

# $^{203}\text{HgCl}_2$ の魚への取込におよぼす pH と共存有機化合物の影響

若 林 明 子   菊 地 幹 夫   西 井 戸 敏 夫

吉 田 多 摩 夫  
(東京水産大学)

## 1 は じ め に

水銀に関する全国環境調査結果をみると、水中あるいは底泥中の水銀濃度とその水域に生息する魚体中の水銀濃度の間に必ずしも相関はみられない。これは、水銀の魚体中への蓄積量が水中の水銀濃度ばかりでなく pH など水質の影響も大きく受けるためと推測される。

この研究では、 $\text{HgCl}_2$  のメダカ (*Oryzias latipes*) への取込における pH と共存有機化合物の影響について検討を行った。

pH の影響を調べる実験では、試験水の pH はりん酸緩衝液を用いて一定値に保った。また、共存有機化合物の影響を調べる実験では、環境水中での濃度が比較的高く、また重金属とキレートをつくりやすいフミン酸を用いた。また、影響の現れ方が化合物によってどの程度変わるか、その原因は主としてなにによるのかをエチレンジアミン四酢酸塩、クエン酸、システイン、グルタチオンを用いて検討した。

## 2 実 験 方 法

### (1) 供試化合物

無機水銀化合物として $^{203}\text{Hg}$ で標識した塩化第二水銀 ( $^{203}\text{HgCl}_2$ , New England Nuclear) を用いた。共存有機化合物としてフミン酸 (和光純薬工業株式会社)、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA, MW 336, 国産化学株式会社)、クエン酸 (MW 192, 和光純薬工業株式会社)、システイン (MW 121, 和光純薬工業株式会社)、グルタチオン (酸化型, MW 613, Boehringer Mannheim GmbH) を用いた。

### (2) 供試魚

都内の養魚場より入手したメダカの成魚を用いた。メダカは 1% NaCl と 20 mg/ℓ ホルマリン溶液に 2 日間曝露後、脱塩素水道水中、水温 18~22℃ で約 2 週間飼育した後実験に用いた。実験開始前日からは、実験に

用いた人工軟水中で実験時と同一の条件下で順化を行った。順化および実験中は給餌しなかった。実験開始時の魚の体重は、pH の影響の実験では  $0.24 \pm 0.07$  g (平均土標準偏差)、共存有機化合物の影響の実験では  $0.28 \pm 0.04$  g であった。

### (3) 人工軟水

蒸留水に  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  を 26.1 mg/ℓ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  を 17.7 mg/ℓ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  を 1.1 mg/ℓ,  $\text{NaHCO}_3$  を 25 mg/ℓ となるように溶解して調製した (硬度:  $\text{CaCO}_3$  として 25 mg/ℓ)。<sup>2)</sup>

### (4) 試験水の pH の影響の実験

試験水の pH は人工軟水に  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  と  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  をりん酸として 2 mM となるように溶解して整えた。各 pH の溶液に $^{203}\text{HgCl}_2$ を Hg として約 0.5  $\mu\text{g}/\ell$  (2.5 nM) となるように加えた後、NaOH で pH を調整した。1~2 時間放置後 pH を再調整して試験水とした。実験にはメダカを 15~16 尾用い、5 ℓ ビーカー中 (飼育密度は 0.8 g/ℓ 以下) 水温 18~22℃ で 12, 20 または 40 時間曝露した。試験水は 12 時間毎に、換水約 1 時間前に新たに調製したものと全量を交換した。換水の前後に 5 サンプルずつ採水し、ウェル型  $\gamma$  線用シンチレーションカウンター (Aloka Model NDW-51 および SHIMADZU Auto Well Counter RAW-300) で  $\gamma$  線量を測定し、水銀濃度を算出した。供試魚を 12, 20, 40 時間目に 5~6 尾ずつ取り上げ軽く水洗した。2-フェノキシエタノールで麻酔後、水試料と同様に  $\gamma$  線量を測定し、遮蔽率で補正をして水銀の魚体中濃度を算出した。次式によって水からの濃縮率を求めた。

$$\text{濃縮率} = \frac{\text{魚体中の } ^{203}\text{Hg 濃度 } (\mu\text{g/g})}{\text{水中の平均 } ^{203}\text{Hg 濃度 } (\mu\text{g/ml})}$$

### (5) フミン酸の共存による影響の実験

5 ℓ のガラスビーカーを用いて、人工軟水にフミン酸を 0 (対照), 0.2, 2, 20 mg/ℓ になるように溶解し、

さらに $^{203}\text{HgCl}_2$ をHgとして約 $0.5\text{ }\mu\text{g}/\ell$ ( $2.5\text{ nM}$ )となるように加え、NaOHまたはHCl溶液でpHを6.97~7.03に調整した。約1時間放置後、この溶液にメダカを10尾ずつ投入し、40時間暴露した。飼育密度は約 $0.6\text{ 尾}/\ell$ とし、水温は $18\sim 22^\circ\text{C}$ 、溶存酸素濃度は $6.5\text{ mg}/\ell$ 以上、pHは6.81~7.03に保った。暴露溶液は13~14時間毎に、換水約1時間前に新たに調製したものと全量を交換した。pHの影響の実験と同様にして魚体中の水銀濃度を求め、濃縮率を算出した。

(6) その他の有機化合物の共存による影響の実験  
人工軟水にEDTA、クエン酸、システインまたはグルタチオンをそれぞれ $0.01\text{ mM}$ になるように溶解し、フミン酸の場合と同様に実験した。

### 3 結果と考察

#### (1) pHの影響

実験中の試験水の $^{203}\text{Hg}$ の平均濃度は約 $0.5\text{ }\mu\text{g}/\ell$ 、濃度の減少率は $16\pm 10\%$ であった。また、pHの変動幅はpH 9の場合を除いて小さかった。

図1にメダカの $^{203}\text{HgCl}_2$ の取込に及ぼすpHの影響を示す。 $^{203}\text{Hg}$ の魚体への濃縮率は、暴露時間が12、20、40時間と増大すると共に増大し、前回の実験と同様に、試験水中の $^{203}\text{Hg}$ 濃度と平衡に達するにはかなりの時間が必要なが、しかしながら、バラツキは非常に大きい、試験水のpHの違いによる取込の差は明確に現れ、pH 8~9と5~6を比べると、明らかに低いpHで $^{203}\text{HgCl}_2$ が魚に取り込まれやすかった。

りん酸緩衝液中で得られたこの実験結果を直ちに環境水中での水銀の挙動に外挿することはできない。しかし、河川や湖沼において水の水銀のレベルが同程度の場合、pHが低い水域に生息する魚には水経路で水銀がより高濃度に濃縮する可能性が高いことが分かった。

#### (2) フミン酸の影響

試験水中の $^{203}\text{Hg}$ の濃度変化を図2に示した。フミン酸を含まない対照実験区では $^{203}\text{Hg}$ は試験水からかなり速く減少した。ところが $0.2\text{ mg}/\ell$ のフミン酸が共存すると、 $^{203}\text{Hg}$ 濃度はやや減少しにくくなり、さらにフミン酸の濃度が上昇するとより減少しにくくなった。すなわち、暴露溶液調製時の $^{203}\text{Hg}$ 濃度の13~14時間後での平均減少率は、対照では21%，フミン酸 $0.2\text{ mg}/\ell$ 添

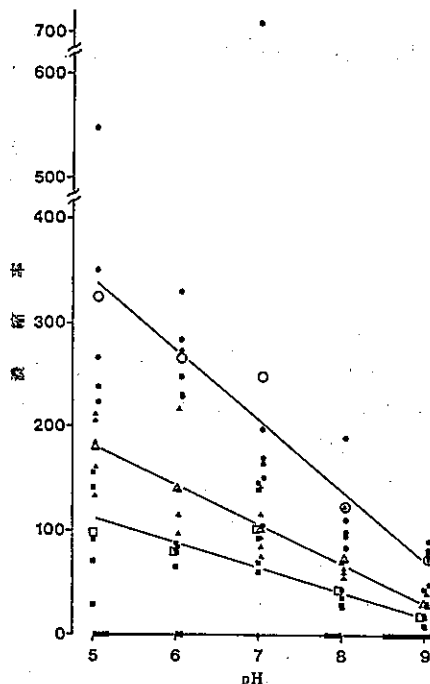


図1  $^{203}\text{Hg}$ のメダカへの生物濃縮に及ぼすpHの影響

暴露時間: ■ 12時間, ▲ 20時間, ● 40時間  
(□, △, ○はそれぞれ平均値を示す)  
りん酸濃度:  $2\text{ mM}$

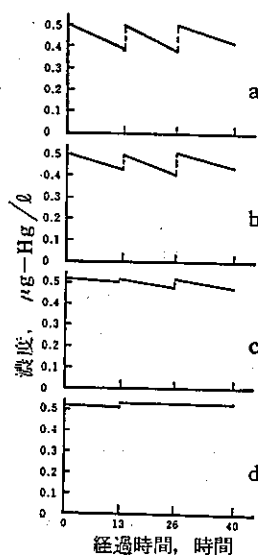


図2 試験水中の $^{203}\text{Hg}$ 濃度の変化

共存フミン酸濃度:

a,  $0\text{ mg}/\ell$ (対照); b,  $0.2\text{ mg}/\ell$ ;  
c,  $2\text{ mg}/\ell$ ; d,  $20\text{ mg}/\ell$

加では16%, 2mg/l添加では6%, 20mg/l添加では1%以下であった。魚体中の $^{203}\text{Hg}$ 濃度から計算すると、魚体中への取込による水中の $^{203}\text{Hg}$ 濃度の減少は溶液中の $^{203}\text{Hg}$ の4%以内であるから、試験水中の $^{203}\text{Hg}$ 濃度の減少は主として $^{203}\text{Hg}$ の水中からの揮散やガラス面への吸着によるものであろう。フミン酸濃度が高くなるにしたがって $^{203}\text{Hg}$ の濃度が減少しにくくなることは、フミン酸によって $^{203}\text{Hg}$ が水中でより安定な化学形をとることを示していると考えられる。

図3に40時間曝露時の $^{203}\text{Hg}$ のメダカへの濃縮率を示す。図には $^{203}\text{Hg}$ の水溶液からの平均減少率もあわせて示してある。濃縮率はフミン酸濃度が0.2mg/lの時は対照と殆んど変わらず約200であったが、2mg/lになると濃縮率は大幅に減少し約70となり、20mg/lでは約10で対照の約1/20となった。

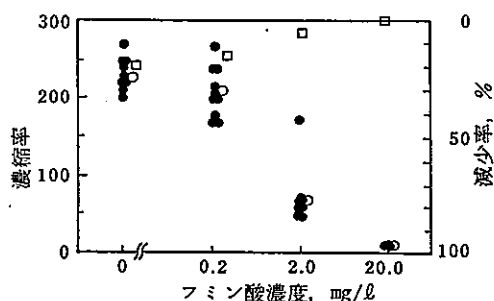


図3 フミン酸濃度と濃縮率との関係

- 濃縮率 (○は平均値を示す)
- $^{203}\text{Hg}$ の水溶液からの平均減少率

このようにフミン酸が共存すると、 $^{203}\text{HgCl}_2$ は水中から揮散あるいは吸着によって減少しにくくなると同時に魚にも取り込まれにくくなり、魚体中への濃縮の程度はフミン酸濃度の上昇と共に小さくなることが分かった。平衡時の濃縮率は、取込速度と排泄速度との比で表わされる。フミン酸が共存しても魚体中からの排泄速度は変わらないと仮定すると、平衡時の濃縮率も共存するフミン酸の影響を受け、フミン酸の濃度が高くなると濃縮率は低くなることになる。

環境水中で、フミン酸は泥炭地の水には20mg/l程度、河川水には数mg/l程度含まれているとの報告<sup>4)</sup>があるが、地域によってその値はかなり異なる。そのため魚体中の水銀含有量はその水域の水中あるいは底泥中の水銀濃度と比例しない理由の一つに、フミン酸の存在量の差があ

げられる。

### (3) その他の有機化合物の共存の影響

図4にその他の有機化合物が0.01mm共存する際の $^{203}\text{Hg}$ の試験水中の濃度変化を示す。EDTAまたはクエン酸を共存させた場合には $^{203}\text{Hg}$ 濃度は減少しやすく、システインまたはグルタチオンを共存させた場合には減少しにくい。この結果を $^{203}\text{Hg}$ の13~14時間での平均減少率で示すと、EDTAで25%, クエン酸で22%, システインで6.5%, グルタチオンで11%であった。

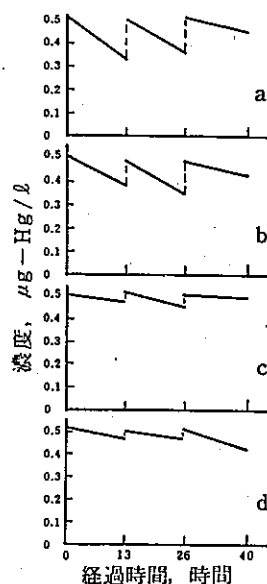


図4 試験水中の $^{203}\text{Hg}$ 濃度の変化

共存有機化合物 (濃度 0.01mm):

- a, EDTA; b, クエン酸;
- c, システイン; d, グルタチオン

表1に上記の有機化合物の共存下で $^{203}\text{HgCl}_2$ にメダカを40時間曝露した際の濃縮率を示す。共存する有機化合物の違いによる濃縮率を比較してみると、EDTAまたはクエン酸が共存する時は濃縮率は高く、対照のそれと殆んど変らなかった。それに対してシステインまたはグルタチオンが共存した場合には濃縮率は著しく減少して対照の約1/6~1/16となった。このように、 $^{203}\text{Hg}$ の取込は共存する有機化合物によって異なり、フミン酸の場合と同様に $^{203}\text{Hg}$ の水中から減少しにくい条件下で

表1  $^{203}\text{Hg}$  のメダカへの生物濃縮に及ぼす共存有機化合物の影響

共存有機化合物濃度 $\text{mg}/\ell$ *1		濃 縮 率 平均土標準偏差 *2	$^{203}\text{Hg}$ の水溶液からの平均減少率 %
*3		232 $\pm$ 20	20.7
EDTA	3.4	234 $\pm$ 27	25.0
クエン酸	1.9	222 $\pm$ 39	22.1
フミン酸	2.0	72.3 $\pm$ 33.7	5.8
システイン	1.2	39.1 $\pm$ 3.1	6.5
グルタチオン	6.1	14.1 $\pm$ 2.5	11.1

\*1 フミン酸を除く他の有機化合物の濃度は 0.01mM である。

\*2  $n = 10$ 

\*3 対照実験（有機化合物は共存しない）

は濃縮率が小さいという結果が得られた。

共存する化合物によって  $^{203}\text{Hg}$  の魚体中への取込に差がある理由としては次のように考えられる。

Hg は、対照では塩素イオンや水酸イオンなどと錯体をつくり、有機化合物を添加した系では安定度定数に応じて、塩素イオンや水酸イオンなどと競合してそれぞれの錯体をつくっている。

$^{203}\text{Hg}$  の取込が水銀錯体と生体膜蛋白質との配位子交換のしやすさに支配されるとすると、水中で生じた錯体が安定であるほど生体膜蛋白質と配位子の交換が起こりにくい<sup>5)</sup>ため、 $^{203}\text{Hg}$  は取り込まれにくいことになる。塩素イオン錯体や水酸イオン錯体の生成を考慮して計算した Hg と有機化合物の条件安定度定数の対数 ( $\log K'$ ) は、システイン錯体で 26、EDTA 錯体で 11 である。つまり、システイン錯体のほうがずっと安定であり、生体膜蛋白質との配位子交換は起こりにくいことになり、実験結果と一致する。

すなわち、水中で生成した錯体の相対的な安定度に応じて魚のエラ表面で配位子の交換が起こって、取込量が左右されと考えられる。

## 参 考 文 献

- 1) 環境保健レポート（水銀・PCB に関する全国環境調査結果）：No. 33, 1-71, 日本公衆衛生協会（1975）
- 2) 田端健二：用水と廃水, 14, 1297-1303（1972）
- 3) 若林明子他：水生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—, 東京都公害研究所年報, 144-149（1982）
- 4) 四ツ柳隆夫・後藤克己：新版水の分析（日本分析化学会北海道支部編），第 3 版，化学同人，京都市，1981, pp. 371-374.
- 5) A. Ringbom：錯形成反応（田中信行，杉晴子訳），産業図書，東京，1965, pp. 310-311.