

環境化学物質の生物による濃縮とその予測検定試験法の開発

石 塚 皓 造 *

1. 生物濃縮性ならびにその検定試験法の必要性

近年数多くの種類の化学物質が産業廃棄物や生活排水、農業資材などの形で自然環境に投与され、それが拡散残留することにより直接又は間接に人間の生活に対し大きな影響を与えてきている。環境中に放出されて何らかの問題を生じさせる化学物質を環境化学物質と総称するが、それらの化学物質には自然環境中に生存する諸生物に取り込まれ、生物の活性を阻害するものがあり、自然保護の観点から問題化されている。そのみならず化学物質が自然生態系をめぐりめぐって終局的に人体内に蓄積されるという結果も生じ、人の健康の保護に不安を与える事態となっている。

このような自然保護の観点や人間の健康維持の観点から言って有害な化学物質はできるだけ環境中に放出されないよう処置せねばならないことは言をまたない。殺虫剤の DDT などこの一例であるが世界各国が使用中止を含む強い規制措置を講じても、その後数年経た今日いまだに環境中に残留し悪影響を与え続けているものである。そこでこれら化学物質が世の中に使われるより以前に、その化学物質の自然環境中における挙動性を明確に把握して使用の是非を検討しておかなければならぬ。化学物質がどういう風にとどの程度残留し、終局的には人間にとどの程度影響を与えるものかを予め推定しておく必要があるのである。

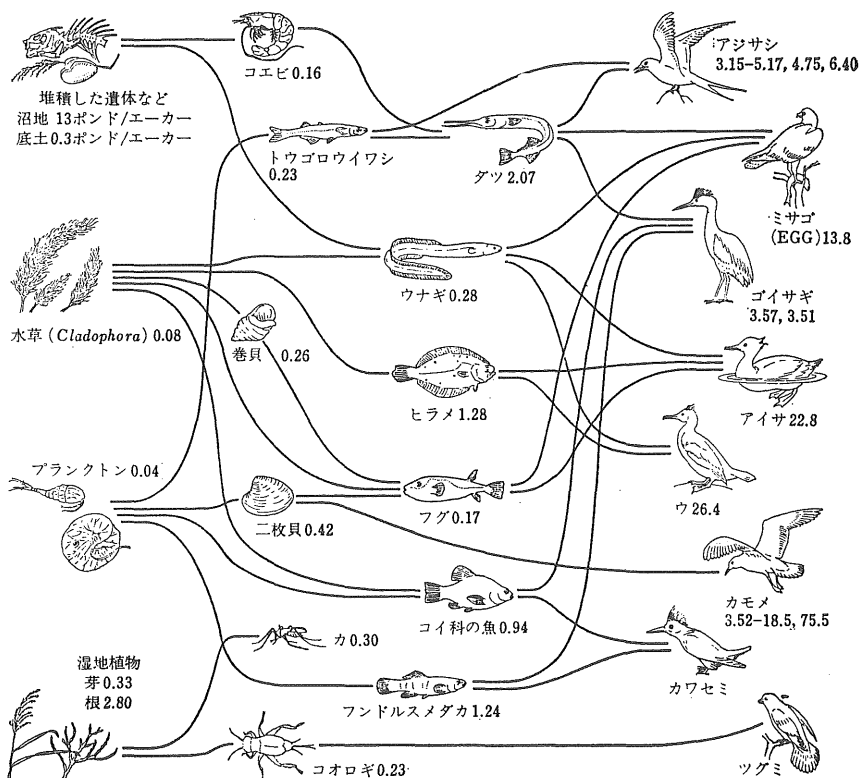
環境化学物質が自然環境中で循環する中で生物が関与する諸過程があり、その諸過程によって環境化学物質の化学的な形態が変わったり、分布集積の様相が影響を受けたりする事が今日明らかにされつつあるが、この生物に取り込まれる過程そのものが自然生態系の保全や人間の健康の維持に重要な意味をもつものなのである。この生物の関与する諸過程を見つめるに、それには二つの特徴が挙げられる。先づ第一には自然の生態系を構成している生物の種類間には一定の捕食関係があって一種の動的平衡が保たれているが、そこに化学物質が投入されてくると、一旦或る種の生物に取り込まれた化学物質は捕食関係に従って他の生物に移って行くという現象があるということである。これを食物鎖 (food chain) による蓄積と呼んでいる。生物から生物へと移るに従いますます高濃度となって体内蓄積されるという場合が数多く見出されている (第 1 図)。一方第二の特徴として生物個体とその周囲の外界に存在する化学物質を取り込む場合、より高濃度で体内に取り込む機能があるという点を挙げるができる。生体膜を通しての吸収場面において此の機能を積極的吸収 (active absorption) と称する。

* 応用生物化学系

これらの生物による蓄積面での諸特徴を基本として、環境化学物質は自然生態系に分布残留する様相が決定されてくる。その時物質によっては極めて著しく高い濃度で生物体内に蓄積され、人間の健康の維持に直接的間接的に思わぬ障害を与えることがある。

筆者らはこの方面の諸研究を総括し、現時点で実行可能な蓄積性検定方法を新たに開発した。その検定法の詳細に入る前に他の蓄積性検定方法について概括することとする。

生物による化学物質の蓄積性を検定する手法として、大別して2つの方向がある。1つは自然生態系を実験室レベルに出来るだけそのまま移してそこでの蓄積性を調べる手法であり、他の1つは単純な生物-環境系（例えば一種類の魚と水だけの系）をつくって、そこで蓄積性を解析する手法である。



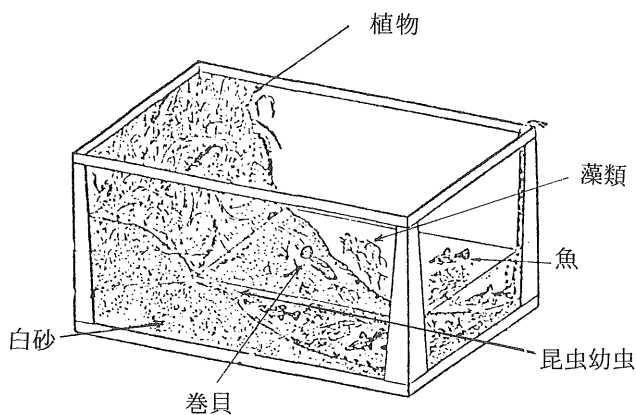
第1図 食物連鎖によるDDT残留物の濃縮。アメリカのロングアイランド付近の調査によるもので、生体全体中のDDT濃度を㎍（湿重量）で表わしてある。Woodwell (Scientific American, 1967年3月号) より。

2. モデル生態系による Metcalf らの手法

Metcalf ら^{1) 2) 3)} は農薬の代謝経路や代謝速度について動物種間比較を行う際にモデル生態系 (model ecosystem) なるものを考案した。これは複数種の生物を一つの系の中に共存させ、そこ

での農薬の分解が総体としてどうなるかを調べる為につくられたものである。ガラス水槽中に箱庭風に陸地、湖等もつくって夫々を棲み家としている生物を放ち、そこに農薬を投与するという手法である。

ではこのモデル生態系とは一体どういうものであろうか。第2図にその模式図を掲げる。25×30×45cmの大きさのガラス製水槽に15kgの白砂を入れ、それを傾斜をつけて盛り上げ、そこに12ℓの水を加えて水—大気—陸の三系が得られる様にした。そういった環境中に種々の生物を加えるのであるが、先づ植物としてソルガム（トウモロコシやキビに似たイネ科の飼料作物）を盛り上げられた白砂の上に播種し、水部分には藻（*Oedogonium cardiacum*）やプランクトン、ミジンコ（*Daphnia magna*）、巻貝（*Physa snail*）、カダヤシ（*Gambusia affinis*）などを放した。水と陸と



第2図 METCALF らのモデル生態系の模式図²⁾

の境界面にはヒトリガの幼虫（*Estigmene acreae*）を置いた。水部分には通気装置を設けて通気し、水槽全体を一定の気象条件の下に置くために人工的な植物生長制御室（ファイトトロン）に置いた。この場合ファイトトロンは気温26℃で、5000ft 燭光（54000ルクス）の強度の1日12時間照明という条件になっている。

試験の手順を述べてみよう。予めミジンコ、巻貝（10匹）、藻を水槽中に入れ、同時にソルガムの播種も行う。約20日間でソルガムは発芽生長して草丈が約15cmとなる。その間水槽中に加えられた各種水生生物はその環境に慣れてくる。ソルガムの葉の上にマイクロピペットを使って放射性同位元素で標識した化学物質 5.0 mg のアセトン溶液を滴加し植物体中に吸収させる。その時点でヒトリガ幼虫を水槽中に加え、ソルガムを摂食させる。その排泄物は水槽中の水部分に混入し、食物鎖に従ってミジンコ、巻貝、プランクトン等にとり込まれる。ソルガムを摂取しつくした幼虫はその後餓死するが、これら幼虫の死体も分解されて排泄物の場合と同様水生生物に取り込まれる。実験開始後26日目に300匹のボウフラ（*Culex quinquefasciatus*）、更に30日目にカダヤシ3匹を水槽中

に加える。その3日後、つまり実験開始後33日目で実験を終了する。化学物質は植物を出発とし昆虫の幼虫を通しミジンコ、プランクトン類→ボウフラ→カダヤシの径路やミジンコなど→カダヤシあるいは藻→巻貝といった食物鎖を経て移動する。当然植物根から排出されたものも含めて水中に溶けている化学物質又はその分解代謝物を水生生物が直接摂取する部分も見逃がせない。

魚、巻貝、藻、ボウフラ、水などに含まれる放射能を測定し、更に抽出精製操作を行って薄層クロマトグラフ技術により最終的に分解産物の同定・定量を行う。水生生物特に魚の体中の親化合物（最初に施用した化学物質をその後の分解代謝産物に対置して呼称する）の量と周囲にある水中の親化合物の量とを比較して生物濃縮性の大小を判定する。MetcalfらはEM値（ecological magnification value）という概念を提起したが、これは究極的には生物濃縮係数（concentration factor）の考え方をこの系に適用したものと見なすことができる。

$$EM \text{ 値} = \frac{\text{水生生物中の親化合物の濃度}}{\text{水中の親化合物の濃度}}$$

一方彼等は生物濃縮性と共に本来彼等の研究目的であった生物分解性を表わす尺度をつくり、化学物質の環境中における挙動を明らかにする手段の一つとしている。生物分解指数BI（biodegradability index）は次の如く表わされる。

$$BI = \frac{\text{生物体中極性代謝産物の量}}{\text{生物体中非極性代謝産物の量}}$$

ここでは魚と巻貝を食物連鎖の最上位に置き、それらの生物体中の化学物質量を測定してEM値を算出している。

EM値が大きければ大きい程生物濃縮性が高いと評価される。BIが大きいものは分解排泄が大きくなり従ってEM値が小となる傾向が示された。一例を第1表に示す。又この系によれば親化合物についてのみではなくその分解代謝についても濃縮性その他の挙動を知ることができる。DDT

第1表 モデル生態系を用いた有機塩素殺虫剤の生物濃縮性と生物分解性の検定結果の一例⁴⁾

殺虫剤名	E.M.* (カダヤシ)	B.I.** (カダヤシ)
DDT	84,500	0.015
DDE	27,400	0.032
アルドリシ	3,140	0.00014
ディルドリン	2,700	0.0018
エンドリン	1,335	0.009
ミレックス	219	0.0145
リンデン	560	0.091
ヘキサクロルベンゼン	287	0.46

* E.M. 生物濃縮係数

** B.I. 生物分解指数

についての結果をみると（第2表）、やはり濃縮性が高くEM値は84,500を示しており、一方極性

物質への分解代謝は遅く代謝をうけてもDDDやDDEのような非極性化合物に留まりそれ以上の代謝が進まない。それに対しDDTと化学構造が類似しているメチオクロルはEM値は140と低く、BIは大となっていて極性の変化生成物の存在比が大きくなっている。

このようにして各種化学物質の生物濃縮性を測定することができる。例えば放射性核種、微量金属、石油廃液、農薬、可殺剤、産業化学物質などがさし当り適用されねばならない領域のものとして挙げられる。

ここでこのモデル生態系の効用性について少し考えてみよう。この手法の第一の特徴は、複雑にからみあう自然の生態系構成要素を出来るだけそのまま取り入れて、蓄積性の性質や量的関係を明らかにしようとする所にあると思われる。検定システムに投入する化学物質の化学構造、物理的性状、投入方法等は検定者に明らかになっており、又検定の最終段階における各生物と水中に蓄積されている量の定量が行われるので、いわば最初と最後とを抑えてそこからの類推で中間過程における各要素間の関係を推定していき、その事によって自然生態系における化学物質の挙動の変動幅を予測するという筋立てとなっている。このモデル生態系を使って検定を行う場合、実験生物の種類が多いので、一定の実験条件をいつでもつくり出すという事は困難ではあるが、それでも大よその事は達成できるので、結果の再現性を得ることは可能であり、現にMetcalfらはその点についての検討を行って良い結果を得たと報じている⁵⁾。

しかし問題はこの実験系の再現性もさることながら、この系が自然を縮小して実験室レベルにしたものということになっている為一見得られた結果が即自然にあてはまると錯覚するところにある。そこに加える生物の種類、量、状態、その投入時期と検定終了時期などが変わるとEM値が変わる可能性がある。又土壌、水等の条件や気象条件によっても大きく変動するかもしれない。従ってこのモデル系の有効性が逆に限界性ともなっているのである。このモデル系では相当程度複雑な自然条件下の挙動を推測し得るという判断が前提になって組立てられているが、事実相当程度成功していると思われるがやはり限界性について厳しい注意が必要となる。生物の種類によっては考えも及ばない様な、高濃度で特定の化学物質を蓄積する場合があり、又生物によっては人間を最上位とする食物連鎖に重要な位置を占めているものもあり、そういった事がEM値に予想外の影響を与えることがある。自然生態系の構成要素が変わればEM値が変わることがあるという認識が必要であると思われる。後述するがこのモデル系を基本として多くの修正された系が提唱されているが、特定の化学物質についてモデル系間で結果の比較検討が必要であろうと思われる。

生態系構成要素の中のどの部分がどういう風になってEM値に影響を与えたものかを明らかにすることはこのモデル系では困難である。このモデル系は事柄を解析的ではなく総合的に検討することを本質としている。このモデル系の条件と著しく異なった様な自然の生態系に対してどれ程予測可能かという点については、系をばらして検討していくということはできにくい様になっている。そこで構成要素等各種条件を変えたモデル系をできるだけ多く作って検討を行うという事が實際上

の解決策となっている。

第2の特徴は、このモデル系を用うると先づ環境中における化学物質の分解過程を明らかにすることが出来る点である。同時に化学物質とその分解代謝物の生物に対する毒性も統合的に推定することができる。このように分解代謝物の挙動についても、同時に知見を得ることができる事は大きな利点といえよう。

ただ技術的にみて世代実験や生態系自体の安定性確認実験などのような長期間を要する課題には、必ずしも対応できるようにはなっていない点が指摘される。

現在このモデル系を用いて、各種化学物質の生物濃縮性を検定した例は枚挙の暇もない程多くある。ただEM値が具体的に出てきた時、その値をどの様に評価するかということと、環境汚染評価の中でそれをどう位置づけるかという点について煮つまった考え方が見受けられていない。

Metcalf らは、このモデル生態系の利用に関する応用面の一つとして、DDTに代り得る程の殺虫力を持ちながらも生物濃縮性は低いといった化学物質がないかを検索する手法としてこのモデル系を用いている(第3表)。その結果DDTの類縁化合物群の中から2-(p-ethoxyphenyl)-2-(p-methylphenyl)-1,1,1-trichloroethaneなどをその一例として見出してきている。

第2表 DDTとその類縁化合物のモデル生態系における挙動と分解性⁴⁾

	濃 度 (ppm)			
	水	貝 (<i>Physa</i>)	ボウフラ (<i>Culex</i>)	魚 (<i>Gambusia</i>)
DDT				
Total ¹⁴ C	0.004	22.9	8.9	54.2
p-p'-DDT	0.00022	7.6	1.8	18.6
p-p'-DDE	0.00026	12.0	5.2	29.2
p-p'-DDD	0.00012	1.6	0.4	5.3
極性代謝物	0.0032	0.98	1.5	0.8
メトキシキクロル				
Total ³ H	0.0016	15.7	0.48	0.33
p-p'-メトキシクロル	0.00011	13.2	...	0.17
p-p'-メトキシクロル・エチレン		0.7
HOC ₆ H ₄ HCCCl ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃	0.00013	1.0
HOC ₆ H ₄ CCCl ₂ C ₆ H ₄ OH	0.00003
HOC ₆ H ₄ HCCCl ₃ C ₆ H ₄ OH	0.00003
末同定物質	0.00009
極性代謝物	0.00125	0.8	...	0.16
メチオクロル				
Total ³ H	0.073	1.3	0.29	0.48
p-p'-メチオクロル	0.0018	0.539
p-p'-メチオクロル・エチレン	0.0006	0.199
CH ₃ SC ₆ H ₄ HCCCl ₃ C ₆ H ₄ SOCH ₃	0.0029
CH ₃ SOC ₆ H ₄ HCCCl ₃ C ₆ H ₄ SOCH ₃	0.0207	0.186	...	0.162
CH ₃ SOC ₆ H ₄ HCCCl ₃ C ₆ H ₄ SO ₂ CH ₃	0.0092
CH ₃ SO ₂ C ₆ H ₄ HCCCl ₃ C ₆ H ₄ SO ₂ CH ₃	0.0093	0.059
極性代謝物	0.019	0.058

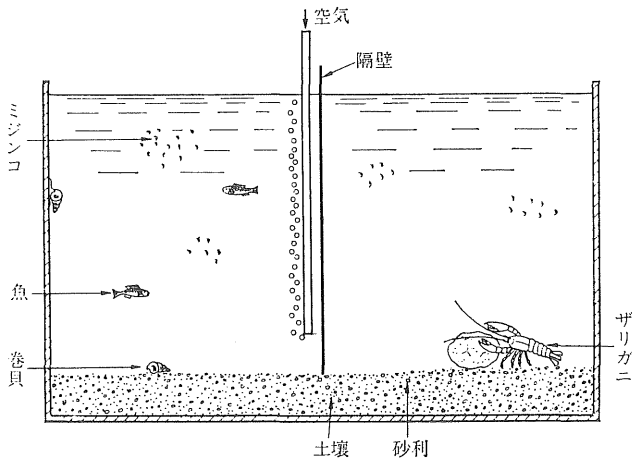
第3表 DDT類縁化合物の生物濃縮係数と生物分解指数³⁾

R ¹ C ₆ H ₄ CH(R ³)C ₆ H ₄ R ²			E. M.		B. I.	
R ¹	R ²	R ³	魚	貝	魚	貝
Cl	Cl	CCl ₃	84,500	34,500	0.015	0.045
CH ₃ O	CH ₃ O	CCl ₃	1,545	120,000	0.94	0.13
C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅ O	CCl ₃	1,536	97,645	2.69	0.39
CH ₃	CH ₃	CCl ₃	140	120,270	7.14	0.08
CH ₃ S	CH ₃ S	CCl ₃	5.5	300	47	0.77
CH ₃ O	CH ₃ S	CCl ₃	310	3,400	2.75	105
CH ₃	C ₂ H ₅ O	CCl ₃	400	42,000	1.20	0.25
Cl	CH ₃	CCl ₃	1,400	21,000	3.43	2.0
CH ₃ O	CH ₃ O	C(CH ₃) ₃	1,636	23,300	1.04	0.23
Cl	Cl	CH(NO ₂)CH ₃	112	31,392	3.27	0.009

3. Kearney らのモデル生態系

Metcalfe らの考案したモデル生態系を基礎として、幾つかのモデル系が提唱されてきている。前にも述べた様に種々異った構成要素を持つモデル系が多く出現して、複雑な自然環境の諸事例に、適合をはかる事がそもそもこういったモデル系の有効性の発揮に必須となるので、種々の型のモデル系が提唱される事は当然の帰結と考えることができる。

Kearney らは Metcalfe らのモデル系の中の白砂の代りに土壌を使って土壌要因が農薬の挙動に及ぼす影響を調べようと試みた。それに伴い土壌微生物は当然系に加わる事となるが、その他土壌に棲息する諸動物も、投入されることが可能となった。彼等は aquatic microecosystem と呼び第3図で示す様なモデル系を提唱したのである^{6),7),8)}。



第3図 Kearney の提案したモデル生態系 (aquatic microecosystem) の模式図

Kearneyは元々土壌中における農薬の分解を追跡する専門家であったが、自然環境中における化学物質の挙動を追跡するには、土壌の役割を無視する訳にはいかない、と考えたのである。モデル系に土壌を入れるということは、土壌を媒介とする生物を系に組み込むことができるという事と、土壌による化学物質の吸着や固着の過程が及ぼす影響について知見が得られるという事を意味する。

水槽の底面に土壌を敷きつめ、その上に砂利を置き、そこに水を入れて魚（crayfishやcatfish）、貝、ミジンコ、藻、水草などを加えた。底面の土壌には当然土壌微生物が生息しているが、ザリガニ、ナマズ、ドジョウなどの生物を用うこともできる。

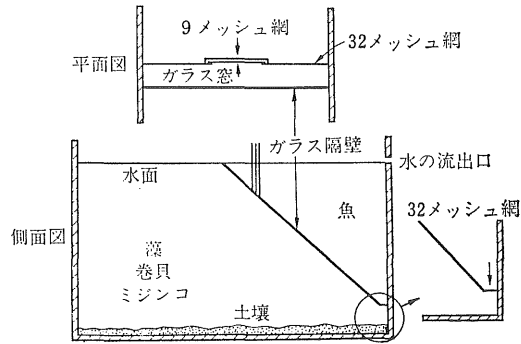
生物濃縮性を検定される化学物質を先づ放射性同位元素で標識し、そのものを土壌に混和吸着させて水系に懸濁施用する。Metcalfのモデル系では物質の循環は作物→虫→水生生物という経路をたどったが、この系では土壌→水生生物、あるいは土壌→土壌微生物→水生生物といった経路が考えられる。

Kearneyらが行った修正には土壌を加えた事の他にもう一つ大きな点がある。それは構成する生物間の捕食関係を考へて、同一水槽内に間仕切りをつくり、各種生物を別居させたり同居させたり、人為的に操作できる装置を考案したことである。Metcalfらのモデル生態系では水生生物特に魚を食物鎖の最終生物として、生物濃縮性を算出する方法を採っているが、その際、他の生物ははやくからモデル系の中に加えているのに、魚だけは開始後30日目に入れ、つまり最後の3日間しかモデル系内で飼育していない。これは魚がミジンコやボウフラを食べつくしてしまうことを避ける為に、取られた処置であろうと思われる。そこでもう少し長期間魚を系の中で飼育しその条件での濃縮性を検討する為に間仕切りを考案したのである。水をポンプで循環させたり、間仕切りをオーバーフローさせたりして（第3図）魚の住む部分とその他の生物の住む部分との水系を共通にする様にしたが、Isenseeら⁶⁾はその間仕切りに窓をつくったり一定メッシュの網を張ったりして魚とミジンコとの捕食関係を調節しながら長期間共存させる様工夫した（第4図）。

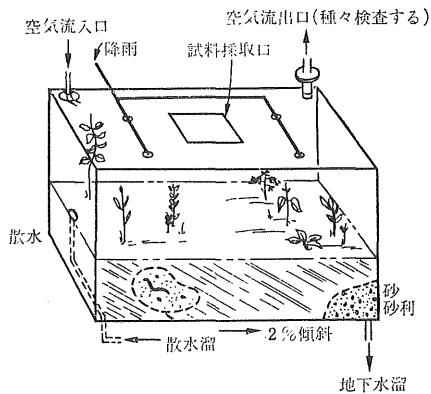
一方Metcalfらはこのような水生生物を中心としたモデル系のみならず、土壌—植物を中心としたモデル生態系をも考案した（第5図）。terrestrial model ecosystemと呼んでいる。この系は空気の出入口をつけた閉鎖したガラス槽に、土壌をつめ、そこに植物を生育させたもので、空気の出口ではそこに含まれる揮発性の化学物質やその分解産物などが捕捉されるようになっており、その他降雨装置や土壌溶脱装置も附属している。被検化学物質を土壌、植物の茎葉あるいは植物の種子などに含ませ、その後の土壌による吸着、揮発や共沸、土壌微生物による分解、植物体への吸収や体内移行、土壌からの溶脱といった諸過程を検討することができるようになっている。

4. その他のモデル生態系

以上述べたモデル系以外に規模の大きなものとして南部ら^{9),10)}が考案した河川モデルがある（第6図）。水路モデルをつくり、コブシ大の礫を並べ、それに藻類を付着繁殖させた。1～2週間後



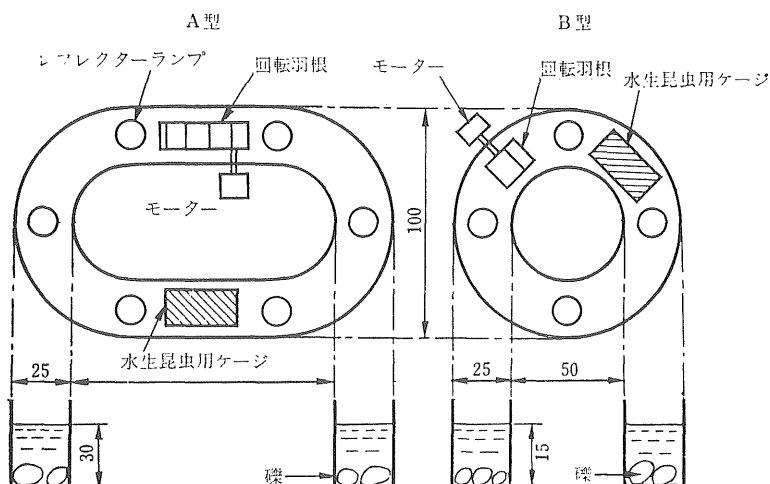
第4図 Isensee の考案したモデル生態系⁶⁾



第5図 土壌—植物系を中心としたモデル生態系
(terrestrial model ecosystem)³⁾

被検物質（彼等はメチル水銀を使用した）を投入し、藻類にとりこまれた頃合を見はからって水生昆虫（カゲロー）を移入し、更にそれらを捕食するウグイを加えた。水路の水は回転羽根により20 cm/secの速さで流れるようにし、水の更新は一定の手順に従って行う事としている。

他方規模の小さいものであるが特異的なものとして栗原・後藤らが提起しているマイクロソムの



第6図 南部らの河川モデル^{9),10)} (単位: cm)

系がある。^{11),12)} 200~300 ml三角フラスコに細菌, 原生動物, 輪虫, イトミミズ, 緑藻, 藍藻を入れ, 0.01%ポリペプトンと10数種の塩類からなる水溶液中で25°C, 12時間周光の条件下で育てる。その中の諸生物は一定期間経つと一定の型の遷移をおこして安定期に到達し, その状態を半年以上の長期間にわたって持続する。系の個体密度変化・回転率に影響を与えない範囲の濃度で化学物質を与え, 生物体中の濃度と培養液中の濃度比で生物濃縮性を測定する。

このマイクロコスムは元来水素の微生物, 小型生物の間の相互関係に平衡が保たれている条件下で化学物質が投入された場合生物相がどの様に変動するかを調べるものであったが, その時蓄積性を調べることもできるよう工夫された試験系でもある。

5. 石塚らの単純モデル系による蓄積性解析

Metcalf らのモデル生態系では生物による化学物質の濃縮経路として特に食物鎖に大きな関心を払っている様に見受けられる。しかし高等植物や藻は当然周囲の水から直接化学物質を吸収するし, 他の水生生物も全て体表面とか特定の器官を通して直接吸収する機能を持っている。魚ではえら組織を通して酸素の交換吸収が行われているが, その際水中に溶けている物質の吸収も行われる。海水産の魚では胃迄海水が入るとされていてそこからの吸収が行われるらしいが, 淡水産ではそのようなことはなく専ら食物によるかえらによるかして物質が体内に取り込まれる。

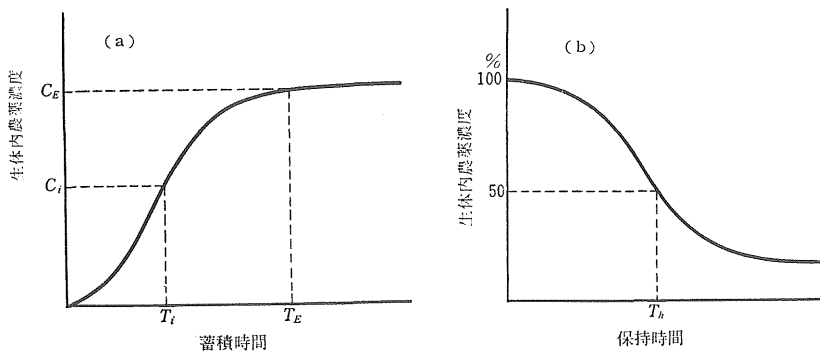
最近, 食物鎖による経路とえらからの直接摂取経路のいづれかがどの程度生物濃縮性に寄与しているかについて調べた実験例が報告されるようになってきた。一例を挙げると¹³⁾, デイルドリンが魚 (sculpin) に蓄積される場合21日間で16%が餌から来たものとして算定されている。えらから直接取り込まれる方が大きな部分を占めている場合の例である。有機水銀やDDTなどもえらから

の吸収が多い例として挙げられている。こういった事がえらからの吸収についての試験の必要性を呼び起しているが、更に濃縮機構や濃縮の型を調べることの基礎として食物鎖によらないえらからの吸収が考えられてくる。

濃縮という過程は本来隣接する二相間で当該化学物質の分配に変動が起る過程を指し、二相間で平衡が成り立った時の分配について言われるものである。

今迄述べてきたモデル生態系はマイクロシステムの場合を除いて、この平衡関係が得られないという所に難点があり、その為濃縮に係る諸条件の解析が出来ないでいたのである。

そこで石塚らは一種類の魚と水だけの単純系を考案し、水から魚への濃縮を検討した。^{14),15)} 水中にある化学物質はその中に生息する魚によって一般に第7図 a の如き様相で蓄積され、また一旦蓄



第7図 魚—水単純系における化学物質の蓄積と保持 ^{13),14)}

(a) 平衡時における蓄積

(b) 一旦化学物質を蓄積した魚を当該物質を含まない水に移した時の体内保持

積された化学物質は魚がその物質を含まない水に移された時には体外に排出されて第7図の b のような様相で保持される。その時平衡濃度 C_E は

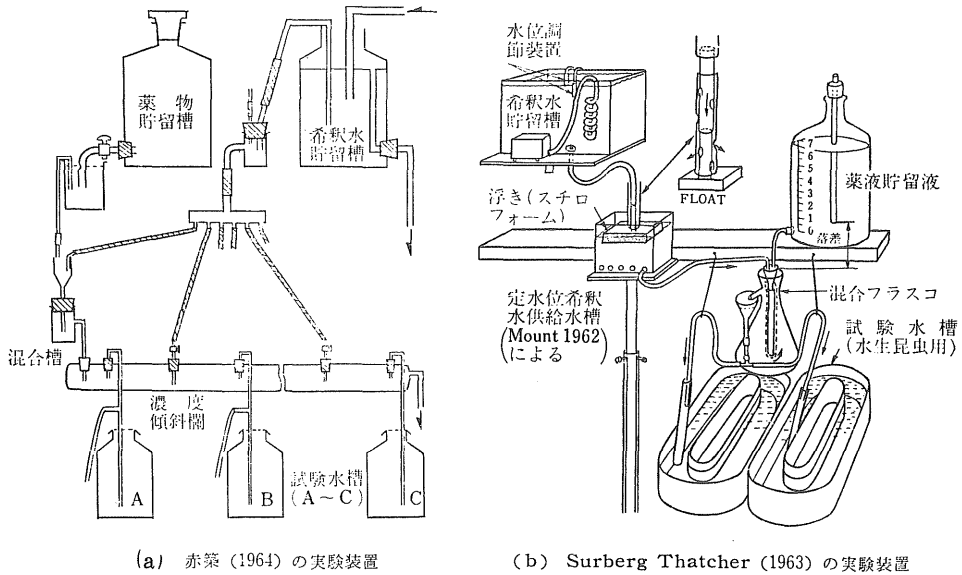
$$C_E = f(y_1, y_2, y_3) \dots\dots\dots(1)$$

で表わされる。 y_1 は魚の個生態的条件。たとえば種類、令、性別、罹病の有無、運動状態等々である。 y_2 は濃縮される化学物質の理化学性であり、たとえば化学構造、親油性等を指す。 y_3 はこの系の環境要因を示し、実験系の温度、化学物質の濃度、物理的性状、共存物質などを意味する。 T_E は平衡に達する迄の時間を示す。

y_1 および y_3 を出来るだけ一定条件にすれば y_2 すなわち化学物質の性質に応じた C_E が得られてくる。しかし上記(1)式が成立する為には魚—水単純系で水中化学物質の濃度が濃縮期間中常に一定に保たれることが必須の前提条件となっている。

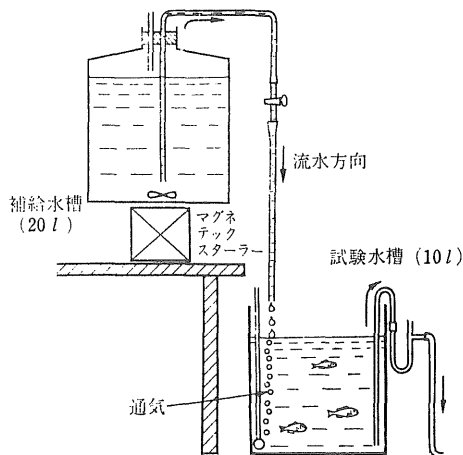
水中濃度を一定に保つ為の装置は従来種々の工夫がなされている。町田ら¹⁶⁾ は水生生物の慢性毒試験の為の定濃度流水式実験装置について総説している。そこではマリOTT瓶または定量ポンプを用い薬液と希釈液を適宜混合して試験水槽中に流し一定濃度を維持するシステムを中心として紹

介している。二、三の例を図示する（第8図）。この様な原理の定濃度維持装置を濃縮性検定に利用し、生物濃縮機構の諸側面を検討したのが石塚らの検定装置である。



第8図 定濃度流水実験装置の例¹⁶⁾

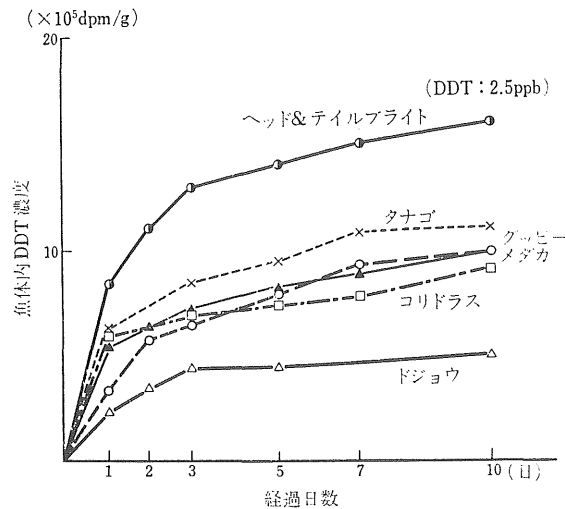
石塚らは町田らの検討を基礎として最も単純な組合せの系を作った。第9図でその模式図を示すが、この系でのマリOTT瓶の代りに定量ポンプを用いた方が優れていることは言を待たない。農業の魚毒性試験に用いられている10ℓの円筒型ガラス水槽を試験水槽とし、そこに魚(グッピー)10~20匹を入れて蓄積性検定を行った。20ℓのマリOTT瓶に試験水槽中の被験化学物質と同一濃度に新たに調整した液を入れて補給水槽とした。0.5ℓ/時間になる様補給水の流速を調節した。試験水槽の水温を25℃±1℃に保ち、12時間周期の昼夜となる様設定した。被験化学物質が器具類



第9図 石塚らの方式の魚-水単純系蓄積性検定システムの模式図

に吸着されて濃度が著しく変動するのを防ぐ為、一部の接続部にテフロンを用いた他は全てガラス製のものを用いた。試験水槽からの流排水はカラム処理、有機溶媒槽処理などを行って残余の被験化学物質を除去する様にする。試験水槽には通気を行い、攪拌をも兼ねさせた。

検定用の魚としてグッピーを選んだのは(1)生態的に広い地域にわたって分布している事、(2)飼育法が比較的確立している事、(3)魚の一生が比較的短かく、又増殖が容易である事、(4)食性がはっきりしていること、(5)魚体が小さいので採取個体数を多く出来ることなどが挙げられ、毒性試験に用いられている鯉の稚魚に比べ常時入手できるという利点がある。それにDDTの吸収でみるとグッピーの方がはるかに蓄積性が大きいという結果を得ていて、検定生物として優れている。ただしここでも魚の種類によって蓄積性が異なるので(第10図)濃縮母体である生物の種類を変えると結果が変わるという点については厳しく認識しておかねばならない。



第10図 各種水生生物によるDDTの濃縮

¹⁴C - 標式DDTを用いて実験した。10日目の実験終了後も残存¹⁴C - DDT量が最初に与えた¹⁴C - DDT量の%以上になる様DDT初濃度を調整した。

濃縮性検定の結果に対する評価の問題には難しい点が多くあるが、特定の化学物質に対する相対的な濃縮性の大小を評価することとし相対評価の参照物質としてDDTを選んだ。DDTはカーソンの著書「沈黙の春」の中でも指摘された蓄積性の高い農薬であり、自然生態系の多くの場面で蓄積性が高いということが確認されている物質である。

被験物質の水溶液又は懸濁液をつくる場合DDTなどの様に親水性が極めて小さい物質は水に溶かす事が困難であり、懸濁させても直ぐ沈降して濃度が変わってしまう。そこで高周波処理をする試みが為されているが、適当な溶剤と乳化剤とを用いて乳化させ一定期間定濃度に維持させる試みも為されている。¹⁵⁾ 被験物質の蓄積性試験に用いられる濃度は上限は毒性効果が発現しない域で下限

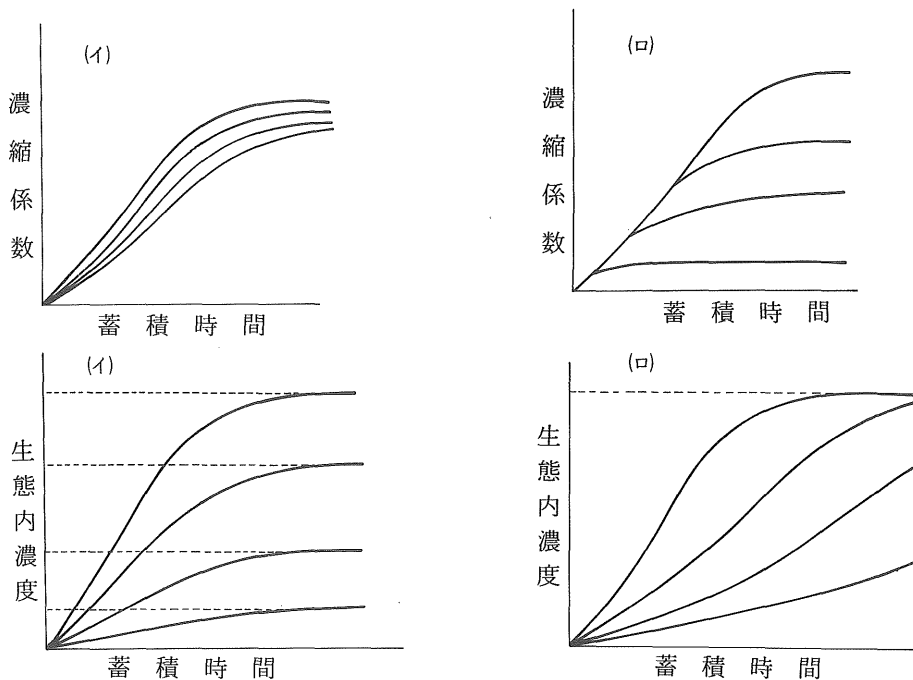
は分析可能域とした範囲から選り出される。

この理研方式の系を用いて補給水の流速を $20\ell/10\text{hrs}$. (約 $30\text{ml}/\text{min}$)にして流して水を転換させる他に1日2回試験水槽中の水を完全に取替えるという処置を行った。そのような条件での試験水槽中の濃度の経時変化を追跡してみると、最初に調整した濃度の70~80%のところまで一定になっていることが認められた。補給水の流速をもっと大きくすると効率のよい結果が得られるものと思われるが、それには定濃度補給装置を更に大規模なものにせねばならない。

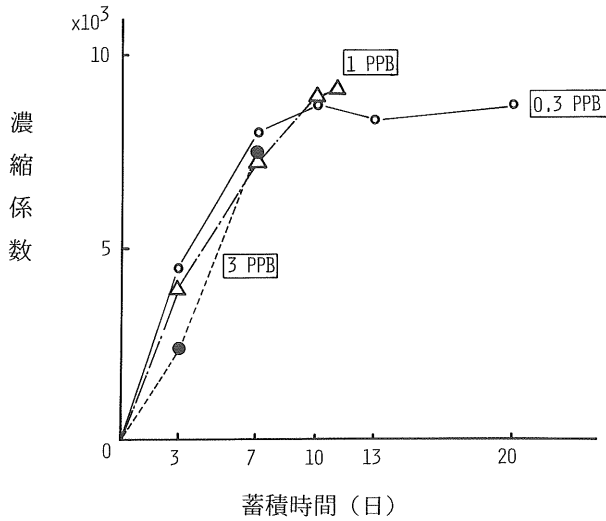
DDTの他に参照物質として親水性の大きい2,4-D(ソーダ塩)を選んでいる。この物質は濃縮性が殆んど認められず、DDTと反対の極にあるものとして蓄積性の相対評価に用いられる。

さて、この系を用うると種々の条件の変動に対する蓄積性の変動を解析することができ、生物濃縮性の指標を提出できるとともに機構解析にも役立つ事が充分考えられる。生物濃縮性について語る場合、多く「この物質は誰それの生物に何倍の濃さに濃縮させた」という様な表現がとられる。その事が果して適切な表現であるかどうか考えてみる事とする。

環境水中の当該物質の濃度が異ると、それと平衡を保っている魚の体内濃度も異ってくる。その場合(イ)水中濃度に全く比例的に体内平衡濃度が得られるのか、あるいは(ロ)体内濃度には一定の限界値があってそれに近づくに要する時間が外の水中濃度によって異なるのかが問題となる(第11図)(イ)の場合では蓄積性を蓄積係数(倍率)で表示すると外の水中濃度に関係なく当該化学物質についてほぼ一定の値が得られるが、(ロ)の場合は全く傾向が(イ)とは異なり、水中濃度のちがいで蓄積係数は全く異ってくるという結果となる。



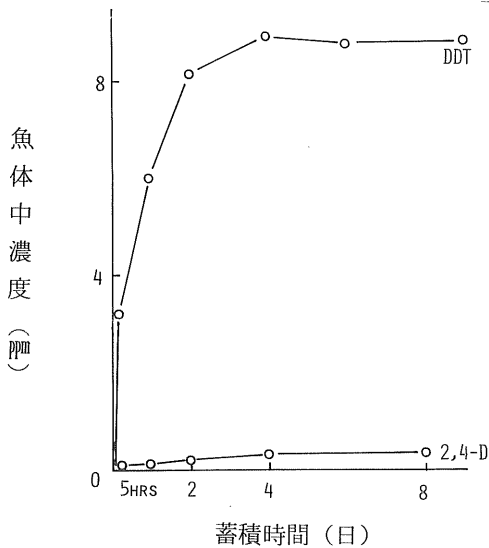
第11図 生物による化学物質蓄積の経時変化の諸様式



第12図 グッピーによるDDT濃縮係数に対するDDT濃度の影響

結論的にはイの場合が魚による蓄積性において認められる関係であって(第12図), 特定の化学物質と特定の魚の種類が決れば環境水相中の濃度にはほぼ関係なく濃縮係数を言うことができる。

この様にして魚—水単純系を用い, 試験水槽中の濃度を一定に保ちながらグッピーをその中で飼育し10日以上1か月以内程度の日数で2回以上試料採取し, その時の試験水槽水中濃度と魚体内濃度を測定する。被験物質の濃度は2濃度段階とすることが望ましいとされる。参照物質としてDDT(2,4-Dも併用するとよ



第13図 グッピーによるDDTと2,4-Dの蓄積

い（第13図）の測定も行い蓄積性の比較を行う。

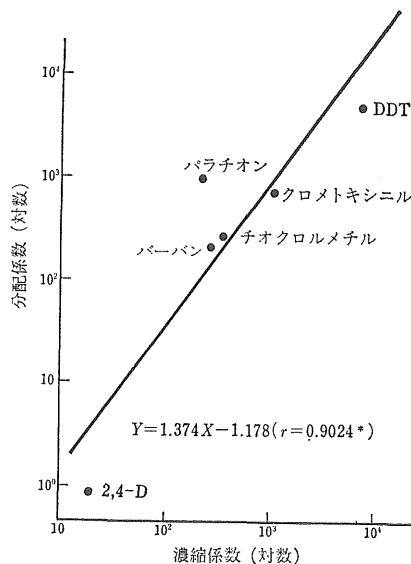
$$\text{生物濃縮係数} = \frac{\text{魚体中濃度}}{\text{試験水槽中濃度}}$$

$$\text{生物濃縮指数 (DDT)} = \frac{\text{当該被検物質の濃縮係数}}{\text{DDTの濃縮係数}}$$

6. 環境化学物質の親油性と蓄積性との関係

DDT, PCB, ドリン剤など蓄積性の高い物質は一般に親油性が大であるという事から、親油性の大小で生物濃縮性の大小を予測するという試みがある。

確かに数多くの現存する農薬について蓄積性と親油性との間の相関が調べられており、高い正の相関が多くの場合認められている。一例を石塚ら¹⁷⁾の結果について見てみると、 $Y = 1.374X - 1.178$ ($r = 0.9024$) という値が6種類の農薬について得られている（第14図）。水とオクタノールを等量（10ml）ずつ1本の試験管に入れ、被検化学物質を溶かして両相への分配度を測定する方法で、オクタノールに溶け込む割合が多い程親油性が高いとされる。



第14図 各種農薬の濃縮係数（グッピー）と親油性との関係

分配係数：水—オクタノール分配係数を指す

親油性は確かに蓄積性に対する一つの目安となり得るが、生物による蓄積は多くの生体内過程の集積であるので親油性が大きく寄与する場面だけから成立っている訳ではない。第14図中パラチオンは比較的分配係数が高く親油性が大であるという結果が得られているが、濃縮係数が相対的に若

千小さめに出ているのは主として体内での解毒分解速度の大きい為ではないかと推測される。

この様に試験系が単純になればなる程操作は簡単になるが、得られる知見の限界が大となることは否めない。

7. 結 語

以上種々の試験法について概括してきたが、これらは自然環境中の化学物質の挙動特に生物濃縮性を予測するための手法であり、生物濃縮性が高いという結果が出ればその化学物質の使用を中止又は抑制するような措置を講ぜねばならない。複雑な自然環境のできるだけ多くの場合に対して予測可能にし得る為には、今迄述べてきた諸手法を如何に組合せるべきか慎重に考慮せねばならないであろう。

更に生物個体全体としての蓄積量を調べるのみではなく、蓄積されたものの質にも考えを及ぼす必要がある。身体全体の平均濃度だけでなく毒性的観点から見れば脳だとか神経だとか生殖組織、食物鎖の観点から見れば筋肉とか脂肪とかの組織内の分布も調べられねばならない。こういった毒理的、生理生化学的知見と併用しながら、また生物の多様性に留意しながら濃縮性の試験をより多くの化学物質に適用していくことが現時点で肝要であると思われる。

参 考 文 献

- 1) I. P. Kapoor et al. : J. Agr. Food Chem. **18**, 1145 (1970)
- 2) R. L. Metcalf et al. : Environ. Sci. Technol. **5**, 709 (1971)
- 3) R. L. Metcalf : Ann. Rev. Entmol. **22**, 241 (1977)
- 4) R. L. Metcalf : In Comparative Studies of Food and Environmental Contamination (IAEA) 49 (1974)
- 5) R. L. Metcalf : Essays Toxicol. **5**, 17 (1974)
- 6) P. C. Kearney : 日本農薬学会設立記念号 43 (1976)
- 7) A. R. Isensee et al. : Environ. Sci. Technol. **7**, 841 (1973)
- 8) 風野 光・富沢長次郎 : 植物防疫 **30**, 329 (1976)
- 9) 南部祥一・橋爪健一郎・藤田昌彦 : 環境保健レポート No.19, 3 (1973)
- 10) 南部祥一・橋爪健一郎・藤田昌彦 : 昭和47年環境庁公害等調査委託研究報告書
- 11) 栗原 康 : 有限の生物学 (岩波新書)
- 12) 杉浦 桂・後藤幹保・栗原 康 : 日本農薬学会大会 (昭和51年)
- 13) G. G. Chadwick & R. W. Brocksen : J. Wildlife Manag. **33**, 693 (1969)
- 14) 石塚皓造他 : 日本農芸化学学会大会 (昭和50年)
- 15) 石塚皓造他 : 環境庁農薬生物濃縮機構調査報告書 (昭和51年)
- 16) 町田喜弘他 : 用水と廃水, **16**, 1097 (1974)
- 17) 石塚皓造他 : 日本農薬学会大会 (昭和52年)