

界面活性剤のニジマスに対する亜急性影響について

若林明子 溝呂木 昇

1 目 的

化学物質が水生生物に与える影響を試験する方法としては、24～96時間の急性毒性実験が最も広く用いられている。しかし、特定の水生生物を用いて一定の条件で行われた急性毒性実験だけで実際の水域における化学物質の水生生物に対する影響を評価することは出来ない。すなわち、その水域の水質、対象となる生物の種類や成長段階、暴露される期間及び影響の現れ方を考慮する必要がある。

著者らは前報で24～96時間半数致死濃度 (LC50) に与える pH, 硬度, 塩分濃度等の水質条件並びに魚の種類や成長段階の生物条件の影響について調べ、短期間暴露における致死濃度がどの位の幅を持っているかを検討した¹⁾。

今回は暴露期間 1～28日間の LC50 の測定を行い、暴露期間の違いが致死濃度にどのような差をもたらすか、また、暴露濃度が魚の成長に影響を与えるかどうかを調べ、24～96時間 LC50 と 1ヶ月程度化学物質に魚が暴露された時の影響との間にどのような関係があるかについて検討を行った。

実験には供試化合物として短期間の影響実験で比較的数据の揃っている直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS), 硫酸アルキルポリオキシエチレン=ナトリウム (AES) 及びアルキル=ポリオキシエチレン=エーテル (AE) を、供試魚としてニジマス (*Salmo gairdneri*) をそれぞれ用いた。

2 実 験

(i) 材 料

供試魚：東京都水産試験場奥多摩分場で1月下旬に採卵し、2月上旬に発眼したニジマス卵の供与を受け、当研究所で2月28日と3月1日に孵化したものを水温約

12°Cで1ヶ月弱飼育して用いた。魚の平均体重は約300mgであった。

供試化合物：LASは花王株式会社提供のもので、純分は26.5%、アルキル鎖長は炭素数が10のものが約8%、11のものが約38%、12のものが約30%、13のものが約24%、14のものが微量で、アルキル鎖の平均炭素数は11.7である。

AESは日光ケミカルズ株式会社製で、純分は19.1% NaCl 3.2%、アルキル鎖長は炭素数が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%、平均エチレンオキッド付加モル数は3である。

AEは花王株式会社製で、アルキル鎖の平均炭素数は12、エチレンオキッドの平均付加モル数は6.5である。

希釈水：蒸留水 1ℓ中にCaCl₂・2H₂O 26.1mg, MgSO₄・7H₂O 17.7mg, K₂SO₄ 1.1mg及びNaHCO₃ 25mgを含むように調製した。この人工軟水の硬度は25mg/ℓである²⁾。

試験容器：2ℓポリエチレンびんの上下両端を切り、底にサランのネットを張ったものを、5ℓガラスビーカー中の試験液に半分以上浸かる状態で使用した。魚の成長に伴い5ℓのビーカーから10ℓのビーカーに容器を順次交換していった。

試験水：上記の界面活性剤の濃厚溶液を希釈水で所定濃度に希釈して調製した。試験水の濃度は5段階とし、各濃度区の濃度比は $\sqrt{2}$ とした。なお、対照1と2の試験水は希釈水を用いた。

(2) 方法

JIS K0102-1985に準じて行い、暴露期間ごとのLC50を求めた。まず、試験容器のポリエチレン容器に供試魚を10尾ずつ入れ、希釈水で実験時と同じ水温で24時間順化した。ついで、水温を一定にした試験水に順化

の終わった供試魚をポリエチレン容器ごと移し実験を開始した。実験中、24時間毎に供試魚の観察を行って魚の生死及び遊泳状態を記録すると同時に死亡魚は取り出した。試験水は、24時間毎に新たに調製して水温を整えたものと全量交換した。実験中の水温は9.9~11.4℃に、pHは6.6~7.2に保った。餌は毎日水替えの15~60分前に魚の体重の約6%を2~4回に分けてゆっくり投与した。

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、各経過日数におけるLC50を求めた。

また、28日目に生き残っている魚の体重を測定し、平均値及びその標準偏差を求めた。更に、対照魚17尾を1群とした体重の平均値と、各濃度区の魚の体重との平均値の差をt検定によって検定した。

(3) 水質測定

LAS 2.8mg/ℓの濃度区では途中3回水替えの前後に採水を行い、液体クロマトグラフィーで既報の方法により濃度のチェックを行った。

3 結果と考察

(1) 水質

実験期間中の試験水の溶存酸素濃度は対象1の25日目に5.2、26日目に5.5、AE 0.7mg/ℓの22、23日目に5.6、24日目に5.2、25日目に4.6mg/ℓに下がったほかはいずれも6mg/ℓ以上であった。また、LASの濃度は24時間後でも調製時の80%以上はあった。JISでは試験水の溶存酸素濃度を5mg/ℓ以上に維持することと規定しているが、今回の実験ではおおむねこの基準を確保でき、かつ界面活性剤濃度の低下も少なく、実験条件は比較的良好であった。

(2) 魚の状態の変化

LASに暴露した魚では鼻上げ状態を経由して短時間横転して、またAESに暴露した魚では短時間水底で横転して死ぬ魚が殆どであった。それに対してAEの場合には長時間横転してから死ぬ魚が多かった。しかし、1.0mg/ℓのAEに暴露した実験ではかなりの魚が横転後再び正常に近い状態に戻った。また、AEの1.4及び1.0mg/ℓの場合は暴露時間が長くなると体色が黒化するものが多かった。

(3) 暴露期間とLC50

図1に1日から28日までのそれぞれのLC50を示し

た。暴露期間の違いによるLC50の変化のパターンは界面活性剤の種類によってかなり異なった。すなわち、LASでは暴露期間1~4日ではLC50はあまり変化しないが、その後7日目まで著しく減少し、その後余り変化はなかった。AEでは、LC50は1~2日で大きく減少し、その後は少しずつ減少したがその変化は28日まで余り大きくはなかった。それに対してAESでは、2~5日まであまり変化しないが、その後21日までずっと少しずつ減少し、その後はあまり変化しなかった。しかしながら、いずれの界面活性剤でも28日付近ではLC50値は比較的安定してきており、亜急性毒性を調べるにはこの程度の期間実験を行えば再現性のある値が求められることが分かった。既報及びこの実験で短期のLC50は4日程度の暴露期間で安定した値となることが分かっている。そこで、28日のLC50を4日のそれと比較してみるとLASで約2/3、AESで1/3、AEで約3/4であった。すなわち、1ヶ月程度のLC50は4日程度のそれと比較すると著しく減少し、致死影響が強くなることが分かった。

(4) 成長に及ぼす影響

成長に及ぼす界面活性剤の影響を表1に示した。28日目の各濃度区の魚の体重を対照と比較すると、LAS 2.8mg/ℓで61%、2.0mg/ℓで74%、1.4mg/ℓで80%であり、1.4mg/ℓ暴露時でも対照と有意の差が認められた。AESでも、1.4mg/ℓ暴露時に対照の71%で有意の差があった。一方、AEでは1.4mg/ℓ暴露の場合実験期間中殆ど餌を食べず、平均体重は対照の22%と

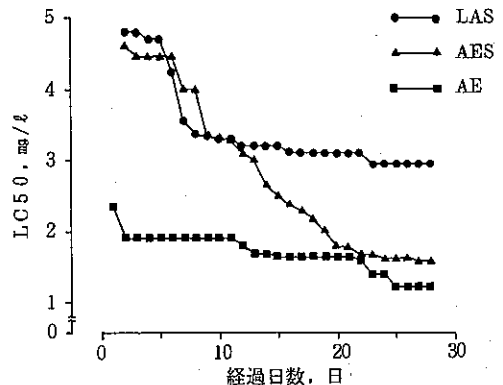


図1 界面活性剤のニジマスに対するLC50の経日変化

表1 ニジマスの成長に及ぼす界面活性剤の影響

界面活性剤	濃度	尾数	体重(平均±標準偏差),mg
LAS	2.8	6	390 ± 180**
	2.0	8	480 ± 140**
	1.4	9	520 ± 110**
AES	2.0	1	360
	1.4	7	460 ± 160**
AE	1.4	3	140 ± 17**
	1.0	8	540 ± 200*
	0.7	10	650 ± 150
	0.5	9	640 ± 150
対象1		9	690 ± 140
	2	8	600 ± 120

** 危険率1%で対象と有意の差あり

* 危険率5%で対象と有意の差あり

著しく小さかった。1.0mg/ℓ暴露時でも対照の83%と成長が遅かった。しかし、0.7mg/ℓ以下の濃度では体重は対照のそれと有意な差はなかった。

成長に影響の見られた濃度を28日のLC50と比較してみると、LASでは1/2以下であり、AESとAEでもかなり低かった。すなわち、これらの界面活性剤は致死濃度より更に低い濃度でニジマスの成長にかなりの影響を及ぼすことが分かった。

なお、LASとAESについては今回試験した最も低い濃度(1.4mg/ℓ)でも成長に影響が現れたため、成長に対する影響の現れる最低濃度を求めるためには更に低い濃度で試験を行う必要がある。

4 おわりに

今回の実験でLC50のカーブは28日付近ではほぼ一定に

なり、亜急性の致死毒性の評価を行うにはこの程度の実験期間が適当であろうことが推定出来た。また、ニジマスに対する界面活性剤の亜急性致死は急性致死の1/3から3/4の濃度で生ずることが分かった。

今後、対象物質を増やして亜急性毒性実験を行い、影響の種類とその現れる濃度を明らかにすることによって、短期間暴露での致死影響濃度から亜急性の影響を推定する方法、すなわち短期間暴露でのLC50にどの位の係数を掛ければ比較的長期間魚に影響を与えない化学物質の濃度を推定出来るかを検討していきたい。

5 謝 辞

最後にニジマスの供与を受けた東京都水産試験場に感謝いたします。

参考文献

- 1) 若林明子, 鬼塚聡: 魚類の急性毒性に影響を与えるいくつかの因子について, 東京都環境科学研究所年報, 1986, 102
- 2) 田端健二: ヒメダカを供試魚とするTLM標準試験方法の提案, 用水と廃水, 14, 1297 (1972)
- 3) 日本規格協会: 日本工業規格工場排水試験方法, 208 (1985)
- 4) 東京都環境保全局: 環境水中のMBAS, LAS等の分析結果, 昭和60年度公共用水域の水質測定結果, 71 (1987)
- 5) 若林明子他: 洗剤に用いられる界面活性剤の魚毒性に関する研究, 東京都環境科学研究所年報, 1984, 114