

環境汚染物質（炭化水素）の生態系への影響

第 1 報

臭素系有機溶剤類の魚体への移行

岡山大学医学部公衆衛生学教室（指導：緒方正名教授）

荻野泰夫

（昭和53年8月28日受稿）

1 緒言

臭素系有機溶剤は年間1000トン以上生産されている。特に1,2-ジブromエタンは殺線虫剤、プロモホルムと1,1,2,2-テトラブromエタンは麻酔薬および化学合成の中間体の溶剤として利用されている¹⁾そして事業場からの排水等による海水の汚染が推定される。また、これらの物質は有機塩素系溶剤と同じくハロゲン化炭化水素類である。そこで、筆者らは塩素系有機溶剤の研究²⁾にひきつづき、実験的に臭素系有機溶剤が魚の中に取り込まれるか否かの検討を行った。その成績をここに報告する。

2 実験方法

2-1. 臭素系有機溶剤の魚体への移行実験

飼育水層の各臭素系溶剤の濃度は1PPm近くの液を調製して実験に使用した。飼育実験中の水層濃度の測定は2時間おきに飼育水を採取し、ECD付きガスクロマトグラフで行い、その平均濃度として1,2-ジブromエタンは 0.97 ± 0.11 PPm ($m \pm \sigma$)、プロモホルムは 0.99 ± 0.092 、テトラブromエタンは 0.98 ± 0.094 を示した。この調製水を入れた水層の水（40 l）は臭素系有機溶剤濃度の変動を少なくする目的で2時間おきに入れ換え、表面をビニールでおおい、エアレーションも僅かに行った。飼育魚はキンギョ（和金）で10時間飼育し、対照群は清水中で行い別に同様の飼育を3回くり返した。なお、測定時の試料調製は3匹混合で行った。

2-2. 臭素系有機溶剤の魚体からの消失実験

2-1.と同様に各臭素系溶剤の1PPm濃度に調製された飼育水層で和金を10時間飼育し、和金に各臭素

系溶剤を蓄積させた後、別の水槽（40 l）に移し、曝気した水道水約10l/hrで連続的に置換して飼育し、別に同様の飼育を3回くり返した。なお測定時の試料調製は3匹混合で行った。

2-3. 試料よりの抽出

飼育水は、その10mlを共栓付試験管に取り、n-ヘキサン10mlで2分間振とう抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、試験溶液とした。魚体はエチルエーテルで洗浄後、皮、内臓、頭を除去し、水洗した後解剖鏡で細切し、スライサーでミンチとした。その1gとn-ヘキサン5mlを加え、直ちに5分間振とうし、1時間浸漬した後、再び振とう抽出した。更にn-ヘキサン5mlで抽出し抽出液を合せ全量10mlとした。このn-ヘキサン溶液に氷冷下、静かに濃硫酸1mlを加え1分間振とう後、濃硫酸層は捨て、n-ヘキサン層は精製水3mlで2回洗浄し試験溶液とした。添加回収実験は魚のミンチ1gに各溶剤の0.01, 0.1, 1PPmのアルコール溶液0.2mlを加えたものと同じ方法で処理した。

2-4. ガスクロマトグラフ条件

機種：島津GC-3BME (⁶³Ni-ECD)、1,2-ジブromエタンとプロモホルムは充てん剤：15% SF-96、175cm+25% PEG-6000、25cm（いずれもクロモソルブW60/80メッシュ）、カラムの長さ：0.3cm×200cm（ガラスカラム）、温度：カラム80℃、注入口150℃、キャリアガス：N₂40ml/min、1,1,2,2-テトラブromエタンは充てん剤：15% SF-96（クロモソルブW60/80メッシュ）、カラムの長さ：0.3cm×200cm（ガラスカラム）、温度：カラム110℃、検出器200℃、キャリアガス N₂ 60ml/min。

3 実験結果

3-1. 飼育水, 和金中の臭素系有機溶剤のガスクロマトグラム

筆者らは臭化メチル, 臭化エチル, ブロムクロルメタン, プロモホルムおよび1,1,2,2-テトラブロムエタンの環境汚染調査分析法の検討を行い¹⁾ 臭化メチル, 臭化エチル, ブロムクロルメタンおよびプロモホルムの分析の充てん剤は15% SF-96, 175cm+25% PEG-6000, 25cmの併用が定量, 定性に良好な結果を得た. 1,1,2,2-テトラブロムエタンは上記物質に比べ保持時間が長く, 同じ条件では分離してこない. 従ってカラム温度を上げると1,2-ジブロムエチレンあるいはトリブロムエチレンに分解する. そこで極性の少ない15%SF-96を採用した. 以下の実験でも図1に示すように3種類の有機溶剤の分離は良好であった.

3-2. 飼育水, および和金中の溶剤濃度の測定

検出下限はフリーンアップの割合により濃縮率を高めることで下がる. 前記¹⁾の微量の環境汚染調査分析法として1,2-ジブロムエタン, プロモホルムは連続水蒸気蒸留法を行い, 1,1,2,2-テトラブロムエタンは溶媒抽出後n-ヘキサン-アセトニトリル分配, アセトニトリル層への水の添加, 濃硫酸洗浄の操作により精製した. しかし今回は試料中の濃度が高く, 濃縮割合も少なくすみ, 又飼育時間ごとに分析試料数も多い. 従って迅速, 簡便な方法が望まれた. そこで溶媒抽出後濃硫酸による洗浄操作を行って精製した. 本法の添加回収率は1,2-ジブロムエタン(95±3.4%), プロモホルム(94±3.0%), 1,1,2,2-テトラブロムエタン(97±3.1%)で良好であった. 検量線は数段階に希釈した標準溶液をガスクロマトグラフに注入し, そのピークの高さにより作製した. 試料中の濃度の算出は検量線を用い, 試験溶液を検量線作製と同じ量だけガスクロマトグラフに注入し, そのピークの高さからその濃度を読み取った. 変動係数は飼育水では2.58~10.20, [表 1-A]では1.34~21.86, [表 1-B]では1.39~19.23であった.

3-3. 魚体への移行

3-3-1. 濃縮曲線

臭素系有機溶剤の経時的な移行量は[表 1-A]に示し移行曲線を[図 2]に示す. 3種類の臭素系有機溶剤の和金に対する移行は1,2-ジブロムエタン, プロモホルムで早く, 1,1,2,2-テトラブロムエタンにおいてほぼ5時間で平衡状態に達した.

3-3-2. 濃縮率

一定濃度の臭素系有機溶剤を含む水中にある魚体が, 次第に溶剤を取り入れ外界と平衡に達した時, 魚肉の濃縮係数⁴⁾は(魚肉の溶剤濃度/水中の溶剤濃度)として表わした. 臭素系有機溶剤の濃縮係数は[図 2-A]に示した. 又濃縮係数の算出は平衡に達した後と考えられるので, 水中の溶剤濃度, および魚肉の溶剤濃度は5.8 10時間の平均値を使用した. 金魚における臭素系溶剤間の濃縮係数の差異について

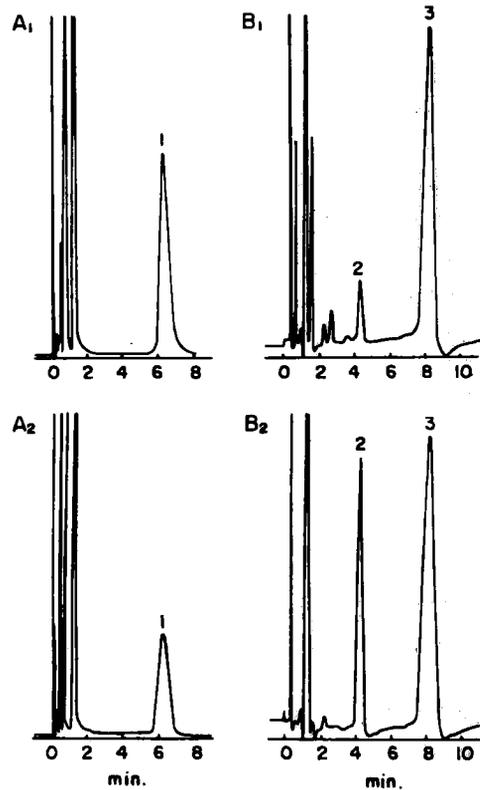


図1. 飼育水及び飼育魚肉のガスクロマトグラム

A₁・A₂: SF96, B₁・B₂: SF96+PEG6000

A₁・B₁: 和金, A₂・B₂: 飼育水

(1: 1,1,2,2-テトラブロムエタン,

2: 1,2-ジブロムエタン,

3: プロモホルム)

Gas chromatogram of brominated organic solvents in flesh of Wakkin (A) and in rearing water (B).

1; 1,1,2,2-Tetrabromoethane,

2; 1,2-Dibromoethane

3; Bromoform

て分散分析⁵⁾を行った結果を〔表2〕に示す。溶剤の濃縮係数の差異についての一元配置法による検討では、 $F_0=652, 6126$, $F_{\alpha} 0.01=5.34$ であって危険率1%で有意差が認められた。各溶剤については、プロモホルム>1.1.2.2-テトラブロムエタン>1.2-ジブロムエタンの順に濃縮係数は小さくなることが認められた。そして分散分析後の水準間の差の検定によればプロモホルムと1.2-ジブロムエタン)及び(1.1.2.2-テトラブロムエタンと1.2-ジブロムエタンの差異は5%以下の危険率で有意差が認められた。プロモホルムと1.1.2.2-テトラブロムエタンの間には有意差は認められなかった。

3-3-3 減衰曲線

人工的に汚染した金魚を清水で飼育した後の臭素系有機溶剤の経時的な残留量を〔表1-B〕に、残留曲線を〔図2-B〕に示した。喜多村⁶⁾の二段階減衰により生物学的半減期を求めるとプロモホルムと1.1.2.2-テトラブロムエタン減衰グラフは2時間まで $\log Y = -0.3766t + 0.5315$, 2時間以降 $\log Y = -0.08944t - 0.1323$ (Y: 和金の各臭素系有機溶剤の濃度, t: 時間), 1.2-ジブロムエタンの減衰グラフは $\log Y = -t - 0.1871$ が得られ、これよりプロモホ

ルムと1.1.2.2-テトラブロムエタンの2時間までは48分、2時間以降は3時間24分であり、1.2-ジブロムエタンは30分であった。1.2-ジブロムエタンについては蓄積量が少ないため1時間以降は検出下限以下になり求められなかった。高い濃度については今後検討する予定である。

4 考 察

本研究によって臭素系有機溶剤は塩素系有機溶剤と同様に魚体に速やかに移行することが認められた。それゆえに、海水がこれらの溶剤によって汚染された場合に魚に蓄積し、食物連鎖によって人体に移行する可能性があると考えられる。各溶剤による濃縮係数は前述のごとくプロモホルム>1.1.2.2-テトラブロムエタン>1.2-ジブロムエタンの順で移行しやすかった。これらの化学物質の生物濃縮を受ける度合いは吉田⁷⁾によれば物質の生体膜に対する透過性、物質の組織に対する親和性、代謝の早さ、物質の化学構造、特に化学構造についてはハロゲンで置換されているもの、又W. B. Neely等⁸⁾はn-オクタノールと水の分配係数の高いもの程強い生物濃縮を受けるとしている。しかし、これ以外に緒方⁹⁾らの物理

表1-A 臭素系有機溶剤の飼育水より飼育時間に伴う和金への移行

Relation between time (hrs.) spent in the rearing water containing brominated organic solvents and concentration ($\mu\text{g/g}$) of solvents in Wakkin.

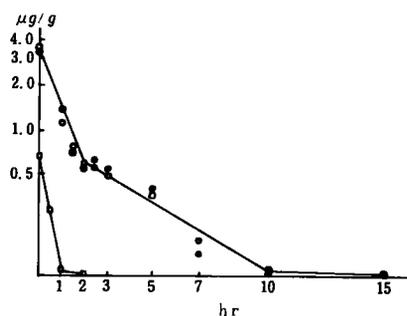
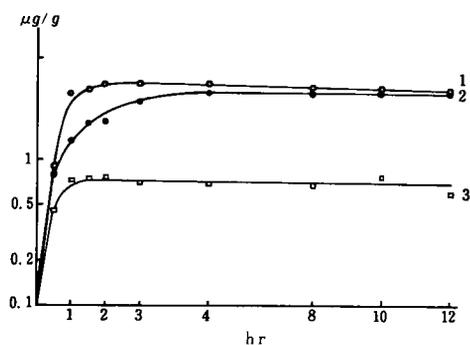
	0.5	1	1.5	2	3	5	8	10
1.2-Dibromoethane $\text{CH}_2\text{BrCH}_2\text{Br}$	0.43±0.094	0.73±0.047	0.75±0.041	0.75±0.041	0.70±0.041	0.68±0.024	0.63±0.062	0.68±0.100
Bromoform CHBr_3	0.90±0.082	2.90±0.082	3.03±0.120	3.30±0.082	3.30±0.120	3.50±0.047	3.20±0.120	3.10±0.082
1.1.2.2-Tetrabromoethane $\text{CHBr}_2\text{CHBr}_2$	0.80±0.082	1.40±0.130	1.80±0.082	1.90±0.190	2.50±0.120	2.90±0.470	2.90±0.170	2.90±0.250

表1-B 臭素系有機溶剤飼育和金の清浄水飼育後の飼育時間に伴う和金中の溶剤濃度の推移

Relation between time (hrs.) chrs spent in the clean water and concentration ($\mu\text{g/g}$) of solvents in polluted Wakkin.

	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	5	7	10	15
1.2-Dibromoethane $\text{CH}_2\text{BrCH}_2\text{Br}$	0.65 ±0.05	0.28 ±0.03	0.07 ±0.01	0.01 ±0.003	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Bromoform CHBr_3	3.60 ±0.05	2.00 ±0.05	1.10 ±0.05	0.75 ±0.05	0.58 ±0.03	0.55 ±0.05	0.48 ±0.03	0.35 ±0.05	0.14 ±0.01	0.07 ±0.01	0.02 ±0.01
1.1.2.2-Tetrabromoethane $\text{CHBr}_2\text{CHBr}_2$	3.40 ±0.15	2.10 ±0.10	1.40 ±0.15	0.70 ±0.10	0.55 ±0.05	0.63 ±0.08	0.55 ±0.05	0.39 ±0.01	0.17 ±0.02	0.10 ±0.02	0.01 ±0.01

化学的性状によると考えられる。すなわち、沸点では1.1.2.2-テトラブロムエタン 151°C>プロモホルム 150°C>1.2-ジブロムエタン 131.7°C, 水に対する溶解度では1.2-ジブロムエタン3360PPm>プロモホルム1460PPm>1.1.2.2-テトラブロムエタン40PPmであった。しかし特に和金属中の溶剤にガスクロマトグラムでトリブロムエチレンのピークが認められ、1.1.2.2-テトラブロムエタンは魚体内で代謝を受けるものと考えられ今後検討する予定である。魚体内への移行と魚体内からの消失は比例関係にあり、これらの移行しやすい溶剤は消失も早いと考えられた。



5 結 論

臭素系有機溶剤 (1.2-ジブロムエタン, プロモホルム, 1.1.2.2-テトラブロムエタン) を含む飼育水中で和金属を10時間飼育し魚肉中の溶剤濃度を測定し以下の成績を得た。

1. 和金属中の臭素系有機溶剤の濃度はいずれも飼育5時間後に平衡に達した。
2. 濃縮係数はプロモホルム>1.1.2.2-テトラブロムエタン>1.2-ジブロムエタンの順であった。
3. 生物学的半減期はプロモホルム, 1.1.2.2-テトラブロムエタンで2時間までは48分, 2時間を以降では3時間24分であった。1.2-ジブロムエタンは1時間までは30分であった。

図2 臭素系有機溶剤の飼育水より飼育時間に伴う和金属への移行曲線(A)と清浄水飼育後の減衰曲線(B), (1; ◦プロモホルム, 2: ●四臭化エタン, 3; □二臭化エタン)

Relation between time spent in the rearing water containing brominated organic solvents and concentration of solvents in wakkin (A) and time spent in clean water and concentration of solvents in polluted Wakkin (gold fish).

1 : Bromoform

2 : 1.1.2.2-Tetrabromoethane.

3 : 1.2-Dibromoethane.

表2 臭素系有機溶剤の和金属における濃縮係数の成分間の差異

Difference in concentration factor of Wakkin between each solvents.

Solvents	Mean	Difference
Bromoform : CHBr_3	3.205	(1~2) 0.25
1.1.2.2-Tetrabromoethane : $\text{CHBr}_2\text{CHBr}_2$	2.960	(2~3) 2.25
1.2-Dibromoethane : $\text{CH}_2\text{BrCH}_2\text{Br}$	0.714	(1~3) 2.49

文 献

- 1) 田部一郎：化学便覧（基礎編），丸善，東京，1975.
- 2) 緒方正名，荻野泰夫：塩素系有機溶剤類の魚体への移行，日本公衆衛生学雑誌，24：695-699，1977.
- 3) 斉藤直己，荻野泰夫，片山靖夫，松永和義，長尾万治，石田立夫：環境試料中の臭素系脂肪族炭化水素の分析法について，公害と対策，14：316-320，1978.
- 4) 市川龍資，江上信雄：放射能と魚類（第1版），恒星社厚生閣版，東京，1973.
- 5) 福井三郎：推計入門演習（第11刷），産業図書版，東京，1975.
- 6) 喜多村正次：蓄積性からみた慢性毒性について，食品衛生研究，23：9571-9599，1975.
- 7) 吉田多摩夫：生物濃縮と蓄積，食品衛生学雑誌，16：345-351，1975.
- 8) W. B. Neely, D. Branson and G. E. Blau: Partition Coefficient to Measure Bioconcentration of Organic Chemicals in fish, Environ. Sci. Technol., 8：1113-1115, 1974.

Intake of brominated hydrocarbons in gold fish**Yasuo OGINO**

Dept. of Public Health, Okayama Univ. Med. School

(Director : Prof. Masana Ogata)

Transfer to gold fish of brominated hydrocarbons (1-2-dibromoethane, bromoform, 1-1-2-2-tetrabromoethane) from rearing water was examined. The concentration of brominated hydrocarbons in fish flesh reached the first steady state 5 hours after fish were placed in rearing water. The concentration factors (cont. in gold fish/cont. in rearing water at steady state) of brominated hydrocarbons for gold fish were in the decreasing order of : bromoform 1-1-2-2-tetrabromoethane 1-2-dibromoethane.