

酒造工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 ○小幡一樹
千葉工業大学 生命環境科学科 正員 村上和仁

1. 目的

CSA 登録化学物質数は 1 億 400 万件を超えており、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排水中には多様な化学物質が含まれている。それらの生態系への影響は未知な部分が多く、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。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。

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うことが可能である。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

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 14 日間培養を行った。

2.4 調査地点

千葉県北西部に位置する工業用地からの工業排水を対象に試験を行った。付近には酒造工場があり、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、各栄養塩濃度 (T-N, NO₂-N, NO₃-N, NH₄-N, T-P, PO₄-P), COD, BOD, SS を測定した。

2.6 添加方法

0 日目に TP 培地と検水の比率を表 1 のように 0% (対照系)、25%、50%、75%、100%と段階的に設定し、口径 0.45μm のメンブレンフィルターにて吸引ろ過したろ液を添加した。

2.7 評価方法

評価項目は個体数 (構造パラメータ)、溶存酸素 (機能パラメータ) の 2 項目とし、個体数は光学顕微鏡により培養開始から 0, 2, 4, 7, 14 日目に観察した。DO は培養開始直後から連続的に測定し、生産量 (P)、消費量 (R) から P/R 比を算出し評価を行った。



図 1 マイクロコズム



図 2 調査地点

表 1 添加比率

比率	TP培地(mL)	検水(mL)
0%	200	0
25%	150	50
50%	100	100
75%	50	150
100%	0	200

表 2 水質分析の結果

	排水
気温(℃)	27.8
水温(℃)	32.5
pH	8.40
DO(mg/ℓ)	8.6
CL(mg/ℓ)	106.4
Chl.a(μg)	9.0
NO ₃ -N(mg/ℓ)	3.0
NO ₂ -N(mg/ℓ)	0.409
NH ₄ -N(mg/ℓ)	0.30
T-N(mg/ℓ)	6.25
PO ₄ -P(mg/ℓ)	0.19
T-P(mg/ℓ)	0.16
COD(mg/ℓ)	4.6
SS(mg/ℓ)	30.3

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

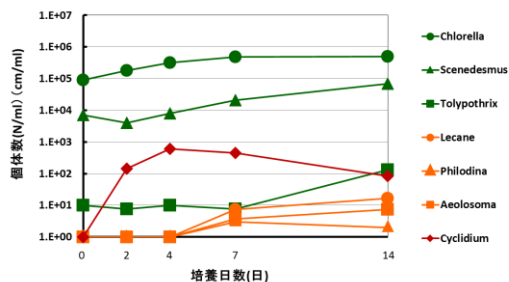


図3 対照系における個体数の経日変化

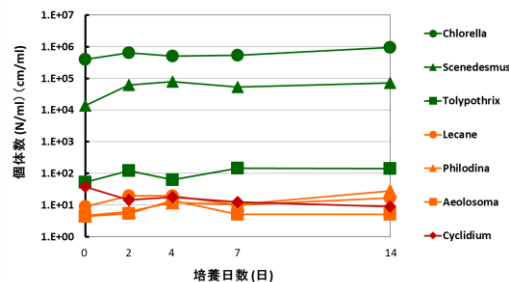


図4 50%添加系における個体数の経日変化

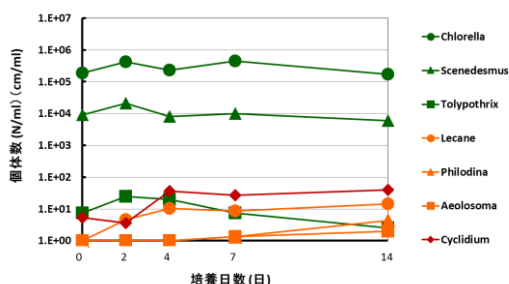


図5 100%添加系における個体数の経日変化

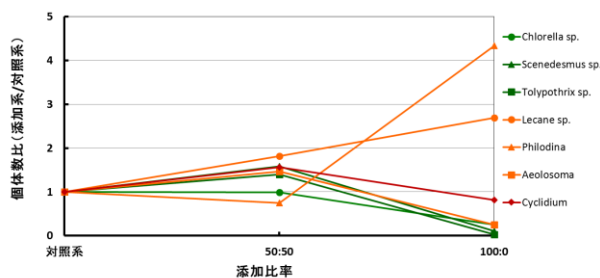


図6 N_{14} の比較

培養開始後 14 日目 (添加後 14 日目) の生物現存量 N_{14} より評価を行った。その結果を図 6 に示した。 N_{14} では対照系の 14 日目の各生物の個体数を 1 として他の添加系が対照系と比較しどのような割合で増減するかをみる事ができる。構造パラメータにおいてマイクロコズム内のすべての構成種が存在していた。添加比率 50% の系では個体数は対照系と比べて多少の増減はあるものの大きな変化はない。しかし検水の比率が 100% の系では *Chlorella* sp. (生産者)、*Scenedesmus* sp. (生産者)、*Tolypothrix* sp. (生産者) の個体数が大きく減少し、*Philodina* (消費者) は大きく増加した。これより、構造パラメータにおける m-NOEC は 50% 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 比を比較するといずれの添加比率でも P/R 比は 1 に近い。しかし 50% 添加系において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、いずれの添加比率でも影響がみられたため機能パラメータにおける m-NOEC は 50% 未満と評価された。

4. まとめ

1) 構造パラメータにおいて 50% 添加系では多少の増減はあるものの大きな変化はない。しかし 100% 添加系では対照系との個体数比に大きな差がみられた。これらのことから、50% 添加系では影響がみられず、100% 添加系では影響がみられたため、構造パラメータにおける m-NOEC は 50% と評価された。

2) 機能パラメータでは 50% 添加系において活性が上昇した後に減少し、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 50% 未満と評価された。

3) 本研究で対象とした酒造工場排水を安全に放流するためには、少なくとも 2 倍以上の希釈が必要であると考えられた。

追記：本研究の一部は平成 24～25 年度日本化学工業協会新 LRI (2012PT4-2) 「マイクロコズ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。

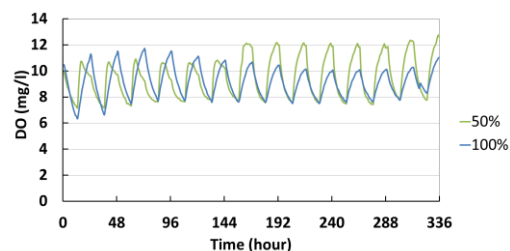


図7 各系における DO 値の経日変化

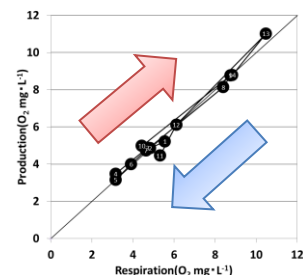


図8 50%添加系における P/R 比

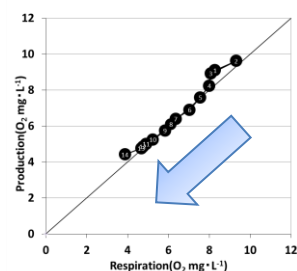


図9 100%添加系における P/R 比