

マイクロコズム WET 試験法による実排水の生態系影響評価

千葉工業大学大学院 学員 ○土屋友美
千葉工業大学 正員 村上和仁

1. 目的

現在、日本では WET 試験の導入が検討されている。しかし、この試験方法は単一種に対する試験であるため、実際の生態系とは異なる影響評価となる可能性を否定できない。そこで、生産者・捕食者・分解者を含む模擬生態系であるマイクロコズムを用いて WET 試験を行うことで、より現実的な影響評価が可能になると考えられる。本研究では、実排水を対象としたマイクロコズム WET 試験を実施し、エコシステムレベルでの毒性評価が可能なマイクロコズム WET 試験の有効性について検討した。

2. 方法

2.1 培養方法

マイクロコズムとは制御された条件下培養を行うモデル微生物生態系のことである。環境条件などの実験操作が可能であり、フラスコスケールでの培養であるため、低コストかつ再現が可能である。図 1 にマイクロコズムの概念図を示す。

本研究では Gnotobiotic 型マイクロコズム (N-system) を用いた。300ml 三角フラスコに TP 培地 (Taub+ペプトン培地) を 200ml 注ぎ、継代培養しているマイクロコズムの種 10ml を添加した後、温度 25℃、照度 2,400lux (明暗周期 12hrs) の条件下で 30 日間の静置培養を行った。

本研究で用いたマイクロコズムは、生産者として 2 種の緑藻類 *Chlorella* sp.、*Scenedesmus quadricauda*、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 *Aelosoma hemprichi*、分解者として優占 4 種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、*Corynebacterium* sp. にて構成されている。また、高い再現性と系の安定性を特徴としている。

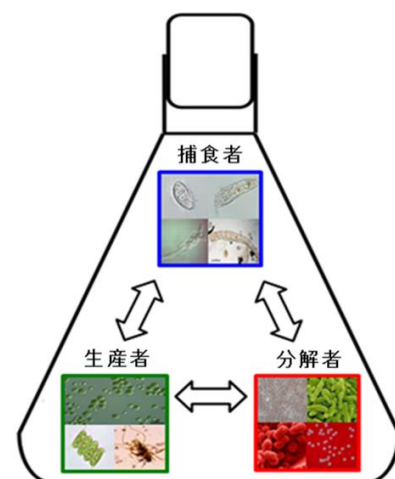


図 1 マイクロコズムの概念図

2.2 添加方法

本研究では、マイクロコズム内の生物量が安定する培養開始 16 日目に、口径 0.45 μm メンブレンフィルターを用いて大学構内の食堂排水処理施設からの処理水を秋と冬に採水し、処理水を吸引ろ過した後、マイクロコズムに対して排水が 5、10、20、40、80% となるように添加した。添加の際、マイクロコズムを遠沈管に移し 1,500rpm で 10 分間の遠心分離を行い、マイクロピペットを用いて上澄みを取り、生物量を調整した。

2.3 評価方法

個体数 (構造パラメータ) および DO (機能パラメータ) から評価を行った。個体数は光学顕微鏡を用いて、培養開始から 0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目に同定、計測を行った。DO は培養 16 日目から 30 日目まで連続的に測定し、生産量 (P)、呼吸量 (R) から P/R 比を算出した。また機能パラメータの経時変化において、枝分かれ型分散分析を行った。枝分かれ型分散分析では各系の全ての値による分散分析である「群」と時間ごとの分散分析である「交互作用」の 2 項目から評価を行った。これらの結果による評価から最大無影響濃度 (m-NOEC) を算出し、以下の式より毒性単位 (TU) を算出した。

$$\text{毒性単位 (TU)} = 100 / \text{m-NOEC} (= \text{希釈倍率})$$

3. 結果および考察

3.1 添加排水の水質

大学構内の食堂排水処理施設からの処理水の、ろ過後の水質は、pH : 7.18~7.21、COD : 15.2~17.2mg/l、T-N : 2.17~12.4mg/l、T-P : 0.13~0.98mg/l、SS : 9.4~18.5mg/l であった。

3.2 DO、P/R 比 (機能パラメータ) による評価

DO の振幅は添加濃度が高くなるにつれて小さくなった。このことから、マイクロコズム内の活性は低下していると考えられた。これは排水中に含まれる浮遊物質によるプランクトンの成長阻害が影響していると考えられた。しかしながら、P/R 比は全ての添加濃度において 1 付近で安定していた (図 2)。これは、植物プランクトン、動物プランクトンのいずれも活性が低下したためマイクロコズム内の生態系機能のバランスが保たれた結果と考えられた。

機能パラメータにおいて、P/R 比・呼吸・生産について枝別れ型分散分析による検定を行い、影響の有無を判定した結果、m-NOEC は 5 % 未満と評価された。

キーワード : マイクロコズム, 全排水毒性 (WET) 試験, 標準試験法, 枝分かれ型分散分析, 食堂排水

連絡先 : 〒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科 TEL : 047-478-0455 FAX : 047-478-0455

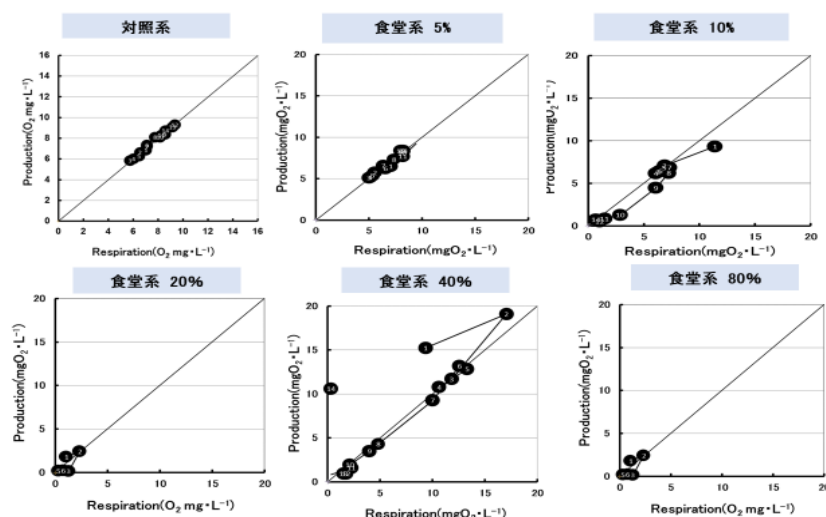


図2 各添加系の P/R (生産/呼吸) 比 (機能パラメータ)

3.3 個体数 (構造パラメータ) による評価

図2のグラフは横軸が培養日数、縦軸が個体数を表している。プランクトンの死滅は確認されなかったが、20、40、80%添加系では、捕食者である動物プランクトン3種に減少傾向がみられた。これらは排水中に残留する化学物質によって活性に影響を受けたものと考えられた。しかしながら、すべての構成微生物において死滅がみられず、共存していることから、マイクロコズム内の生態系は維持されていると考えられた。

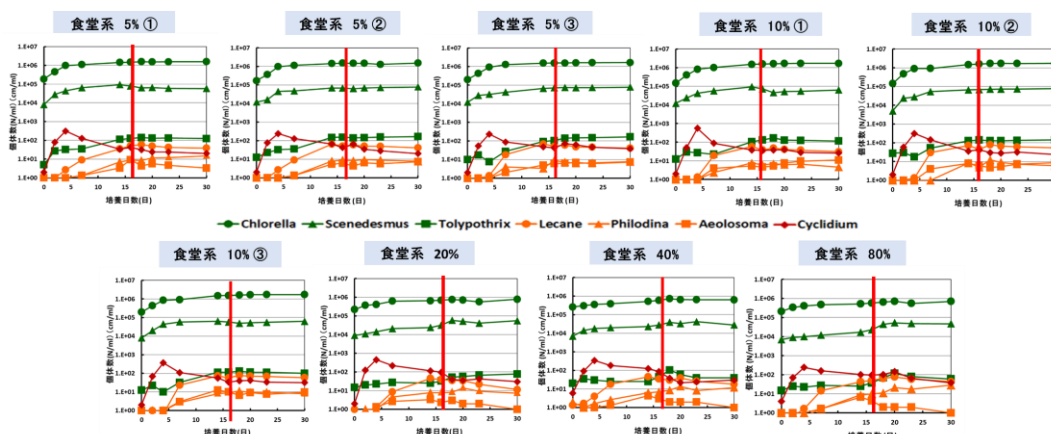


図3 各添加系の微生物個体数 (構造パラメータ) の経時変化

3.4 総合評価

機能パラメータの統計処理結果より、最大無影響濃度である m-NOEC は5%より小さい範囲に存在すると評価され、毒性単位である TU は $100/5=20$ となり、大学校内の食堂排水処理施設からの排水は適切に処理されていると評価された。

4. まとめ

- 1) 機能パラメータにおいては、添加濃度が高くなるにつれ活性が減少したが、P/R 比は安定していた。枝分かれ型分散分析の結果、m-NOEC は5%以下であると評価された。
- 2) 構造パラメータにおいては、20・40・80%添加系において、動物プランクトンに影響が生じたが、全生物種が共存を維持したことから、マイクロコズム生態系は維持されたと評価された。
- 3) マイクロコズム WET 試験の結果、大学構内の学食排水処理施設からの処理水の m-NOEC は5%以下となり、TU から20倍以上の希釈が必要であると評価された。
- 4) 今後、実排水を対象とした解析・評価データを集積し、マイクロコズム WET 試験法の実用性について検討を進める予定である。

参考文献

- 1) T.Tsuchiya, K.Murakami, R.Inamori, Y.Inamori: Development and Verification of Microcosm-WET Test on Basal Medium Concentration, *Proceedings of IWA 11th World Water Congress & Exhibition (WWC2018)*, Tokyo(Japan)(2018.9)
- 2) 土屋友美, 村上和仁: 実排水を用いたマイクロコズム WET 試験の検証, 水処理生物学会第55回(郡山)大会(別巻38号), 郡山(2018.11)