

油濁汚染に関する研究—Ⅲ

魚類着臭に関する水槽実験について

柿野 純・高橋哲夫

これまでの報告^{1~7)}等では、水中に石油系物質が懸濁ないしは溶解しておれば、魚類は多少ともそれを体内へ取り込むと考えて差し支えない。

緒方等⁶⁾は瀬戸内海において魚類からトルエン（芳香族炭化水素）を検出しており、さらに一連の水槽実験^{6, 7)}によって、石油汚染魚、または異臭魚の指標物質として、飽和炭化水素、芳香族炭化水素、イオウ化合物をあげている。

本報告では、緒方等の知見を加味しながらメジナを使用して2つの水槽実験を行ない、若干の知見を得たので、それぞれ実験Ⅰ、実験Ⅱとして報告する。

実験Ⅰ 原油によるメジナの着臭および脱臭

メジナの飼育水槽に原油を添加して、着臭時間、および脱臭時間を調べ、同時にメジナ体内へ原油中の飽和炭化水素が移行する状態をガスクロマトグラフで調べた。

試験方法

1) 飼育法

FRP水槽(900ℓ)を用いて、あらかじめ順致したメジナ40尾(体長9~15cm, 体重30~100g)を入れ、流水式にて飼育した。この水槽に原油(Alabian light crude oil)を0.5 ml/minで連続して滴下した。これによって水槽中の原油濃度は約100ppmとなる。この水槽中のメジナを毎日2尾ずつ取り上げ、食味試験を行ない、食味不能な程の着臭をするに至った時点で原油添加を停止し、清浄な海水のみを流して脱臭試験にきり換え、以後2~7日間隔で供試魚を取り上げた。

2) 分析方法

食味試験方法：取り上げたメジナの食味試験は即日出来る場合は即日に、その出来ない時はビニール袋に入れて-20℃に凍結し、適時に行なった。供試魚は頭部を取りさり、三枚に卸して、可食部の片側を食味試験用、他の片側をガスクロマトグラフ分析法とし

た。異臭度の判定法としては三重県で行なわれた方法¹⁾に準ずる方法(表1)と水質汚濁調査指針⁸⁾に基づく反応率を求める方法とを併用した。

表1 供試魚の異臭度判定法と反応率の点数

食味試験者による判定法Ⅳ~Ⅰ	反応率点数
Ⅳ 口の中に入れなくとも油臭が感じられる	1
Ⅲ 食べると油臭が感じられる	1
Ⅱ 油臭があるかどうかわからない	0.5
Ⅰ 油臭はない	0

供試魚の異臭度判定法

++	食味試験者全員がⅢ, Ⅳと判定
+	〃 の過半数がⅢ, Ⅳと判定
±	〃 の1人以上半数未満がⅢ, Ⅳと判定
-	〃 全員がⅠ, Ⅱと判定

ガスクロマトグラフによる分析法：メジナ可食部について原油中の飽和炭化水素の検出を目的としてHead Space Vapor 法²⁾と溶媒抽出法を用い、後に一部試料について水蒸気蒸留法を用いた。

結 果

1) 着臭、脱臭の食味試験結果

原油添加開始30時間後であきらかに着臭が認められ、さらに10日後には食味不能な程の着臭を呈した。その後原油の添加をやめ、35日目に着臭なしの判定を得た(図1)。

2) ガスクロマトグラフによる分析結果

前記のHead Space Vapor 法、溶媒抽出法ともに着臭メジナ可食部から原油によると思われるピークを検出出来なかった。そこで原油添加停止後4日目の未分析試料を用いて、可食部の半身、頭部、骨、内臓をま

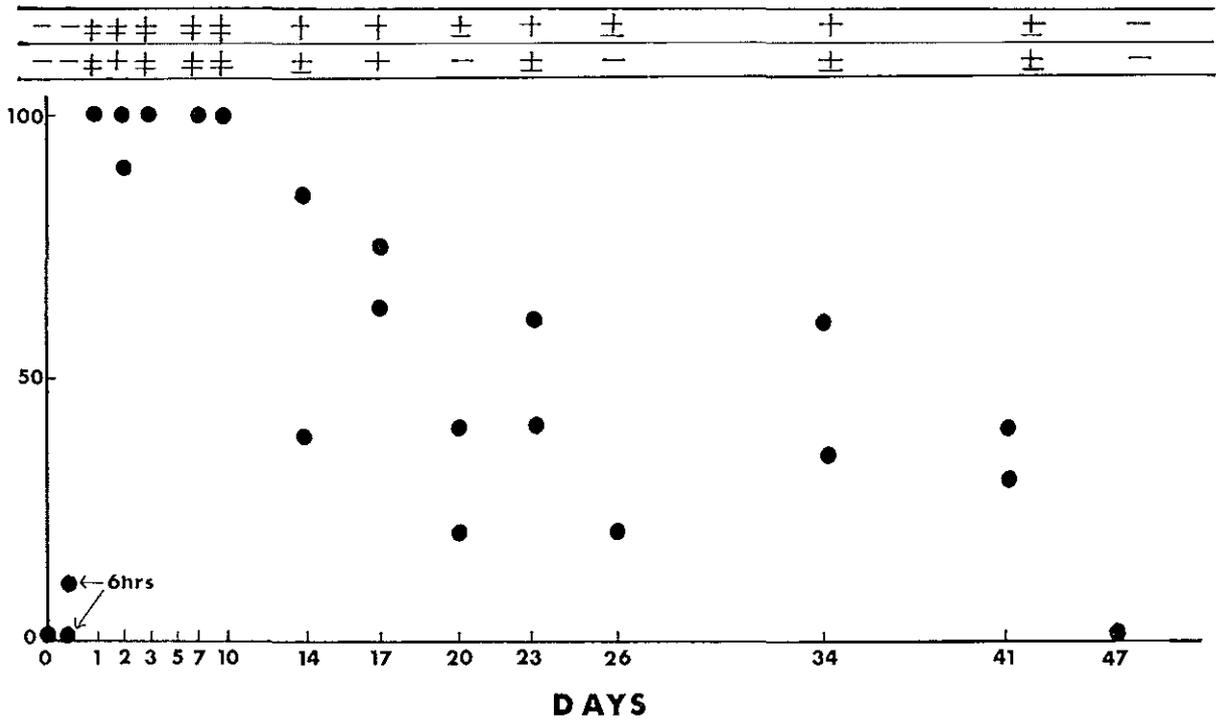


図1 食味試験による異臭度の変化(上段は三重県に準じた方法による判定、下段は反応率の変化)

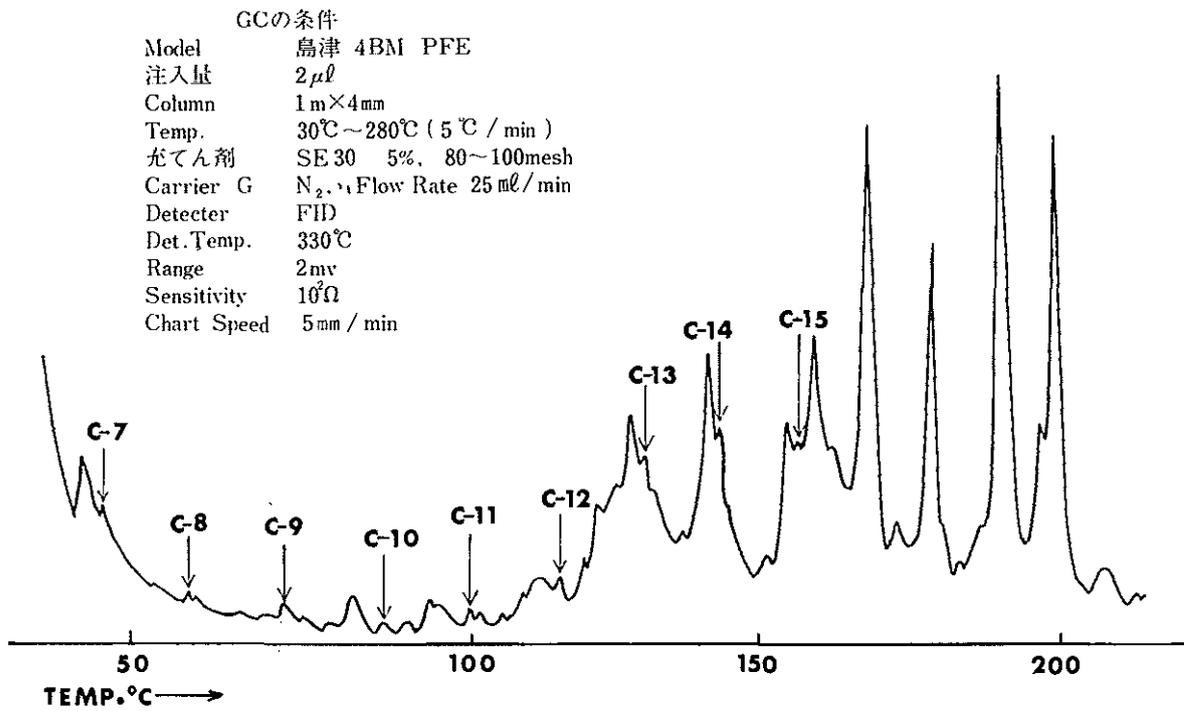


図2 着臭メジナの水蒸気蒸留、留出物、石油エーテル抽出物質

とめてホモジナイズし、それをあらかじめ石油エーテル20mlを加えて硫酸酸性下で水蒸気蒸留し、エーテルともに約400mlの留出液を得た。これとは別に清浄な海水中で飼育したメジナを同様処理し、この両者のエーテル可溶分を酸、アルカリで十分に洗浄してガスクロマトグラフ分析用試料とした。この結果、清浄な海水で飼育したメジナにはないピークを検出し、また飽和炭化水素系列によると思われるピークがあらわれた(図2)。

考 察

原油による着臭までの時間は本実験では、ほぼ5～6時間と推定され、ついで食味不能な程の着臭をするに至るが、その後清浄な海水中で飼育しても35日目まで食味試験の反応率は0とならない。三重県の方法に準じた食味試験法から、おおむね着臭後13日目(約2週間)までは(+)又は(±)で食味不能、それ以後35日目(約1ヶ月)までは(±)又は(-)で一部のものは食味不能、それ以後しだいに(-)になっていくと思われる。

ガスクロマトグラフによる分析結果では飽和炭化水素のピークは小さく、それ以外にも様々のピークが検出されたことから、本実験における着臭物質は様々のものと思われた。

実験Ⅱ イオウ化合物のメジナへの取り込みと油処理剤の影響

魚類着臭物質は鉱油の様々の物質にわたっていることが知られている。これらの鉱油類の中では、特に臭気の強いものは、イオウ化合物、芳香族化合物等である。本実験ではメジナを入れた水槽へイオウ化合物として硫化ジブチルを添加し、別の水槽区にさらに油処理剤(シーグリーン805、松本油脂製)を追添加して、その取り込みに関する相剋作用を調べた。

試験方法

1) 飼育法および実験区の設定

あらかじめ60ℓ容のガラス水槽を用いてメジナを10尾ずつ入れ、流水下で順致した。このメジナを用いて以下に記す2区を設けた。

1区 硫化ジブチル50ppm ($\frac{1}{2}$ %)

2区 硫化ジブチル50ppm ($\frac{1}{2}$ %) + 油処理剤50ppm ($\frac{1}{2}$ %)

硫化ジブチル、油処理剤を入れた後は止水式としてエアレイションを行ない、48時間後に実験を終了した。水槽中の各物質を調べるために、採水を3、12、24、

48時間後に各区とも200mlずつ行なった。また、メジナは4、8、12、24、48時間後に各区とも2尾ずつ取り上げ、体長、体重を測定し、頭部および内臓をとりさり、可食部、骨、皮を全てまとめてホモジナイズして供試料とした。

2) 分析法

試水の分析法：採水した200mlの水は500ml容のスリ合わせ蒸留フラスコに入れ、この中に再蒸留したn-ペンタン30mlをさらに加えてよく攪拌後、水蒸気蒸留を行なった。これを直接分液ロートに受け、よく振とう後静置して水槽を捨て、n-ペンタンを無水硫酸ナトリウムで脱水し、活性アルミナカラム層に通して後、0.2～5mlに濃縮してガスクロマトグラフ用試料とした。

メジナの分析法：1)の項目で述べたホモジナイズしたメジナを500mlの蒸留フラスコに入れ、さらに蒸留水50ml、n-ペンタン30mlを加えて、試水の分析法と同様に処理して、ガスクロマトグラフ用試料とした。

硫化ジブチルの分析法：硫化ジブチルの定量は内部標準法で行なった。n-エイコサン(C-20)を内部標準物質に選び、供試料のn-ペンタン液に0.1%になるように添加した。これとは別に硫化ジブチルの0.01～1% n-ペンタン液を調製し、この溶液にn-エイコサンを0.1%になるように添加して、この両者のガスクロマトグラムをインテグレータ(島津ITG-3B)によって測定して検量線(図3)を作成し、これから供試料中の硫化ジブチル濃度を算出した。

また水中、メジナ可食部、油処理剤ともに同様処理したn-ペンタン溶液中にはガスクロマトグラム中に硫化ジブチルのピーク保持時間に妨害ピークは存在しなかった(図4、5)。

結 果

1) 飼育状態および水槽中の添加物の状態

1区では添加した硫化ジブチルが水中に完全に溶解せず、3～4時間の間、水表面に浮遊していたが、その後揮散した。メジナは外観的に異常が認められず、飼育水も濁らなかつた。2区では、添加した油処理剤の一部が溶解することなく最後まで浮遊していた。また、水は白濁し、メジナは硫化ジブチルないしは処理剤の影響と思われるような一時的な麻痺状態を示し、ほぼ24時間後には完全に回復した。

2) 水中およびメジナ可食部中の硫化ジブチル含量

この値については図6に一括してまとめた。水中の硫化ジブチル濃度は、1区では最高0.9 $\mu\text{g/l}$ 、12時間後には微量となり、24時間後には検出限界濃度以下

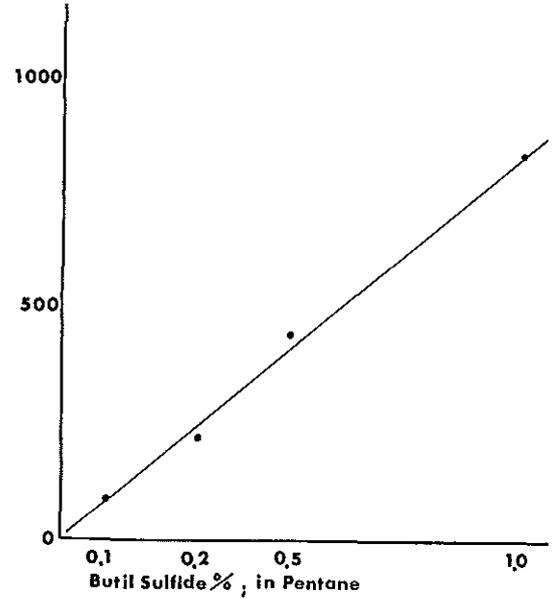
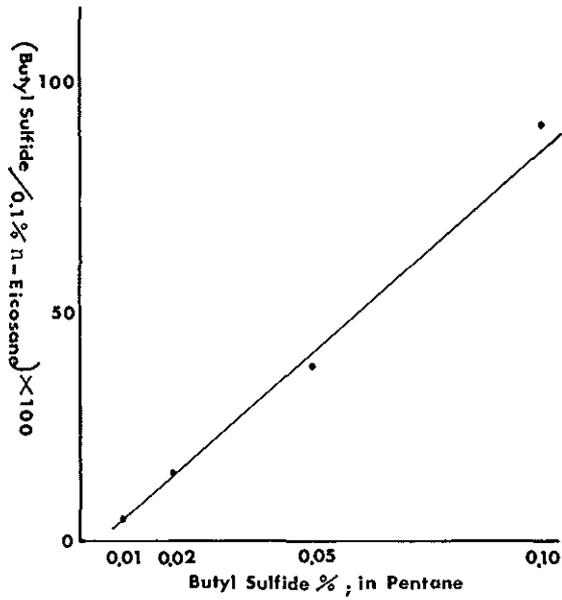


図3 硫化ジブチルのn-エイコサンを内部標準物質とした検量線

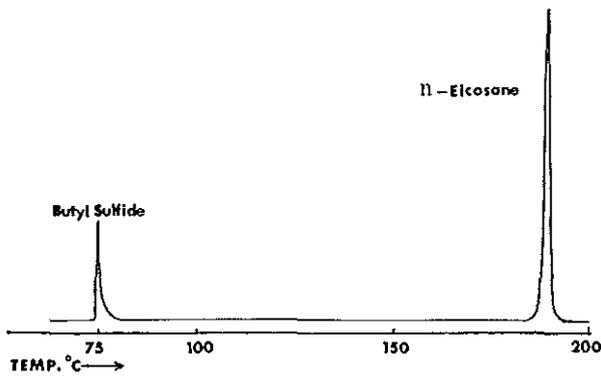


図4 メジナ可食部の硫化ジブチル及び添加したn-エイコサンのピーク

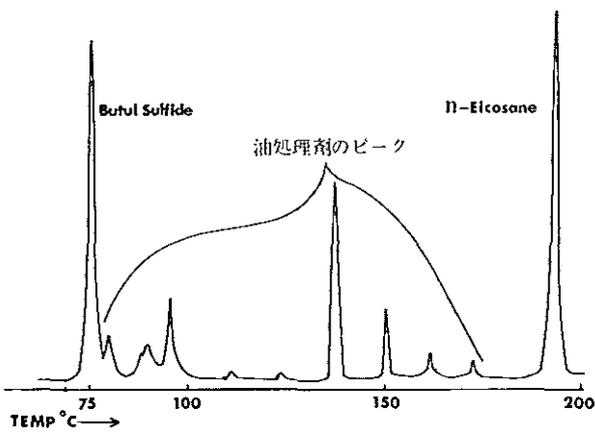
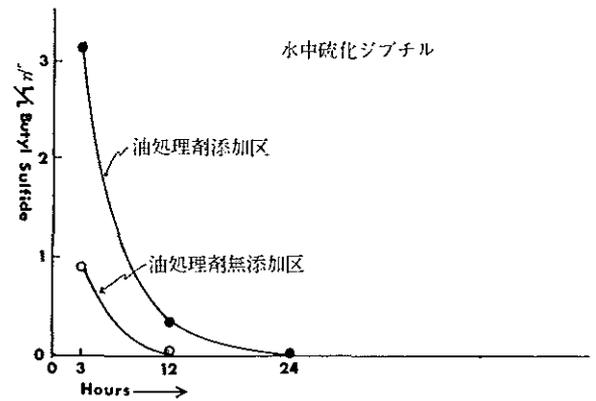


図5 2区、硫化ジブチル+油処理剤 12時間後のピーク

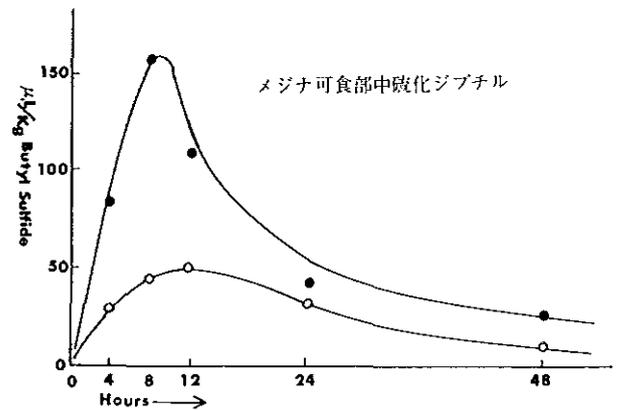


図6 水中、及びメジナ可食部中の硫化ジブチル量経時変化

(0.04 $\mu\text{g/l}$ 以下)となった。2区では最高3.10 $\mu\text{g/l}$ 、12時間後には0.35 $\mu\text{g/l}$ 、24時間には検出限界濃度以下となった。メジナ可食部中では、1区で12時間後に最高50 $\mu\text{g/kg}$ 、2区では8時間後に最高の156 $\mu\text{g/kg}$ となり、その後急減し、48時間後は26.6 $\mu\text{g/kg}$ となった。水中の硫化ジブチルの臭気は、1区、2区ともに24時間後には感じられなくなったが、メジナ肉中からは48時間後もホモジナイズ中に感じられた。

考 察

硫化ジブチルは強い臭気があり、揮発力を持つ有機イオウ化合物である。また同族のものを総称して、硫化アルキル、またはチオエーテルとも言われる。硫化ジブチルも含めた硫化アルキルは、原油中のイオウ化合物の主成分となっている。通常の中東原油中では、イオウ化合物は2~3%含まれている¹⁰⁾ことから、原油中の悪臭の中に占める硫化アルキルは、硫化水素、チオフエン、チオアルコール(メルカプタン類)とともにかなり大きなものである^{9, 10)}。

油処理剤が硫化ジブチルの水中への溶解込み、およびメジナへの取り込みにおよぼす効果はかなり大きく、いずれもほぼ硫化ジブチルのみの場合の3倍となっている。また、水中濃度とメジナへの蓄積濃度の差は、最高値で比較して、1区、2区とも50倍になっており、硫化ジブチルは、メジナに濃縮されやすく、また、水中に硫化ジブチルが減少すると急激にメジナからも減少するという結果を示した。

硫化ジブチルの同族である硫化ジペンチル等のさらに高分子量の場合は、魚体内からの排泄までの時間は遅いと思われ、今後の有機イオウ化合物の魚体内への取り込みに関する量的な知見を得ることが急務と思われる。

要 約

- 1) メジナを用いて100ppmの濃度で原油を添加し、6時間後に着臭が認められた。10日間原油を添加した後、清浄な海水で飼育すると、油臭が感じられなくなるまで35日間を要した。
- 2) 硫化ジブチルはメジナに急速に取り込まれ、また、水中に硫化ジブチルが減少するとメジナからも急速に減少する。
- 3) 油処理剤を加えると硫化ジブチルは、油処理剤を加えない場合の約3倍量が水中に溶解あるいは懸濁し、最高値と比較するとそれぞれメジナに対して水中濃度の50倍に濃縮された。

文 献

- 1) 三重県：異臭魚に関する特別研究報告, (1964)
- 2) 弟子丸修：油臭魚に関する研究-I, 原油による油臭魚について. 日水誌, 37, (1971)
- 3) VALE, G. L. et al : A Kerosene-like Taint in Mullet, J, Sci. Fd. Agric., 21, 433 (1970)
- 4) R, G, ACKMAN AND D, NOBLE : Steam Distillation : A Simple Technique for Recovery of Petroleum Hydrocarbons from Tainted Fish. J. Fish Res. Board Can., 30, 711~714 (1973)
- 5) 元広輝重：石油の海洋汚染と生物. 水産研究叢書, 24, 日本水産資源保護協会, (1973)
- 6) 緒方正名, 三宅与志雄：油臭魚, 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51年日本水産学会春季大会シンポジウム, 石油汚染とその水産生物への影響. 講演要旨,
- 7) 緒方正名等：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, 文部省科学研究費補助金特定研究1), 海洋環境保全の基礎的研究, (1976)
- 8) 柿野純, 高橋哲夫：油濁汚染に関する研究-1, 食味試験による東京湾における異臭魚の種類と分布, 本誌, (1977)
- 9) 大喜多敏一, 重田芳広：微量ガス, 悪臭の分析, 講談社サイエンティフィック, (1972)
- 10) 吉田高年等：石油と石炭の化学, 共立出版株式会社, (1972)