

# 食餌試料を通したダイオキシン類(PCDDs, PCDFs)の 魚体への蓄積(筋肉及び内臓)

中牟田啓子<sup>1</sup>・福嶋かおる<sup>1</sup>・松原英隆<sup>1</sup>

## Accumulation of PCDDs/PCDFs via FOOD to Fish (muscles and internals)

Keiko NAKAMUTA, Kaoru FUKUSHIMA  
and Hidetaka MATUBARA

### 要 旨

ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs)の種類による魚類への蓄積性の違いを明らかにするためフライアッシュより抽出したダイオキシン類を食餌試料を通して鯉に与え、鯉の筋肉及び内臓に蓄積するダイオキシン類について調べた。その結果、毒性等価係数(TEF)の定められていないダイオキシン類は TEF の定められているダイオキシン類に比べて代謝されやすいこと、TEF の大きなダイオキシン類程鯉の体内に蓄積しやすいことがわかった。

**Key Words:** ダイオキシン類 PCDDs/PCDFs, フライアッシュ Fly Ash, 鯉 Carp, 蓄積 Accumulation, 高分解能-ガスクロマトグラフィ-マスマススペクトロメトリー HR-GC/MS

### I はじめに

ダイオキシン類の中には低濃度でも強い毒性を示すものがあり、また、最近では、内分泌攪乱作用の疑いも議論されている。

ダイオキシン類の環境中の濃度は非常に低濃度であり、野生生物や人体への影響は明確には分かっていないが、ダイオキシン類は非常に安定な化合物であり、脂溶性であるため、生物への蓄積性が毒性と大きく関わっていると考えられる。生物の中で最も高濃度にダイオキシン類を蓄積しているものの一つが魚類であるが、魚類へのダイオキシン類の蓄積は、魚類への影響と同時に魚類を食物として摂取する人へも影響することになる。とくに、日本人は魚介類の摂取量が多く、魚類への蓄積性の解明とその管理が重要となる。

Kuehl らはフライアッシュを水中に投入してコイを飼育したところ毒性等価係数が定められている

PCDDs/PCDFs が特異的にコイに蓄積することを報告している<sup>1, 2)</sup>。ただし、この場合には PCDDs/PCDFs は鯉から取り込まれるため摂取量と体内蓄積量に関する定量的な検討はなされていない。本研究では、ダイオキシン類の種類による魚類への蓄積性の違いを明らかにするため、多くのダイオキシン類を含んでいるといわれる都市ごみ焼却施設フライアッシュから抽出した PCDDs/PCDFs を含む餌を直接コイに与え、フライアッシュ抽出液中の PCDDs/PCDFs がどのような割合で魚体内に移行蓄積するかについて調べた。

### II 実験方法

#### 2.1, ダイオキシン類のコイへの投与

ダイオキシン類は、100 g のフライアッシュを塩酸処理した後トルエンでソックスレー抽出し、この抽出液はダイオキシン分析の前処理と同じ操作で精製した。溶媒をほとんど留去した後、0.5 ml のエタノール溶液とし、この溶液 5  $\mu$ l をマイクロシリンジを用いて、浮上性粒状食餌試料( $\phi$  3~4 mm)に1個ずつ注入し、ダイオ

1. 福岡市保健環境研究所 環境科学課

Table 1 Characteristics of the carps in experiments

Sample	Body(cm) length	Body(g) weight	Weight of(g) muscles	Weight of(g) internals
Cont	13.0	57.9	24.8	6.6
Cont	13.0	60.1	24.2	8.7
Test carp1	12.5	59.8	27.0	4.5
Test carp2	12.5	58.8	25.8	4.9
Test carp3	13.0	58.7	21.0	7.5
Test carp4	12.0	47.6	20.2	5.8

キシソ類添加試料を調製した。

実験には6尾のコイを用い、そのうちの4尾にダイオキシソ類添加試料を与え、2尾にはコントロールとしてダイオキシソ類を含まない餌を与えた。Table 1に実験に用いたコイの特徴を示す。コイは、曝露群とコントロール群をそれぞれろ過器とエアレーション装置を装着した容量150Lの2つの水槽で飼育したが、ダイオキシソ類を与える時は4尾のコイそれぞれを個別に20Lの水槽に隔離し、1日に1回、1匹のコイに対して2個のダイオキシソ添加試料を与えた。コイがダイオキシソ添加試料を摂餌したことを確認した後、150Lの水槽にもどした。4尾のコイにはダイオキシソ添加試料を5日間連続して与え、その後は通常の餌のみを与えた。ダイオキシソ類の投与を停止してから1週間経過後、ダイオキシソ類を与えたコイ4尾とコントロールのコイ2尾を処理し、体長と体重を測定した後に筋肉及び内臓を採取し、分析試料とした。

## 2.2. ダイオキシソ類の分析

コイの筋肉あるいは内臓に50mlの水を加え、10分間ホモジナイズしてスラリー状の試料とした。スラリー状の試料は、精製水50mlで容器の壁を洗いながら300ml容量の三角フラスコに移した。これに10N水酸化カリウム溶液20ml、メタノール80mlおよび100 $\mu$ lの内部標準混合溶液を添加し十分に攪拌し一夜静置した。内部標準溶液としては、 $^{13}$ Cでラベルされた17種類のTEFの定められたPCDDs/PCDFsを用い、4~7塩素置換体については5 $\mu$ g/l、8塩素置換体については10 $\mu$ g/lのトルエン溶液とした。

Table 2 Conditions of gas chromatography for PCDDs/PCDFs analysis

Target compounds	PCDDs and PCDFs having four to six chlorines
Column name	SP-2331, 0.32 mm i.d. $\times$ 60 m, 0.2 $\mu$ m of film thickness
Column temperature	100 $^{\circ}$ C, 1.5min.-(20 $^{\circ}$ C/min.)-180 $^{\circ}$ C-(3 $^{\circ}$ C/min.)-260 $^{\circ}$ C, 25min.
Target compounds	PCDDs and PCDFs having seven and eight chlorines
Column name	DB-17, 0.32 mm i.d. $\times$ 30 m, 0.15 $\mu$ m of film thickness
Column temperature	100 $^{\circ}$ C, 2.0min.-(20 $^{\circ}$ C/min.)-200 $^{\circ}$ C-(5 $^{\circ}$ C/min.)-280 $^{\circ}$ C, 2.0min.

スラリーは50mlのヘキサンで10分間振とう抽出を3回行った。ヘキサン抽出液を合わせ、100mlの2%塩化ナトリウム溶液で緩やかに回しながら3回洗浄した。エマルジョンを多量に含むヘキサン抽出液は-20 $^{\circ}$ Cの冷凍庫に一夜静置した後、ヘキサン層を分離した。氷層は溶解させた後、10mlのヘキサンを加えて緩やかに回しながら氷に取り込まれていたヘキサン抽出液を回収した。3回繰り返すことによってヘキサンを完全に回収した。ヘキサン抽出液を併せて10gの硫酸ナトリウム(無水物)で脱水した後、ロータリーエバポレーターを用い、40 $^{\circ}$ C以下で20mlまで濃縮した。以下、常法<sup>3)</sup>に従って、硫酸処理、シリカゲルカラムクリーンアップ、アルミナカラム分画を行った。試料は、最終的に20 $\mu$ lのノナン溶液として高分解能GC/MSで定量した。PCDFs/PCDDsの分析条件をTable 2に示す。分離定量分析はTEFが定められている2,3,7,8塩素置換PCDFs/PCDDs異性体についてのみ行った。

## III 結果及び考察

フライアッシュから抽出したPCDFs/PCDDsの高分解能GC/MSクロマトグラムをFig. 1に、PCDFs/PCDDsを与えたコイの筋肉に含まれるPCDFs/PCDDsの高分解能GC/MSクロマトグラムをFig. 2に示す。2つのクロマトグラムを比較すると、フライアッシュを与えたコイの筋肉のクロマトグラムにはTEFが定められたPCDFs/PCDDsのピーク(黒塗りで示す)が相対的に非常に大きく検出され、その他のPCDFs/PCDDsのピークは小さいことが分かる。例えば、4塩素化のT<sub>1</sub>CDD類のクロマトグラムで最も強い毒性を有する2,3,7,8-T<sub>1</sub>CDDは、フライアッシュ抽出液のクロマトグラム(Fig. 1)では、比較的小さなピークとして検出されたが、ダイオキシソ抽出液を与えたコイの筋肉のクロマトグラム(Fig. 2)では、最も大きなピークとして検出され、その他の2,3,7,8-T<sub>1</sub>CDDのピークはほとんど検出されなかった。また、コイの内臓に含まれるPCDFs/PCDDsの分析結果も同様の傾向を示し、TEFが定められたPCDFs/PCDDsのピークが大きく検出された。

このように、TEF が定められていない 2,3,7,8 置換体以外の PCDDs/PCDFs が魚体に蓄積しにくいのは、Sijm らが報告<sup>4)</sup>しているようにこれらの PCDDs/PCDFs が代謝されやすいためと推察される。

コイに投与したダイオキシン類のうち、どの程度が筋肉または内臓に蓄積したかを相対蓄積率 (RAR) として求めた結果を Table 3 に示す。

ここで相対蓄積率 (Relative Accumulation Ratio : RAR) とは (1) 式で定義した値である。

$$RAR = 100A / F \text{ --- (1)}$$

ただし、A は 4 尾のコイの筋肉又は内臓に含まれる各 PCDDs/PCDFs の異性体の量の平均値、F はコイ 1 尾当たり与えた各 PCDDs/PCDFs の異性体の量である。

TEF が定められている PCDDs/PCDFs について TEF と RAR との関係をみてみると、筋肉については、魚類に対する TEF が最も大きい 1.0 の 2,3,7,8-T<sub>4</sub>CDD と 1,2,3,7,8-P<sub>5</sub>CDD では、RAR がそれぞれ 6.8 %、7.2 %、次に大きい TEF が 0.5 の 2,3,4,7,8-P<sub>5</sub>CDF の RAR は 5.6 % と毒性の強い PCDFs/PCDFs は高い値を示した。一方、TEF が最も小さい 0.0001 の O<sub>8</sub>CDD および O<sub>8</sub>CDF の RAR はそれぞれ 0.057 %、0.047 %、また、次に TEF が小さい 0.01 の 1,2,3,4,6,7,8-H<sub>7</sub>CDD、1,2,3,4,6,7,8-H<sub>7</sub>CDF、1,2,3,4,7,8,9-H<sub>7</sub>CDF の RAR はそれぞれ 0.25 %、0.34 %、0.33 % と低いを示した。

このように、TEF が定められた 7 および 8 塩素置換体の RAR が低いのは、Opperhuizen らが報告<sup>5)</sup>しているように、これらの分子半径が大きく、消化管の細胞膜を通過し難いためと推察される。

内臓についてみてみると、PCDDs のうち 7 及び 8 塩素置換体の RAR は小さかったが、これは、これらの分子半径が大きく腸の吸収膜を通過しにくいと考えられる。4~6 塩素置換体については同程度様の RAR であることから、同様の割合で吸収膜を通過するものと考えられる。

PCDFs については、吸収膜の通過性については PCDDs と同程度以上だと推察されるが、RAR が小さいことから、これらの化合物は酵素分解を受けやすいものと考えられる。

内臓と筋肉中に蓄積された PCDDs/PCDFs の合計値を見てみると魚に対する TEF が 0.5 以上のものについては、2,3,7,8-T<sub>4</sub>CDD 10%、1,2,3,7,8-P<sub>5</sub>CDD 12%、1,2,3,4,7,8-H<sub>6</sub>CDD 11%、2,3,4,7,8-P<sub>5</sub>CDF 9.2% といずれも高い値を示した。

#### IV まとめ

餌を通して 1 日 1 回 5 日間連続してフライアッシュ抽出液中のダイオキシン類を 4 尾のコイに与え、その後 1 週間通常の餌に戻した後、コイの筋肉及び内臓に含まれる PCDDs/PCDFs を分析して各種 PCDDs/PCDFs の蓄積性を調べた結果、以下のことが明らかとなった。

(1) 毒性等価係数 TEF の定められていない PCDDs/PCDFs は TEF の定められている 2,3,7,8 塩素置換 PCDDs/PCDFs に比べて代謝されやすく蓄積しにくいことが分かった。

(2) 2,3,7,8 塩素置換 PCDDs/PCDFs については、TEF の大きな、毒性が強い異性体ほどコイの体内に蓄積しや

Table 3 Relative accumulation ratio RAR of each isomer of PCDDs/PCDFs

Isomer of PCDDs/Fs	Total amount fed to carp (pg)	Mean accumulated amounts		RAR		M+I	WHO TEF for mammalian	WHO TEF for fish
		muscles (pg)	internals (pg)	muscles(M) (%)	internals(I) (%)			
2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDD	941	63.8	32.6	6.8	3.5	10	1	1
1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDD	1980	142	102	7.2	5.1	12	1	1
1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDD	1700	71.5	109	4.2	6.4	11	0.1	0.5
1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDD	6660	199	334	3.0	5.0	8.0	0.1	0.01
1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDD	3600	59.5	175	1.7	4.9	6.5	0.1	0.01
1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDD	108000	269	1480	0.25	1.4	1.6	0.01	0.001
1,2,3,4,6,7,8,9-O <sub>8</sub> CDD	216000	123	1290	0.057	0.60	0.7	0.0001	-
2,3,7,8-T <sub>4</sub> CDF	4690	120	34.3	2.6	0.73	3.3	0.1	0.05
1,2,3,7,8-P <sub>5</sub> CDF	7440	262	105	3.5	1.4	4.9	0.05	0.05
2,3,4,7,8-P <sub>5</sub> CDF	5350	300	190	5.6	4	9.2	0.5	0.5
1,2,3,4,7,8-H <sub>6</sub> CDF	8880	152	183	1.7	2.1	3.8	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	15200	159	175	1.0	1.2	2.2	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-H <sub>6</sub> CDF	2240	19.6	21.4	0.88	0.96	1.8	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8-H <sub>6</sub> CDF	8800	162	202	1.8	2.3	4.1	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-H <sub>7</sub> CDF	27000	92.0	263	0.34	0.97	1.3	0.01	0.01
1,2,3,4,7,8,9-H <sub>7</sub> CDF	4790	15.7	52.0	0.33	1.1	1.4	0.01	0.01
1,2,3,4,6,7,8,9-O <sub>8</sub> CDF	15700	7.4	38.7	0.047	0.25	0.3	0.0001	0.0001

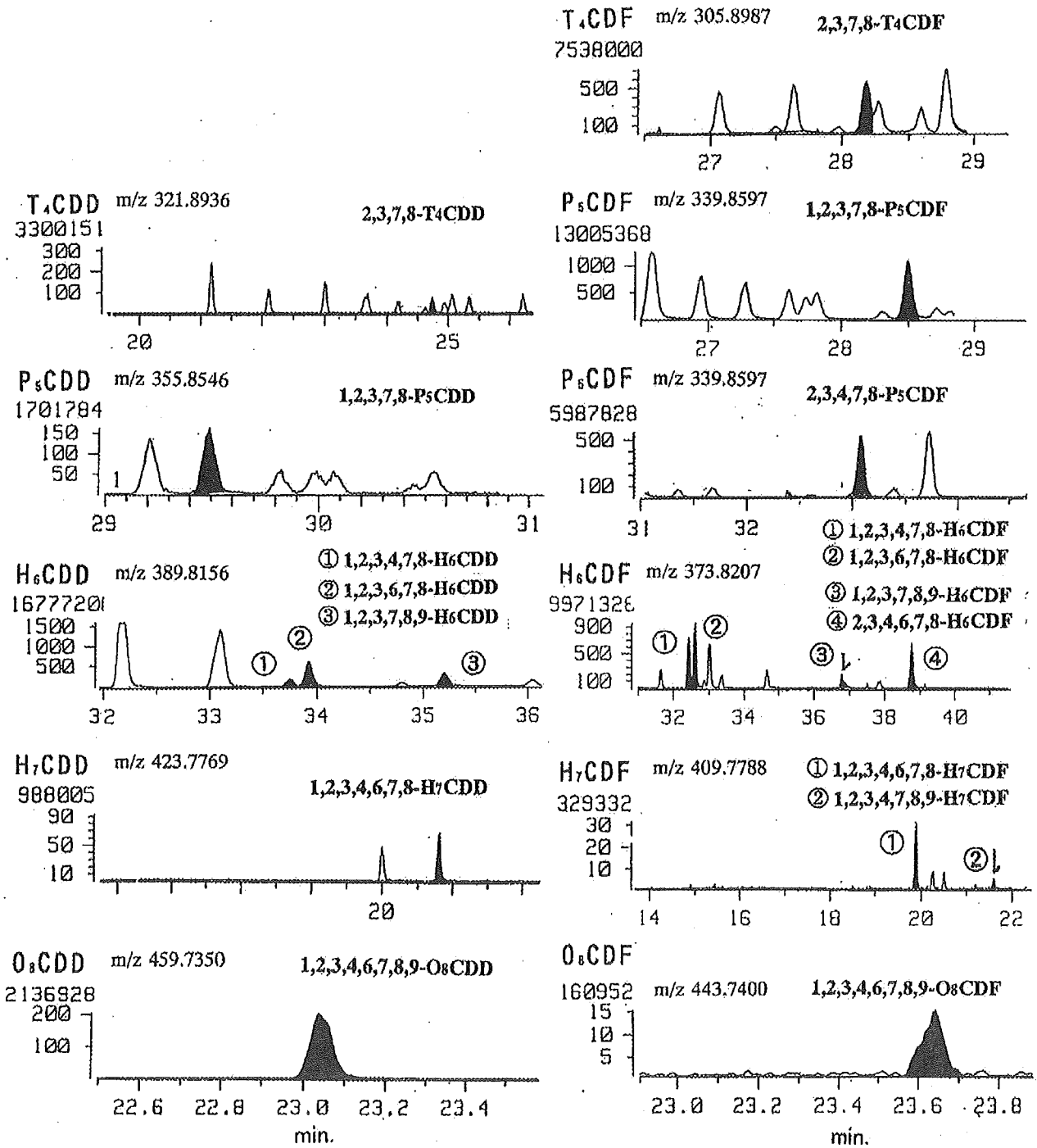


Fig.1 HR-GC/MS chromatograms of PCDDs/Fs extracted from the fly ash.

すいことがわかった。

今回内臓は、いろいろな臓器を同時に処理したものである。今後は筋肉及び各臓器ごとの蓄積量の経時変化等を検討していくつもりである。

文 献

1) Kuehl D.W., Cook P.M., Batterman A.R. and Lothenbach D.B. (1985) Bioavailability of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin from municipal incinerator fly ash to freshwater fish, *Chemosphere*, **14**, 427-437.  
 2) Kuehl D.W., Cook P. M., Batterman A.R. and Butterworth B.C. (1987) Isomer dependent bioavailability of

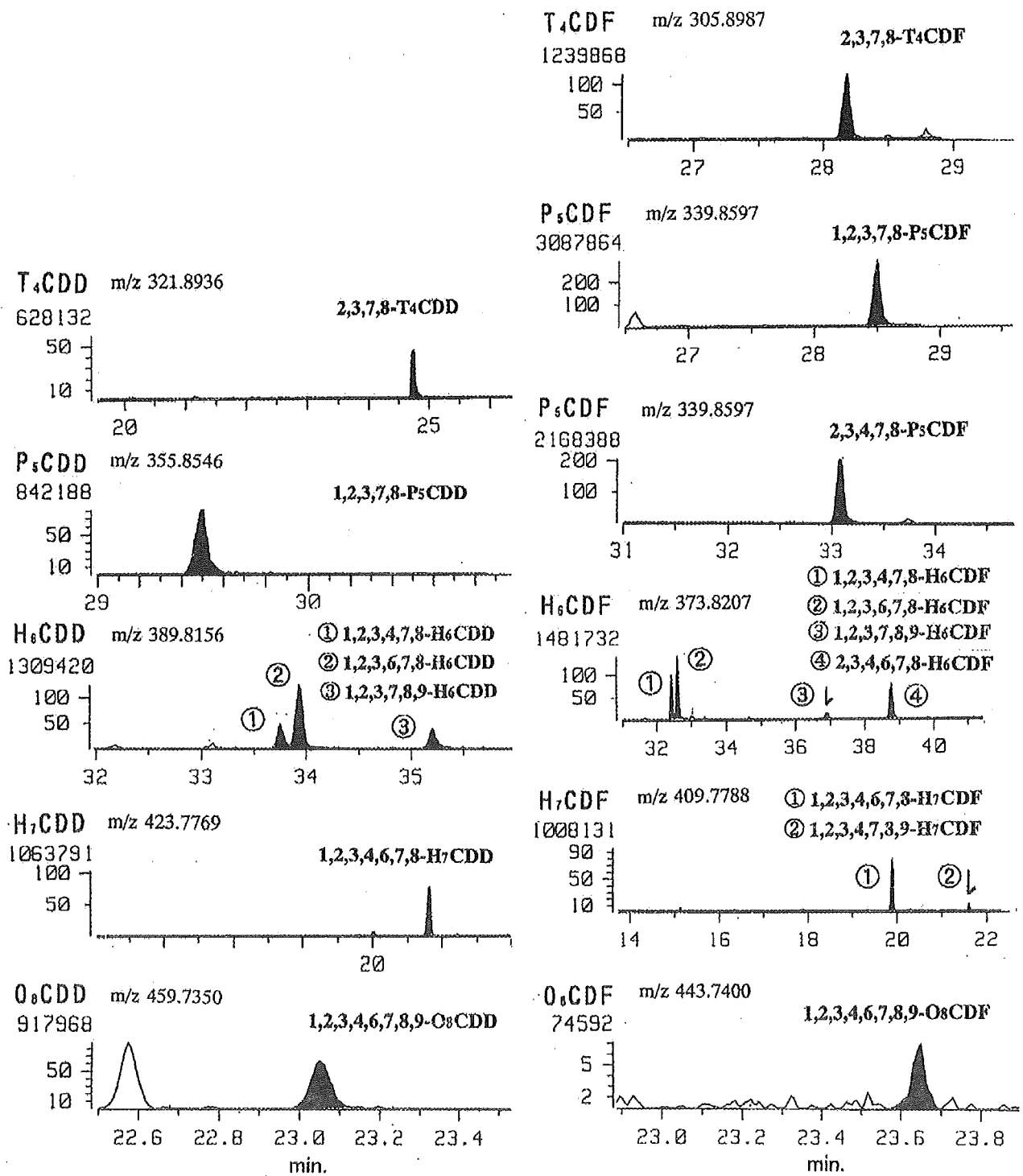


Fig.2 HR-GC/MS chromatograms of PCDDs/Fs extracted from the edible part of carp 1.

polychlorinated dibenzo-p-dioxines and dibenzofurans from municipal incinerator fly ash to carp, *Chemosphere*, **16**, 657-666)

3) ダイオキシン類に係わる底質調査暫定マニュアル, 平成 10 年 7 月, 環境庁水質保全局水質管理課

4) Sijm D. T. H. M., Wever H. and Opperhuizen A. (1993) Congener-specific biotransformation and bioaccumulation of

PCDDs and PCDFs from fly ash in fish, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **12**, 1895-1907.

5) Opperhuizen A., Veide E. W. V. D., Gobas F. A. P. C., Liem D. A. K. and Steen J. M. D. V. D. (1985) Relationship between bioconcentration in fish and steric factors of hydrophobic chemicals, *Chemosphere*, **14**, 1871-1896.