HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	淡水魚に対する残留塩素の連続通水による毒性試験
Author(s)	青井, 透
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 6, 71-76
Issue Date	1998-11-01
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/7324
Type	bulletin (article)
Note	第6回衛生工学シンポジウム（平成10年11月5日（木）-6日（金） 北海道大学学術交流会館）. 2 モデリング・評価 . 2-9
File Information	6-2-9_p71-76.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

2－9

淡水魚に対する残留塩素の連続通水による毒性試験

群馬工業高等専門学校・環境都市工学科　青井　透

1.はじめに

都市化の進展と共に、首都圏では上水源の７０％以上を依存している利根川（首都圏の利用者人口は2600万人にも達すると想定される）の水量は、冬季・夏季を問わず常に渇水の危険性にさらされている。ところで昨今の０１５７問題では消毒の強化が要請されており、下水処理施設や合併浄化槽などの生活排水処理施設では、残留塩素濃度が増加するような背景がある。また一方では最近多自然型河川環境の復元等がうたわれており、いままでは殆ど無視されてきた在来種の多様な生物（昆虫、貝、魚など）の保存・復元が必要とされている。０１５７問題と自然復元では、残留塩素濃度に対する評価は全く異なる立場となり、残留塩素濃度の管理には一層の慎重さが要求されている。とくに群馬県は利根川の上流・中流の主要流域であり、河川に生息する魚類は冷水魚で付加価値の高いイワナ・ヤマメ・ニジマスや温水魚のアユなどであり、特にその放流幼魚は残留塩素に対して極めて感受性が高いことが想定される。

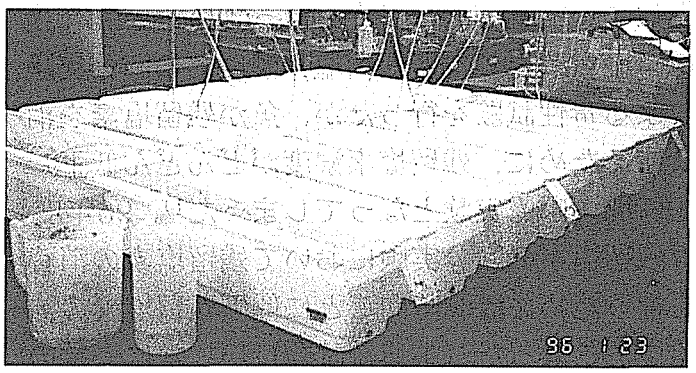

図1　半連続試験装置の外観(室温・曝気付き)

下水処理・集落排水処理や合併浄化槽の目的は、主に生活排水を衛生的に処理することにあり、生物処理後の処理水に対する塩素消毒が義務付けられている。消毒法として特に塩素消毒が指定されている理由は、処理水中に残留塩素が確保できるという残留効果にあるように見受けられるが、残留塩素による放流先水域での生態系への影響についてもまた、上記したように十分な配慮が必要である。

特に小型合併浄化槽は、下水道の普及が地形的・規模的に困難な山間部などの集落等に対して、恒久的処理施設として位置

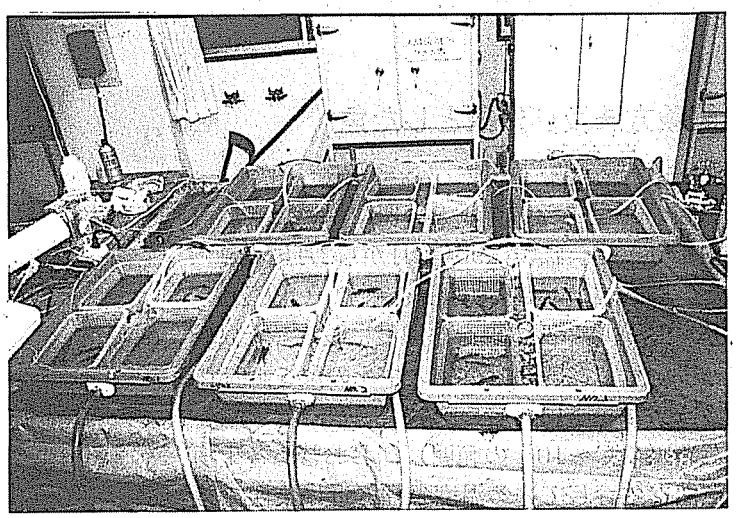
図2　残留塩素濃度連続試験装置の外観

付けられ、普及にはずみがついているが、このような地域は河川の上流部に位置し、豊かな生物相を育む必要性が高いところが多く、処理水中残留塩素が水生生物（魚や水生昆虫、特にその幼生）に対する影響を最小にする必要がある。

本研究室では、淡水魚に対する残留塩素の影響について継続的に研究を行っている。95年度は予備試験として各残留塩素濃度での回分実験による毒性試験を行ったが、魚が残留塩素を消費するために、残留塩素濃度がどんどん低下し短時間の曝露実験となってしまった[1]。96年度は残留塩素の回分実験において残留塩素の消費を補うために計測時間ごとに低下残留塩素の補給をおこなった（半連続試験）が、常に一定の濃度に保持するまでには至らなかった[2]。そこで97年度は連続通水可能な装置を製作し、滞留時間を短く設定することにより、水槽中での残留塩素濃度の低下を防ぎ、メダカ、キンギョ、ニジマス、ヤマメ、アユについて各残留塩素濃度の連続通水による毒性試験を行った。本報文では、半連続試験と連続試験での結果について報告する。

残留塩素は分解性であり濃度変動が著しいので、試験方法に特別の工夫を要する。そのために淡水魚に対する残留塩素濃度の影響については知見が不足している状況にあり、本報告の結果が参考になれば幸いである。

図3　連続試験水槽内に設置されたプラスチックかご

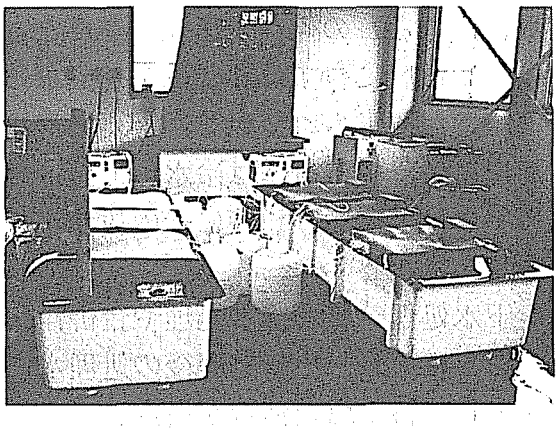

図4　アユ用連続試験装置の外観

2.試験方法及び対象とした魚

2-1　半連続試験

市販の60型プランターを容器に用いで半連続試験を行った。試験は96年1月から2月に実施した。図1に試験装置の外観を示す。OECDｶﾞｲﾄﾞﾗｲﾝ[3]に従い７匹づつを各濃度に設定した試験水槽で飼育し、時間と生物の生死の数を調査した。試験は冬季に暖房のない実験室内で行なったため（４℃～10℃の範囲）、おおむね各生物が自然に生育している温度条件に近い条件である。残留塩素濃度はＤＰＤ法[4]により行なっ

図5　アユ用連続試験装置（B）の試験水槽と次亜塩素酸ソーダタンク及びチューブポンプ

た。試験に供した水は、実験室水道水（地下水を水源とする専用水道）を１日汲み置きしてから用いた。酸素不足をおこさないために、各試験水槽はｴｱｽﾄﾝにより曝気した。各時間の生死数測定時に残留塩素濃度を測定し、低下している残留塩素を計算して必要量をその都度添加した。

実験室内で事前に一定期間飼育した魚を試験に用いた。メダカ（体長約3cm）・金魚（体長約5cm）・ヤマメ（体長約7-7.5cm）・ニジマス（体長約6-6.5cm）は、それぞれ購入したものを用いた。モノアラ貝は、本高専合併浄化槽処理水の水耕栽培槽から採取したものを使用した。ヤマメ・ニジマスは孵化後約３ヵ月程度の幼魚である。

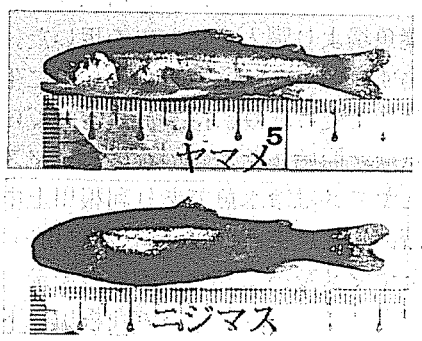

図6　試験方法Aで対象にした魚

2-2　連続試験（試験方法A）

20L容積の平底バレット6系列を試験水槽に使用し、2-1と同様に7匹ずつの生物を用いて、各濃度に設定した試験水槽で時間と生物の生死の数を調査した。試験は98年2月に実施した。残留塩素は時間と共に変化（分解）してしまうため、希釈水には当高専の水道水（専用水道・井戸水）を用い、各濃度にあらかじめ設定した次亜塩素酸ソーダ溶液ともども定量ポンプで連続的に送液して常に設定濃度になるようにした。各バレットに4個のメッシュ付プラスチックかごを設置し、各供試魚をいれた。各バレットの滞留時間は1.5時間であり、溶存酸素濃度の低下を防止し流入残留塩素の拡散を促進するために散気球を設置して曝気した。図2,3に試験装置の外観を示す。残留塩素濃度の測定はDPD法である。水温はサーモスタットヒーターにより14℃一定に保った。

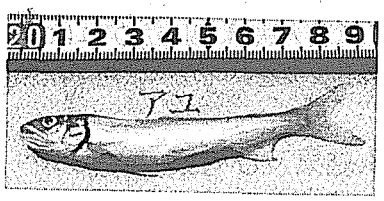

図7　試験方法Bで用いたアユ

2-3　連続試験（試験方法B）

アユについては、試験方法Aで行った時期が2月の初めで魚体が極めて小さかったためにとても弱く、コントロール水槽でも死んでしまうという状況であったので、稚魚の生育が進んだ5月に再度連続試験を行った。稚魚を輸送するとその影響を受けるため、試験場所を稚魚が成育中の群馬県水産試験場内に設営し、20L容積の平底バレット6系列を用いて10匹づつのアユの稚魚を入れ各濃度での連続試験を行った。対象とした稚魚は24時間えさを与えないで飼育し、その後に各濃度の試験水槽に投入した。希釈水に水道水を用いると、水道水の残留塩素で稚魚は死んでしまうので、希釈水としては試験場で魚の生育用に用いている塩素を含まない地下水を用い、試験方法Aと同様に希釈水・次亜塩素酸ソーダ溶液ともに定量ポンプで連続送液とした。各バレットには酸素供給のために散気球を設置して曝気した。図4には試験装置全景を,また図5には試験水槽と次亜塩素酸ソーダ供給装置を示した。各バレットは、恒温水槽内に設置されており、恒温槽は20℃に保たれている。バレット上には魚が飛び出さないようにプラスチックの網をかけた。各バレットの滞留時間は1.5時間に設定した。

2-4　連続試験で対象とした魚

試験方法Aに用いた生物はヒメダカ（体長約3.3cm体重約0.3g）、キンギョ（体長約6cm体重約3.3g）、ニジマス（体長約7cm体重約3.6g）、ヤマメ（体長約7cm体重約4g）及びアユ（体長約5ｃｍ）である。アユは群馬県水産試験場（産卵からの一貫生産をしている）から譲り受けた。

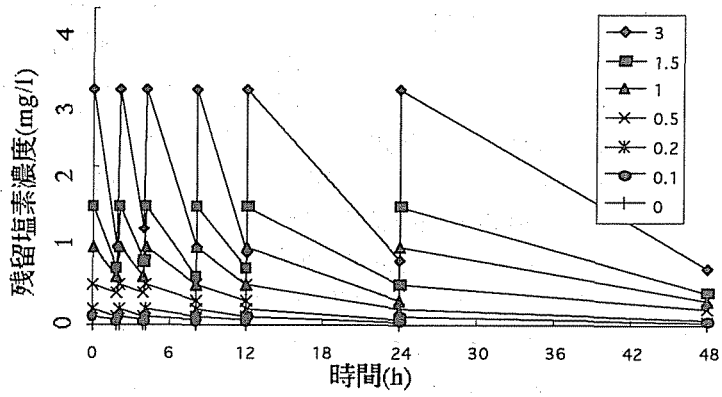

図8　半連続試験での 残留塩素濃度経時変化の一例(ニジマス)

ニジマス・ヤマメは利根川上流部の養魚場より購入したものを用いた。いずれの魚も試験当日の午前中に生産地で受け取り、持ち帰り後直ぐに試験を開始した。このうちニジマスとヤマメは冷水魚であり利根川上中流部に生息する。図6に試験に用いたヤマメ及びニジマスの外観を示す。アユは温水魚であり利根川中下流部に生育している。メダカ・金魚は比較的汚濁に強く、中流域以降の小河川に生息する魚である。

表1　半連続試験での各時間各生物のＬＣ50結果一覧

	各時間のLC50(mg/l)				
	4hr	8hr	12hr	24hr	48hr
めだか	<1.5	0.7	0.7	0.6	0.6
金魚	<3	2.5	2.2	1.2	0.45
虹鱒	1.05	0.65	0.32	0.3	0.22
やまめ	1	0.7	0.31	0.23	0.17
ﾓﾉｱﾗ貝					0.9

試験方法Bに用いたアユは体長9-9.5cm体重約4.5gであり、試験自体を水産試験場内で行ったためストレスを与えない状態で試験に供することができた。図7には試験に用いたアユの写真を示した。

3.結果及び考察

3-1　半連続試験

半連続試験では、試験開始時に残留塩素濃度を所定濃度に設定し、その後2,4,6,8,10,10,24時間と魚数の確認時に残留塩素濃度をその都度測定し、使用されて不足した残留塩素を補充して初期濃度に戻すという作業を行った。図8に経過時間と残留塩素濃度の低下及び補充の関係を一例として示した。魚が死亡すると残留塩素を消費するので、高濃度の試験水槽ほど残留塩素の消費量が多いことがわかる。各時間・各生物の半数致死濃度（LC50）を表1に示した。

モノアラ貝は、ニジマスの試験水槽に同時に加えて４８時間まで飼育し、試験終了後に水道水のビーカーに移して１日飼育後、生死の数を測定した。モノアラ貝は殻がとても薄いために、移送時に潰れたものがありこれらが低濃度での死亡数に計上されている。またモノアラ貝は水面上に自分で移動してしまうものがあり、この点では結果は低めの値となっている。半連続試験では、時間と共にＬＣ５０が低下すること、ヤマメ・ニジマス・メダカ・金魚・モノアラ貝の順に耐性が強くなることが明かとなった。

3-2　連続試験（中濃度試験）

1998年2月9日-10日に第1回目の連続通水試験を行った。試験がこの時期になったのは、アユが水産試験場から場外搬出できる大きさになるのを待ったためである。希釈水に用いた水道水には0.5mg/lの残留塩素が含まれていたために、予想濃度に上乗せされる形となり、結果として残留塩素の設定濃度は0.5mg/l～1.5mg/lの範囲となった。

アユはヤマメ・ニジマスに比べて魚体が小さいために極めて弱く、試験開始1時間で全数が死亡した。ヤマメは8時間後に全数が死亡しニジマスは12時間後に全数が死亡した。メダカは48時間後に1.0及び1.5mg/lの試験水槽では全数が死亡したが0.5mg/lの試験水槽では24時間まで全数が生育し48時間後に1匹のみ死亡した。表2にはニジマスの残留塩素濃度と累積死亡数の経時変化を一例として示す。

表2　中濃度試験における残留塩素濃度と累積死亡数の経時変化：ニジマス

	水槽No.（残留塩素濃度）				
	1	2	3	4	5
経過時間（hr）	0.5mg/l	0.6mg/l	0.7mg/l	1.0mg/l	1.5mg/l
0	0	0	0	0	0
1	0	0	2	6	7
2	0	2	4	7	7
8	4	5	7	7	7
12	7	7	7	7	7
24	7	7	7	7	7
48	7	7	7	7	7

3-3　連続試験（低濃度試験）

2月13～14日に第2回目の連続通水試験を行っ

表3　アユ単独試験における残留塩素濃度と死亡数

	残留塩素濃度(mg/l)				
経過時間	0	0.05	0.1	0.2	0.25
0時間	0	0	0	0	0
24時間	0	0	10	10	10

た。第1回目の結果から水道水はあらかじめ貯留槽でチオ硫酸ナトリウムで還元した後に各試験水槽に供給した。残留塩素の設定範囲は0.1～0.6mg/lとした。本試験では遊離残留塩素濃度と結合残留塩素濃度をそれぞれ測定したが、ほぼ全量が遊離残留塩素であった。

表4　アユ単独試験での遊離と結合残留塩素濃度測定値

総残留塩素	0	0.05	0.1	0.2	0.25
遊離	0	0	0.1	0.1	0.2
結合	0	0.05	0	0.1	0.05

単位はmg/lである。

中濃度試験からアユを用いることは困難と思われたので、昨年も使用したキンギョを対象魚に加えた。なお昨年度と同様にモノアラ貝に対する影響も調査したが、モノアラ貝が水面上に逃げ出したために全数が生息し有効な試験にならなかった。

3-4　連続試験（アユ単独試験）

アユが十分に生育（体長9cm,体重4.5g）した5月14日-15日に、アユ単独で連続通水試験を行った。春に入り気温が上昇したので、この試験のみは水温を20℃に保って行った。使用した希釈水は地下水であり、残留塩素を含んでいない。表3には、残留塩素濃度と累積死亡数の関係を示した。残留塩素濃度は0.05～0.25mg/lの範囲で設定したが、コントロールと0.05mg/l濃度では全数が生き残り、0.1mg/l以上の濃度では全数が死亡したので24時間LC50は0.07mg/lとなり、アユに対して残留塩素は非常に低い濃度で影響することがわかった。また表4には残留塩素濃度のうち遊離と結合の各濃度も示した。

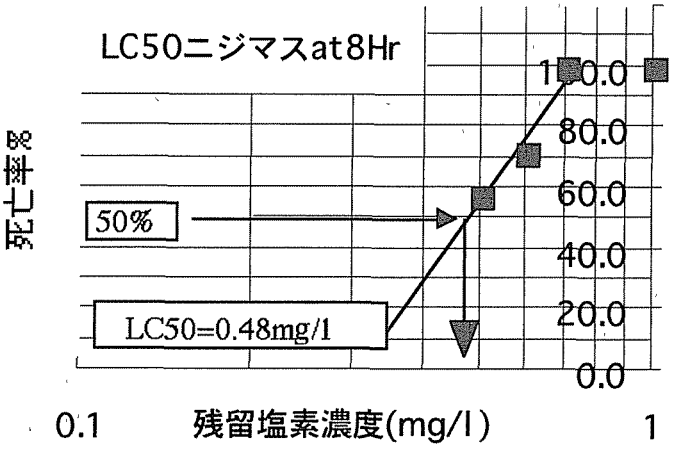

図9　試験結果からLC50を求める手法の一例(ニジマス　8時間後)

3-5　連続試験の半数致死濃度(LC50)

表2,3に示したような各時間の累積死亡数を死亡率に換算し、残留塩素濃度を対数でX軸にとり、Y軸に死亡率%をとってプロットすると近似直線が得られる。この直線と死亡率50%の交点の残留塩素濃度が半数致死濃度(LC50)の値となる。図9には、表2のニジマスのデータを用いた場合の手順の一例を示した。

連続試験での各時間・各対象魚の半数致死濃度を表5にまとめた。経過時間と共にLC50は低減し、ニジマス・ヤマメなどでは、1時間LC50と24時間LC50ではほぼ4倍の開きがあることかわかる。24時間のLC50はアユが最も低く、ヤマメ・ニジマス・金魚・メダカの順に高いことがわかった。また48

表5　各時間各対象魚の半数致死濃度(LC50)結果一覧

	各時間のLC50(mg/l)							
	1Hr	2Hr	3Hr	6Hr	8Hr	12Hr	24Hr	48Hr
ニジマス	0.8	0.7	>0.6	(0.36)	0.48	<0.5	0.23	0
メダカ					>1.5	1.2	1	0
金魚							>0.6	0
ヤマメ	0.9	0.6	0.4	0	<0.5		0.21	0
アユ	<0.5						0.07	

時間LC50はヤマメ・ニジマスでそれぞれ0.12，0.06であり、残留塩素濃度が0.1mg/l以下でないとこれらの冷水魚は長期間生息できないことがわかる。

4.まとめ

連続試験の結果から、ニジマス・ヤマメの冷水魚では1時間のLC50で0.8～0.9mg/l、6時間のLC50で約0.36mg/l、24時間のLC50で0.21～0.25mg/l、48時間のLC50では0.06～0.12mg/lの値が得られ、残留塩素との接触時間が長いほどLC50が低減することがわかる。

アユはニジマス・ヤマメよりもさらに残留塩素には敏感であり、試験に用いた魚体はアユのほうがニジマス・ヤマメよりも若干大きかったにも関わらず、24時間LC50は0.07mg/lでありヤマメの24時間LC50の1/3の値であった。アユは温水魚であるので、川の中流から下流で生息することが多いが、この流域は規模の大きな下水処理施設や合併処理浄化槽が分布することが一般であり、これらの処理水に含まれる残留塩素はアユの生息に影響を与えていることが考えられる。

残留塩素は、分解性を有するために正確なLC50を算出するためには連続試験が必要であるが、大掛かりな設備と慎重な操作を必要とする。半連続試験の結果は、表1と表5を比較すると半連続試験の方がやや高めの数値ではあるがよい相関を示しており、簡便な方法であるが実用になることがわかる。

浄化槽処理水の残留塩素濃度は、固体塩素剤の投入直後では10mg/lを超えることがよく観察されるが、このような高い濃度が継続すると、放流先での魚に対する影響は大きい（特に稚魚の場合）ものと想定される。O157の問題が明らかになってから、各生活排水処理水の残留塩素濃度は上昇の傾向にあるが、河川の上流域(群馬県での合併浄化槽の普及はもっぱら上流域が主である)では放流水中の残留塩素が放流先におよぼす影響についても十分に配慮する必要があることがわかった。

謝辞　本研究は（財）日本環境整備教育センターの「地域環境に対応した生活排水処理施設等の処理水質の高度化に関する研究」の一部として実施したものである。本実験で行ったアユの連続実験については、群馬県水産試験場に場所及び試験魚の提供を頂いた。とくに林不二雄副場長には多くの貴重なアドバイスを頂いた。また各実験における残留塩素濃度の調整と測定は、群馬高専専攻科環境工学専攻の信澤守君をはじめとする多くの学生に協力していただいた。ここに記して謝意を示します。

参考文献

1)(財)日本環境整備教育センター(1996)H7年度地域環境に対応した生活排水処理施設等の処理水質の高度化に関する研究報告書、pp128-135
2)(財)日本環境整備教育センター(1997)H8年度地域環境に対応した生活排水処理施設等の処理水質の高度化に関する研究報告書、pp93-99
3)Draft updated OECD guideline for testing of chemicals 203 'FISH,ACUTE TOXICITY TEST
4)(社)日本下水道協会(1997)下水試験方法(上巻),pp232-233