

マイクロコズム WET 試験によるゴルフ場排水の生態毒性評価

千葉工業大学 生命科学科 正員 ○ 村上和仁
 千葉工業大学 生命環境科学科 学員 小幡一樹
 東北工業大学 環境エネルギー学科 小浜暁子

1. 目的

排水には現行の一律排水基準項目に設定されている物質の他にも多様な化学物質が含まれており、それらの影響は未知な部分が多いため、排水中の多様な化学物質の影響を総合的に管理する手法が必要である。そこで、新たな排水を管理する手法として生物応答を利用した全排水毒性試験 (WET: Whole Effluent Toxicity) に着目した。また、現在世界の広い地域で農薬が使用され、その種類・形態も多種多様に存在し、これらにより周囲の環境や流出による散布領域外での生態系への影響が懸念されている。そこで本研究ではマイクロコズム WET 試験を行い、マイクロコズムにおける最大無影響濃度 (m-NOEC) からゴルフ場排水の生態毒性を評価することを目的とした。

2. 方法

2.1 WET 試験

WET 試験とはバイオアッセイにより排水や環境水などの安全性を総合的に評価する手法であり、北米、欧州、韓国などで既に排水管理の手法として導入されている試験方法である。国内でも環境省が 2009 年から法規制に向けて検討している。

2.2 マイクロコズム

マイクロコズムとは自然生態系の一部を切り抜いた模擬生態系のことであり、様々な条件を人工的にコントロールし、生態系への影響評価を行える。今回用いた Gnotobiotic 型マイクロコズムは構成種が既知のものであり、生産者として 2 種の緑藻類 *Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp.、1 種の糸状藍藻類 *Tolypothrix* sp.、捕食者として 1 種の原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*、2 種の後生動物輪虫類 *Lecane* sp.、*Philodina erythrophthalma*、1 種の後生動物貧毛類 *Aelosoma hemprichi*、分解者として 4 種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、*Coryneform bacteria* の計 11 種で構成されている。

2.3 培養方法

本実験では Gnotobiotic 型マイクロコズムを用い、300ml の三角フラスコに TP 培地 (Taub+pepton 培地) を 200ml 注ぎ、マイクロコズムの種 10ml を添加した系を用い、条件として温度 25℃、照度 2,400Lux (明暗周期 12hrs) の静置条件で 30 日間培養を行った (図 1)。

2.4 調査地点

千葉県某市のゴルフ場 (図 2) における農薬散布後の暗渠排水を対象とした。

2.5 散布された農薬

散布された農薬はダブルアップ DG、スコリテック、アーゼラン、MCP、ディクトランの 5 種類で、すべて除草剤であった。

2.6 採水方法

柄杓を用いて排水を採取し、気温、水温、pH、DO、T-N、NO₂-N、NO₃-N、NH₄-N、TP、PO₄-P、COD、BOD、SS を測定した (表 1)。

2.7 添加方法

安定期の 16 日目に TP 培地と試水の比率を 0% (対照系)、25%、50%、75%、100% と段階的に設定し (表 2)、口径 0.45μm のメンブレンフィルターを用いた吸引ろ過により夾雑物を除去したろ液を添加した。

2.8 評価方法

評価項目は個体数 (構造パラメータ)、溶存酸素 DO (機能パラメータ) の 2 項目とし、個体数は光学顕微鏡を用い培養開始から 0, 2, 4, 7, 14, 16, 18, 20, 23, 30 日目に観察した。DO は 16 日目から連続的に測定し、生産量 (P)、消費量 (R) の比である P/R 比を算出し評価を行った。



図 1 マイクロコズム

表 1 水質分析結果

	環境水	ろ過水
気温 (°C)	9.6	
水温 (°C)	12.0	
pH	6.83	6.83
DO (mg/l)	9.04	3.83
Cl (mg/l)	14.2	14.2
chl.a (μg/l)	11.0	2.1
NO ₂ -N (mg/l)	0.5	0.4
NO ₃ -N (mg/l)	0.009	0.008
NH ₄ -N (mg/l)	0.19	0.12
T-N (mg/l)	3.45	1.84
PO ₄ -P (mg/l)	0.12	0.06
TP (mg/l)	2.46	1.80
COD (mg/l)	16.4	14.4
BOD (mg/l)	5.69	3.03
SS (mg/l)	29.2	3.65



図 2 調査地点

表 2 添加比率

比率	TP培地(ml)	環境水(ml)
0%	200	0
25%	150	50
50%	100	100
75%	50	150
100%	0	200

3. 結果および考察

3.1 個体数(構造パラメータ)による評価

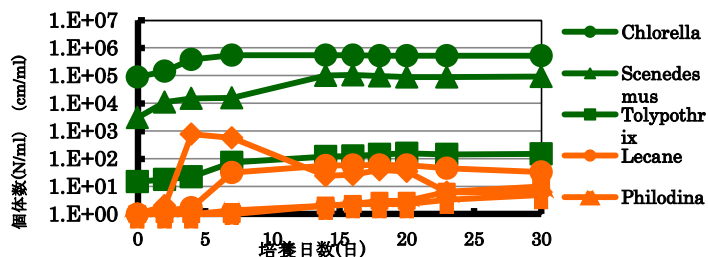


図3 対照系における個体数遷移

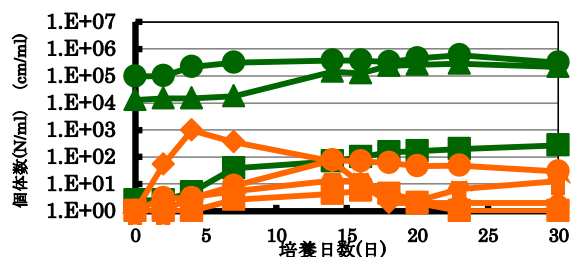


図4 25%添加系における個体数遷移

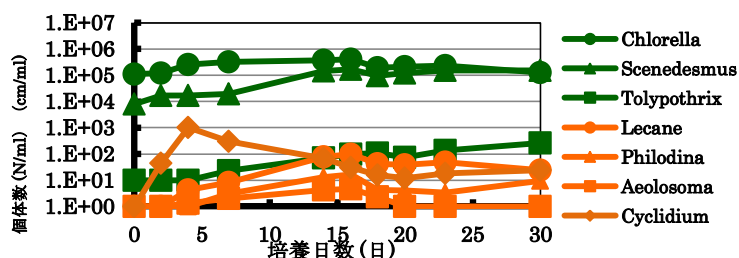


図5 50%添加系における個体数遷移

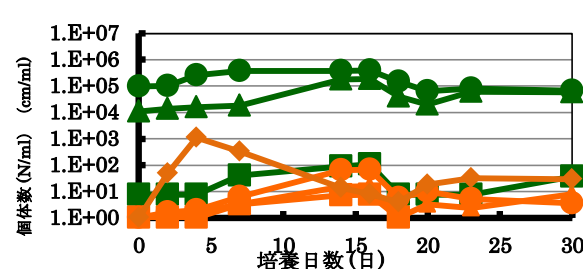


図6 100%添加系における個体数遷移

図3~6を比較すると25%、50%、100%と環境水の比率が大きくなるにつれ、*Chlorella* sp. (生産者)、*Scenedesmus* sp. (生産者)、*Aeolosoma* (高次消費者)へ影響し、100%添加系では*Aeolosoma*が死滅した。これらから、いずれの添加比率でも影響がみられたため、構造パラメータにおけるm-NOECは25%以下と評価された。

3.2 DOおよびP/R比(機能パラメータ)による評価

各系のDO値およびP/R比を比較すると25%添加系において活性が上昇し、50%添加系で活性が上昇した後に減少した。さらに、100%添加系においては添加直後から活性が著しく低下した(図7、8~11)。これらのことから機能パラメータにおけるm-NOECは25%と評価された。

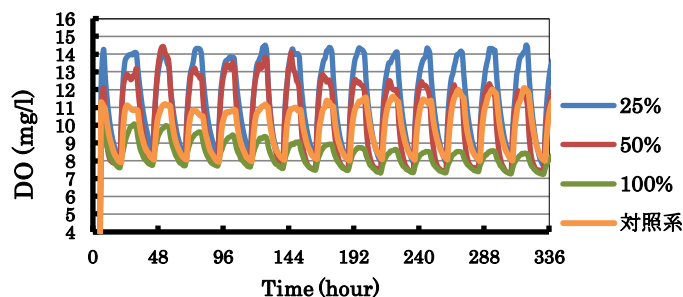


図7 各系におけるDO値

3.3 毒性単位からの評価

毒性単位(Toxicity Unit; TU)を算出すると、 $TU \geq 4$ となり、放流先での自然浄化作用による希釈率10を考慮すると、健全な生態系の保全のためには4倍以上の希釈が必要と評価された。

4. まとめ

1) 環境水の比率が大きくなるにつれ、*Chlorella* sp. (生産者)、*Scenedesmus* sp. (生産者)、*Aeolosoma* (高次消費者)へ影響し、100%添加系では*Aeolosoma*が死滅した。いずれの添加比率でも影響がみられたため、構造パラメータにおけるm-NOECは25%以下と評価された。

2) 25%添加系において活性が上昇し、50%添加系で活性が上昇した後に減少した。さらに、100%添加系においては添加直後から活性が著しく低下した。機能パラメータにおけるm-NOECは25%と評価された。

3) 毒性単位は $TU \geq 4$ となり、健全な生態系の保全のためには4倍以上の希釈が必要と評価された。

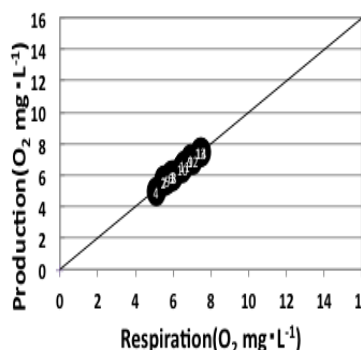


図8 対照系 P/R 比

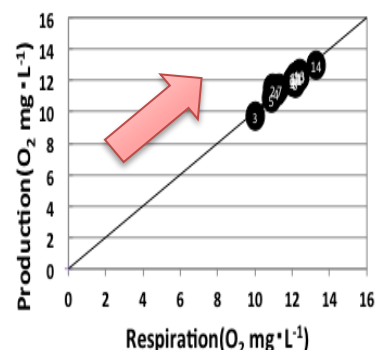


図9 25%添加系 P/R 比

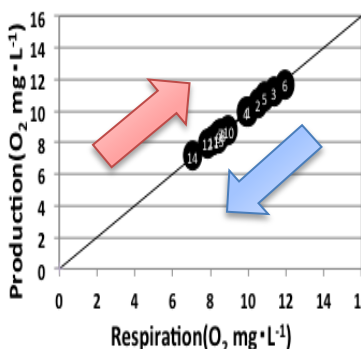


図10 50%添加系 P/R 比

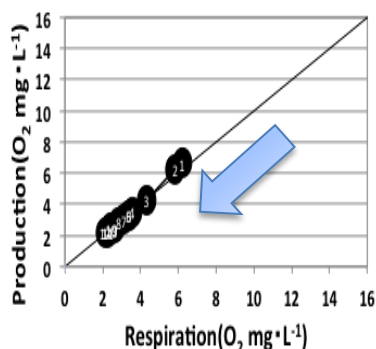


図11 100%添加系 P/R 比