昭和 59 年

日本農芸化学会誌
(NIPPON NÔGEIKAGAKU KAISHI)

第 58 卷

報 文

[Nippon Nôgeikagaku Kaishi Vol.58, No.1, pp.1~7, 1984]

メダカによる陰イオン系界面活性剤の忌避

日高秀夫, 菅 麻也子*, 立川 涼

(愛媛大学農学部環境保全学科, *現在, 三洋水路測量株式会社)

昭和 58 年 7 月 4 日 受 理

Avoidance of Anionic Surfactants in Medakas (*Oryzias latipes*)

Hideo HIDAOKA, Mayako SUGA* and Ryo TATSUKAWA

Department of Environment Conservation, Ehime University,

Tarumi 3-5-7, Matsuyama 790

Avoidance tests to seven anionic surfactants were conducted using medaka (killifish, *Oryzias latipes*) in a small chamber system with a bisymmetric parallel-flow. The avoidance ratio (AR, percentage of time spent by a fish in the clean water area of the test-trough in a 5 minute period) and AR₆₅ (95% confidence limit), which is the minimal avoidance concentration of a chemical when the AR is 65% were calculated and used as quantitative parameters of fish avoidance behavior. Patterns of avoidance ratio curve against the various anionic surfactants were similar to each other. AR increased as the concentration of the test surfactant increased, and at a certain concentration AR began to decrease sharply, and finally the medaka did not avoid the surfactant. AR₆₅ of the tested surfactants were: AS (7.1 µg/liter) < LAS, ABS < pure reagent-AES, formulation-AES < sodium laurate < sodium stearate < sodium palmitate (285 µg/liter). AR₆₅/48 hr-LC₅₀ ratios were 0.0002~0.002. No relationship was found between the avoidance concentration and the acute lethal concentration.

(Received July 4, 1983)

* Present address: Sanyo Hydrographic Survey Co., Osaka.

緒 言

魚類は水中の化学物質を致死レベルより低濃度で感知し, それが嫌悪的な物質である場合は, 速やかに忌避行動を起こすことが広く知られている^(1,2). これまで実験室内で魚類の忌避反応を試験した例は数多い^(3~5)が, いずれもそれぞれの目的に応じて異なった試験装置と方法で組み立てられており, また, その装置自体と試験方法, 結果の評価法などについても疑問のある報告も少なくない. したがって既往の結果を定量的に比較検討すること

は案外難しい. そこで, 前報⁽⁵⁾では, 致死や蓄積性試験法と同様に化学物質の水生生物に対する毒性評価の一つの方法として, 再現性よく, かつ定量的に測定できるメダカ (*Oryzias latipes*) を使った簡便, 迅速な忌避試験装置とその試験法について報告した.

本報では, この忌避試験法による各種界面活性剤に対するメダカの忌避反応について報告するとともに, 同じ条件のメダカを使って急性致死試験を行い比較検討した. 前報では簡単に記述するにとどめた忌避試験結果の評価法についてもふれる.

なお, 界面活性剤を選んだ理由は3つある.

1) この研究の発端が, 四国西南部を流れる四万十川の支流広見川に近年アユが遡上しなくなり, その原因調査の過程で洗剤が浮び上り, 本当にアユは洗剤を忌避するか実験室内で再現するにあった.

2) 日本の淡水・沿岸海水中で最も濃度が高く, 全域に分布している合成有機化合物は洗剤である. 本報では使用量の多い代表的な陰イオン系界面活性剤を選定して試験した.

3) 魚が化学物質を感知するセンサーの表面膜は, おそらく界面活性を持つ物質の影響を受けやすいであろう.

試験装置と方法

忌避試験法は前報⁽⁵⁾と基本的に同じであるが, 以下に概要を示す.

1. 供試魚 試験に使ったメダカは奈良県郡山と愛知県弥富産の当歳魚で平均体長 26 mm, 平均体重 360 mg である. 魚の購入は春と秋の年2回に分けて行い, 50 l ガラス水槽で1カ月以上蓄養したのち試験に供した. 蓄養中は水温を $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に保ち, 市販の人工餌料(オリエンタル酵母(株), クランブル No. 1)を1日に1回, 魚体重の2~3%与えた.

2. 忌避試験水槽 忌避試験水槽は試験水槽本体(10 mm 厚透明アクリル樹脂製)と出し入れ可能なスモールチェンバー(5 mm 厚アクリル樹脂製, 下流側の一面のみ透明, 他の面は青色不透明, 内寸 $60 \times 120 \times 80$ mm)から構成されている. 魚はスモールチェンバーに1尾入れる. 試験水槽の左右にメダカの飼育水(2.0 l/min)を流し, 薬液あるいは対照としての飼育水を添流(10 ml/min)する. じゃま板および2枚のバッフル板により混合均一化された水はスモールチェンバーの中央部で明瞭な境界を形成し, 並流する. スモールチェンバー内の水深を5 cm, 平均流速7 mm/secに保った. スモールチェンバーの上面を1 mm 厚の不透明塩ビ板で被い, 500~520 luxの左右対称な照度分布とした.

3. 忌避試験方法 スモールチェンバーに魚1尾入れ, 馴致装置(スモールチェンバーが20個収容できる)で本試験と同じ条件で1夜馴致する. スモールチェンバーごと試験水槽に移した後, 4分から9分までの5分間魚の動きを観察し, 片方の水域で静止し続けている場合は試験を中止する. 左右の水域で均一に泳ぐ個体の

ときは, 10分後より20分までの10分間水槽の片側に薬液を添加し, 魚の行動を記録する. 可変抵抗器に中空アルミ棒をつけたviewerで魚の動きを追跡することでデジタルタイマーに魚が試験水槽の片半分にいた時間が積算され, レコーダーのチャート紙上に時間に対する魚の位置が記録される. 1回の試験時間は25分間である. 一度試験に使用した個体は再び忌避試験に供さない. 通常, 薬液1濃度につき10回試験する.

4. 忌避試験結果の表示法 忌避試験結果は, 試験開始後15分から20分までの5分間に薬液無添加側の水域に魚がいた時間割合(%)としての忌避率で表す. 通常, 薬液1濃度につき10回の試験結果を平均する(平均忌避率). 横軸に薬液濃度の対数, 縦軸に忌避率あるいは平均忌避率をプロットして忌避曲線(Fig. 1, 2)を描き, ブランク試験(薬液無添加で通常の忌避試験と全く同じ操作をする)結果と比較して, 分散のためのF検定, 平均値の差のためのt検定を行い, $P=0.05$ で有意な平均忌避率および忌避濃度を求める.

そのほか本報では忌避試験の簡略化と各種界面活性剤の忌避濃度をより厳密に比較するため, 忌避曲線上の忌避率上昇過程で65%忌避率を示す濃度(AR_{65})を新たに設定し検討した. AR_{65} は通常, 平均忌避率がほぼ60, 65, 70%を示した3濃度の忌避試験結果から算出する. この際, この3濃度の結果が忌避曲線上で濃度増加とともに忌避率が上昇する過程にあることを, 濃度の対数と平均忌避率のプロットがほぼ直線上に並ぶことから判定する. 各濃度10点, 合計30点の個々の忌避率を使って回帰分析法⁽⁶⁾により次式で AR_{65} とその標準誤差(SE)および95%信頼区間(C.L.)を求める. なお, 忌避曲線とは異なり, AR_{65} の計算では便宜的に独立変数と従属変数を逆にしている.

$$AR_{65} = \bar{y} + S_{xy}(65 - \bar{x})/S_y$$

$$SE = [(S_y - S_{xy}^2/S_x)\{1/n + (65 - \bar{x})^2/S_x\}1/(n-2)]^{1/2}$$

$$95\% \text{ C. L. } = AR_{65} \pm t(n-2, 0.05) \times SE$$

ここで, x は個々の忌避率(%), y は試験した界面活性剤濃度($\mu\text{g/l}$)の対数, $\bar{x}$, $\bar{y}$ は x , y の平均値, S_x , S_y は x , y の偏差平方和, S_{xy} は x と y の積和, $t(n-2, 0.05)$ は $P=0.05$ のときの自由度 $n-2$ の t 値である. こうして求めた数値を使って異なる薬剤の AR_{65} 間の有意差検定を行う.

5. 急性致死試験法 忌避試験と同様のメダカを用い, 基本的にはUSAのStandard Methods⁽⁷⁾に従って

48 hr および 96 hr- LC_{50} を求めた。15 l のガラス水槽に 10 l の試験水と 11 尾のメダカ (魚の体重 1 g 当りの水量 2~3 l) を入れ、試験前 1 週間馴致した。給餌は試験前日に中止し、試験中 96 時間は行わなかった。毎日 1~2 回水交換し、試験濃度を設定濃度の $\pm 10\%$ 以内、水温は $25 \pm 1^\circ C$ 、溶存酸素飽和度を 60% 以上に保った。pH はパルミチン酸ナトリウム試験時 7.2~7.9、その他も 7 付近であった。 LC_{50} の算出は Litchfield-Wilcoxon 法⁽⁸⁾を用いた。

6. 水質 忌避試験に使用した水はメダカの飼育水である。毎日、試験終了後、活性炭濾過した水道水をメダカを飼育している貯水タンク (1 t タンク 2 個) に補給し、満水にして翌日の試験に備えた。1 日の飼育水の使用量は約 1 t である。

忌避試験水温は $25.0 \pm 1.0^\circ C$ に調整した。飼育水の主な水質項目の平均値と標準偏差は pH 7.18 ± 0.31 、溶存酸素 108 ± 8.6 (%), COD 0.49 ± 0.3 (O_2 mg/l), 電気伝導度 131 ± 43 ($\mu S/cm$), 硬度 45 ± 7.1 (mg/l, $CaCO_3$) であった。

急性致死試験には、活性炭濾過した水道水を 200 l タンクに貯め、1 夜抜気し水温を $25 \pm 1^\circ C$ にした水を使用した。

7. 試験薬剤 忌避試験に供した界面活性剤は陰イオン系 7 種と市販の台所用液体洗剤 1 種である。

① LAS: 直鎖型ラウリルベンゼンスルホン酸ナトリウム, $CH_3(CH_2)_{11}C_6H_4SO_3Na$ 。

② ABS: 分枝型ラウリルベンゼンスルホン酸ナトリウム, $C_{12}H_{25}C_6H_4SO_3Na$ 。

③ AS: ラウリル硫酸ナトリウム, $CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$ 。

④ AES 原体: ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウム, $C_{12}H_{25}O(CH_2CH_2O)_mSO_3Na$, $m = 0 \sim 6$, 平均 3。

⑤ 石けん (L): ラウリン酸ナトリウム, $CH_3(CH_2)_{10}COONa$ 。

⑥ 石けん (P): パルミチン酸ナトリウム, $CH_3(CH_2)_{14}COONa$ 。

⑦ 石けん (S): ステアリン酸ナトリウム, $CH_3(CH_2)_{16}COONa$ 。

⑧ AES 製剤: AES を主成分とする市販の台所用液体洗剤。

LAS と石けん原体 3 種は東京化成工業, ABS と AS

Fig. 1. Avoidance Responses of Medaka to LAS. A solid circle represents response by one fish, and dotted line is means of those. B: value of blank test.

は和光純薬, AES 原体と製剤は花王石鹸より入手した。

試験の前日に 1~2% 溶液を作り、試験開始直前に飼育水で希釈して試験に供した。試験濃度はすべて界面活性剤濃度である。

急性致死試験は上記のうち LAS, ABS, 石けん (P), AES 製剤の 4 種について行った。毎日、水交換の直前に試験濃度に調整し、その濃度は LAS, ABS, AES 製剤はメチレンブルー法、石けん (P) は有機炭素を測定し、定量した。

試験結果と考察

1. LAS に対するメダカの忌避曲線

界面活性剤に対するメダカの忌避反応の代表例として LAS の場合を Fig. 1 に示した。

本忌避試験法では試験開始後 4 分から 9 分までの 5 分間魚の動きを追って不活発な個体を排除する操作を行っているが、ブランク試験 (薬液無添加で通常の忌避試験と全く同じ操作をする) では試験水槽の片側にいつける個体が 2 尾いて、平均値 (46.2%) が 50% より低くなり、個々の試験値の分散 (95% 信頼区間として $\pm 15.4\%$) が大きくなった。平均忌避率が 60% 以上を示す濃度ではメダカの動きは全体的に活発で、分散もほぼ一定 ($\pm 8 \sim 10\%$) であった。しかし、それに比べて LAS の低濃度と高濃度では分散が大きく変動していた。分散のための F 検定を行ったところ、分散の小さな 3, 50, 100 $\mu g/l$ を除いて他の濃度は $P \leq 0.05$ でブランク試験値と分散

Fig.2. Avoidance Curves by Medaka to Pure Reagent-LAS, AES, Soap (P) and Formulation-AES. ●, LAS, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$; □, pure reagent-AES, $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{SO}_3\text{Na}$, $m=0\sim6$ (av. 3); ■, formulation-AES; ○, soap (P), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COONa}$.

が等しいとみなせることがわかった。そこで、ブランク試験値と比較して $P=0.05$ で有意となる忌避率を t -検定で求めると 63.0% となった。これは Fig.1 より LAS 10 $\mu\text{g/l}$ に相当する。この濃度ではメダカの化学感覚器に LAS が感知され、これがメダカにとって嫌悪的な物質であるため明らかな忌避を示すと考えられる⁶⁾。

本試験法による忌避率の値は、50% を越えると忌避、50% 未満は誘引を意味することになるが、ブランク試験結果と比較して LAS 濃度が 1~5 $\mu\text{g/l}$ 以下では有意な忌避を示さなかった。10 $\mu\text{g/l}$ 以上になると忌避率や忌避する個体数が増加し、30 $\mu\text{g/l}$ で忌避率が最高となり、それ以上の濃度では有意な忌避を示さない個体が増えてきて平均忌避率が低下した。80 $\mu\text{g/l}$ ではブランクと同様のばらつきを示し、LAS に対して忌避を示さなかった。

濃度の増加とともに忌避率が上昇し、ある濃度を境に忌避率が低下するという傾向は陰イオン系界面活性剤には一般的な現象と思われる (Fig.2)。著者らは AES 製剤について向流型の試験水槽でも本報の並流型試験水槽とはほぼ同様の忌避曲線をメダカが示すことを確かめている⁵⁾。Sprague and Drury⁹⁾ は向流型試験水槽で市販の ABS 洗剤に対するニジマスの忌避試験を行っている。0.01, 0.1, 1.0 mg/l の ABS 濃度では濃度の増加に伴って忌避率が徐々に上昇したが、10 mg/l では忌避を示していない。

メダカによる LAS の忌避は、致死、成長、繁殖など他の項目で求められた魚への影響濃度よりはるかに低い

濃度で起っている。当研究室で求めた LAS に対するメダカの 48 hr- LC_{50} は 7.6 mg/l (95% 信頼区間, 7.0~8.2 mg/l), 96 hr- LC_{50} 7.3 (6.4~8.1) mg/l であった。

Hokanson and Smith¹⁰⁾ は全硬度 175 mg/l の河川水を用いて bluegill の初期発育段階に対する LAS の影響を検討し、卵と仔魚の生存に対する無影響濃度が 1.8 mg/l と報告した。Pickering and Thatcher¹¹⁾ は全硬度 200 mg/l の水で fathead minnow の完全ライフサイクル試験を行い、その結果、最大許容濃度は 0.63~1.2 mg/l であり、それと成魚の 96 hr- LC_{50} 値との比である適用係数は 0.14~0.28 であるとした。同様に, Holman and Macek¹²⁾ は fathead minnow を用いて、成魚の生存、成長、産卵、卵の生存、ふ化、仔魚の 30 日間生存試験を行い、全硬度 40 mg/l の軟水中での LAS の無影響濃度は 0.48 mg/l 、適用係数 0.12 とした。また, Mckin¹³⁾ は 4 種の淡水魚のふ化してから 2~3 日目の仔魚を用いて全硬度 43 mg/l の水で 30 日間暴露による生存と成長から LAS の影響をみた。その結果、仔魚の成長では魚種による差が顕著に現れ、最少影響濃度は white sucker の 0.3 mg/l であった。以上の生存、成長、繁殖試験データの範囲では、淡水魚における LAS の最大許容濃度は 0.3 mg/l 以下、適用係数は 0.1 であるといえよう。メダカでは、この最大許容濃度の 1/30 の低濃度で忌避を示しており、また、向流水水槽で求めたアニによる界面活性剤の忌避もメダカと同レベルかそれ以下で起っている¹⁾。もっともこのことは著者らの試験の感度がよいことによるのかもしれない。

最高忌避率を示す濃度以上で忌避率が低下するのは、高濃度の界面活性剤暴露により感覚器に障害を受け、忌避できなくなる個体が増えるためであろう。藤谷¹⁴⁾ は 1 mg/l の ABS および LAS に 1 週間暴露したナマズは摂餌行動に異常を生じ、味蕾 (味感覚器) が崩壊していることを示した。Hara と Thompson¹⁵⁾ は white fish の鼻腔にラウリル硫酸ナトリウム (AS) 溶液を注ぐと嗅覚応答能力が低下し、その影響の現れる最少濃度は 15 分間以内で 0.1 mg/l であったと報告している。魚の化学感覚器が損傷を受け、その水域から忌避できなくなれば継続的に化学物質の暴露を受け、生存、成長、繁殖、摂餌等においてさまざまな障害を起すと推定される。ある濃度を境に忌避率が低下し忌避できなくなることは、魚への影響を評価するうえで重要なパラメーターとなりうる。

$P=0.05$ で有意な忌避を示す LAS 濃度 ($10 \mu\text{g/l}$) と 48 hr-LC_{50} との比は 0.0013 , 96 hr-LC_{50} との比は 0.0014 であり, 前述の淡水魚での適用係数より 2 ケタ低い. たとえ死に至らなくとも魚が忌避して生棲しなくなれば産業的には明らかに被害を受ける. 現在, LAS の適用係数は 0.1 である^(16,17)が, こうした魚類の生態・行動に及ぼす影響を考慮すれば適用係数はさらに小さくする必要があるのかもしれない.

魚の忌避行動試験は致死などその他の試験項目より低濃度で化学物質の魚に及ぼす影響を感知できる可能性がある. 化学物質の水生生物への影響を評価するためには, このような行動学的・生態毒性的試験法も有用であろう.

2. 原体と製剤の比較

Fig. 2 において, LAS, AES, 石けん (P) の原体間では濃度の違いはあるが忌避曲線の形状はよく似ていた. しかし, AES 製剤の忌避曲線の形状は他と異なっている. $P=0.05$ で有意な忌避を示す濃度 (忌避率 63%) は AES 製剤, 原体ともほとんど変わらないが, 製剤は原体に比べ忌避率の上昇する過程の傾きがゆるやかであり, かつ, 最高値を越えて忌避率が低下する濃度が高い. この AES 製剤は市販の台所用液体洗剤であり, AES を主成分とするが, その他に非イオン系界面活性剤や脂肪酸アミドなどを含む種々の混合物である. これら含有成分の影響を受け, 忌避曲線に差が生じたと思われる. このように, 忌避行動の評価には, 忌避曲線の形状も読み込むことが望ましい.

3. AR_{65} による比較

各種界面活性剤に対する忌避反応を比較する場合, すべての物質についてその濃度を多段階に変えて忌避曲線を求めれば最善であるが, 多大の労力と時間, 多数の魚

を必要とする. 陰イオン系界面活性剤の原体では忌避曲線の形状がほぼ同じであるので忌避曲線の一部で比較してもよいと考えられる. しかし, 任意の 1 濃度の忌避結果だけでは, その濃度が忌避曲線上で忌避率の上昇する過程か低下する部分での忌避かの判定は難しい. LAS に対する忌避率の上昇する過程において, 忌避率 60~70% の範囲のばらつきはほぼ一定であり, かつ, この部分の忌避曲線は直線に近似できる (Fig. 1). しかも, Fig. 2 に示した他の界面活性剤でも同様の傾向が認められている. そこで, 忌避率 65% とその上下の少なくとも 2 濃度から求めた 65% 忌避率を示す濃度 (AR_{65}) を設定し比較を試みた. この忌避率は $P=0.05$ で有意な忌避を示す 63% 忌避率に近い値である.

魚の行動には個体差によるばらつきがあり, 魚がおかれている環境条件によって大きく変動する. 試験装置・方法が適切であっても試験魚あるいは水質の状態が悪いと一定の忌避反応を示さないことが多く, それらの結果を相互に比較することは困難である. しかし, 本試験法では, 試験条件を厳密に守れば結果の再現性は非常によい. LAS に対するメダカの AR_{65} は, 試験魚の入手時期, 試験日が異なってもほぼ一致し, その 95% 信頼区間に差がなかった (Table I). 試験魚の産地による差も

Table I. Reproducibility of Avoidance Tests Measured as AR_{65}

Experiment Date	AR_{65} (95% C. L.) $\mu\text{g/liter}$
'79, 11/26~28	13.7 (11.5~16.2)
'80, 5/9~28	12.5 (10.4~15.1)
'83, 2/19~21	13.5 (11.6~15.8)

AR_{65} : Avoidance concentration of a surfactant of which the avoidance ratio is 65% on the increasing part of the avoidance curve.

Table II. AR_{65} and LC_{50} of Anionic Surfactants for Medaka

Surfactant		AR_{65} (95% C. L.)		LC_{50} (95% C. L.) mg/liter	
		$\mu\text{g/liter}$	nM/liter	48 hr	96 hr
LAS	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$	13.5 (11.4~15.9)	38.7 (32.7~45.7)	7.6 (7.0~8.2)	7.3 (6.4~8.1)
ABS	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$	14.1 (11.9~16.6)	40.5 (34.1~47.6)	42.2	33.0 (25.6~42.5)
AS	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$	7.1 (6.0~8.5)	24.7 (20.9~29.4)		
AES(P)*	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{SO}_3\text{Na}$	24.8 (17.7~34.6)	59.0 (42.1~82.3)		
AES(F)**		26.6 (17.9~39.5)	. . .	13.6 (12.4~14.9)	11.3 (10.1~12.7)
Soap (L)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COONa}$	34.8 (32.6~37.1)	154 (144~164)		
Soap (P)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COONa}$	285 (242~336)	1030 (869~1210)	200	200
Soap (S)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COONa}$	135 (115~158)	440 (376~515)		

* Pure reagent, $m=0\sim6$ (av. 3), ** Formulation.

認められなかった⁽⁵⁾。したがって、同時期に行った忌避試験結果は相互比較が可能である。

メダカによる各種陰イオン系界面活性剤の AR_{65} とその 95% 信頼区間および当研究室で求めた LC_{50} 値を Table II に示す。

LAS と ABS との間、および AES 原体と製剤との間にはそれぞれ AR_{65} に有意の差がなく、試験した界面活性剤の AR_{65} は、 $AS < LAS$, $ABS < AES$ 原体、製剤 < 石けん (L) < 石けん (S) < 石けん (P) の順となった。

AR_{65} の最大値と最小値との比は約 40 倍もあり、モル濃度でも AR_{65} の順位は変わらない。

LAS と ABS との化学構造の差は疎水部のアルキル基の分枝の有無であり、分枝のない LAS のほうが急性致死濃度は明らかに低いが、忌避濃度にはほとんど差がない。AS と AES 原体は親水基としてエチレンオキサイド (EO) が付加しているかどうかの違いであるが、 AR_{65} は明らかに EO の付加していない AS のほうが低い。菊地ら⁽¹⁸⁾ は硬度 25 mg/l の人工軟水中でメダカの急性致死試験を行っている。それによると、AS の 48 hr-TLm は 46 mg/l, EO が 3 モル付加した AES は 69 mg/l であった。同条件での LAS は 10 mg/l であるから、急性致死濃度は、 $LAS < AS \leq AES$ である。一方、 AR_{65} は $AS < LAS < AES$ であり、急性致死濃度の順番と一致しない。以上のように、急性致死と忌避濃度とに、一定の関係が見出せなかった。このことは、界面活性剤の化学構造の相違が急性致死や忌避反応に影響を与えているが、致死と忌避とはその作用機作が異なることを示唆している。

石けん原体として高級飽和脂肪酸ナトリウムのうち、炭素数の異なる 3 種を選んで試験した。 AR_{65} は C_{16} の石けん (P) が最も高く、次いで C_{18} の石けん (S) となり、 C_{12} の石けん (L) が最も低くなった。LAS や AS では、疎水基が長鎖になればなるほど、その急性致死濃度が低下する⁽¹⁹⁾ことが知られている。しかし、石けんの忌避濃度は、疎水基鎖長によって大きく異なるけれども、一様な関係は見られなかった。

菊地ら⁽¹⁸⁾ のデータも使って計算した陰イオン系界面活性剤の $AR_{65}/48 \text{ hr-LC}_{50}$ は、おおよそ 0.0002~0.002 で、非常に小さい値となった。すでに、LAS の項で述べたが、これらの界面活性剤に対する魚の忌避行動は通常の魚に対する毒性試験に比べてはるかに低い濃度で行われている。化学物質の水生生物に対する影響評価法の一

つとして AR_{65} を求めることは有用であろう。

これまで、忌避試験結果の表示は平均忌避率か、 $P=0.05$ で有意な忌避を示す濃度で行ってきたが、以上のように AR_{65} とその 95% 信頼区間を求めることで忌避濃度のより厳密、正確な比較が可能となった。現在、著者らはこの試験法によって代表的な水質汚染物質の忌避試験を行うとともに、同族化合物間の化学構造による忌避の違いなども検討中である。

要 約

(1) 前報⁽⁵⁾で報告したメダカを使った小型で簡便、迅速な忌避試験法によって、陰イオン系界面活性剤原体 7 種と製剤 1 種の忌避試験を行った。また、同じ条件のメダカで急性致死試験を行い、比較検討した。

(2) メダカは、ブランク試験結果と比較して、LAS 濃度 1~5 $\mu\text{g/l}$ では忌避を示さず、10 $\mu\text{g/l}$ で有意な忌避 ($P=0.05$) を示し、30 $\mu\text{g/l}$ で忌避率が最高となった。それ以上の濃度では忌避を示さない個体が増えて平均忌避率が低下し、80 $\mu\text{g/l}$ では忌避しなかった。濃度の増加とともに忌避率が上昇し、ある濃度を境に忌避率が低下し、高濃度では忌避を示さなくなるという傾向は、AES 原体、製剤、石けん (P) でも見られ、陰イオン系界面活性剤に一般的な現象と思われる。

(3) AES 原体と製剤とでは、有意な忌避を示す濃度はほとんど同じであるが、忌避曲線の形状が異なっていた。

(4) 各種界面活性剤に対する忌避反応を相互比較するため、65% 忌避率を示す濃度 (AR_{65}) とその 95% 信頼区間を求めた。LAS に対するメダカの AR_{65} は試験魚の入手時期、試験日が異なってもほぼ一致し、再現性が非常によかった。

(5) AR_{65} は、 $AS (7.1 \mu\text{g/l}) < LAS$, $ABS < AES$ 原体、製剤 < 石けん (L) < 石けん (S) < 石けん (P) (285 $\mu\text{g/l}$) の順となり、化学構造の違いにより忌避濃度が異なった。

(6) 忌避濃度と急性致死濃度との間には、一定の関係が見出せなかった。

(7) $AR_{65}/48 \text{ hr-LC}_{50}$ は 0.0002~0.002 と非常に低く、陰イオン系界面活性剤に対する魚の忌避は、通常の毒性試験が行われる濃度よりはるかに低濃度で起っている。化学物質の魚類に対する影響評価の試験法の一つとして、本忌避試験法とこの方法で求めた AR_{65} による定

量的な評価法は有望であろう。

本研究の一部は文部省科学研究費（環境科学特別研究）によるものである。

試験の実施に協力していただいた大学院学生，八反田誠氏，学部学生，居村香代子氏，東川剛氏，AES 原 休を提供していただいた花王石鹼株式会社に謝意を表します。

- (1) 立川 涼，日高秀夫：農化，**52**，263 (1978).
- (2) J. D. Giattina, D. S. Cherry, J. Cairns, Jr. and S. R. Larrick : *Trans. Am. Fish. Soc.*, **101**, 526 (1981).
- (3) S. R. Larrick, K. L. Dickson, D. S. Cherry and J. Cairns, Jr. : *Hydrobiologia*, **61**, 257 (1978).
- (4) J. D. Giattina and R. R. Garton : "Residue Reviews," Vol. 87, ed. by F. A. Gunther, Springer-Verlag, New York, 1983, p. 43.
- (5) 日高秀夫，菅 麻也子，立川 涼：農化，**57**，571 (1983).
- (6) N. R. ドレーパー，H. スミス（中村慶一訳）：「応用回帰分析」，森北出版，1967，p. 8.
- (7) APHA, AWWA and WPCF : "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water," 14th ed., APHA, Washington D. C., 1975, p. 685.
- (8) 馬屋原敬民，佐々木健一，木皿憲佐，山田重男，久保田和彦，藤野澄子，高橋 惇：「生物試験法」，講談社サイエンティフィク，1977，p. 75.
- (9) J. B. Sprague and D. E. Drury : "Advances in Water Pollution Research," ed. by S. H. Jenkins, Pergamon Press, London, 1969, p. 169.
- (10) K. E. F. Hokanson and L. L. Smith, Jr. : *Trans. Am. Fish. Soc.*, **100**, 1 (1971).
- (11) Q. H. Pickering and T. O. Thatcher : *J. Water Poll. Cont. Feder.*, **42**, 243 (1970).
- (12) W. F. Holman and K. J. Macek : *Trans. Am. Fish. Soc.*, **109**, 122 (1980).
- (13) J. M. Mckin, J. W. Arthur and T. W. Thorslund : *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **14**, 1 (1975).
- (14) 藤谷 超：水処理技術，**8**，9 (1967).
- (15) T. J. Hara and B. E. Thompson : *Water Res.*, **12**, 893 (1978).
- (16) 社団法人日本水産資源保護協会：水産環境水質基準，1972，p. 21.
- (17) 田端健二：水処理技術，**21**，541 (1980).
- (18) 菊地幹夫，若林明子，井上 互，露崎亀吉：東京都公害研究所公害研究報告書（水質編），昭和51年度，p. 35.
- (19) 若林明子，菊地幹夫：遺伝，**30**，10 (1976).