

VII-79

モノクロラミンの *Selenastrum capricornutum* の増殖阻害試験による毒性評価

宮崎大学工学部 学生員 森下玲子

宮崎大学工学部 正会員 鈴木祥広

宮崎大学工学部 正会員 丸山俊朗

1. 背景と目的

都市下水処理法として活性汚泥法は広く採用されている。その処理水のアンモニア性窒素濃度は一般に約10 mg/ℓである。処理水の殺菌は遊離塩素 (HClO と ClO_2^-) によって行われている。塩素殺菌法が広く採用されている。しかし、遊離塩素添加によって多種の副産物が生成される。なかでもアンモニア性窒素と遊離塩素の反応生成物であるモノクロラミン (NH_2Cl) の生成量が著しく多い。一般に、 NH_2Cl の殺菌力は遊離塩素よりも低いと考えられている。しかし、 NH_2Cl は生物に対する毒性は極めて強く、ノリ (*Porphyra yezoensis*) の生育に対する毒性は詳細に調べられている¹⁾。沿岸域に立地しない都市の処理水は、河川や湖沼に放流され、淡水域の生物影響が危惧される。

そこで本研究では代表的な淡水産植物プランクトンであり、USEPAの毒性試験用植物プランクトンに採用されている *Selenastrum capricornutum* について、 NH_2Cl と遊離塩素の最小影響濃度と増殖阻害濃度に関する知見を得ることを目的とした。

2. 実験方法

試験手順はUSEPAの毒性試験方法²⁾に従った。培養条件は温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照度 4,000~5,000 lux、振盪 (100 回転/min) とした。

最初に供試プランクトン密度を一定に保つために、半連続培養法を用い、4~5日に一度の割合で半分培地を交換した。

その結果、細胞数を約 10^6 cells/ℓ に保つことができた。次に、250 ml三角フラスコに対数増殖期の *S. capricornutum* を約 10^4 cells/ml になるように調整したプランクトン懸濁液 100 mlを入れた。続いて、 NH_2Cl とあるいは遊離塩素として次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) を各々所定の曝露濃度になるように添加して、試験を開始した。毒性試験は各々の曝露濃度区とも3連で行った。試験期間は96時間、温度、照度、振盪は前培養と同様の条件とした。増殖量は血球計算盤を用いて計数した。細胞数は24時間ごとに4日間計数した。初期曝露濃度は NH_2Cl では0~1.0 mg Cl_2/ℓ 間で10水準、 NaClO では0~1.0 mg Cl_2/ℓ 間で6水準とした。

毒性評価はUSEPAの統計的分析²⁾に従った。各試験の96時間後のLOEC (Lowest observed effective concentration, 最小影響濃度²⁾) と50%増殖阻害濃度 EC_{50} で評価した。

一方、 NH_2Cl と NaClO は試験中に濃度が低下する可能性があることと、残留性を知るために、初期添加濃度を1.0 mg Cl_2/ℓ として毒性試験における NH_2Cl と NaClO の濃度低下の経時変化を求めた。

3. 結果と考察

図1は NH_2Cl の初期曝露濃度と96時間後の細胞数(対数値)の関係を示したものである。コントロールと比較して、96時間後の細胞数は、初期曝露濃度

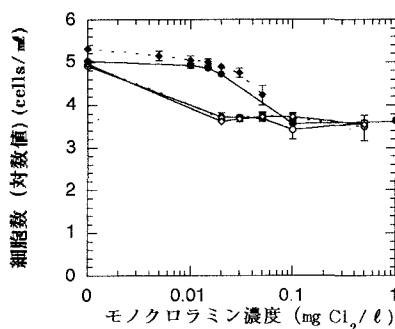


図1 初期モノクロラミン曝露濃度と細胞数の関係

—○— 試験1 (n=3)
- - - □ - - 試験2 (n=3)
—△— 試験3 (n=3)
—●— 試験4 (n=3)
- - - ■ - - 試験5 (n=3)

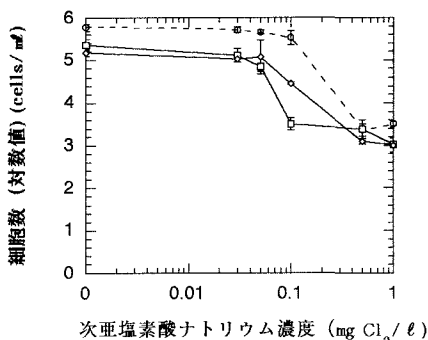


図2 初期次亜塩素酸ナトリウム曝露濃度と細胞数の関係

- - - ○ - - 試験1 (n=3)
—□— 試験2 (n=3)
—△— 試験3 (n=3)

0.01mg Cl_2/ℓ 以上において5%の危険率で有意な減少が認められた。すなわち、96h-LOECは0.01 mg Cl_2/ℓ であった。図2はNaClO初期曝露濃度と96時間後の細胞数の関係である。コントロールと比較して初期曝露濃度0.05～0.1 mg Cl_2/ℓ 以上において5%の危険率で有意差が認められた。すなわち、96h-LOECは0.05～0.1 mg Cl_2/ℓ （平均0.07 mg Cl_2/ℓ ，N=3）であった。

次に NH_2Cl 濃度と増殖阻害率との関係を図3に、遊離塩素濃度と増殖阻害率の関係を図4に示す。 NH_2Cl の EC_{50} は0.005～0.02 mg Cl_2/ℓ （平均0.01 mg Cl_2/ℓ ，N=5）であった。NaClOの EC_{50} は0.03～0.12 mg Cl_2/ℓ （平均0.07 mg Cl_2/ℓ ，N=3）であった。結果がばらつくところから、影響濃度を決めるには多数の繰り返し実験が必要である。

以上の結果より、塩素殺菌処理水に残留する NH_2Cl は淡水産プランクトン *S. capricornutum* に対して遊離塩素よりも毒性が著しく高く、96h-LOECでは5～10倍、 EC_{50} では7倍であった。

図5は NH_2Cl とNaClOの初期曝露濃度1.0 mg Cl_2/ℓ の時の経時変化である。 NH_2Cl は緩やかに減少するものの、96時間後においても75%以上が残留がした。遊離塩素は添加後急激に減少して、72時間後には90%以上が消失した。従って、淡水中の NH_2Cl の残留性はNaClOと比べて非常に高いことが明らかとなった。水温25℃における NH_2Cl の減衰速度定数(k)は $=0.0013\text{h}^{-1}$ であった。半減期は9.6日であった。

4. まとめ

- (1) 淡水産植物プランクトン *S. capricornutum* に対するモノクロロアミンの毒性は遊離塩素と比較して極めて強い毒性を示した。 NH_2Cl の96h-LOECは0.01 mg Cl_2/ℓ ， EC_{50} は0.005～0.02 mg Cl_2/ℓ （平均0.01 mg Cl_2/ℓ ，N=5）であった。NaClOの96h-LOECは0.05～0.1 mg Cl_2/ℓ （平均0.07 mg Cl_2/ℓ ，N=3）， EC_{50} は0.03～0.12 mg Cl_2/ℓ （平均0.07 mg Cl_2/ℓ ，N=3）であった。*S. capricornutum*の毒性値は相当にばらつくので、試験回数を増加させる必要がある。
- (2) 淡水中における NH_2Cl の減衰は極めて遅く、残留性が高いことが明らかとなった。公共用水域に NH_2Cl を放流すれば生態系に大きく影響を及ぼすと考えられる。

参考文献

- 1) 丸山ら：(1987) 日本水産学会誌，53，465-472.
- 2) USEPA (1989) Short term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms, 147-187

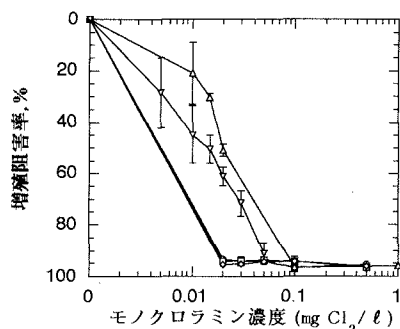


図3 初期モノクロロアミン曝露濃度と増殖阻害率の関係

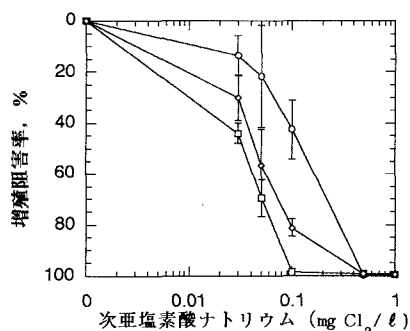


図4 初期次亜塩素酸ナトリウム曝露濃度と増殖阻害率の関係

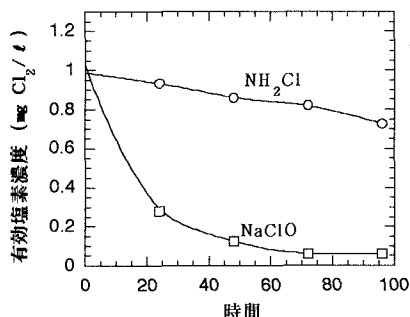


図5 モノクロロアミンと次亜塩素酸ナトリウム濃度の経時変化

—○— NH_2Cl
—□— NaClO