

## ノリの生育に対する毒性を指標とした塩素殺菌代替法の検討

宮崎大学工学部 学員 高見徹, 牧草健三郎  
正員 丸山俊朗, 鈴木祥広

## 1. はじめに

都市下水の殺菌法には一般に遊離塩素による殺菌法が採用されている。遊離塩素は下水中のアンモニアと反応してモノクロアミン ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ) を生成する<sup>1)</sup>。  $\text{NH}_2\text{Cl}$  は海藻(ノリ)をはじめとする多くの水生生物に対して極めて強い毒性を示すことが報告されている<sup>2), 3)</sup>。わが国の都市下水処理場は沿岸域に立地している場合が多く、塩素殺菌を続けることによって、下水処理場から排出される  $\text{NH}_2\text{Cl}$  が沿岸域の生物に相当の影響を与え続けることとなる。下水を殺菌する必要があるとすれば、塩素殺菌以外の殺菌法に替える必要がある。塩素殺菌代替法として二酸化塩素による殺菌法、オゾンによる殺菌法などがある。しかし、これら代替殺菌法による殺菌処理水の沿岸生物に対する毒性に関する知見は極めて少ない。

そこで本研究では、二酸化塩素あるいはオゾンによる殺菌法について、殺菌処理水のノリの殻胞子の生育(生残, 発芽)に対する毒性に関する知見を得ることを目的とした。

## 2. 材料と方法

## (1) 遊離塩素, 二酸化塩素, およびオゾン殺菌処理水の大腸菌群数試験

遊離塩素, 二酸化塩素, およびオゾン殺菌処理水の生物に対する毒性を比較するためには、はじめに各殺菌剤について同等の殺菌効果を示す添加量を知る必要がある。そこで各殺菌処理水の大腸菌群数試験を行った。試水としてA都市下水処理場の二次処理水を用いた。その水質は pH7.4, TOC 8.6mg/l,  $\text{NH}_4\text{-N}$  6.7mg/l,  $\text{NO}_3\text{-N}$  0.3mg/l,  $\text{PO}_4\text{-P}$  1.6mg/l, 大腸菌群数  $4.4 \times 10^8$  個/ml であった。殺菌剤として、遊離塩素は次亜塩素酸ナトリウム ( $\text{NaOCl}$ ) 溶液(和光純素社製), 二酸化塩素 ( $\text{ClO}_2$ ) は二酸化塩素溶液(シー・エム・デー社製), オゾン ( $\text{O}_3$ ) はオゾン発生装置(東芝社製, WOR-1.5型)により発生させたオゾン化空気を用いた。試水に対するそれぞれの殺菌剤の添加量は,  $\text{NaOCl}$  は 0~10mg- $\text{Cl}_2$ /l,  $\text{ClO}_2$  および  $\text{O}_3$  は 0~20mg- $\text{Cl}_2$ /l とした。試水と殺菌剤の接触時間は15分間とした。大腸菌群数は15分間接触後のそれぞれの殺菌処理水を採取し, デスオキシコール酸塩培地を用いた平板培養法により計数した。なお, 各殺菌剤の濃度はすべてその酸化力を有効塩素量に換算して表した。

## (2) 遊離塩素, 二酸化塩素, およびオゾン殺菌処理水のノリ殻胞子の生育に対する影響試験

$\text{NaOCl}$ ,  $\text{ClO}_2$ , および  $\text{O}_3$  殺菌処理水の生物に対する毒性を比較するため, 下水二次処理水を前述の大腸菌群数試験によって得られた各殺菌剤添加量で殺菌し, それぞれの殺菌処理水のノリ殻胞子の生育に対する影響試験を行った。下水二次処理水に対する  $\text{NaOCl}$ ,  $\text{ClO}_2$ , および  $\text{O}_3$  の添加量はそれぞれ 1, 10, 12mg- $\text{Cl}_2$ /l とし, 接触時間は15分間とした。試験培地は, それぞれの殺菌処理水の添加率が 0.1, 5, 10, 50% ( $n=3$ ), 塩分 30 となるように, 1/20PES の人工海水<sup>4)</sup> (塩分 60) と蒸留水を用いて調整した。供試生物としてササビノリ (*Porphyra yezoensis* U-511 株) の殻胞子を用いた。ノリ殻胞子の試験培地への曝露は, 3 ml の試験培地を入れた試験容器("Cell Wells", 底面積 188mm<sup>2</sup>, Corning 社製) にノリ殻胞子 (100 細胞) を添加した。培養条件は明暗期 10hL:14hD, 照度 7,000lux, 温度 15℃ で静置した。試験期間は 96 時間とした。曝露から 24 時間毎に倒立顕微鏡により試験容器の底面に生残した殻胞子数と発芽体数を計数し, 殻胞子数の初期値 (100 細胞) に対する所定の曝露時間における生残した個体数の割合(生残率)と, 生残した個体数に対する発芽体の占める割合(発芽率)を求めた。影響の評価は, 対照区(処理水添加率 0%) の生残率(または発芽率)に対して統計学的に有意な低下を示した処理水添加率で表した。有意差検定は, U.S.EPA の毒性試験法に採用された分散分析<sup>4)</sup> に従い, 有意水準  $\alpha$  は 0.05 とした。

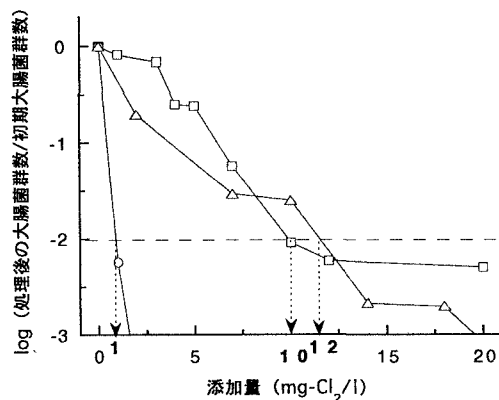


図-1 下水処理水におけるそれぞれの殺菌剤添加量と大腸菌群不活化率の関係。(殺菌剤:○, 遊離塩素;□, 二酸化塩素;△, オゾン;点線は不活化率 99%の値を示す)

キーワード: 都市下水処理水, 二酸化塩素, オゾン, 生物検定, ササビノリ

〒889-21 宮崎市学園木花台西1-1 TEL 0985-58-2811 FAX 0985-58-1673

### 3. 結果と考察

#### (1) 大腸菌群数試験による遊離塩素、二酸化塩素、およびオゾンの殺菌効果の比較

下水処理水におけるNaOCl,  $\text{ClO}_2$ , および $\text{O}_3$ 添加量と初期大腸菌群数に対する処理後の大腸菌群数の関係を図-1に示す。図中の点線は、大腸菌群の不活化率99%の値を示す。図-1より、大腸菌群を99%不活化するために必要なNaOCl,  $\text{ClO}_2$ , および $\text{O}_3$ 添加量は、それぞれ1, 10, 12 $\text{mg-Cl}_2/\text{l}$ であることがわかった。

#### (2) ノリの生育に及ぼす遊離塩素、二酸化塩素、およびオゾン殺菌処理水の影響

96時間後におけるそれぞれの殺菌処理水添加率とノリの生残率の関係を図-2に示す。未殺菌処理水と $\text{O}_3$ 殺菌処理水では、処理水添加率50%においてもノリの生残に対して阻害はみられなかった。これに対して、NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水では、処理水添加率50%において生残率が約0%となり、ノリの生残に対して阻害がみられた。また、48時間後におけるノリの発芽率に対して、未殺菌処理水と $\text{O}_3$ 殺菌処理水では、添加率50%においても阻害はみられなかった。これに対して、NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水では、処理水添加率5%以上において、対照区と比較してそれぞれ90, 60%低下し、発芽阻害がみられた。

NaOClあるいは $\text{ClO}_2$ による殺菌処理水がノリの生育を阻害する原因は、NaOClおよび $\text{ClO}_2$ の添加による副生成物に毒性があるためと考えられる。主な毒性の強い副生成物はこれまでの研究から $\text{NH}_2\text{Cl}$ である<sup>2)</sup>。使用した二次処理水の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は6.8 $\text{mg/l}$ で、 $\text{NH}_2\text{Cl}$ 生成量はNaOClの場合0.60 $\text{mg-Cl}_2/\text{l}$ であり、 $\text{ClO}_2$ の場合0.69 $\text{mg-Cl}_2/\text{l}$ であった。使用した $\text{ClO}_2$ 溶液には生成過程で使用された遊離塩素が残存していたために $\text{NH}_2\text{Cl}$ が生成されたと考えられる。純粋な $\text{ClO}_2$ 溶液では本試験結果のようなノリの生育に対して影響を及ぼすかどうかは不明であった。

NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水を脱塩素処理すれば、その毒性を除くことができると考えられた。そこで、NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水を酸化力が0になるよりわずかに多い亜硫酸ナトリウムを加えて脱塩素処理し、それぞれの脱塩素処理水のノリの生育に対する影響試験を行った（図-3）。図-3より、脱塩素処理をすることで、NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水の毒性は消失することが明らかとなった。

#### 4. まとめ

生物に対して影響のない都市下水処理水の殺菌法を検討するため、NaOCl,  $\text{ClO}_2$ , および $\text{O}_3$ 殺菌処理水のノリ殻胞子の生育に対する影響試験を行い、以下の知見を得た。NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水はノリの生育に対して毒性を示した。これに対して $\text{O}_3$ 殺菌処理水はノリの生育に対して毒性を示さなかった。また、NaOClおよび $\text{ClO}_2$ 殺菌処理水を脱塩素処理することにより、ノリに対する毒性を消失させることができた。したがって、生物に対して影響のない塩素殺菌代替法は、 $\text{O}_3$ による殺菌法、あるいは塩素処理後に脱塩素処理する方法であることが明らかとなった。なお、 $\text{ClO}_2$ による処理水には $\text{NH}_2\text{Cl}$ が生成されていた。

#### 参考文献

- 1) 鈴木ら：下水道協会誌, vol.33, No.407, pp.93-103, 1996.
- 2) 丸山ら：第28回下水道研究発表会講演集, pp.189-191, 1991.
- 3) 鈴木ら：水環境学会誌, vol.19, No.11, pp.861-870, 1996.
- 4) U.S.EPA (Cincinnati, OH): EPA-600/4-87/028, pp.1-417, 1988.

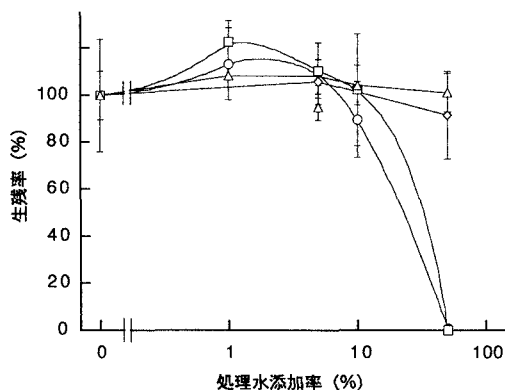


図-2 96時間後におけるそれぞれの殺菌処理水添加率とノリの生残率の関係。(殺菌剤：○, 遊離塩素；□, 二酸化塩素；△, オゾン；◇, 未殺菌処理水)

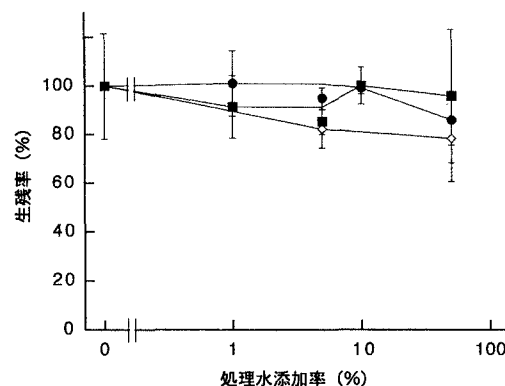


図-3 96時間後における脱塩素処理水の添加率とノリの生残率の関係。(●, 遊離塩素殺菌・脱塩素処理水；■, 二酸化塩素殺菌・脱塩素処理水；◇, 未殺菌処理水)