

(17) ウニ卵による生物検定

山口大学工学部 ○浮田 正夫

〃 中西 弘

同志社大学理工学部 小林 直正

1. まえがき 我々は公害問題が大きくなりつつあった昭和44年ころより、西瀬戸地区の2,3の臨海コンビナートの水質汚濁防止のための調査研究に係って来た。当初より、重点項目として、赤潮関連のN、Pと有害物質をとりあげ、後者については分析体制の欠如もあって生物検定によるチェックを採用した。⁽¹⁾

またここ3,4年来、工場排水処理を中心とした急速な対策の進展に伴って、かなりの情勢の変化が生じてきており、今後は都市下水との均衡も考えながら、よりきめの細かい対応が要求されている。このような事情から著者らは次の三点に注目して、水質規制の合理化に関する研究を進めつつある。①COD規制とN、P規制の整合性 ②CODの質的評価、潜在的な有害物質あるいは複合汚染のチェック ③経済評価の導入等による公害防止対策の合理化。本稿ではこのうち②に焦点をあてて、過去に行なった工場排水の生物検定の例を中心に紹介し、生物検定の利用について考察を行なった。

2. 検定方法 2-1 酢酸分解菌による検定⁽²⁾

これについては若干の検討をすでに報告しているが、操作の概要は次の通りである。①培地：BOD補強水A～D各10mlと酢酸アンモン10gを蒸留水に溶かして1ℓとする。②植種液：培地10ml、蒸留水10mlをシャーレにとり、これに河川水1mlを接種し30℃2日培養、さらに1回植え継ぎ、O.D. 500nm 1.0程度となったものを蒸留水にて50倍に希めたもの。③培養：10cm径シャーレに培地、適当に蒸留水で希釈した試水各10ml入れ、植種液1mlを加えて30℃培養する。12～15hr、1日、1.5、2、2.5、3.5日後にpHとにがりを観察する。対照として河川水と海水の混合比を適当に変えたものをもっておく。④判定：pH上昇曲線と濁りの状況から原法に従ってICを算定する。1ICは酢酸分解菌群の初期増殖を対照の40%程度に抑える毒性強度である。⑤補足：試水はメンブランフィルターのろ液を用いる方が検定は安定する。滅菌操作は要しない。海水が混入する試水の検定はやや困難である。

2-2 ヒメダカによる簡易毒性検定 300ml容ビーカーに250mlの試水を取り、これに半海水で約1週間馴養したヒメダカ4匹を入れ、経時的に致死状況を観察する。死魚はそのつど除く。対照として河川水、海水の混合比を変えたものをもっておく。毒性は半数致死時間で比較した。

2-3 ウニ卵による検定法⁽³⁾ ①ウニの種類と発生条件などを表1にまとめた。②採集：大潮前後の干潮時に水中にもぐって採集するか、バフン、サンショウウニは底びき網や建網にひっかかるものを漁師に頼んで入手する。(20匹程度)海水中に入れたりしてはならず、海藻にくるんでクレーンに入れて持ち帰る。③採卵および採精：Ⅰウニをまず水道水にサッとつけ、ピンセットで腹部の口を取り除く。Ⅱ中の液を出して、海水を満たしたコニカルビーカーに口を上にしておき、口から M_2 KClをそそぐ。この刺激で卵または精子を放出する。Ⅲ精子の場合は白く連続的にでてくるので、すぐKClを除き、精のうをピンセットで取り出し、時計皿にとっておく。Ⅳ卵の場合は黄色く不連続に出てくるが、底にふりつもらせ、傾斜して海水で数回洗い、三個の卵サスペンションを得る。④検水の調製：5倍濃度の人工海水(ジャマリン)をつくる。50mlメスシリンダーに検水約40mlとり比重を測定したのち、対照海水の比重に合うように人工海水を加える。(この操作で淡水から海水にわたる工場排水の塩分を調整する。)これを3個のフィンガーボールに分注する。⑤受精：Ⅰフ

表1 ウニの種類と発生条件

	大きさ	生殖時期	生育環境	卵直径	室温適温	第一卵割	遊泳胞胚	のう胚
フィンガーボールに3種の卵サスペンションを底だまりからとり、2滴ずつ加える。Ⅱ別に	バフンウニ	小 1～3月	岩石下面	0.09 mm	15℃	60分	12h	24hr
	ムラサキウニ	中 5～9	岩礁	0.09	28	25	6	12
	サンショウウニ	小 7～9	内湾砂地	0.09	28	25	5	10
	アカウニ	大 11～12	岩礁	0.10	22	50	10	19

とっておいた雄の精のうをピンセットでとり、少量の海水で振り洗いをして精子のサスペンションを得る。
iii これを先のフィンガーボールに 3.4 滴ずつ加えたのち、すぐ軽く攪乱させてやる。時計皿でふたをして室温で放置する。⑥固定と検鏡：i 第 1 卵割終了時ホルマリン 1 滴ずつと海水約 1 ml ずつを小試験管にとっておき、フィンガーボールの底から、駒込ビペットでまわしながら 0.5 ml 程度吸い上げ、固定液の入った小試験管に入れる。ii 検鏡は固定液の底から細いビペットで卵を吸い上げスライドグラス上に 3 mm 程の中に長くのせ、未受精卵、受精卵、二細胞卵の三種を計数する。通常合計で 200 個を数える。iii のう胚形成終了時) 胞胚期以降になると泳いでくるので、まず対照につき、上の水のにごりを確認する。次いで、一応全試料のにごりの度を記録しておく。下の沈んでいる卵は吸い上げないように表面から壁にそってまわしながら 1 ml 程度を吸い上げ、用意した固定液(この場合はホルマリン 2.3 滴のみ)の入った小試験管に入れる。iv 検鏡は先きと同様であるが、胞胚どまり、正常のう胚、外腸胚の三種を計数する。

3. 検定結果と考察 3-1 酢酸分解菌による検定

表 2-1 に T, S 地区の IC 検定の結果をまとめた。両地区とも第 1 回目の調査ではかなり多くの排水が若干の毒性を示したが、その後急速に一次的な対策がとられ、2 年近く後の昭和 46 年末では少数の排水口が軽微な毒性を示す程度となった。排水口 (1,000 m³ 1 日 ~ 50 万 m³/日程度) の段階では、冷却水によって大きな希釈を受けているのが一般であり、すでに十分な感度で検出することはできなくなったわけである。T, S 地区ではコンビナートの性格上、冷却海水にインヒビターとして添加されたり、工程で用いられた Cl₂ の影響が最も大きいものと考えられた。表 2-2 は U 地区の対策前時代のデータであるが、pH による毒性を示すものが多かった。

いずれにしても製造工程からのモレやロスを少なくする努力や、排水系統の整備など一次的な対策がなされた段階では IC 検定は総合排水の毒性チェックには不十分なものとなった。

3-2 ヒメダカ半数致死時間 U, T, S 地区の検定結果のうち、毒性を示した排水のみを表 3-1, 2 にまとめた。ヒメダカには主として pH, フェノール, アンモニアなどが毒性の原因となっているようで、U 地区では有効なチェックの役割を果たすことができた。一方 Cl₂ や COD 成分にはあまり敏感でなく、T, S 地区ではこの検定にかかるものはほとんどなかった。しかし U 地区でも、その後 pH, フェノールの対策が進んだ段階では、この検定法はあまり有効ではないと考えられる。(表 3-1 の E 工場の例でわかるように、中性~酸性では高濃度な NH₄-N もほとんど毒性を示さない。)

3-3 ウ=卵による検定 ① T, S 地区工場排水の検定結果 工場排水の検定は S 49.3, 49.8, 50.8 の計 3 回行なった。ウ=卵による検定を、小林は瀬戸内海の海水の有害度を調べる目的に使用して成果を得ている。その 5 段階の有害度基準 I⁽³⁾

表 2-1 T, S 地区工場排水の IC 検定結果

地区	工場	業種	排水口	S 44. 12			S 46. 11 ~ 12		
				IC	COD _{al}	その他	IC	COD _{al}	その他
T	B	テトロン 石油化学	B 2	2	26		0	13	
			B 4	0			0		
			K 1	1	135		0	27	
			K 2	0	24		0		
			O 2	0			0		
	D	石油精製	O 3	0			0		
				5	95		3	45	
				0	33		2	27	
				5	42		0	14	
				2	64		0	8.6	
	E	合成ゴム 塩ビ T D I・ 有機薬品 ソーダ 総合化学	P 2	0			0		
			P 3	0			0 ~ 1		Cl ₂
			S 6	1 ~ 2		Cl ₂	0		
			S 9	40		Cl ₂	0		
			S 10	0			4		Cl ₂
	H		C	0			0		
			(E 1)	30	82	pH	20	9.6	
			E 2	5	13	pH			
S	A	ソーダ 総合化学	E	15		Cl ₂	3		Cl ₂
			W	6		Cl ₂	3		Cl ₂
			(P E)	12		Cr ⁶⁺ 6.9	0 ~ 1		
			1	0	21		0		
			E A	2	1.8	Cr ⁶⁺ 27	0 ~ 4		Cr ⁶⁺ 0.3
	C	E D C E A ステンレス	E 1	4		F, Cr	0		
			W 1				2		
							2		
							0		
							0		
G	酢酸 ポリウレ タン		N				0		7.0
			S				0		
				2	40		0		9.0
							0		

S 地区の 1 回目は S 45.3
() はプロセス排水。以降の表についても同じ。

表 2-2 U 地区工場排水の IC 検定結果

地区	工場	業種	排水口	IC	S 45. 11		
					pH	備	考
U	A	肥料・医薬	1	0	8.0		
			2	2	8.4		
	B	マグネシア	1	2 ~ 4	9.9	pH	
			2	8	10.4	pH	
	C	無機顔料	1	4	2.6	pH	
			2	20	5.0	pH, Fe, NH ₄ ⁺	
	D	繊維原料	1	50	6.1	COD	
			2	20	1.9	pH COD	
	E	肥料 化学	1	1	5.6		
			2	50	2.5	pH, F, NH ₄ ⁺	

に従って3回の検定結果を表4にまとめた。全排水口114のうち過半数が最も有害度の高い5にランクされてしまう。上述の基準は半数致死濃度以上のものをすべて、ランク5にまとめているが、工場排水用としてはそれをさらに分割して表5に示すような段階表示を用いた。この方法で、三回の調査結果についてまとめたのが表6である。三回と

表3-1 U地区工場排水のヒメダカ簡易検定結果

地区	工場	業種	排水口	S 46.6 & 12					排水口	S 47.6 & 7				
				半数致死時間(分)	28/38 pH	検体 72hr < NH ₄ -N	F	その他		半数致死時間(分)	23/30 pH	検体は 96hr < CODa	NH ₄ -N	フェノール
U	B	マグネシア無機顔料(×10)	S	180	10.8	mg/l	mg/l							
			3	5	9.5	2,700			1	10	8.1		325	
			3'	38										
	D	合纖原料	3	65			フェノール 4.5	3	45	7.2	103	28	25	
			5	72 hr <			フェノール 0.4	4	1,020	6.8	52	59	0.2	
	E	肥料・化学	3	20	10.1	167	800	3	140	7.9				
			3'	72 hr <	4.3	113								
			4	38	2.4	12	25	U-I	7	2.0	33	90		
			4'	72 hr <	7.3	2.5	10							
			5	23	2.2	6.2	42							
			5'	72 hr <	3.9	6.2	38							
	F	ソーダ	O	65	8.9	90	30	O	18	9.6		17		
	G	化成肥料	E	25	1.8			E	3	2.0				
	H	合成樹脂		7	7.7				50	8.4	172		31	

もウニの種類が異なっており、二回目の調査では比較的敏感と思われるムラサキウニを用いたこと、その第2ラウンドの検定時の精子がやや過敏であったこと、ちょうど農業の散布時期にあたり、原水がすでに悪かった可能性があったことなど要因が重なって、若干数値がきびしく出ているようである。しかしながら、3回にわたって各排水の一応の傾向は把めるようであり、I Cやヒメダカではほとんど差がでないものが、ウニ卵ではまずまず納得のできる差が得られ、本法の感度が優れたものであることが確認できた。②モノアラガイ卵による測定結果との対比 参考のために第一回と第二回の調査時に淡水試料のみについて、小林が行なったモノアラガイ卵による検定結果を表7に示した。この操作方法については別報を参照されたい。供試生物の違いによって毒物に対する感受性の違いがあるので、両者の傾向は異って当然であるが、大方の傾向はS49.3. 49.8とも似寄っている。

③原因物質の検討 水質分析値と検定結果の対応は十分ではないが、1回目、2回目については表6の水質欄に、3回目については重金属等を中心に水質分析した結果との対応を表8に示した。

(2),(5),(6),(7)

1 本法の感度 ここでまず文献から本法の感度を他の検定法のそれと比較して表9にまとめた。ウニ卵はHg, Cu, Znなどに対してとくに感度がよい。全般にモノアラガイの感度がもっとも良好でウニ卵の感度よりさらに優れているわけであるが、表7の比較でみると両者の差はそれほど大きくはない。このことは注目に値することである。実際の有害作用の発現は種々の物質の複合作用によるものと思われる。(小林はZnとCuの共存は毒性の相乗効果があることを報告している。〔8〕)

表3-2 T, S地区工場排水のヒメダカ簡易検定結果

T 地区			S 47.4 ~ 7				
工場	業種	排水口	半数致死時間(分)	19/22 pH	検体は 96hr < CODa	NH ₄ -N	
A	パラフィン		1,440	8.2		2.8	
C	石油化学	B 2	2,580	8.1		2.8	
D	石油精製	O 2	1,020	7.2		7.1	
H	ソーダ・化学	(E 1)	3	11.5		22	
S 地区			S 47.8 ~ 9				
工場	業種	排水口	半数致死時間(分)	17/20 pH	検体は 96hr < BOD	NH ₄ -N	
C	石油化学	K 1	2	6.6	130	1.3	
	× 5		25				
	× 10		160				
	× 20		1,050				
E	合成ゴム		5,470	7.1	15	0.03	
H	ソーダ・化学	S 6	108	8.3		78	
		(E 1)	13	11.7		60	
S 地区			S 47.8 ~ 9				
工場	業種	排水口	半数致死時間(分)	17/18 pH	検体は 96hr < CODa	NH ₄ -N	
O	し尿処理		30	8.2	73	245	

表4 T, S地区工場排水のウニ卵による検定結果 (5段階表示)

ランク	S 49.3		S 49.8		S 50.8	
	n	%	n	%	n	%
5	22	56	32	82	16	41
4	2	5	3	8	3	8
3	8	21	0	0	8	21
2	1	3	1	2	6	15
1	6	15	3	8	6	15
計	39	100	39	100	36	100

表5 判定段階の上づみ (9段階表示)

ランク	I 受精膜形成%			II 二細胞(正常)%			III のう胚(正常)%		
	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
9	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
8	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
7	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
6	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
5	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
4	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
3	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
2	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~
1	0 ~	10 ~	20 ~	30 ~	40 ~	50 ~	60 ~	70 ~	80 ~

表 6 T, S 地区工場排水のウニ卵による検定結果

地区	工場	業 種	排水口	S 49.3			白浜パフン		S 49.8			秋穂ムラサキ		S 50.8			丸尾サンショウ		備 考
				I	II	III	BOD	NH ₄ -N	I	II	III	COD _{al}	NH ₄ -N	I	II	III			
T	Cont				1	1	1			1	1	1			1	1	1		
	A	パラフィン		1	1	1			2	2	9	1.8	0.2	2	3	2			
	B	テトロン		4	4	9	27		5	5	5	3.8	0.1	1	1	1		S 49.7 廃液燃焼	
	C	石油化学	B1	1	2	1			1	1	1	3.0	0.1	3	4	2			
			B2	4	5	1			3	3	1	2.1	0.1	4	5	2			
			B3						1	1	1	3.9	0.1	2	3	3			
	D	石油精製	K2	1	1	1			1	1	1	1.3	0.1	4	4	4			
			O2						6	6↓	—	1.1	0.1	1	1	2			
			O3	2	1	1			9	9↓	—	2.1	0.4	1	1	1			
	E	合成ゴム		9	9	—	23		9	9	—	17	0.1	5	5	9		S 50.6 活性汚泥	
	F	塩ビ		7	7	—	8.3		9	9	—	0.6	0.1	5	5	9			
	G	有機薬品	1	6	6	2		7.3		9	9↓	—	1.7	0.0	3	3	2		
			2	2	3	1		5.3											
	H	ソーダ	P2	1	1	9		5.2		5	9	—	1.2	5.2	1	1	1		
	総合化学	P3	1	1	1				1	1	1	1.9	0.4	1	2	1			
S			S6	1	1	4			2	3	8	0.6	8.4	2	2	9		外腸胚 8.5%	
			S9	2	2	1			7	8	—	7.8	1.5	4	5	2		S 49.7 活性汚泥	
			E3	9	9	—	17.7		9	9	—	1.1	14.6	5	6	9			
	I	クロム塩		3	3	1			9	9	—	0.2	0.7	6	7	9			
	J	下水処理		4	5	—	18.4		9	9	—			1	1	2			
	A	ソーダ	E	5	5	9			4	4	1	1.3	1.9	1	1	1		外腸胚 2.5%	
	B	総合化学	W	1	1	1	2.0	0.1	1	2	2	3.3*	0.8	1	1	1		*Cl ₂ 0.49mg/l	
	C	リンカル		1	1	1			5	5	—	0.5	0.1	3	3	2			
	D	EDC, EEA		6	6	—			7	7	—	4.0*	7.4	5	9	—		*Cl ₂ 0.81mg/l	
	E	ホワイトカーボン		9	9	—			9	9	—	6.4*	2.5	7	7	9		*pH 9.2	
		ステンレス	E	3	3	9	0.8	0.7	5	5↑	—	0.8	0.6	2	2	2			
			W	4	6	9	1.2	0.8	5	6↑	—	1.2	0.3	2	2	2			
	F	酢酸, ブタノール	N	1	1	9			9	9	—	21	0.1	2	2	3			
	G	ウレタン樹脂	S	1	1	9			5	6	—	4.1	0.8	3	4	2		外腸胚 1%	
				1	1	9			7	8	—	3.5	3.8	1	1	1			
H	PVC		1	1	9			7	7	9	3.5	0.1	6	9	—				
I	PVC		7	7	9			6	7	—	2.8	1.5	5	6	—				
J	ステンレス原料		7	8	9	0.2	1.1	8	8↑	—	1.3*	0.7					*Cl ₂ 0.46mg/l		
K	有機化学		2	2	2	6.3	0.3	9	9	—	2.5	4.6	5	6	—				
L	運動靴	3	1	1	3	2.9	0.6	8	8	—	1.7	0.4	6	7	—				
		4	3	3	7	0.2	0.8	5	5	1	0.8	0.4	9	9	—				
M	製ビン	A	2	2	3			7	8	—	5.2	0.0	2	1	1				
N	セメント	E	1	1	1			7	7	—		0.1	2	2	3				
		W	1	1	1	2.0	0.1	4	7	—		0.2	1	1	1				
O	し尿処理		9	9	—	13	207						4	8	—				

I 受精卵 II 二細胞 III のう胚 ↓ T地区中第2ラウンドの検定 ↑ S地区中第1ラウンドの検定
(第2ラウンドのウニ卵は過敏)

ii Cl₂, NH₄-N の毒性 次に実際の試料では Cl₂ や NH₄-N によって, 他の潜在的な有害物質の検出を妨害される可能性があるため, 検討した。図 1 に示すように Cl₂ は 0.1 ppm ですでに影響が出はじめ, 2 細胞期の正常率 50 % は 0.45 ppm に対応する。IC が 0.03 ~ 0.05 ppm 程度であるのと比べると緩やかであるとはいえ, T, S 地区では要因の一つとして無視できない。

また NH₄-N は 5 ppm 程度で影響が出はじめ, のう胚期の正常率 50 % には 7 ppm がほぼ対応する。Cl₂ は発生の初期で毒性が強いに対して, NH₄-N は発生の後期で毒性が強いのが特徴である。

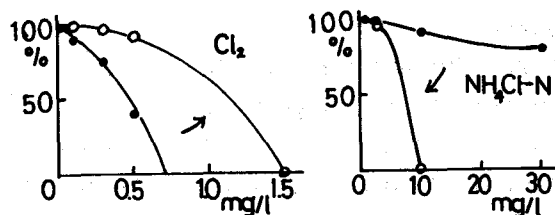
iii 分析値との対応 これらのことを念頭において表 8 のデータを見ていく。表中の水質分析値は毒性の要因として可能性のあるもののみを記入した。重金属等有害物質の濃度はほとんど単独で問題となるものではない。一応毒性の主な因子と考えられる値のところに * をつけてみた。COD* の内容など, 調査後工場技術者との間で若干の検討を行なったがそれ以降のつめは十分ではない。T-H-E3, S-O の NH₄-N, T-C-B2, S-A-W の Cl₂, S-L-4 の Zn などが単独で有害レベル越える濃度である。他はすべて, 先述したごとく種々の物質の複合作用による有害性の発現であろう。

iv 高濃度排水の検定例 表 10 は S 50.8 の調査時に高毒性を示した試料 (一つのプロセス排水を含む) を希釈段階を変えて検定した結果である。手間はかかるが, このように希釈段階を変えて検定すれば, 高濃度試料については IC のように毒性の定量的な表現も可能であろう。

3-4 ウニ卵検定を用いた海域環境のモニタリング ① 予備的実験 宇部沿岸と徳山湾の底泥につき, 湿泥を約 100 倍の海水で振とうし NO5B あるいは 5C のろ紙によるろ液について常法どおり, ウニ卵による検定を行なった。採泥点を図 2 に示す。結果は表 11-1, 2 に示した通りであり, それぞれ泥の汚さをよく表

表7 モノアラガイ卵によるT, S地区工場排水の検定
とウニ卵検定の対比

地区	工場	排水口	モノアラガイ 正常率%				ウニ 卵			備考
			6hr	1日	3日	5日	(表6参照)			
			8cellsのう	胚	被面子	仔貝	I	II	III	
cont			100	100	100	99	1	1	1	
T	F	1	"	98	0	0	7	7	—	S 49.3.25
			"	0	0	0	6	6	2	採水
			"	100	100	89	2	3	1	3.26 ~ 4.5
			"	"	98	96	3	3	1	検定
			"	0	0	0	4	5	—	28℃
			"	100	98	96	1	1	1	2連の平均値
			"	"	0	0	6	6	—	
			"	"	0	0	3	3	9	
			"	"	0	0	4	6	9	
			91	91	0	0	1	1	9	
			100	100	100	100	1	1	9	
			"	99	81	77	7	7	9	
			"	100	95	77	7	8	9	
			"	"	100	81	2	2	2	
			87	65	0	0	1	1	3	
			98	98	98	89	1	1	1	
			100	0	0	0	9	9	—	
S	F	E W	98	98	64	56	9	9	—*	S 49.8.20
			100	100	46	0	9	9	—	採水
			"	"	78	70	9	9	—	8.26 ~ 9.9
			"	"	0	0	9	9	—*	検定
			"	"	93	79	5	5	—*	
			96	96	84	49	7	7	—	*はウニ卵
			94	93	65	49	5	5	—	過敏データ
			99	94	67	49	5	6	—*	
			99	96	66	49	9	9	—*	
			100	99	71	67	7	7	9	
			"	100	73	67	8	8	—*	
			99	91	80	65	9	9	—*	
			98	87	62	50	8	8	—*	
			100	99	62	49	5	5	1*	
			"	100	99	69	7	7	—*	
			40	0	0	0	7	8	—	海水 10%
			T	C	(A T) (A C) E (SBR)×5 (B R) A (E)× 5	84	81	6	6	9
100	100	47				42	9	9	—	10 < 8.9
50	0	0				0	2	9	—	12 3.2
94	90	77				0	9	9	—	10 } ウニ卵は
54	50	43				43	5	5	—	88 } 無希釈検 定



●, ○ はそれぞれ 2 細胞期, のう胚期の正常率

図1 ウニ卵発生へのCl₂, NH₄-Nの影響

現しているように思える。また5Bのろ液の方が微細な粒子やコロイド状のものが通過するためか、5Cのろ液よりも結果がきびしく出た。表中正常のう胚率の()の値は遊泳している個体の密度が極めて少ないものであり、この段階では単に相対的な正常率と異常率で毒性を表現できず検討の余地がある。表11-2では外腸胚の発生がきわめて高率であることが注目される。

②徳山湾におけるモニタリング 徳山湾の6定点の表層水、底層水、底泥振とう水につき毎年夏8月と冬3月の2回ウニ卵の検定によるモニタリングを継続中である。底泥はエックマンバジで採泥後、形を崩さぬようにバットにあげ、表層5cmをアクリルパイプにとり、冷蔵して持ち帰り、これを均一に混合したものを

表8 水質項目との対応 (S 50.8)

地区	工場	排水口	ウニ卵段階 I II III	水質項目 CODal Cl ₂ 重金属等		
T	A	B 1 B 2 B 4 K 2 O 2 O 3	2 3 2	4.5		
			1 1 1	2.7		
			3 4 2	2.0	0.04	Ni 0.03
			4 5 2	0.8	0.06	
			2 3 3	0.9	0.04	
			4 4 4	1.3	0.02	
			1 1 2	1.0	0.03	
			1 1 1	1.6		
			5 5 9	2.2	0.02	Fe 0.67
			5 5 9	1.0		Zn 0.07
			3 3 2	6.4		Zn 0.07
			1 1 1	1.7	0.03	
			1 2 1		0.02	Cu 0.011
			2 2 9	0.8		
			4 5 2	6.2	0.04	Fe 0.06 CN 0.04
			5 6 9	5.1		Ni 0.03 NH ₄ -N 10.2
S	A	E W E W N S H I K L A E W Oし尿処理	6 6 3	2.8		Cu 0.021
			2 3 2	1.7		
			6 7 9	2.5		Tcr 0.07
			1 1 2	4.0	0.04	
			1 1 1	1.9	0.04	
			1 1 1	2.2	0.20	
			3 3 2	1.4		Fe 0.8
			5 9 —	6.5		外腸胚 2.5% Zn 0.06
			7 7 9	15		Fe 0.8 Cu 0.08
			2 2 2			F 1.3 Cu 0.02 Fe 0.8
						Ni 0.04
			2 2 2			F 2.1 Cu 0.01 Zn 0.09
						Ni 0.05
			2 2 3	14		Cu 0.06
			3 4 2	5.5		外腸胚 1.0%
			1 1 1	5.2		Fe 0.6 Ni 0.03
原	海	T-B, C T-D T-H T-C T-D T-H T-C T-D T-H T-C T-D T-H T-C T-D T-H	6 9 —	2.7		
			5 6 —	6.8		Fe 0.7
			5 6 —	1.7		
			6 7 —	2.6		Cu 0.02 Fe 0.6
			9 9 —	2.0		Zn 0.31 Fe 0.6
			2 1 1	12		Cu 0.02 Zn 0.06 Fe 0.6
			2 2 3	1.3		Cu 0.01 Zn 0.07 Fe 0.7
			1 1 1	1.4		Fe 1.2
			4 8 —	16		NH ₄ -N 91.8 Zn 0.07
			1 1 2			CN 0.02
			3 3 2			Cu 0.018
			4 4 4			
			4 5 4			Fe 0.82
			5 5 9			Fe 0.76
			3 3 2			Cu 0.02
			2 2 1			
水	河	市川	1 1 2			Fe 0.6
			1 2 3			外腸胚 15% Zn 0.08

記載なきものはHg 0.5 ppb, CN 0.01 ppm, Cr⁶⁺ 0.01, Cd 0.01, Pb 0.1, Cu 0.01, Fe 0.5, Ni 0.02, Zn 0.05, TCr 0.05 ppm以下
Cl₂ はオルトトリジン発色物質である。

表 9 生物検定法の感度

	酢酸分解菌1 IC濃度	ヒメダカ T _{Lm} 24 hr	ムラサキウニ2細胞 正常率 50%	バフソウニ受精率50%	モノアラガイ3日後 被面子正常 50%
Hg ℓ_2 - Hg	0.15	0.74	0.05	0.01	0.008
CuSO ₄ - Cu	2.0		0.12	0.06	0.09
ZnSO ₄ - Zn	8.1	18	0.24	2.0	0.08
NiCl ₂ - Ni	3.8*		3.0		
CdCl ₂ - Cd	9.2		3.6	5.0	0.09
Pb(Ac) ₂ - Pb	7.8*		2.9		0.23
KCN - CN	2.0	0.43*	0.40		0.16
NH ₄ Cl - N		76*	11		0.80
HCHO			2.0		0.70
C ₆ H ₅ OH	400	25	70		8.0
ABS	20	56	38		1.4
出典	(2)	(5)	(6)	(7)	(4)

*Ni 硫酸塩

*Pb 硝酸塩

*CN pH 7.0

*N pH 8.0

表 10 高濃度排水の希釈検水の検定 (S50.8)
丸尾サンショウウニ

排水	希釈 倍数	I %	II %	COD _{al} 等 mg/l
S-(A) クロロプレナム	1 3 10 30 100	40 86 98 98 99	0 81 98 98 100	COD 700?
S-C EDC EA	1 3 10	42 85 100	0 78 100	COD 6.5
S-D ホワイトカーボン	1 3 10 30	30 60 96 100	25 57 95 100	COD 15 NH ₄ -N 1 微細粒子?
S-H PVC	1 3 10	35 90 99	0 85 100	COD 2.7
S-L ゴム靴	1 3 10	0 43 85	0 35 86	COD 2.6 Zn 0.18 ?
S-O し尿処理場	1 3 10 30	57 82 93 100	18 77 92 100	NH ₄ -N 92

対照を100とした正常個体率 (%)

I 受精膜

II 2細胞

III のう胚

表 11-1 底泥振とう水のウニ卵検定
(S50.8 丸尾サンショウウニ)

地 区	地 点	紙 5B C	希 釈 倍 数	振とう水 NH ₄ -N mg/l	底 泥 IOD Cu* Zn* Pb* μg/g 乾泥	ウニ卵正常率 II % III %	外腸胚
U	1	C	1 10	0.67 10	370 26 290 120	44 97 73 99	3% 2%
	2	C	1	0.63	240 15 280 32	75 99	
	3	C	1	0.66	180	31 0	
	4	C	1 10	0.70 10	780 160 530 10	24 97 53 99	
		B	1			6 0	
	5	C	1 10	2.69 10	760 60 4,000 10	13 77 34 83	
		B	1			2 0	
T	1	C	1 10	NH ₄ -N mg/l 0.91 10	IOD Hg Cr μg/g 乾泥 420 2.4 48	23 0 29 (99)	発生数極少
	2	C	1	0.61	180 2.4 43	21 (89)	"
	5	C	1 10	0.77 10	670 4.5 69	15 0 54 98	
	6	C	1 10	0.68 10	420 6.4 65	24 (97) 50 99	発生数極少
		B	1 10			8 0 34 94	
	7	C	1 10	0.79 10	220 2.2 72	19 (98) 97 100	2% 発生数少

湿泥 3g を 300ml の海水と振とう。(振とう機 15 分) ろ過後供試。

II : 2細胞 III のう胚 対照を100とした。

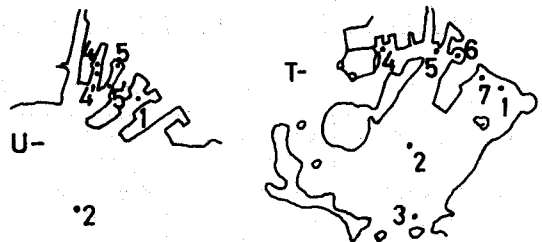
U 泥の Cu, Zn, Pb は S46 年の分析値

表 11-2 底泥振とう水のウニ卵検定

地 区	地 点	紙 5B C	希 釈 倍 数	底 泥 As TN TP μg/g 乾泥	ウニ卵検定 II % III % 外腸胚	発生 数
U	4'	C	1 10	86 1,650 1,340	77 (21) 70 100 100 0.7	少
	5'	C	1 10	220 1,810 2,580	73 (78) 15 99 100 0.7	極少
	5	C	1 10	270 1,770 2,050	70 0 14 94 100 1.1	極少

湿泥 4g を 300 ml の海水と手で短時間振とう。

NO5C ろ過のろ液を供試。対照を100とした。



3.

1 ~ 3	S50.8
4, 5	S48.1
4', 5'	S49.8

1 ~ 6	モニタリング定点
1, 2, 5	S 50.2
6, 7	

図 2 採 泥 点

用いた。検定は当日行ない、300 mlの広口ポリビンに
湿泥3～4gをとり、海水を満たして手でしばらく振
とう、30分～1h放置後、上澄をNO5Bのろ液を得
る。S51年3月より4回の調査結果を表12にまとめ
た。表示は原法通り5段階法によった。全体に水銀汚
染泥の浚泄も行なわれたこともあって、若干改善気味
のようにみえるが、これだけの調査では不十分である。
海水では概ね表層より底層がわるく、ことにS52.8
のデータでは顕著であり、1～5までは9段階法で
も最悪のランクに入っている。（調査時クラゲの異常
発生があり、採泥器のロープがぬるぬるした。COD、
N、Pなどは平静とあまり変らないが、pHとDOがや
や低めであった。）S51.3の（ ）の値は白浜バフン
ウニでの再検定の結果であり、両者の差はほとんどな
いが、白浜のウニでは多精がやや多かったのが目立つ。

当然のことながらウニの種類のみならず、産地によっても微妙に感度が異なるものと考えられる。もう少し
継続してみる必要はあると思われるが、こういう形でのモニタリングは測定頻度、使用するウニの安定性
などの点で本来の目的を果たすことはかなり困難であると予想される。振とう水は100倍の海水で調製した
が、場合によってはもう少し倍数を小さくする方がいいかもしれない。

③化学分析値との対応 表13はS51.3の検定の結果と重金属等の分析値とともにまとめたものである。二
細胞、のう胚の正常率は対照を100として補正してある。毒性の要因としてはNH₄-N、硫化物、種々の有害
性物質を含んだコロイドあるいは微細粒子などが考えられる。表では直接の試料であるろ液の分析はNH₄-N
しかデータがないので、解釈がしにくい、やはりこれも複合的な原因を考えるべきであろう。S52.8は
底泥のIOD（瞬間酸素消費量）がやや小さめである他、重金属レベルなどはあまり、S51.3と変らない。

表 12 徳山湾海域のウニ卵検定によるモニタリング

地 点	試 料	S 51.3 バフン 丸尾 白浜	S 51.8 サンシヨ 丸 尾	S 52.3 バフン 丸 尾	S 52.8 サンシヨ 床 波	備 考
1	表層水 底層水 振とう水	4 (5)* 5 (4) 5	3 3 3	2 5 2	3 5 1	*多精 (20%)
2	表層水 底層水 振とう水	3 (3) 2 (2) 3	2 2 2	1 1 1	3 5 2	
3	表層水 底層水 振とう水	3 3 3	1 1 1	1 4 2	2 5 1	
4	表層水 底層水 振とう水	4 (5)* 5 (5)* 5	2 2 5	2 5 5	2 5 1	*多精 (7.2%) (2.2%)
5	表層水 底層水 振とう水	3 3 5	1 1 3	2 3 2	1 5 2	
6	表層水 底層水 振とう水	3 4 3	1 2 4	2 5 3	2 2 1	

表 13 底泥振とう水のウニ卵検定と泥質の対応 (S51.3 丸尾バフンウニ)

地点	300 ml 中湿流量 g	乾 泥 率 %	振とう水 NH ₄ -N mg/l	泥 質 49/g乾泥								ウ ニ 卵 検 定					
												NO5Bろ液			NO5Cろ液		
				IOD	Hg	Zn	Cn	Pb	Ni	Cd		Ⅱ	Ⅲ	ランク	Ⅱ	Ⅲ	ランク
1	3.4	2.7	0.56	550	1.9	240	83	36	32	1.5	53	91	5		61	100	4
2	3.2	3.3	0.50	270	1.8	160	52	32	34	1.0	78	92	3		72	99	3
3	3.8	3.5	0.36	180	1.1	130	40	23	27	0.8	77	99	3		81	95	2
4	2.8	3.7	0.47	430	8.1	190	70	39	37	1.7	43	93	5		49	88	5
5	3.1	6.8	0.57	120	2.5	110	45	23	46	1.0	47	98	5		78	84	3
6	3.8	4.2	0.44	300	5.8	310	115	67	31	1.6	86	93	3		77	91	3

表 14 生物検定法の特徴の比較

検 定 法	感度	良 好		材 料 の 入 手 ・ 操 作 ・ そ の 他			
		良 好	不 良				
酢酸分解菌による検定	小	Cl ₂	COD 重金属 NH ₃	容 易		簡 便 海水にやや不向	
ヒメダカによる簡易検定	中	pH フェノール NH ₃	COD 重金属 Cl ₂	買えばコスト高、季節的に入手難 飼育やや手間がいる		非常に簡便 海水・淡水どちらも可	
ウニ卵による検定	大	重金属 COD		ルートをみつければ割に簡単 季節的、地域的制約あり		やや熟練を要する 海水・淡水どちらも可	
モノアラガイ卵による検定	大			飼育に専門的知識が要る		熟練を要する 海水不可	

にもかかわらず、ほとんど毒性は軽微でやや理解に苦しむデータとなっている。

4. まとめ ①酢酸分解菌、ヒメダカ、ウニ卵、モノアラガイ卵を用いた検定はそれぞれ表14にまとめたような特徴があるが、現在の総合排水口のレベルでは鋭敏な後2者の感度が要求される。とくにウニ卵検定は操作もそう繁雑でないので今後の普及が期待される。

また、海域水質泥質の一つの評価方法としても利用できることが確認された。

②ウニ卵検定の問題点として色々な技術的な点も指摘しうが、^[8]重要な2,3の点を挙げると、i) 化学分析値との対応において、単独で毒性の原因となるものを特定できないものがほとんどであり、種々の要因の複合によるものが一般的であった。このことは生物検定の長所であり裏返せば短所であるともいえ、これらのデータから具体的な対策をひき出すには、もっと他の努力、プロセス廃水の検定、製造プロセスの検討なども必要となってくる。これについてつめが不十分であるが、工場関係者も「可能性の考えられるものについて充分注意を払っていく」ということで一応の成果は得られたものと思われる。

ii) 次に混みいった問題であるが、重要なことは、ウニ卵の発生が阻害される原因が単にいわゆる毒性物質による汚染の他に、栄養レベル（実際にはDO、NH₄-N、硫化物など、それらの複合作用）を考えなければならぬのではないかという点である。この問題は生態学的にも興味あることなので今後明らかにされていくことが望まれる。

iii) その辺りの検討ができたとして、工場排水、その周辺の環境水の水質をどの程度にまでもっていくべきかという問題は環境基準の設定のし方と同じく非常に難解である。

③生物検定の利用法としては大きく分けて i モニタリング、ii アセスメント の二つが考えられる。i モニタリングにはさらに、a 定期的な経時変化をきっちり追えるようなものと、b 任意な時期に行ない、経時変化は厳密には追えないけれど、その時点時点での相対的な比較などそれなりに有用な情報をひき出せるようなものとがある。もちろんaの精度に高めることが望ましいのであるが、一般にはそう簡単にはいかない。モニタリングにはいずれにしても試料を数多くこなせるような検定法であることが要求される。ウニ卵検定法の場合も調査頻度、ウニ卵の感度の安定性などの点で現状ではaの役割を果たすことは無理のようである。ii アセスメントとは現在問題なしとして排出されている種々の化学物質の潜在的な有害作用を問題が起きる前にチェックしておくということで、これには相当高度な技術と地道な研究が必要で、どちらかといえば慢性毒性の追求ということになる。その場合はモニタリングの場合のように数多い試料を一度にこなすということは無理である。ウニやモノアラガイの検定はある程度その役割も果たしうるものであると思われる。

現在世界的にも、ムラサキイガイやカキの発生を利用した生物検定法の開発も行なわれつつあり、こういう検定データが蓄積してくれば生物検定法のより上手な利用の仕方が徐々に明らかになり、生物の側からみたより合理的な環境基準の設定も可能になってくるものと期待される。

-
- (1) 中 西 弘 他 : 第7回衛生工学研究討論会講演論文集 144~154 (1971)
 - (2) 井上善介他 : 水処理技術 7 (10) 11~24 (1966)
 - (3) 小 林 直 正 : 環境と生物指標 (2水界編) 284~293 (1975)
 - (4) 小 林 直 正 : 陸水学雑誌 35 (4) 155~161 (1974)
 - (5) 田 端 健 二 : 用水と廃水 14 (10) 51~56 (1972)
 - (6) Naomasa Kobayashi : Publ. Seto. Mar. Biol. Lab. 18 (6) 379~406 (1971)
 - (7) 沢 田 允 明 : 第4回瀬戸内海環境改善の基礎的研究シンポ 85~91 (1975)
 - (8) 小林直正他 : 同志社大学理工学部研究報告 17 (1) 54~69 (1976)
 - (9) 沢 田 允 明 : 第5回瀬戸内海環境改善の基礎的研究シンポ D1~D4 (1977)