

## 合成洗剤が淡水産藻類に及ぼす生態的影響調査の試み

生物学 菅原 洋子・片倉久美子

### An Attempt to Research the Ecological Effects of Synthetic Detergents on Freshwater Algae

Yoko SUGAWARA and Kumiko KATAKURA

#### 要 旨

淡水産藻類の1種である緑藻類、*Scenedesmus sp.* を液体無機培地の中で無菌的に培養しながら、その増殖曲線とこれらの藻類を含む懸濁液の透過率変動曲線の推移を観察することにより、藻類に対する合成洗剤の生態的影響調査を試みて、以下の結論を得た。

- (1) 合成洗剤無添加の基本培地の中で、約1カ月間培養して求めた増殖曲線は一般的な増大過程を辿り、S字型の曲線を描くのに対し、透過率変動曲線は増殖曲線の推移とは相反した減少過程を辿る。
- (2) 初め基本培地の中で増殖させておき、増殖過程の途中で0.1、1、10、100、1,000ppmの5段階の濃度区の合成洗剤を作用させたが、その増殖過程には合成洗剤の影響と認められるような顕著な変化が見られなかった。また、透過率変動曲線についても同様であった。加えて、培養開始の初めから5段階の濃度区に合成洗剤を混和した培地の中で藻類を増殖させて、培養開始時からの増殖曲線と透過率変動曲線の推移を追跡した結果においても、1,000ppmの場合を除き、対照区に比べて、著明な変化が見られなかった。

しかし、肉眼的には高濃度区で合成洗剤添加後4~5日から藻類の褪色がおこり、また、光学顕微鏡による所見では10ppm以上の濃度区になると、この種に特有の4~8個体が連なった定数群体を作っているものの割合が少くなり、細胞の大きさ自体も小形化する傾向が観察された。

#### 緒 言

自然環境の汚染に関しては、今日まで多くの問題提起がなされ、広範な研究が進められているが、そのうちの水質汚染についても法的規制や行政的措置なども加わり、汚染源の1つである産業排水の改善が見られる中で、むしろ生活排水による汚濁が増大している場合もあり、課題を残している。このような水質汚染に係わる人工的な化学物質の1つとして、合成洗剤の問題については、日常生活と密着し、多くの生活者と直接の接触があり、広汎に使用されているという観点から、1960年頃を前後とした多くの研究があり、人体への毒性、発泡、富栄養化の問題に関しては一応の結論を見ているものと思われる。

今回、著者らは淡水産藻類の1種を用いて、合成洗剤の慢性的影響について調査するための実験を試み、この方法の問題点をも含めて検討しているので、中間報告として発表する。

#### 方 法

供試生物には緑藻類の中から *Scenedesmus sp.* を用いた。これをバイオトロン人工気象器(ウチダ製)の中で照度、日照時間、温度を一定に保ちながら、100ml三角フラスコ中で、基本培地として液体無機培地(Bristol 改変培地)<sup>1)</sup>を用いて無菌的に培養を行って、まず、合成洗剤無添加の状態の基本培地中での増殖曲線を求めて対照区とした。次に合成洗剤の影響を検討するためには、対照区と同一の条件下で、数日間培養を行った後、増殖過程の対数期にあたる時

期に、基本培地で十分に溶解した市販の合成洗剤をそれぞれの培養基の中に添加してよく混和し、一定の濃度区になるように調整して、この中で培養を継続しながら、増殖曲線の変動を追跡することにした。さらには、培養を開始する前から、基本培地の中に一定の濃度区になるように合成洗剤を混和しておき、これに少量の藻類を接種して、培養開始時からの増殖曲線の変動過程を観察することも試みた。調査した合成洗剤の濃度区は0.1、1、10、100、1,000ppmの5段階で、このうちの1,000ppmの段階は標準使用量(洗剤25g/水30ℓ)に近いものと考えられる。供試洗剤の標示されてある成分は表1の通りである。

表1 供試合成洗剤の成分

|  |
|--|
| <p>界面活性剤 (41%)<br/>直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム、高級アルコール系 (陰イオン)、ポリオキシエチレンアルキルエーテルアルミノけい酸塩、炭酸塩<br/>蛍光剤配合、酵素配合<br/>りん酸塩を配合していません。但し設備が有りん洗剤と共用のため、微量のりん分が検出されることがあります。</p> |
|--|

なお、前述の増殖曲線は、培養開始の日から始めて、適当な培養経過日毎に培養基の中から藻類の懸濁液を1.5mlづつ採取し、トーマ血球板を用いて懸濁液1ml当りの細胞数を算出した値をもとにして作成した。

また、これと同時に藻類懸濁液の透過率を光電光度計(ホトユニック5、アタゴ製)により測定して透過率変動曲線とし、参考にした。

培養期間中の照明は人工気象器付属の白色蛍光灯により、培養基の位置で約4.5klx、日照時間の周期は明期18時間、暗期6時間とし、また、人工気象器内の温度は明期28℃、暗期20℃に保たれた。培養は静置状態で行い、炭酸ガスの通気は実施しなかった。

### 結 果

図1には合成洗剤を添加せず、*Scenedesmus sp.* を基本培地の中で約1カ月間培養した場合

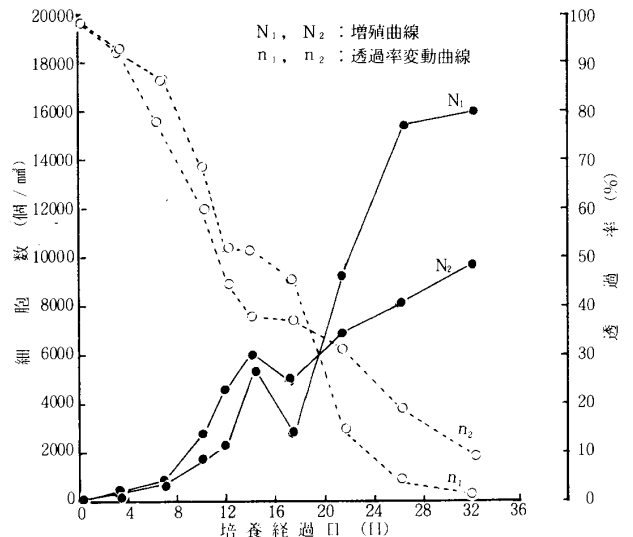


図1 合成洗剤無添加で培養した場合の増殖曲線と透過率変動曲線

の増殖曲線と、同時に求めた透過率変動曲線とを示している。図中のN<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>はそれぞれ異なる2個の培養基から得られた増殖曲線であり、n<sub>1</sub>、n<sub>2</sub>はN<sub>1</sub>とN<sub>2</sub>に対応した透過率変動曲線を示している。図の如く、増殖曲線はどちらの場合も初期の7日頃まで緩やかに増大してゆくが、その後急速に増大し、その増殖の程度には2例の間で開きがあるが増殖過程については20~25日から再び緩やかな増大に転じてゆく。

いわゆる増殖曲線の誘導期、対数期、定常期の過程が見られる。他方、透過率変動曲線は初めの7日頃までは緩やかに減少してゆき、それに続く20~25日頃までは急速な減少傾向を示し、やがて漸減に転じて、前述の増殖曲線とはほぼ対照的な変動過程を辿る。

次に、合成洗剤の影響を調査するために、最初無添加の基本培地で培養を行い、増殖曲線の対数期にあたる時期(培養開始後13~14日目)に合成洗剤を添加して得られた増殖曲線を図2から図6までに示してある。これらの図中のN<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>は対照区の経過であり、対比して図2から図6の順序で0.1ppmから1,000ppmまでの濃度区で得られた増殖曲線を2例づつ示した。これらの図中の増殖曲線の多くは対照区のN<sub>4</sub>又はN<sub>5</sub>の変動過程と類似した増大過程を辿り、中にはB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>のように途中から極端に増大傾向を示す例もあった。また、図7か

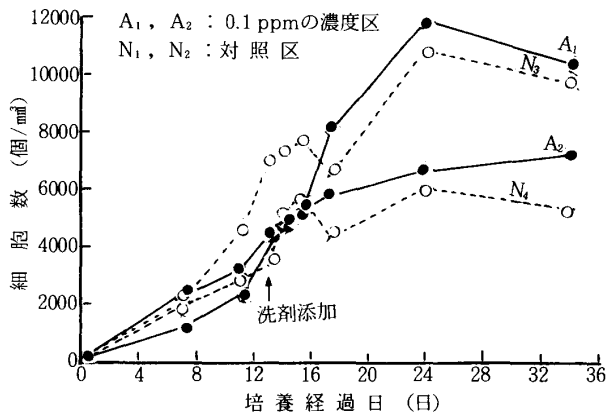


図2 0.1ppmの濃度区における増殖曲線

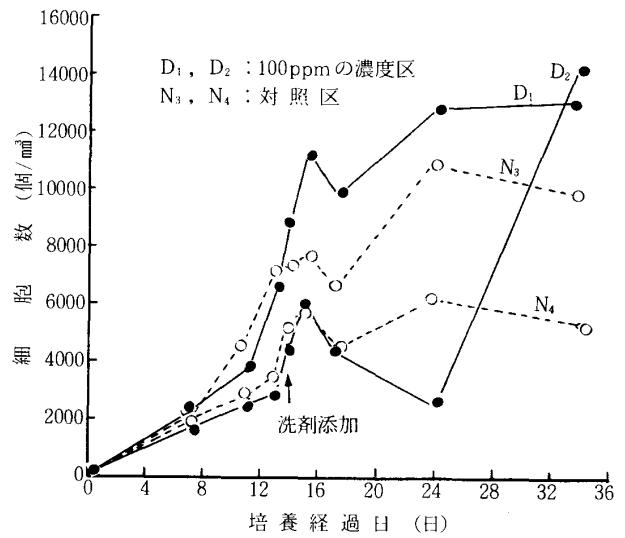


図5 100ppmの濃度区における増殖曲線

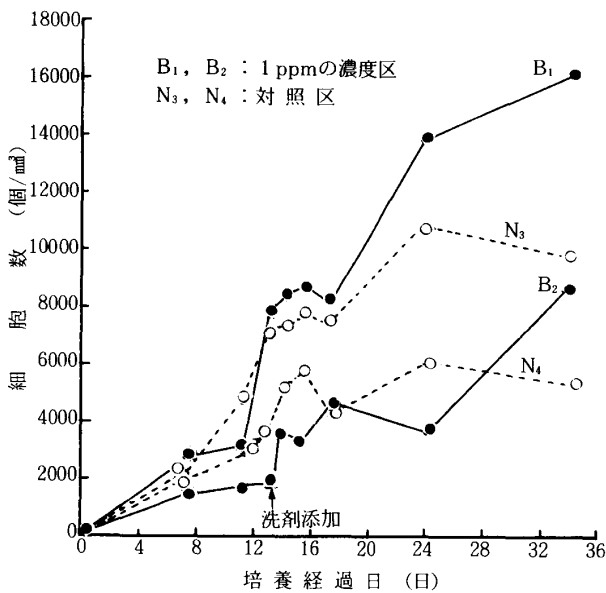


図3 1ppmの濃度区における増殖曲線

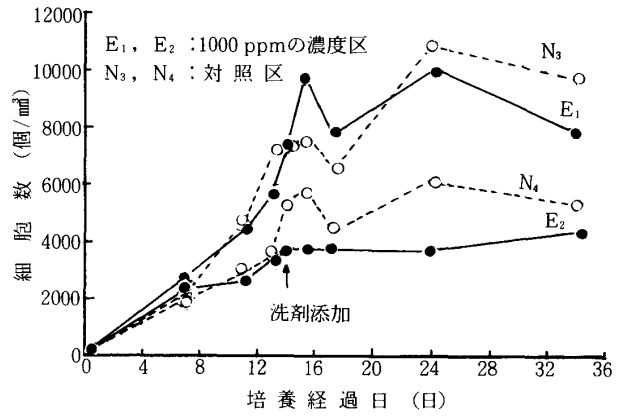


図6 1,000ppmの濃度区における増殖曲線

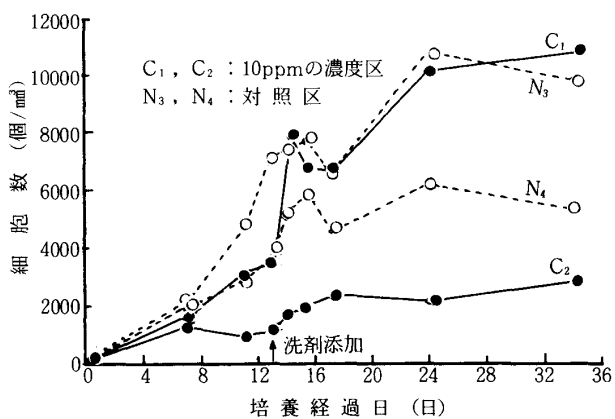


図4 10ppmの濃度区における増殖曲線

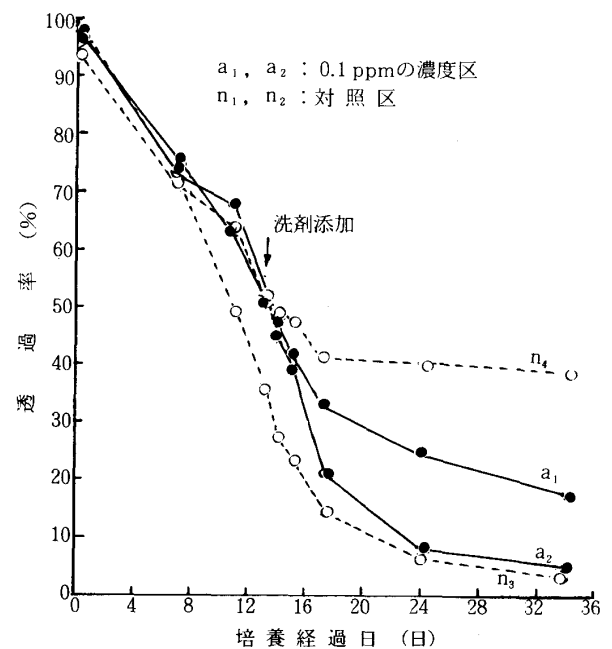


図7 0.1ppmの濃度区における透過率変動曲線

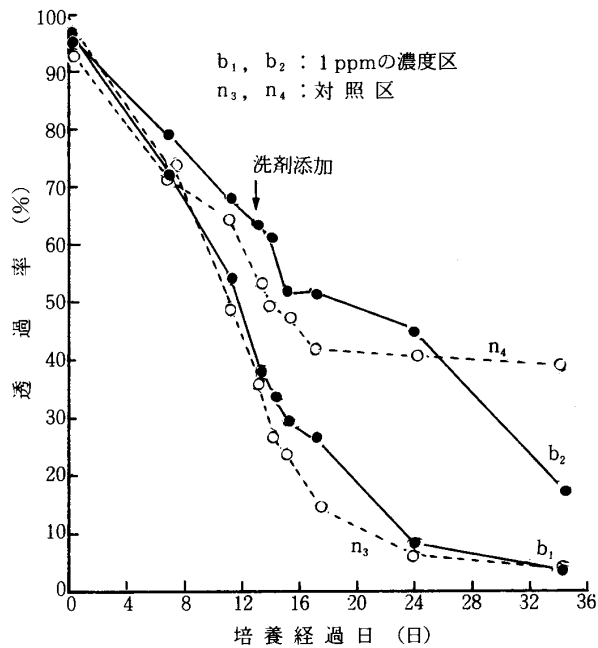


図8 1ppmの濃度区における透過率変動曲線

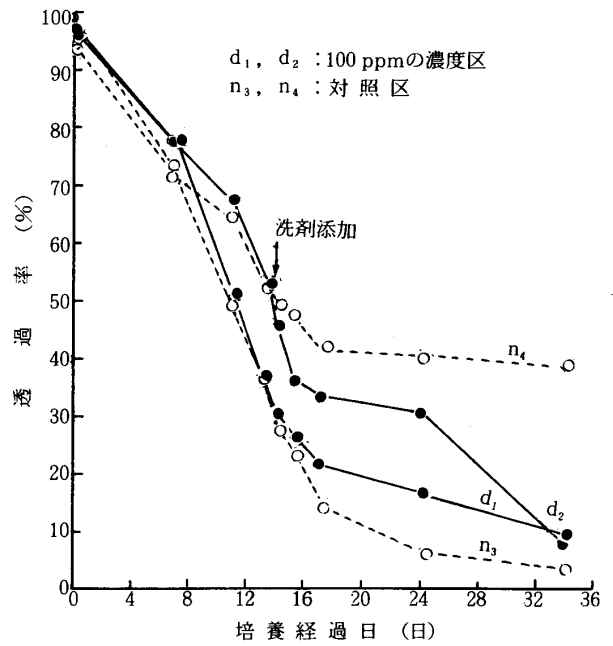


図10 100ppmの濃度区における透過率変動曲線

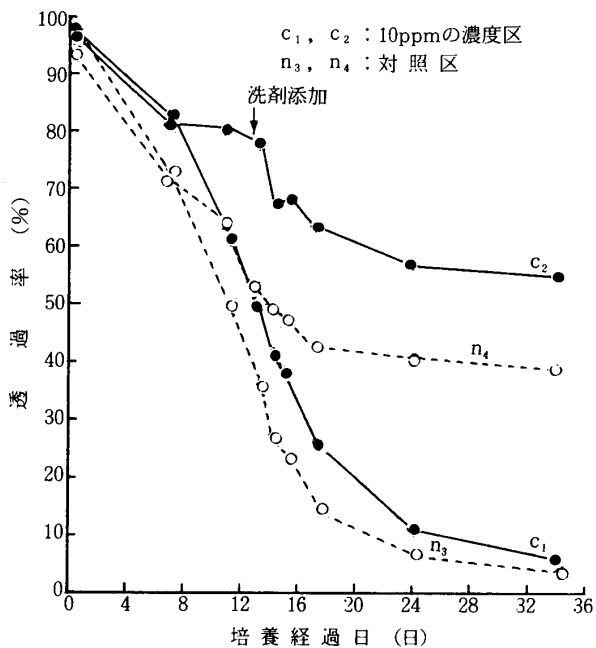


図9 10ppmの濃度区における透過率変動曲線

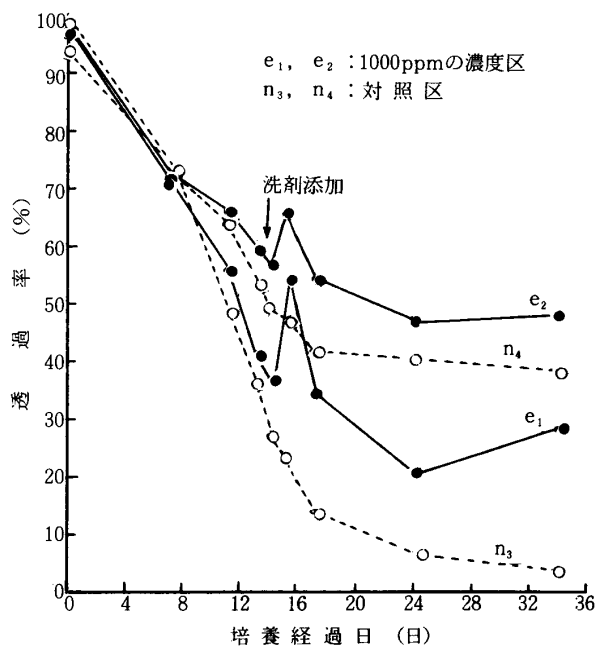


図11 1,000ppmの濃度区における透過率変動曲線

ら図11には、図2から図6に示したと同一の培養基それぞれから同時に求めた透過率変動曲線を示している。図中の $n_4$ 、 $n_5$ は対照区のものであり、図7から図11のそれぞれの曲線は0.1ppmから1,000ppmまでの濃度区に対応する結果である。この場合も0.1ppmから100ppmまでは対照区のいずれかの曲線と類似した減少過程を辿る。さらに図12は培養開始時から5

段階の濃度区に合成洗剤を混和した培地の中で、培養して求めた増殖曲線であり、図13は図12に対応して同時に求めた透過率変動曲線を示している。これらの図中の曲線についても、1,000ppmの場合の図12jと図13j曲線を除き、対照区とほぼ類似した経過で推移しており、合成洗剤添加と無添加の場合との顕著な差異を認めることはできなかった。

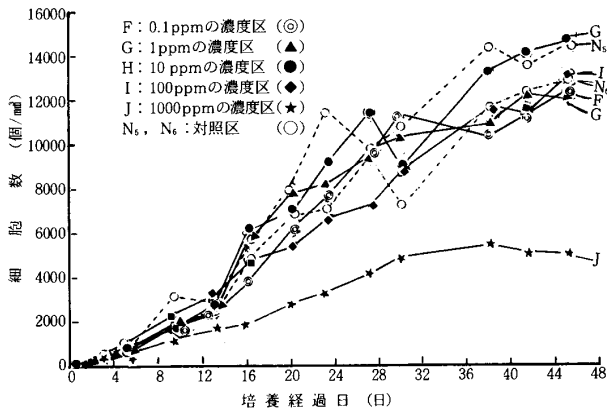


図 12 培養開始時から合成洗剤混和培地の中で培養したときの増殖曲線

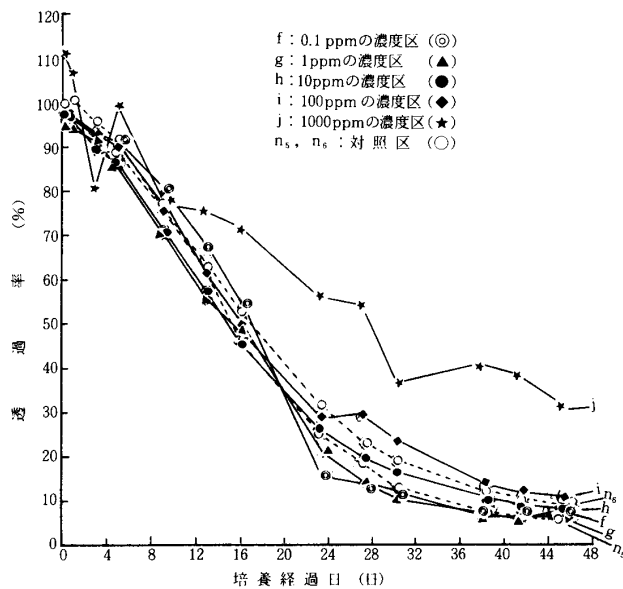


図 13 培養開始時から合成洗剤混和培地の中で培養したときの透過率変動曲線

### 考 察

生物の増殖や成長の経過を示す増殖（成長）曲線は一般的に誘導期、対数期、定常期を辿り、S字型の曲線を描くことはよく知られており、今回の条件で *Scenedesmus sp.* の場合も一般的な増殖過程を経てS字型の曲線を描くことが観察された。これと同時に得られた透過率変動曲線は増殖曲線の推移とほぼ相反した減少過程を辿る。このように両者の間には対照的な関係が見られ、淡水産藻類の増殖状況を把握してゆく上で、これら両者の変動過程を併わせて観察してゆくことは意義があるものと思われる。しかしながら、増殖曲線を求める場合、その基礎と

なる細胞数の測定値間には、同一の試料から得られたものでもばらつきがあり今後の課題を残している。また、増殖曲線、透過率変動曲線のいずれを求める場合においても、条件を揃えたつもりでも、培養基それぞれから得られる測定値間には差異が生じることがあり検討の余地を残している。

次に、合成洗剤の影響について述べると、急性毒性に関しては若林ら<sup>2)</sup>の綜説の中で、水生生物に対して合成洗剤の主成分である界面活性剤、特に陰イオン界面活性剤、側鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (ABS) や直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS) の半数致死濃度は 8.3~56mg/l の範囲であり、セッケン (浴用) の 230mg/l やクレンザーの 731mg/l と比較して毒性が強いことが述べられている。

植物プランクトンについては須藤ら<sup>3)</sup>が淡水産緑藻類、*Chlorella vulgaris* を供試生物として、ABS に対する 50% 増殖阻止量を求めた結果を 13.5mg/l と報告している。他に徳田ら<sup>4)</sup>が海産の緑藻類、*Chlamydomonas sp.* を用いて、流出乳化剤として利用されている種々の非イオン系界面活性剤による致死濃度を調査した中で、その耐性には大差があり、1ppm 以下から 10,000ppm 以上の範囲に亘っていたと述べている。著者らが用いた供試洗剤は種々の成分を含む一般商品で単一の界面活性剤ではないが、表 1 からすればその主成分は LAS とポリオキシエチレンアルキルエーテル (POE) およびその他の界面活性剤が 41% 含まれており、従って、単純に換算すれば、著者らの場合の 100 ppm の濃度区では界面活性剤だけの濃度は 41 mg/l 前後となる。すでに述べたように、著者らの結果では、最も高い 1,000ppm の濃度区を除いては、増殖曲線や透過率変動曲線の上に合成洗剤に依ると指摘されるような顕著な変化を確認することができなかった。これは、供試生物や実験条件等の差異はあるにしても、若林らや須藤らとはやや掛け離れた結果と言える。しかし、この事実は徳田らの場合のように本実験に用いた緑藻類が、この合成洗剤に特に強い耐性

を持っているためと結論づけることにも疑問が残る。

この実験の間、肉眼的観察や光学顕微鏡による観察も併わせて行った中で、1,000ppm のような高濃度区では、合成洗剤添加後 4~5 日で、培養基内の緑藻類が褪色してゆき、細胞の形態も異常に膨張する傾向が見られた。それより低い 10ppm や 100ppm の濃度では、細胞どうしで、この種に特有の定数群体（4 または 8 個の群体）を作っているものの割合が少くなり、1 個が単独で存在するものが増えて、その大きさも小形化してゆく傾向が観察された。以上述べた如く、10ppm より高い濃度区では細胞数の増加やそれと係わる透過率等にめだつた変化は現われないとしても、その増殖は必ずしも正常な形で進行していないことが予想される。

いずれ、実験回数も充分とはいえず、実験条

件に関する基礎的研究も含めてさらに綿密な調査の必要性を感じる。

### 結 語

以上述べたように著者らの試みはまだ試行錯誤の段階であるが、自然環境中に放散された合成化学物質が、人間以外の種々の生物に対してもどのような影響を及ぼしているのかを、いろいろの生態レベルで把握してゆくことは、地球環境保全のために重要な課題であると思われる。

身近かな存在である合成洗剤の問題についても、その影響や作用機序が細部の生物にまで互って解明されている状態とはいえない。また、新たな製品の開発もあり得ることを考慮すれば、方法を講じながら追究を進めて、よりよい合成洗剤の利用のしかたまでも検討してゆく必要があるものと考えらる。

### 引 用 文 献

- 1) 田宮博・渡辺篤：藻類実験法、70、南江堂、1956
- 2) 若林明子・菊地幹夫：界面活性剤の水生生物に対する影響、遺伝、30 (7)、10~17、1976
- 3) 須藤隆一・大越芳男・吉野勲：ABS が生物学的自浄作用に及ぼす影響、用水と廃水、4 (11)、26~32、1962
- 4) 徳田廣・新崎盛敏：石油汚染が海洋生物に及ぼす影響の基礎的研究—I、流出乳化剤の植物プランクトンに対する致死濃度、日本水産学会誌、43 (1)、97~102、1977