬戸熊卓見, 1992. 試験生物の飼育および繁殖法. 海産魚に係る有害化学物質の毒性試験に関する報告書, 水産庁, 東京, pp. 59-151.
- 小林邦男, 1979. 魚類の薬物代謝. 化学と生物, **17**, 761-769.
- 小山次朗・清水昭男, 1992. IV. 水生生物に対する影響, 6. 魚類. 有機スズ汚染と水生生物影響 (里見至弘・清水 誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 86-98.
- 窪寺恒己, 1991. イカの生理・生態. イカ—その生物から消費まで一, (奈須敬二・奥谷喬司・小倉通男共編著), 成山堂, 東京, pp. 33-67.
- Langston, W. J., G. R. Burt, and M. Zhou, 1987. Tin and organotin in water, sediments, and benthic organisms of Poole Harbour. *Mar. Pollut. Bull.*, **18**, 634-639.
- Laughlin, Jr. R. B., W. French, and H. E. Guard, 1986a. Accumulation of bis (tributyltin) oxide by marine mussel, *Mytilus edulis*. *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 884-890.
- Laughlin, Jr. R. B., H. E. Guard, and W. M. Coleman, 1986b. Tributyltin in seawater, speciation and octanol - water partition coefficient. *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 201-204.
- Laughlin, Jr. R. B. and W. French, 1988. Concentration dependence of bis (tributyltin) oxide accumulation in mussel, *Mytilus edulis*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **7**, 1021-1026.
- Li, Q., M. Osada, K. Takahashi, T. Matsutani, and K. Mori, 1997. Accumulation and depuration of tributyltin oxide and its effect on the fertilization and embryonic development in the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, 489-496.
- Lyman, J. and R. H. Fleming, 1940. Composition of seawater. *J. Mar. Res.*, **3**, 134-146.
- Maetz, J., 1970. Mechanisms of salt and water transfer across membranes in teleosts in relation to the aquatic environment. *Mem. Soc. Endocr.*, **18**, 3-29.
- Maguire, R. J., P. T. S. Wong, and J. S. Rhamey, 1984. Accumulation and metabolism of tri-n-butyltin cation by a green algae, *Ankistrodesmus falcatus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **41**, 537-540.
- Maguire, R. J. and R. J. Tkacz, 1985. Degradation of tri-n-butyltin species in water and sediment from Toronto Harbor. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 947-953.
- Maier, K. J. and R. E. Tullis, 1984. The effect of diet and digestive cycle on the gastrointestinal tract pH values in the goldfish, *Carassius auratus* L., mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), and channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish. Biol.*, **25**, 151-165.
- Makkar, N. S., A. T. Kronick, and J. J. Cooney, 1989. Butyltin in sediments from Boston Harbour, USA. *Chemosphere*, **18**, 2043-2050.
- Martin, R. C., D. G. Dixon, R. J. Maguire, P. V. Hodson, and R. J. Tkacz, 1989. Acute toxicity, uptake, depuration and tissue distribution of tri-n-butyltin in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquatic Toxicol.*, **15**, 37-52.
- Matida, Y., H. Kumada, S. Kimura, Y. Saiga, T. Nose, M. Yokote, and H. Kawatsu, 1971. Toxicity of mercury compounds to aquatic organisms and accumulation of the compounds by the organisms. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **21**, 197-227.
- Matsuda, R., T. Suzuki, and Y. Saito, 1993. Metabolism of tri-n-butyltin chloride in male rat. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 489-495.
- McLeese, D. W., C. D. Metcalfe, and D. S. Pezzack, 1980. Uptake of PCBs from sediments by *Nereis virens* and *Crangon septemspinosa*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, **9**, 507-518.
- 森田昌敏, 1992. 有機スズ化合物の分析方法. 有機スズ汚染と水生生物影響 (里見至弘・清水 誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 34-55.
- Muller, M. D., 1987. Comprehensive trace level determination of organotin compounds in environmental samples using high-resolution gas chromatography with flame photometric detection. *Anal. Chem.*, **59**, 617-523.
- Murphy, P. G. and J. V. Murphy, 1971. Correlations between respiration and direct uptake of DDT in the Mosquito Fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **6**, 581-588.
- (社)日本水質汚濁研究協会, 1986. 水質環境基準検討調査 (昭和60年度環境庁委託業務結果報告書), pp. 179.
- (社)日本水質汚濁研究協会, 1990. 水質環境基準検討調査—TPT 化合物に関する文献調査 (平成元年度環境庁委託業務結果報告書), pp. 128.
- (社)日本水質汚濁研究協会, 1991. 有機スズ化合物発生源及び環境負荷量等調査 (平成2年度環境庁委託業務結果報告書), pp. 74.
- Osada, M., T. Nomura, and K. Mori, 1993. Acute toxicity and accumulation of tributyltin oxide in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Suisanzoshoku*, **41**, 439-443.
- Opperhuizen, A. and S. M. Schrap, 1988. Uptake efficiencies of two polychlorobiphenyls in fish after dietary exposure to five different concentrations. *Chemosphere*, **17**, 253-262.
- Rosenberg, D. W., G. S. Drummond, H. C. Cornish, and A. Kappas, 1980. Prolonged induction of hepatic haem oxygenase and decreases in cytochrome P-450 content by organotin compounds. *Biochem. J.*, **190**, 465-468.

- 清水昭男・木村関男, 1987. 酸化トリブチルスズがアゴハゼの成熟に及ぼす影響—成熟開始時期からの曝露. 東海水研報, **123**, 45-49.
- Stab, J. A., T. P. Traas, G. Stroomberg, J. van Kesteren, P. Leonards, B. van Hattum, U. A. Th. Brinkman, and W. P. Cofino, 1996. Determination of organotin compounds in the foodweb of a shallow freshwater lake in The Netherlands. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **31**, 319-328.
- Stickle, W. B., J. L. Sharp-Dahl, S. D. Rice, and J. W. Short, 1990. Imposed induction in *Nucella lima* (Gmelin) via mode of exposure to tributyltin. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **143**, 165-180.
- 杉田昭夫, 1992. 1. 問題の経緯. 有機スズ汚染と水生生物影響 (里見至弘・清水 誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 9-19.
- 鈴木輝明・畑中正吉, 1974. 水銀の生物的濃縮に関する実験的研究—I, マアジブリ幼魚という食物連鎖における水銀の転移率について. 日水誌, **40**, 1173-1178.
- Suzuki, R. and T. Ishimaru, 1990. An improved method for the determination of phytoplankton chlorophyll using N, N-dimethylformamide. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **46**, 190-194.
- Suzuki, T., R. Matsuda, and Y. Saito, 1992. Molecular species of tri-n-butyltin compounds in marine products. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1437-1443.
- Suzuki, T., R. Matsuda, Y. Saito, and H. Yamada, 1994. Application of helium microwave-induced plasma emission detection system to analysis of organotin compounds in biological samples. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 216-220.
- Takami, K., H. Yamamoto, T. Okumura, A. Sugimae, and M. Nakamoto, 1987. Application of "Clean-up" cartridge for gas chromatographic determination of di- and tri-n-butyltin in fish. *Anal. Sci.*, **3**, 63-67.
- 高見勝重・奥村為男・山崎裕康・中本雅雄, 1988. ガスクロマトグラフィーによる魚介類中のトリフェニルスズ及びトリブチルスズ化合物の定量. 分析化学, **37**, 449-455.
- 高柳和史・黒島良介・山田 久, 1997. 有害化学物質の生物濃縮試験にマダイを試験動物として用いるための小型水槽での標準飼育法. 水環境学会誌, **20**, 674-679.
- 立川 涼・脇本忠明・岡田かがり, 1975. 有機リン酸エステル系可塑剤及び難燃剤による水質汚染. 第9回水質汚濁研究に関するシンポジウム講演集, pp. 7-12.
- 立川真理子・澤村良二, 1988. 魚類における環境化学物質の吸収と排泄. 水質汚濁研究, **11**, 681-685.
- 玉井恭一, 1989. ベントスの生産量とその推定方法 ③生産量推定にかかわる諸項目. 海洋と生物, **60**, 49-53.
- Tamai, K., 1994. Persistence of TBT and TPT in sediments and their bioaccumulation by a deposit-feeding polychaete worm, *Perinereis nuntia* var. *vallata*. In Proceedings of Japanese-French Workshop on Recent Progress on Knowledge of the Behaviour of Contaminants in Sediments and their Toxicity to Aquatic Organisms. National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, pp. 102-106.
- 田中邦三・石田 修・須田恭光・庄司泰雅, 1978. 東京湾におけるマダイについてIV, 館山湾アマモ場における幼稚魚期. 千葉水試研報, 37-48.
- 田辺信介・立川 涼, 1981. 沿岸域および河口域における人工有機化合物の動態. 沿岸海洋研究ノート, **19**, 9-19.
- Tanabe, S., K. Maruyama, and R. Tatsukawa, 1982. Absorption efficiency and biological half-life of individual chlorobiphenyls in carp (*Cyprinus carpio*) orally exposed to Kanechlor products. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 891-898.
- Tanabe, S., H. Tanaka, and R. Tatsukawa, 1984. Polychlorobiphenyls, EDDT, and hexachlorocyclohexane isomers in the western North Pacific ecosystem. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **13**, 731-738.
- Tanabe, S., R. Tatsukawa, and D. J. H. Phillips, 1987. Mussels as bioindicators of PCB isomers and congeners in green-lipped mussels (*Perna viridis*) in Hong Kong waters. *Environ. Pollut.*, **47**, 41-62.
- Tanabe, S., J. K. Sung, D. Y. Choi, N. Baba, M. Kiyota, K. Yoshida, and R. Tatsukawa, 1994. Persistent organochlorine residues in northern fur seal from the Pacific coast of Japan since 1971. *Environ. Pollut.*, **85**, 305-314.
- Tas, T. W., A. Opperhuizen, and W. Seinen, 1990. Uptake and elimination kinetics of triphenyltin hydroxide by two fish species. *Toxicol. Environ. Chem.*, **28**, 129-141.
- Tatem, H. E., 1986. Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls and metals from contaminated sediments by freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii* and clams, *Corbicula fluminea*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **15**, 171-183.
- Thain, J. E., M. J. Waldock, and M. E. Waite, 1987. Toxicity and degradation studies of tributyltin (TBT) and dibutyltin (DBT) in the aquatic environment. In Proceedings of the Organotin Symposium, Oceans '87 Conference, Halifax, Nova Scotia, The Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., vol. 4, New York, pp. 1398-1404.
- Tsuda, T., H. Nakanishi, S. Aoki, and J. Takebayashi, 1987. Bioconcentration and metabolisms of phenyltin chloride in carp. *Wat. Res.*, **21**, 949-953.
- Tsuda, T., H. Nakanishi, S. Aoki, and J. Takebayashi, 1988. Bioconcentration and metabolisms of butyltin compounds in carp. *Wat. Res.*, **22**, 647-651.
- Tsuda, T., S. Aoki, M. Kojima, and H. Harada, 1991. Accumulation of tri-n-butyltin chloride and triphenyltin chloride by oral and via gill intake of goldfish (*Carassius auratus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **C99**, 69-72.
- 通商産業調査会, 1985. 化審法関係 GLP 制度の概要—よりよき試験施設の運営のために—, 通商産業省基礎産業局化学製品安全課監修, 第一資料印刷, 東京, pp. 95-100.
- UNEP, ILO and WHO, 1990. Environmental Health Criteria 116, Tributyltin Compounds, International Programme on Chemical Safety, Geneva, pp. 273.
- UNEP, ILO and WHO, 1993. Environmental Health Criteria 124, Polychlorinated Biphenyl and Terphenyl (Second Edition), International Programme on Chemical Safety, Geneva, pp. 682.
- Wade, T. L., B. Garcia-Romero, and J. M. Brooks, 1988. Tributyltin contamination in bivalves from United States coastal estuaries. *Environ. Sci. Technol.*, **22**, 1488-1493.
- 脇本忠明・立川 涼・小川恒彦, 1971. PCB の残留分析法. 公害と対策, **7**, 517-522.
- Waldock, M. J. and J. E. Thain, 1983. Shell thickening in *Crassostrea gigas*: Organotin antifouling or sediment induced? *Mar. Pollut. Bull.*, **14**, 411-415.
- Ward, G. S., G. C. Gramm, P. R. Parrish, H. Trachman, and A. Slesinger, 1981. Bioconcentration and chronic toxicity of bis (tributyltin) oxide (TBTO): Test with salt water fish. *Am. Soc. Test. Materials Spec. Tech. Publ.*, **737**, 183-200.

- Weston, D. P., 1990. Hydrocarbon bioaccumulation from contaminated sediments by the deposit-feeding polychaete *Abarenicola pacifica*. *Mar. Biol.*, **107**, 159-169.
- Yamada, H. and M. Kayama, 1987. Liberation of nitrogenous compounds from bottom sediments and effect of bioturbation by small bivalve, *Theora lata* (Hinds). *Estu. Coast. Shelf Sci.*, **24**, 539-555.
- 山田 久, 1987. 有機リン酸トリエステルによる水質汚濁と水生生物への影響—総説—. 東海水研報, **123**, 15-30.
- 山田 久, 1994. 5. 有害物質汚染. 水産と環境 (清水 誠編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 50-71.
- 山田 久, 1996. 魚類飼育試験による有害化学物質の経口濃縮過程の解析. 有害物質漁業影響調査報告書, 61-69.
- 山口正男, 1971. マダイの養殖, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 60-88.
- (財)残留農薬研究所, 1988. 人工海水を用いた海産魚の飼育試験, 昭和62年度海産魚に係る有害化学物質の毒性試験報告書.
- Zuolian, C. and A. Jensen, 1989. Accumulation of organic and inorganic tin in blue mussel, *Mytilus edulis*, under natural conditions. *Mar. Pollut. Bull.*, **20**, 281-286.