

## 海藻（ノリ）を用いた生物検定による二酸化塩素および分解生成物の毒性評価

大分工業高等専門学校専攻科 学生会員 ○城愛由美

大分工業高等専門学校 正会員 高見 徹

## 1. はじめに

わが国の都市下水の消毒等に一般に用いられる塩素（遊離塩素）は水生生物に対する毒性が強く、近年では二酸化塩素等の塩素代替消毒剤の使用が検討されている。しかし、二酸化塩素（ $\text{ClO}_2$ ）とその分解生成物である亜塩素酸イオン（ $\text{ClO}_2^-$ ）および塩素酸イオン（ $\text{ClO}_3^-$ ）の毒性に関する知見は少なく、特に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、沿岸生態系における主要な一次生産者である海藻を用いた生物検定によってそれぞれの物質の短期および長期暴露による毒性を明らかにすることを目的とした。

## 2. 材料と方法

## 2.1 スサビノリ殻胞子を用いた短期暴露試験

短期暴露試験における供試海藻として、わが国の最大の養殖水産物である紅藻スサビノリ（*Porphyra yezoensis* U-511 株）の殻胞子を用いた。 $\text{ClO}_2$  は Standard Method<sup>1)</sup>に記載されている方法に従って作成した。 $\text{ClO}_2^-$ および $\text{ClO}_3^-$ には亜塩素酸カリウム（ $\text{KClO}_2$ ）および塩素酸カリウム（ $\text{KClO}_3$ ）を用いた。1/20PES 培地（塩分 30）に所定の添加量（8 濃度水準、それぞれ  $n=3$ ）になるように所定の物質を添加したものを試験培地とした。試験培地を注入した組織培養用マイクロプレート（Corning 社製、24 穴）にカバーガラス（ $10 \times 10\text{mm}$ ）に着生させた殻胞子（約 100 個体）を暴露した。暴露から 4 日後に倒立顕微鏡を用いてカバーガラス上を観察し、それぞれの濃度水準における殻胞子の生残率を求めた。それぞれの試験物質の添加量と生残率の関係から、Dunnett の多重比較法に従って最小影響濃度（LOEC、有意水準  $\alpha=0.05$ ）を求めた。

2.2 スサビノリ葉状体を用いた  $\text{ClO}_3^-$  の長期暴露試験

長期暴露試験では、スサビノリの葉状体を用いた。実験は流水式培養装置（図 1）を用いて行った。試験培地として、 $0.45 \mu\text{m}$  ろ過海水（塩分 30）に所定の  $\text{ClO}_3^-$

添加量（4 濃度水準）となるように  $\text{KClO}_3$  を添加したものを作成し、培養器（200ml ビーカ）内にペリスタポンプを用いて連続的に流入（流量  $0.75\text{ml}/\text{min}$ ，HRT 6hr）させた。培養器内には面積約  $0.4\text{cm}^2$  の葉状体を 1 容器につき 5 個体ずつ投入し、スターラを用いて葉状体が浮遊する程度に攪拌（約 720rpm）した。培養開始から 14 日後に葉状体を取り出し、デジタルカメラで撮影して画像処理解析を行って葉状体の面積増加率を求めた。 $\text{ClO}_3^-$  添加量と面積増加率の関係から、LOEC（有意水準  $\alpha=0.05$ ）を求めた。

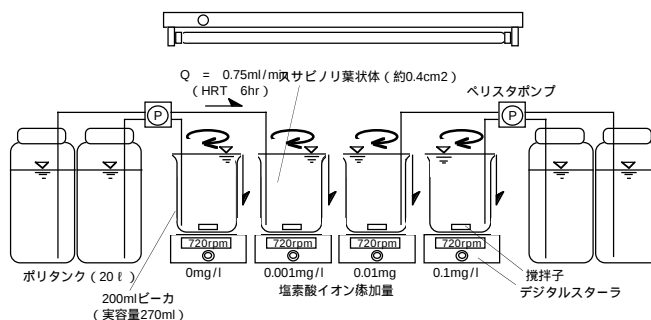


図1 流水式培養装置

## 3. 結果と考察

3.1  $\text{ClO}_2$ 、 $\text{ClO}_2^-$ および $\text{ClO}_3^-$ の短期暴露影響

短期暴露試験における暴露開始から 4 日後の  $\text{ClO}_2$ 、 $\text{ClO}_2^-$ および  $\text{ClO}_3^-$ の添加量とスサビノリ殻胞子の生残率の関係を図 2～4 に示す。殻胞子の生残率は  $\text{ClO}_2$  添加量  $0.0001\text{mg Cl}_2/\text{l}$ （ $0.00056 \mu\text{mol}/\text{l}$ ）までは、コントロール（ $0\text{mg Cl}_2/\text{l}$ ， $0 \mu\text{mol}/\text{l}$ ）との間に有意差は認められなかったが、 $0.001\text{mg Cl}_2/\text{l}$ （ $0.0056 \mu\text{mol}/\text{l}$ ）以上ではコントロールに対して有意に低下し、 $0.1\text{mg Cl}_2/\text{l}$ （ $0.56 \mu\text{mol}/\text{l}$ ）以上において生残率 0%となった（図 2）。この結果、スサビノリ殻胞子の生残率に対する  $\text{ClO}_2$  の 4 日後の LOEC（4d-LOEC）は  $0.001\text{mg Cl}_2/\text{l}$ （ $0.0056 \mu\text{mol}/\text{l}$ ）が得られ、 $\text{ClO}_2$  のスサビノリ殻胞子に対する毒性は極めて強いことが明らかになった。

キーワード：消毒，二酸化塩素，亜塩素酸イオン，塩素酸イオン，海藻，毒性

連絡先：大分工業高等専門学校（〒870-0152 大分市大字牧 1666・電話 097-552-7596・FAX097-552-7949）

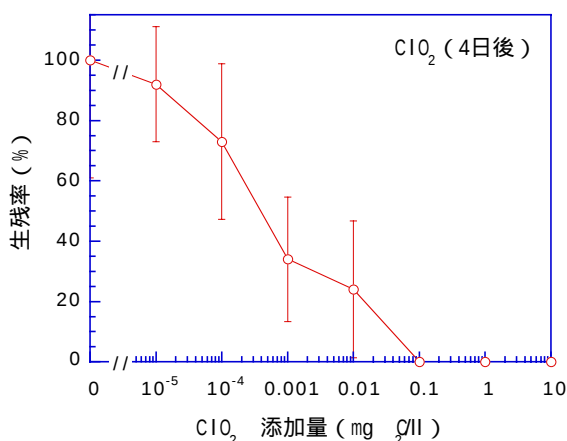


図 2 短期暴露試験におけるスサビノリ殻胞子の生残率に及ぼす二酸化塩素の影響

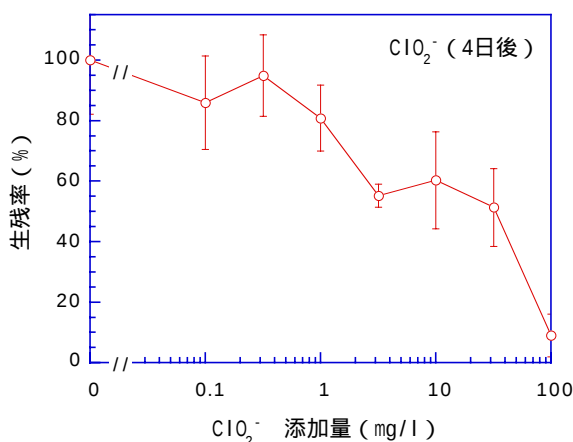


図 3 短期暴露試験におけるスサビノリ殻胞子の生残率に及ぼす亜塩素酸イオンの影響

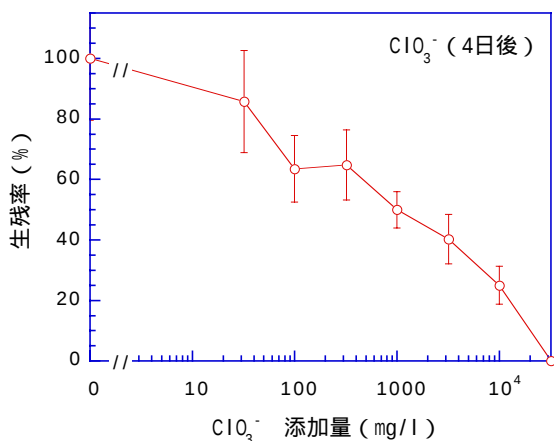


図 4 短期暴露試験におけるスサビノリ殻胞子の生残率に及ぼす塩素酸イオンの影響

これに対して、 $\text{ClO}_2^-$ の短期暴露試験では、殻胞子の生残率は  $\text{ClO}_2^-$ 添加量 3.2mg/l (47.4  $\mu\text{mol/l}$ ) 以上でコントロールに対して有意に低下し、4d-LOEC は 3.2mg/l (47.4  $\mu\text{mol/l}$ ) となった(図 3)。また、 $\text{ClO}_3^-$ の短期暴露試験では、殻胞子の生残率は  $\text{ClO}_3^-$ 添加量 100mg/l

(1200  $\mu\text{mol/l}$ ) 以上においてコントロールに対して有意に低下し、4d-LOEC は 100mg/l (1200  $\mu\text{mol/l}$ ) が得られた(図 4)。以上の結果から、 $\text{ClO}_2^-$ および  $\text{ClO}_3^-$ は、 $\text{ClO}_2$ と比較してスサビノリ殻胞子に対する短期毒性は極めて弱いことが明らかになった。

### 3.2 $\text{ClO}_3^-$ の長期暴露影響

スサビノリ葉状体を用いた流水式培養装置による  $\text{ClO}_3^-$ の長期暴露試験の結果を図 5 に示す。培養開始から 14 日後では葉状体の面積増加率は  $\text{ClO}_3^-$ 添加量 0.01mg/l (0.12  $\mu\text{mol/l}$ ) 以上においてコントロールに対して有意に低下した。この結果、スサビノリ葉状体の面積増加率に対する  $\text{ClO}_3^-$ の 14 日後の LOEC (14d-LOEC) は 0.01mg/l (0.12  $\mu\text{mol/l}$ ) が得られた。以上の結果より、 $\text{ClO}_3^-$ は長期間暴露によってスサビノリ葉状体の生育を低濃度で阻害することが明らかになった。

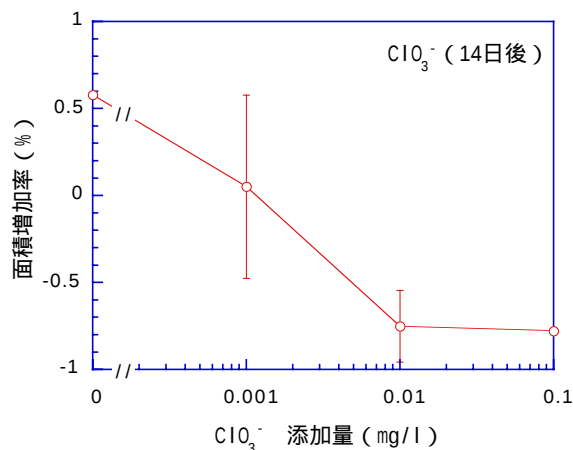


図 5 長期暴露試験におけるスサビノリ葉状体の面積増加率に及ぼす塩素酸イオンの影響

## 4. まとめ

本研究の結果、以下の知見を得た。

- 1) 短期暴露試験の結果、スサビノリ殻胞子の生残率に対する  $\text{ClO}_2$ 、 $\text{ClO}_2^-$ 、 $\text{ClO}_3^-$ の 4d-LOEC は、それぞれ 0.001mg/l (0.0056  $\mu\text{mol/l}$ )、3.2mg/l (47.4  $\mu\text{mol/l}$ )、100mg/l (1200  $\mu\text{mol/l}$ ) が得られた。
- 2) 長期暴露試験の結果、14 日後におけるスサビノリ葉状体の面積増加率に対する  $\text{ClO}_3^-$ の 14d-LOEC は 0.01mg/l (0.12  $\mu\text{mol/l}$ ) が得られ、 $\text{ClO}_3^-$ は長期間の暴露によって極めて低い濃度で阻害影響を及ぼすことが明らかになった。

## 参考文献

- 1) APHA, AWWA and WPCF: Standard Method for the Examination of water and wastewater, 1992.