

# AOD 試験を活用し、魚類へい死の主原因物質アルミニウムを 特定した事例

An example in which AOD test identifies aluminum  
as a high mortality substance of fish

赤崎 千香子 松本 啓

Chikako AKASAKI, Satoshi MATSUMOTO

平成 29 年度に A 町で魚類のへい死事故が発生し、水質調査を実施した。へい死事故時の傾向として原因を特定できないことが多いが、今回はバイオアッセイ（AOD 試験）を活用することにより、魚類へい死の主原因は pH とアルミニウムと推定された。アルミニウムの魚類に対する毒性は pH によって変化することが知られていることから、pH の変化によるアルミニウムの毒性の変化を AOD 試験供試魚（アカヒレ）を使用して検証した結果、pH5 付近で最も毒性が強くなることが判明した。

キーワード：バイオアッセイ；魚類へい死；AOD 試験；アルミニウム；

*Key words* : bioassay ; Fish deadly ; Aquatic Organisms environment Diagnostics ; aluminum,

## 1 はじめに

「宮城県魚介類等のへい死事故（以下「へい死事故」と記載）調査実施要領」では、公共用水域の水質保全のため、公共用水域においてへい死事故や有害物質等の流出といった水質汚濁に係る事故が発生した場合は、必要に応じて、原因究明の生物学的又は化学的分析を分析機関に対し依頼するものとされており、当部ではこれに基づき水質試験の依頼を受けている。

昨年度も A 町でへい死事故があり、水質試験の依頼が数件あった。へい死事故の原因を特定出来ないことが多いが、今回はバイオアッセイ（AOD 試験）を活用することにより、原因を推定することに至ったので、その事例を報告する。

## 2 調査概要

発端は平成 29 年 10 月 22 日頃、台風 21 号の大雨の影響で A 町の池に大量の土砂（濁流）が流入し、コイ 10 匹程度が死んでいたことを地元住民が確認したことである。

11 月 5 日にへい死魚がさらに増えたため、住民が役場へ連絡した。翌日の 6 日に役場で現場確認後、保健所へ連絡があった。7 日に保健所の現場確認が行われ、当センターに搬入された検体について水質試験を行った。

発見から採水まで約 2 週間の時間経過があったことから原因究明は難しいと思われた。

通常、へい死事故発生時には、聞き取り調査の結果を参考に水質の試験項目を決定し、試験を行うものであるが、それに加え必要に応じて AOD 試験を行うこととしている。今回は水質試験と AOD 試験を行った。またそれらの試験結果を基に、更に追加試験と検証試験が必要と判断した。

### 2.1 へい死事故原因究明試験

<水質試験>

pH, DO, COD, SS, 硝酸性窒素, 亜硝酸性窒素, アンモニア性窒素, リン酸態リンの他、直近に果樹園があることから農薬のチウラム、シマジン及びチオベンカルブについて試験を行った。

<AOD 試験>

毒性のある物質をより高濃度で検出するため、検体（100%）の他に検体を 4 倍に凍結濃縮したもの（400%）を作成した。また搬入された検体の pH が低かった（pH4.5）ので、pH を調整し、下記の 4 通りで AOD 試験を行った。

①100%（原液）、pH 4.5 ②100%、pH7.0 に調整、  
③400%（4 倍濃縮）、pH4.5、④400%、pH 7.0 に調整

### 2.2 追加試験

<金属定性試験>

AOD 試験と pH の結果から、へい死事故の原因物質は金属類と推定されたので、ICP-AES（ThermoFisher iCAP6000 シリーズ）で金属類 65 元素の定性分析を行った。

<水質試験>

検体の pH が酸性（pH4.5）だったので、硫酸イオンの定量分析をイオンクロマトグラフ（ThermoFisher ICS-2000）で行った。また、定性分析の結果からアルミニウムの定量試験を行った。

### 2.3 検証試験

<AOD 検証試験①>

へい死の原因が pH とアルミニウム濃度に起因するものか検証するため、アカヒレの飼育水を検体と同様の

pH (pH4.5), アルミニウム濃度 (4.0mg/L) に調整し、検証試験を行った。

亜鉛がへい死の原因に寄与しているか検証するため、アカヒレの飼育水を検体と同様の pH (pH4.5), 亜鉛濃度 (0.15mg/L) に調整し、検証試験を行った。

#### <AOD 検証試験②>

アルミニウムの魚類に対する毒性が pH によって変化することが知られている<sup>1)2)</sup>ことから、アカヒレを使用し、pH の変化によるアルミニウムの毒性の変化を調べた。なお、硬度がアルミニウムの毒性に影響することが知られていることから、今回は試験水を河川の中流域程度の硬度<sup>3)</sup>に統一した。

河川の中流域程度の硬度 (50CaCO<sub>3</sub>mg/L) に調整した試験水に、アルミニウムの濃度が 1.0mg/L から 4.0mg/L になるように標準液を添加し、それぞれの pH を塩酸及び水酸化ナトリウムを用いて 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 に調整して AOD 試験を行い、死亡率を算出した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 へい死事故原因究明試験

##### <水質試験結果>

水質試験の結果を表 1 に示す。pH を除き他の項目では水質汚濁の環境基準値を超えるような高い値は検出されず、この時点では原因不明と思われた。

表 1 水質試験結果

試験水	測定値 (検体)	水質の環境基準 (※河川 AA 類型)
pH	4.5	6.5-8.5
DO (mg/L)	8.2	7.5 以上
COD (mg/L)	3.2	—
SS (mg/L)	3	25 以下
硝酸性窒素 (mg/L)	0.83	10
亜硝酸性窒素 (mg/L)	<0.005	—
アンモニア性窒素 (mg/L)	<0.05	—
リン酸態リン (mg/L)	<0.003	—
チウラム (mg/L)	<0.0006	0.006 以下
シマジン (mg/L)	<0.0003	0.003 以下
チオベンカルブ (mg/L)	<0.001	0.02 以下

次に AOD 試験<sup>4)5)</sup>を行った。

AOD 試験の結果を表 2 に示す。

表 2 AOD 試験結果 (死亡率%)

試験水	検体 100% (原液)	検体 400% (4 倍濃縮)	アカヒレ飼育水 (比較対象)
pH			
pH4.5	100%	100%	0%
pH7.0	0%	0%	0%

濃縮倍率が 100%, 400%共に pH が 4.5 のものは死亡率 100%となり、pH を 7.0 に調整したものの死亡率は 0%となった。アカヒレ飼育水の pH を 4.5 にしたも

のを比較対象として試験したが、死亡率は 0%であり、pH が低いだけでは死亡しないことを確認した。

これより魚類へい死の検体には、pH が低くなることによって毒性が強くなる物質の存在が推定された。

#### 3.2 追加試験

AOD 試験で毒性があることが確認された場合、毒性解析により溶存成分を分画することができる<sup>2)</sup>とされている。それによると pH の分画試験では pH1 群として酸性側で毒性が強化するもの、pH2 群としてアルカリ側で毒性が強化するもの、pH3 群として酸性でもアルカリ性でも毒性が変化しないものの 3 つの分画に分けられる。今回のように酸性側で毒性が強化される物質は pH1 群となり、pH1 群に該当する物質としては銅や亜鉛などアルカリ側で水酸化物になるものがあげられる。このことにより金属類が原因ではないかと考えられたので、追加試験として、金属類の一斉試験 (65 種類) を行った。

金属類の試験結果の中から環境基準値又は指針値があるものを表 3 に、1.0mg/L 以上の測定値のものを表 4 に示す。環境基準値又は要監視項目で指針値があるものと比べると亜鉛と全マンガンが高かった。

表 3 金属類の一斉試験結果 (1)

(環境基準値又は指針値があるもの)

元素名 (波長)	測定値 (mg/L) (検体)	環境基準値又は指針値 (mg/L)
カドミウム (214.4nm)	0.003	0.003 以下
鉛 (220.3nm)	0.003	0.01 以下
亜鉛 (213.8nm)	0.15	0.03 以下
ニッケル (221.6nm)	0.04	—
全マンガン (257.6nm)	1.8	0.2 以下
アンチモン (206.8nm)	0.01	0.02 以下
モリブデン (202.0nm)	検出されず	0.07 以下

表 4 金属類の一斉試験結果 (2)

(1.0mg/L 以上の測定値のもの)

元素名 (波長)	測定値 (mg/L) (検体)
アルミニウム (396.1nm)	4.8
カルシウム (393.3nm)	18
マグネシウム (279.5nm)	10
ナトリウム (589.5nm)	6.9
カリウム (766.4nm)	1.7
ケイ素 (251.6nm)	11

文献<sup>1)3)6)</sup>調査により、亜鉛とアルミニウムは魚類に対して急性毒性を引き起こすことが分かった。亜鉛、アルミニウム共に pH が低くなると魚類に対する毒性は強くなるが、アルミニウムの方が低濃度で毒性をもたらす

4)ことから、アルミニウムを主原因物質と推定し、定量試験を行った。また pH が酸性となる要因として硫酸イオンが含まれていると考えたので、硫酸イオンの測定を行った。その結果、当県の河川の公共水域の硫酸イオン濃度の約 20mg/L と比較すると、160mg/L という高い値であった。アルミニウムについては定性試験結果の 4.8mg/L に近い 4.1mg/L となった。結果を表 5 に示す。

表 5 アルミニウム、塩化物イオン及び硫酸イオンの試験結果

物質名	測定値 (mg/L) (検体)
アルミニウム	4.1
塩化物イオン	5
硫酸イオン	160

3.3 検証試験

<AOD 検証試験①>

ここまでの結果から、へい死事故の原因物質確認のための AOD 検証試験を行った。(表 6, 7) アカヒレの飼育水をへい死検体と同様の pH, アルミニウム濃度になるように調整したもの (pH4.5, アルミニウム 4.0mg/L), pH を 7.0 に調整したもの (pH7.0, アルミニウム 4.0mg/L) で試験を行った。この結果、へい死事故検体と同様の pH とアルミニウム濃度 (pH4.5, アルミニウム 4.0mg/L) は死亡率 100% となり, pH7.0, アルミニウム 4.0mg/L は死亡率 0% となった。これはへい死事故検体と同じ結果となった。

亜鉛も環境基準 0.03mg/L を上回る 0.15mg/L 含まれていたことから、アカヒレの飼育水をへい死検体と同様の pH, 亜鉛濃度になるように調整したもの (pH4.5, 亜鉛 0.15mg/L) で試験を行った。この結果、死亡率は 14% となり, 亜鉛もへい死を引き起こした原因物質ではあるが、その寄与率はアルミニウムの方が大きいと思われた。

これより、魚がへい死した主原因は pH が酸性であることに加え、アルミニウムが 4.0mg/L と高濃度含まれていたことによると思われた。

表 6 AOD 検証試験結果①アルミニウム (死亡率%)

	飼育水 アルミニウム 4.0mg/L
pH4.5 (へい死検体と同様の pH)	100%
pH7.0	0%

表 7 AOD 検証試験結果①亜鉛 (死亡率%)

	飼育水 亜鉛 0.15mg/L
pH4.5 (へい死検体と同様の pH)	14%

<AOD 検証試験②>

アルミニウムの濃度ごとに結果を示す。(図 1-4)

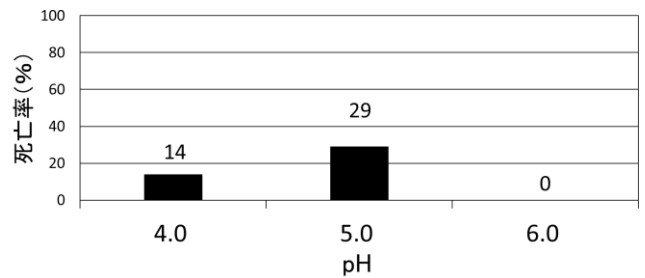


図 1 アルミニウム 1.0mg/L における死亡率

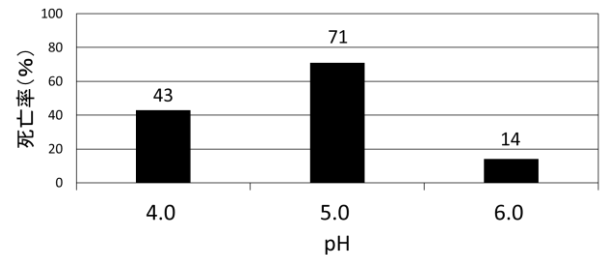


図 2 アルミニウム 2.0mg/L における死亡率

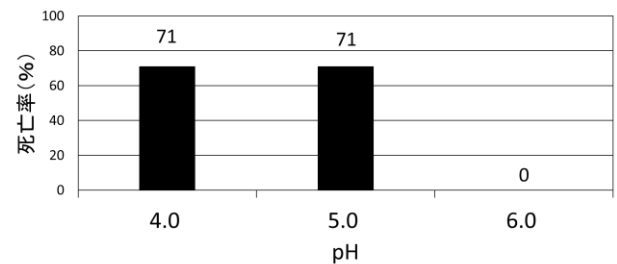


図 3 アルミニウム 3.0mg/L における死亡率

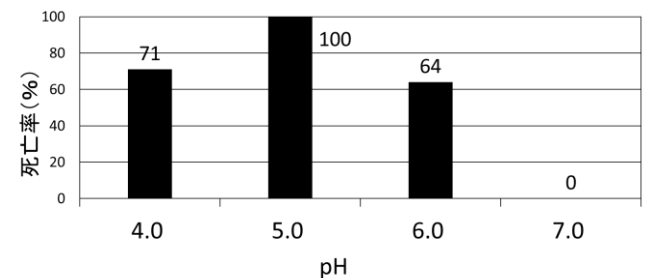


図 4 アルミニウム 4.0mg/L における死亡率

アルミニウム 1.0mg/L, 2.0mg/L の死亡率は pH5.0 で最も高く, 3.0mg/L では pH4.0, pH5.0 の死亡率は同じであった。

アルミニウム 4.0mg/L における死亡率は pH5.0 で 100% となった。試験を実施したアルミニウムの全ての濃度で pH5.0 で死亡率が高くなった。これは「最も毒性の高いアルミニウムの形態は無機の単量体で pH が 5.0 から 5.5 の範囲でこれらの形態が支配的<sup>6)</sup>」ということと一致していた。

文献調査や今回の試験結果から、アルミニウムは魚類に対する急性毒性を引き起こすことが明らかになったが、水質の環境基準項目ではなく、また要監視項目でもないため、指針値さえない。それゆえへい死事故の原因物質

として推定されにくいというのが現状である。

しかし、pH5.0になるとアルミニウムの濃度が1.0mg/Lでも死亡率が約30%となり、魚類のへい死を引き起こすことがあるので、今後また、酸性の検体が搬入された場合にはアルミニウムの濃度に注意が必要である。

#### 4 まとめ

- 1) AOD 試験結果がへい死事故の原因を明らかにする一助となった。
- 2) A 町のへい死事故の主原因は、硫酸イオンにより pH が酸性に傾いたこととアルミニウムが含まれていたことと推察された。
- 3) pH が酸性に傾いた条件でアルミニウムが存在すると、低濃度でも魚類へい死をもたらすこともあり、今後注意が必要である。

#### 参考文献

- 1) 若林 明子；環境毒性学会誌 1(2) 27-40 1998
- 2) 越川（金尾）昌美 高松 武次郎；土壤－河川－湖沼系におけるアルミニウムの動態と化学
- 3) 西村 定一；淡水魚と酸性環境 中央水研ニュース No17
- 4) 狩谷貞二他；新編水質汚濁調査指針 465-470, 1980
- 5) 玉井信行, 水野信彦, 中村俊六編；河川生態環境工学 東京大学出版会 18-25 1993
- 6) 環境省；生態系保全に係る化学物質審査規制検討会（第1回）資料 4-3