

# 貝類偵測：臺灣地區有機錫與貝類性錯亂之研究

洪楚璋<sup>1,2</sup>, 許文葵<sup>1</sup>, 許元東<sup>1</sup>, 孟培傑<sup>2</sup>

(1:國立台灣大學海洋研究所與 2:中央研究院化學研究所)

## 摘要

由於有機錫污染，導致雌性貝類長出雄性性器官（陰莖），稱為性變異現象；該現象會促使生物體無法生育、族群減少，嚴重影響生物資源之永續發展。台灣養殖牡蠣地區最早於 1998 年 2 月與 1999 年 11 月分別發現蚵螺(*Thais clavigera*)性變異與牡蠣(*Crassostrea gigas*)雌雄同體現象與有機錫〔包括丁基錫系 (BTs, 如三丁基錫 (TBT)、二丁基錫 (DBT)、單丁基錫 (MBT) 及酚基錫系 (PhTs, 如三酚基錫 (TPhT)、二酚基錫 (DPhT)、單酚基錫 (MPhT))〕有關；例如台灣西部養殖地區冬季牡蠣與蚵岩螺含 BTs (分別高達 1660ng/g 與 1950ng/g (乾重)，其中以 TBT 含量最高) 比夏季高出甚多；PhTs 含量則相反，夏季含量較高。性變異指標 (通常以相對陰莖長度表示) 隨蚵螺含 TBT 濃度增加成正比關係；例如香山、鹿港與七股地區蚵螺含 TBT 量分別由夏季之  $321 \pm 40\text{ng/g}$ 、 $285 \pm 20\text{ng/g}$  及  $117 \pm 55\text{ng/g}$  增加至冬季之  $1820 \pm 140\text{ng/g}$ 、 $680 \pm 84\text{ng/g}$  及  $172 \pm 28\text{ng/g}$ ；此時該性變異指標亦分別由夏季之 67.1%、59.3% 及 36.7% 增加至冬季之 100%、100% 及 80.0%。在 200 個冬季分析資料中，發現性變異指標與 TBT ( $r=0.7655$ ,  $p<0.001$ )、DBT ( $r=0.4253$ ,  $p<0.05$ ) 及 MBT ( $r=0.5965$ ,  $p<0.01$ ) 成正相關性，與 TPhT ( $r=-0.6160$ ,  $p<0.01$ ) 成負相關性。雌性牡蠣含 TBT 與 TPhT 比雄性牡蠣高出甚多；雌雄同體牡蠣含有有機錫量更高；本文將報導台灣地區發生蚵螺性變異與牡蠣雌雄同體現象之季節性與區域性分佈以及其對海洋生物資源永續發展之相互關係。

## 一、前言

近年來，不少文獻顯示長續性化學物質 (Persistent chemicals), 例如滴滴涕, 多氯聯苯、戴奧辛、有機錫等與“動情激素” [包括雌激素 (Estrogen) 及雄激素 (Testosterone)] 有類似的化學結構，可以模仿或干擾這些屬天然荷爾蒙之“動情激素”的內分泌生理；因此被稱為“環境內分泌干擾物質 (Environmental Endocrine Disruptors)” (Wood 1997)；這些物質和生物族群 (包括人類) 之畸變的性別發育 [稱為性變異 (Imposex)；包括人類男性精子數減少，攝護腺癌的發生機率增加等現象]，行為變異，與免疫功能破壞以及癌症等問題有關連性 (Taylor and Harrison 1999)。更糟的是，透過母體懷孕和母乳哺育，母親會將其體中的長續性化學物質傳輸到下一代。

自從 1925 年人們廣泛使用有機錫 [如三丁基錫 (TBT, Tributyltin) 被應用於船舶底部及水產養殖之殖網上之抗生物附著塗料 (Antifouling Paints)；二丁基錫 (DBT, Dibutyltin) 應用於製造 PVC 之穩定劑及三酚基錫 (TPhT, Triphenyltin) 應用於殺蟲劑及木材防腐劑 (Evans and Karpel, 1985)] 以來，已有不少文獻報導世界各海域有機錫污染，危害海洋生物的生存與生長，甚至死亡事件 (Alzieu, 1986; Roberts, 1987; Bryan et al. 1986)；然而國內鮮有論文報導。

有機錫化合物 ( $R_nSnX_{4-n}$ ,  $n=1\sim 4$ ) 係由烷基

或芳香基 (R) 及各種陰離子 (X, 如 -OH, -OR, -SH, -SR', -OOCR') 等結合而成，大都具有毒性，其毒性大小隨錫與其周圍鍵結官能基之不同及數目 (n) 之多寡以及海洋生物之種類不同而異；例如  $R_3Sn+$  (如 TBT) 毒性最大， $R_2Sn+2$  (如 DBT) 次之， $R_1Sn+3$  [如單丁基錫 (MBT, Monobutyltin)] 再次之 (Valkirs, et al. 1986)。對海洋生物之毒性方面，例如 Wilken, et al. (1994) 報導海水中含 TBT 濃度超過  $0.004\mu\text{g/L}$ ,  $0.02\mu\text{g/L}$  及  $0.08\mu\text{g/L}$  分別會抑制牡蠣 (*Crassostrea gigas*)、海藻及貽貝 (*Mytilus edulis*) 之生長；蝦 (*A. Sculpa*, Alt), 鮭魚 (*O. tshawytscha*), 蟹蝦 (*R. hamisu*) 及龍蝦 (*H. americans*) 等 24 小時 LC<sub>50</sub> 之 TBT 濃度分別為  $0.7\mu\text{g/L}$ ,  $6.4\mu\text{g/L}$  及  $8.0\mu\text{g/L}$ 。近年來，更有不少文獻顯示有機錫會導致蚵螺 (*Thais clavigera*) 性變異；該性變異被認為是造成生物體無法生育或族群減少的主要原因 (Horiguchi, et al. 1997, 1994; Wilson, et al. 1993; Gibbs, et al. 1991)；然而蚵螺及牡蠣共同生活在同一水域環境中，為何國際文獻甚少涉及牡蠣含有有機錫？

筆者等參加國際貝類偵測計劃，曾參與聯合國大學主導之「東亞地區環境中：水體，沈積物與生物體中有機錫分析方法之品質管制」 (洪等 1998; 洪 1997)，完成馬祖及臺灣養殖地區海水，沈積物及生物體之重金屬與有機錫物種 [如三丁基錫 (TBT)、二丁基錫 (DBT)、單丁基錫 (MBT)、三酚基錫 (TPhT)、二酚基錫 (DPhT) 及單酚基錫

對銅、砷、鎘、鉛之累積異常高(洪等1998)。本文將繼續報導臺灣牡蠣養殖地區蚵螺及牡蠣 (*C. gigas*) 含有機錫物種季節性與地區性之分佈, 以及其蚵螺性變異與牡蠣雌雄同體之相互關係。

## 二、材料與方法

筆者等於民國八十五年八月十九至二十三日, 八十六年元月十三至十七日, 八十七年八月十二至十九日, 十一月二十四至二十八日, 八十八年元月十二至十四日, 八月九至十三日, 十一月十五至十六日及八十九年元月十七至二十一日共八航次採集台灣西部牡蠣養殖地區(包括香山、鹿港、東石、布袋、青鯤鯓、七股、安平、高屏溪口、大鵬灣等, 如圖一)附近海域之海水, 沈積物及生物體(包括蚵螺及牡蠣), 立即進行重金屬(如銅, 鋅, 鉛, 鎘, 鉻, 砷)與有機錫物種(如 TBT、DBT、MBT、TPhT、DPhT、及MPhT)之分析。本文僅針對生物體中有機錫物種之分析進行報導。

蚵螺及牡蠣體中有機錫物種以 Tropolone-苯萃取, 使用四丁基錫(Tetrabutyltin)作為內標準, 與 Grignard 試劑反應後, 再以 GC/FPD 分析; 其中品質保證所使用之標準品係聯合國大學贈送之 NIES NO.11; 其校正曲線為:  $Y=71.621X + 2.3388$ ,  $r=0.9978$  (Hung et al. 1998); 標準品添加回收率(準確度與精密度)高達  $94.2 \pm 5.1\%$  及其方法偵測極限值(介於  $11.1$  至  $22.5$  ng), 分析品質保證與品質管制結果詳如表 1。

## 三、結果與討論

於民國八十五年八月(夏季)與八十六年元月(冬季)發現台灣西部沿海養殖地區牡蠣含總有機錫量(均以乾重表示)介於  $99$  至  $1660$  ng/g, 呈明顯季節性與區域性分佈(如圖二); 例如冬季以香山含量最高, 最低值出現在夏季將軍地區。在物種方面, 冬季以丁基錫系[BTs, 特別是 TBT(最高值  $1510$  ng/g, 出現在香山)]含量較多; 酚基錫系[PhTs, 主要為 TPhT(最高值  $590$  ng/g, 出現在東港)], 則以夏季較多; 此結果說明 BTs 與 PhTs 污染源之不同的特性。

香山、鹿港與七股養殖區與牡蠣共同生長之蚵螺採集後, 去殼、鑑定雌性、雄性及雌雄同體(性變異)之性器官(陰莖)之丈量工作; 並立即進行其個體中含有機錫物種之分析。分析結果(如表 2)發現養殖地區蚵螺含 BTs 與 PhTs 量分別介於  $321 \pm 40$  至  $1951 \pm 156$  ng/g 與  $35 \pm 3$  至  $273 \pm 42$  ng/g、 $402 \pm 50$  至  $770 \pm 109$  ng/g 與  $91 \pm 3$  至  $570 \pm 81$  ng/g 及  $106 \pm 16$  至  $249 \pm 35$  ng/g 與  $nd$  至  $70 \pm 17$  ng/g 之間, 與牡蠣相同, 前者最高值(特別是 TBT, 最高達  $1950$  ng/g)出現在香山地區; 後者 PhTs 最高值(如 TPhT, 最高達  $484$  ng/g)出現在鹿港。蚵螺含有機錫物種呈季節

性變化較大; 例如香山元月(冬季)TBT( $1816 \pm 143$  ng/g, 介於  $1068$  至  $1949$  ng/g), DBT( $84.4 \pm 7.6$  ng/g, 介於  $74.2$  至  $97.1$  ng/g)及 MBT( $50.2 \pm 5.2$  ng/g, 介於  $nd$  至  $59.4$  ng/g)較高; 十一月 TBT ( $714 \pm 39$  ng/g, 介於  $671$  至  $768$  ng/g), DBT ( $32.4 \pm 0.3$  ng/g, 介於  $nd$  至  $32.6$  ng/g)及 MBT (均小於  $nd$ )次之; 八月份(夏季)TBT ( $321 \pm 40$  ng/g, 介於  $268$  至  $381$  ng/g), DBT 及 MBT 均小於  $nd$ )。至於 TPhT 則相反, 例如鹿港八月份( $435 \pm 41$  ng/g, 介於  $385$  至  $486$  ng/g)最高, 十一月份( $173 \pm 35$  ng/g, 介於  $125$  至  $207$  ng/g)次之, 元月份  $58.1 \pm 1.3$  ng/g, 介於  $nd$  至  $59.2$  ng/g); DPhT 及 MPhT 則分別介於  $nd$  與  $81.6 \pm 17.5$  ng/g 及  $nd$  與  $66.3 \pm 4.9$  ng/g 之間, 以八月份與十一月份含量較高。

以「雌性蚵螺長出之雄性器官(陰莖)數與總雌性蚵螺數之比值」與「雌性與雄性陰莖長度三次方之比值」分別作為「性變異」與性變異之「雄化程度(RPS, Relative Penis Size)」(Gibbs et al. 1987); 發現香山、鹿港與七股養殖區蚵螺之性變異分別由八月份(夏季)之  $67.1\%$ 、 $59.3\%$  與  $36.7\%$  增加至元月份之  $100\%$ 、 $100\%$  與  $80.0\%$ ; 「雄化程度」則香山與鹿港八月份分別為  $29.8\%$  與  $68.2\%$ ; 但元月份蚵螺含 TBT 量最高(達  $1816 \pm 143$  ng/g)時, 幾乎未發現雄性蚵螺。七股地區則蚵螺「雄化程度」由八月份  $30.4\%$  增加到元月份之  $51.2\%$  (如表 3); 此時八月份蚵螺含 TBT 量由  $117 \pm 27$  ng/g 增加至元月份之  $172 \pm 28$  ng/g (如表 2)。

表 4 報導分析 200 個性變異蚵螺之陰莖(雌性蚵螺長出之雄性器官)長度與蚵螺體長以及其相互比之, 發現性變異蚵螺之陰莖, 蚵螺體長以及其相互比值分別介於  $0.86$  至  $2.03$  cm ( $1.00 \pm 0.09$  至  $1.95 \pm 0.06$  cm),  $0.34$  至  $3.85$  cm ( $3.70 \pm 0.21$  至  $3.67 \pm 0.11$  cm) 及  $0.25$  至  $0.56$  ( $0.27 \pm 0.02$  至  $0.53 \pm 0.01$ ) 之間。

蚵螺體重與「性變異」及「雄化程度」之相關係數( $r$  值)分別介於  $0.1449$  與  $0.2300$  之間, 顯示蚵螺之體重與「性變異」及「雄化程度」沒有直接關係。但是蚵螺之性變異及雄化程度與 BTs 含量則成正比關係; 例如民國八十八年元月份分析性變異蚵螺之陰莖(雌性蚵螺長出之雄性器官)長度與 TBT ( $r=0.7655$ ;  $p < 0.001$ ), DBT ( $r=0.4253$ ;  $p < 0.05$ ), MBT ( $r=0.5965$ ;  $p < 0.01$ ) 均有正相關性( $r$  值); 但與 TPhT ( $r = -0.6160$ ;  $p < 0.01$ ) 則具有負相關性(如圖三)。

圖四更進一步報導蚵螺之 BTs 含量與類似雄化程度(性變異蚵螺之陰莖長度與蚵螺體長之比值)之正相關係 (TBT =  $227.66X + 1756.9$ ;  $r = 0.6944$ ,  $p < 0.005$ ) 大於 MBT (MBT =  $45.309X + 45.921$ ,  $r = 0.3085$ ) 大於 DBT (DBT =  $37.392X + 27.176$ ,  $r = 0.4240$ ,  $p < 0.1$ ); 酚基錫(如 TPhT) 與類似雄化程度呈負相互關係 (TPhT =  $-55.23X + 74.381$ ,  $r = -0.4917$ ,  $p < 0.05$ ) (如圖四); 至於正負相關性對蚵螺之生理意義, 則有待進一步瞭解。

民國八十八年八月發現雌性牡蠣含 TBT (最

高達 162ng/g, 乾重) 與 TPhT (最高達 1533ng/g, 乾重)比雄性牡蠣(TBT 與 TPhT 最高分別為 25.9 與 898ng/g, 乾重)高出甚多; 同年十一月發現牡蠣有雌雄同體現象, 初步資料顯示含有機錫量更高; 牡蠣雌雄同體是否即為性錯亂現象? 則有待進一步瞭解。

#### 四、結語

有機錫屬於環境內分泌物干擾物質, 具有極毒性, 存在於全球環境包括水體, 土壤, 農魚作物, 加工食品等任何一個角落, 能干擾生物體 (包括人類) 之內分泌物(賀爾蒙), 促使生物體 (包括人類) 之性別發生畸變, 生殖功能降低, 嚴重影響全球生物族群(包括人類)的延續及永續發展。本報導證實臺灣養殖牡蠣地區之牡蠣與蚵螺確實含有高量之有機錫; 特別是三丁基錫。由研究結果更發現蚵螺之“性變異”及牡蠣之“雌雄同體”現象與有機錫物種 (特別是三丁基錫) 有密切關係。藉由本研究結果, 期望共同探討並克服這項“環境內分泌干擾物質”危及臺灣養殖地區之永續發展的致死因素, 確保水產物之安全, 以及消費者的健康與生命。

#### 五、參考文獻

- 洪楚璋, 凌永健, 鄭偉力, 韓伯裡與黃哲崇, 1998: “國際貝類偵測計畫: 亞洲/太平洋區—台灣地區之調查研究”, 國科會科學發展月刊, 26(4), 390-400。
- 洪楚璋, 1997: “出席聯合國大學主辦「環境管理與分析技術: 東亞水污染監測研討會籌備及訓練工作會議(民國八十六年二月二十四日至三月一日在新加坡舉行)」報告。
- Alzieu, C., 1986: TBT detrimental effects on oyster culture in France: Evolution since anti-fouling paint regulation. In: Proceedings of the Ocean 1986 International Organotin Symposium, vol. 4, pp. 1130-1134.
- Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Hummerstone, L.G. and Burt, G.R., 1986: The decline of trochophore *Nucella lapillus* arounds southwestern England: Evidence for the effect of butyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 86: 611-640.
- Evans, C. and Karpel, S., 1985: Organotin compounds in modern technology. *J. Organomet. Chem. Libr.* 16: 178-217.
- Gibbs, P.E., Spencer, B.E. and Pascoe, P.L., 1991: “The American oyster drill, *Rosalpinx cinerea* (gastropoda): Evidence of decline in an imposex affected population”, *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 71, 827-838.
- Han, B.C., Hung, T.C. and M.Y. Wen, M.Y., 1997: “Relationships between body size and heavy metal concentrations in rock-shells (*Thais clavigera*) of Taiwan”, *Third Intern. Ocean Pollut. Symp., Florida/USA, April 6-11, 1997.*
- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. and Motita, M., 1997: “Effects of triphenyltin chloride and five other organotin compounds on the development of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*”, *Environ. Pollut.*, 95, 85-91.
- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. and Morita, M., 1994: “Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* in Japan”, *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 74, 651-669.
- Hung, T.C., Lee, T.Y. and Liao, T.F., 1998: “Determination of butyltins and phenyltins in oysters and fishes from Taiwan coastal waters”, *Environ. Pollut.*, 102, 197-203.
- Roberts, M.H. Jr., 1987: Acute toxicity of tributyltin chloride to embryos and larvae of two bivalve mollusks, *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 1012-1019.
- Taylor, M.R. and Horison, P.T.C., 1999: Ecological effects of endocrine disruption: Current evidence and research priorities. *Chemosphere*, 39(8), 1237-1248.
- Valkirs, A.O., Seligmen, P.F., Stang, P.M. and Homer, V., 1986: Measurement of butyltin compounds in San Diego Bay. *Mar. Pollut. Bull.* 17: 319-324.
- Wilken, R.D., Kuballa, J. and Jantzen, E., 1994: Organotins their analysis and assessment in the Elbe River system, north Germany. *Fresenius J. Anal. Chem.* 350: 77-84.
- Wilson, S.P., Ahsanullah, M. and Thompson, G. B., 1993: “Imposex in neogastropod: An indicator of tributyltin contamination in eastern Australia”, *Mar. Pollut. Bull.*, 26, 44-48.
- Wood, W.P., 1997: Special report on environmental endocrine disruption: Effects assessment and analysis, USEPA/630/R-96/012, 111p.

Table 1 Method detection limits (MDL) and recoveries of standard reference material (SRM) spiked in *Thais clavigera* (ng/g, dry weight) that extracted with 0.1g/L tropolone-benzene solution.

Organo-tin	Back-ground	Spiked SRM	Measured	Recovery (%)	MDL
MBT	21.4	189.1	184.3	87.6±5.1	11.1
DBT	25.4	207.6	219.4	94.2±5.1	12.5
TBT	153.5	213.8	314.8	85.7±6.9	11.7
MPhT	nd	179.5	141.6	78.9±6.1	19.2
DPhT	nd	175.2	153.2	87.4±9.7	17.8
TPhT	75.4	180.6	178.4	69.7±6.9	22.5

SRM: NIES No. 11[Fish (*Leteolabrax japonicus* Currier) tissues], donated from the United Nations University.



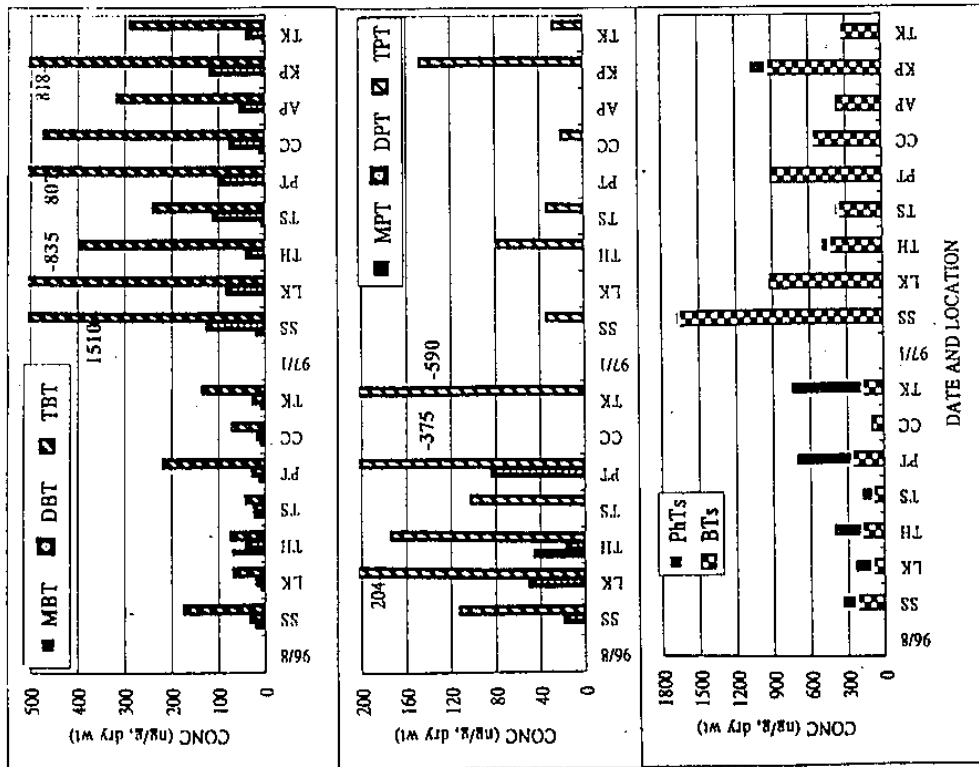


Fig. 2 The contents of organotin compounds in oysters (*Crassostrea gigas*) collected along the western coast of Taiwan (SS, Shiangsan; LK, Lukang; TH, Taihsi; TS, Tungshih; PT, Petai; CC, Chiangchun; AP, Anpin; KP, Kaoping; and TK, Tunglang) in August 1996 and January 1997 (MBT, Monobutyltin; DBT, Dibutyltin; TBT, Tributyltin; MPT, Monopentyltin; DPT, Dipentyltin; and TPT, Triphenyltin).

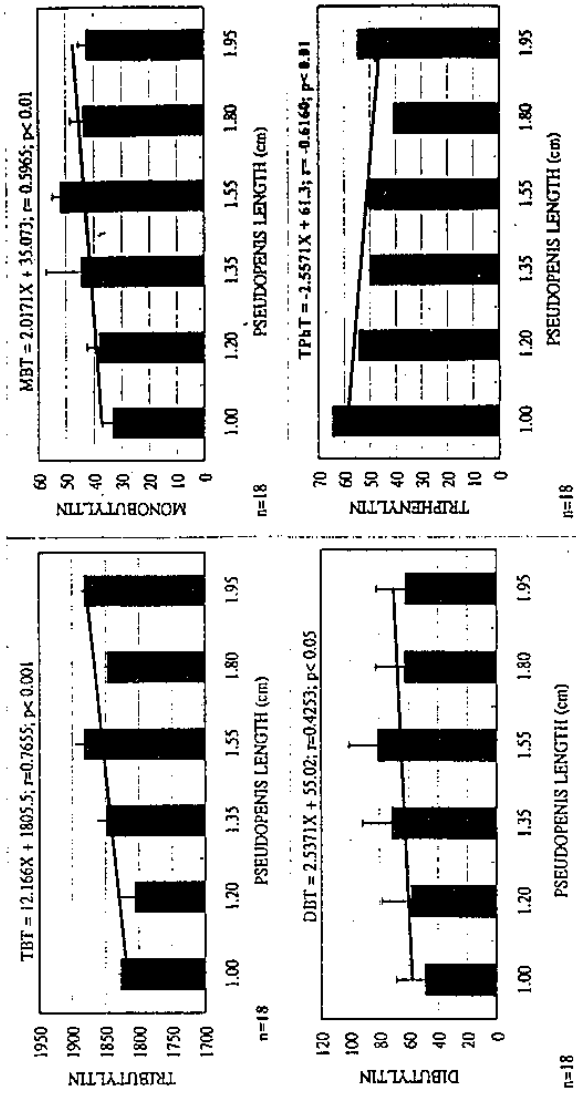


Fig. 3 Relations between organotins (ng/g, dry weight) and pseudopenis length of female (*Thais clavigera*) collected from the Shiangsan oyster mariculture site in January 1999.

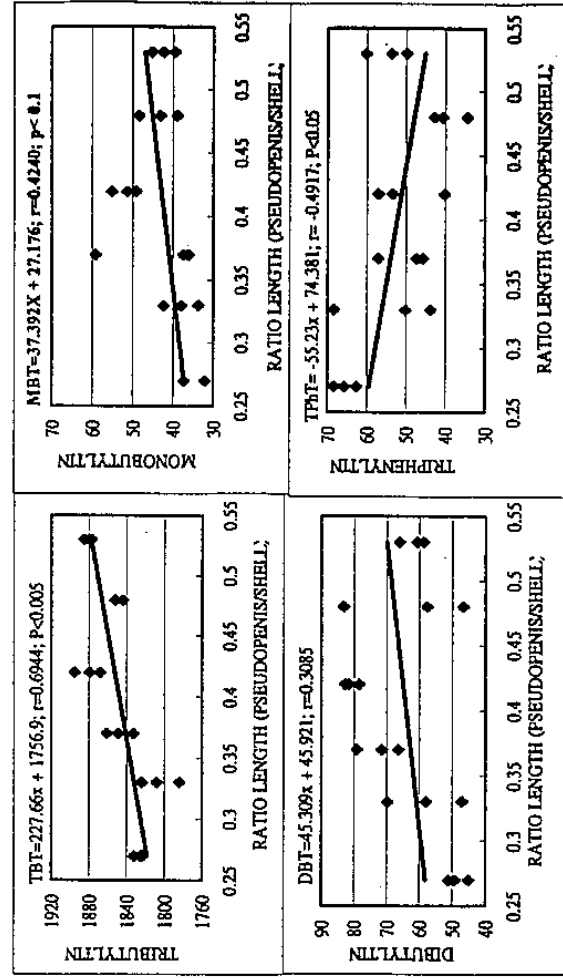


Fig. 4 Relations between the concentrations of organotins (ng/g, dry weight) and the average length (pseudopenis/shell) ratio of individual *Thais clavigera* collected from the Shiangsan oyster mariculture area in January 1999.

# Mussel Watch: Relationship Between Organotin Compounds and Imposex on Mussels/Bivalves in Taiwan

Tsu-Chang Hung<sup>1,2</sup>, Wen-Kuei Hsu<sup>1</sup>, Yuan-Tung Hsu<sup>1</sup> and Pei-Jie Meng<sup>2</sup>

1: Institute of Oceanography, National Taiwan University, Taipei, ROC

2: Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taipei, ROC

## Abstract

Imposex, the imposition of male sex organ (pseudopenis) on female that caused the population and diversity decline, is a well known consequence of pollution effecting sustainable development on marine bio-resources. The first imposex on rock shells (*Thais clavigera*) and hermaphroditic oysters (*Crassostrea gigas*), caused by organotin compounds namely butyltins [BTs, such as tributyltin (TBT), dibutyltin (DBT), monobutyltin (MBT)] and phenyltins [PhTs, such as triphenyltin (TPhT), diphenyltin (DPhT) and monobutyltin (MPhT)], in the Taiwan coastal waters were observed in February 1998 and November 1999, respectively. For instance, high concentrations (dry weight) of BTs (mainly TBT) in both oysters (as high as 1660ng/g) and rock shells (as high as 1950ng/g) were found in winter compared with those concentrations in summer. In the case of PhTs, seasonal variation shows the opposite of BTs in that high concentrations of PhTs (mainly TPhT) in both oysters and rock shells were found in summer and low values in winter. The index of imposex indicated that the values of 67.1% for the Shiangsan samples, 59.3% for Lukang samples and 36.7% for the Chiku samples collected in summer increased to 100%, 100% and 80.0%, respectively for the samples collected in winter when the TBT contents of  $321\pm 40\text{ng/g}$  (ranges from 268 to 381ng/g) for Shiangsan,  $285\pm 20\text{ng/g}$  (from 264 to 313ng/g) for Lukang and  $117\pm 27\text{ng/g}$  (from 92 to 155ng/g) for Chiku in summer increased to  $1816\pm 140\text{ng/g}$  (ranges from 1608 to 1950ng/g),  $680\pm 84\text{ng/g}$  (from 605 to 795ng/g) and  $172\pm 28\text{ng/g}$  (from 140 to 216ng/g) in winter, respectively. For the analysis of 200 individual rock shells, higher positive correlation coefficients ( $r$ ) between the length (pseudopenis/shell) ratio of rock shells versus TBT (0.7655,  $p < 0.001$ ), DBT (0.4253,  $p < 0.05$ ) and MBT (0.5965,  $p < 0.01$ ) with higher negative correlation of TPhT (-0.6160,  $p < 0.01$ ) were obtained in January. The relations between the species of organotins and the sexual (male and female) of animals including imposex on rock shells and hermaphroditic oysters are discussed and evaluated.