

第Ⅶ部門

水生生物 3 種を用いた雨天時道路排水の生態毒性に関する実態調査と再現実験

立命館大学理工学部

学生員 ○ 榊 将也

立命館大学大学院理工学研究科

学生員 三輪 航平

立命館大学理工学部

正会員 市木 敦之, 財津 実歩

1. はじめに

近年、我が国では生活排水や工場排水などの点源汚染について、生物応答を利用した排水管理（WET 手法）の導入が検討されつつある。一方で、面源汚染源についてはこうした取り組みが行われておらず、重金属や PAHs（多環芳香族炭化水素類）といった微量有害物質を含む雨天時道路排水などが河川や湖沼といった公共用水域へ流入することによる生態影響が懸念されている。筆者らは、これまで道路排水を対象として、環境省より提案されている WET 手法¹⁾を利用した生態毒性試験を実施し、冬季に顕著な藻類生長阻害毒性がみられることを示してきた²⁾。ここでは、藻類、ミジンコおよび魚類の水生生物 3 種を用いて、こうした道路排水の生態毒性について実態調査を行うとともに、自動車交通に由来する微量有害物質による複合毒性の再現実験を行った結果について報告する。

2. 調査・実験の方法

実態調査では、国道一号線（滋賀県草津市）における雨天時道路排水を 30 分間隔で採取し、降雨ごとに流出水量比例でコンポジットしたものについて、水質を測定するとともに生態毒性試験¹⁾として淡水藻類（ムレミカヅキモ）による生長阻害試験と甲殻類（ニセネコゼミジンコ）による繁殖試験、胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）による短期毒性試験をそれぞれ実施した。実態調査結果の概要を表 1 に示す。2017 年 5 月から 2021 年 7 月の間に観測された降雨のうち、藻類生長阻害試験を 31 降雨、ミジンコ繁殖試験を 9 降雨、魚類短期毒性試験を 3 降雨について実施した。生態毒性試験では、それぞれ無害な希釈水を用いて試料を 0～80% の 6 濃度区（公比 2）に希釈した試料に投入したムレミカヅキモの生長速度やミジンコの産仔数、ゼブラフィッシュの生存数を観察し、NOEC（最大無影響濃度）および EC50（半数影響濃度）を算定した。水質の測定項目は、SS、金属元素（15 元素）、US.EPA の奨励する PAHs16 物質およびその塩素化合物である CIPAHs6 物質（9-chlorofluorene, 9-chlorophenanthrene, 2-chloroanthracene, 3-chlorofluoranthene, 1-chloropyrene, 6-chlorobenzo[a]pyrene）などである。再現実験では、冬季に顕著な生態毒性がみられるのは、自動車交通由来の PAHs が融雪剤（NaCl）と触媒（Cu, Zn）を介した光変換（UV 照射）により塩素化して高い毒性を発現することによると想定し、作成した模擬道路排水について、実態調査の場合と同様に 3 種の水生生物を用いた生態毒性試験を実施した。また、PAHs, NaCl, 重金属(Cu, Zn)それぞれ個別の毒性把握を目的として、それぞれ単体についての毒性試験も実施した。模擬道路排水の水質等諸条件（表 2）は実態調査試料の測定水質等をもとに設定した。ここで、PAHs の添加に際しては、DMF（0.1%）を助剤として使用している。また、UV 照射については、波長を 282nm（ウシオ電機エキシマランプ）とし、照射時間は気象庁による照射熱量の観測結果にもとづいて決定した。

表 1 実態調査結果の概要（（ ）内は対象降雨数）

概要	降雨量 (mm)	水質(31)					藻類(31)		ミジンコ(9)		魚類(3)	
		SS (mg/L)	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)	PAHs (ng/L)	CIPAHs (ng/L)	NOEC* (%)	EC50 (%)	NOEC* (%)	EC50 (%)	NOEC* (%)	EC50 (%)
最大値	162.8	532.8	7.02	44.88	10 ⁵	4017.4	80	2662.0	80	10 ¹⁰	80	10 ²²
平均値	30.5	94.0	0.89	4.73	10 ⁴	500.2	25	209.7	60	10 ⁹	80	10 ²¹
最小値	2.0	7.1	0.02	0.09	73.7	1.6	0	13.2	20	14.6	80	1980

*有意水準5%

表 2 再現実験の概要

試料ID	100%濃度区水質(mg/L)				藻類		ミジンコ		魚類	
	NaCl	Cu	Zn	PAHs	NOEC* (%)	EC50 (%)	NOEC* (%)	EC50 (%)	NOEC* (%)	EC50 (%)
NaCl	60	—	—	—	80	—	80	—	80	—
Cu+Zn	—	0.05	0.2	—	10	25.7	20	32.5	20	45.3
PAHs	—	—	—	0.001	80	—	80	415.5	80	—
Mix	60	0.05	0.2	0.001	40	17.9	20	33.0	40	54.7
Mix+UV	60	0.05	0.2	0.001	5	17.3	5	12.1	40	91.4

*有意水準5%

Masaya SAKAKI, Kohei MIWA, Atsushi ICHIKI and Miho ZAITSU

ce0004rp@ed.ritsumei.ac.jp

3. 結果と考察

生態毒性試験では、いずれも最大濃度区を 80%としたため、NOEC80%となる試料を生態毒性なし、NOEC80%未満の試料を毒性ありとみなすことができる。実態調査（表 1）では、藻類は 31 降雨中で 30 降雨、ミジンコは 9 降雨中で 4 降雨がそれぞれ NOEC80%未満となり、毒性ありと認められた。これらの毒性は冬季に顕著ながら、冬季以外の降雨についても確認された。一方、魚類は 3 降雨すべてで NOEC80%となり、毒性が確認されなかった。魚類短期毒性試験が行われた降雨がいずれも冬季以外の降雨であったことも影響していると思われる。水生生物 3 種いずれでも生態毒性試験を行った降雨の一例として、2022 年 7 月 7 日降雨についての毒性試験結果を図 1 に示す。藻類、ミジンコ、魚類の順で試験精度がよく、魚類についての毒性は判然としない。生態毒性の再現実験（表 2）としては、まず、道路面上を想定した濃度レベルの PAHs や NaCl, Cu, Zn を対象に、それぞれ生態毒性試験を行った。PAHs や NaCl については、いずれの水生生物でも NOEC が 80%となり、これらは単体で毒性を発現しないことがわかる。一方、Cu と Zn の混合試料（試料 Cu+Zn）については、いずれも NOEC が 10~20%であることから毒性があることがわかる。次いで、冬季の雨天時道路排水を再現するため、Cu と Zn の混合試料（試料 Cu+Zn）、これに単体では毒性を発現しないレベルの PAHs と NaCl を加えた試料（試料 Mix）、さらにそれに UV 照射を行った試料（試料 Mix+UV）の 3 試料を作成し、生態毒性試験を行った。結果を、生長速度（藻類）、産仔数（ミジンコ）、生存率（魚類）のいずれも阻害曲線にして比較したものが図 2 である。藻類では、試料 Cu+Zn (EC50=25.7%) に比べて試料 Mix (同 17.9%)、試料 Mix+UV (同 17.3%) の毒性が高く、また UV 照射の有無による差はほとんどみられなかった。ミジンコでは、試料 Cu+Zn (EC50=32.5%) と試料 Mix (同 33.0%) の毒性に差がないのに対して、UV を照射した試料 Mix+UV (同 12.1%) は大きく毒性が上がり、複合毒性の現れ方が藻類とは異なることがわかる。一方、魚類では、試料 Cu+Zn (EC50=45.2%) に比べて、試料 Mix (同 54.70%) や試料 Mix+UV (同 91.44%) の毒性が上がりはしなかった。道路排水を対象とした水生生物 3 種の感受性を、実態調査と再現実験の各試料における NOEC（有意水準 5%）で比較したものが図 3 である。概ね藻類、ミジンコ、魚類の順で感受性が高く（NOEC が小さく）なっており、この傾向は毒性レベルが高くなるほど顕著である。これは雨天時道路排水の毒性の特徴を示唆しているものと思われる。

参考文献 1) 生物応答を用いた排水試験法(検討案), 2014.3. 2) たとえば, 三輪, 市木他: 第 76 回土木学会年講, 2021.9.

