

สารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิคม *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งทะเล
จังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด

Butyltin Compounds in Green mussel (*Perna viridis*) from the Coasts of Chonburi, Rayong and Trat Provinces

ชนพพล กลิ่นกลบ¹ กิตติยา เชียร์แมน² นิตยา สูดศิริ² อาภาพร บุญมี³ และสุทิน กิ่งทอง^{1*}

Chanoppholm Klinklob¹ Kittiya Shearman² Nittaya Sudsiri² Apaporn Boonmee³
and Sutin Kingtong^{1*}

Received: September 27, 2018; Revised: December 20, 2018; Accepted: December 27, 2018

บทคัดย่อ

สารประกอบบิวทิลทินเป็นสารที่มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมบริเวณชายฝั่งทะเลเนื่องจากการใช้สีทาเรือที่มีสารไตรบิวทิลทิน เป็นส่วนผสม สารกลุ่มนี้สามารถหลุดออกจากเรือสะสมในสิ่งแวดล้อม และมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศทางทะเล ภายหลังกองคกรทางทะเลระหว่างประเทศจึงประกาศยกเลิกการใช้สารกลุ่มนี้ในสีทาเรือตั้งแต่ปี ค.ศ. 2008 เป็นต้นมา แต่เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีการสะสมยาวนานจึงควรมีการตรวจวัดปริมาณอย่างต่อเนื่อง สำหรับประเทศไทยพบรายการการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในสัตว์เป็นครั้งแรกในหอยแมลงภู่นิคม *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งทะเล ในปี ค.ศ. 1994 และ 1995 โดยพบสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่นิคมบริเวณชายฝั่งทะเลประเทศไทยปริมาณเฉลี่ย 49 ng/g ของน้ำหนักสด โดยในจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด มีปริมาณเฉลี่ย 32 73 และ 16 ng/g ของน้ำหนักสด ตามลำดับ และในปี ค.ศ. 2004 มีการตรวจวัดในหอยแมลงภู่นิคมอีกครั้ง บริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนบน พบสารประกอบบิวทิลทินปริมาณเฉลี่ย 35 ng/g ของน้ำหนักสด โดยในภาคตะวันออกพบรายงานในจังหวัดชลบุรีมีปริมาณเฉลี่ย 70 ng/g ของน้ำหนักสด อย่างไรก็ตามภายหลังกการยกเลิกการใช้สารกลุ่มนี้ในสีทาเรือในปี ค.ศ. 2008 ยังไม่พบรายการการปนเปื้อนของสารกลุ่มนี้ในหอยแมลงภู่นิคม การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัด

¹ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี

¹ Faculty of Science, Burapha University, Chonburi

² ฝ่ายมาตรวิทยาและชีวเคมี สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ คลอง 5 คลองหลวง ปทุมธานี

² Chemical Metrology and Biometry Department, National Institute of Metrology, Klong 5, Klong Luang, Pathumthani

³ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จันทบุรี

³ Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi

* Corresponding Author E - mail Address: sutin@buu.ac.th

ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่มิชนิด *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด โดยใช้สาร Sodium tetraethylborate ในการสร้างอนุพันธ์ของสารประกอบทิน และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่มิมีปริมาณเฉลี่ย 2.66 ng/g ของน้ำหนักแห้ง คิดเป็น 0.49 ng/g ของน้ำหนักสด โดยแบ่งเป็นจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด มีค่าเฉลี่ย 1.04 5.98 และ 0.95 ng/g ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็น 0.23 1.10 และ 0.15 ng/g ของน้ำหนักสด ตามลำดับ ข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่มิแนวโน้มนลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับปริมาณที่พบในอดีต

คำสำคัญ: บิวทิลทิน; หอยแมลงภู่มิ; ไตรบิวทิลทิน; ไดบิวทิลทิน

Abstract

Butyltin compounds are marine environmental pollutant according to their used as tributyltin-based boat paint. These pollutants can be released from ship hulls and contaminated marine environments including water, sediment and animals. The effect of butyltin compounds were extensively reported leading to the global band on usage of tributyltin-based boat paint by the International Maritime Organization in 2008. Since butyltin compounds are persistent organic pollutants (POPs), continuously monitoring is required. For Thailand, measurements of butyltin compounds were initially performed in mussel *Perna viridis* during years 1994 - 1995 from the coast of Thailand with mean accumulation levels of 49 ng/g wet weight basis. In the East coast, mean accumulation levels of 32, 73 and 16 ng/g wet weight were reported in Chonburi, Rayong and Trat Provinces, respectively. Later, in 2004, butyltins accumulations in mussel were monitored again in the Upper Gulf of Thailand with mean accumulation level of 35 ng/g wet weight. In the East coast, accumulation level of 70 ng/g wet weight was reported in Chonburi. However, none of tissue accumulation has been reported after the band of butyltin compounds in 2008. This work therefore aimed to measure accumulation level of butyltin compounds in the mussel *Perna viridis* inhabiting along the East coasts of Thailand including Chonburi, Rayong and Trat Provinces. The analyses were performed by using sodium tetraethylborate in derivatization steps and analyzed with a GC-MS. Results showed that butyltin compounds were measured in mussels with mean accumulation level of 2.66 ng/g dry weights which was equivalent to 0.49 ng/g wet weights. The mean accumulation levels of Chonburi, Rayong and Trat Provinces were 1.04, 5.98 and 0.95 ng/g dry weight in which equivalent to 0.23, 1.10 and 0.15 ng/g wet weight basis. Our results indicated that bioaccumulations of butyltin compounds in mussels were extremely decreased comparing to previous reports.

Keywords: Butyltin; Mussel; Dibutyltin; Tributyltin

บทนำ

สารประกอบบิวทิลทิน (Butyltin Compounds; BTs) เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลประกอบด้วย ธาตุดีบุก (Sn) และหมู่บิวทิล ($-C_4H_9$) ซึ่งสารที่เป็นที่รู้จักกันดีในกลุ่มนี้คือ สารไตรบิวทิลทิน (Tributyltin; TBT) เนื่องจากมีการรายงานการปนเปื้อนและผลกระทบของสาร TBT ในสิ่งแวดล้อมทางทะเลเป็นจำนวนมาก สาร TBT นี้ถูกใช้ในสีทาเรือเพื่อป้องกันการเกาะบนผิวเรือของเพรียงและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก แต่อย่างไรก็ตาม สารนี้สามารถละลายออกมาจากผิวเรือและปนเปื้อนในระบบนิเวศชายฝั่งทะเลและส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างมาก จนถือได้ว่าเป็นสารพิษที่มีความร้ายแรงมากที่สุดชนิดหนึ่งในระบบนิเวศทางทะเล [1] โดยผลกระทบที่เป็นที่รู้จักกันดีของสารประกอบบิวทิลทินคือ ทำให้หอยฝาเดียวในกลุ่ม Neogastropod เกิดการเปลี่ยนเพศจากเพศเมียเป็นเพศผู้ (Imposex) ซึ่งมีผลกระทบต่อโครงสร้างของประชากรหอยฝาเดียวในพื้นที่และอาจทำให้ประชากรหอยฝาเดียวลดลง [2] สำหรับหอยสองฝาพบว่าส่งผลกระทบต่อพัฒนาการและการเจริญของตัวอ่อน และในหอยนางรมตัวเต็มวัยพบว่าทำให้หอยนางรมมีการสร้างเปลือกผิดปกติ ทำให้ผลผลิตต่ำ ซึ่งส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงหอยนางรมเป็นอย่างมาก [2] - [3] นอกจากนี้ สารไตรบิวทิลทินยังสามารถสะสมในห่วงโซ่อาหารรวมถึงผู้บริโภคอันดับสุดท้าย เช่น มนุษย์ และอาจส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันทำให้สุขภาพอ่อนแอลงอีกด้วย [4] การปนเปื้อนของสาร TBT นอกจากจะพบในรูปของ TBT แล้วยังพบว่าการปนเปื้อนของสารบิวทิลทินที่เกิดจากการสลายตัวของ TBT เป็นอนุพันธ์ Dibutyltin (DBT), Monobutyltin (MBT) ในสิ่งแวดล้อมทางทะเลในทุกภูมิภาคของโลก ทั้งในน้ำทะเล ดินตะกอน [4] และสิ่งมีชีวิต เช่น สาหร่าย [5] หญ้าทะเล [6] หอยทะเล [7] - [8] ครัสเตเชียน [9] และปลา [10] เป็นต้น

จากรายงานการปนเปื้อนและผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศดังที่กล่าวมาแล้วทำให้หลายประเทศ กำหนดมาตรการห้ามใช้สาร TBT ในสีทาเรือ ต่อมาองค์การทางทะเลระหว่างประเทศ International Maritime Organization (IMO) จึงได้มีข้อกำหนดห้ามผลิตสีทาเรือที่มีส่วนผสมของสาร TBT ในปี ค.ศ. 2003 และห้ามใช้สีทาเรือที่มีองค์ประกอบของสาร TBT ในปี ค.ศ. 2008 เป็นต้นมา [11] ทำให้สถานการณ์การปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในหลายประเทศมีแนวโน้มที่ลดลง อย่างไรก็ตามก็ยังสามารถตรวจพบสารกลุ่มนี้ได้ทั้งในน้ำทะเล ดินตะกอน และสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสารประกอบบิวทิลทินจัดเป็นสารที่มีความคงทนและสลายตัวช้า (Persistent Organic Pollutants; POPs) จึงสามารถปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ยาวนาน [12] โดยค่าครึ่งชีวิตในน้ำทะเล ดินตะกอน และหอยสองฝาอยู่ที่ 0.78 2.89 และ 1.12 ปี ตามลำดับ [13] นอกจากนี้ยังมีปัจจัยเสี่ยงอื่นที่อาจทำให้การปนเปื้อนของสารกลุ่มนี้ลงสู่สิ่งแวดล้อมอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากภายใต้ข้อกำหนดของ IMO ยังอนุญาตให้ใช้สาร TBT ในสีทาเรือ สำหรับเรือที่มีขนาดใหญ่เกิน 25 เมตร และนอกจากสีทาเรือแล้ว สารอนุพันธ์ DBT และ MBT ยังมีการใช้อย่างแพร่หลายในภาคอุตสาหกรรม เช่น ใช้ป้องกันเชื้อราในระบบหล่อเย็น ใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้า ใช้ในการถนอมอาหาร ใช้ป้องกันเชื้อราในโรงไม้ เป็นต้น [14] - [15] ดังนั้นจึงควรมีการติดตามตรวจสอบและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารบิวทิลทินอย่างต่อเนื่อง

แม้ว่าภายหลังการประกาศห้ามใช้สารประกอบบิวทิลทินในสีทาเรือส่งผลให้สถานการณ์การปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตเริ่มมีแนวโน้มลดลงในหลายพื้นที่ทั่วโลก [16] - [18] อย่างไรก็ตามก็

ปัจจุบันยังสามารถตรวจพบการปนเปื้อนของสารกลุ่มนี้ในปริมาณมากและยังไม่มีแนวโน้มว่าจะลดลงในบางภูมิภาคของโลก [19] สำหรับประเทศไทยมีการตรวจวัดการปนเปื้อนของสารบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิตน้อยโดยพบรายงานการศึกษาในหอยแมลงภู่น้ำจืด (*Perna viridis*) ก่อนที่มีการประกาศห้ามใช้สารประกอบบิวทิลทินในสีทาเรือ โดยในปี ค.ศ. 1994 - 1995 พบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่น้ำจืดบริเวณชายฝั่งทะเลประเทศไทยเฉลี่ย 49 ng/g ของน้ำหนักสด โดยจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด พบปริมาณอยู่ที่ 32 73 และ 16 ng/g ของน้ำหนักสด ตามลำดับ [20] และในปี ค.ศ. 2004 พบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่น้ำจืดบริเวณชายฝั่งทะเลอ่าวไทยตอนบนเฉลี่ย 35 ng/g ของน้ำหนักสด โดยจังหวัดชลบุรีพบปริมาณอยู่ที่ 70 ng/g ของน้ำหนักสด [21] อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการปนเปื้อนของสารประกอบกลุ่มนี้ในสิ่งมีชีวิตบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทยภายหลังประกาศห้ามใช้สารกลุ่มนี้ในสีทาเรือ ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดการปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตบริเวณชายฝั่งทะเล โดยทำการศึกษาในหอยแมลงภู่น้ำจืด *Perna viridis* มีถิ่นอาศัยบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย เช่น จังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด เป็นต้น ซึ่งเป็นจังหวัดในภูมิภาคที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีเขตอุตสาหกรรมที่สำคัญ และเป็นพื้นที่ยุทธศาสตร์การลงทุน อีกทั้งพื้นที่บริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออกยังเป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับเป็นฐานการผลิตอุตสาหกรรมหลักของประเทศในอนาคต และการพัฒนาท่าเรือ จึงมีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนสารเคมีสู่สิ่งแวดล้อมถึงสารกลุ่มบิวทิลทิน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. พื้นที่ศึกษาและการเก็บตัวอย่าง

พื้นที่ศึกษาประกอบด้วย บริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด ตามพิกัดในตารางที่ 1 และรูปที่ 1 ทำการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่น้ำจืด *Perna viridis* จากพื้นที่ศึกษาในเดือนสิงหาคม ปี พ.ศ. 2558 (ค.ศ. 2015) ในการเก็บตัวอย่างทำการสุ่มเก็บหอยแมลงภู่น้ำจืดที่มีขนาดตั้งแต่ 5 เซนติเมตรขึ้นไป ใต้น้ำหนักรวมเปลือกประมาณ 1 กิโลกรัม และเน้นการเก็บตัวอย่างให้ครอบคลุมพื้นที่มากที่สุดตามระเบียบวิธีวิจัย ซึ่งผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการสัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัย หลังจากเก็บตัวอย่างแล้วแช่เย็นในน้ำแข็งทันทีเพื่อขนย้ายไปยังห้องปฏิบัติการ ทำการแกะเปลือกเพื่อนำเอาเนื้อเยื่อสดรวมกันและทำการบดให้ละเอียด แล้วชั่งเนื้อเยื่อใต้น้ำหนัก 150 กรัม แล้วจึงนำไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-Drying) เก็บเนื้อเยื่อที่แห้งแล้วในขวดแก้วทึบแสงและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

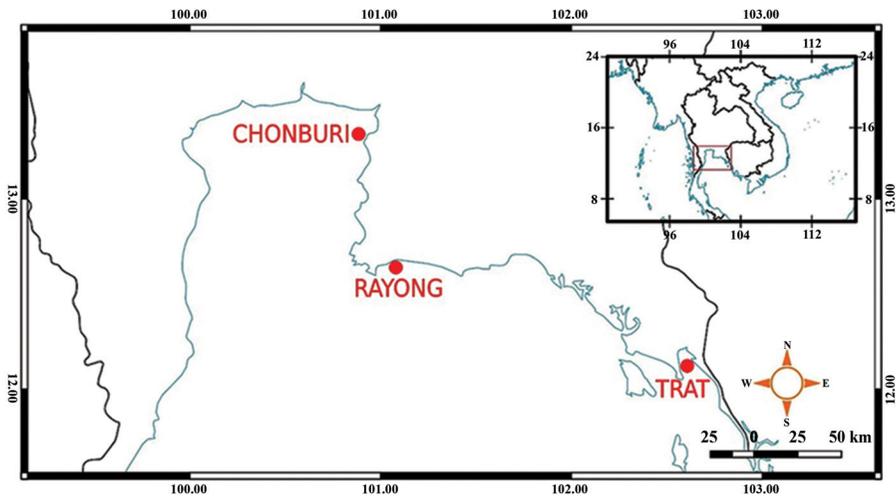
2. สารเคมีและการเตรียมสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน (Standard) บิวทิลทินที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย Monobutyltin chloride ($[\text{C}_4\text{H}_9\text{SnCl}_3]$, 95 %, Sigma-Aldrich), Dibutyltin chloride ($[\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SnCl}_2]$, 96 %, Sigma-Aldrich) และ Tributyltin chloride ($[\text{C}_6\text{H}_{13}\text{SnCl}]$, 96 %, Sigma-Aldrich) นอกจากนี้ยังใช้สาร Tripropyltin (TPrT) ($[\text{C}_9\text{H}_{21}\text{SnCl}]$, 99 %, Sigma-Aldrich) สำหรับเป็น Internal standard และใช้สาร Sodium diethyldithiocarbamate ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich) สำหรับกระบวนการ derivatization

เตรียมสารมาตรฐาน Monobutyltin chloride ($[\text{CH}_3\text{CH}_2]_3\text{SnCl}_3$, 95%), Dibutyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2]_2\text{SnCl}_2$, 96%), Tributyltin chloride ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_3\text{SnCl}$, 96%) ในเมทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 1 g/L และเตรียม internal standard Tripropyltin (TPrT) ($(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{SnCl}$ 99%) ในเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 10 mg/L สารละลายมาตรฐานทั้งหมดเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ที่เตรียมสารละลาย Organotin catching โดยใช้ Sodium diethyldithiocarbamate ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 6% ในเอทานอล และเตรียม Acetate buffer pH 4.5 ± 0.3 โดยใช้ Sodium acetate ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$)

ตารางที่ 1 พิกัดสถานที่เก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่นิวต *Perna viridis* และน้ำหนักเนื้อเยื่อสดและน้ำหนักแห้ง หลังจากทำแห้งแบบเยือกแข็ง

Location	Coordinates	Wet weight (g)	Dry weight (g)
Chonburi	13.329327N/100.904132E	150	29.26
Rayong	12.666802N/101.167804E	150	27.49
Trat	12.131474N/102.570505E	150	23.55



รูปที่ 1 แผนที่จุดเก็บตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ (ดัดแปลงจากโปรแกรม QGIS)

3. การสกัดตัวอย่างและปฏิกิริยา

การสกัดสารบิวทิลทินจากตัวอย่างเนื้อเยื่อในการศึกษาครั้งนี้ดัดแปลงจากงานวิจัย [22] โดยใช้เทคนิคการสกัดแบบ Solid-Liquid Extraction (SLE) นำตัวอย่างหอยแมลงภู่นิวตที่ทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยชั่งตัวอย่างแห้ง 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 50 mL เติมน้ำ Ultrapure deionized ($18.2 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) ปริมาตร 5 mL ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Tripropyltin (TPrT) ความเข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 100 μL นำไป sonicate นาน 30 นาที เติม Acetone ปริมาตร 10 mL และสารละลาย Sodium diethyldithiocarbamate 6% ปริมาตร 100 μL นำไป sonicate อีก 20 นาที

จากนั้นเติม Acetate Buffer pH 4.5 ปริมาตร 10 mL เขย่านาน 1 นาที จากนั้นเติม Sodium tetraethylborate ($\text{NaB}(\text{Et})_4$) ปริมาตร 100 μL เดิมลงไปในหลอดสกัดก่อนหน้านั้น ทำการเขย่านาน 30 นาที และเติม Hexane ปริมาตร 5 mL เขย่านาน 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 rpm นาน 10 นาที คูดสารละลายชั้น Hexane มาใส่ในหลอดทดลองอันใหม่ ทำการสกัดซ้ำอีกครั้งโดยเติม Hexane ปริมาตร 5 mL เขย่านาน 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 rpm นาน 10 นาที และคูดสารละลาย Hexane ขึ้นมาใส่ในหลอดทดลองก่อนหน้านั้น และนำไปประเหยด้วยก๊าซไนโตรเจน ให้เหลือปริมาตร 1 mL ทำความสะอาดสารสกัดที่ได้ด้วย Florisil Column จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ต่อไป ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (Recovery) ในการวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีการเติมสารละลายมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอนใส่ลงไปเป็นตัวอย่าง (Spike) จากนั้นทำการสกัดและวิเคราะห์ผลเหมือนกันกับขั้นตอนการสกัดตัวอย่าง ซึ่งค่าที่ได้จะแสดงเป็นร้อยละ

4. ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

การวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทินในครั้งนี้ดัดแปลงจากงานวิจัย [22] โดยนำสารสกัดปริมาตร 2 μL มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) รุ่น Agilent 5975C, Agilent Technologies (USA) โดยใช้คอลัมน์ชนิด HP-5MS 5 % phenyl ที่เคลือบด้วย methyl siloxane 95 % ขนาด 30 m \times 0.25 μm \times 0.25 mm ยี่ห้อ Agilent Technologies และให้อุณหภูมิคงที่ ๑ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 1 นาที จนถึงอุณหภูมิ 190 องศาเซลเซียส และคงที่เป็นเวลา 1 min และเพิ่มอุณหภูมิอีก 30 องศาเซลเซียส ทุก ๆ 1 นาที จนถึงอุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที อุณหภูมิ inlet 250 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของก๊าซตัวพา 1.0 mL/min โดยมีก๊าซฮีเลียม (He) เป็นตัวนำพาสารที่อัตรา 50 mL/min เข้าสู่คอลัมน์ และใช้ตัวตรวจวัด (Detector) คือ Mass Spectrometer (MS) ทำการวิเคราะห์หาสารประกอบบิวทิลทินที่อยู่ในเนื้อเยื่อตัวอย่างโดยเทียบกับปริมาณสารมาตรฐาน สารมาตรฐานที่ใช้คือ ไตรบิวทิลทินคลอไรด์ ไคบิวทิลทินคลอไรด์ และโมโนบิวทิลทินคลอไรด์ สามารถทำการวิเคราะห์ได้โดยเปรียบเทียบเวลาที่สารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์กับ Retention Time (Rt) และการยืนยันด้วยมวลโมเลกุล (Molecular Mass) ของสารแต่ละชนิด แล้วทำการหาปริมาณตัวอย่างโดยสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 5 จุด (0.1 0.5 1 50 และ 100 $\mu\text{g/L}$) แล้วเปรียบเทียบระหว่างค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานกับสัดส่วนพื้นที่ใต้พีค (Peak Area Ratio) ของสารมาตรฐานกับ Internal Standard แล้วใช้ความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้ มาคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยหน่วยของสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบมีหน่วยเป็นนาโนกรัม ต่อกรัมในน้ำหนักแห้ง (ng/g dry weight)

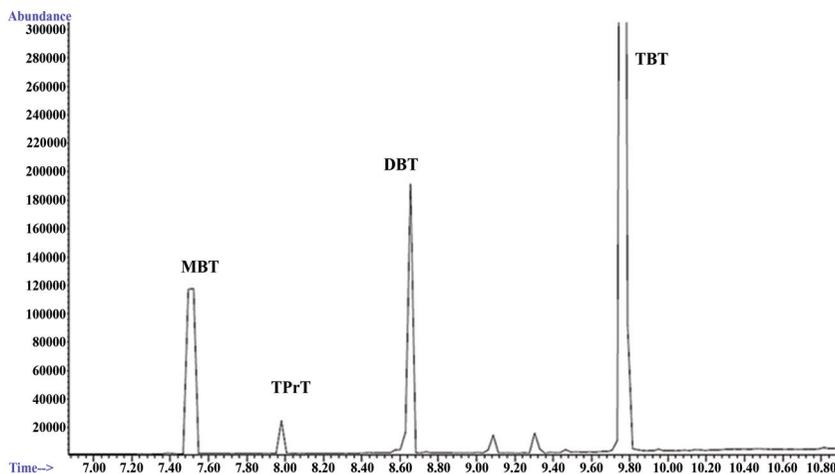
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. เทคนิคการสกัดแบบ Solid-Liquid Extraction (SLE) และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS

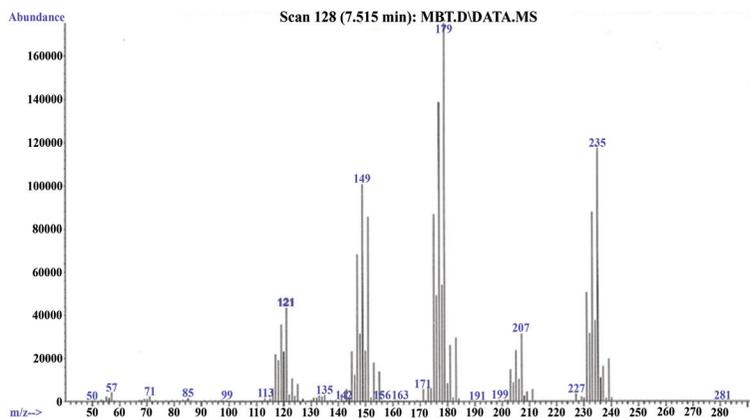
เมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในสารละลายมาตรฐานเทียบกับตัวอย่าง ด้วยเครื่อง GC-MS ในโหมด Scan และโหมด Selection Ion Monitoring (SIM) พบว่าสารประกอบบิวทิลทินแต่ละอนุพันธ์มี Ions (m/z) คือ โมโนบิวทิลทิน (MBT) 179-149-207 มี target ion 235 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 7.52 นาที ไคบิวทิลทิน (DBT) 207-179-146 มี target ion 263 แสดงเวลา

ในโครมาโตแกรมที่ 8.65 นาที และไตรบิวทิลทิน (TBT) 207-177-151 มี target ion 291 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 9.78 นาที ช่วงเวลาที่แสดงในโครมาโตแกรมนั้นแตกต่างกันตามมวลและประจุของโมเลกุลแต่ละชนิด โดยมวลโมเลกุลของ MBT จะปรากฏออกมาในแผนภาพโครมาโตแกรมก่อน เนื่องจากสภาพการมีขั้วของ MBT ที่มีขั้วมากกว่า DBT และ TBT และในการวิจัยครั้งนี้ได้มีการเติม Internal Standards โดยใช้สารมาตรฐาน tripropyltin (TPrT) เพื่อชดเชยการสูญเสียสารมาตรฐานในขั้นตอนการสกัดจนถึงขั้นตอนการวิเคราะห์โดยจะแสดง Ion (m/z) ที่ 191-249-247 มี target ion 193 แสดงเวลาในโครมาโตแกรมที่ 7.98 นาที (รูปที่ 2 - 3 และตารางที่ 2) ส่วนผลของการทำ recovery ของสาร TBT, DBT และ MBT อยู่ระหว่าง 120 135 และ 112 % ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการสกัดแบบ SLE และใช้ sodium tetraethylborate (NaB(Et)₄) เป็นตัวทำปฏิกิริยา สามารถทำการสกัดและวิเคราะห์ผลได้ทั้งในสารละลายมาตรฐานและสารที่อยู่ในตัวอย่างสิ่งมีชีวิต

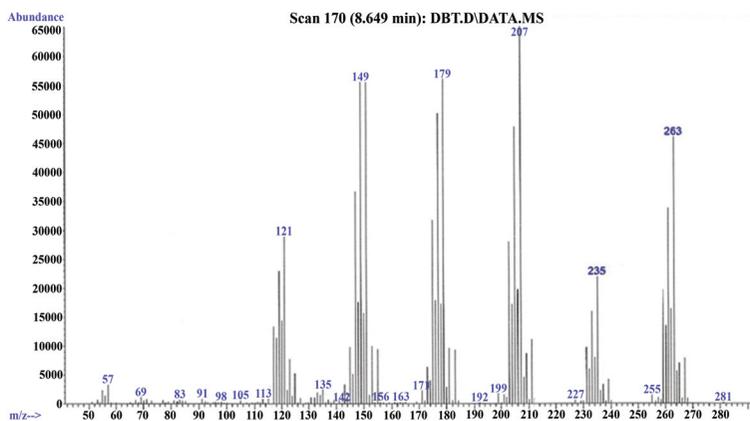
การวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทินในการศึกษาครั้งนี้ สามารถระบุค่าคุณลักษณะของวิธีการวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ได้ดังต่อไปนี้ (1) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit Of Quantification; LOQ) หรือความเข้มข้นระดับแรกที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างของสารประกอบบิวทิลทินทั้ง 3 อนุพันธ์มีค่า 0.1 ng/g (2) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit Of Detection; LOD) หรือค่าความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดสัญญาณได้ในตัวอย่างของสารประกอบบิวทิลทินทั้ง 3 อนุพันธ์มีค่า 0.5 ng/g และ (3) ความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Precision) เป็นเปอร์เซ็นต์ ซึ่งการหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนในการวิจัยครั้งนี้ของไตรบิวทิลทิน ไดบิวทิลทิน และโมนอบิวทิลทินอยู่ที่ 120 135 และ 112 % ตามลำดับ ดังที่ได้กล่าวไปแล้ว (ตารางที่ 3)



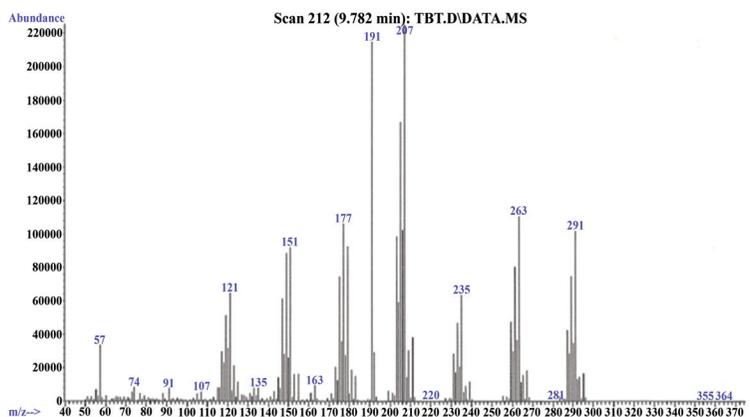
รูปที่ 2 โครมาโตแกรมของสารประกอบบิวทิลทินที่ผ่านกระบวนการ derivatization ด้วย (NaB(Et)₄) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS พบ TIC chromatograms ของสารประกอบบิวทิลทินทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ Monobutyltin (MBT), Dibutyltin (DBT) และ Tributyltin (TBT) ที่เวลา 7.52 8.65 และ 9.78 นาที ตามลำดับ และพบ Internal Standard Tripropyltin (TPrT) ที่เวลา 7.98 นาที



(ก) MBT



(ข) DBT



(ค) TBT

รูปที่ 3 Mass spectra ของ MBT DBT and TBT ที่ทำการวิเคราะห์ด้วย GC-MS ในโหมด Scan

ตารางที่ 2 ไอออนและ Retention Time ของสารประกอบบิวทิลทิน และ Internal Standard Tripropyltin (TPrT)

Butyltin compounds	Ions (m/z)	Target ion	Retention time (min)
Monobutyltin (MBT)	233 - 179 - 177	235	7.52
Dibutyltin (DBT)	261 - 179 - 177	263	8.65
Tributyltin (TBT)	289 - 261 - 263	291	9.78
Tripropyltin (TPrT)	191 - 249 - 247	193	7.98

ตารางที่ 3 ค่าคุณลักษณะของวิธีการวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโทรมิเตอร์ (n = 3)

Butyltin compounds	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	Precision (%RSD)	Recovery (%)	Linearity (r ²)
Monobutyltin (MBT)	0.10	0.50	13	112	0.991
Dibutyltin (DBT)	0.10	0.50	12	135	0.992
Tributyltin (TBT)	0.10	0.50	16	120	0.993

2. ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบในหอยแมลงภู

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภูชนิด *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด ในการศึกษาครั้งนี้ (ตารางที่ 4) พบปริมาณรวมของสารประกอบบิวทิลทิน (Σ BTs) ในเนื้อเยื่อหอยแมลงภูมีค่า 1.04 5.98 และ 0.95 ng/g dry weight ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยของทุกพื้นที่รวมกันเป็น 2.66 ng/g dry weight โดยพบปริมาณรวมของสารประกอบบิวทิลทินมากที่สุดในพื้นที่ระยองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.98 ng/g dry weight โดยตรวจพบอนุพันธ์ DBT เพียงอย่างเดียว รองลงมาคือจังหวัดชลบุรีมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.04 ng/g dry weight ประกอบด้วยอนุพันธ์ TBT และ DBT 0.68 และ 0.36 ng/g dry weight ตามลำดับ ไม่พบ MBT ส่วนจังหวัดตราดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.95 ng/g dry weight ตรวจพบอนุพันธ์ DBT ส่วนอนุพันธ์ TBT พบได้เล็กน้อยคือมีปริมาณมากกว่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ; < 0.10 ng/g dry weight) แต่มีปริมาณน้อยกว่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD; < 0.50 ng/g dry weight) และไม่พบอนุพันธ์ MBT เนื่องจากการศึกษาในอดีตพบรายงานปริมาณการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อในหน่วย ng/g ของน้ำหนักสด (Wet Weight) ดังนั้นเพื่อให้ง่ายต่อการเปรียบเทียบผู้วิจัยจึงได้ทำการเปลี่ยนหน่วยจาก Dry Weight เป็นหน่วย Wet Weight โดยใช้ข้อมูลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเนื้อหอยในตารางที่ 1 ทำให้ได้ข้อมูลเปรียบเทียบดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งทำให้ปริมาณรวมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภูพบในจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด มีค่าเท่ากับ 0.23 0.10 และ 0.15 ng/g dry weight ตามลำดับ และ มีค่าเฉลี่ยของทุกพื้นที่รวมกันเป็น 0.49 ng/g dry weight

เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู บริเวณชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด จากการศึกษาในครั้งนี้กับในอดีตพบว่าปริมาณการสะสมของสารกลุ่มนี้ในหอยแมลงภูลดลงอย่างมาก โดยในอดีตที่มีการเก็บตัวอย่างในปี ค.ศ. 1994/1995

ที่พบปริมาณการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่มิ นิดในจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด เท่ากับ 32.73 และ 16 ng/g dry weight ตามลำดับ [20] และในปี ค.ศ. 2004 ที่พบรายงานในจังหวัดชลบุรี 70 ng/g dry weight [21] ปัจจุบันลดลงเหลือ 0.23-0.10 และ 0.15 ng/g dry weight ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประกาศขององค์การทางทะเลระหว่างประเทศ (IMO) ที่ห้ามใช้สีทาเรือที่มีส่วนผสมของสาร TBT ในปี ค.ศ. 2008 มีผลทำให้ปริมาณการสะสมของสารบิวทิลทินในหอยแมลงภู่มิ นิดมีแนวโน้มลดลงในจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด

เมื่อพิจารณาตามมาตรฐานความปลอดภัยของสารปนเปื้อนในอาหาร พบว่าไม่มีการระบุเกณฑ์ขั้นต่ำของสารประกอบบิวทิลทินในอาหาร เนื่องจากสารกลุ่มนี้ไม่พบข้อมูลความเป็นพิษที่แน่นอนต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่มีผลกระทบต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยเฉพาะกลุ่มสัตว์กลุ่มหอย (Mollusk) แต่เนื่องจากสารประกอบบิวทิลทินมีดีบุก หรือ Tin (Sn) เป็นองค์ประกอบ เมื่อพิจารณาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 (ค.ศ. 1986) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน กำหนดให้ตรวจพบปริมาณดีบุกได้ไม่เกิน 250 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม หรือเท่ากับ 250,000 ng/g dry weight [23] ดังนั้นเมื่อเทียบกับปริมาณที่พบในงานวิจัยครั้งนี้จึงไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่ระบุไว้ในมาตรฐานข้างต้น อย่างไรก็ตามแม้ว่าปริมาณการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยแมลงภู่มิ จะอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค แต่ก็ควรติดตามตรวจสอบต่อไปเนื่องจากความเข้มข้นดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพประชากรของหอยแมลงภู่มิ รวมถึงสัตว์น้ำชนิดอื่น ในระยะยาวอาจส่งผลกระทบต่อโครงสร้างของประชากรได้ ซึ่งควรทำการศึกษาต่อไปในอนาคต

เมื่อพิจารณาสถานการณ์การปนเปื้อนของสารประกอบบิวทิลทินทั่วโลก ภายหลังที่ IMO ประกาศห้ามใช้สีทาเรือที่มีส่วนผสมของสารประกอบบิวทิลทินในปี ค.ศ. 2008 พบว่าได้มีการเฝ้าระวังและติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินที่สะสมและแพร่กระจายในระบบนิเวศต่าง ๆ อย่างต่อเนื่องทั้งในมวลน้ำ สิ่งมีชีวิต และตะกอนดิน ซึ่งทำให้ทราบถึงแนวโน้มการสะสมสารประกอบบิวทิลทินอย่างต่อเนื่อง การศึกษาในปัจจุบันพบว่าสถานการณ์การปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งแวดล้อมมีแนวโน้มลดลงในหลายประเทศ ยกตัวอย่างเช่น ประเทศเกาหลีใต้ ในปี ค.ศ. 2008/2009 ตรวจพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในน้ำทะเลเฉลี่ย 2 ng/L ซึ่งลดลงอย่างมาก เมื่อเทียบกับปี ค.ศ. 1995/1997 ที่พบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในน้ำทะเลเฉลี่ย 34 ng/L และพบปริมาณสารประกอบบิวทิลทินในเนื้อเยื่อหอยนางรมลดลงประมาณ 4 เท่า คือจาก 714 ng/g dry weight ในปี ค.ศ. 1995/1997 ลดลงเป็น 158 ng/g dry weight ในปี ค.ศ. 2008/2009 อย่างไรก็ตามปริมาณการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในดินตะกอนไม่มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือพบการสะสมของสารประกอบบิวทิลทินในตะกอนดินเฉลี่ย 284 ng/g dry weight ในปี ค.ศ. 1995/1997 และ 256 ng/g dry weight ในปี ค.ศ. 2008/2009 [24] - [25] อย่างไรก็ตามในบางประเทศยังสามารถตรวจพบสารประกอบบิวทิลทินได้ในปริมาณสูง เช่น ประเทศชิลี มีการตรวจวัดในเนื้อเยื่อของหอยฝาเดียว 3 ชนิด ได้แก่ *Acanthina monodon*, *Xanthochorus cassidiformis* และ *Oliva peruviana* บริเวณชายฝั่งทะเลตอนกลางของประเทศ พบการปนเปื้อนในเนื้อเยื่อสูง และในบางพื้นที่พบได้สูงสุดถึง 600 ng/g ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศชิลีได้ อีกทั้งปริมาณการสะสมในตะกอนดินยังไม่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับอดีต [26] และปริมาณดังกล่าวสอดคล้องกับประเทศอื่น ๆ ที่อยู่ภูมิภาคเดียวกัน เช่น เปรู [19] เนื่องจากประเทศชิลีและเปรูไม่ได้ลงนามในข้อตกลงของ IMO จึงทำให้แนวโน้มการปนเปื้อนยังมีปริมาณสูงอยู่

ตารางที่ 4 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบการสะสมในหอยแมลงภู่น้ำจืด *Perna viridis* น้ำหนักแห้ง มีหน่วยเป็น ng/g dry weight

Location	Tributyltin (TBT)	Dibutyltin (DBT)	Monobutyltin (MBT)	Σ BTs (TBT + DBT + MBT)
Chonburi	0.68±0.14	0.36±0.10	N.D.	1.04
Rayong	N.D.	5.98±3.36	N.D.	5.98
Trat	<LOQ	0.95±0.83	N.D.	0.95
Average	0.23	2.43	N.D.	2.66

N.D: below detection limit, LOQ: Limit of quantification

ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินที่ตรวจพบการสะสมในหอยแมลงภู่น้ำจืด *Perna viridis* น้ำหนักสด หน่วยเป็น ng/g wet weight

Location	Tributyltin (TBT)	Dibutyltin (DBT)	Monobutyltin (MBT)	Σ BTs (TBT + DBT + MBT)
Chonburi	0.13±0.03	0.07±0.02	0.03±0.02	0.23
Rayong	N.D.	1.10±0.62	N.D.	1.10
Trat	<LOQ	0.15±0.13	N.D.	0.15
Average	0.05	0.44	N.D.	0.49

N.D: below detection limit, LOQ: Limit of quantification

บทสรุป

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบบิวทิลทินโดยเทคนิคการสกัดแบบ solid-liquid extraction และใช้สาร Sodium tetraethylborate (NaB(Et)₄) ในการสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารประกอบทิน และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) ในครั้งนี้สามารถวิเคราะห์สารประกอบบิวทิลทินในหอยแมลงภู่น้ำจืด *Perna viridis* บริเวณชายฝั่งภาคจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด พบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.04 5.98 และ 0.95 ng/g dry weight ตามลำดับ ซึ่งเมื่อคิดเป็นหน่วยในน้ำหนักสดจะเทียบเท่ากับ 0.23 0.10 และ 0.15 ng/g wet weight ตามลำดับ แม้ว่ายังคงพบการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในสิ่งมีชีวิต แต่มีแนวโน้มการปนเปื้อนลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับการรายงานการปนเปื้อนสารประกอบบิวทิลทินในอดีต และเมื่อพิจารณาตามมาตรฐานความปลอดภัยของสารปนเปื้อนตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนพบที่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานที่ระบุไว้ นอกจากนี้ผลจากการศึกษาในครั้งนี้และในรายงานจากประเทศอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่ามาตรการที่ IMO ประกาศใช้เป็นผลทำให้การปนเปื้อนลดลงในหลายพื้นที่ทั่วโลก รวมถึงในพื้นที่ชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด อย่างไรก็ตามก็ยังสามารถพบการสะสมของสารกลุ่มนี้สูงในบางประเทศโดยเฉพาะ

ประเทศที่ไม่มีกฎหมายควบคุมการใช้สารกลุ่มนี้โดยตรง นอกจากนี้การศึกษาค้างนี้ทำการวิเคราะห์ในตัวอย่างสัตว์เท่านั้น และทำการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่สามจังหวัด ดังนั้นจึงควรมีการตรวจวัดเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่องในอนาคต โดยควรทำการตรวจวัดในมวลน้ำและในดินตะกอนเปรียบเทียบกับ ซึ่งจะทำให้เห็นแนวโน้มการปนเปื้อนได้ชัดเจนขึ้น เนื่องจากสารกลุ่มนี้เป็นสารที่มีการสะสมยาวนาน Persistent Organic Pollutants (POPs) จึงอาจมีการสะสมในสิ่งแวดล้อมได้ยาวนาน

References

- [1] Goldberg, E. D. (1986). TBT: An Environmental Dilemma. **Environment Science and Policy for Sustainable Development**. Vol. 28, Issue 8, pp. 17-44. DOI: 10.1080/00139157.1986.9928814
- [2] Bryan, G. W., Gibbs, P. E., Hummerstone, L. G., and Burt, G. R. (1986). The Decline of the Gastropod *Nucella lapillus* Around South West England: Evidence for the Effect of Tributyltin From Antifouling Paints. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**. Vol. 66, Issue 3, pp. 611-640. DOI: 10.1017/S0025315400042247
- [3] Alzieu, C. L., Sanjuan, J., Deltreil, J. P., and Borel, M. (1986). Tin Contamination in Arcachon Bay: Effects on Oyster Shell Anomalies. **Marine Pollution Bulletin**. Vol. 17, Issue 11, pp. 494-498. DOI: 10.1016/0025-326X(86)90636-3
- [4] Antizar-Ladislao, B. (2008). Environmental Levels, Toxicity and Human Exposure to Tributyltin (TBT)-Contaminated Marine Environment. **Environment International**. Vol. 34, Issue 2, pp. 292-308. DOI: 10.1016/j.envint.2007.09.005
- [5] Sidharthan, M., Young, K. S., Woul, L. H., Soon, P. K., and Shin, H. W. (2002). TBT Toxicity on the Marine Microalga *Nannochloropsis oculata*. **Marine Pollution Bulletin**. Vol. 45, Issue 1-12, pp. 177-180. DOI: 10.1016/S0025-326X(01)00283-1
- [6] Jensen, H. F., Holmer, M., and Dahllorf, I. (2004). Effects of Tributyltin (TBT) on the Seagrass *Ruppia maritima*. **Marine Pollution Bulletin**. Vol. 49, Issue 7-8, pp. 564-573. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2004.03.010
- [7] Oehlmann, J., Stroben, E., Schulte-Oehlmann, U., and Bauer, B. (1998). Imposex Development in Response to TBT Pollution in *Hinia incrassata* (Strm, 1768) (Prosobranchia, Stenoglossa). **Aquatic Toxicology**. Vol. 43, No. 4, pp. 239-260. DOI: 10.1016/S0166-445X(98)00058-7
- [8] Horiguchi, T., Kojima, M., Hamada, F., Kajikawa, A., Shiraishi, H., Morita, M., and Shimizu, M. (2006). Impact of Tributyltin and Triphenyltin on Ivory Shell (*Babylonia japonica*) Populations. **Environmental Health Perspectives**. Vol. 114, Supplement 1, pp. 13-19. DOI: 10.1289/ehp.8047
- [9] Ohji, M., Arai, and T., Miyazaki, N. (2005). Acute Toxicity of Tributyltin to the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda). **Marine Environmental Research**. Vol. 59, Issue 3, pp. 197-201. DOI: 10.1016/j.marenvres.2004.02.002
- [10] Zhang, J., Zuo, Z., Chen, Y., Zhao, Y., Hu, S., and Wang, C. (2007). Effect of Tributyltin on the Development of Ovary in Female Cuvier (*Sebastes marmoratus*). **Aquatic Toxicology**. Vol. 83, Issue 3, pp. 174-179. DOI: 10.1016/j.aquatox.2007.03.018

- [11] International Maritime Organization (IMO). (2001). **International Convention on the Control of Harmful Anti-Fouling Systems on Ships**. Access (August, 2018). Available ([http://www.imo.org/en/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/International-Convention-on-the-Control-of-Harmful-Anti-fouling-Systems-on-Ships-\(AFS\).aspx](http://www.imo.org/en/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/International-Convention-on-the-Control-of-Harmful-Anti-fouling-Systems-on-Ships-(AFS).aspx))
- [12] Cole, R. F., Mills, G. A., Parker, R., Bolam, T., Birchenough, A., Kröger, S., and Fones, G. R. (2015). Trends in the Analysis and Monitoring of Organotins in the Aquatic Environment. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**. Vol. 8, pp. 1-11. DOI: 10.1016/j.teac.2015.05.001
- [13] Choi, M., Moon, H. B., Yu, J., Eom, J. Y., and Choi, H. G. (2009). Butyltin Contamination in Industrialized Bays Associated with Intensive Marine Activities in Korea. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. Vol. 57, No. 1, pp. 77-85. DOI: 10.1007/s00244-008-9235-1
- [14] Fent, K. (1996). Ecotoxicology of Organotin Compounds. **Critical Reviews in Toxicology**. Vol. 26, Issue 1, pp. 3-117. DOI: 10.3109/10408449609089891
- [15] Champ, M. A. (2000). A Review of Organotin Regulatory Strategies, Pending Actions, Related Costs and Benefits. **Science of the Total Environment**. Vol. 258, Issue 1-2, pp. 21-71. DOI: 10.1016/S0048-9697(00)00506-4
- [16] Mattos, Y., Stotz, W. B., Romero, M. S., Bravo, M., Fillmann, G., and Castro, Í. B. (2017). Butyltin Contamination in Northern Chilean Coast: Is there a Potential Risk for Consumers. **Science of the Total Environment**. Vol. 595, pp. 209-217. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.264
- [17] Kim, T., Jeon, S., Hong, S., Song, S. J., Kwon, B. O., Ryu, J., and Khim, J. S. (2017). Spatiotemporal Distributions of Butyltin Compounds in Various Intertidal Organisms Along the Samcheok and Tongyeong Coasts of Korea. **Chemosphere**. Vol. 172, pp. 268-277. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.152
- [18] Chen, C. W., Chen, C. F., Ju, Y. R., and Dong, C. Di. (2016). Assessment of the Bioaccumulation and Biodegradation of Butyltin Compounds by *Thalamita crenata* in Kaohsiung Harbor, Taiwan. **International Biodeterioration & Biodegradation**. Vol. 113, pp. 97-104. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.02.018
- [19] Castro, Í. B., Iannaccone, J., Santos, S., and Fillmann, G. (2018). TBT is Still a Matter of Concern in Peru. **Chemosphere**. Vol. 205, pp. 253-259. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.04.097
- [20] Kan-Atireklap, S., Tanabe, S., Sanguansin, J., Tabucanon, M. S., and Hungspreugs, M. (1997). Contamination by Butyltin Compounds and Organochlorine Residues in Green Mussel (*Perna viridis*, L.) from Thailand Coastal Waters. **Environmental Pollution**. Vol. 97, Issue 1-2, pp. 79-89. DOI: 10.1016/S0269-7491(97)00070-5
- [21] Harino, H., Ohji, M., Wattayakorn, G., Arai, T., Rungsupha, S., and Miyazaki, N. (2006). Occurrence of Antifouling Biocides in Sediment and Green Mussels from Thailand. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. Vol. 51, Issue 3, pp. 400-407. DOI: 10.1007/s00244-005-0246-x

- [22] Yáñez, J., Riffo, P., Mansilla, H. D., Bravo, M., Quiroz, W., and Santander, P. (2016). Speciation Analysis of Organotin Compounds (OTCs) by a Simultaneous Hydride Generation-Liquid/Liquid Extraction and GC-MS Determination. **Microchemical Journal**. Vol. 126, pp. 460-465. DOI: 10.1016/j.microc.2016.01.002 MICROC 2387
- [23] Ministry of Public Health. (1986). **Prescribing Standards of Contaminated Substances**. No. 98
- [24] Shim, W. J., Oh, J. R., Kahng, S. H., Shim, J. H., and Lee, S. H. (1998). Accumulation of Tributyl and Triphenyltin Compounds in Pacific Oyster *Crassostrea gigas* from the Chinhae Bay System, Korea. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. Vol. 35, Issue 1, pp. 41-47. DOI: 10.1007/s002449900346
- [25] Kim, N. S., Hong, S. H., Yim, U. H., Shin, K. H., and Shim, W. J. (2014). Temporal Changes in TBT Pollution in Water, Sediment, and Oyster from Jinhae Bay After the Total Ban in South Korea. **Marine Pollution Bulletin**. Vol. 86, Issue 1-2, pp. 547-554. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2014.06.035
- [26] Batista, R. M., Castro, I. B., and Fillmann, G. (2016). Imposex and Butyltin Contamination Still Evident in Chile After TBT Global Ban. **Science of the Total Environment**. Vol. 566-567, pp. 446-453. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.039