

## コンプレキサンによる重金属の毒性緩和 及び除去性に関する基礎的研究 第3報

EDTA 短期間暴露によるカドミウム  
既汚染魚からの金属除去性について

村 本 茂 樹

排水に含まれる重金属 (Cd, Zn, Pb, Cu) の魚体内への移行集積性及び致死毒性<sup>1)</sup> について、その高濃度水<sup>2)</sup> 及び低濃度水<sup>3)</sup> 暴露時におけるコンプレキサン添加の影響は既に報告した。しかし、カドミウム既集積魚からの金属除去性及び復元に関する知見<sup>4,5)</sup> は数少ない。

そこで、Cd 既集積魚からの清浄水あるいはコンプレキサンによる重金属体外除去性と斃死への影響を検討するために本実験を行なった。

金属として、集積性<sup>2)</sup> の高いカドミウム ( $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ) を用い、低濃度水 (Cd 0.05 ppm) 中で、3カ月間飼育し、あらかじめ Cd 集積魚を作り、4カ月目からそのまま続行のもの、コンプレキサン (EDTA $\cdot$ 4Na $\cdot$ 4H $_2$ O) 実験区に移すもの、清浄水実験区へ移すものの3実験区を設け、比較的短期間 (14日間) 処理における魚体内 Cd 含有量の推移を検討した。

本研究遂行に当たり、終始懇切なご指導を賜った岡山大学名誉教授小林 純博士に深謝するとともに、飼育管理をお願いした愛知県水産試験場戸倉正人 技師ならびに実験に当たり資料の提供を頂いた帝國化学株式会社松崎 実、辻 章両氏に心よりお礼を申し上げる。

### 材料および方法

#### 飼育実験

供試魚は体長約 10.7 cm, 体重約 15 g の2歳魚のコイ (*Cyprinus carpio* L.) を選び、各区10尾当、60 l 容ガラス水槽 (愛知県水試) を用い、Cd 0.05 ppm 水溶液中で3カ月間飼育した。カドミウムは塩化カドミウム ( $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ) を使用し、Cd 蓄積魚を作製した。その後、そのまま取揚げるもの、コンプレキサン (使用金属量の3モル倍量添加) 水溶液中で飼育するもの、清浄水 (水道水<sup>2)</sup>) に移すものの2処理区を設け、それぞれ、3日目、7日目、14日目に各10尾取揚げ分析に供した。他に、対照区として水道水のみ飼育区 (20尾) を設け、計4区 (100尾) とした。飼育期間の水温は 16~19°C であった。飼育水は水道水を用い、使用前3日間エアレーションした。投餌は稚鯉入手後ペレット

3号 (Cd 含有量 0.05  $\mu\text{g/g}$  以下) を用い、1週間飼育馴化させた。以下飼育法は前報<sup>3)</sup>と同様である。

### 分析 方法

Cd 蓄積魚を作製後、コイを取揚げ、体表面を蒸留水で洗滌し、内臓、えら、その他の部分に分けた。生重量を秤量し、前報<sup>3)</sup>と同一方法により、乾燥し、灰化し、乾燥重量と灰重量を求めた。灰試料の内臓とえらは全量を、その他は0.5gをビーカーに秤取し、 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  (2:1) の混酸にて分解後、0.1N-HClを用い、50 ml とし、その試料溶液の25 ml を用い、APDC-MIBK 抽出後、原子吸光装置で Cd, Zn, Cu を測定した。

## 結 果 と 考 察

### 1. 斃死および奇形魚について

供試魚 100 尾のうち、斃死魚体数は全実験期間を通じ2尾であった。Cd 蓄積飼育期間中に1尾、4ヵ月目からの金属排出処理期間中に1尾斃死した。また奇形魚(脊椎骨異常)が No. 8 の Cd 0.05 ppm 単独区において、90日目に出現した(写真1)。

### 2. Cd 蓄積の体内分布

各実験区における魚体内(内臓、えら、その他)の Cd, Zn, Cu 含有量(灰中平均値  $\mu\text{g/g}$ ) 分布および Cd/Zn 含有量比を第1表に示す。

まず Cd 集積性をみるために、Cd 0.05 ppm 水溶液中で3ヵ月間飼育した場合の魚体中 Cd 含有量を実験開始時の値と比較すると、内臓91倍、えら38倍、その他35倍の集積量の増大がみられた。しかし、対照魚(水道水で105日間飼育)は Cd 含有量の変化は少

第1表 コンプレキサンおよび清浄水による Cd 既集積魚の

Cd 集積 処 理	後 処 理 (処理日数)			pH	重金属含有量(灰分中 $\mu\text{g/g}$ )					
	3	7	14		Cd			Zn		
					内 臓	え ら	そ の 他	内 臓	え ら	
Cd 0.05 ppm	EDTA			7.2	214	152	18	1411	1517	
	EDTA	→		7.2	125	138	15	1354	1560	
	EDTA		→	7.2	117	61	18	1449	1743	
(3ヵ月間 稚鯉飼育)	清浄水			7.0	311	149	21	1193	972	
	清浄水	→		7.0	277	139	18	1287	889	
	清浄水		→	7.0	264	113	20	1328	1464	
	→			7.1	320	169	28	1064	922	
対 照 魚 (水道水飼育)				7.0	3.7	0.4	0.3	1418	1580	
実 験 開 始 時 供 試 魚				7.0	3.5	4.4	0.8	1135	1537	

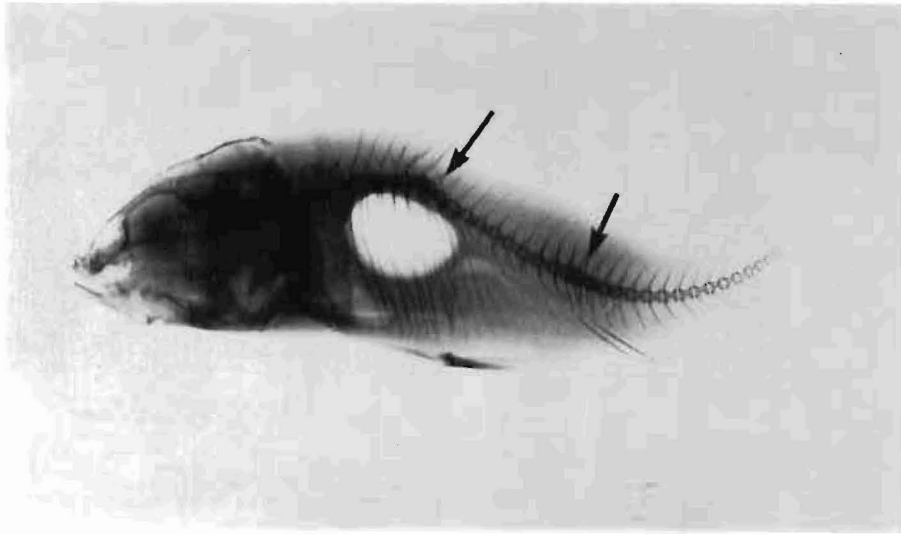


写真1 Cd 0.05 ppm, 飼育90日目に出現の脊椎骨異常魚X線写真(側面)

なく、えらでは実験開始時よりむしろ低い値を示した。Zn と Cu 量は各部位で増加傾向にあったが、顕著な差は認められなかった。Cd/Zn 含有量比は実験開始時に比し、内臓 97倍、えら 63倍、その他 33倍量の、3カ月間 Cd 水中飼育による集積を示した。また、Cd 含有量の分布は、対照区(水道水のみで105日間飼育)では、内臓 > えら ≥ その他の関係にあり、えらおよびその他の部位に比し、内臓への集積が9~12倍高い。Cd 0.05

魚体各部位からの重金属排出比較

Cu				(Cd/Zn) × 100			灰重/乾燥重 (%)		供試魚数
その他	内臓	えら	その他	内臓	えら	その他	内臓	えら	
500	105	53	40	15.2	10.0	3.5	6.8	18.0	10
428	89	59	37	9.2	8.9	3.5	6.1	18.6	10
380	103	55	38	8.1	3.5	4.6	5.7	17.6	10
475	102	46	39	26.1	15.3	4.4	4.7	17.2	10
413	98	39	45	21.5	15.6	4.4	5.1	15.9	10
413	105	69	43	19.9	7.7	4.8	6.5	17.4	10
370	103	36	31	30.0	18.4	7.6	5.5	16.7	20
425	116	51	36	0.26	0.03	0.07	7.7	17.6	20
343	85	35	28	0.31	0.29	0.23	8.7	17.9	6

ppm 単独区は対照魚に比較し、内臓 86 倍、えら 423 倍、その他 93 倍の集積量を示し、内臓>えら>その他の分布にあった。内臓中への高濃度集積が認められ、前報<sup>3)</sup>の結果と類似するが、対照魚に比しえら部位への高蓄積性を示した点が特徴的である。

次に、3 カ月間 Cd 0.05 ppm 飼育蓄積の金属単独区とコンプレキサン14日間処理区についての比較を行なう。コンプレキサン処理区では金属単独区に対し、えら 0.36 倍、内臓 0.37 倍、その他は 0.64 倍と各部位においていずれも含有量の低下がみられた。同様に清浄水区では、えら 0.67 倍、内臓 0.83 倍、その他 0.71 倍の値を示し、コンプレキサンに比し、やや低減率は劣るが、各部位において重金属排出除去性が認められた。すなわち、コンプレキサン処理によると極めて短期間にえら、内臓ともに Cd 含有量の低減がみられ、特にえら部位においてその傾向が顕著であった。

### 3. 他の金属 (Zn, Cu) 含有量の体内分布

第 1 表より Cd 0.05 ppm 水溶液 (pH 7.1) 中で 104 日間飼育した魚体各部位の Zn と Cu 含有量の比較を行なうと、対照魚 (水道水で飼育) の Zn 分布は、えら>内臓>その他の関係にあり、Cd 単独区では内臓 $\geq$ えら>その他となり、Cd イオンの添加により Zn の分布が変動する。ことにえら部位では Zn 量が Cd 水飼育によりほぼ半減 (58%) し、Cd と Zn の拮抗関係がみられた。すなわち、Zn 量は対照魚に比し、Cd 処理区では、えら 0.58 倍、内臓 0.75 倍、その他 0.87 倍に減少した。

次に Cd 0.05 ppm 水溶液で 3 カ月飼育後、コンプレキサン (Cd 量の 3 倍モル) 水溶液中で飼育したものの Zn 量は、えら>内臓>その他の関係を示し、Cd 単独区に比し、えら 1.10 倍、内臓 1.02 倍、その他 1.03 倍となり、Zn は対照魚の Zn 量とほぼ同値にまで回復した。

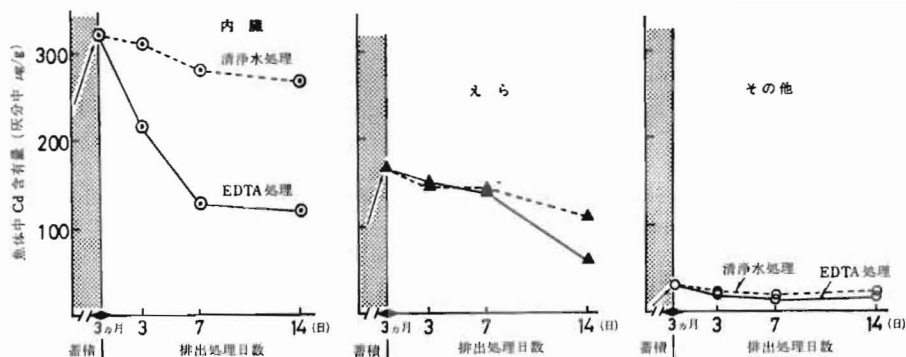
同様に、Cd 0.05 ppm で 3 カ月飼育後水道水飼育に切替えた区でも、Zn 量の回復は早い、えら部位では 7 日目まで低い傾向にあった。

次に、Cu では、対照魚は内臓>えら $\geq$ その他の関係にあり、内臓に特異的に集積する傾向がみられた。Cd 単独処理魚を対照魚と比較すると、内臓 0.89 倍、えら 0.70 倍、その他 0.87 倍の含有量を示した。しかし、Zn に比し Cd の影響は少なく、EDTA 処理、清浄水処理においても対照魚とほぼ同含有量を示し、変動は少ない傾向にあった。

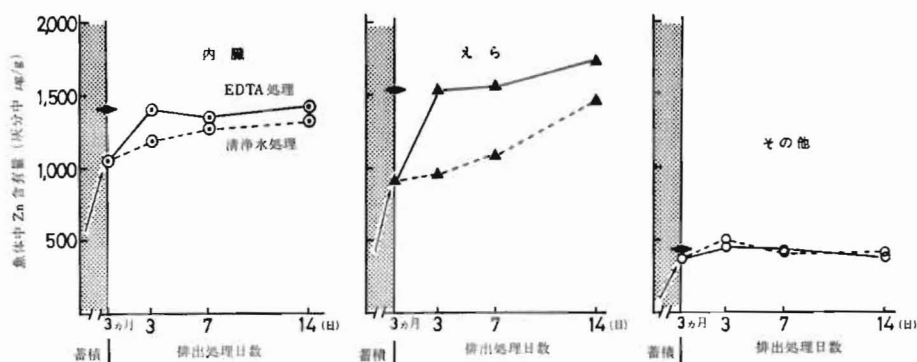
### 4. コンプレキサン処理、清浄水処理による魚体各部位中の Cd, Zn, Cu 含有量の時間的推移

各処理区における魚体各部位中 Cd, Zn, Cu 含有量の時間的推移 (経日変化) をそれぞれ第 1 図、第 2 図、第 3 図に示した。

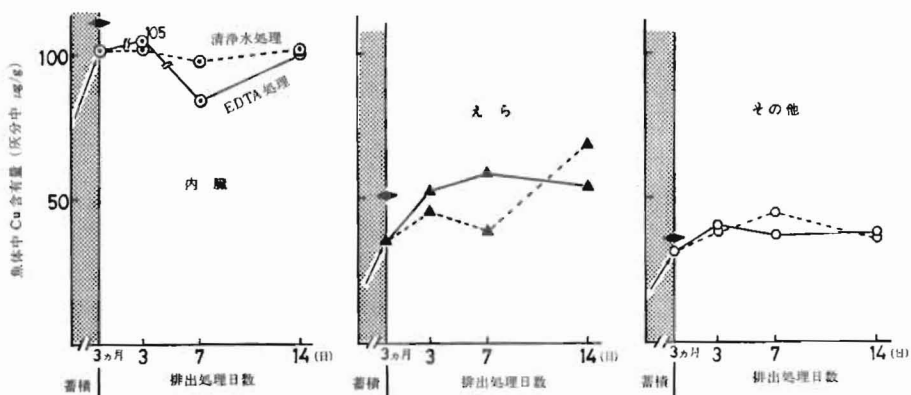
第 1 図より、内臓中 Cd 含有量推移をみると、3 カ月間の飼育により、Cd は灰中 320  $\mu\text{g/g}$  の含有量に達するが、コンプレキサン水溶液中で 3 日間飼育することにより 214  $\mu\text{g/g}$  に減少し、7 日間では 125  $\mu\text{g/g}$  に半減する。その後はほぼ平衡状態となり、14 日間でもその変動は小さかった。すなわち、極短期間 (3 日間) のコンプレキサン処理により、Cd 蓄積の約 30% が排出され 7 日間で半減する結果を得た。



第1図 Cd 0.05 ppm, 3カ月間飼育集積魚のコンプレキサン処理および清浄水処理における魚体中Cd量(灰中 $\mu\text{g/g}$ )の排出推移



第2図 Cd 0.05 ppm, 3カ月間飼育集積魚のコンプレキサン処理および清浄水処理における魚体中Zn量(灰中 $\mu\text{g/g}$ )の排出推移



第3図 Cd 0.05 ppm, 3カ月間飼育集積魚のコンプレキサン処理および清浄水処理における魚体中Cu量(灰分中 $\mu\text{g/g}$ )の排出推移

そこで、長期間処理時のコンプレキサンによるCd排出推移を予想するために、処理日数と内臓灰中のCd含有量との関係式を求めると次式となる。

$$y = -13.64x + 275.9 \quad (r = -0.87)$$

これより、Cd 蓄積量の 1/2, 1/3 量および対照魚と同濃度 (3.7  $\mu\text{g/g}$ ) となるに要する処理日数は、8.5日、12.4日 および 20日となる。

同様にえら部位における推定を行なうと、コンプレキサン処理では

$$y = -7.74x + 176.3 \quad (r = -0.97)$$

となり、Cd 蓄積量の 1/2, 1/3 および対照魚と同一濃度 (0.4  $\mu\text{g/g}$ ) まで低減するに要する処理日数は、11.8日、15.5日 および 22.7日と推定される。

これに対し、清浄水処理においても、緩慢ではあるが、処理日数と共に魚体中 Cd 量は低減傾向にあった。蓄積 Cd 量の 1/2, 1/3 量に低減するに要する必要処理日数は、内臓の  $y = -4.21x + 318.3$  ( $r = -0.95$ )、えらの  $y = -3.80x + 160.3$  ( $r = -0.98$ ) より推定すると、内臓では各々、約40日、50日、えらでは約20日、30日となり、清浄水処理実験は少なくとも 1~3 カ月間の処理日数を必要とすると考えられる。これらは単に推定試算であり、長期間処理における Cd 既集積魚からの排出推移は別の実験により確認される必要がある。また、部位別排出効果はえら>内臓>その他の順と考えられる。これは、コンプレキサンによる Cd 溶出が主に細胞表面に吸着または沈着状態にある Cd との錯化溶出によるため、実際には細胞内蓄積あるいは不溶出化された Cd の一部は魚体内に残存すると推測される。したがって、飼育水と接触が大であるえら部位において、Cd 溶出効果は高く、次いで内臓、その他の順になるものと考えられる。

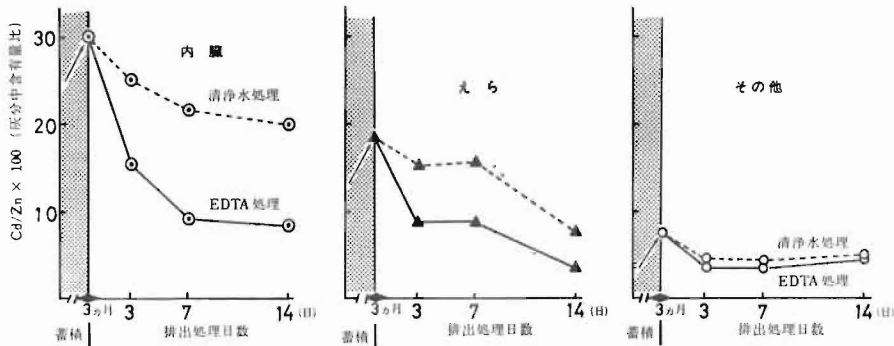
次に、第 2 図より Zn 量の変動についてみると、3 カ月間 Cd 蓄積飼育により、魚体中で含有量の変動は内臓、えら部位において、顕著な減少がみられ、水中 Cd 量と魚体中 Zn 量とは拮抗現象がみられた。Cd 蓄積後の処理では、コンプレキサン処理により内臓で、3 日目に対照魚とほぼ同濃度にまで回復した。これに対し、清浄水処理ではえら部位でその回復が遅れ、14 日目に対照魚とほぼ同値となった。

また、第 3 図より Cu についてみると、Cd, Zn とは異なり、3 カ月間 Cd 集積飼育により、えらでは対照魚の約 2 倍に増大するが、内臓では約 0.9 倍と低い値を示した。コンプレキサン処理により、内臓、えら部位ともに、Cu 含有量は漸増傾向を示し Cd とやや拮抗関係がみられるのに対し、清浄水処理ではえら、内臓ともに Cu 含有量の変動は少なく、Cd 集積飼育終了時の魚体中 Cu 含有量とほぼ同値を示した。

##### 5. 各処理区における Cd/Zn 含有量比と処理期間 (日数) との関係

第 1 表より、魚体中の必須元素である Zn と金属処理剤として用いた Cd との比をみると、対照魚の Cd/Zn 比は内臓>その他  $\geq$  えらの関係にあるが、Cd 単独区では内臓>えら>その他となり、対照魚に比し、えら 613 倍、内臓 115 倍、その他 109 倍と特にえら部位で Cd/Zn 比が高い。しかし、コンプレキサン水溶液で飼育することにより、その比はえら 0.19 倍、内臓 0.27 倍、その他 0.61 倍といずれも Cd 単独区に比し激減し、コンプレキサンによる Cd 排出除去効果が大であった。また清浄水もコンプレキサンに比し緩慢ではあるが同傾向が確認された。

3 カ月間 Cd 蓄積後のコンプレキサン及び清浄水による Cd 体外排出推移を第 4 図に示す。



第4図 Cd 0.05 ppm, 3ヵ月間飼育集積魚のコンプレキサン処理および清浄水処理における魚体中 Cd/Zn 含有量比の排出推移

これより、内臓中 Cd/Zn 比と処理日数との関係を求めるとコンプレキサン処理区では、 $y = -1.38x + 23.9$  ( $r = -0.83$ )、清浄水処理区では  $y = -0.71x + 28.6$  ( $r = -0.93$ ) の関係が得られた。同様に、えら中における Cd/Zn 比をみると、コンプレキサン処理区では、 $y = -0.95x + 15.7$  ( $r = -0.92$ )、清浄水処理区では  $y = -0.72x + 18.6$  ( $r = -0.95$ ) の関係が得られ、コンプレキサン処理により、Cd 蓄積魚からの排出効果は短期間に認められた。清浄水においても、Cd 集積魚からの排出は長期間 (1~2ヵ月) 処理により可能であると考えられる。したがって、高集積金属の除去に限れば、汚染環境水の清浄化と適量のコンプレキサン添加処理により、Cd 既汚染魚をはじめ重金属汚染魚の復元の可能性が示唆されたといえよう。

#### 摘 要

Cd の比較的低濃度水溶液 (Cd 0.05 ppm,  $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  使用) 中でコイを3ヵ月間飼育し、あらかじめ、Cd 集積魚を作り、既 Cd 集積魚に対するコンプレキサンおよび清浄水処理による魚体各部位からの Cd 排出除去性を検討した。

1) 魚体中 Cd 集積分布は内臓 > えら > その他の順位にあり、ことに内臓への集積が大であるが、対照魚と比較し、えら部位の Cd 濃縮率が大きい結果を示し、前報<sup>9)</sup> と類似した。

2) Cd 既集積魚に対し、コンプレキサン処理では極めて短期間 (14日以内) に Cd の魚体外排出除去効果が認められた。Cd 排出関係式より、Cd 0.05 ppm, 3ヵ月間集積量の 1/2 量, 1/3 量および対照魚の含有濃度にまで排出除去するのに要する処理日数はそれぞれ内臓は 8.5日, 12.4日, 20日, えらは 11.8日, 15.5日, 22.7日と推定された。

3) 同様に、清浄水処理でも、コンプレキサン処理に比し、緩慢ではあるが、Cd 排出現象が認められた。排出関係式より、Cd 集積量の 1/2 量, 1/3 量および対照魚の含有濃度にまで低減するに要する処理日数はそれぞれ、内臓は約 40日, 50日, 75日, えらは約 20日, 30日および 45日と推定された。したがって、清浄水のみによる Cd 排出処理実験は 1~3ヵ月間必要であると推定される。

4) Cd 0.05 ppm 飼育時の魚体中 Zn 量は減少傾向にあり、ことにえら部位で半減し、

Cd と Zn には拮抗現象が認められた。しかし、コンプレキサン処理により極めて短期間（3日間）に Zn 含有量は対照魚とほぼ同量に回復した。これに対し清浄水処理はやや遅れ、2週間の処理日数を要した。

5) Cd 0.05 ppm 飼育時の Cu 量の魚体内分布は Zn 同様、えら、内臓ともにやや含有量の低下がみられ、Cd と Cu にも拮抗関係が推察された。えらではコンプレキサンおよび清浄水処理により、短期間（2週間以内）に対照魚と同値まで回復するが、内臓ではコンプレキサン処理、清浄水処理ともにやや回復が遅れた。

## 文 献

- 1) Doundroff, P. and Katz, M. 1953. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish. I. Bioassay methods for the evaluation of industrial wastes to fish. Sewage Ind. Wastes, 23, :1380-1397. II. The metals, as salts. Sewage Ind. Wastes 25 : 802-839.
- 2) 村本茂樹. 1978. コンプレキサンによる重金属の毒性緩和及び除去性に関する基礎的研究. 第1報. 重金属 (Cd, Zn, Cu, Pb) の比較的高濃度水における水産動物への集積及び毒性に対するコンプレキサンの影響. 農学研究 57 : 127-142.
- 3) 村本茂樹. 1979. コンプレキサンによる重金属の毒性緩和及び除去性に関する基礎的研究. 第2報. 低濃度重金属 (Cd, Cu) 水における水生動物へのこれら重金属の集積及び毒性に対するコンプレキサンの影響. 農学研究 58 : 31-42.
- 4) 吉川博・鈴木康友. 1976. カドミウム毒性に対するフェノバルビタール効果. 環境保健レポート 38 : 133-136.
- 5) Shoreder, H. A. and Buckman, J. B. 1967. Cadmium hypertension. Its reversal in rats by a zinc chelate. Arch. Environ. Health 14 : 693.