

底質の好気処理とバイオアッセイによる毒性評価

隅倉 光博 児島 敏一 岡村 和夫 堀内 澄夫
(技術研究所) (技術研究所) (技術研究所) (技術研究所)

Aerobic Treatment of River Sediments evaluated by Bioassay

by Mitsuhiro Sumikura, Toshikazu Kojima, Kazuo Okamura, and Sumio Horiuchi

Abstract

For the in-situ remediation of sediments, aerobic treatment is to be the best solution. This new technology could decompose recalcitrant organic substances contaminated, however, its effectiveness for the river sediments and evaluation of toxicity change not studied, because a variety of chemical substances are contaminated. To confirm the applicability of aerobic decomposition process for river sediments, the authors carried out a series of lab-tests using closed-cap bottles, and aeration tanks for two types of river sediments, collected in Ho Chi Minh city, and the following conclusions were obtained; (1) Indigenous aerobic microbes can remediate the river sediments, (2) Remediation process can be evaluated by bioassay using *Daphnia Magna*.

概 要

有機性の毒性物質で汚染された底質の浄化方法として、好気処理による微生物分解技術の開発が注目されている。しかしながら、底質浄化では、底質の複合的な毒性評価や、エアレーションによる毒性物質の気散の影響、および好気処理過程における環境影響について考慮されていない。そこで、オオミジンコを用いたバイオアッセイによる底質の毒性評価を行った。また、毒性性が認められた底質について、気散の影響のない密閉瓶と、エアレーションによる 2 種類の好気処理を実施し、それぞれの毒性の経時変化と溶存イオンの関係について検討した。その結果、(1) 好気性土着微生物によって河川底質浄化できること、(2) バイオアッセイ法により浄化課程が数値的に評価できることが判明した。

§ 1. はじめに

有機系の毒性物質を含む底質の処理方法として、浚渫・除去を除けば、一般的に採用される方法は、覆砂、現位置固化、微生物分解に分類できる。覆砂や現位置固化は、その効果持続性に課題が残り、毒性物質を取り除く根本的な解決にはならない。これに対し、土着の微生物による好気処理では、難分解性の多環芳香族を含む底質を浄化できる^{1),2)}。また、有機系の毒性物質を分解すると同時に、貧酸素問題も解決できる。しかしながら、都市域の河川底質には広範囲の地域から流れてきた多種多様な物質が、長期に渡って蓄積されており、好気処理の有効性については未だ未解明の部分が多い。特に染料のような難分解性物質への対応は不明である。

一方、環境毒性に関して言えば、有機系の毒性物質の種類は多く、分解過程で生ずる中間生成物も含めれば、その毒性を物質ごとに評価することは不可能であ

る。このため、現行の法規のような個々の毒性物質に対する基準値だけで環境影響を評価するのではなく、複合的な毒性について評価すべきと考える。また、有機物は経時的に分解が進み、毒性も大きく変化するため、毒性変化にあたる好気処理の影響を明らかにしなければならない。更に、エアレーションによる好気処理法では、毒性変化に与える毒性物質の気散の影響も考慮しなければならない。このような複合系の毒性評価方法として、バイオアッセイが提案されてきている³⁾。バイオアッセイは、単一の化学物質に対する生物反応だけでなく、複数の化学物質が同時に及ぼす総合的な毒性を評価することができる。しかしながら、底質の毒性に関する報告は少なく、その有効性については不明な点が多い。

本報告では、ホーチミン市の河川底質を好気処理により浄化することを想定し、その浄化過程をオオミジンコを用いたバイオアッセイ試験により毒性変化を評価した。その結果、(1) 好気性土着微生物によって河川

底質浄化できること、(2) バイオアッセイ法により浄化課程が数値的に評価できることが判明した。

§ 2. 実験方法

2.1 底質の毒性評価方法

底質の毒性評価方法として、OECD-TG202 や化審法 (H15 改正) 等に採用されているオオミジンコの急性遊泳阻害試験法を用いた。今回、バイオアッセイとしてミジンコを用いた理由は、(1) 河川底質が淡水域であったこと、(2) 食物連鎖における中間消費者として重要な位置を占めること、など、生態系の影響を評価する良い指標となるからである。本研究では、手軽に飼育ができることから、Micro Bio Tests 社製の DAPHTOXKIT FTM MAGNA を用いた。オオミジンコの急性遊泳阻害試験方法は、溶液を対象としているため、底質に直接曝露することができない。このため底質を含むサンプルを 3000rpm、15 min で遠心分離し、その上澄みを 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過した溶液（底質の間隙水と呼ぶ）を採取して使用した。この間隙水を原液とした 100% の溶液と、原液を 50 %、25 %、12.5 % になるように希釈した溶液を調整し、それぞれの溶液に孵化後 24 時間以内のオオミジンコを 20 匹ずつ曝露させた。曝露後、24、48 時間後に遊泳阻害を受けた個体数を計測し、環境毒性学会提供ソフト ECOTOX を用いて 48 時間後の EC₅₀ を求めた。EC₅₀ とは、曝露させたオオミジンコのうち、50 %（本試験では 10 匹）が阻害を受ける濃度（ここでは原液比率）である。

2.2 底質試料

アジアの発展途上国では、住居と工場が混在し、生活排水と工業排水とが未処理のまま流入している。こ



図-1 試料のサンプリング地点

(出典：Google Earth)

うした河川に堆積している底質をホーチミン市の 2 箇所採取した。採取地点を図-1 に示す。採取した底質は、2 mm の篩で粗大物を除去し実験に用いた。なお、サンプリングの位置は、染色工場をはさんで、上流側

表-1 底質の化学組成

		上流側	下流側
含水率 [%]		64.9	78.7
pH		7.4	7.4
ORP [mV]		108	68
EC ₅₀ [%]		23	38
TOC [mg/L]		33	65
CODsed _{Cr} [mg/kg]		190000	79000
CODsed _{Mn} [mg/kg]		43000	60000
含有量 [mg/kg]	ふっ素	51	36
	ほう素	<20	<20
	カドミウム	<10	<10
	遊離シアン	<5	<5
	鉛	23	32
	六価クロム	<10	<10
	ひ素	<10	<10
	総水銀	<1	<1
	セレン	<10	<10
	銅	91	100
	亜鉛	330	530
	全鉄	42000	117000
	全窒素	4400	4700
	全りん	1200	2000
硫化物	1100	2900	
DXN [pg-TEQ/g]	4.5	9.1	
間隙水中濃度 [mg/L]	ナトリウム	254	258
	アンモニア	205	108
	カリウム	40	18
	カルシウム	19	4.6
	塩素	127	111
	硝酸	0	0
	硫酸	0	0
	ふっ素	0.21	<0.2
	ホウ素	<0.2	<0.2
	カドミウム	<0.001	<0.001
	全シアン	<0.1	<0.1
	鉛	0.019	0.007
	六価クロム	<0.04	<0.04
	ひ素	0.014	<0.005
	総水銀	<0.0005	<0.0005
	アルキル水銀	<0.0005	<0.0005
	セレン	<0.002	<0.002
	銅	0.04	0.01
	亜鉛	0.18	0.1
硫黄	4.0	<1	
全りん	2.7	2.6	
全鉄	38	26	
全窒素	90	140	

と下流側となっており、下流側では染色排水の影響を受けている。

底質の化学組成を表-1に示す。土壤環境基準や土壤汚染対策法（土対法）等で規定されている毒性物質濃度は、上流側、下流側の含水率は64.9%と78.7%であるので、間隙水中濃度をそれぞれ約1/5、2/5に換算した値が溶出濃度に相当する。このため、表-1での毒性物質濃度はすべて、土対法の溶出基準を超えてない。しかし、底質中のCOD_{sed}や、全窒素濃度が高く、有機物が多く含まれている。また、底質中の硫化物濃度も高い。

図-2に示すように、間隙水のEC₅₀は、それぞれ22.8%と、38.3%であり、上流側の底質の方が、やや毒性が高い。前述のように底質には、重金属等の規制毒性物質濃度は低いにも関わらず、オオミジンコに遊泳阻害が現れているため、底質中の未規制物質や有機物などが毒性を示しているものと考えられる。

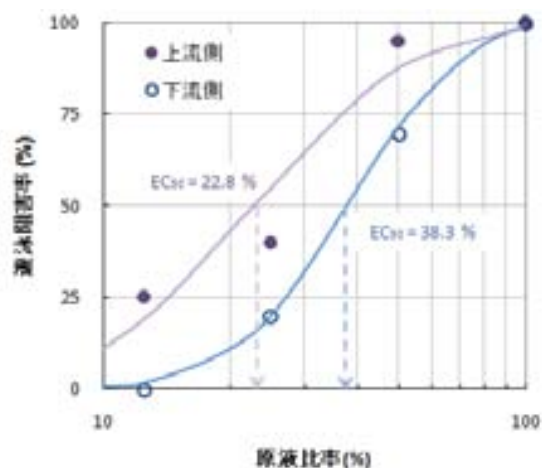


図-2 底質間隙水の遊泳阻害曲線

2.3 密閉瓶による好気処理

密閉瓶による好気処理実験には、385mL容のガラスビンを用いた。このガラスビンの栓には、中央部がブチル製のゴムになっているものを使用した。ガラスビンの中に含水率75%に調製した底質を100ml入れ、ガ

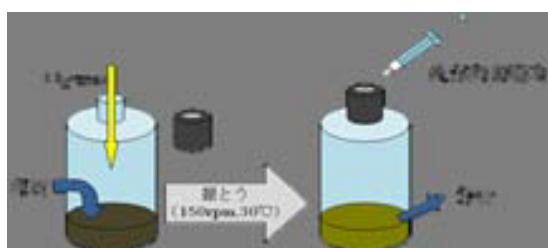


図-3 密閉瓶による好気処理実験の概要

ラスビン中の空気を純酸素で置換後、密栓した。その後、30℃にて150rpmで連続振とうした。経時的に、ビン中の残存酸素濃度をGC-TCDで測定し、酸素濃度が50%以下となった場合には酸素を補充した。所定時間経過したガラス瓶を順次開栓し、取り出した試料間隙水中のイオン濃度、pH、ORP、EC₅₀を測定した。

2.3 エアレーションによる好気処理

エアレーション処理実験には、図-4に示す直径15cm、高さ60cmの小型エアレーション装置を用いた。含水率を75%に調製した底質を5L入れ、密閉瓶による好気処理実験と同様に30℃で行った。リアクター底部からのエアレーション速度は0.5L/minで一定とした。装置の中心には攪拌翼を設けてあり、150rpmで攪拌した。経時的に試料をサンプリングし、密閉瓶試験と同様に、試料間隙水中のイオン濃度、pH、ORP、EC₅₀を測定した。

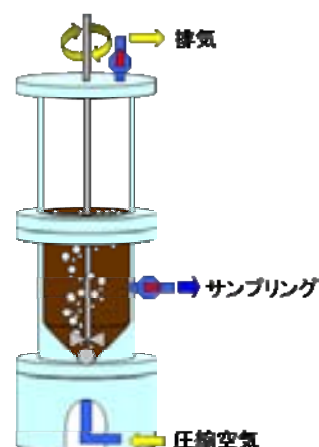


図-4 エアレーション装置の概要

§3. 実験結果と考察

3.1 好気処理とpHの変化

密閉瓶、およびエアレーションによる好気性処理によって変化する底質のpH経時変化を図-5に示す。密閉瓶の方がアルカリ側(pH7~8)に、エアレーションの方は酸性側(pH6~7)に偏る傾向はあるが、好気処理によるpHの変化はほぼ中性域で安定している。

3.2 密閉瓶試験

密閉瓶による好気性処理によって変化する底質の毒性単位TU₅₀(Median Toxicity Unit)と硫酸イオンの経時変化を図-6(上流側)と図-7(下流側)に示す。

TU₅₀とは、変換式 (1)によって EC₅₀からもとめられる値である。

$$TU_{50} = 1/EC_{50} \times 100 \quad (1)$$

半数が阻害を受けなくなるまで希釈した時の原液の割合を表す EC₅₀に対し、TU₅₀は、半数が阻害されなくなるまでに原液を何倍希釈したかを表す。つまり、TU₅₀の数値が大きいほど、毒性が強いことを示す。ここでは、原液に暴露されたオオミジンコの半数以上が遊泳阻害うけない TU₅₀ < 1 を浄化の指標とする。

上流側の TU₅₀は、好気性処理開始後、徐々に減少し、14日後に再毒性化傾向が確認される。その後、再び減少しはじめ、28日後には1以下に減少している。また、**図-7**に示す下流側の TU₅₀も、好気性処理開始1日後に一時的に毒性が低下しているが、上流側と同様に再び毒性があらわれている。その後28日目以降から徐々に減少している。しかし、49日間の好気性処理では TU₅₀が1以下にならず、浄化できていない。

底質試料の遊泳阻害の結果 (**図-2**) では上流側と比べて下流側がより低い毒性を示しているが、密閉瓶による好気性処理では、下流側 (**図-7**)の方が無害化するのにより時間がかかっている。下流側の無害化が遅いのは染色工場から排出される染料などの難分解性物質投入の影響が考えられる。

間隙水中の硫酸イオンは、上、下流側共に、底質の好気性処理開始後3日間で、硫酸イオンが急激に増加している。堆積物中に多く含有されていた硫化物が酸化されて硫酸イオンに変化したと考えられる。よって、**図-6**、**図-7**に示した好気処理開始初期の TU₅₀の減少は、底質中の硫化物イオンが硫酸イオンに変化する過程を反映していると考えられる。

密閉瓶による好気性処理によって変化する底質の毒性単位 TU₅₀と窒素化合物のイオン濃度の経時変化を**図-8** (上流側)と**図-9** (下流側)に示す。図中の T-Nは、各窒素化合物中の窒素分を合計した量 (mg/L)を示している。上流側 (**図-8**)では、好気性処理開始後、アンモニウムイオンが生成され、7日後をピークに減少している。さらに好気処理を続けると、アンモニウムイオンの減少にともない亜硝酸イオンが生成しているが、14日後をピークに亜硝酸イオンも減少し、28日後には検出されていない。硝酸イオンは、アンモニウムイオンと亜硝酸イオンの減少にともない、上昇している。溶液中の窒素原子の総量を示す T-Nは、好気処理開始直後に上昇しているが、その後は一定の量であることから、窒素成分は、好気処理によって、タンパク質や染料由来の窒素化合物がアンモニウムイオン、亜硝酸イオン、硝酸イオンの順に酸化されている。

下流側 (**図-9**)の窒素化合物の経時変化は、上流

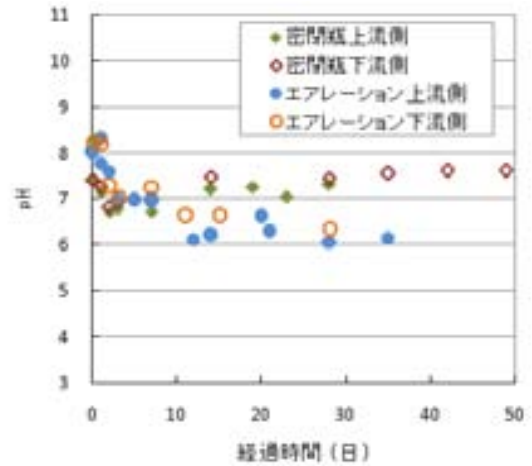


図-5 好気処理による pH の変化

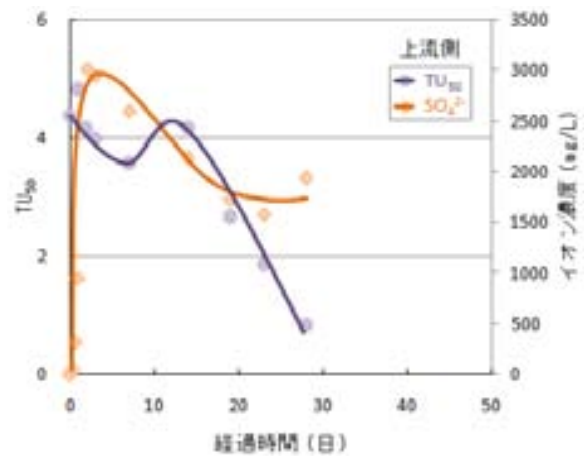


図-6 密閉瓶好気処理による TU₅₀と硫酸イオンの経時変化 (上流側)

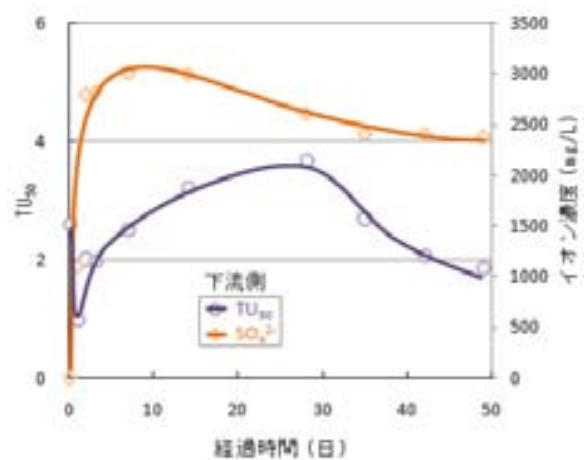


図-7 密閉瓶好気処理による TU₅₀硫酸イオンの経時変化 (下流側)

側と同様な傾向を示すが、49日以後もアンモニウムイオンと亜硝酸イオンが存在している。また、T-Nは好気処理35日まで上昇し、その後一定になる傾向を示している。このことから、下流側では好気処理による窒素成分の溶出量が上流側（図-8）と比べて多く、すべての窒素成分が硝酸イオンまで酸化するために、より多くの時間と酸素を要している。

上流側（図-8）の窒素成分の酸化過程とTU₅₀の経時変化を比較すると、上流側のTU₅₀が14日目に一時上昇する時期は、菌体から生成されるアンモニウムイオンが硝化されて亜硝酸イオンが生成する時期と重なる。また、14日目以降のTU₅₀が再び減少する時期は、アンモニウムイオン、亜硝酸イオンが減少し、硝酸イオンが生成する時期と重なる。一方、下流側（図-9）でも、同様の傾向は確認できるが、49日間の好気処理では、アンモニウムイオンと亜硝酸イオンが硝酸イオンまで酸化されず、下流側のTU₅₀も1以下まで減少されていない。このことから、上、下流側の両方で確認される再毒性化には、窒素化合物の形態が関与していると考えられる。

3.2 エアレーション試験

エアレーションによる好気処理によって変化する底質の毒性単位TU₅₀と窒素成分イオンの経時変化を図-10（上流側）と図-11（下流側）に示す。TU₅₀の再毒性化課程は、エアレーション試験では、より顕著となっている。また、窒素成分も、密閉瓶試験と同様にアンモニウムイオン、亜硝酸イオン、硝酸イオンの順に変化している。さらに、TU₅₀の再毒性化と亜硝酸イオンが生成する時期が重なることも一致している。エアレーションによる好気処理では、溶存物質の気散効果も考えられるが、T-Nの値が一定であることから、窒素成分に関しては、気散の影響は少ないと考えられる。

密閉瓶試験において、下流側底質（図-9）は49日間の処理でもTU₅₀が1以下に減少できていないが、エアレーション試験では、14日で浄化できている（図-11）。また、上流側底質も、密閉瓶の結果（図-8）よりもエアレーションの結果（図-10）の方が、より短期間でできている。

笹島らによる産業廃棄物最終処分場浸出水を対象としたミジンコを用いたバイオアッセイでは、浸出水にアンモニウムイオンが多く含まれているときに毒性を示すと報告されている⁴⁾。しかしながら、本実験では、アンモニウムイオンよりも亜硝酸イオンの方が、毒性との関係が強いことが示された。また、塩化アンモニウムおよび亜硝酸ナトリウム等は、毒性が知られており、特に長期的影響により水生生物に非常に強い毒性

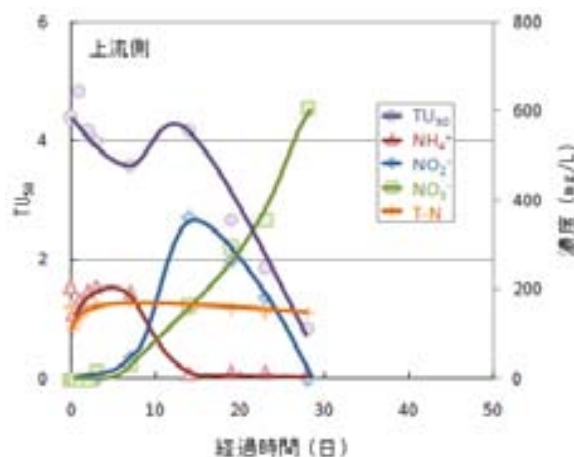


図-8 密閉瓶好気処理によるTU₅₀と窒素化合物イオンの経時変化（上流側）

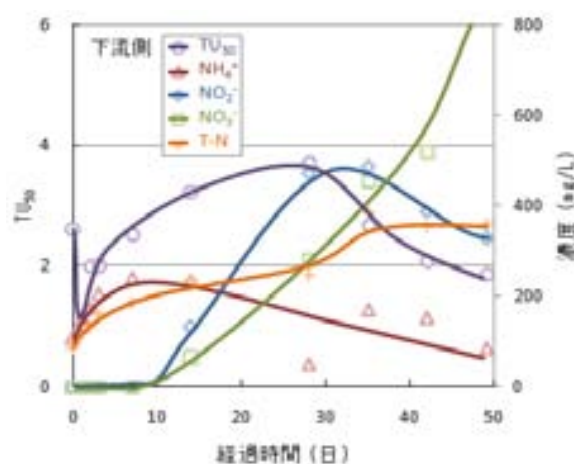


図-9 密閉瓶好気処理によるTU₅₀と窒素化合物イオンの経時変化（下流側）

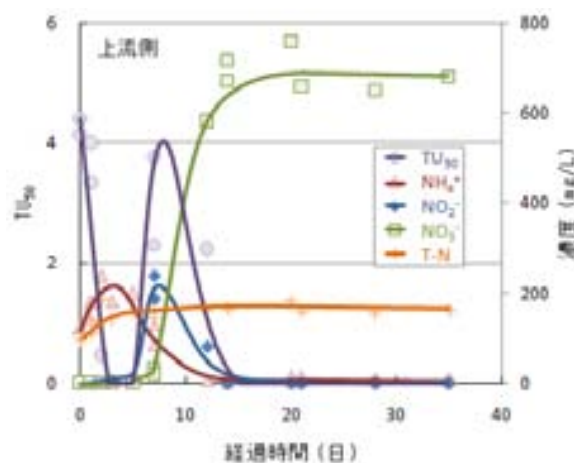


図-10 エアレーションによるTU₅₀と窒素化合物イオンの変化（上流側）

を示す。また、GHS 分類では、水性毒性（急性・慢性）の区分 1 に分類されている。一方、硝酸ナトリウムは GHS 分類の水性毒性には分類されておらず毒性も低い。よって、底質の好気処理中に確認された TU_{50} の再毒性化は、亜硝酸イオンの生成によって再毒性化され、その後の硝酸イオンへの酸化によって最終的に無害化されると考えられる。

これらのことから、バイオアッセイによる底質毒性評価は、好気処理による窒素系化合物の分解過程と大きく関係していると考えられる。

§ 4. おわりに

自然環境水の底質にはさまざまな物質が蓄積しており、生分解反応によって多種多様な成分へと変化している。本報告で取り上げた生分解生成物と生体への影響の関係はその一部ではあるが、底質浄化における生体への影響を考慮するうえで、重要な関係であると考えられる。これらが環境に及ぼす影響については非常に複雑であるが、バイオアッセイによる評価を通して、生物への影響を直接的に知ることができる。ミジンコ等の甲殻類が生息できるようになれば、これらを捕食する魚類も生息可能となり、環境全般の改善へとつながって行く。

<参考文献>

- 1) 岡村和夫、田崎雅晴、黒岩洋一、川村佳則、西願寺篤史、佐々木秀夫：“多環芳香族を含有する堆積汚泥の生物浄化に関する基礎検討（1）”，第 12 回地下水・土壌汚染とその対策に関する研究集会，2006
- 2) 岡村和夫、田崎雅晴：“生物を利用した環境浄化”，粉体工学会誌，45，pp.32～36，2008
- 3) 鎌迫典久：“環境水のバイオアッセイ～Whole Effluent Toxicity の考え方”，水環境学会，Vol. 29，NO 8，pp.426～432，2006.
- 4) 笹島武司、川崎清人、土原義弘、森友子、楠井隆史、佐伯真由美、橋本隆志：“産業廃棄物最終処分場浸出水のバイオアッセイに関する研究（第 1 報）”，富山県環境科学センター年報，Vol. 33，NO.2，pp.49～58，2005.

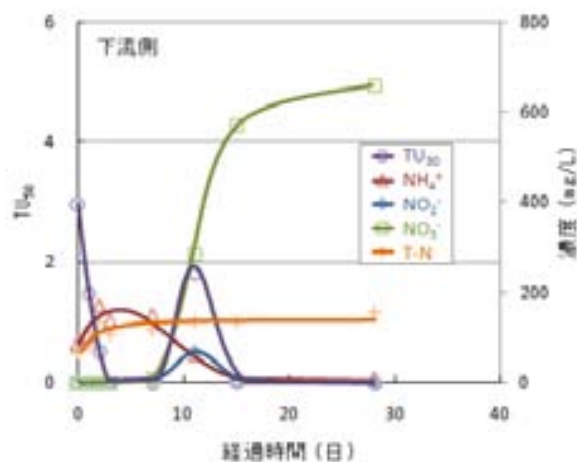


図-11 エアレーションによる TU_{50} と窒素化合物イオンの変化（下流側）

その一方で、浄化過程で中間生成物による再毒性化が発現する要点も明らかとなった。好氣的浄化処理を進める上で注意すべき点である。

謝辞

本報告は（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の助成事業として行った、（独）産業技術総合研究所との共同研究成果の一部である。