

水産生物の斃死現象に関する研究 一 II

斃死生物体からの P C P の検出方法及び 2, 3 の
実地応用例について

箕 田 冠 一

I ま え が き

昭和 35 年夏期より以降田植時期と前後して連続的に起る大規模な水産生物の異常斃死事故の原因を明らかにするため、当场では各種の試験研究を実施したが、その一環として、標記の問題を研究し或程度の好結果を得たので報告する。従来、この種斃死問題に対してとられた手段は、早急な現場環境調査、生物試験、病理組織学的方法等であった。今後直接斃死体から斃死原因を探し出す様な方法が確立されれば、最も有力な、直接的な根拠として、問題の再発防止、対策等に資する所が大であろう。

なお本研究はその一部については 37 年 8 月東京都で開催された P C P 尿素研究会の席上で口頭発表している。

II 実 験 方 法

P C P について幾多の実験を繰返している間に筆者は水産生物の斃死と云う現象に一つの仮説を持つに到った。多くの毒性等は主に実験動物の体内にどれ程の量がどの様にして与えられどの様な反応を示すかで表現されている。然るに水産界でのこの種の問題は、環境水にどの程度の濃度与えられ、どの様に反応したかのみで表され、論じられている場合が多い。そこには外囲水の毒物の濃度のみがあつて、反応の主たる、水産生物自体と毒物と関係に対する考察が脱けている。

第 I 報にも報じた通り環境水の異常を捉えることが非常に困難なこともあり、且つ水に対する P C P の分析法を検討している間に、固形物からの抽出定量の可能性も考え得る様になつたので、水産生物に毒性を発揮する物質の一種として P C P が生物体中において如何なる行動をとるかを目標に、研究に着手した。実験に着手するに当って立てた一応の仮説とも云うべきものは、外囲水中の P C P で水産生物が致死するのは、生物体表のいずれかの部分から P C P が体内に侵入し、体内のいずれかの機能を損う濃度になって始めて致死と云う反応となるのではないかと云うこと。又外囲

水中のPCP濃度は、生物体への作用（或いは侵入）速度に主に作用するのではないかと云うこと。更に毒性生物試験で確められる様に濃度と致死時間との間には逆相関があることから、生物体内に入って毒性発揮する物質（体内で変化をうけると否とにかかわらず）の濃度と、外囲水の濃度、水温等の間にはかなり規則的な、数学的な関係があるに違いないこと。等であった。これらを念頭に第1段階として、生物体中に入ったPCPを出来るだけ正確に定量し、出来得れば致死体内濃度とでも云うべきものを見出すことを目標とした。この実験は主に37年のPCP撒布時期までに行われたもので当時、この種の観点からの研究は殆んどなかったため、裁判化学¹⁾の方法を唯一の手懸りに目標の達成に努力した。

1) 供試生物

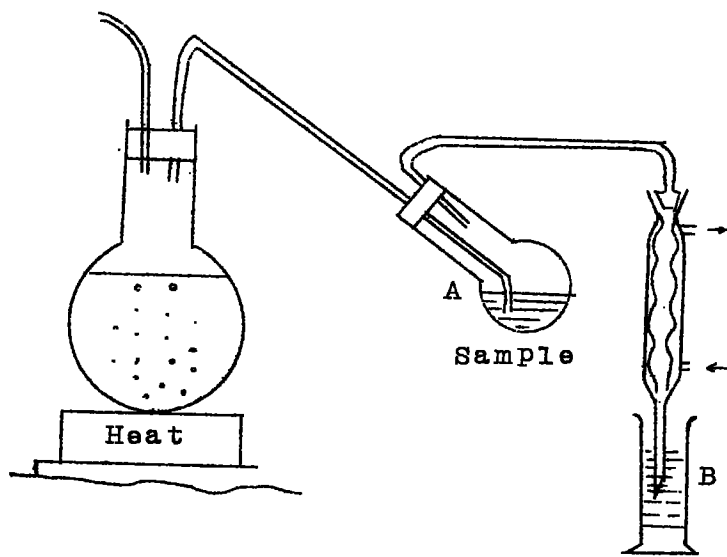
イケチヨーガイ *Hyriopsis Schlegeli* を用いた。

2) 供試薬品

PCP-Na 25%粒剤（PCP協議会から送付をうけた供試品）

3) 分析方法

PCP-Naは酸性水中にあってはPCP-OHの形となりこの状態では容易に有機溶媒に移行し且つ蒸溜によって溜出する。当初の予備実験では、貝体に吸着したものをアルカリ性水溶液



第1図 蒸溜装置略図

で浸出後酸性化しベンゼン、エーテル、キシロール、クロロホルム等の有機溶媒で抽出する等の実験を繰り返したが結果が思わしくないため、結局、裁判化学の方法に倣って、酸性水蒸気蒸溜法を採用した。この方法の概要を記すと、試料を第1図のAに入れ、酸性とする。これには当初10%酒石酸を過剰に入れていたが後HClに切替えた。

この状態で50cc溜取し、(約10分間位)これを供試水として第I報通りサフラニーンO変法で比色分析する。

この方法でDW+PCP-Na(濃度1.0ppm)のSampleで回収率をみたがその結果は、5回の平均で91%、最大94%、最小86%の値が得られた。

本実験はイケチヨーガイで行ったので貝肉はハサミで細切し均一化する様にしてから10grを秤取して供試した。

水の場合はこの方法で、蒸溜時間は充分であるが、生物体に吸着されたものを溜取するのに充分であったかどうかは疑問である。

後日、分析法を更に検討改良してからの実験ではこの時の実験より高い濃度になっている。

4) 実験方法

円筒型ガラス水槽7ケを用いて3.0~0.1 ppm と Blank の試験区を設け、これにイケチヨ一ガイ各1ケあてを投入した。24時間放置して取上げて冷蔵し順次供試した。実験水量は10ℓ 水温は21~22℃であった。

III 実験結果及考察

本実験で得られた結果は第2表に示すとおりであった。

第2表

No.	PCP-Na濃度	供試水量	肉重	体内濃度	24h後
1	3.0ppm	10ℓ	115	0.144 mg/10g	致死
2	2.0	"	75	0.104 "	"
3	1.0	"	65	0.128 "	"
4	0.7	"	70	0.068 "	生存
5	0.3	"	80	0.048 "	"
6	0.1	"	90	0.008 "	"
7	Blank	"	80	0.006 "	"

この実験結果は明らかにPCPの外囲水濃度に応じてPCPと同様な化学的行動をとる物質がイケチヨ一ガイ体内に蓄積されていることを物語って居る。

この物質が真にPCPであるかどうか厳しい批判が必要なことは勿論であるが、Blankでの値と

比較してみる時、常識的にはこれがPCPであると考えるのはそれ程不当なこととは思えない。又本分析方法中には水蒸気蒸溜と云う操作が入っているから、仮にサフラニン-O法のみではPCPと同一行動をとる他物質がかなり考えられても、本方法で検出される機会は一段と少くなるであろう。

さて、ここに検出された物質がPCPであるとする、当初仮定した仮説はかなり具体性をもつてくることになる。

- 1) 致死したものと生残したものと間にはかなり明瞭な濃度差が表れていること。
- 2) 非常に薄い方の濃度でも、外囲水の濃度に応じて体内に蓄積されて来ていること。
- 3) 外囲水濃度に比し著しい高濃度で体内に存在すること。仮に両者を同一のppmで表すと体内濃度はmg/10gの価の100倍となって、外囲水よりもずっと大きい値となること。
- 4) 生存貝には外囲濃度が反映しているが、斃死貝にはこれがなく、恐らく1では短時間に致死体内濃度に達し、以後2,3と順次この濃度に達して、致死して行ったと考えられること。
- 5) 本法で定量されたものが全体の何%に当るかは、不明であるが、本法では一応100ppm前後以上の体内濃度に達すると致死すると考えられる。
- 6) 僅か乍らBlankに少量の同様物質が見出されたが、量的には全然問題とならないにしても質的には欠点の一つとなるかも知れない。

等の点が考えられる。

Ⅳ 実地応用例

上記の様な実験室的実験を繰返している間にも、Fieldでは次々に水産生物の異常斃死が起つて来た。よって不完全ではあるがこれらの実験を基礎として、実際に天然で起った斃死事件についてこの方法で、斃死生物を分析してみた結果を2.3記載する。

1) 37年6月30日 野洲郡守山町小浜、神保真珠鵜飼沼漁場で惹起した斃死事故。

連絡をうけてすぐに調査を実施。その折持帰ったイケチヨーガイを分析したもの。

第3表

№	生死	肉重	体内濃度	備考
1	生貝	130g	0.042mg/10g	懸垂養殖
2	生貝	110	0.034	・
3	生貝	85	0.038	地まき養殖
4	死貝	70	0.036	・
5	死貝	170	0.074	・

この時は水中からはPCPの検出は認められなかった。

さきの室内実験から見ると、かなり低い値で致死している。これは地まきと云って、底土上に直接まいて養殖しているのかかなり環境が悪く酸素不足等のため、抵抗性が弱くなっているためと思われた。懸垂養殖中のもの

のは0.04mg/10g程度でも生存している。これらのsampleは採取したらただちにビニール袋に入れて標識し携帯用のアイスボックスに入れて運搬した。

2) 37年7月10日 草津市志那町志那真珠漁業生産組合柳平養殖場で起った斃死事故の例

№	生死	肉重	体内濃度	備考
1	生	65g	0.020mg/10g	水質分析不検出
2	生	50	0.021	・
3	死直後	55	0.061	・
4	頻死	35	0.069	・
5	死直後	45	0.098	水層0.23ppm検出

sampleイケチヨーガイ、本問題の時は直ちに行った現場調査で水中から0.23ppmと云う比較的高い濃度のPCPが検出された。貝体の分析からもPCP様物質が多量に検出され、且つその濃度は死貝に多く、生貝には比較的少なかった。

諸般の状況から、PCPによる斃死と見なし得るものと考えられた。なおこれらのPCP濃度はいずれもPCP-Naとしての濃度で表している。

V ま と め

斃死原因を明らかにするための最も端的な方法として、現場に残される確実な手懸りである斃死生物体中から原因物質を化学的に見出す方法を、イケチヨーガイ、PCPを材料として検討し、PCPの斃死問題については或程度現場にも適用出来る見通しを得た。これらの主な点を要約すると以下の通りである。

- 1) 生体からのPCPの分離には各種の方法を試みて、結局、酸性水蒸気蒸溜法を採用することとした。分離したPCPは前報のサフラニンO法の変法で定量する。
- 2) 本法で水をSampleとした場合の回収率は5回の平均値で91%と良好であったが生体に吸収された状態のPCPを何%回収出来るかは不明である。
- 3) イケチヨーガイをPCPの薬液に24時間つけて後採上げて分析した結果、斃死したものはいずれも体内に100ppm以上のPCP様物質を含有して居り、生残したものにも、実験した外圃水のPCP濃度に応じた蓄積量が認められた。
- 4) この実験から致死するにはそれ相応の体内濃度が蓄積されるらしい。
- 5) 体内濃度は外圃水濃度に比し著しく高濃度に達する。
- 6) 本法で定量する範囲ではイケチヨーガイの致死体内濃度は100ppm位の所になるらしい。
- 7) 斃死と云う現象の理解には外圃水の濃度も勿論、本質的には体内に作用或いは蓄積された物質の量或いは濃度の方がより直接的且つ重要なものと考えられる。
- 8) 本法で定量された物質は諸般の事情から恐らくPCPに違いないとは考えられるが、Blankに僅か乍ら同様物質が検出された点、又サフラニンO法には多くの妨害物がある等の点から今後更に厳密に検討するべきである。
- 9) 本法で現場の斃死事故の際のSampleを分析したが室内実験と同様な結果が得られ今後の本問題に明るい見とおしを得るに到った。

VI 文 献

- 1) 塚元久雄・奥井誠一 : 裁判化学 第3版・南山堂・東京・1-247・1959.
- 2) W.T.Haskins : Colorimetric Determination of Microgram Quantities of Sodium and Copper Pentachlorophenates. Anal. Chem. Vol 23 No11・Nov 1951・1672-1674.

