

金属加工油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 ○深堀和樹
 千葉工業大学 生命環境科学科 正員 村上和仁

1. 目的

我が国の事業所の排水には水質汚濁防止法によって、COD (BOD)、SS、pH、大腸菌数、窒素、リンなどの生活環境項目（水の汚染状態を示す項目）と、カドミウム、クロム、ヒ素、水銀などの健康項目（人の健康に係る被害を生ずるおそれがある物質）の測定が義務づけられている。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) が検討されている。本研究では未規制物質や複合的な影響を評価できる WET 試験を制御された環境下であるマイクロコズムを用いて行い、エコシステムレベルでの最大無影響濃度 (m-NOEC) を決定することを目的とした。



図1 マイクロコズム

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が可能となる。本研究で用いた 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 quadricauda*、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。温度 25°C、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

千葉県中央部の工業排水を対象に試験を行った。付近には金属加工工場があり、そこからの排水と考えられる。

2.5 採水方法

採水バケツ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、栄養塩濃度 (T-N, NO₂-N, NO₃-N, NH₄-N, T-P, PO₄-N), COD, BOD, SS, を測定した。

2.6 添加方法

培養開始 0 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, 5, 12, 日目にて観察した。DO は添加直後 (0 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。

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(°C)		12.8
水温(°C)		12.7
pH		9.3
DO(mg/L)		5.4
Cl(mg/L)		39
chl.a(μg/L)		5.04
NO ₃ -N(mg/L)		35.8
NO ₂ -N(mg/L)		0.079
NH ₄ -N(mg/L)		0.5
T-N(mg/L)		44.9
PO ₄ -P(mg/L)		0.44
T-P(mg/L)		1.9
COD(mg/L)	12.8	9.8
SS(mg/L)		132.1

キーワード: マイクロコズム WET 試験 工業排水 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

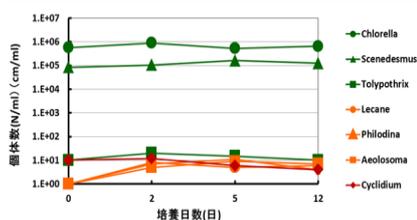


図3 25%添加系における個体数の経日変化

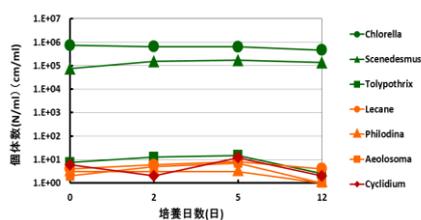


図4 50%添加系における個体数の経日変化

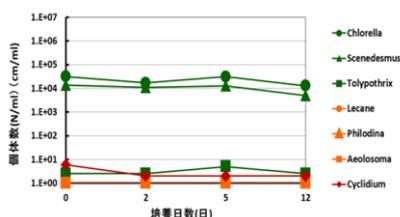


図5 100%添加系における個体数の経日変化

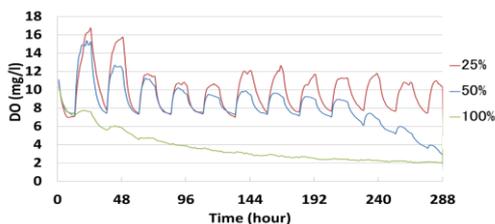


図6 各系におけるDOの経時変化

図3~5を比較すると25%添加系では50%、100%添加系と比べ大きな個体数の増減はみられない。50%では、25%と比べ動物プランクトン(捕食者)が減少傾向を示した。排水の比率が最も高い100%添加系では *Chlorella* sp. (生産者)、*Scenedesmus quadricauda* (生産者)、*Tolypothrix* sp. (生産者) の個体数に減少傾向がみられ、捕食者の *Philodina* (捕食者) の死滅がみられた。これより、機能パラメータにおける m-NOEC は25%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

図7~9よりDO(溶存酸素)値のP(生産量)、R(消費量)の比であるP/R比を比較すると、いずれの添加系においてもP/R=1付近へ収束した。しかし、対照系と比較して、25%添加系では活性が上昇した後、下降して安定し、50%添加系では活性が上昇後、活性が0付近まで下降し、100%添加系では添加直後から活性が0付近まで下降した。すなわち、マイクロゾム生態系は低濃度の負荷では系の活性を高めてシステムを維持しようとするが、高濃度になると系の活性を高めることすらできずにシステムが崩壊するものと考えられた。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。

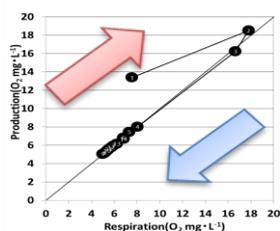


図7 P/R比(25%)

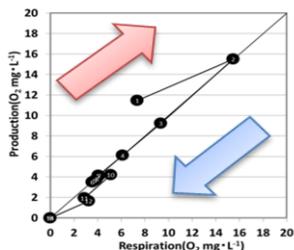


図8 P/R比(50%)

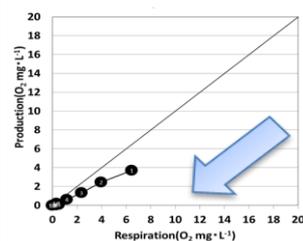


図9 P/R比(100%)

4 まとめ

- 1) 構造パラメータにおいて、25%添加系においては50%、100%添加系と比べ個体数の変動がみられなかった。50%添加系においては25%添加系と比べ構成種の死滅はみられないが動物プランクトン(捕食者)が減少傾向を示した。100%添加系においては低濃度添加系と比べマイクロゾム内の生産者が減少、捕食者の *Philodina* (捕食者) が死滅した。これらのことから、構造パラメータにおける m-NOEC は25%と評価された。
- 2) 機能パラメータにおいて、25%添加系においては50%、100%添加系と比べ活性がP/R=1で安定傾向がみられた。しかし、50%、100%添加系においてはP/R=1へ収束傾向はあるが、活性が0付近へ下降した。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) 本研究で対象とした金属加工油排水を安全に放流するには、4倍の希釈が必要と考えられた。

追記：本研究の一部は平成24~25年度日本化学工業協会LRI(2012PT4-2)「マイクロゾムを活用した化学物質の生態系リスク評価システム手法の開発」の一環として実施された。