

環境水中のシアンと魚から検出されるシアンとの相互関係

村地四郎・難波憲二・竹内行男*

広島大学水畜産学部水産学科
広島県農林事務所*
1978年10月31日 受理

Relationship between the Concentration of Cyanide Ion Detected in Carp and That in Environmental Water

Shiro MURACHI, Kenji NANBA and Yukio TAKEUCHI*

*Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Animal
Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama;
Kure office for Agriculture and Forestry, Hiroshima Prefecture

(Fig. 1; Tables 7)

シアンは、シアン化カリウム、シアン化ナトリウムとして、金属化学工業やメッキ工業などには欠かせない重要な物質であるが、他方、生体に対しては極めて高い毒性を示すことが良く知られており、これが工場排水などに混入して河川や海に放出されると、魚類をはじめとする水棲生物に与える影響は多大であり、また同時に、人畜に対する危険性も非常に大きいと言えよう。シアンは水中では通常、シアン化物、シアン錯化合物の形で存在し、これらは一般に不安定である¹⁾ので、このような急性毒物が水棲生物に一過性の害を与えた場合、水質分析によってこれを判定することは殆ど不可能であり、被害を受けた生物の体内への毒物の蓄積でその証拠を得る以外に方法はない。魚体からのシアンイオンの検出については狩谷ら²⁾がすでに報告しているが、本研究では、シアンイオンによって中毒死した魚体からのシアンイオンの検出を中心に、環境水中のシアンと魚体内に見出されるシアンとの相互関係について検討した。

シアンイオンの定量法：シアンイオンの定量はピリジン-ピラゾロン法^{1,3,4,5)}によった。この方法は試料中のシアンイオンを加熱蒸留によって水酸化ナトリウム溶液に吸収させ、これを酢酸で中和したのち、クロロミンT溶液を加えて塩化シアンとし、これにピリジン-ピラゾロン混液を加え、生ずる青色の吸光度を波長620 m μ で測定し、シアンイオンを定量するものである。

シアンイオン溶液：シアン化カリウムを水に溶かして調製した。

実験 I ピリジン-ピラゾロン法による水中及び魚体内のシアンイオン定量法の検討

1) 水中のシアンイオンの回収率

方法

既知の濃度のシアンイオンを含む溶液を用意し、これを二分し、一方には、冷却水の温度を種々に変化させて加熱蒸留操作を加え、他方はそのまま発色検定操作を行ない、これを基準にして、加熱蒸留操作を加え

た場合のシアニオン回収率を算出した。冷却水の温度はクールニクスサーキュレータ（ヤマト科学器械KK, CTE-120・CTR-120）を用いて変化させた。

結果

蒸留器冷却水の温度が高い場合には、シアニオンの回収率は極めて低く50%以下となったが、冷却水の温度を21℃以下に保つと、回収率は急激に上昇し、10℃以下の場合には94%に達することが判明した（Table 1）。

そこで、冷却水の温度を10℃以下に保ち、3種のシアニオン濃度につき、水中からのシアニオン回収率を求めたところ Table 2 に示すごとく $94.0 \pm 3.60\%$ となった（Table 2）。

Table 1. Relationship between CN^- recovery from water sample (0.1 ppm CN^-) and water temperature in the water cooled condenser of cyanide distillation apparatus.

Water temperature (°C)	Recovery (%)
29	47.7
21	68.7
21	76.6
16	83.6
17	81.8
10	94.0

Table 2. CN^- recovery from water sample after distillation

Water CN^- concentration (ppm)	Recovery (%)
0.1	92.9
0.1	91.1
0.1	92.9
0.1	90.9
0.1	96.9
0.15	88.0
0.15	98.8
0.15	98.8
0.4	96.4
	Mean \pm SD
	94.0 ± 3.60

2) 魚体内のシアニオン回収率

方法

供試魚にはコイを用いた。魚体をホモジナイズして10%水酸化ナトリウム溶液90 ml中に入れ、これに既知濃度のシアニオンを加え16~20時間冷所に静置し、ホモジナイズした魚体の溶解をさらに進めた後、ガラスウールで濾過し固形物を除去する。ついで、炭酸鉛を加え、よく振り混ぜて硫化物を硫化鉛として沈殿させた後、これを濾過して除く。得られた濾液を酢酸を用いてpH 7.0に調製し、クロロホルムを加え分液漏斗で振り混ぜ脂肪酸を除去する。以上の予備処理を済ませた後に、試料を加熱蒸留し、留出液と最初に加えた既知濃度のシアニオン溶液を同時に発色させ回収率を求めた。

結果

回収率は Table 3 に示すように $52.4 \pm 3.09\%$ と非常に低い。しかし、この回収率は安定していた。加熱蒸留操作による回収率の減少が約 5% であるので、予備処理操作による回収率の減少は約 40% と推定された (Table 3)。

Table 3. CN^- recovery from fish sample after preliminary treatment and distillation

Concentration of CN^- in fish (mg/Kg)	Recovery (%)
0.4	48.4
0.4	55.5
0.3	50.0
0.2	53.4
0.2	54.8
	Mean \pm SD
	52.4 ± 3.09

実験 II 環境水中のシアンイオンと魚体から検出されるシアンイオンの関係

1) 10 ppm シアンイオン溶液中に放置したコイの時間経過に伴う魚体内組織中のシアンイオン含量の変化

方法

体重約 150~200 g のコイ 9 尾を、温度が約 5°C の 10 ppm シアンイオン溶液に入れ、3 時間、4 時間 5 時間後にそれぞれ 3 尾ずつ取り上げ、胸部を切開し、動脈球から可能な限り多量の採血を行なった。採血可能な血液量は 1 尾あたり約 2 ml 程度であったので、3 尾の血液を一諸にして分析に供した。次に魚体を解剖し、鰓、消化管、肝臓及び脾臓をそれぞれ切り出し、血液試料の場合と同様に 3 尾の試料を一諸にして分析した。3 尾のうち 1 尾は、鰓蓋より上部の頭部と肝門より尾部とを切断し、それぞれ試料とした。各々の試料について予備処理、加熱蒸留操作を行ないシアンイオン含量を測定した。

結果

シアンイオン濃度が 10 ppm であっても、溶液の温度が約 5°C 以下になると、コイは約 30~60 分後に横転するのみで、5 時間を経過しても斃死しなかった。得られた結果は Table 4 に示した。シアン溶液中での放置時間が長くなるほど各組織中のシアンイオン含量は増加した。放置 5 時間後にシアンイオン濃度が最も高いのは血液の 3.05 mg/kg であり、ついで尾部 2.12 mg/kg 、頭部 1.62 mg/kg 、鰓 1.21 mg/kg 、肝臓及び脾臓 0.35 mg/kg 、消化管 0.29 mg/kg の順になった。特に肝臓及び脾臓、消化管中のシアンイオン含量は少なかった。

2) シアンイオン溶液中で中毒死した魚体のシアンイオン含量

方法

コイを 10 ppm 及び 5 ppm シアンイオン溶液中 (温度 8~9°C) で斃死させた。斃死は鰓蓋運動や魚体のあらゆる外見上の運動の停止を確認することにより判定した。斃死した魚をシアンイオン溶液中から取り出し、水で体表面を軽く洗った後に魚体全体をホモジナイズした。10 ppm シアンイオン溶液中で中毒死させ

Table 4. Concentration of CN⁻ in each part of fish exposed to 10 ppm CN⁻ solution

Organ	Exposure time (h)	CN ⁻ (mg/Kg)
Blood	3	1.86
	4	2.80
	5	3.05
Gill	3	0.80
	4	0.87
	5	1.21
Hepatopancreas and Spleen	3	0.27
	4	0.35
	5	0.35
Digestive tract	3	0.13
	4	0.16
	5	0.29
Head (whole tissues)	3	0.71
	4	0.93
	5	1.62
Caudal part (whole tissues)	3	1.15
	4	1.97
	5	2.12

たコイの数尾は内臓部分と表皮を含む筋肉部分とに分けてそれぞれホモジナイズした。ホモジナイズした各試料について予備処理し、シアンイオン含量を測定した。

Table 5. Concentration of CN⁻ in carp died of cyanide poisoning

Water CN ⁻ concentration (ppm)	Survival time (min)	CN ⁻ concentration (mg/Kg)	Sample
10	65	2.39	Whole body
	63	2.80	
	72	2.86	
	90	2.44	
	70	2.22	
	Mean ± SD	2.54 ± 0.247	
5	50	0.86	Whole body
	40	0.63	
	145	0.56	
	145	0.52	
	180	0.65	
	Mean ± SD	0.64 ± 0.118	
10	210	0.38	Viscera
	140	0.38	
	150	0.57	
	Mean ± SD	0.44 ± 0.09	
10	210	2.50	Skin and Muscle
	140	2.29	
	150	2.32	
	Mean ± SD	2.37 ± 0.093	

結果

得られた結果は Table 5 に示した。魚体全体を試料とした場合、10 ppm シアンイオン溶液中で中毒死させたコイからは $2.5 \pm 0.247 \text{ mg/kg}$ 、5 ppm のそれは $0.64 \pm 0.118 \text{ mg/kg}$ となり、シアンイオン溶液の濃度が $1/2$ になると魚体から検出されるシアンイオン含量は約 $1/4$ に減少した。10 ppm のシアンイオン溶液中で中毒死したコイの内臓では $0.44 \pm 0.09 \text{ mg/kg}$ 、表皮を含む筋肉では $2.37 \pm 0.093 \text{ mg/kg}$ のシアンイオンが検出された。以上の結果からシアン中毒死した魚体から検出されるシアンイオンの多くは体表面付近に存在するものであることが明らかになった。

3) シアンイオン溶液中で中毒死した後にシアンイオンを含まない流水中に放置したコイのシアンイオン含量について

方法

10 ppm 及び 5 ppm のシアンイオン溶液中でコイを中毒死させ、その魚体を流水（水道水）中に移し、7 時間または 24 時間放置した後魚体内のシアンイオン含量を測定した。

Table 6. Concentration of CN^- in carp washed by running tap water after death of cyanide poisoning

Water CN^- concentration (ppm)	Time in fresh running water (h)	CN^- concentration of whole body (mg/Kg)
10	7	1.70 1.29 1.38 1.51 1.11 Mean \pm SD 1.40 \pm 0.199
	24	0.13 0.30 0.39 0.30 0.24 0.21 Mean \pm SD 0.26 \pm 0.081
5	7	0.58 0.50 0.38 0.36 0.34 Mean \pm SD 0.43 \pm 0.093
	24	0.14 0.07 0.06 0.29 0.09 Mean \pm SD 0.13 \pm 0.085

結果

Table 6 に示すように、10 ppm シアンイオン溶液中で中毒死した後7時間流水中に放置したものは $1.40 \pm 0.199 \text{ mg/kg}$ 、24時間では $0.26 \pm 0.081 \text{ mg/kg}$ 、5 ppm シアンイオン溶液中で中毒死した場合は、流水中に7時間放置したもので $0.43 \pm 0.093 \text{ mg/kg}$ 、24時間放置しても $0.13 \pm 0.085 \text{ mg/kg}$ のシアンイオンがそれぞれ検出された。

4) 窒息死後、シアンイオン溶液中に放置したコイのシアンイオン含量

方法

シアンイオンを含まない清水中でコイを窒息死させた後、10 ppm シアンイオン溶液中に約2時間放置した。次に魚体をシアンイオン溶液中からとり出し、水で軽く魚体表面を洗い流し、魚体全体、あるいは内臓部分と表皮を含む筋肉部分とに分けてシアンイオンの含量を求めた。

結果

10 ppm シアンイオン溶液中に70分から100分間放置すると、魚体全体からは $1.55 \pm 0.449 \text{ mg/kg}$ 、2時間から2時間30分放置すると、内臓部分からは $0.07 \pm 0.057 \text{ mg/kg}$ 、表皮を含む筋肉部分からは $0.73 \pm 0.079 \text{ mg/kg}$ のシアンイオンが検出された (Table 7)。

Table 7. Concentration of CN⁻ in carp exposed to 10 ppm CN solution after death of suffocation

Part of fish body	Exposure time (min)	CN ⁻ concentration (mg/Kg)
Whole body	70	2.35
	90	1.52
	90	1.61
	100	1.02
	100	1.55
		Mean ± SD 1.55 ± 0.449
Viscera	120	0
	140	0.07
	150	0.14
		Mean ± SD 0.07 ± 0.057
Skin and Muscle	120	0.62
	140	0.81
	150	0.75
		Mean ± SD 0.73 ± 0.079

考察および結語

ピリジン-ピラズロン法によるシアン定量法の検討を行ない水中及び魚体内からのシアンイオンの回収率を求めたところ、加熱蒸留操作を加えても蒸留器の冷却水の温度が10℃以下であれば水中のシアンイオンの90%以上が回収可能であった。冷却水の温度がシアンイオンの回収率に大きく影響するのは試料中のシアンイオンは加熱蒸留するとシアン化水素となって留出するので冷却水の温度が高い場合シアン化水素の沸点は26℃と低いためにシアン化水素を完全に捕集することができないからであろう。予備処理ならびに加熱蒸留操作を加えたコイ試料からのシアンイオン回収率は $52.4 \pm 3.09\%$ となったが、この回収率は安定してい

るので測定値から実際に魚体にどの程度のシアンイオンが含まれていたかを推定することが可能である。狩谷ら²⁾はワキンの体内から $54.1 \pm 10.16\%$ のシアンイオンを回収できると報告しており、この値は本実験のコイからの回収率にほぼ等しい。

ヒトでは、シアンの致死量を飲下すると、ほとんど瞬間的に死を招き、致死量と中毒量が非常に接近しているという⁶⁾。本実験で観察した限りでは魚のシアン中毒死は瞬間的な死ではなく、苦悶狂奔状態、横転、鰓蓋運動の激減という過程を経て死に至るので、致死には数十分から数時間を要した。シアンはシアンイオンの形よりもシアン化水素の形の方が生体組織に対する浸透が強い⁷⁾のでシアンイオンが存在する溶媒の水素イオン濃度によってその毒性は非常に異なるといわれているが、本実験で溶媒として用いた水は著るしく酸性或いはアルカリ性を呈することはなかったので、シアンの毒性に及ぼす水素イオン濃度の影響は考慮しなくて良いであろう。シアンの毒性は、また温度によっても異なる事が知られている。即ち、温度が高いとシアンの毒性も急激に強くなる⁷⁾ことが報告されている。本実験においても Fig 1 に示すように水温が高くなるほどシアンイオンによる致死時間が短くなる、言い換えればシアンの毒性が高まる傾向が認められた。

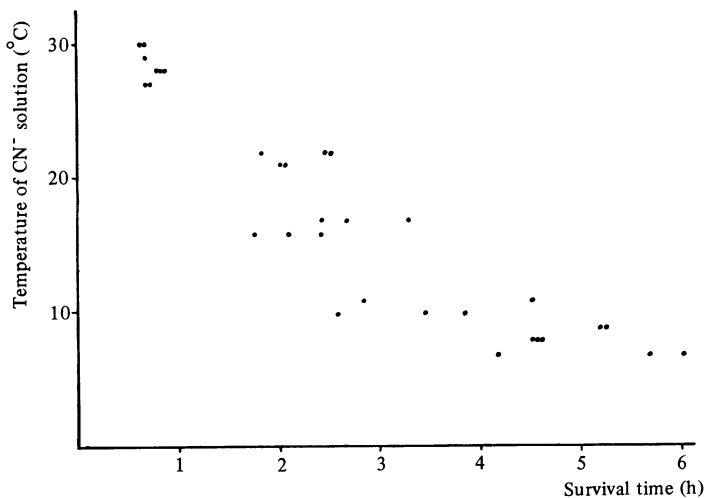


Fig. 1 The effect of temperature of CN^- solution on survival time of carp

シアンイオン溶液中にコイを放置すると、放置時間が長くなるほど、魚体各組織中のシアンイオンは増加する傾向を示したが、血液中のシアンイオン含量は特に多く、逆に消化管では少ない。この結果は、溶液中のシアンイオンは消化管からではなく鰓を通して血液中へ吸収蓄積され、さらに血流によって魚体内の各組織へ運ばれることを示している。また、内臓よりも血管が発達していない尾部から、内臓諸器管よりも高濃度のシアンイオンが検出されたこと、さらにシアン中毒死したコイでは内臓部分よりも表皮を含む筋肉部分から高濃度のシアンイオンが検出された結果から、鰓から体内へ侵入するシアンイオンの量よりも体表面に付着あるいは浸透するシアンイオンの量の方がはるかに多いことが解る。従って、シアンイオン溶液の濃度が高いほど魚体から高濃度のシアンイオンが検出されたのは、主として体表面に付着あるいは浸透したシアンイオンの量の相違によるものと解釈される。シアンイオンの体表面の付着あるいは浸透は窒息死後にシアンイオン溶液中に放置した魚体にも認められ、10 ppm シアンイオン溶液中に70～100分間放置すると、 $1.55 \pm 0.449 \text{ mg/kg}$ のシアンイオンが魚体から検出された。この値は10 ppm シアンイオン溶液中で中毒死した後、7時間流水中に放置された魚体から検出される $1.40 \pm 0.199 \text{ mg/kg}$ にほぼ匹敵し、5 ppm シアンイオン溶液中で中毒死した直後の魚体から検出される値の約2.4倍も高い濃度である。それ故、斃死魚体からシアンイオンが相当量検出されても、直に斃死原因をシアン中毒死であると判定する事は危険である。

また、魚体をシアンイオン溶液に浸したのが窒息死後であるにもかかわらず、内臓部分から低濃度ではあるがシアンイオンが検出された理由としては、鰓蓋運動が完全に停止した後でも心臓は微弱ながら拍動を続けている可能性がある⁸⁾ので、鰓から入ったシアンイオンが血流によって内臓に達したか、或いは口腔から消化管内へシアンイオン溶液が物理的に入りこんだことなどが考えられるが、さらに検討を要する。一度シアンイオンが魚体に浸透すると清水で魚体を洗っても長時間にわたり検出される。本実験では5 ppmのシアン溶液中で中毒死させた後、流水中に24時間放置した魚体からシアンイオンが検出されたが、狩谷ら²⁾はさらに低濃度の3 ppmシアンイオン溶液中で中毒死させたワキンを48時間清水で洗ってもなお、2~4.5 mg/kgのシアンイオンが検出されたと報告している。

自然水域で斃死した魚からシアンイオンが検出された場合、本実験の結果から2つの原因が挙げられる。ひとつは、環境水中のシアンイオンにより魚が中毒死した場合であり、他は何らかの原因によって魚が斃死した後、その死体がシアンイオンを含む環境水中に存在した場合である。それではこの二者はどのようにすれば区別できるであろうか。斃死体が新鮮で採血が可能であれば、血液中のシアンイオン濃度を測定することにより判然と区別できるであろう。採血が不可能な場合でも内臓部分と表皮を含む筋肉部分とに分けることができれば、各々の部分のシアンイオンの濃度を比較することにより辛うじて区別できるであろう。しかし、さらに死後時間が経過し内臓部分の自己消化が進んだ場合には、二者を区別することは不可能であり、魚体が生前或いは死後に環境水中のシアンイオンにさらされたことがあるということのみ証明し得る。

引用文献

- 1) 日本工業標準調査会：工業用水試験法 JISK 0101, 第1版, p. 51-53.
日本規格協会, 東京 (1967).
- 2) 狩谷貞二・秋場玲子・鈴木修子・津田勉：日水誌, **33**, 311-314 (1967).
- 3) Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (RAND, M. C., GREENBERG, A. E., and TARAS, M. J. ed), 14th ed., pp361-372, APHA-ANWA-WPCF, U. S. A. (1975).
- 4) 日本分析化学会北海道支部：解説水の分析, 第1版, p. 234-239, 化学同人, 京都 (1966).
- 5) 広瀬孝六郎：工場廃水とその処理, 第3版, p. 568-571, 技報堂, 東京 (1968).
- 6) 塚元久雄・奥井誠一：裁判化学, 第11版, p. 25, 南山堂, 東京 (1969).
- 7) JONES, J.R.E.: Fish and River Pollution, 1st ed., pp.83-96, Butterworth, London (1964).
- 8) 難波憲二・村地四郎・河本真二・中野義久：本誌, **12**, 147-154 (1973).

Summary

The toxicity of cyanide solution to carp increased with a rise in temperature. The result that the concentration of cyanide ion in blood was higher than that in hepatopancreas and spleen, or digestive tract of carp exposed to 10 ppm cyanide ion solution for 5 hours suggested that the ambient cyanide might enter into the blood through the gill. However, the cyanide ion concentration in skin and muscle was higher than that in viscera of carp died in 10 ppm cyanide ion solution. It can therefore be concluded that a large amount of cyanide penetrated into the fish body surface.

Cyanide ion was detectable from carp washed by running tap water for 24 hours after death in 5 ppm cyanide ion solution, and also from carp exposed to 10 ppm cyanide ion solution for 70 minutes after death of suffocation.

(Received October 31, 1978)