

ゴルフ場排水を対象としたマイクロコズムによる WET 試験

千葉工業大学 生命環境科学科 学員 ○玉造直樹
 千葉工業大学 生命環境科学科 正員 村上和仁
 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 WET 試験によるマイクロコズムを用いて、マイクロコズムにおける最大無影響濃度（m-NOEC）を決定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を用いて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た検討を行っている。

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 *Aeolosoma hemprichi*、分解者として 4 種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、*Corynebacterium* sp. 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。

2.4 調査地点

千葉県成田市のゴルフ場において農薬散布後の暗渠排水を対象に調査を行った。

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、アージラン、MCP、ディクトランの 5 種類で、すべて除草剤である。

2.6 採水方法

柄杓を用いて排水を採取した。また、現地にて気温、水温、pH、DO を測定し、研究室に戻り、各栄養塩濃度（T-N、NO₂、NO₃、NH₄、T-P、PO₄）、COD、BOD、SS を測定した。

2.7 添加方法

安定期の 16 日目に TP 培地と試水の比率を表 1 のように 0%（対象系）、25%、50%、75%、100%と段階的に設定し、口径が 0.45μm のメンブレンフィルターを用いて吸引ろ過を行ったものを添加した。

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 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



図 2 調査地点

表 2 水質分析の結果

	環境水	ろ過水
気温(℃)	9.6	
水温(℃)	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
T-P (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

キーワード: マイクロコズム WET 試験 除草剤 m-NOEC 構造パラメータ 機能パラメータ

〒275-8588 千葉県習志野市津田沼 2-17-1 (千葉工業大学生命環境科学科) TEL:047-478-0455 FAX:047-478-0455

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

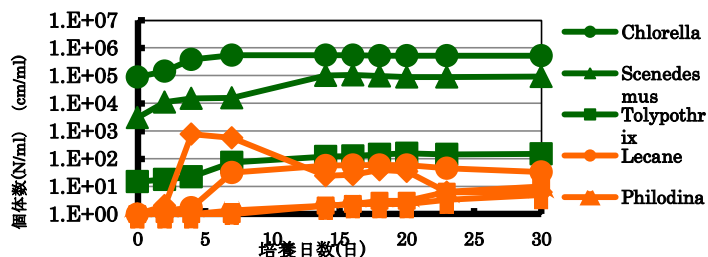


図3 対照系

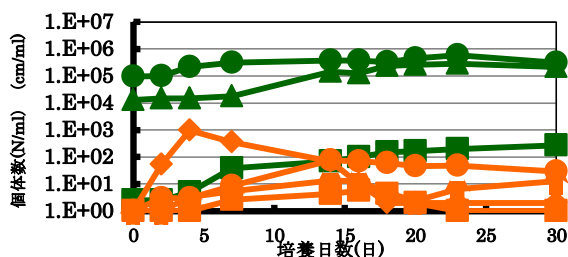


図4 25%添加系

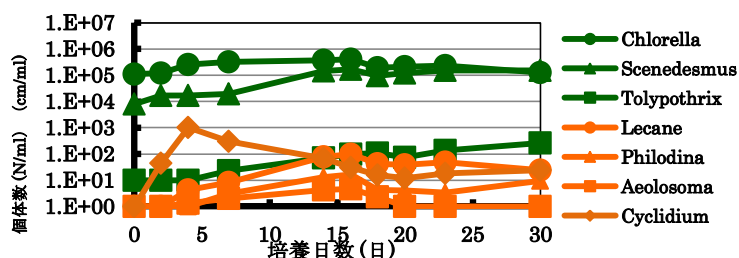


図5 50%添加系

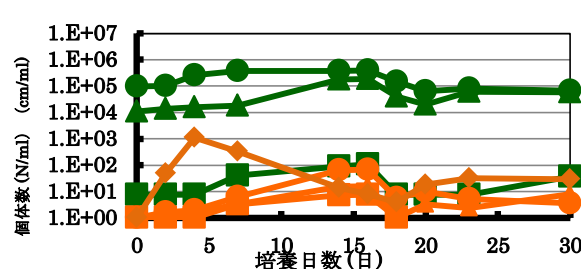


図6 100%添加系

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、ど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。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。

4 まとめ

1) 構造パラメータにおいて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、ど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) 機能パラメータでは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。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。

3) この排水を安全に放流するためには、少なくとも4倍以上の希釈が必要であると評価された。

追記：本研究の一部は、日本学術振興会平成24～26年度科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）（挑戦的萌芽研究）（課題番号24651029）「移入種生物がもたらす生態系影響評価のためのモデルエコシステムの汎用化に関する研究（代表：村上和仁）」の一環として実施された。

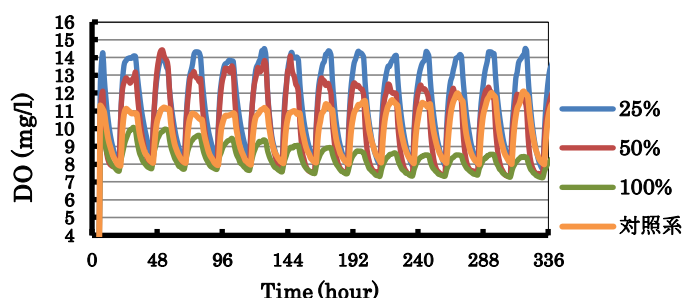


図7 各系のDO値

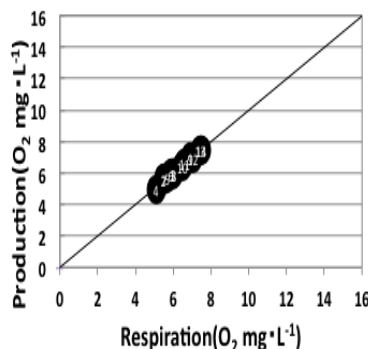


図8 対照系 P/R 比

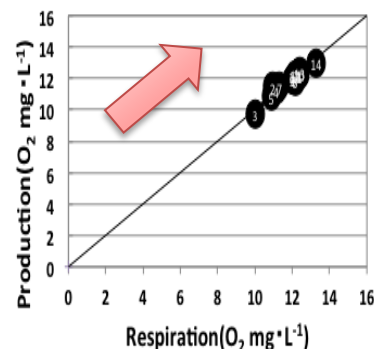


図9 25%添加系 P/R 比

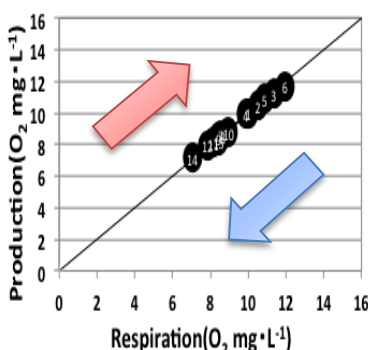


図10 50%添加系 P/R 比

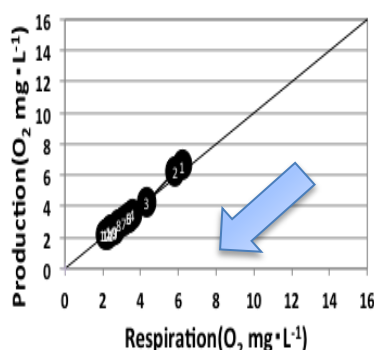


図11 100%添加系 P/R 比