マイクロコズムWET試験による洗米排水の生態系影響評価

千葉工業大学　生命環境科学学科　学員　○小熊　恵
千葉工業大学　生命環境科学学科　正員　　村上　和仁

1. はじめに

洗米排水には多量の窒素・リンが含まれている。これらは富栄養化の原因物質であり、不用意に放流されれば赤潮や青潮、アオコの発生につながる。本研究では、生態系への影響を管理する手法である全排水毒性試験（WET）（図 1）を自然生態系を模したモデル生態系であるマイクロコズム（図 2）で実施し、最大無影響濃度（m-NOEC）から毒性単位（TU）を求めることで、洗米排水が放流先の生態系へ及ぼす影響を評価することを目的とした。

2. 方法

2.1 供試マイクロコズム：分解者として 4 種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、coryneform bactria、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* の組合わせからなる Gnotobiotic 型マイクロコズム（N-system）を用いた。なお、このマイクロコズムは高い安定性と再現性を有するモデル微生物生態系である。

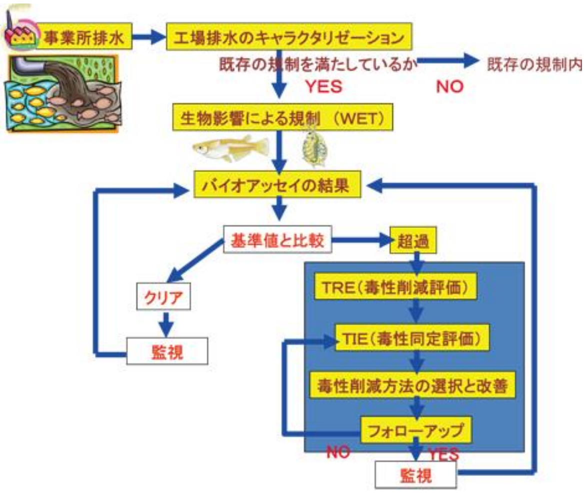

図 1 WET 試験の概念図（国立環境研究所 HP より）

2.2 培養方法及び測定項目：マイクロコズムの培養は、ポリペプトン濃度を 100mg・L^{-1} となるよう調整した TP 培地 200ml を 300ml 容三角フラスコに入れ、継代培養しているマイクロコズムを種として 10ml 接種した後、25℃、2,400lux（明 12hr／暗 12hr）、静置条件とした。マイクロコズム培養開始 16 日目の安定期に、口径 0.45μm のメンブレンフィルターを用いて吸引濾過した洗米排水を、添加濃度が 0、5、10、20、40、80%となるよう添加した。マイクロコズム内の DO 変化を DO メーターにより継時的に連続測定し、P（生産量）、R（呼吸量）および P/R 比の推移（機能パラメータ）を求めた。同時に、培養開始後、0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目にマイクロコズムからサンプリングしたプランクトンを、計数板および界線スライドガラスを用いて光学顕微鏡下で計数し、プランクトン個体数変遷（構造パラメータ）を観察した。

図 2 マイクロコズム

2.3 評価方法：構造・機能パラメータにおいて、影響を及ぼさなかった濃度のうち最も高い濃度を最大無影響濃度（m-NOEC）とし、排水の希釈倍率である毒性単位（TU）を以下の式に当てはめて算出した。なお、排水は放流先において 10 倍希釈されることを想定している。

毒性単位（TU）＝ 100／m-NOEC ＝ 希釈倍率

2.4 統計処理手法：機能パラメータにおいては、統計処理を用いて評価を決定した。得られた DO の変動を x 成分（回帰直線の傾き a）と y 成分（振幅の変動係数 cv）に分け、それぞれの数値が正規分布していると仮定した。平均値の±1σ内に収まる確率は 68.26%であるため、a、cv それぞれの対照系値の±34.13%に収まれば影響なしと評価した。

キーワード:マイクロコズム　全排水毒性試験　WET　洗米排水　毒性単位
〒275-0016　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学科）　TEL,FAX 047-478-0455

3. 結果および考察

3.1 プランクトン個体数変遷（構造パラメータ）による評価

洗米排水を添加した培養 16 日目から 30 日目までの各添加濃度におけるプランクトン現存量比（$B_{16\text{-}30}$）を図 3 に示した。対照系と比較すると、5%添加系から生産者である植物プランクトン 1 種と、捕食者である動物プランクトン 4 種が増加し、添加濃度が高くなるにつれ個体数が増殖した。これは、洗米排水の栄養分によるものと考えられる。

個体数の減少や死滅がみられないことから、構造パラメータによる評価からはいずれの添加濃度においても影響なしと評価した。

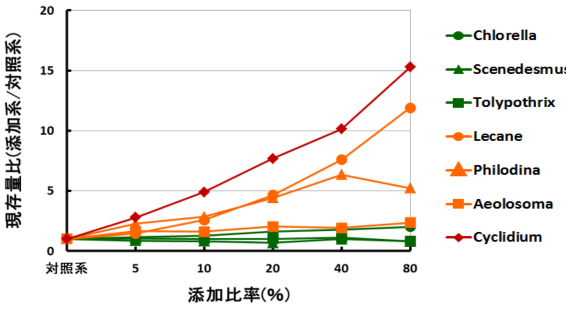

図 3　各添加濃度における $B_{16\text{-}30}$

3.2 DO、P/R 比（機能パラメータ）による評価

マイクロコズム内の DO 変化と正規分布を図 4 に示した。対照系と比較すると、DO の振幅は添加濃度が高くなるにつれ大きくなった。このことから、洗米排水はマイクロコズム内の生物活性を上昇させることが示された。

P/R 比は、添加濃度が高くなるにつれ活性が上昇したが、全ての添加濃度において安定していた。これは、植物プランクトン、動物プランクトン共に増殖したためと考えられる。

各添加濃度における傾きおよび変動係数を表 1 に示した。傾き a において、対照系値の±34.13%は 0.0025≦a≦0.0051 であるため、10%は影響なしと評価した。変動係数 cv において、対照系値の±34.13 %は 0.099≦cv≦0.20 であるため、全ての添加濃度において影響ありと評価した。

以上より、機能パラメータによる評価からは全ての濃度において影響ありと評価した。

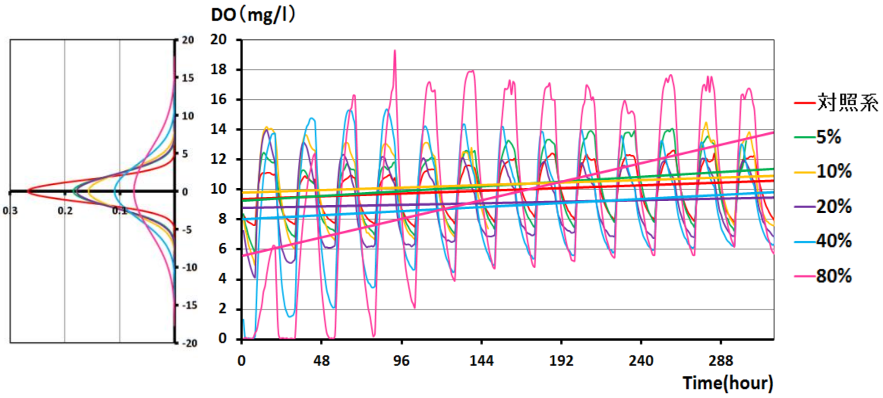

図 4　マイクロコズム内の DO 変化と正規分布

表 1　各添加濃度における傾きおよび変動係数

	傾き(a)	変動係数(cv)
対照	0.0038	0.15
5%	0.0067	0.21
10%	0.0035	0.25
20%	0.0021	0.24
40%	0.0056	0.41
80%	0.0258	0.54

3.3 生態系リスク影響評価

構造・機能パラメータからの評価より、マイクロコズム内の最大無影響濃度（m-NOEC）は 5%以下と評価され、洗米排水は放流先の生態系に影響を及ぼす可能性があると評価された。毒性単位（TU）は 20 以下となり、20 倍以上の希釈が必要であると評価された。

4. まとめ

①構造パラメータにおいては、添加濃度が高くなるにつれ、植物プランクトン 1 種と動物プランクトン 4 種が増殖したが、いずれの添加濃度においても影響なしと評価した。

②機能パラメータにおいては、添加濃度が高くなるにつれ系の活性が上昇し、生産・呼吸量は安定していた。統計処理の結果、全ての添加濃度において影響ありと評価した。

③構造・機能パラメータより、洗米排水の最大無影響濃度（m-NOEC）は 5%以下と評価され、毒性単位（TU）は 20 以下となり、20 倍以上の希釈が必要であると評価された。

⑤今後は影響評価に加えて、富栄養化への影響も考慮した評価について検討していく必要がある。