

水生生物の生物応答を用いた坑廃水処理水の短期慢性毒性評価

秋田工業高等専門学校 学生会員 ○佐藤佳記 正会員 金主鉉

1. はじめに

坑廃水とは、地下資源を採掘する現場、或いはその跡地から地表に流出する地下水全般を意味する。廃鉱山からは、今もなお強酸性であり、鉛などの重金属を含んだ坑廃水が出続けているため、一定の処理を施してから受水域に放水する必要がある。坑廃水処理所では、廃鉱山の坑口等から排出される坑廃水を、排水基準に則って適切な処理を行い、受水域へ排水している。表 1 のように、排水基準を遵守することで人の健康及び生活環境は保護できているが、水環境中での水生生物に及ぼす影響が懸念される。

そこで本研究では、受水域へ流入する坑廃水処理水を対象に水生生物の生物応答を用いて短期慢性毒性評価を行ったので報告する。

表 1 排水基準と坑廃水処理水の比較

水質項目 (mg/L)	排水基準	坑廃水処理水
pH	5.8～8.6	7.1
溶解製鉄	10	<0.01
銅	3	0.02
亜鉛	5	0.15
カドミウム	0.08	0.002
鉛	0.1	<0.01
溶解性マンガン	10	0.46
ヒ素	0.1	0.1
浮遊物質 質量 SS	200	<1

2. 調査及び分析方法

採水は、坑廃水処理水が受水域に流れ出る地点において 11 月に行った。水質分析項目として DO、pH、EC は現場で採水した直後に測定した。その後、ろ過処理 (0.45 μm) を行った。

3. 実験方法

本実験ではゼブラフィッシュ、国立環境研究所から

分譲されたムレミカヅキモ (NIES-35)、ニセネコゼミジンコを用い、生物応答を利用して試験を行った。試験方法の詳細は以下の通りである。

3-1 藻類を用いた生長阻害試験

試験は OECD テストガイドライン NO.201 に準拠して行った。供試生物はムレミカヅキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata*) とし、試験水割合は対照区 (0%) 6 連、公比 2 で 3 試験区 (25%、50%、95%) 各 3 連の計 4 試験区とした。pH の調整は行わなかった。試験期間は 3 日間とし、25℃、5000lx 以上の連続照射で培養を行った。生長の評価は、0 日目及び 3 日目のそれぞれの培養液に対して分光光度計により 450nm での吸光度を測定し、あらかじめ用意していた検量線を用いて細胞数に換算した。その後、日本環境毒性学会が提供する解析ソフト Ecotox-Statics Ver.2.6 を用いて解析を行った¹⁾。

3-2 胚・仔魚期の魚類を用いる短期慢性毒性試験

試験は OECD テストガイドライン NO.212 に準拠して行った。供試生物はゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) を用いた。本試験の容器は滅菌済みのペトリ皿 (エコペトリ) を用いた。試験水割合は、対照区 (0%) 6 連、高比 2 で 3 試験区 (25%、50%、100%) 各 3 連の計 4 試験区とした。0% 及び希釈水は、水道水を曝気し脱塩素処理を行った後、硬度調整を行ったものを使用した。受精卵は、試験日前日に産卵床を設置しオスとメスを入れて交配させ、試験日の早朝に採取し希釈水を用いて十分洗浄した。さらに実体顕微鏡下で観察しながら、正常な受精卵のみを選び試験に用いた。ペトリ皿には、受精卵を対照区に 15 個、6 連、対照区以外の各試験区に 15 個、3 連として試験を実施した。pH の調整は行わず、暴露試験の期間は 10 日間として試験を行った。毒性の影響評価については 5 日までの孵化率、5 日以降の仔魚の致死率を用いた。その後、日本環境毒性学会が提供する解析ソフト Ecotox-Statics Ver.2.6 を用いて解析を行った¹⁾。

キーワード：生物応答、短期慢性毒性、坑廃水処理水

連絡先：〒011-8511 秋田県秋田市飯島文京町 1-1 秋田工業高等専門学校 金主鉉 Email : kim@akita-nct.ac.jp

3-3 ミジンコの致死・繁殖試験

試験はOECD テストガイドライン NO. 211 に準拠して行った。供試生物はニセネコゼミジンコ

(*Ceriodaphnia dubia*) を用いた。試験水割合は、対照区 (0%) 10 連、高比 2 で 3 試験区 (25%、50%、100%) 各 10 連の計 4 試験区とした。容量 15 mL のスナップカップ 1 容器当たり 1 匹で暴露試験を行った。pH の調整は行わず暴露期間は 10 日間として試験を行い、産仔数及び親ミジンコの死亡数から毒性の影響評価を行った。その後、日本環境毒性学会が提供する解析ソフト Ecotox-Statics Ver.2.6 を用いて解析を行った¹⁾。

4. 試験結果及び考察

4-1 水質データ

魚類胚・仔魚期短期慢性毒性試験及びミジンコ繁殖阻害試験の各試験水割合の水質分析結果を表 2 に示す。

4-2 試験結果

a) 藻類を用いた生長阻害試験

図 1 に藻類生長阻害試験の各試験水割合における相対成長率を示す。試験水割合 25%、50%、95%において増殖を確認できず、対照区との有意な生長阻害 (**: $p<0.01$) が認められた。

b) 胚・仔魚期の魚類を用いた短期慢性毒性試験

図 2 に魚類胚・仔魚期短期慢性毒性試験の各試験水割合における孵化率及び仔魚致死率を示す。全試験水割合で仔魚の致死率が 0%であったが、試験水割合 50%、100%において孵化率が著しく低下し、対照区との有意な影響 (**: $p<0.01$) が認められた。

c) ミジンコ繁殖阻害試験

図 3 にミジンコ繁殖阻害試験の各試験水割合における産仔数及び致死率を示す。試験水割合 25%、50%、100%において産仔数の減少、試験水割合 100%では致死率の大幅な増加が確認され、対照区との有意な影響

(**: $p<0.01$) が認められた。

5. まとめ

坑廃水処理水を対象に、生物応答を利用して試験を行った結果、藻類繁殖、ミジンコ産仔・致死、魚類孵化への毒性が確認された。排水基準は満たしているが、カドミウム、亜鉛といった重金属イオン等の複合毒性により影響が出たのだと考えられる²⁾。魚類孵化への影響に関しては坑廃水に含まれる重金属イオンが卵膜に蓄積し、卵内部に吸収される収着現象により孵化遅延が起こったのではないかと推測される³⁾。今後の課題としては、坑廃水の受水域での毒性評価、及び毒性が現れるメカニズムの解明をしていく必要がある。

参考文献

- 1) 佐藤美咲他(他：根本峻)：水生生物の生物応答を用いた田沢湖水の短期慢性毒性評価、平成 27 年度土木学会東北支部技術研究発表会、VII-38
- 2) 森田隼平、安田侑右、田村生弥、鏑迫典久、山本裕史：水生生物 3 種に対する短期慢性毒性試験を利用した河川水試料中の毒性原因物質群の特徴化 土木学会論文集 G (環境)、69 巻 7 号 p.401-410
- 3) 中川久機、石尾真弥：メダカ卵の銅、マンガンおよび亜鉛イオン蓄積様式 日本水産学会誌、55 巻 1 号 p.117-121

表 2 各試験水割合の水質分析結果

試験水割合	対照区(0%)	25%	50%	100%
pH	8.2	8.0	7.8	7.2
DO(mg/L)	8.4	8.7	9.1	9.8
EC(mS/m)	28.3	55.3	85.6	134.1

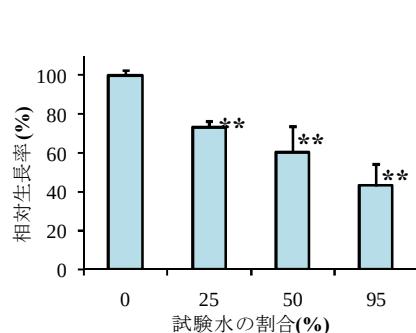


図 1 藻類繁殖阻害試験

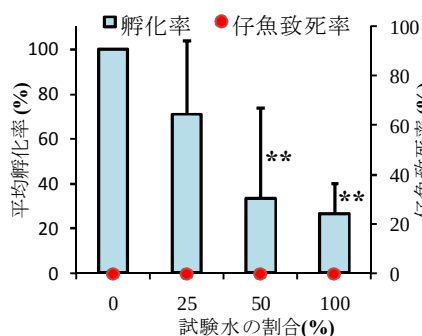


図 2 魚類胚・仔魚期短期慢性毒性試験

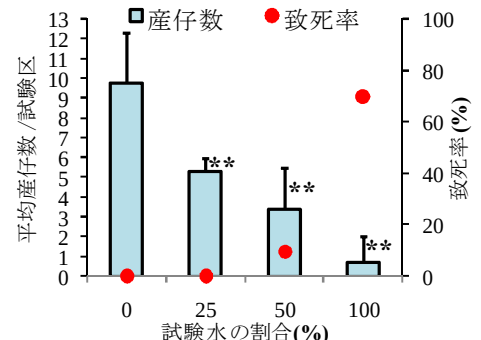


図 3 ミジンコ繁殖阻害試験