

凝集沈澱剤EB-a145およびPACのニゴロブナ、 ホンモロコおよびアユに対する毒性

藤原公一

水中の懸濁粒子の凝集沈澱剤として試作されたEB-a145および従来から同凝集沈澱剤として用いられてきたポリ塩化アルミニウム（PAC）の琵琶湖産重要魚種に対する毒性を検討したので、その結果を報告する。

I. ニゴロブナおよびホンモロコに対するEB-a145およびPACのLC₅₀

材料および方法

供試魚 1985年春に滋賀県水産試験場で採苗されたニゴロブナ *Carassius auratus grandoculis* およびホンモロコ *Gnathopogon elongatus caeruleus* を同年11月に供試した。なお、これらの魚は試験液の調製に用いたのと同じ地下水中で一昼夜馴致したのち供試した。またこの馴致期間中は無給飼であった。

供試薬剤 林化学工業株式会社から提供されたEB-a145*（Lot. 506002）およびラサ工業株式会社製ポリ塩化アルミニウム（以下PACと略記する）を用いた。

方法 等比級数的な濃度比となるように、地下水（水温20±1℃）で供試薬剤を希釈して、6段階の試験液を調製した。その後、直ちにこれらの試験液および対照の地下水を20±1℃のウォーターバス中に設置した450×295×300mmのガラス製水槽へ注入した。その中へ供試魚を11尾ずつすみやかに収容し、24時間後および48時間後に供試魚の斃死数を調べ、DOUDOROFFの作図法¹⁾によりLC₅₀を求めた。供試魚の斃死は、鰓蓋運動が停止し、ガラス棒による尾柄部への接触刺激に対して反応を示さないことで判定した。通気は試験中常時行い、試験液は24時間後に新しく調製した。

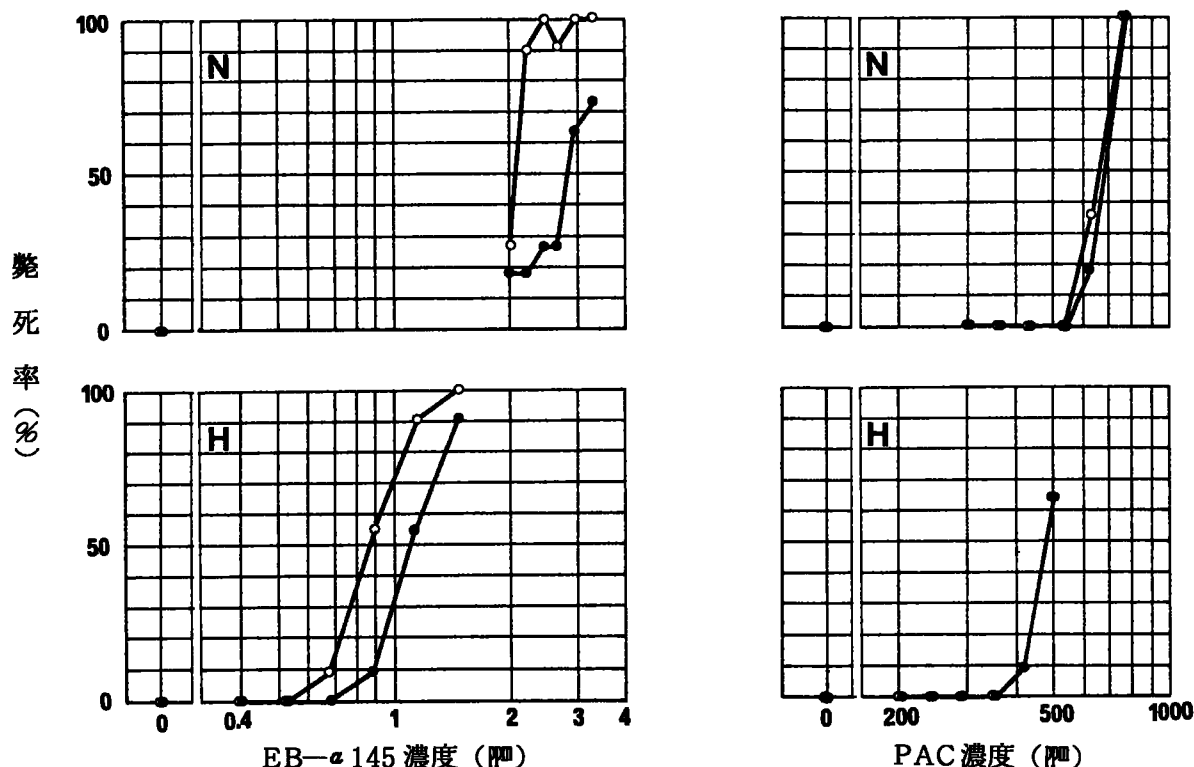


図1 EB-a145 およびPACの濃度とニゴロブナおよびホンモロコの斃死率との関係

●印は24時間後、○印は48時間後の薬剤濃度と供試魚の斃死率との関係を示す。
Nはニゴロブナ、Hはホンモロコを示す。

* EB-a145: アクリル酸・メタクリル酸ジメチルアミノエチル共重合物のマグネシウム塩とポリエチレニミンの複合体

表1 EB-a145およびPACのニゴロブナおよびホンモロコに対するLC₅₀ 測定データ

供試魚 (体重) (体長)*	供試薬剤		水 温 ℃	DO %	pH	斃 死 率		LC50	
	種 類	濃 度 ppm**				24 hr	48 hr	24hr	48 hr
						%	%	ppm**	ppm**
ニゴロブナ 1.97 ± 1.09 g 39.4 ± 9.7 mm	EB-α 145	0.00	19.0 ~ 20.4	101 ~ 106	8.20 ~ 8.37	0	0	2.82	2.07
		2.00		102 ~ 107	8.17 ~ 8.40	18	27		
		2.20		103 ~ 107	8.13 ~ 8.40	18	91		
		2.42		104 ~ 107	8.16 ~ 8.39	27	100		
		2.66		103 ~ 106	8.10 ~ 8.38	27	91		
		2.93		104 ~ 107	8.15 ~ 8.40	64	100		
		3.22		104 ~ 106	8.14 ~ 8.40	73	100		
ホンモロコ 1.48 ± 0.26 g 42.7 ± 2.8 mm	EB-α 145	0.00	19.1 ~ 20.4	104 ~ 108	8.20 ~ 8.39	0	0	1.11	0.85
		0.40		104 ~ 108	8.19 ~ 8.39	0	0		
		0.52		103 ~ 108	8.19 ~ 8.40	0	0		
		0.68		104 ~ 107	8.16 ~ 8.38	0	9		
		0.88		104 ~ 107	8.14 ~ 8.32	9	55		
		1.14		104 ~ 107	8.18 ~ 8.40	55	91		
		1.49		104 ~ 108	8.19 ~ 8.45	91	100		
ニゴロブナ 2.15 ± 1.25 g 39.1 ± 7.1 mm	PAC	0	19.0 ~ 19.7	101 ~ 106	8.16 ~ 8.30	0	0	678	647
		300		102 ~ 105	6.90 ~ 8.04	0	0		
		360		100 ~ 106	6.78 ~ 7.90	0	0		
		432		97 ~ 106	6.62 ~ 7.73	0	0		
		518		95 ~ 107	6.21 ~ 6.98	0	0		
		622		99 ~ 108	5.78 ~ 6.98	18	36		
		746		107 ~ 108	5.09 ~ 5.10	100	100		
ホンモロコ 1.46 ± 0.66 g 45.7 ± 6.4 mm	PAC	0	19.0 ~ 20.7	99 ~ 102	8.10 ~ 8.39	0	0	475	475
		200		99 ~ 102	7.43 ~ 8.24	0	0		
		240		100 ~ 102	7.29 ~ 8.17	0	0		
		288		100 ~ 102	7.19 ~ 8.11	0	0		
		346		100 ~ 103	6.78 ~ 8.03	0	0		
		415		100 ~ 103	6.51 ~ 7.91	9	9		
		498		100 ~ 103	6.52 ~ 7.63	64	64		

* ; 平均±標準偏差で表示

** ; V/V ppm

結果

試験結果を表1に示した。また両薬剤の濃度と供試魚の死亡率との関係を図1に示した。

試験中の水温およびDOは全区、全期間を通じて20℃付近および100%付近にあり、これらは供試魚にとって不適な値ではなかった。pHはEB-a145においては8.10~8.45の範囲にあり、各濃度区間で大きな差はなかった。しかしPACにおいては、その濃度の上昇に伴ってpHは低下する傾向がみられ、最低値は5.09となった。そのため、PACによる魚類の致死作用には、PAC自体の毒性の外、このpHの低下による影響が関与するも

のと思われる。

求められたEB-a145およびPACのLC₅₀(表1)は、すべてホンモロコの方がニゴロブナより低い値(例えばEB-a145の24時間LC₅₀はホンモロコで1.11 ppm、ニゴロブナで2.82 ppm)であり、これらの薬剤に対してニゴロブナよりホンモロコの方が感受性が強いことがうかがえる。またニゴロブナにおいても、ホンモロコにおいてもEB-a145のLC₅₀はPACのそれらよりも2オーダー低い値(例えばニゴロブナに対する24時間LC₅₀は、EB-a145では2.82 ppm、PACでは678 ppm)であり、EB-a145はPACに比べて非常に強い魚毒性を呈することが認められる。

II. EB-a 145 添加飼料によるニゴロブナ およびホンモロコの飼育試験

材料および方法

供試魚 I で述べたニゴロブナおよびホンモロコを1985年10月に供試した。

供試薬剤 I で述べたEB-a 145を供試した。

方法 飼料中のEB-a 145の濃度が50 W/Wppm または500 W/Wppm となるように、蒸留水で2000倍または200倍に希釈したEB-a 145を養鮎用配合飼料（日本配合飼料株式会社製）1kg当り100g添加し、十分に攪拌したのち風乾して試験飼料とした。対照飼料はEB-a 145溶液のかわりに同量の蒸留水を添加して作製した。

飼育試験に先だって、地下水を常注し、ゆるやかに連続通気を行っている600×295×360mmのガラス製水槽（6槽）に供試魚20尾ずつ収容し、対照飼料を適量与えて約2週間馴致飼育した。この間、投げ込み型ヒーターで水温を次第に上げ、最終的には25±1℃とした。その後、全魚を注意して取り上げ、MS-222（1：5000）で麻酔し、体重および体長を計測した後、すみやかにもとの水槽へもどし、翌日より試験飼料および対照飼料を与えて30日間飼育し、成長率および死亡率を調べた。

飼育試験中の各区の1日当りの給飼量 $En(g)$ はニゴロブナについては給飼率3%、飼料効率60%と考え、 $En = BW_o \times 0.03 \times (1 + 0.03 \times 0.6)^{n-1} = BW_o \times 0.03 \times 1.018^{n-1}$ とした。ここで BW_o は飼育試験開始時の各区の総魚体重（g）、 n は飼育日数（日）である。ホンモロコについては、給飼率5%、飼料効率50%と考え、

$En = BW_o \times 0.05 \times 1.025^{n-1}$ とした。

なお、試験途中で供試魚が斃死した場合には、各水槽内では個体間に体重差がないと仮定し、斃死尾数の割合

だけ給飼量を減じた。給飼回数は1日3回とし、1回に $En/3g$ ずつ投与した。

試験中の各区の注水量は306~324ml/min、水温は23.1~25.5℃、DOは94~100%、pHは7.99~8.25の範囲にあった。

結果

試験結果を表2に示した。

EB-a 145、50 ppm または500 ppm を含む飼料で飼育したニゴロブナおよびホンモロコの体重、体長、肥満度の変化率には、対照との間で大きな差は認められなかった。斃死はニゴロブナでは50 ppm 区で5%、ホンモロコでは50 ppm 区で10%みられたが、これらはいずれも事故死であった。飼育期間中の供試魚の健康状態は、外観および行動を観察した限りでは異常が認められなかった。

以上の結果より、飼料に吸着されたEB-a 145の経口毒性は無い、あいはある程度弱いと思われる。

III. EB-a 145 および PAC 添加水中でのアユ幼魚飼育試験

材料および方法

供試魚 野洲町沖の琵琶湖で1986年1月に沖曳漁法によって採集されたアユ *Plecoglossus altivelis* を同年3月に供試した。なお採集から供試するまでの間は、これらのアユを円型硬質塩化ビニール製水槽（容量1t）に収容し、十分な量の地下水を常流させ、養鮎用配合飼料を投与して、天然口長下で馴致飼育した。

供試薬剤 I で述べたEB-a 145とPACを供試した。

方法 EB-a 145 0.3 V/Vppm およびPAC 6.0 V/Vppm の試験水ならびに対照水を常注した飼育試験水槽（図2）に、馴致水槽から無作為に取り上げたアユを、

表2 EB-a 145 添加飼料によるニゴロブナおよびホンモロコの30日間飼育試験結果

魚種	EB-a 145 濃度	体 重 *			体 長 *			肥 満 度 ***			斃死率
		開始時	終了時	変化率**	開始時	終了時	変化率**	開始時	終了時	変化率**	
ニゴロブナ	0	1.56 ± 0.64	3.25 ± 1.37	208.3	36.01 ± 4.95	44.91 ± 6.25	124.7	3.18 ± 0.29	3.34 ± 0.42	105.0	0
	50	1.53 ± 0.50	2.94 ± 1.11	192.2	34.89 ± 4.37	44.18 ± 5.83	126.6	3.55 ± 0.61	3.25 ± 0.29	91.5	5
	500	1.42 ± 0.60	3.00 ± 1.48	211.3	34.89 ± 5.12	43.64 ± 7.37	125.1	3.34 ± 0.39	3.32 ± 0.48	99.4	0
ホンモロコ	0	1.52 ± 0.44	2.78 ± 0.63	182.9	45.70 ± 4.44	53.94 ± 4.01	118.0	1.55 ± 0.21	1.74 ± 0.18	112.3	0
	50	1.41 ± 0.51	2.64 ± 0.59	187.2	43.61 ± 4.83	52.50 ± 3.55	120.4	1.64 ± 0.13	1.81 ± 0.25	110.4	10
	500	1.76 ± 0.58	3.00 ± 0.87	170.5	47.38 ± 4.59	55.14 ± 4.39	116.4	1.60 ± 0.10	1.74 ± 0.17	108.8	0

*：平均±標準偏差で表示。

**：（終了時の値/開始時の値）×100

***：肥満度＝（体重・体長³）×10⁵

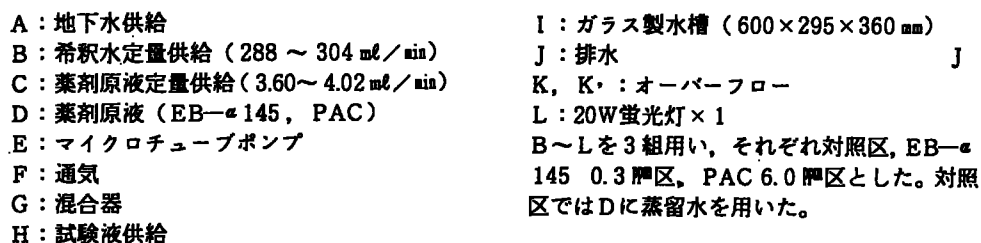


表3 EB-a 145 およびPAC添加水中でのアユ幼魚飼育試験結果

薬 剤	濃 度	体 重 *			体 長 *			肥 満 度 *			終了時 死亡率
		開 始 時	→ 終 了 時	変 化 率	開 始 時	→ 終 了 時	変 化 率	開 始 時	→ 終 了 時	変 化 率	
対 照	—	g	g	%	mm	mm	%			%	%
		0.422 ± 0.154	0.979 ± 0.693 (n=27)	232.0	39.37 ± 2.52	43.73 ± 7.76 (n=27)	111.1		1.02 ± 0.15 (n=27)	152.2	10.0
EB-a 145	0.3	(n=30)	0.546 ± 0.252 (n=14)	129.4	(n=30)	40.72 ± 4.52 (n=14)	103.4	(n=30)	0.76 ± 0.12 (n=14)	113.4	53.3***
PAC	6.0		1.022 ± 0.559 (n=28)	242.2		45.51 ± 7.46 (n=28)	115.6		0.94 ± 0.14 (n=28)	140.3	6.7

* : 平均±標準偏差, nは尾数.

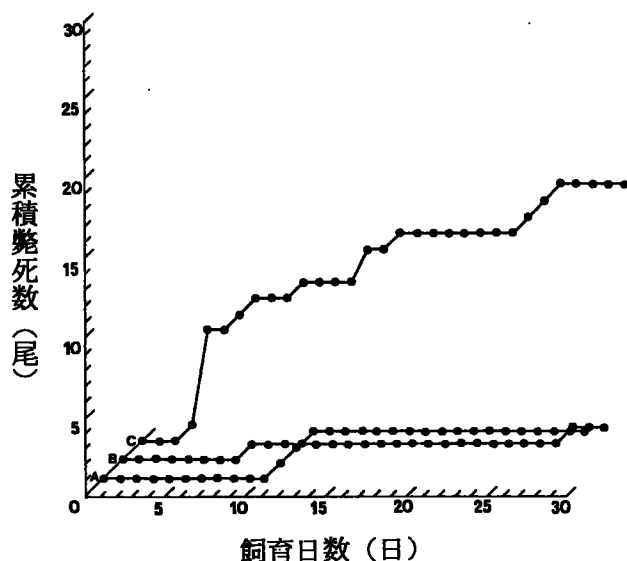
** } : 対照との間の有意差 (** : $\alpha < 0.05$, *** : $\alpha < 0.001$) を示す.

図3 EB-a 145 およびPAC添加中におけるアユの飼育日数と累積死亡率との関係

A : 対照区

B : PAC 6.0 ppm区

C : EB-a 145 0.3 ppm区

飼育開始時の各区の供試尾数は30尾。

IV. 考察

EB-a 145のニゴロブナとホンモロコに対する24時間 LC_{50} はそれぞれ2.82 ppmと1.11 ppmであったが、PACの同 LC_{50} はこれらの値よりも2オーダー以上大きい678 ppmと475 ppmであった(表1)。またEB-a 145の添加によってpHに変化はなかったが、PACの添加によってpHの低下がみられた(表1)。このPACによるpH低下の影響については、すでに淡水飼育ヒメダカ²⁾、海水馴致ヒメダカ³⁾およびアサリ⁴⁾で調べられており、ともにpHを中性付近に調整すると、未調整の場合よりも LC_{50} の上昇が認められている。一例と

して、淡水飼育ヒメダカにおけるPACの24時間 LC_{50} はpH未調整で300 ppm、pH調整(7.0)で1000 ppm<という数値²⁾があげられる。このようにPACの LC_{50} はpHを中性に調整することで極めて大きな値となることから、PACの毒性の主体はpHの低下作用にあると考えられる。

以上のことから、EB-a 145の魚類に対する急性毒性は非常に強いが、PACのそれは弱く、しかもpHを中性付近に調整することでさらに微弱化する、あるいは消失するといえる。

魚類に対する亜急性毒性を知るために、EB-a 145 50 ppmと500 ppmを含む飼料でニゴロブナとホンモロコを30日間飼育した時、中毒症状はみられなかった(表2)が、EB-a 145を0.3 ppm含む水中でアユ幼魚を30日間飼育した場合には強い中毒症状がみられた(表3、図3)。またPACを6.0 ppm含む水中でアユ幼魚を30日間飼育した場合には肥満度の低下の他は中毒症状はみられなかった。

以上のことから、EB-a 145は経口毒性を長期的(30日間)にも示さないが、環境水中のそれは強い亜急性毒性を示すといえる。また環境水中のPACの亜急性毒性はEB-a 145に比べて弱い、まったくないとはいえない。

今日用いられている水中の懸濁粒子の除去法の一つとして、凝集沈澱法があげられる。これは水中の懸濁粒子の帯電を反対の電荷で中和、凝集させ、より大きな粒子に変えた上で沈澱分離させるという方法である⁵⁾。滋賀県ではこの凝集沈澱法によって水田の代掻き時に発生する泥水を水田中で除去しようという試みが1983年から行われてきた⁶⁾⁷⁾。その時、検討された凝集沈澱剤がEB-a 145とPACである。PACの有効使用量は水田10 a当り4 l、EB-a 145はその1/10といわれている*。水田の水深を10cmと仮定すると、水中濃度はPACでは400 ppm、EB-a 145では40 ppmとなる。これらは

* 滋賀県農業試験場、小林正幸氏 私信。

すべて遊離した状態ではなく、むしろ多くは泥粒子と結合した状態にあると考えられる。しかし、それらはともに広大な水田へ散布され、全散布量は非常に多くなるため、時として相当高い濃度で周辺水域へと流出することや、泥粒子に吸着、沈澱したものが再溶出という形で長期的に流出することが懸念される。したがって、先に述べたようにEB-a 145は急性、亜急性ともに魚毒性が非常に強いため、漁場の集水域では使用すべきではない。またPACはそれ自体の魚毒性は微弱であるが、散布量がEB-a 145の10倍にのぼり、しかもpHの低下作用があるため漁場の集水域での使用は勧められない。もし使用するのであれば、必ずその処理排水のpHの中和とそのモリタリングに努めなければならないであろう。

V. 要約

- 1) 凝集沈澱剤EB-a 145とPACの魚毒性を検討した。
- 2) ニゴロブナとホンモロコに対する LC_{50} (表1、例; ニゴロブナに対する24時間 LC_{50} はEB-a 145で2.28 ppm、PACで678 ppm) からEB-a 145はPACに比べて非常に強い急性毒性を呈すると判断された。
- 3) 飼料中の濃度が50 ppm または500 ppm のEB-a 145のニゴロブナとホンモロコに対する亜急性経口毒性は認められなかった。
- 4) アユに対して0.3 ppm のEB-a 145は強い亜急性毒性を示したが、6.0 ppm のPACの亜急性毒性は

微弱であった。

- 5) 代掻き時に発生する泥水を凝集沈澱処理するために、水田へEB-a 145やPACの散布が検討されているが、その散布量が多量であるため、漁場集水域では前者は使用すべきでなく、後者の使用には注意が必要であると結論された。

VI. 文献

- 1) DOUDOROFF, P., B.G. ANDERSON, G.E. BURDICK, P.S. GALTSEFF, W.B. HART, P. PATRICK, E.R. STRONG, F.W. SARBER AND W.M. VAN HORN 1951: Bio-assay Method for the Evaluation of Acute Toxicity of Industrial Wastes to Fish, *Sewage and Ind. Wastes* 23, 1380.
- 2) 金戸洋 1976: ポリ塩化アルミニウム PAC 250A の魚類による急性毒性 (未公表)。
- 3) 日本食品分析センター 1977: 海水馴致ヒメダカによる急性毒性試験 (未公表)。
- 4) 日本食品分析センター 1977: アサリによる急性毒性試験 (未公表)。
- 5) 佐野和生 1979: 水産養殖と水、第1版、サイエンティスト社、東京、pp. 70-98.
- 6) 滋賀県農業試験場 1984: 昭和58年度業務報告、p. 29.
- 7) 滋賀県農業試験場 1985: 昭和60年度滋賀の農業発展のための試験研究計画の概要、p. 36.