

異臭魚発生と石油成分の食物連鎖

第 5 報

—原油経口投与ラッテに於ける有機硫黄化合物の移行—

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (指導：緒方正名教授)

三 宅 与 志 雄

(昭和53年2月15日受稿)

緒 言

石油類で汚染された海岸で捕獲された貝類の中に石油成分の抽出された例は数多く認められる。Blumer¹⁾は、マサチューセッツ州の Buzzards 湾の海岸に65万~70万lの重油が漏洩した際に、生き残った貝を分析した結果、ほとんどすべてのカキの中にパラフィン類を見い出している。次いで、Ehrhardt²⁾は油の汚染が報告されているテキサス州 Galveston 湾で採取されたカキの中に原油に由来する炭化水素として脂肪族及び芳香族炭化水素を見い出した。また、Chanmann 等³⁾は、バージニア州 Norfolk 市の海岸近辺の港から採集した貝の中に、3,4-ベンツピレンを含む多核芳香族炭化水素を見い出している。

一方、Coleman⁴⁾は原油には数多くの有機硫黄化合物が見い出されている。中村ら⁵⁾は、カキの中にdi-ベンゾチオフェンを中心とする有機硫黄化合物の存在を報告している。

私達は、原油成分であるパラフィン系炭化水素の魚類への移行を認め、更にパラフィン系炭化水素を経口投与し、ラッテへの移行についての研究を行なった。続いて、原油添加水飼育の際その成分である有機硫黄化合物の魚類への移行を認めた⁶⁾。しかしながら、原油中の有機硫黄化合物の哺乳動物への吸収実験は、まったく行なわれていない。

筆者は、硫黄化合物に高い感度を有する FPD 付ガスクロマトグラフを用いて、ラットに原油を経口投与後の有機硫黄化合物の臓器内分布を調べ、哺乳動物への移行の可能性について初めて検討を行なうことに成功したので、その成績をここに報告する。

実験方法

体重約250gのラッテに0.4g/kg量の原油をゾンデを用いて経口投与した。投与後3時間、6時間、12時間、24時間、48時間後に3匹ずつとり出し、肝臓、血液を採取し、処理した。

試料の調整：50gの試料を2N-KOH エタノールで100℃・1時間還流加熱後濾過し、100mlのn-ヘキサンで3回抽出、3回水洗後無水硫酸ナトリウムで脱水、ロータリーエバポレーターで3~5mlに濃縮した。濃縮液をアルミナ8gとシリカゲル16g'(どちらも150℃・3時間活性化後5%の水を加えたもの)の重層カラムに添加し、n-ヘキサン100mlで溶出した。溶出液をロータリーエバポレーターで1~3mlに濃縮し、ガスクロマトグラフで分析した。

ガスクロマトグラフ条件 (日立163)

充 填 剤：Silicon SE-52, 3%, mesh
60~80.

カ ラ ム：ガラスカラムφ3mm×2m

カ ラ ム 温 度：60~260℃, 10℃/min. 昇温

キ ャ リ アー ガ ス：N₂・80ml/min.

検 出 器：FPD (Filter 394nm)
FID (モニター)

注 入 量：1μl

H₂ : 80ml/min.

O₂ : 20ml/min.

実験結果

原油及び対照として原油を投与しないラット臓器のガスクロマトグラムを〔図1〕に示した。パラフィン類の一部の存在は認められるが、有機硫黄化合物はほとんど認められなかった。

ラットに原油を経口投与して、3時間、6時間、12時間、24時間、48時間後の肝臓、血液の各々の有

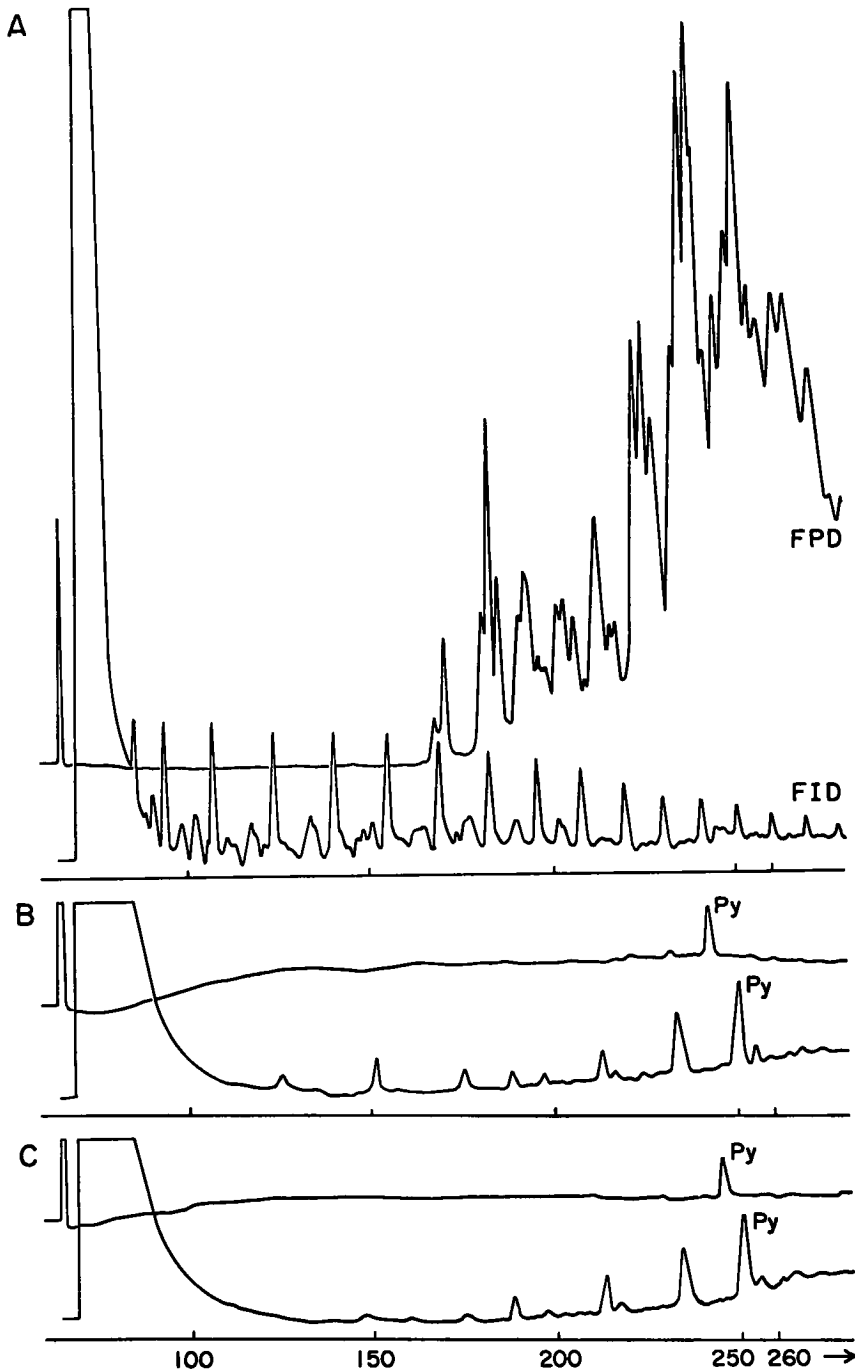


図1.
対照 (原油非投与)
ラットのガスクロ
マトグラム (SE-
52)

A ; 原油
B ; 肝臓
C ; 血液
〔感度 ; FID
1×128 (血液),
1×256 (肝臓),
FPD 10⁷×64〕
FID 1×256
FPD 10⁷×512
(原油)

Fig. 1.
Gas chromato-
gram of rat ad-
ministered with
crude oil
(coloum SE-52).

A : crude oil
B : liver
C : blood
〔Sensitivity :
FID
1×128 (blood),
1×256 (liver)
EPD 10⁷×64〕

機硫黄化合物の臓器内分布を調べた結果は、〔図2, 3〕に示すごとくである。

有機硫黄化合物は、肝臓中には3時間後において有機硫黄化合物の存在が見い出された。6時間後で

は微量が残存したのみであるが、以後その存在は認められなかった。

血液中には、3時間後及び6時間後において極微量ではあるが、肝臓中に移行した有機硫黄化合物と

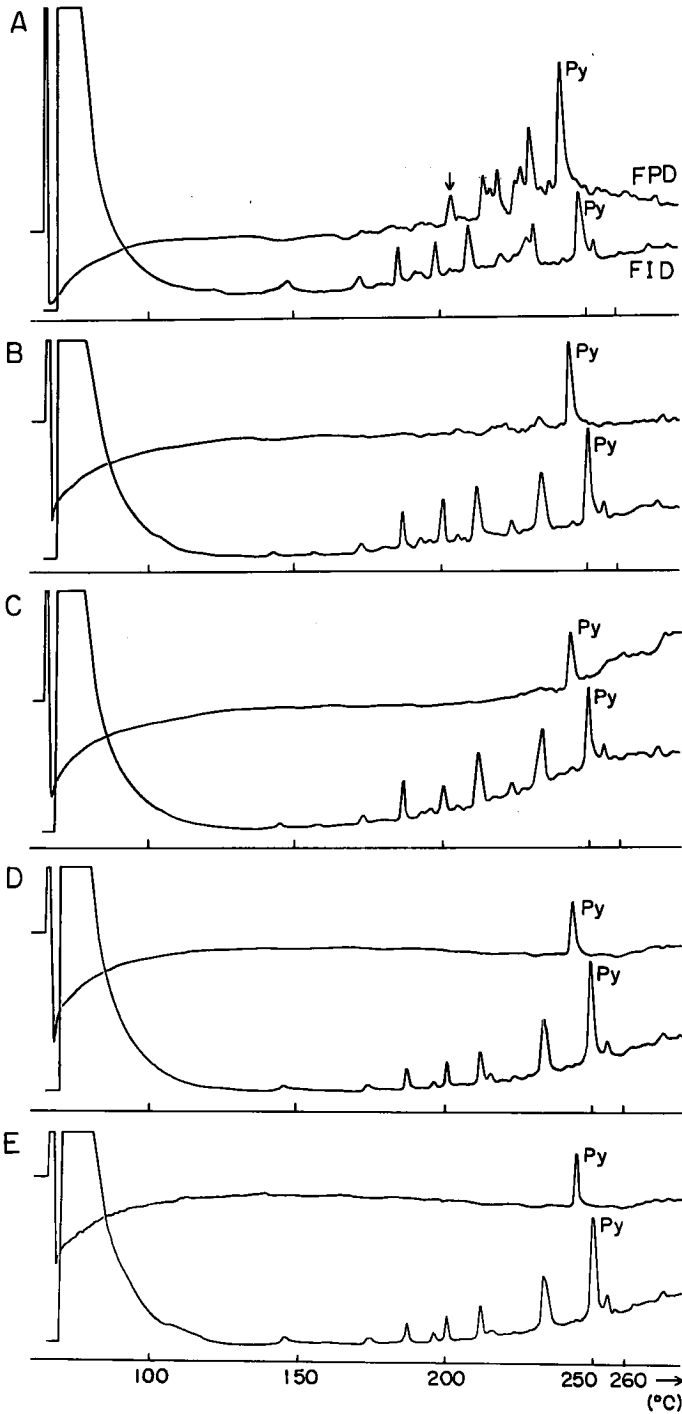


図2.
原油を経口投与したラット肝臓の
ガスクロマトグラム (SE-52)
A : 投与3時間後
B : 投与6時間後
C : 投与12時間後
D : 投与24時間後
E : 投与48時間後
(感度: FID 1×256
EPD $10^2 \times 128$)
矢印のピークは, Di-Bzth(ディ
ベンズチオフェン) のピークと
ほぼ等しい保持比をもっている。

Fig. 2.
Gas chromatogram of liver
of rat orally administered
crude oil (coloum SE-52).
A : chromatogram after 3
hrs.
B : chromatogram after 6
hrs.
C : chromatogram after 12
hrs.
D : chromatogram after 24
hrs.
E : chromatogram after 48
hrs.
(Sensitivity : FID 1×256 ,
EPD $10^2 \times 128$)

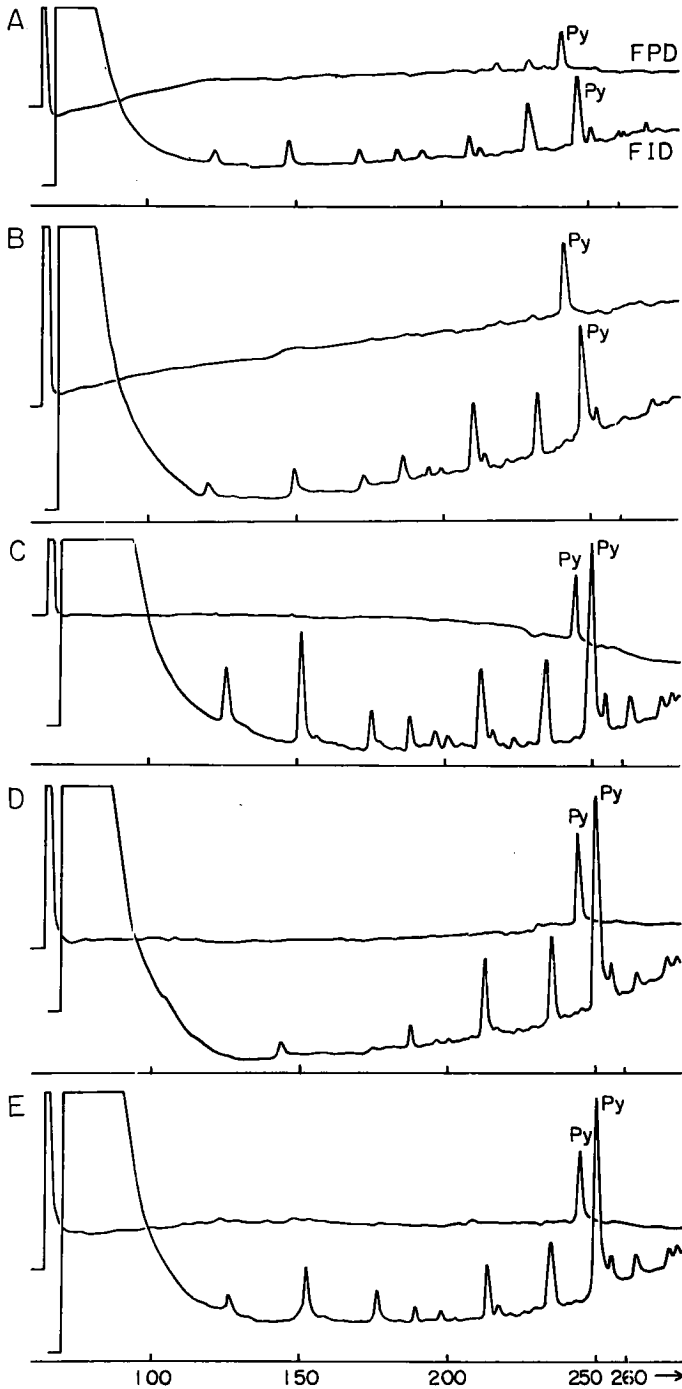


図3

原油を経口投与したラット血液の
ガスクロマトグラム (充填剤: S
E-52)

A: 投与3時間後

B: 投与6時間後

C: 投与12時間後

D: 投与24時間後

E: 投与48時間後

(感度; FID 1×128 , FPD

FPD $10^2 \times 64$)

Fig. 3.

Gas chromatogram of blood
of rat orally administered
crude oil (coloum SE-52).

A: chromatogram after 3
hrs.

B: chromatogram after 6
hrs.

C: chromatogram after 12
hrs.

D: chromatogram after 24
hrs.

E: chromatogram after 48
hrs.

(Sensitivity: FID 1×128 ,

EPD $10^2 \times 64$)

対応するピークが認められた。

パラフィン系炭化水素は、FIDではなくFIDモニターを使用したために、血液、肝臓の変化は明確にはとらえられなかった。

本実験の結果、石油の有機硫黄成分即ち、165～260℃のカラム温度で溶出する成分のうち、ラットの肝臓に移行する有機硫黄化合物は200～240℃のカラム温度で溶出する成分である事が認められた。

考 案

本実験により、原油成分を経口投与した場合、原油成分中の有機硫黄化合物が、3時間後と6時間後に肝臓に存在することが明らかになった。また、3時間後において血液中にその微量の存在が認められた。

これらの事実から、原油を経口投与した場合に、その中の有機硫黄化合物が生体内へ移行しようと推定した。

原油より貝類に移行する有機硫黄成分には、ジベンズチオフェン (di-benzothiophene)、モノベンズチオフェン (mono-benzothiophene)、ジメチルベンズチオフェン (di methyl-benzothiophene)、トリメチルベンズチオフェン (trimethyl-benzothiophene) であることが認められた⁷⁾。そして、〔図2〕の肝臓の矢印のピークがジベンズチオフェンと思われる点より、それよりさらに保持比の大きいピークは、そのメチルエステル誘導体であることが推定される。この点に関しては、今後ガスクロマトグラム・マススペクトログラムによって同定したいと考えている。しかしながら、以上の成績は、原油より貝類に移行したベンズチオフェンを含む有機硫黄化合物は、経口的に哺乳動物に移行することを確認するものである。

有機硫黄化合物の毒性について、生体膜の傷害作

用⁸⁾については、すでに報告されている。

筆者⁹⁾によって四塩化エチレンで飼育したウナギ肉ホモジネートをラットに経口投与すると、各臓器に分布する事が認められた。石油成分の有機硫黄化合物について同様の方法で実験を行なう予定である。

なお、小腸においては、有機硫黄化合物は小腸主として内容物として48時間後まで存在していた。

ガスクロマトグラフ・FPDディテクターによる有機硫黄化合物の正確かつ微量定量は、きわめて困難であるが、今後、血液及び肝臓・脂肪層に存在する有機硫黄化合物の定量的な追跡を行ないその蓄積・貯留について検討を行なう予定である。

なお、パラフィン類及び芳香族炭化水素はFPDによる有機硫黄化合物と同測定を行なうためにFIDモニターを用いた。FIDモニターの測定値は定量性が少ないため、更にイオン化検出器を用いて詳しい検討を行ないたいと考えている。

結 論

ラットに原油を経口投与し、肝臓・血液中の有機硫黄化合物をガスクロマトグラフ (FPD) を用いて分析した。

1. 肝臓においては、3時間後では明らかに存在しているが、6時間後では微量の存在が認められ、以後は消失した。

2. 血液中では、3時間後及び6時間後において微量の存在が認められた。

以上の成績の結果、原油をラットに経口投与した際に有機硫黄化合物は腸管から吸収され、体内に貯留することが推定された。

稿を終るにあたり、御懇篤な御指導・御校閲を賜った緒方正名教授に深謝致します。

文 献

- 1) Blumer M., Souza G. and Sass J. ;Hydrocarbon pollution of edible shell fish by an oil spill, *Mar. Biol.*, **5**, 195~202, 1970.
- 2) Ehrhardt M. : Petroleum hydrocarbons in oysters from Galveston bay, *Environ. Pollut.*, **3**, 257~271, 1972.
- 3) Cahnmann H. J., Kuratsune M. : Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters collected in polluted water., *Analytical Chemistry*, **29**, 1312~1317, 1976.
- 4) Coleman H. J., Dooley J. E., Hirsch D. E. and Thompson C. J. : Compositional studies of a high boiling 370~535°C distillate from Prudhoe Bay, Alaska, *Crude oil*, *Anal. Chem.*, **45**, 1724~1737, 1973.
- 5) Nakamura A., Murakami Y., Miyake H., Hori S., Maeda K. and Kashimoto T. : Studies on organic sulfur contamination of fishery product, *J. Food Hyg. Soc. Japan (in Japanese)*, **16**, 282~284, 1975.
- 6) Masana Ogata, Yoshio Miyake, Shohei Kira, et al ; Transfer to fish of petroleum paraffins and organic sulfur compounds, *Water Research*, **11**, 333~338, 1977.
- 7) 緒方正名, 山崎吉郎, 三宅与志雄 ;原油成分中, 魚類・貝類への移行成分のガスクロマトグラフ・マススペクトログラムによる同定, 文部省特定研究(1). 石油成分の海洋汚染に伴う油臭魚の発生と特にその医学的研究・昭和52年度研究発表会抄録集, 25~32, 1978.
- 8) 長谷川亨, 緒方正名 ;ベンゾチオフェン, シベンゾチオフェンのミトコンドリア膜に対する作用, *岡山医学会誌*, **90**, 1978. 印刷中
- 9) 三宅与志雄 ;原油成分の動物(ラット)への移行—四塩化エチレンの飼育ウナギよりラットへの移行—, *岡山医学会誌*, **90**, 1978. 印刷中

**Organ distribution of organic sulfur compounds in
rat after oral administration of crude oil**

Yoshio MIYAKE

Department of Public Health, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Masana Ogata)

In order to study transfer of organic sulfur compounds in crude oil from fish flesh to animals, following experiments were conducted. Crude oil was administered orally to rat and distribution of organic sulfur compounds were determined by gaschromatography (with FPD).

- 1) Organic sulfur compounds remained after 24 hours administration.
- 2) Minute concentration of organic sulfur compounds in blood were detected 3 and 6 hours after administration.
- 3) Higher concentration of organic sulfur compounds among tissue tested was observed in liver 3 hours after administration and minute concentration was remained 6 hours after administration.