

Beperkte survey organotinverbindingen

I. Velzeboer, M. Hoek-van Nieuwenhuizen, M. Tjon Atsoi

Rapport C062/10

IMARES Wageningen UR

(IMARES - institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Opdrachtgever:

Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Publicatiedatum:

15 juni 2010

IMARES is:

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

© 2010 IMARES Wageningen UR

IMARES is onderdeel van Stichting DLO,
geregistreerd in het Handelsregister
nr. 09098104,
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16

A_4_3_1-V9.2

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	3
Samenvatting	4
1. Inleiding.....	5
2. Achtergrond	5
2.1 Productie en gebruik	6
2.2 Toxiciteit	6
2.3 Normstelling	7
2.4 Analyse	8
2.5 Historische gehalten in vis	8
3. Door IMARES geïmplementeerde methode	11
3.1 Werkwijze	11
3.2 Gebruikte apparatuur en instellingen.....	11
3.3 Kwaliteitsborging	11
4. Resultaten in biota met door IMARES geïmplementeerde methode	12
5. Conclusies.....	13
6. Aanbevelingen	13
Referenties	14
Verantwoording	17

Samenvatting

In vis- en visproducten zijn in historische studies (1990 t/m 2002) een groot aantal verschillende organotinverbindingen aangetroffen met gehalten tot 11 mg/kg (driehoeksmosselen) voor tributyltin.

Bij proefdieren leidt blootstelling aan deze stof tot effecten op het immuunsysteem met no- observed adverse effect levels rond de 25 µg/kg lg/dag. Op basis hiervan heeft EFSA een TDI afgeleid van 0,25 g/kg lg/dag voor de som van TBT, DBT, TPT en DOT.

In september 2007 heeft de Europese Commissie een voorstel gedaan voor het afleiden en toepassen van normen voor biota, zwevend stof en sediment voor prioritaire en stroomgebiedsrelevante stoffen, waaronder organotinverbindingen (TBT-kation). De concept KRW-norm voor biota voor deze stof is vastgesteld op 230 µg/kg versgewicht. Deze milieukwaliteitsnorm voor het TBT-kation is afgeleid van de Factsheets van het Fraunhofer Instituut.

Een beperkte inventariserende survey over organotinverbindingen in diverse Nederlandse visserijproducten is in 2008 uitgevoerd door IMARES. De uit deze survey verkregen resultaten variëren voor het TBT-kation van 4,4 tot 9,2 µg/kg versgewicht.

De gehalten in de onderzochte biota in deze survey liggen daarmee ver onder de concept KRW-norm.

Voor de analyse van organotinverbindingen wordt door IMARES momenteel een historie opgebouwd, zodat de methode voorgelegd kan worden aan de Raad voor Accreditatie. Deze methode zou in de komende jaren ingezet kunnen worden om een groter database te creëren voor deze betreffende componenten in visserijproducten.

1. Inleiding

Op 11 december heeft het Europees Parlement ingestemd met de Kaderrichtlijn Mariene Strategie. Uiterlijk in 2010 moet de richtlijn in nationale wet- en regelgeving worden overgenomen. De richtlijn verplicht landen om maatregelen te nemen die een achteruitgang van het mariene milieu tegengaan. De maatregelen treden in 2015 in werking. Daarna volgt uitwerking van de richtlijn per regio; voor Nederland is dat de Noordzee.

Een van de doelen van de Kaderrichtlijn Mariene Strategie heeft betrekking op "Contaminants in fish and other seafood for human consumption do not exceed levels established by Community legislation or other relevant standards". Een internationale werkgroep heeft recent een rapport geschreven welke soorten en contaminanten gemeten moeten worden, dit betreft o.a. organotinverbindingen. Organotinverbindingen zijn een typische zout water contaminant (gebruikt als aangroeiwerend middel op zeeschepen) met reeds aangetoonde milieu-effecten. Nederland voldoet met het onderzoek voor deze stoffen aan zijn verplichting om de Goede Ecologische Status van de Noordzee te beschrijven, zowel op het gebied van voedselveiligheid, als op het gebied van milieu. Eventueel benodigde maatregelen zullen beter onderbouwd kunnen worden.

Organotinverbindingen beïnvloeden het immuunsysteem en kunnen bij de mens ernstige schade veroorzaken bij langdurige blootstelling aan lage hoeveelheden, waarbij de verschillende verbindingen een additieve werking hebben (zelfde werkingmechanismen en doelorganen).

Tributyltinverbindingen en triphenyltinverbindingen zijn zeer persistent en bioaccumulerend en voldoen ook aan het EU "screening" criterium voor aquatische toxiciteit. Vooral mariene organismen, in het bijzonder weekdieren zoals oesters en wulken, zijn zeer gevoelig voor triphenyltin en vooral voor tributyltin, met als meest opvallende effect een verstoring van de hormoonhuishouding waardoor vrouwelijke dieren mannelijke eigenschappen krijgen (imposex), met onvruchtbaarheid als uiteindelijk gevolg. Dibutyltinverbindingen zijn persistent, mogelijk bioaccumulerend en waarschijnlijk toxisch voor aquatische organismen.

Voortvloeiend uit de EU Kaderrichtlijn Water (KRW: 2000/60/EG) zijn tributylverbindingen (met als specifiek genoemd voorbeeld tributyltin-kation) in EU beschikking 2455/2001/EG aangewezen als prioritaire gevaarlijke stoffen (doelstelling: beëindiging van lozingen, emissies en verliezen ten gevolge van menselijke activiteiten, binnen 20 jaar, dus vóór 2020).

De stofgroep organotinverbindingen staat ook op de OSPAR (2005) prioritaire stoffenlijst ("List of Chemicals for priority action"), gericht op het mariene milieu (doelstelling: beëindiging van lozingen, emissies en verliezen ten gevolge van menselijke activiteiten, vóór 2020).

(Factsheet Organotinverbindingen RIVM, 2009).

De analyse van organotin is in tegenstelling tot die van de meeste metalen nog geen routineanalyse. Er zijn de laatste jaren veel methoden ontwikkeld, met verschillende analysetechnieken, die vaak hun specifieke voor- en nadelen hebben.

IMARES heeft eind 2007 een methode voor de analyse van organotinverbindingen geïmplementeerd.

In een beperkte survey van diverse in Nederland geconsumeerde vissoorten is deze methode voor de bepaling van organotinverbindingen toegepast.

2. Achtergrond

Door Hoogenboom et al. is in 2003 een gezamenlijk RIKILT/toenmalig RIVO rapport uitgebracht waarin verschillende contaminanten in vis- en visproducten, o.a. de organotinverbindingen, behandeld zijn. De overige tekst uit dit hoofdstuk is afkomstig uit dit rapport.

2.1 Productie en gebruik

Organotinverbindingen vormen een heterogene groep van stoffen, waarvan met name de dialkyltin-verbindingen en trialkyltin-verbindingen commercieel belangrijk zijn. Van de dialkyltin-verbindingen worden di-n-methyltin- (DMT-), di-n-butyltin- (DBT-) en di-n-octyltin-(DOT-)derivaten gebruikt als stabilisatoren in polyvinylchloride (PVC)-plastics. Daarnaast worden dialkyltinverbindingen toegepast als katalysatoren bij de fabricage van polyurethaan-schuim en siliconenrubbers. Trialkyltin-verbindingen worden vooral toegepast als biociden in de chemische industrie en de landbouw. Trifenyln- (TPT-) en tricyclohexyltin-derivaten worden gebruikt als fungiciden, agariciden en mollusciciden, terwijl tributyltin-(TBT-) derivaten vooral industrieel als biocide worden gebruikt. Met name zijn tributyltin-verbindingen zoals bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) bekend als biociden. In het verleden werden deze stoffen gebruikt om de aangroei van biologische waterorganismen (zoals algen en schelpdieren) op scheepswanden te bestrijden ("antifouling agent") en als houtconserveermiddel (Boyer, 1989; WHO/IPCS, 1990; Penninks, 1985; Snoei, 1987; Snoei et al., 1987).

Van deze stoffen worden met name de trialkyltin-verbindingen aangetroffen in het aquatisch milieu (Snoei et al., 1987). TBT is een bekende contaminant van zeevis (Belfroid et al., 2000). TBT heeft een hormoonverstorende werking bij ongewervelde waterorganismen, maar heeft voor zover bekend geen hormonale werking bij zoogdieren en de mens (Nilsson, 2000).

2.2 Toxiciteit

De toxiciteit van organotin-verbindingen wordt in belangrijke mate bepaald door de lengte van de alkylketen en het aantal en de aard van de substituenten. De acute orale toxiciteit van de meeste organotin-verbindingen is matig ($50 < LD_{50} < 300$ mg/kg). Naarmate de alkylketen langer is, neemt de toxiciteit af. De systemische toxiciteit verschilt aanzienlijk tussen dialkyltin- en trialkyltin-verbindingen. Dialkyltin-verbindingen zijn vooral giftig voor de lever. Dit geldt met name voor de intermediare dialkyltin-derivaten (diethyltin tot dihexyltin). De hoger gesubstitueerde dialkyltin-verbindingen (vanaf octyl) zijn nauwelijks toxisch. De trialkyltin-verbindingen worden daarentegen vooral gekenmerkt door neurotoxiciteit (giftigheid voor het zenuwstelsel). Dit geldt met name voor de lagere trialkyltin-verbindingen, zoals de trimethyltin- (TMT) en triethyltin-derivaten (TET). Tri-octyltin (TOT)-verbindingen zijn nauwelijks toxisch (Aschner & Aschner, 1992; Boyer, 1989; Chang, 1990; Penninks, 1985; Reiter & Ruppert, 1984; Snoei et al., 1985; Snoei, 1987; Snoei et al., 1987).

Er zijn geen aanwijzingen dat organotin-verbindingen genotoxisch zijn of een carcinogene werking hebben (WHO/IPCS, 1990; EPA, 1997; Wester et al., 1990). Mogelijk kunnen TBT, TBTO en TPT wel de genotoxische werking van andere chemicaliën versterken (Sasaki et al., 1993; Yamada & Sasaki, 1993). Ook zijn er aanwijzingen dat organotin-verbindingen de celdeling kunnen verstoren en afwijkingen kunnen veroorzaken in het aantal chromosomen in de cel (Jensen et al., 1991a,b).

Bij ratten die aan hoge doseringen TBTO werden blootgesteld werd embryotoxiciteit gezien, alsmede afwijkingen bij de vrucht in de vorm van een open verhemelte (teratogeniteit). Deze effecten traden echter alleen op bij doseringen die toxisch waren voor de moederdieren (EPA, 1997). Ook bij hoge doseringen van di-n-butyltindichloride (DBTC), tri-n-butyltinchloride (TBTC) en tetrabutyltin is bij de rat teratogeniteit gevonden in aanwezigheid van maternale toxiciteit (Ema et al., 1992, 1995, 1996). Voor di-n-butyltindiacaat (DBTA) is bij hoge doseringen eveneens teratogeniteit beschreven; de mate van maternale toxiciteit in deze studies is onvoldoende duidelijk (Noda et al., 1992, 2001). Hoge doseringen van trifenylnacetaat (TBTA) daarentegen geven bij de rat wel embryotoxiciteit in aanwezigheid van maternale toxiciteit, maar geen teratogeniteit (Noda et al., 1991). Als de embryotoxiciteit veroorzaakt wordt door toxiciteit voor het moederdier, dan is voor de risicoschatting niet de embryotoxiciteit maar de maternale toxiciteit het meest belangrijk voor de humane risicobeoordeling. Zolang een dergelijk oorzakelijk verband niet aannemelijk is gemaakt (zoals bij TBTO) moet worden aangenomen dat de stof direct embryotoxisch is en moet de embryotoxiciteit als zelfstandig aspect worden meegewogen bij de risicobeoordeling.

Met name de dialkyltin-verbindingen en in mindere mate ook de trialkyltin-verbindingen hebben een immuunsuppressieve werking. Vooral DBTC en di-n-octyltindichloride (DOTC) zijn bekend om het feit dat ze bij proefdieren een sterke depletie (verminderd celaantal) van de thymus geven en ten gevolge daarvan de cellulaire immuunfunctie remmen (Miller & Scott, 1985; Seinen & Willems, 1976; Seinen et al., 1977; Smialowicz et al., 1988). De trialkyltin-verbindingen TBTC, TBTO, trifenyln-derivaten (TPTC), trifenylnacetaat (TPTA) en trifenyln-hydroxide (TPTH) laten vergelijkbare effecten zien (Dacasto et al., 1994; Nishida et al., 1991; Snoei et al., 1985; Snoei, 1987; Snoei et al., 1987; Vos et al., 1984). De immunotoxiciteit van trialkyltin-verbindingen berust

vermoedelijk op de biotransformatie (namelijk dealkylering) van deze stoffen waarbij dialkyltin-verbindingen worden gevormd (Boyer, 1989; Snoei, 1987). Op basis van studies met DBTC mag verwacht worden dat ook bij de mens de thymus een belangrijk doelwitorgaan is voor de toxiciteit van organotin-verbindingen (De Heer et al., 1995).

2.3 Normstelling

Humane gegevens beperken zich tot neurotoxiciteit ten gevolge van intoxicatie door trialkyltinverbindingen zoals trimethyltin (Feldman et al., 1993; Rey et al., 1984). Bij proefdieren is het immuunsysteem veelal het meest gevoelige doelwit voor organotin-verbindingen. Voor de meeste van deze stoffen is de immuunsuppressieve werking daarom het kritische effect waarop de humane risicobeoordeling is gebaseerd. Voor de combinatie van DBT- en TBT-verbindingen is door de EFSA een "Tolerable Daily Intake" (TDI) voorgesteld van 0,25 µg/kg lg/dag. Deze TDI is gebaseerd op een "No-Observed-Adverse-Effect-Level" (NOAEL) van 25 µg/kg lg/dag voor immuunsuppressie in een infectiemodel (verminderde weerstand tegen de parasiet *Trichinella spiralis* in de rat) en een veiligheidsfactor 100 (Penninks, 1993; Van Loveren et al., 1998; Belfroid, 2000). Dit kritisch effect is ontleend aan een 18-maanden immunotoxiciteitsstudie met TBTO (Vos et al., 1990). De keuze voor dit kritisch effect wordt ondersteund door de WHO (WHO/IPCS, 1990) en de EFSA (2006). Bij extrapolatie van de gegevens over de onderdrukking door TBTO van de weerstand tegen *Trichinella spiralis* bij de rat naar de situatie bij de mens blijkt dat bij volwassenen een dergelijk effect te verwachten valt bij blootstelling aan 40 µg/kg lg/dag en hoger. Pasgeborenen kunnen echter gevoeliger zijn (Van Loveren et al., 1998). De "Environmental Protection Agency" (EPA) in de Verenigde Staten heeft TBTO in 1997 uitgebreid toxicologisch beoordeeld. Daarbij werd door de EPA een orale referentie dosis ("Reference Dose" of RfD, vergelijkbaar met de TDI (Tolerable Daily Intake)) vastgesteld van 0,3 µg/kg lg/dag. Ook hier is de weerstand tegen *Trichinella spiralis* bij de rat uit de studie van Vos en medewerkers (1990) als kritisch effect gekozen. De kritische dosis is echter op een andere manier vastgesteld. Er is namelijk geen NOAEL afgeleid, maar in plaats daarvan een zogenaamde benchmark dosis van 30 µg/kg lg/dag bij een kritische effectgrootte van 10%. Vervolgens is een veiligheidsfactor 100 gebruikt (EPA, 1997).

Door de "Scientific Committee on Food" (SCF, 1999) van de Europese Unie is voor de groep van de mono-octyltin verbindingen een TDI afgeleid van 20 µg Sn/kg lg/dag en voor de groep van de dioctyltin-verbindingen een TDI van 0,6 µg Sn/kg lg/dag. De "Joint Meeting on Pesticide Residues" (JMPR) van de Codex Alimentarius heeft in 1991 trifenylinhydroxide (TPTH) en trifenylinacetaat (TPTA) samen onder de naam "fentin" toxicologisch beoordeeld. Hierbij is een ADI afgeleid van 0,5 µg/kg lg/dag gebaseerd op een "Lowest-Observed-Adverse-Effect-Level" (LOAEL) van 0,3 mg/kg lg/dag voor verhoogde sterfte in een carcinogeniteitsstudie bij de rat en een veiligheidsfactor 500 (JMPR, 1994).

De toxicologie van TPTH is in 1999 uitgebreid door de EPA beoordeeld (EPA, 1999). Voor acute blootstelling geeft de EPA een "Population Adjusted Dose" (PAD) van 1 µg/kg lg en voor chronische blootstelling een PAD van 0,03 µg/kg lg/dag. De PAD is de RfD met daarin opgenomen een extra veiligheidsfactor voor kinderen. De PAD voor acute blootstelling berust op een NOAEL van 0,3 mg/kg lg voor embryotoxiciteit bij de rat en een veiligheidsfactor 300. De PAD voor chronische blootstelling berust op een NOAEL van 0,1 mg/kg lg/dag voor de afname van perifere lymfocyten bij de rat en een totale veiligheidsfactor van 3000. De EPA classificeert TPTH als mogelijk carcinogeen voor de mens op grond van het feit dat bij langdurige blootstelling hypofyse- en testistumoren zijn gezien bij de rat en levertumoren bij de muis (EPA, 1999).

De toxicologie van fenbutatinoxide is in 1992 door de JMPR beoordeeld. Hierbij is een ADI vastgesteld van 30 µg/kg lg/dag op basis van een NOAEL van 2,5 mg/kg lg/dag voor een toename van serum alkalische fosfatase (een maat voor levertoxiciteit) in een carcinogeniteitsstudie bij de rat en een veiligheidsfactor 100 (JMPR, 1992).

Cyhexatin (of tricyclohexyltinhydroxide) tenslotte is in 1994 door de JMPR toxicologisch beoordeeld. Hierbij is een ADI afgeleid van 7 µg/kg lg/dag gebaseerd op een NOAEL van 0,7 mg/kg lg/dag voor verminderde groei en verhoogde sterfte van de nakomelingen in een multigeneratie reproductietoxiciteitsstudie in de rat en een veiligheidsfactor 100 (JMPR, 1994).

Vrij recent (september 2007) heeft de Europese Commissie een voorstel gedaan voor het afleiden en toepassen van normen voor biota, zwevend stof en sediment voor prioritaire en stroomgebiedsrelevante stoffen, waaronder organotinverbindingen (TBT-kation). De concept KRW-norm voor biota voor deze stof is vastgesteld op 230 µg/kg versgewicht. Deze milieukwaliteitsnorm voor het TBT-kation is afgeleid van de Factsheets van het Fraunhofer Instituut.

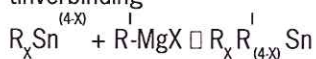
2.4 Analyse

De analyse van organotin is in tegenstelling tot die van de meeste metalen nog geen routineanalyse. Er zijn de laatste jaren veel methoden ontwikkeld, met verschillende analysetechnieken, die vaak hun specifieke voor- en nadelen hebben. In de zomer van 2002 is een QUASIMEME workshop gehouden over de analyse van organotin, hetgeen onderstreept dat deze analyse nog niet als een standaardanalyse wordt beschouwd.

Globaal bestaat de analyse van organotins m.b.v. GC uit de volgende stappen: extractie van organotin; derivatisering, analyse en detectie van het gederivatiseerde organotin. Tijdens de extractie moet het organisch gebonden tin met relatief milde extractietechnieken uit de matrix gehaald worden. Als oplosmiddel wordt een mengsel van (0,1%) tropoleen met aceton of methyleenchloride gebruikt (Tanabe, 1999, Elgethun et al., 2000). Een aantal derivatiseringstechnieken kunnen in het zure extractiemiddel plaatsvinden, andere alleen in een organische fase waardoor eerst extractie van de organotin naar een organische fase nodig is:

- de vorming van hydrides met behulp van natriumboorhydride

- de Grignard reactie, mbv $R-MgX$ waarbij R een ethyl- tot hexyl-groep kan zijn die wordt overgedragen aan de tinverbinding



Een groot nadeel van derivatisering is dat de efficiëntie moeilijk bepaald kan worden. Het spiken van het monster met organotin stuit op grote bezwaren. Zo is monobutyltin erg instabiel in oplossing en veroorzaakt veel problemen. Spiken met reeds gederivatiseerde standaarden voorkomt veel problemen, maar geeft geen informatie over efficiëntie van derivatisering van organotin in het monster (wel natuurlijk over de extractie-efficiëntie van de gederivatiseerde organotin). Een oplossing is het gebruiken van alleen di- en tri-verbindingen; deze zijn stabiel en veroorzaken minder problemen. Ook lijkt de keuze van het oplosmiddel waarin de mono-verbindingen worden bewaard een grote invloed te hebben op de resultaten (minder polymerisatie van het monotin).

Na de derivatisering kunnen aanvullende handelingen uitgevoerd worden, waaronder basische aluminiumoxide kolom- of silica kolomelutie om het extract verder op te zuiveren (Stäb et al., 1995, Tanabe, 1999, Elgethun et al., 2000). Het opgeschoonde extract wordt verder gedroogd en geanalyseerd met GC-MS of GC-Electrochemische detectie (ECD). De analytische kolom betreft een capillaire fused silica kolom met apolaire fase zoals DB-1 of DB-5 (bv. 30 meter, 0.25 mm interne diameter en 0.2 mm filmdikte). Organotinverbindingen kunnen ook met vloeistofchromatografie (LC) geanalyseerd worden hetgeen het voordeel heeft dat de verbindingen niet gederivatiseerd hoeven te worden.

2.5 Historische gehalten in vis

In 2002 (zie tabel 1) is een onderzoek uitgevoerd naar organotin verbindingen in 37 Nederlandse visserijproducten en 6 monsters vismeel en visolie (Leonards, 2002). Organotins zijn in bijna alle visserijproducten aangetroffen, waarbij TBT en TPT de belangrijkste organotinverbindingen waren. De TBT-gehalten in visserijproducten varieerde tussen de <0,5 en 46 µg TBT/kg product, waarbij de hoogste TBT-gehalten werden aangetroffen in haring, makreel, aal, visolie en vismeel. TPT-gehalten varieerden van <0,3 tot 47 µg TPT/kg product, waarbij hoge TPT-gehalten werden aangetroffen in platvissen (schol, schaar en tong), altijd vele malen hoger dan het TBT-gehalte.

Tabel 1. Gemiddelden en ranges van de organotingehalten in visserijproducten, visolie en vismeel (μg TBT/kg ww) (Leonards, 2002).

(Leonardus, 2002).

		Nederland			USA, Peru*	Frankrijk	
		Platvis (schol, schar, tong)	Pelagische vis (haring, wijting, kabeljauw, makreel)	Schelp/schaaldieren (mossel, garnaal, kokkels, oesters)	Zoetwatervis (aал, snoekbaars)	Visolie Vismeel	
MBT	Gem.	0.6	0.4	1.5	1.0	-	0.5
	Min**	<0.1	<0.1	0.3	<0.1	<2.4	0.4
	Max**	1.6	1.0	4.0	1.8	<2.4	0.6
DBT	Gem.	1.1	2.1	3.6	1.6	12	1.6
	Min	<0.2	<0.2	0.8	0.6	<4.3	0.8
	Max	1.8	3.9	11	2.5	12	2.4
TBT	Gem.	2.4	10	17	17	46	24
	Min	<0.5	<0.5	4.6	5.9	<39	<4.4
	Max	6.3	22	32	32	46	24
MPT	Gem.	0.3	0.8	0.2	0.6	-	0.5
	Min	<0.2	<0.2	<0.2	<0.3	<2.8	<0.3
	Max	0.7	1.5	0.2	1.0	0.5	0.5
DPT	Gem.	1.9	0.7	0.8	3.9	-	-
	Min	<0.5	<0.5	<0.2	2.1	<11	<1.4
	Max	4.1	0.7	1.1	5.7	<12	<1.4
TPT	Gem.	19	4.0	6.7	36	14	5.0
	Min	3.2	1.2	<0.3	11	<7.7	3.2
	Max	44	6.8	19	47	14	6.8

* ruw en geraffineerd

** min: laagste gehalte; max: hoogste gehalte

Uit Tabel 2 blijkt verder dat het hoogste gehalte TBT is aangetroffen in Nederlandse driehoeksmosselen (tot 11500 $\mu\text{g/kg}$ Sn dw). DBT en TPT komen eveneens in aanzienlijke gehalten voor, terwijl MBT, MPT en DPT gehalten over het algemeen flink lager zijn dan eerdergenoemde organotins. Data uit Duitsland, het Verenigd Koninkrijk en Zweden tonen organotingehalten van maximaal 66 $\mu\text{g/kg}$ Sn ww. Dit is veel lager dan de in tabel 2 genoemde data uit o.a. Nederland, Spanje en Taiwan, maar er moet bij aangetekend worden dat deze data op natgewichtbasis zijn uitgedrukt waardoor de gehalten lager uitvallen (factor 20 uitgaande van 5% droge stof) in vergelijking met data uitgedrukt op drooggewichtbasis.

Tabel 2. Organotinverbindingen in schelpdieren en vis uit wateren in Europa en andere continenten over de periode 1990 – 2000.

Soort/product weefsel	Land streek	Organotin	Gehalte (range)	Gemiddelde (remarks)	Opmerkingen	Referenties auteur, jaar	
Driehoeksmossel	Nederland	TBT	289-2800		µg/kg Sn dw	Regoli, 1999	
	Zwitserland	TPT	16-800		µg/kg Sn dw	Fent and Hunn, 1991	
	Canada	DBT	24-470		µg/kg Sn dw	Clau et al, 1997	
Driehoeksmossel	Nederland	MBT	7-860		µg/kg Sn dw	Stab, 1995	
		DBT	6-1740		µg/kg Sn dw		
		TBT	6-11500		µg/kg Sn dw		
		MPT	1-100		µg/kg Sn dw		
		DPT	2-230		µg/kg Sn dw		
		TPT	28-3200		µg/kg Sn dw		
Oester Vis	Taiwan	TBT				Hung, 1998	
		DBT	91-1658		µg/kg Sn dw		
		MBT					
		TPT					
		DPT	102-590		µg/kg Sn dw		
		MPT					
Mollusken	Spanje	MBT	11-204	n=2-3	µg/kg ww	Morcilla, 1999	
	Catalonie	DBT	4-1094	n=2-3	µg/kg ww		
		TBT	283-1151	n=2-3	µg/kg ww		
		TPT	3.0-92	n=2-3	µg/kg ww		
Puitaal	Duitsland	DBT	24		µg/kg Sn ww	Shawky et al, 1998	
Mossel			18-45	n=2	µg/kg Sn ww		
Puitaal	Zweden	TBT	24-66	n=2	µg/kg Sn ww	Keithly et al, 1997	
Aal		TBT	3		µg/kg Sn ww		
Haring			36		µg/kg Sn ww		
Mossel			22		µg/kg Sn ww		
Schol			2		µg/kg Sn ww		
Kokkel		Verenigd Koninkrijk (London)	TBT	3			µg/kg Sn ww
Krab			3		µg/kg Sn ww		
Haring, Atl.			11		µg/kg Sn ww		
Makreel			7		µg/kg Sn ww		
Mossel			6		µg/kg Sn ww		
Oester			43		µg/kg Sn ww		
Schol			2		µg/kg Sn ww		
Garnaal			5-14		µg/kg Sn ww		
Inktvis			8		µg/kg Sn ww		

3. Door IMARES geïmplementeerde methode

De methode voor de analyse van organotinverbindingen heeft IMARES eind 2007 geïmplementeerd. De methode van het laboratorium van het voormalig RIKZ Haren wordt toegepast. De methode is nog niet voorgedragen voor accreditatie. Momenteel zijn we bezig met het opbouwen van een historie van geanalyseerde referentiematerialen die vereist is voor de validatie van de methode. We verwachten de methode dit jaar voor te kunnen leggen aan de Raad voor Accreditatie.

3.1 Werkwijze

Bij deze methode wordt de extractie en derivatisering simultaan uitgevoerd. Een korte beschrijving van de methode is als volgt:

Water gebufferd tot een pH 4-5 en een mengsel van acetaatbuffer, methanol en hexaan worden toegevoegd aan het monster. Na een continue toevoeging van natriumtetraethylboraat gedurende 15 minuten en continu roeren, wordt de pH boven de 12 gebracht met natriumhydroxide. De organische laag wordt d.m.v. centrifugeren gescheiden van de waterfase en het extract wordt gefractioneerd over een silica of aluminium kolom. De stoffen worden, na concentratie van het monster, met behulp van GC-MS geanalyseerd (SIM mode). Zes organotinverbindingen en hun kationen worden volgens de beschreven methode bepaald (MBT, DBT, TBT, MPT, DPT and TPT).

3.2 Gebruikte apparatuur en instellingen

De metingen worden uitgevoerd met HP 6890 GC-EI-LRMS (Hewlett Packard, USA) apparatuur met een DB-5, crosslinked 5%-phenyl-95%-methylpolysiloxane (30 m, 0.25 mm i.d., 0.25 µm film) kolom en een Split/splitless (splitless time 1.5 min.) injector.

Als dragergas wordt helium gebruikt, bij constante flow van 0.5 ml/min. en voorkolomdruk van 20 kPa. Het injectievolume bedraagt 1 µl bij een temp. van 235°C.

Het volgende temperatuurprogramma wordt gebruikt: 90°C, 5 min. op deze temp. houden, daarna de temp. verhogen met 5°C/min. tot 165°C, vervolgens met 10°C/min. Naar 245°C en 5 min. op deze temp. houden.

De temperatuur van de transferline wordt hierbij gehouden op 290°C.

Er wordt gemeten in de EI mode bij een brontemperatuur van 230°C.

De temperatuur van de Quadrupole wordt gehouden op 150°C.

De calibratie van de MS geschiedt bij de volgende massa's: m/z 185, 351, 449, gebruik makend van perfluoro-5,8-dimethyl-3,6,9-trioxidodecane

Voor de integratie wordt gebruik gemaakt van MS-chemstation software.

Voor de verschillende congenere wordt het signaal van twee van de meest abundante ionen gemeten in selected ion monitoring mode (SIM).

3.3 Kwaliteitsborging

Voor de bepaling van organotinverbindingen wordt de methode van het RIKZ Haren toegepast. De resultaten zijn gecontroleerd aan de hand van het IRM dat het lab in Haren gebruikte en aan de hand van twee gecertificeerde referentiematerialen (CRM's).

Volgens het validatierapport van de methode van Haren moeten de resultaten voor de componenten MBT (recovery <50%), MPT (recovery ca. 50%) en DPT (recovery ca. 50%) als indicatief worden beschouwd.

Van de overige componenten is de recovery >90% volgens de door IMARES toegepaste methode van Haren.

4. Resultaten in biota met door IMARES geïmplementeerde methode

In tabel 3 zijn de resultaten weergegeven van gehalten aan organotinverbindingen in diverse Nederlandse visserijproducten, verkregen met de door IMARES geïmplementeerde RIKZ methode.

Tabel 3. Resultaten organotingehalten beperkte survey IMARES op natgewichtbasis

µg Sn/kg

LIMSNUMMER	OMSCHRIJVING	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
2007/0588	Aal, kweek Etten-Leur	<1.1	<1.0	3.1	<1.0	<0.9	<0.6
2007/1065	Zalm, kweek Noorwegen	<0.8	<0.8	2.5	<0.8	<0.7	<0.5
2007/1067	Tarbot, Bruine Bank	<0.9	<0.8	2.4	<0.9	<0.7	<0.5
2007/1069	Zeeduivel	<0.8	<0.7	2.3	<0.8	<0.7	<0.4
2007/1088	Tonijn, Azie	<1.1	<1.0	3.1	<1.0	1.1	<0.6
2008/0343	Schol, Centrale Noordzee	<0.7	<0.6	2.7	<0.7	<0.6	<0.4
2008/0345	Haring, Centrale Noordzee	<1.1	<1.0	2.4	<1.1	<0.9	<0.6
2008/0347	Schelvis, Noordelijke Noordzee	<0.8	<0.7	1.8	<0.7	<0.6	<0.4
2008/0349	Makreel, Westen Shetlands	<0.7	<0.6	3.6	<0.7	<0.6	0.4
2008/0402	Heek, Zuid-West Ierland	<0.7	<0.7	1.8	<0.7	<0.6	<0.4
2008/0430	Kabeljauw, Zuidelijke Noordzee	<0.9	<0.8	3.8	<0.9	<0.7	<0.5
2008/0540	Aal, Ketelmeer (achter de dijk)	<0.6	<0.6	3.7	<0.6	<0.5	<0.3
2008/0564	Aal, IJsselmeer Lemmer	<0.6	<0.5	3.6	<0.6	<0.5	<0.3

µg Kation/kg

LIMSNUMMER	OMSCHRIJVING	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT
2007/0588	Aal, kweek Etten-Leur	<1.6	<1.9	7.6	<1.8	<2.1	<1.8
2007/1065	Zalm, kweek Noorwegen	<1.3	<1.5	6.0	<1.4	<1.7	<1.4
2007/1067	Tarbot, Bruine Bank	<1.3	<1.6	5.8	<1.5	<1.8	<1.5
2007/1069	Zeeduivel	<1.2	<1.5	5.6	<1.3	<1.6	<1.4
2007/1088	Tonijn, Azie	<1.6	<1.9	7.7	<1.7	2.7	<1.8
2008/0343	Schol, Centrale Noordzee	<1.0	<1.2	6.5	<1.1	<1.3	<1.1
2008/0345	Haring, Centrale Noordzee	<1.6	<2.0	5.9	<1.8	<2.2	<1.8
2008/0347	Schelvis, Noordelijke Noordzee	<1.2	<1.4	4.5	<1.3	<1.5	<1.3
2008/0349	Makreel, Westen Shetlands	<1.0	<1.2	8.8	<1.1	<1.4	1.3
2008/0402	Heek, Zuid-West Ierland	<1.1	<1.3	4.4	<1.2	<1.5	<1.2
2008/0430	Kabeljauw, Zuidelijke Noordzee	<1.3	<1.6	9.2	<1.5	<1.7	<1.5
2008/0540	Aal, Ketelmeer (achter de dijk)	<0.9	<1.1	9.0	<1.0	<1.3	<1.1
2008/0564	Aal, IJsselmeer Lemmer	<0.9	<1.1	8.9	<1.0	<1.2	<1.0

5. Conclusies

De resultaten van deze beperkte inventariserende survey, verkregen met de door IMARES geïmplementeerde methode van RIKZ Haren, tonen aan dat voornamelijk TBT in kwantificeerbare hoeveelheden in de monsters aanwezig is. Alleen in 1 tonijnmonster kon ook DPT worden gekwantificeerd. De gehalten van het TBT-kation variëren van 4,4 tot 9,2 µg/kg versgewicht (zie tabel 3). De gehalten liggen daarmee alle ver onder de concept KRW-norm (ca. een factor 25).

De eerder geconstateerde verhouding tussen TBT en TPT; TBT hoger in platvis en zoetwatervis, kan in deze studie niet teruggevonden worden.

6. Aanbevelingen

De omvang van de uitgevoerde survey in 2008 is beperkt, maar omvat wel een gevarieerde keuze van in Nederland geconsumeerde vissoorten. Het verdient aanbeveling om in de toekomst meer monsters te analyseren op de aanwezigheid van organotinverbindingen, aangezien deze stoffen in het verleden veelvuldig zijn toegepast in productieprocessen en met name TBT nog veelvuldig voorkomt in het aquatische milieu.

De resultaten van deze beperkte survey suggereren dat er een laag risico is. Echter, de hoge gehalten die in eerdere studies zijn gemeten betroffen gevoelige soorten als driehoeksmossel en/of vervuilde plaatsen. Dus meten in aardappelgebieden/tuinbouw (TPT), in driehoeksmosselen en in visserijproducten uit de grote rivieren als Maas en Rijn wordt aanbevolen. Hiermee kan de trend van dit soort verbindingen worden vastgesteld en mogelijk gevaar worden gesignaleerd.

De voorlopige normstelling in 2008 voor TBT (230 µg/kg op productbasis voor het TBT-kation) in het kader van prioritaire en stroomgebiedsrelevante stoffen voor de KRW pleit er eveneens voor om organotinverbindingen te monitoren.

Voor de Noordzee is kabeljauw – naast de haring – aangewezen als meest geconsumeerde vis. Historische monsters biedt IMARES de mogelijkheid om onderzoek uit te voeren naar kabeljauw. T.b.v. de Kaderrichtlijn Mariene Strategie wordt aanbevolen om o.a. organotinverbindingen te meten in deze vissoort. Toetsing aan normen zijn van belang voor de export van visolie.

Nederland voldoet met een dergelijk onderzoek voor deze stoffen aan zijn verplichting om de Goede Ecologische Status van de Noordzee te beschrijven, zowel op het gebied van voedselveiligheid, als op het gebied van milieu. Eventueel benodigde maatregelen zullen beter onderbouwd kunnen worden.

Een andere mogelijkheid is om de analyse van organotinverbindingen vast op te nemen in het monitoringsprogramma voor Nederlandse visserijproducten. Aldus zal ook een trend voor deze stoffen zichtbaar worden in de loop der jaren voor verschillende vissoorten.

Referenties

- Aschner, M., Aschner, J.L. (1992). Cellular and molecular effects of trimethyltin and triethyltin: relevance to organotin neurotoxicity. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 16 (4), 427-435.
- Belfroid, A.C., Purperhart, M., Ariese, F. (2000). Organotin levels in seafood. *Marine Poll. Bull.*, 40 (3), 226-232.
- Boyer, I.J. (1989). Toxicity of dibutyltin, tributyltin and other organotin compounds to humans and to experimental animals. *Toxicology*, 55 (3), 253-298.
- Chang, L.W. (1990). The neurotoxicology and pathology of organomercury, organolead and organotin. *J. Toxicol. Sci.*, 15 (suppl. 4), 125-151.
- Dacasto, M., Valenza, F., Nebbia, C., Re, G., Cornaglia, E., Soffieti, M.G. (1994). Pathological findings in rabbits and sheep following the subacute administration of triphenyltin acetate. *Vet. Hum. Toxicol.* 36 (4), 300-304.
- Elgethun, K., C. Neumann en P. Blake (2000), Butyltins in shellfish, finfish, water and sediment from the Coos Bay estuary (Oregon, USA). *Chemosphere*, 41, 953-964.
- Ema, M., Itami, T., Kawasaki, H. (1992). Susceptible period for the teratogenicity of di-n-butyltin dichloride in rats. *Toxicology*, 73 (1), 81-92.
- Ema, M. Kurosaka, R., Amano, H., Ogawa, Y. (1995). Comparative developmental toxicity of butyltin trichloride, dibutyltin dichloride and tributyltin chloride in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 15 (4), 297-302.
- Ema, M. Kurosaka, R., Amano, H., Ogawa, Y. (1996). Comparative developmental toxicity of di-, tri- and tetrabutyltin compounds after administration during late organogenesis in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 16 (1), 71-76.
- EPA (1997). Tributyltin oxide (TBTO).
<http://www.toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~AAAHpaix2:1:BASIC>
- Feldman, R.G., White, R.F., Eriator, I.I. (1993). Trimethyltin encephalopathy. *Arch. Neurol.*, 50 (12), 1320-1324.
- Hoogenboom, L.A.P., T.H.F. Bovee, D. Kloet, E. de Waal, G. Kleter, S.P.J. van Leeuwen, H. Pieters en J. de Boer (2003). Contaminanten in vis- en visproducten. Mogelijke risico's voor de consument en adviezen voor monitoring. RIKILT/RIVO Rapport 2003.015.
- Heer, C. de, Schuurman, H.J., Houben, G.F., Pieters, R.H., Penninks, A.H., Loveren, H. van (1995). The SCID-hu mouse as a tool in immunotoxicological risk assessment: effects of 2-acetyl-4(5)-tetrahydroxybutyl-imidazole (THI) and di-n-butyltin dichloride (DBTC) on the human thymus in SCID-hu mice. *Toxicology*, 100 (1-3), 203-211.
- Jensen, K.G., Onfelt, A., Wallin, M., Liduns, V., Andersen, O. (1991a). Effects of organotin compounds on mitosis, spindle structure, toxicity and in vitro microtubule assembly. *Mutagenesis*, 6 (5), 409-416.
- Leonards, P.E.G. (2002). Organotin in visserijproducten. RIVO-rapport C013/02, IJmuiden.
- Loveren van, H., Slob, W., Briel van de, R.J., Hudspith, B.N., Meredith, C., Garssen, J. (1998). Immunotoxicology: extrapolation from animal to man - estimation of the immunotoxicological risk associated with TBTO exposure. *Arch. Toxicol.*, suppl. 20, 285-292.
- Miller, K., Scott, M.P. (1985). Immunological consequences of dioctyltin dichloride (DOTC)-induced thymic injury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 78 (3), 395-403.

- Nishida, H., Matsui, H., Sugiura, H., Kitagaki, K., Fuchigami, M., Inagaki, N., Nagai, H., Koda, A. (1991). The immunotoxicity of triphenyltin chloride in mice. *J. Pharmacobiodyn.*, 13 (9), 543-548.
- Noda, T., Morita, S., Yamano, T., Shimizu, M., Yamada, A. (1991). Effects of triphenyltin acetate on pregnancy in rats by oral administration. *Toxicol. Letters*, 56 (1-2), 207-212.
- Noda, T., Yamano, T., Shimizu, M., Saitoh, M., Nakamura, T., Yamada, A., Morita, S. (1992). Comparative teratogenicity of di-n-butyltin diacetate with n-butyltin trichloride in rats. *Arch. Env. Contam. Toxicol.*, 23 (2), 216-222.
- Noda, T., Yamano, T., Shimizu, M. (2001). Effects of maternal age on teratogenicity of di-n-butyltin diacetate in rats. *Toxicology*, 167, 181-189.
- Penninks, A.H. (1985). Immunotoxicity of organotin compounds. On the mechanism of dialkyltin-induced thymus involution. Proefschrift. Universiteit Utrecht.
- Penninks, A.H. (1993). The evaluation of data-derived safety factors for bis(tri-n-butyltin)oxide. *Food Addit. Contam.*, 10 (3), 351-361.
- Nilsson, R. (2000). Endocrine modulators in the food chain and environment. *Toxicol. Pathol.*, 28 (3), 420-431.
- Reiter, L.W., Ruppert, P.H. (1984). Behavioral toxicity of trialkyltin compounds: a review. *Neurotoxicology*, 5 (2), 177-186.
- Rey, C., Reinecke, H.J., Besser, R. (1984). Methyltin intoxication in six men; toxicologic and clinical aspects. *Vet. Hum. Toxicol.*, 26 (2), 121-122.
- Sasaki, Y.F., Yamada, H., Sugiyama, C., Kinae, N. (1993). Increasing effect of tri-n-butyltins and triphenyltins on the frequency of chemically induced chromosome aberrations in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, 300 (1), 5-14.
- SCF (1999). Opinion on an additional list of monomers and additives for food contact materials. Scientific Committee on Food. Document nr. SCF/CS/PM(GEN)/3334 final.
- Seinen, W., Willems, M.I. (1976). Toxicity of organotin compounds. I. Atrophy of thymus and thymus-dependent lymphoid tissue in rats fed with di-n-octyltin dichloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 35, 63-75.
- Seinen, W., Vos, J.G., Krieken van R., Penninks, A., Brands, R., Hooykaas, H. (1977). Toxicity of organotin compounds. III. Suppression of thymus-dependent immunity in rats by di-n-butyltin dichloride and di-n-octyltin dichloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 42, 213-224.
- Smialowicz, R.J., Riddle, M.M., Rogers, R.R., Rowe, D.G., Luebke, R.W., Fogelson, L.D., Copeland, C.B. (1988). Immunologic effects of perinatal exposure of rats to dioctyltin dichloride. *J. Toxicol. Env. Health*, 25, 403-422.
- Snoei, N.J., Iersel van, A.A., Penninks, A.H., Seinen, W. (1985). Toxicity of triorganotin compounds: comparative in vivo studies with a series of trialkyltin compounds and triphenyltin chloride in male rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 81 (2), 274-286.
- Snoei, N.J. (1987). Triorganotin compounds in immunotoxicology and biochemistry. Proefschrift. Universiteit Utrecht.
- Snoei, N.J., Penninks, A.H., Seinen, W. (1987). Biological activity of organotin compounds. An overview. *Environ. Res.*, 44, 335 e.v.

Stäb, J. A., M. Frenay, I. L. Freriks, U. A. T. Brinkman en W. P. Cofino (1995), Survey of nine organotin compounds in the Netherlands using the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) as biomonitor. *Environmental toxicology and chemistry*, 14, 2023-2032.

Tanabe, S. (1999), Butyltin contamination in marine mammals - a review. *Marine Pollution Bulletin*, 39, 62-72.

Vos, J.G., Logten van, M.J., Kreeftenberg, J.G., Kruizinga, W. (1984). Effect of triphenyltin hydroxide on the immune system of the rat. *Toxicology*, 29 (4), 325-336

Vos, J.G., Klerk, A. de, Krajnc, E.I., Loveren, H. van, Rozing, J. (1990). Immunotoxicity of bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat: effects on thymus-dependent immunity and on nonspecific resistance following long-term exposure in young versus aged rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 105, 144-155.

Wester, P.W., Krajnc, E.I., Leeuwen van, F.X., Loeber, J.G., Heijden van der, C.A., Vaessen, H.A., Helleman, P.W. (1990). Chronic toxicity and carcinogenicity of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) in the rat. *Fd. Chem. Toxicol.*, 28 (3), 179-196.

WHO/IPCS (1990). Tributyltin compounds. *Env. Health Criteria* 116.

Yamada, H., Sasaki, Y.F. (1993). Organotins are co-clastogens in a whole mammalian system. *Mutat. Res.*, 301 (3), 195-200.

Verantwoording

Rapport C062/10
Projectnummer: 4305300014

Verantwoording

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord: Dr. Ir. M.J.J. Kotterman
Projectleider afdeling Milieu

Handtekening:



Datum: 15 juni 2010

Akkoord: Drs. J.H.M. Schobben
Hoofd afdeling Milieu

Handtekening:



Datum: 15 juni 2010

Aantal exemplaren:	12
Aantal pagina's:	17
Aantal tabellen:	3
Aantal figuren:	0
Aantal bijlagen:	0

