

化学物質のニジマスに対する亜急性毒性影響について

若林明子 溝呂木 昇
(水質保全部)

1 はじめに

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時間の急性毒性試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試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。即ち、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3種の陰イオン界面活性剤について暴露期間1～28日間のニジマス (*Salmo gairdneri*) に対するLC50 (半数致死濃度) 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カ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。

今回は更に多くの化学物質について1カ月程度の暴露によって現れる亜急性影響を調べる為に、供試化合物として短期間の影響試験で比較的データの揃っている α オレフィンスルホン酸ナトリウム (AOS)、トリブテルホスフェート (TBP)、硝酸銅 (Cu) について同様の試験を行った。

また、前回の追加試験として直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) と硫酸アルキルポリオキシエチレン=ナトリウム (AES) のニジマスに対する成長影響試験も併せて行った。

2 実験

(1) 材料

供試魚: 東京都水産試験場奥多摩分場で1月上旬に採卵し、1月下旬に発眼したニジマス卵の供試を受け、当

研究所で2月9日～2月11日に孵化したものを水温約12℃で1カ月弱飼育して用いた。魚の平均体重は約111mgであった。

供試化合物: AOS はライオン株式会社製のもを常法により精製した。アルキル鎖長は炭素数が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。

TBPは和光純薬株式会社製特級品を用いた。

Cuは関東化学株式会社製銅標準液1000mg/ℓ (0.1 mol/ℓ 硝酸溶液) を等モルの水酸化ナトリウム溶液で中和後希釈して用いた。

LASは花王石鹼株式会社提供のもで、純分は26.5%、アルキル鎖長は炭素数が10のものが8%、11のものが38%、12のものが30%、13のものが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%、平均エチレンオキシド付加モル数は3である。

希釈水: 蒸留水にCaCl₂・2H₂Oを26.1mg/ℓ、MgSO₄・7H₂Oを17.7mg/ℓ、K₂SO₄を1.1mg/ℓ、NaHCO₃を25mg/ℓとなるように溶解して調製した (硬度: CaCO₃として25mg/ℓ²⁾。

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水に半分以上浸かる状態で使用した。魚の成長に伴い5ℓビーカーから10ℓビーカーに容器を順次交換していった。

試験水: 上記の化学物質の濃厚溶液を希釈水で所定の濃度に希釈して調製した。試験水の濃度は6～10段階とし (追加試験は2段階)、各濃度区の濃度比は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

JISK 0102-1985³⁾に準じて暴露試験を行い、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、希釈水で試験時と同じ水温で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試験を開始した。試験中、24時間ごと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を取り出した。試験水は、24時間ごとに新たに調製して水温を整えたものと全量交換した。試験中の水温は10.2~10.9℃に、pHは6.9~7.5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。

試験期間中の試験水の溶存酸素濃度はいずれも6mg/l以上であった。

実験終了後、対数方眼紙に化学物質の濃度とその時の死亡率をプロットし、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、平均値及び標準偏差を求めた。更に、対照魚20尾を一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 結果と考察

(1) 魚の状態の変化

AOSとCuに暴露した魚では、短時間水面で横転した後死ぬものが殆どであった。Cuでは0.022~0.011mg/l暴露時に魚が人の気配に過敏症状を示した。一方、TBPに暴露した魚は実験開始直後に死んだもの以外は水底で長時間横転後死んだ。また、致死濃度よりかなり低い濃度でも、横転し時々短時間泳ぐのみで餌も殆ど食べない魚が多かった。

(2) 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化学物質の種類によってかなり異なった。AOSでは暴露期間の違いによるLC50に差は余り大きくなかった。TBPでは1~15日までLC50は殆ど変化しなかったが、それ以後は急激に減少し、実験終了の28日目でも安定しなかった。Cuでは暴露初期のLC50は大きく変化した。10日目位から余り変化しなかった。この結果から

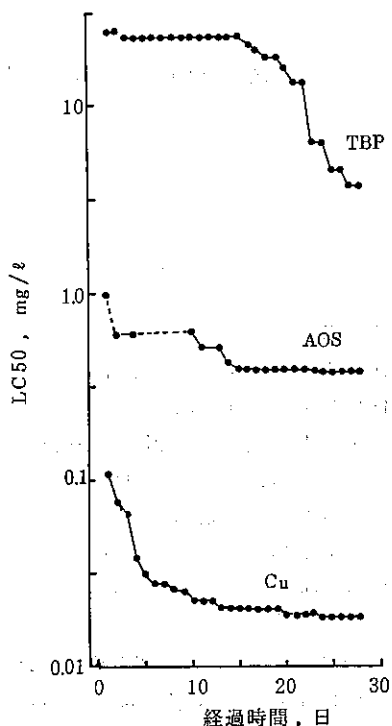


図1 LC50の経時変化

AOSやCuでは前報で報告したLAS, AES, AEと同様に28日付近でLC50は比較的安定してきており、亜急性致死濃度を調べるには、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。しかし、TBPでは横転し、餌を殆ど食べない魚が実験期間中徐々に死亡したために最後までLC50は安定せず、正確な亜急性致死濃度値は求められなかった。

前報と同様に28日のLC50を通常最も良く用いられている4日のそれと比較してみると、AOSで3/4、TBPで2/5、Cuで1/2であった(表1)。この結果から

表1 化学物質のLC50

化学物質	LC50, mg/l					
	1日	2日	4日	7日	14日	28日
AOS	(1.0) ⁴⁾	(0.78) ⁴⁾	(0.78) ⁴⁾		0.62	0.58
TBP	14.0	14.0	13.7	13.7	13.7	5.7
Cu	0.13	0.088	0.058	0.044	0.031	0.026

AOS では急性致死影響濃度と亜急性致死影響濃度は余り差はなかったが、TBPやCuでは短期間暴露時に比較して比較的長期間暴露時にはかなり低濃度でも致死影響を示した。特にTBPはより長期間の暴露でLC50は更に低下することが図1から予想できる。

(3) 成長に及ぼす影響

成長に及ぼす化学物質の影響を表2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、AOS 0.50 mg/ℓで60%、0.35 mg/ℓで73%であり、0.35 mg/ℓ暴露時でも対照と有意の差が認められた。しかし、0.25 mg/ℓ以下の暴露では対照と有意の差はなかった。TBPでは8.0~4.0 mg/ℓ暴露時に生き残った魚の平均体重は、対照の約30%と著しく低かった。2.8 mg/ℓ暴露でもその平均体重は対照の1/2以下で、今回の実験では成長に影響の出ない暴露濃度は求められなかった。Cuでは0.022~0.016 mg/ℓ暴露時で平均体重は対照の75%、0.011 mg/ℓ暴露時に85%と共に対照と有意

の差を示した。なお、それ以下の濃度では対照と有意の差は認められなかった。LASとAESでは共に1.0~0.7 mg/ℓ暴露時の平均体重は対照の約80%で有意の差があった。

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、AOS, TBP, Cu, AES で約1/2で、LASでは約1/4であった。即ち、これらの化学物質は致死濃度に比較してかなり低い濃度で成長に影響を及ぼすことが分かった。

更に、亜急性の成長阻害を短期のLC50（4日間LC50）と比較してみると、AOSで約1/2、TBPとCuでは約1/5、LASとAESでは更に低い濃度で成長に影響が現れることになる。

4 おわりに

今回と前回の試験から化学物質の亜急性致死は急性致死の1/4から3/4の濃度で生じることが分かった。また、短期のLC50の1/5の濃度でもいくつかの化学物質はニジマスの成長に影響を及ぼすことが分かった。このため、化学物質の魚に及ぼす亜急性影響を短期のLC50から見積もる場合にはかなりの安全係数を掛ける必要がある。

5 謝 辞

ニジマスの供試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, 溝呂木昇: 界面活性剤のニジマスに対する亜急性影響について, 東京都環境科学研究所年報1988, p.129~131.
- 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, 用水と排水, 14, p.1297 (1972).
- 3) 日本規格協会: 日本工業規格 工場排水試験方法, p.208 (1985).
- 4) 若林明子ら: 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, p.114~118.

表2 成長に及ぼす界面活性剤の影響

化学物質	濃度, mg/ℓ	尾 数	平均±標準偏差 (mg)
AOS	0.50	8	304 ± 50 **
	0.35	10	368 ± 87 **
	0.25	9	459 ± 142
	0.18	10	469 ± 93
	0.13	10	477 ± 88
TBP	8.0	3	155 ± 20 **
	5.7	5	163 ± 24 **
	4.0	7	154 ± 44 **
	2.8	6	230 ± 59 **
Cu	0.022	7	373 ± 141 *
	0.016	9	381 ± 83 **
	0.011	10	426 ± 47 *
	0.0078	9	460 ± 158
	0.0055	10	456 ± 104
LAS	1.0	10	414 ± 72 *
	0.71	10	404 ± 68 *
AES	1.0	6 (10) #	394 ± 61 **
	0.71	6 (10) #	400 ± 83 *
対 照	1	10	508 ± 165
	2	10	490 ± 120

**危険率1%で対照と有意の差あり

*危険率5%で対照と有意の差あり

#10尾生存していたうちの任意の6尾を計測