

水棲生物を指標とする河川における重金属の研究 (その2)

— $^{203}\text{HgCl}_2$ の魚類に対する濃縮性 —

若林明子 菊地幹夫 斉藤穂高
伊東 勲弘 (東京水産大学)

1 はじめに

前報で著者らは水銀による河川等の汚染の指標生物を検索する目的で、多摩川水系に生棲する種々の水棲昆虫および魚類について、その総水銀量を測定し、結果の一部について報告した。¹⁾ その際、環境でのデータを補完するため、魚類に関してもどのような形態の水銀化合物が、どういう経路で、どの程度蓄積されるかを室内実験で確認する必要がある事が判った。水銀化合物にはメチル水銀や酢酸フェニル水銀などの有機水銀化合物や塩化第二水銀や硫化水銀などの無機水銀化合物がある。すでに、有機水銀化合物のうち、メチル水銀の魚類等への生物濃縮に関する研究は、水俣病が魚類へ濃縮されたこの化合物を摂取した結果起こった中毒事件である事が判明して以来、多くの研究機関で行われてきている。²⁾ 一方、無機水銀化合物の生物濃縮性に関する研究は、水質・底質中に見い出される水銀化合物のかなりの部分がこの形態であるにも拘らず、報告例は少ない。1974年4月に出された「水銀に係る環境基準、排出基準ならびにその検定方法の改訂について」においては、無機水銀の水から魚への濃縮率を便宜的に数十としている。しかし、その後、無機水銀の魚類への濃縮率は数百以上であるとの報告も出されており、また化審法に基づいて通産省の行った実験でも酸化第2水銀が濃縮性の高い物質に該当する事が判っている。

仮に、無機水銀の濃縮率が数千のオーダーに達するとすると魚体中に見い出される水銀に対する無機水銀の寄与率は従来考えられている以上に高い可能性がある為、無機水銀の魚類への濃縮性については再検討を行う必要がある。また、水銀や銅等2価の重金属の毒性はLAS等低分子の有機化合物が共存すると増大する事が知られている³⁾が蓄積性との関連の研究はほとんど

されておらず、その点の検討も加える必要がある。

そこで今回、無機水銀化合物として塩化第2水銀を用いて、コイおよびニジマスに対する濃縮性に関して検討を加えると同時に、魚への濃縮性におよぼす共存物質等環境条件の影響についても若干検討した。

ところで、現在まで無機水銀を用いて魚への濃縮を求めた報告が少ない事やデータの不一致の原因として、水中の水銀の揮散および器壁への吸着がある。そこで、本実験では、24時間毎に、新たに調製し、前もって器壁に吸着させた溶液に魚を移す事によって曝露する溶液中の水銀の濃度変化を最少限に抑えた。また塩化第2水銀を ^{203}Hg で標識する事によって、①環境で見い出される程度の低レベルで実験が可能である。②水や魚中に既に含まれている水銀の影響を無視出来る。③ ^{203}Hg は γ 線を放出するため、測定が簡単な為人手がかからず、かつ採水または採魚後直ちに測定できるため、実験のコントロールがしやすい、等次のような利点を持たせることができた。

2 実 験

(1) 材 料

ア 供試化合物

無機水銀化合物としては、 ^{203}Hg で標識した塩化第2水銀($^{203}\text{HgCl}_2$; New England Nuclear製)を用いた。共存物質の影響実験では陰イオン界面活性剤としてドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(C12-LAS:和光純薬梯製)を用いた。

イ 供試魚

ふ化後、約1ヶ月半のコイ(*Cyprinus carpio*, 平均体重; $0.17 \pm 0.05\text{g}$) およびニジマス(*Salmo gairdneri*; $0.78 \pm 0.20\text{g}$)を用いた。

ウ 試験水

蒸留水にCaCl₂·2H₂Oを26.1mg/l, MgSO₄·7H₂Oを17.7mg/l, K₂SO₄を1.1mg/l, NaHCO₃を25.3mg/lとなる様に溶解した人工河川水(硬度:CaCO₃として25mg/l), および多摩川羽村堰で採取した河川水(硬度:CaCO₃として約40mg/l, TOC:2~3mg/l)を用いた。なお, 実験Ⅲの硬度の実験については別途調製した。

(2) 方法

ア 実験Ⅰ 魚種の違いによる濃縮率の差

人工河川水に²⁰³HgCl₂をHgとして約0.5μg/lとなる様に添加し, 魚を最高17日間曝露した。飼育密度は, 約2g/lと設定し, 水温はコイで21±1℃, ニジマスで17±2℃に保った。餌はマス用配合飼料をコイの場合は9,12,15日目に, ニジマスの場合は1日おきに魚体重の約3%を換水30分前に与えた。曝露溶液は1日1回, 換水約1時間前に調製し, 全量を交換した。換水の前後, 上, 下二層について採水し, ウェル型γ線用シンチレーションカウンター(Aloka Model NDW-51型)でγ線量を測定し, ²⁰³Hgの濃度を算出した。実験魚は, 1,3,6,11,14,17日目に5尾ずつとり上げ, MS222(m-aminobenzoic acid methanesulfonate)で麻酔し, 軽く水洗したのち, γ線用シンチレーションカウンターによって魚体中の²⁰³Hgの量を求めた。なお, ²⁰³Hgの測定時には魚体自身によるγ線の遮蔽を考慮する必要があるため, 前もって実験に用いた魚と同時にふ化した魚で遮蔽率を計算して補正を行った。(補正係数はコイ, ニジマス共に約1.5)。

イ 実験Ⅱ 濃縮率におよぼす共存物質の影響

C12-LASを0.25mg/l添加した人工河川水および多摩川河川水に²⁰³HgCl₂をHgとして0.5μg/l溶解し, 実験Ⅰと同様の条件でニジマスを曝露し, 魚体中の²⁰³Hgの経日変化を求めた。

ウ 実験Ⅲ 濃縮率におよぼすpHおよび硬度の影響

コイ10尾ずつをpHおよび硬度の異なる条件下で, 24時間実験Ⅰと同様に約0.5μg/lの²⁰³HgCl₂溶液に曝露し, 魚体中の²⁰³Hg量を測定した。pHは, NaOHまたはHClの1N溶液で, 6,7および8の3段階設定した。硬度は, 前記の人工河川水調整時に添加した塩類を同様の比率で蒸留水に添加し, CaCO₃として25,80,200mg/lとなる様に調整した。なお

硬度の実験では, 最後にpHをNaOHまたはHCl溶液で約7に調節した。

3 結果と考察

(1) 試験水中の²⁰³Hgの濃度変化について

1で既に述べた様に, 無機水銀化合物の希薄溶液中の水銀濃度を一定に保つ事は密閉系ですら難しい。そのため, 標準液や試料の保存の観点からこれらの検討がされ, Hgの水中からの消失は揮散と吸着によるものであることが明らかになっている。しかし, 曝露実験の場合通常の方法では, 吸着の方は一定程度抑えられても, 揮散の方を抑えるのは難しい。

今回の実験の曝露水中の²⁰³Hgの濃度変化を図1に示した。毎日換水する事によって濃度の減少を防いだが, コイの実験の²⁰³Hg濃度は0.41±0.16μg/l(平均±標準偏差)で標準偏差パーセントは40%であった。

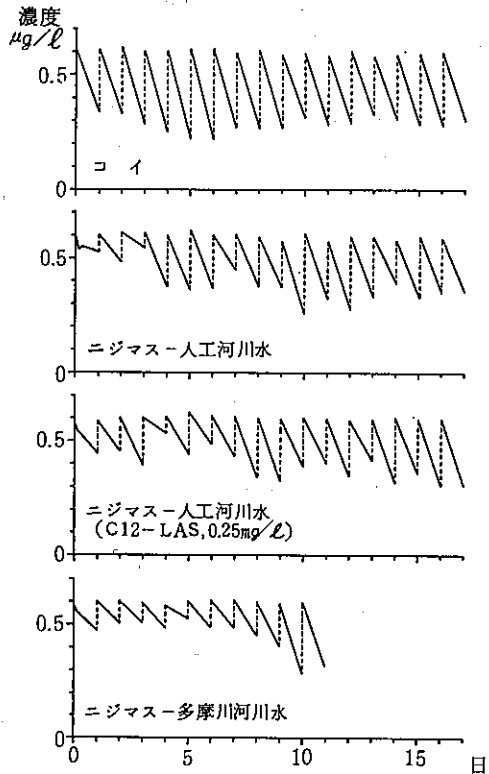


図1 曝露溶液中の²⁰³Hg濃度の経日変化

一方、ニジマスの実験での²⁰³Hg濃度は、人工河川水で0.49 ± 0.12, 多摩川河川水で0.50 ± 0.11, L A S添加人工河川水で0.52 ± 0.09であり、標準偏差パーセントは15 ~ 25%であった。このように、ニジマスの実験での²⁰³Hgの損失がより少なかった理由としてはコイの実験に比較して水温が4℃低かった事が考えられる。

(2) HgCl₂ の魚類に対する濃縮性

図2にコイとニジマスの人工河川水中での濃縮率の経時変化を示した。魚体中の²⁰³Hg濃度は曝露期間中ずっと上昇し、コイとニジマスとの間では余り大きな差はみられなかった。つまり、水からの濃縮率はコイでは11日目に500 ~ 600, 17日目に約800であるのに対してニジマスでは11日目に600 ~ 700, 17日目に約800であった。

表1に無機水銀の魚への濃縮性について現在まで報告されている値を示す。これらの報告の中で、水の濃度が正確に記載されているのは、佐藤らと D. Radouxらの報告だけである。佐藤らは著者らとはほとんど同じ条件下で海水中でボラを用いて濃縮率を求め、9 ~ 12日目で約150であると報告しているが、我々の実験で得た値はこの値に比較するとかなり高かった。この相違は魚の種差によるものか、試験水中の共存物質の有無等環境条件の違いに基因するものであるか明らかでない。しかし表中の他の著者らの結果を

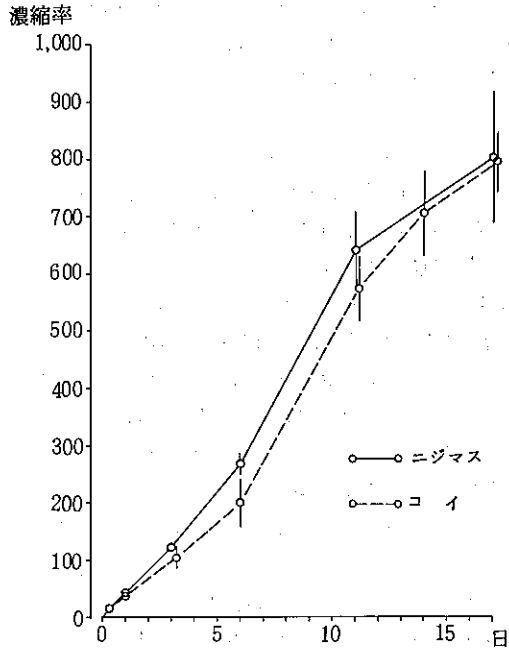


図2 HgCl₂ のコイとニジマスへの濃縮率の経日変更 (平均値 ± 標準偏差)

表1 塩化第二水銀の魚への濃縮性

供試化合物	魚	実験条件			結果	
		曝露濃度 (μg/l)	曝露時間 (日)	水温 (°C)	全魚体における水銀の濃度 (μg/g)	濃縮率
HgCl ₂	Gold fish (<i>Carassius auratus</i>) ⁵⁾ 1 ~ 3g	250	4	21	40 ~ 50	15/3
	Gaper (<i>Serranus oabrilla</i>) ⁶⁾ 19 ~ 48g	100	10	21	1.9	
²⁰³ HgCl ₂	Plaice (<i>Pleuronectes platessa</i>) ⁷⁾ 40 ~ 45g	約0.1	90	10		約340
	Thornback ray (<i>Raja clavata</i>) ⁸⁾ 15 ~ 20g	約0.1	60	10		約500
	Grey mullet (<i>Mugil cephalus</i>) ⁹⁾ 1.0 ~ 2.1g	0.5	9	15 ~ 19		約150

みると、淡水魚の濃縮率が高く、海水魚のそれが低いという傾向はみられない。

6) D. Radoux らはスズキの1種を用いて設定濃度 $100 \mu\text{g}/\ell$ で HgCl_2 のとり込みの様相を調べている。試験水は1日1回換水しているが、日によって設定濃度の2割位に水中の Hg 濃度が減少している為、論文では濃縮率は求められていない。しかし、魚体中の Hg 濃度は4日目では $2 \text{mg}/\text{kg}$ となり、その後上昇していない事から濃縮率は数十と推定できる。また C. E. Mckone らは HgCl_2 を $0.25 \text{mg}/\ell$ の水中濃度で金魚に曝露し、100時間後に魚体中の Hg 濃度は $40 \sim 50 \mu\text{g}/\text{g}$ に達したと報告している⁵⁾。水の Hg 濃度、換水の有無の記載はないので濃縮率は正確には計算出来ないが、水中の Hg の濃度変化が余りなかったと仮定すると濃縮率は約200となる。以上2報は比較的高濃度の HgCl_2 溶液に曝露した実験であるが、R. J. Pentreath は $0.1 \mu\text{g}/\ell$ 程度の非常に低濃度の溶液中で曝露実験を行っている⁷⁾⁸⁾。すなわち海水に $^{203}\text{HgCl}_2$ をトレーサーとして加えて魚に曝露した。その結果、カレイでは90日目の濃縮率は約340、エイでは60日目の濃縮率は約500であったが、両実験共魚体中の ^{203}Hg 濃度はまだ水の濃度と平衡にならなかった。

以上、いくつかの報告例の範囲で考えると、 HgCl_2 の場合曝露開始後比較的短時間で魚体中の水銀濃度が一定になってしまうパターンと、長期にわたって増えつづけるパターンとに分けられる。金魚のケースは前者のパターンに示し、カレイとエイおよび今回我々の行ったコイとニジマスのケースは後者のパターンを示した。これらの相違は例数が少ない為、魚種の違いによるものか、環境条件の違いによるものかは断定できない。しかし、前者のパターンに属する実験は致死濃度に近い濃度レベルで行っており、しかも途中で死亡魚がでてくる事からもエラ等が水銀化合物によって何らかの損傷を受け、それ以上の水銀化合物のとり込みが困難になった可能性もある。

一方、後者のパターンに属する実験では平衡時の濃縮率は求められていないが、Pentreath は濃縮率の変化が一次の微分方程式で表わせると仮定し、次式を用いて平衡時の濃縮率と半減期を求めた。¹⁰⁾

$$Ct = C_{ss} (1 - e^{-kt})$$

Ct : 曝露 t 時間後の濃縮係数, C_{ss} : 平衡時の濃縮係数, K : $0.693 / tb^{1/2}$, $tb^{1/2}$: 理論上の

生物学的半減期。

その結果、カレイでは $C_{ss} = 1166$, $tb^{1/2} = 187$ 日であり、エイでは $C_{ss} = 3665$, $tb^{1/2} = 277$ 日であった。我々も上記の式を用いて、コイとニジマスの C_{ss} の算出を試みた。仮に $tb^{1/2}$ を100日とした時 C_{ss} は約5,000、200日とした時、約10,000となった。すなわち、低レベルの無機水銀化合物に長時間曝露された場合、魚体中に Hg は水のレベルの数千倍も濃縮される可能性があり、この値は従来考えられていた値と比較してかなり高い。

(3) HgCl_2 の魚類への濃縮率におよぼす環境条件

図3に河川水中の共存物質が $^{203}\text{HgCl}_2$ の魚への濃縮率にどのような影響をおよぼすかを検討した結果を示す。

図でみると、ニジマスへの水銀の濃縮率は人工河川水中に比較して、多摩川の河川水中では低く、C12-LAS添加の場合は逆に高い傾向にある。この結果から次のような推定ができる。 ^{203}Hg がLAS等の低分子化合物と結合した場合には脂溶性が強くなり魚体中への取り込みが増大する。しかし、河川水中にはフミ

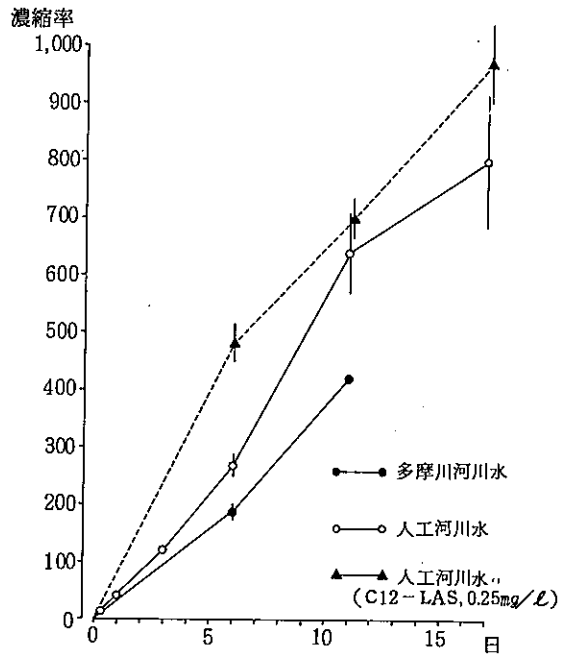


図3 $^{203}\text{HgCl}_2$ のニジマスへの濃縮率におよぼす共存物質の影響 (平均土標準偏差)

ン酸等比較的分子量の大きな化合物が存在するかが、
 そういう高分子化合物と Hg が結びついた場合には、
 Hg のエラからの取り込みが阻害され、濃縮率が低下
 する。しかし、この仮説を証明する為には、より詳し
 い検討が必要であろう。

次に濃縮率におよぼす硬度と pH の影響を図 4 と図
 5 に示す。²⁰³Hg のコイへの濃縮率は硬度を 25~200
 mg/l と変えたにも拘らずこの硬度範囲ではほとんど
 変わらず硬度の影響は受けなかった。しかし、pH の
 影響は、かなり表われており、実験開始時の pH が 6
 の時の濃縮率は約 26、7 の時は約 14、8 の時は 24
 であった。今回の実験では他の要因の影響を出来るか
 ぎり小さくする為に緩衝液を用いなかったため、どの
 系の pH も 24 時間曝露後には 7 前後になったが、濃
 縮率はわずかな pH の違いによっても大きく異なる可
 能性のある事が解った。

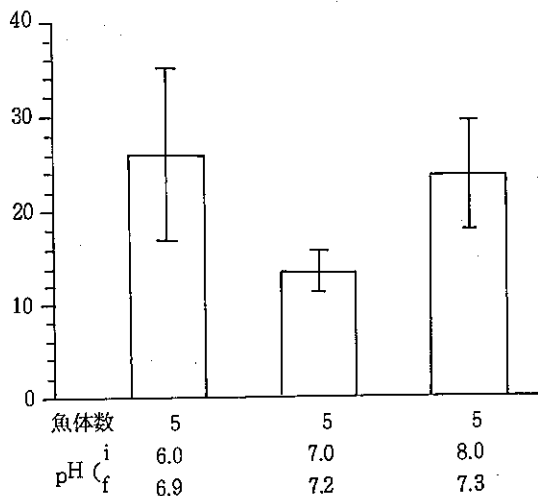


図 4 濃縮係数と曝露溶液の pH の関係
 (平均±標準偏差)

i : 実験開始時 f : 実験終了時

4 おわりに

今回の実験によると、コイやニジマスは低濃度の塩化
 第 2 水銀化合物に曝露された場合、十数日で水の濃度
 の数百倍もの水銀を魚体内に濃縮し、更にそのまゝ曝
 露を続けた場合は数千倍にも達する可能性が強かった。
 そのため、今後酸化水銀の結果等も合わせて無機水銀
 化合物の魚類への蓄積性に関して評価をしない必要

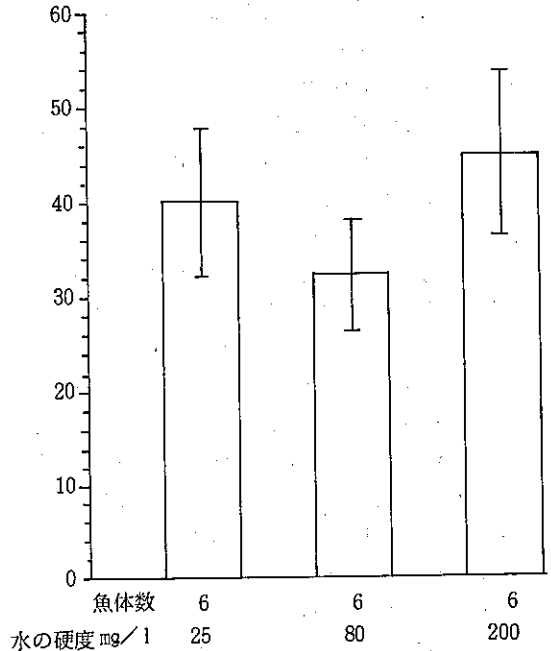


図 5 濃縮係数と曝露溶液の硬度の関係
 (平均±標準偏差)

がある事が解った。

また、水棲生物中の水銀量を水銀による環境汚染の
 指標として利用して行くためには、魚ばかりでなく底
 棲昆虫について同様の検討を行うと同時に、底質およ
 び付着藻類等から水棲生物への移行についても検討を
 加える必要があるだろう。

参 考 文 献

- 1) 伊東敬弘ほか：水棲生物を指標とする河川におけ
 る重金属汚染の研究(その1)，東京都公害研究年
 報，156 (1981)。
- 2) 藤田昌彦，山根 登ほか：生物濃縮，産業図書，
 43, 199, (1978)
- 3) Calamari, D., R. Marchetti: The Toxicity
 of Mixtures of Metals and Surfactants to
 Rainbow Trout, Water Res., 7, 1453 (1973).
- 4) Batley, G. E., D. Gardner: Sampling
 and Storage of Natural Waters for Trace
 Metal Analysis, *ibid.*, 11, 745, (1977).
- 5) Mckone, C. E., et al: Rapid Uptake
 of Mercuric Ion by Goldfish, Environm.
 Sci. Technol. 5, 1138, (1971)。

- 6) Radoux, D., J.M. Bouquegneau, Uptake of Mercuric Chloride from Sea Water by *Serranus cabrilla* : Bull. Environ. Contam. Toxicol. **22**, 771, (1979).
- 7) Pentreath, R. J. : The Accumulation of Inorganic Mercury from Sea Water by the Plaice, J. exp. mar. Biol. Ecol. , **24**, 103, (1976).
- 8) Pentreath, R. J. : The Accumulation of Mercury by the Thornback Ray, *ibid* , **25**, 131 (1976).
- 9) 佐藤博雄ほか : $^{203}\text{HgCl}_2$ の水中での挙動とボラへの取り込み, 昭和55年度日本水産学会秋季大会要旨集, 110 (1955).
- 10) Pentreath, R. J. : In Design of Radiotracer Experiments in Marine Biological Systems. I.A.E.A. Tech. Rep. Ser. N°167, Vienna, 137 (1975).