養殖ノリの生育に及ぼす消毒下水処理水中残留毒性物質の影響

大分高専土木工学科　正会員○高見　徹
小手川友恵　永浴順子

1．はじめに

わが国の都市下水の消毒には一般に遊離塩素（Cl_2，HOCl，OCl^-）による消毒法が採用されている。遊離塩素は下水処理水中のアンモニアと反応し，モノクロラミン（NH_2Cl）を生成する（$HOCl + NH_3 \rightarrow NH_2Cl + H_2O$）。$NH_2Cl$は多くの水生生物に対して強い毒性を示す[1]。都市下水処理場は沿岸域に立地している場合が多く，沿岸生物や沿岸域で広く養殖されているノリ（海苔）に対する影響が危惧される。現在，米国では塩素代替剤として，二酸化塩素（ClO_2）を用いた消毒法が広く採用されている。しかし，ClO_2はNH_2Clを生成しないものの水中で分解し，亜塩素酸イオン（ClO_2^-）と塩素酸イオン（ClO_3^-）が残留する（$2ClO_2 + 2OH^- \rightarrow ClO_2^- + ClO_3^- + H_2O$）。他方で，$ClO_2$は紙パルプの塩素代替漂白剤としても用いられており，バルト海では1980年代に製紙工場排水中のClO_3^-が海藻群落に被害を及ぼしたことが報告されている[2]。

そこで本研究では，紅藻スサビノリ（*Porphyra yezoensis* Ueda U-511株，**図1**）の殻胞子を供試生物として，下水の塩素消毒ならびに二酸化塩素消毒における主要な毒性物質である遊離塩素，NH_2Cl，ClO_2，ClO_2^-ならびにClO_3^-の毒性を評価することを目的とした。

2．材料と方法

殻胞子は大分工業高等専門学校土木工学科の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。毒性試験では約100個体の殻胞子をカバーグラス（武藤化学社製，10×10mm）に着生させたものを供試体とした。遊離塩素には次亜塩素酸ナトリウム溶液（和光純薬社製，化学用）を用いた。NH_2Clは塩化アンモニウムと次亜塩素酸ナトリウム溶液を混合して生成させ，ジエチルエーテルを用いて抽出・精製したものを用いた[3]。ClO_2はStandard Methodに記載されている方法[4]に従って作成した。ClO_2^-とClO_3^-には亜塩素酸ナトリウムと塩素酸ナトリウム（ともに和光純薬社製）を用いた。1/20PES培地に所定の濃度（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）に供試体を暴露した。暴露から4日後に倒立顕微鏡（Nikon社製，TMS-F）を用いてカバーグラス上を観察し，それぞれの濃度水準における殻胞子の生残率と発芽率を求めた。それぞれの試験物質の添加濃度と生残率または発芽率の関係から，Dunnettの多重比較法に従って最小影響濃度（Lowest Observed Effect Concentration: LOEC，有意水準α =0.05）を求めた。なお，それぞれの試験物質の濃度はヨウ素滴定法によりその酸化力を求め，有効塩素量（mg Cl_2/l）として表すとともに，モル濃度（μ mol/l）としても表した。

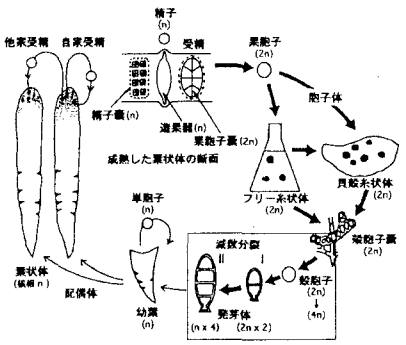

図1　スサビノリの生活環

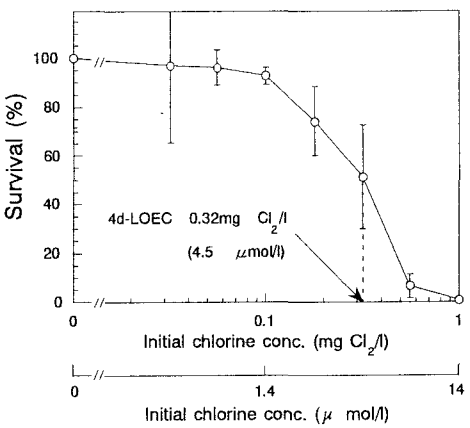

図2　遊離塩素添加量と生残率の関係

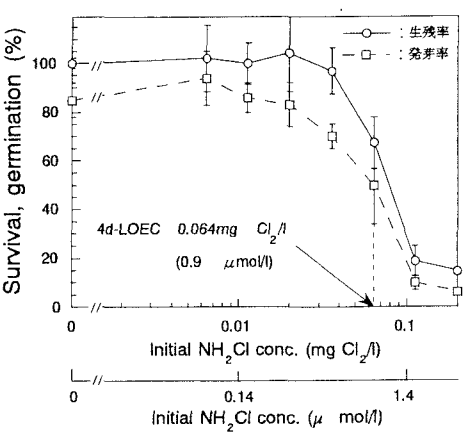

図3　NH_2Cl添加量と生残率および発芽率の関係

3．結果と考察

3．1　遊離塩素およびNH_2Clの毒性

暴露開始から4日後における遊離塩素添加量と殻胞子の生残率の関係を**図2**に示す。殻胞子の生残率はコントロール（0mg Cl_2/l）～0.1mg Cl_2/lの範囲において約90%以上のほぼ一定の値となり，殻胞子の死亡はほとんど認められなかった。しかし，0.32mg Cl_2/l以上の生残率はコントロールに対して有意に低下し，1mg Cl_2/lでは全ての殻胞子が死亡した。この結果，暴露開始から4日後における殻胞子の生残率に対する遊離塩素のLOEC（4d-LOEC）は0.32mg Cl_2/l（4.5 μ mol/l）が得られた。これに対して，NH_2Clでは，0.064mg Cl_2/l以上において生残率と発芽率がともに有意に低下し，生残率と発芽率に対するNH_2Clの4d-LOECはともに0.064mg Cl_2/l（0.9 μ mol/l）が得られた（**図3**）。このことから，NH_2Clは遊離塩素と比較して殻胞子に対する毒性が強いといえる。実際の下水放流水中のNH_2Cl濃度は約0.5～0.7mg Cl_2/l[5]であることが報告されている。これは，本研究で得られたNH_2Clの4d-LOEC（0.064mg Cl_2/l）の約10倍高い値であることから，下水放流水中のNH_2Clが養殖ノリに及ぼす影響が危惧される。

3．2　ClO_2，ClO_2^-およびClO_3^-の毒性

ClO_2添加量と殻胞子の生残率の関係を**図4**に示す。殻胞子の生残率に対するClO_2の影響は極めて低い濃度で現れ，4d-LOECは0.001mg Cl_2/l（0.0056 μ mol/l）が得られた。これに対して，ClO_2^-の生残率に対する4d-LOECは5.3mg Cl_2/l（47.4 μ mol/l）となった（**図5**）。また，ClO_3^-の生残率に対する4d-LOECは0.0012mg Cl_2/l（1200 μ mol/l）が得られた（**図6**）。ClO_2の強い毒性はその強力な酸化力によるものだと考えられる。ClO_2によって下水処理水中の大腸菌群を99.9%不活化した後の残留酸化性物質濃度は約0.8～1.0mg Cl_2/l[6]であることから，ClO_2の使用にあたっては放流水の厳重な濃度管理が必要である。ClO_2^-とClO_3^-はClO_2と比較して酸化力が弱く，モル濃度による4d-LOECとClO_2からの生成量から判断すると，養殖ノリに対する影響は少ないといえる。しかしながら，報告されたバルト海の海藻群落に被害を及ぼすClO_3^-濃度は0.2～1 μ mol/l[2]であることから，長期間暴露による影響については十分な検討が必要である。

4．まとめ

本研究の結果，以下の知見を得た。

1）下水の塩素消毒における主要な毒性物質である遊離塩素とNH_2Clはスサビノリ殻胞子の生残に対して強い毒性を示し，4d-LOECはそれぞれ0.32mg Cl_2/l（4.5 μ mol/l）と0.064mg Cl_2/l（0.9 μ mol/l）が得られた。

2）ClO_2はスサビノリ殻胞子の生残に対して極めて強い毒性を示し，4d-LOECは0.001mg Cl_2/l（0.0056 μ mol/l）が得られた。また，二酸化塩素消毒における主要な残留物質であるClO_2^-とClO_3^-の4d-LOECはそれぞれ5.3mg Cl_2/l（47.4 μ mol/l）と0.0012mg Cl_2/l（1200 μ mol/l）が得られ，ClO_2と比較して毒性は低いことがわかった。

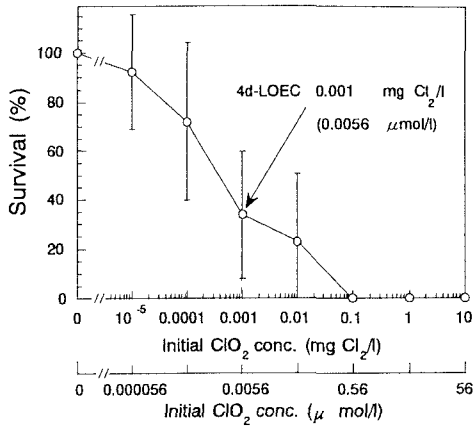

図4　ClO_2添加量と生残率の関係

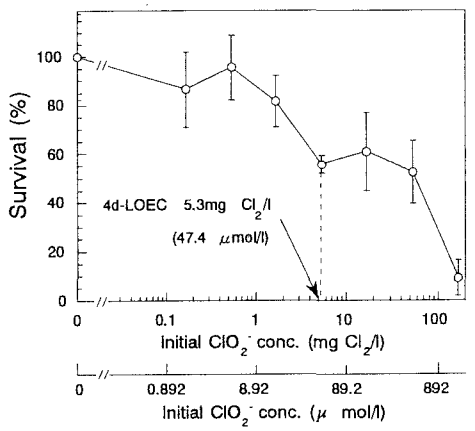

図5　ClO_2^-添加量と生残率の関係

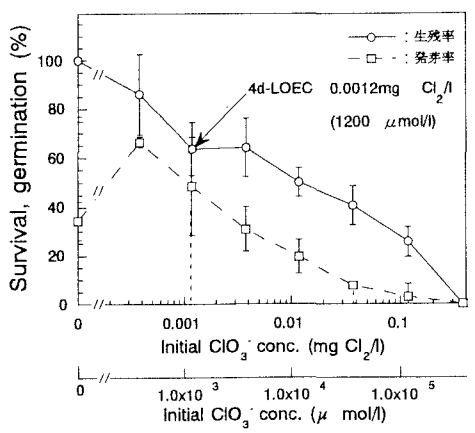

図6　ClO_3^-添加量と生残率および発芽率の関係

参考文献　1）Wolfe, R.L., et al. (1997) *Jornal AWWA*, 76, 74-88. 2）Rosemarin, A. et al. (1994) *Environmental Pollution*, 85, 3-13. 3）Bousher, A. et al. (1989) *Water Research*, 23, 1049-1058. 4）APHA, AWWS and WPCF (1992) Standard Method 18th Ed. 5）鈴木ら（1996）下水道協会誌論文集，33（407），93-103. 6）高見ら（1998）水環境学会誌，21，711-718.