

洗剤に用いられる界面活性剤の魚毒性に関する研究

若林明子 菊地幹夫 永沼義春
川原 浩

1 はじめに

合成洗剤原料として用いられている直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) 等の界面活性剤の水生生物への影響は、全国漁業組合連合会から改善の要求が出される¹⁾等その毒性が問題とされてきている。しかしながら、現在まで合成洗剤の水域環境に与える影響については、未解明の点が多く残されており、安全性に関する結論は出されていない。²⁾

この様な状況のもとで、近年の無リン化の動きに伴い、洗剤原料として用いられている界面活性剤の種類と配合割合も徐々に変化してきており、ソフト化(1967年)以来大半を占めていたLASに加えて、耐硬水性が優れ、かつ生分解性の良い高級アルコール系や α オレフィン系の界面活性剤が漸増してきている。すなわち、LASベースの洗剤から無リンのLAS/アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム(AES)、LAS/ α オレフィンスルホン酸ナトリウム(AOS)、ポリオキシエチレンアルキルエーテル(AE)/LAS、およびAES/AEベースの洗剤へと移行してきた。

現在東京都では、既に前報³⁾で述べた様に、都内河川内湾の陰イオン界面活性剤濃度〔メチレンブルー活性物質(MBAS)として〕をどの程度にしたら環境保全上好ましいかについて検討中であり、その基礎資料として、魚に対する界面活性剤の毒性影響のデータが必要となった。

著者らは既にLASおよび近年生産量の伸びの著しいと予想される界面活性剤数系統20数種について、ヒメダカ成魚に対する48時間半数致死濃度(LC₅₀)を測定した。そして、化学構造と魚毒性の関係を検討しどの様な界面活性剤を合成洗剤原料として用いれば、

魚に対する毒性影響を少なくしていけるかを明らかにした。⁴⁾しかしながら、界面活性剤の急性毒性は魚の種類によってかなり異なる事は知られている⁵⁾にも拘らず、この点に関する検討は充分行われてきていない。

そこで、本研究では、環境基準に例示されている魚に対する数種の界面活性剤のLC₅₀を求め、魚に対する毒性影響の面からこの施策に関する基礎資料を提供する。

供試魚は環境基準類型の利水目的に対応させて選定した。すなわち、AA、A水域については水産一級対象魚であるヤマメを、B水域については水産二級対象魚であるニジマス、C水域については水産三級対象魚であるコイを、海域については、水産二級対象魚であるボラを用いた。そして、試験はそれらの魚の感受性の比較的強く、かつ取り扱いの容易な稚魚を用いて行った。

供試界面活性剤としては、現在広く用いられている陰イオン界面活性剤のLAS、AES、AOSと、非イオン界面活性剤のAEを用いた。なお、これらの界面活性剤は通常混合物として配合されており、その組成は製品によって異なり、更に魚に対する影響も異なる⁴⁾事が知られている。すなわち、LASやAOSでは同族体の中で親油基のアルキル基が長鎖になればなる程その毒性は増し、AES、AEでは親水基のエチレンオキシド基が長鎖になればなる程、毒性が減少する事が知られている。^{4,5)}その為今回の実験では、市販の洗剤に含まれている組成に近いものを選定した。

また、界面活性剤の魚への毒性は試験する水の硬度塩分濃度、水温などの条件によって大きく影響を受ける事が知られている。^{5,9)}そこで、水の硬度は、ヤマメ、ニジマスの試験では、多摩川上流域に近い値の約25 mg/l (CaCO₃として) で、コイの試験では多摩川中流域に近い値の75 mg/l に設定した。また、ボラの試

験では沿岸の平均塩分濃度に近い25‰を用いた。水温は、冷水魚では約 10℃、温水魚では約 20℃に設定した。

2 実 験

(1) 材 料

ア 界面活性剤

LAS：花王石鹼株式会社提供のものを常法により精製した。平均アルキル鎖長は11.7である。

AOS：ライオン株式会社提供のものを常法により精製した。アルキル鎖長は16のものが58%，18のものが42%，アルケニル基とヒドロキシル基の比は75.3：24.7，平均分子量は350.7である。

AES：日光ケミカルズ株式会社製で，純分は19.1%でNaCl 3.2%，アルキル鎖長は12のものが約20%，13のものが約30%，14のものが約30% 15のものが約20%で，直鎖率は78±2%，平均エチレンオキシド付加モル数は3である。

AE：花王石鹼株式会社製で，平均アルキル鎖長は12，平均エチレンオキシド付加モル数は6.5である。

イ 供試魚

実験Ⅰ：ヤマメ (*Oncorhynchus masou*)

東京都水産試験場奥多摩分場で10月末に採卵し，12月中旬にふ化した稚魚を翌年の2月中旬現地で実験に供した。

実験Ⅱ：ニジマス (*Salmo gairdneri*)

東京都水産試験場奥多摩分場で1月初旬に採卵し，1月下旬に発眼したものの供与を受け，発眼卵の状態を当研究所に運搬し，2月10日頃ふ化させたものを3月中旬に用いた。

実験Ⅲ：コイ (*Cyprinus carpio*)

東京都水産試験場本場で5月初旬にふ化したものを，6月上旬に供与を受け，約20日後に実験に供した。

実験Ⅳ：ボラ (*Mugil cephalus*)

渥美半島で捕獲し，東京大学農学部附属実験場で飼育したものの供与を受け，当研究所に運搬し，約3週間後（7月下旬）に実験に用いた。

表1に供試魚の体重，体長，全長を示す。

表1 供試魚の体重，体長および全長

魚 種	体重, mg	体長, mm	全長, mm
ヤマメ	234± 47	28.6 ± 1.6	33.0 ± 1.8
ニジマス	258± 53	29.1 ± 1.7	32.8 ± 1.6
コイ	378± 80	25.3 ± 1.4	32.0 ± 1.8
ボラ	1,190±280	41.0 ± 3.0	48.8 ± 3.5

平均 ± 標準偏差

ウ 希釈水

実験Ⅰでは奥多摩町営水道水をチオ硫酸ナトリウム水で脱塩素後を用いた。硬度は約27.5 mg/ℓであった。実験Ⅱでは蒸留水に塩類を溶解して調製した硬度25mg/ℓの，実験Ⅲでは同様に調製した硬度75mg/ℓの人工河水³⁾を用いた。実験Ⅳでは市販のアクアマリン（八洲薬品株式会社）を脱塩素水道水で塩分濃度25‰になる様に溶解した人工海水を用いた。

エ 試験容器

実験Ⅰ，Ⅱ，Ⅲの実験では5ℓの，実験Ⅳでは10ℓのガラス製ビーカーを用いた。

(2) 方法

① JIS K 0102-1981⁶⁾ に準じて行い，96時間までのLC₅₀を求めた。まず，各ビーカーに供試魚を10尾ずつ入れ，実験時と同じ水温で48時間順化した。順化中，水は24時間目に全量交換した。次に各ビーカーに界面活性剤の濃厚溶液を希釈水を用いて希釈して，実験Ⅳでは濃度比√3の間隔で4段階，その他の実験では濃度比√2の間隔で5～7段階の試験水を調製し，水温を一定にした後，順化の終わった供試魚を移した。実験中，30分毎に供試魚の観察を行って魚の状態を記録すると同時に，死亡魚は取り出し，体重，体長および全長を測定した。試験水の交換はサイフォンを用いて約9割を除いたのち，新たに調製し水温を整えた試験水を同じくサイフォンを用いて注入した。

実験Ⅳでは，緩かに曝気をしたが，他の実験では行わなかった。なお，他の実験条件は，表2に示した。実験終了後片対数方眼紙に各界面活性剤の濃度とその時の死亡率をプロットしLC₅₀を求めた。

表2 実験条件

実験番号	I	II	III	IV
水温, °C	8.5 ~ 9.6	8.8 ~ 10.9	20.5 ~ 21.0	20.6 ~ 22.0
試験水の交換	12時間毎	12時間毎	12又は24時間毎	12時間毎
給餌	換水1時間前	換水1時間前	47時間目	23, 47, 71時間目

3 結果と考察

試験水の溶存酸素は、実験Iでは9.8mg/l以上、実験IIでは8.6mg/l以上、実験IIIでは5.0mg/l以上、実験IVでは6.5mg/l以上であった。

(1) 魚の状態変化

図1に一例として96時間LC₅₀に近い濃度に於ける魚の様相の経時変化を示した。淡水魚ではLASまたはAOSに曝露した場合、鼻上げ状態を経由して短時間横転または垂直になり、AESでは短時間水底で横転後死ぬものが多かった。これに対して、AEでは実験開始直後から実験終了時まで長時間水底で横転している魚も多かった。著者らは既にAEが脳に蓄積しやすい事を報告しているが、この現象はそのために起ったものと考えられる。また、AEの場合は、体色が黒化してくるのも特徴の一つであった。一方、海水魚であるボラでは、いずれの界面活性剤でも数10分~2時間程度横転後死亡し、鼻上げや長時間の横転はほとんどみられなかった。

(2) LC₅₀の経時変化

図2に6時間から96時間までのLC₅₀の経時変化を示した。図から分かる様に i) LASの場合、ヤマメでは36~72時間に、コイでは24~36時間に、ボラでは48~72時間にLC₅₀の大きな変化がみられ、ニジマスでは6~84時間まで少しずつ値が小さくなった。ii) AESの場合、ニジマス、コイでは36時間まで、ヤマメは60時間までLC₅₀は減少したが、その後一定となった。ボラでは6~96時間まで値はほとんど変わらなかった。iii) AOSの場合、コイでは6~60時間にLC₅₀は減少し、ヤマメでは24~72時間までに、ニジマスでは24~48時間までに徐々に減少した。また、ボラではわずかずつであるが、値が減少した。

iv) これに対して、AEの場合、どの魚種でもLC₅₀は

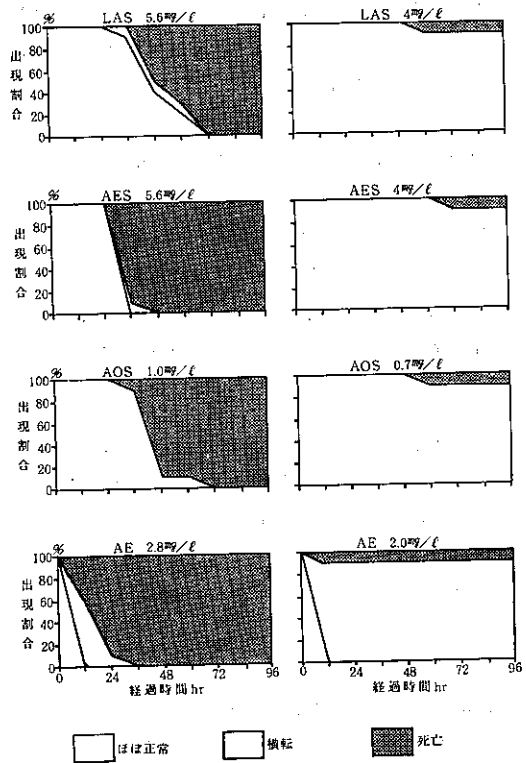


図1 実験時のニジマスの状態の経時変化

6~96時間についてほとんど変わらなかった。

この様にLC₅₀の時間による違いは、界面活性剤の種類と魚種によって異なるが、いずれの場合でも72~96時間で、LC₅₀はほぼ一定となる。その為、界面活性剤の急性毒性の評価は、96時間のLC₅₀を用いればほぼ充分であると言える。

(3) 各界面活性剤のLC₅₀の比較

表3に各界面活性剤の96時間LC₅₀を示した。表から分かる様に界面活性剤の急性毒性の強さはヤマメ、ニ

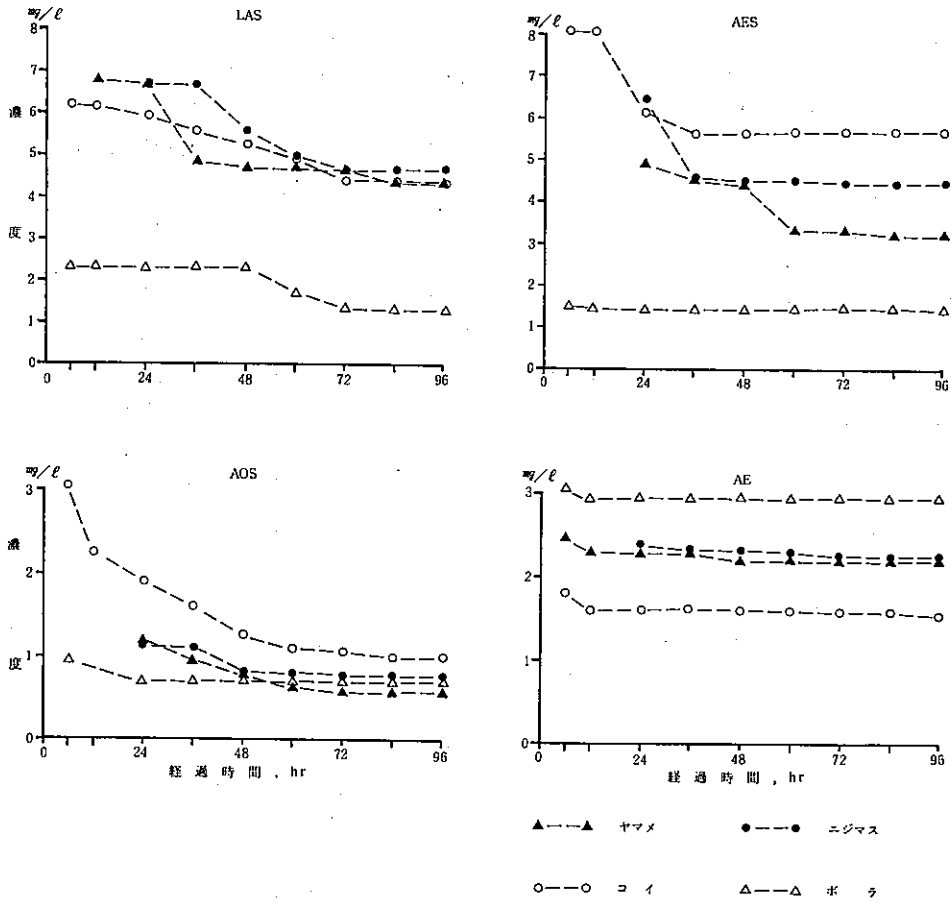


図 2 LC₅₀ の経時変化

表 3 界面活性剤の96時間 LC₅₀

魚 種	96 時間 LC ₅₀ , mg/l			
	LAS	AES	AOS	A E
ヤ マ メ	4.4	3.2	0.56	2.2
ニ ジ マ ス	4.7	4.4	0.78	2.3
コ イ	4.4	5.6	1.0	1.5
ボ ラ	1.3	1.5	0.70	2.9

ジマスについてはAOS > AE > AES > LAS, コイについてはAOS > AE > LAS > AES, ボラについてはAOS > LAS > AES > AEの順であった。この様に, AOS はどの魚種に対しても用いた界面活性剤の中で最も急性毒性が強く, また淡水魚では冷水域に棲む魚により強く作用した。次にLASとAESで

は, それらの急性毒性は淡水魚に対しては比較的弱い, 海水魚に対しては強く表われている。LASとAESを比較してみると, 硬度の低い試験水で行ったヤマメ, ニジマスではAESの, 硬度の高い試験水で行ったコイ, 或いは海水で行ったボラでは, LASの急性毒性の方が高かった。LASの急性毒性は, 硬度⁸⁾或いは塩分濃度⁹⁾の上昇に伴著しく増加する事が知られているが, AESの場合, その効果がLASに比べて小さいため, この様な結果になるのかも知れないが, この点についての確認はまだ成されていない。

一方, AEは淡水魚に対しては比較的強く作用したが, 海水魚に対する急性毒性は相対的に低かった。これは, AEが非イオン界面活性剤であるため, 試験水中で共存イオンの影響をほとんど受けず¹⁰⁾, LAS等でみられた海水中での毒性の増強作用がない為と考えられる。

4 おわりに

LC₅₀ から界面活性剤が水生生物に影響を及ぼさない濃度を求める方法について、水産用水基準¹¹⁾では、「従来48時間 LC₅₀ × 0.1 によって許容濃度を推定することが便宜的に行われており、そのような見地に立って」、「界面活性剤 M B A S 淡水域 0.5 mg/l, 海水域 0.1 mg/l (一般に A B S, L A S として表示するが、むしろ測定法 (メチレンブルー法) により得られる結果として総合表現した。個々に示せば、淡水域で A B S 0.5 mg/l, L A S 0.2 mg/l であり、海水域では若干毒性が強い)」と界面活性剤の許容濃度を示している。更に、最近改正された JIS-K 0102-1981⁶⁾ では「LC₅₀ は魚類への許容濃度ではない。許容濃度は、種々の生物による亜急性毒、慢性毒試験などの結果に基づいて慎重に決定されるべきであるが、これを推定するための一つの便法として、LC₅₀ に適用係数を乗ずる事が行われている。適用係数として、かつて48時間 LC₅₀ に対して 0.1 を用いていたが、最近では96時間 LC₅₀ に対して 0.01 前後の値を用いる事がある」と記述されている。

したがって、現状では各水域の対象魚の96時間 LC₅₀ に適用係数を乗じて評価基準値を設定するのが妥当であろう。用いる96時間 LC₅₀ としては、下記の(1)~(4)案が考えられる。

- (1) 今回用いた界面活性剤のうち毒性の一番強いもの、すなわち A O S の値を用いる。
- (2) 現在最も多く用いられている L A S の値を用いる。
- (3) 現在の各界面活性剤の生産比を推定し、比例配分により算出する。
- (4) 河川中の各界面活性剤の存在比を測定し、比例配分により算出する。

上記のうち(1)は最も安全性を重視した値であり、環境中の界面活性剤が 100% A O S であってもほぼ安全な値といえる。しかしながら、A O S の生産比は余り大きくなく、かつ生分解性が良いため、この値を用いるのは現実的でないと批判があろう。また(2)を採用した場合には、L A S は生分解性が比較的悪い事からも、環境中に最も多量に存在する界面活性剤であるという利点はあるが、L A S よりも急性毒性の強い界面活性剤の影響を無視する事になる。また(3)を採用した場合には、製品の改良により市販の洗剤中の界面活性剤の配合比が変化するため、何年かおきにその時点で

の生産比に比例して値を変更する必要がある。しかしこの方法を採用した場合には、企業に対する洗剤原料の変更の指導に結びつける事が出来る。一方(4)を採用した場合には、最も実際の河川の状況に対応した値となるが、各水域の界面活性剤の平均値を求める必要があるため莫大な経費と手間がかかる。

最後に、本研究を行うにあたり、実験に協力していただいた環境保全局水質保全部渡辺のぶ子、桜井博、木村賢史、和波一夫、後藤敏子、古橋紀美一の各氏およびヤマメ稚魚、ニジマス卵の提供、施設の利用等でお世話になった東京都水産試験場奥多摩分場、コイ稚魚を供与いただいた東京都水産試験場本場、ボラ稚魚を供与いただいた東京大学農学部附属実験場の皆様に深く感謝します。

参 考 文 献

- 1) 全国漁業組合連合会：公害対策情報 No37, 5 (1977).
- 2) 内閣総理大臣大平正芳：衆議員議員島本虎三君提出合成洗剤の安全性等に関する質問に対する答弁書、昭和54年6月。
- 3) 菊地幹夫、他：洗剤に用いられる界面活性剤の発泡性に関する研究、110 (1984).
- 4) 菊地幹夫、他：合成洗剤と水環境、東京都行政交流会誌、3, 65 (1979).
- 5) 若林明子、菊地幹夫：界面活性剤の水生生物に対する影響、遺伝、30 (7) 10 (1976).
- 6) 日本規格協会：日本工業規格工場排水試験方法、208 (1981).
- 7) 若林明子、他：各種界面活性剤のコイへの吸収・体内分布および排泄、第14回日本水質汚濁研究会年次学術講演会講演集、167 (1980).
- 8) M. Wakabayashi, et al.: Bioaccumulation profile of sodium linear alkylbenzene sulfonate and sodium alkyl sulfate in carp, Chemosphere, 7, 917 (1978).
- 9) 鬼塚聡、他：環境汚染物質のヒメダカへの毒性に及ぼす塩類濃度の影響、昭和58年度日本水産学会秋季大会講演要旨集、152 (1983).
- 10) P. W. A. Tovell, et al.: Effect of water hardness on the toxicity of anionic detergent on fish, Water Res., 9, 31 (1975).
- 11) 日本水産資源保護協会：水産用水基準、26 (1983).