

海藻を用いた生物検定による二酸化塩素および塩素酸イオンの毒性評価

大分工業高等専門学校専攻科 学生会員 ○城愛由美
大分工業高等専門学校 正会員 高見 徹

1. はじめに

わが国の都市下水の消毒等に一般に用いられる塩素(遊離塩素)は水生生物に対する毒性が強く¹⁾、近年では二酸化塩素等の塩素代替消毒剤の使用が検討されている。しかし、二酸化塩素(ClO_2)とその分解生成物である塩素酸イオン(ClO_3^-)の毒性に関する知見は少なく、特に、沿岸生物に対する毒性に関する知見は極めて少ない。そこで本研究では、沿岸生態系における主要な一次生産者である海藻を用いた生物検定によって両者の短期および長期暴露による毒性を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と方法

2.1 スサビノリ殻胞子を用いた短期暴露試験

短期暴露試験における供試海藻として、わが国の最大の養殖水産物である紅藻スサビノリ(*Porphyra yezoensis* U-511 株)の殻胞子を用いた。殻胞子は本校実験室内で保存培養しているスサビノリの貝殻糸状体から1/20PES培地中に放出させたものを用いた。 ClO_2 はStandard Method²⁾に記載されている方法に従って作成した。 ClO_3^- には塩素酸カリウム(KClO_3 , 和光純薬社製, 試薬特級)を用いた。1/20PES培地(塩分30)に所定の添加量(8濃度水準, それぞれ $n=3$)になるように所定の物質を添加したものを試験培地とした。試験培地を注入した組織培養用マイクロプレート(Corning社製, 24穴)にカバーガラス(10×10mm)に着生させた殻胞子(約100個体)を暴露した。暴露から4日後に倒立顕微鏡を用いてカバーガラス上を観察し、それぞれの濃度水準における殻胞子の生残率, 発芽率, または生長率を求めた。それぞれの試験物質の添加量と生残率, 発芽率, または生長率の関係から, Dunnettの多重比較法に従って最小影響濃度(LOEC, 有意水準 $\alpha=0.05$)を求めた。なお, ClO_2 および ClO_3^- の濃度は一般にはそれぞれ全有効塩素濃度($\text{mg Cl}_2/\text{l}$)と重量体積濃度(mg/l)で表すが, 両者の単位の統一を図るためモル濃度($\mu\text{mol}/\text{l}$)も併記した。

2.2 アオサ葉状体を用いた長期暴露試験

長期暴露試験では, スサビノリと同等の感受性を有し³⁾, かつ, 培養の容易な緑藻アオサ(*Ulva* spp.)の葉状体を用いた。葉状体は大分県番匠川の河口干潟に自生しているものを採取した。実験は流水式培養装置⁴⁾を用いて行った。試験培地として, 0.45 μm ろ過海水(塩分30)に所定の ClO_3^- 添加量(4濃度水準)となるように KClO_3 を添加したものを作成し, 培養器(200ml ビーカ)内にペリスタポンプを用いて連続的に流入(流量4ml/min, HRT 1.1hr)⁴⁾させた。培養器内には直径約1cmに切り取った葉状体を1容器につき5個体ずつ(初期収容密度約0.015% w/v)投入し, スターラを用いて葉状体が浮遊する程度に攪拌(約720rpm)した。培養開始から4日後と14日後に葉状体を取り出し, デジタルカメラで撮影して画像処理解析を行って葉状体の面積増加率を求めた。 ClO_3^- 添加量と面積増加率の関係から, LOEC(有意水準 $\alpha=0.05$)を求めた。

3. 結果と考察

3.1 二酸化塩素および塩素酸イオンの短期暴露影響

短期暴露試験における暴露開始から4日後の ClO_2 添加量とスサビノリ殻胞子の生残率の関係を図1に示す。殻胞子の生残率は ClO_2 添加量0.0001mg Cl_2/l (0.00056 $\mu\text{mol}/\text{l}$)までは, コントロール(0mg Cl_2/l , 0 $\mu\text{mol}/\text{l}$)との間に有意差は認められなかったが, 0.001mg Cl_2/l (0.0056 $\mu\text{mol}/\text{l}$)以上ではコントロールに対して有意に低下し, 0.1mg Cl_2/l (0.56 $\mu\text{mol}/\text{l}$)以上において0%となった。この結果, スサビノリ殻胞子の生残率に対する ClO_2 の4日後のLOEC(4d-LOEC)は0.001mg Cl_2/l (0.0056 $\mu\text{mol}/\text{l}$)が得られ, ClO_2 のスサビノリ殻胞子に対する毒性は極めて強いことが明らかになった。また, ClO_3^- の短期暴露試験の結果を図2に示す。殻胞子の発芽率はコントロール(ClO_3^- 添加量0mg/l, 0 $\mu\text{mol}/\text{l}$)から32000mg/l(380000 $\mu\text{mol}/\text{l}$)においてほぼ一定となった。しかし, 100000mg/l(1200000 $\mu\text{mol}/\text{l}$)

mol/l) 以上の発芽率はコントロールに対して有意に低下し, 320 000mg/l (3 800 000 μ mol/l) では, 多くの殻胞子が生残していたのにも関わらず, そのほとんどが発芽しなかった. この結果, 殻胞子の発芽率に対する ClO_3^- の 4d-LOEC は 100 000mg/l (1 200 000 μ mol/l) が得られた. また, 生長率は発芽率よりも低い濃度で阻害が認められ, 4d-LOEC は 10 000mg/l (120 000 μ mol/l) が得られた. 以上の結果から, ClO_3^- は, ClO_2 と比較して, スサビノリ殻胞子の生育に対する毒性は極めて弱いことが明らかになった.

3.2 塩素酸イオンの長期暴露影響

アオサ葉状体を供試生物とした流水式培養装置による ClO_3^- の長期暴露試験の結果を図 3 に示す. 葉状体の面積増加率は培養開始から 4 日後では, 全ての濃度でほとんど生長は認められなかった (面積増加率約 0) が, 培養開始から 14 日後ではコントロール (ClO_3^- 添加量 0mg/l, 0 μ mol/l) において面積増加率が 0.83 に増加した. しかし, 0.01mg/l (0.12 μ mol/l) 以上において葉状体の色素の褪色や, 葉片の流失が認められ, 0.1mg/l (1.2 μ mol/l) 以上では面積増加率が -0.83 以下に低下した. この結果, アオサ葉状体の面積増加率に対する ClO_3^- の 14 日後の LOEC (14d-LOEC) は 0.1mg/l (1.2 μ mol/l) が得られた. 以上の結果より, ClO_3^- は長期間の暴露によってアオサ葉状体の生育を低濃度で阻害することが明らかになった.

4. まとめ

本研究の結果, 以下の知見を得た.

- 1) 短期暴露試験の結果, スサビノリ殻胞子の生残率に対する ClO_2 の 4d-LOEC は 0.001mg Cl_2 /l (0.0056 μ mol/l) が得られた.
- 2) ClO_3^- は, スサビノリ殻胞子に対する短期暴露による毒性が極めて弱く, スサビノリ殻胞子の発芽率及び生長率に対する 4d-LOEC は 100 000mg/l (1 200 000 μ mol/l) 及び 10 000mg/l (120 000 μ mol/l) が得られた.
- 3) 長期暴露試験の結果, 14 日後におけるアオサ葉状体の面積増加率に対する ClO_3^- の 14d-LOEC は 0.1mg/l (1.2 μ mol/l) が得られ, ClO_3^- は長期間の暴露によって極めて低い濃度で阻害影響を

及ぼすことが明らかになった.

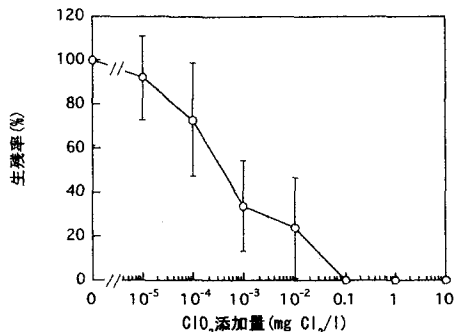


図 1 短期暴露試験におけるスサビノリ殻胞子の生残率に及ぼす二酸化塩素の影響

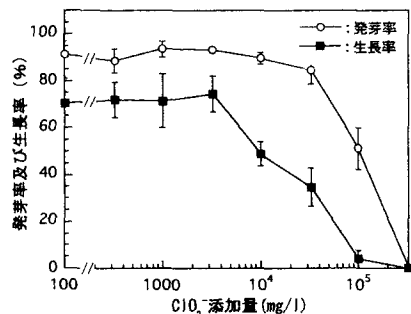


図 2 短期暴露試験におけるスサビノリ殻胞子の発芽率と生長率に及ぼす塩素酸イオンの影響

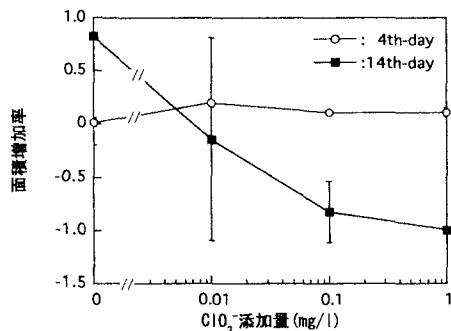


図 3 長期暴露試験におけるアオサ葉状体の面積増加率に及ぼす塩素酸イオンの影響

参考文献

- 1) 高見ら: 水環境学会誌, 21, 711-718, 1998.
- 2) APHA, AWWA and WPCF: Standard Method for the Examination of water and wastewater, 1992.
- 3) 高見ら: 土木学会第 56 回年次学術講演会講演概要集 VII-143, 286-287, 2001.
- 4) 城ら: 土木学会第 58 回年次学術講演会講演概要集 VII-084, 165-166, 2003.