

トイレ・タイル用洗浄剤の 曝気型浄化槽内微生物におよぼす毒性実験

横浜市衛生研究所環境衛生課

唐沢 栄

はじめに

今回私どもの研究室で日本トイレ・タイル洗浄剤工業会の委託を受け、トイレ・タイル用洗浄剤の曝気型浄化槽内微生物におよぼす毒性実験を行う機会にめぐまれた。実験期間は相方の事情で、わずか4ヶ月しか取ることができず検討不足は多かったが、一応の報告を終えることができた。

先に工業会リポート第6号で概要を述べた通り曝気型浄化槽は、そのし尿汚水処理方法を生物酸化に依存しているが、この生物酸化に寄与しているのは活性汚泥の生物群である。活性汚泥内微生物は細菌類、真菌類、原生動物類、輪虫、線虫、などの微小後生動物類で、これらが1つの生物社会を構成している。この中で汚水を一次的に酸化分解しているのは一般的に細菌類であるといわれている。即ち、この細菌は有機物の分解、安定、フロック形成に関与しているといえる。

Mac Kinneryによれば、下水廃水の有機物の性質によって優占的に出現する細菌は決定され、蛋白性廃水ではAlcaligenes, Flavobacterium, その他のカソ菌類が、含水炭素性廃水ではPseudomonasが増殖し、優占種となっている。いうまでもなく、これら優占種のみが一次生産に関与するのではなく、これらの種を主として多くの細菌が酸化分解に寄与している。原生動物は有機物の安定化に対する一次生産者ではない。一般的に、原生動物群は細菌にエネルギー源を依存し生命活動を行うわけであるが、もし、細菌類だけの単一社会構成がなされるならば、過度の増殖により社会構成要素たる細菌自身が死滅していく。しかし、実際には原生動物群が細菌類を補食するという食物環のある複数種族による混合社会の構成があり、このような見地からいえば活性汚泥中の原生動物の役割を無視することはできない。

輪虫類は有機物の分解によって生じたフロックの破片を栄養源としており、浄化機能の有効な活性汚泥によくみられる種である。線虫もまれにみられるが汚水の浄化と直接的な関係はなく、活性汚泥中にあって細菌を補食し生活している。このような生物群によって社会構成がなされている活性汚泥が曝気槽内で汚水の浄化を行っているわけであるがこの曝気槽へ流入する汚水中に毒物が混入している場合、浄化機能の低下をしばしばまねく。これは①一次生産者である細菌類に特異的な毒性が働く。②二次生産者である原生動物に特異的な毒性が働く。③活性汚泥中の生物社会そのものに直接毒性が働く——の3つの場合が考えられるが、①の場合、細菌類が死滅し有機物の分解がなされなくなるのは勿論のこと、生菌を直接補食している遊走性セン毛虫、内呼吸相に優占的出現をする付着性セン毛虫も結局死滅し社会の崩壊が進む。②の場合、原生動物群の死滅によって補食される可能性を失った細菌類の一時的な激しい増殖がなされるか社会のバランスを無くし浄化機能の低下をまねく。③の場合は即浄化機能の停止となる。

一般には、③の場合が殆どであり毒性を論じる場合は、この③の活性汚泥中の生物社会そのものに毒性が働くと仮定すべきであろう。毒性が流入汚水に混入（活性汚泥に影響を与える場合。その毒物の濃度によって生物社会の変化は異なる）第一に

考えられるのは毒性がきわめて強く微生物群は全て死滅してしまう、第二に考えられるのは微生物群中ある種が急激に減少または死滅し種類相の著しい変化が生じる、第三に考えられるのは出現総個体数が著しく減少し種類組成の変化を伴う場合、伴わない場合があり、著者の農薬の毒性実験（1968、および未発表資料）によれば前者の方が毒性が強い、の3つの大きな生物社会の変化を考えることができる。

著者等の原生動物群を用いた毒性実験は、以上のような浄化槽内の生物社会のバランスが毒物によってどのように変化するかを観察し毒性を推定しようとするものである。また原生動物を特に試料として用いたのは前述のように活性汚泥の効果に密接であり、細菌の分類に比して分類が比較的早くできる等のためである。

1. トイレ・タイル用洗浄剤毒性実験の手法

本来このような実験を行う場合、実際に家庭または団地などに設置されている施設を用いるべきであるが、事実上実験の進行に伴い施設の機能低下が心配されるので、実験室内で実験用曝気槽、エバイ式曝気槽（有効容量 10L）のものを使用し培養を行った。栄養源である汚水は表-1のような組成であり 5L/day を連続的に滴下させた。

実験は一定期間曝気を続け微生物群の安定した汚泥 5ml をとり、洗浄剤を適当に希釈した後添加し全量を 10ml とした。この試料を開放系の L 字管で 25°C 下一定期間振とう培養し培養後の試料はすみやかに顕微鏡下で微生物群の定量的観察を行うとともに、汚泥の呼吸量の測定をプロダクトメーターで行った。また振とう培養 2 時間の試料については、洗浄剤の菌群に及ぼす急性毒性をみるため、大腸菌を指標とし、デスオキシコレート培地で定量を行った。

表-1 人工汚水組成	ペプトン	300mg
	肉エキス	200
	尿 素	50
	食 塩	1.5
	リン酸カリウム	7.0
	塩化カルシウム	7.0
	硫酸マグネシウム	5.0
水を加えて 1L とする		

2. 実験結果

トイレ・タイル用洗浄剤は薬事法で定められた劇物除外の 10% 以下塩酸系洗浄剤である。この洗浄剤の毒性を実験する前に主成分である塩酸の浄化槽内原生動物に及ぼす毒性を知る必要があるが、他に実験例を見ることができないので、塩酸の毒性を汚泥の呼吸量を通して推定しようと試みた。同時にこの実験は塩酸の毒性を推定し洗浄剤の濃度に対応させることによって、洗浄剤の毒性実験のスクリーニングテストにもおきかえられた。

塩酸の毒性実験の結果、塩酸が汚泥の呼吸量に及ぼす影響は次のようにになった。即ち、10%までの塩酸では呼吸量の値が 0.00L/10ml/10mm となり、毒性がきわめて強いと考えられた。

1~0.5%では対照の50%以下の呼吸量となり毒性はやはり強いと言えた。しかし0.1%では実験開始後48時間以内は毒性の危険がみられ、対照値の80%程度の値であったが、毒性域内であるとはいえないかった。

塩酸濃度0.01%では毒性の危険はきわめて少なく対照値とも殆ど変わらない値であった。

表一2 塩酸濃度と活性汚泥の呼吸量

単位:νL/10ml/0°C 760mmHg 10mm

HCL%	10	1	0.5	0.1	0.01	対照
時間						
30分	0.00	1.42	2.66	4.18	5.89	6.55
24時間	0.00	0.70	1.53	3.11	4.50	4.59
48時間	0.00	0.46	0.87	2.11	4.00	3.67
72時間	0.00	0.31	0.70	1.63	3.33	3.40

洗浄剤の実験では、実験に供した14検体全てのものが洗浄剤濃度1000ppmの汚泥できわめて高い濃度を示した。原生動物群に著しいみだれがみられ、特に付着性セン毛虫、遊走性セン毛虫を見出すことはできず、ベン毛虫類が見られたにとどまり、輪虫を中心とした後生動物がごくわずか見出された程度であった。総固体数も対照と比較し、50%以下となっていた。呼吸量も減少しており殆どの検体が対照の50%以下の値であった。

表一3 洗浄剤濃度と活性汚泥の呼吸量減少

濃 度 時間	1000 ppm			100 ppm		10 ppm	
	2	24	48	2	24	2	24
検体							
1	65	73	61	70	91		
2	138	39	84	92	107		
3	29	76	67	79	78	145	83
4	44	37	52			84	
5	46	38	100	69	64		
6	49	49	48	87	59		
7	45	66	35	90	91	83	106
8	/	/	/	/	/	/	/
9	32	61	88	97	92	172	88
10		24	58	83	63		
11	15	23	34	109	81	137	114
12	17	32	95	95	98	96	92
13	22	39	41	97	77		
14	51	29	84	91	88		
15	30	64	74	106	105	136	82

同様にして行った 100ppm による実験では、原生動物群の出現がかなり多くなり、付着性セン毛虫類、遊走性セン毛虫類とともにみられた。総個体数は、2時間後では対照に比較し 50%以下のものが多かったが 24 時間後では全て 50%以上となり、特に 80%以上のものが増加していた。ただし 80%以上の総個体数になったものは、ベン毛虫類が多く出現しており種類組成からいえばまた毒性の危険域に入ると思われた。ベン毛虫類の数がきわめて多くみられるという現象は、著者等の経験からいえば、異物による浄化機能の低下がある場合によくみられる現象である。

洗浄剤濃度 10ppm における実験では原生動物群の出現は種類組成、総個体数とも安定しており、対照と殆ど変わらず、毒性は無いと推定できた。

なお、実験結果の詳細は紙面の都合上省略する。

3. 実験を終えて

トイレ・タイル洗浄剤の活性汚泥中の微生物相におよぼす毒性についての実験は以上の結果であった。本来この種の洗浄剤は、前述のように塩酸含有量が 10%以下であるが、本実験で用いた洗浄剤の酸濃度検査の結果は、HCl $\omega/v\%$ として表一4のようになる。ただしこれは他の酸も含めた総和となるのであくまで参考として見るべきであるが、10%以上の値を示したのが3検体あった。

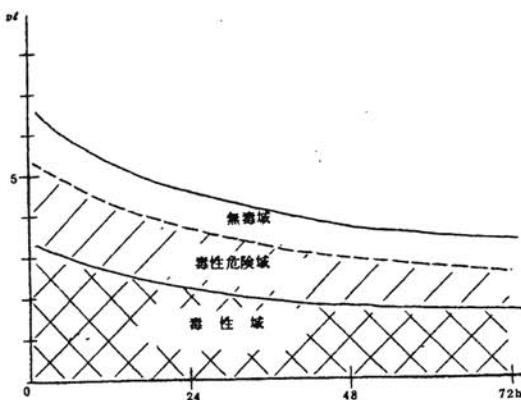
予備実験として行った塩酸の毒性実験は $0.01\omega/v\%$ を添加した場合、活性汚泥の呼吸量は対照と比較し $0.1vL$ 程度しか差がなく、これは実験程度差内に入ると考えられるので、呼吸量に対する影響はまずないと考える。 $0.1\omega/v\%$ になり呼吸量の減少がある程度みられ、特に添加後 48 時間後では、対照と比較し 57%まで減少しており、さらに 72 時間では 48%にまで減少している。

呼吸量を測定し毒性の影響を知るうえで、毒性についての一つの基準を設定する必要があるが、著者は対照と比較した場合呼吸量の減少に応じて、無毒性、毒性危険域、毒性域の3つの区域を設定した。

即ち、本実験に使用したプロダクトメーターは実験前の検討の結果、3~4回同一試料の呼吸量測定の平均値を得る場合、実験値に対し最大 10%の誤差範囲を与えるべきとした。そこでこの誤差範囲を 2 倍し、20%の差が対照と比較して生じた区域を設定し、即ち、対照の 80%以下を毒性危険域とした。同時に 80%以上の値は、無毒域とした。微生物相の観察でも、呼吸量が対照の 80%以上の汚泥では、一時的なショックによって個体数の減少があってもすみやかに回復した。

また 50%以下の区域で特に対照の 80%以下となる区域を毒性域とした。これは Bioassay における理論に準じたものである。

図-1 呼吸量における毒性域の決定



図一1における時間経過とともに下降するカーブは、培養中栄養源を与えないため、当初バクテリアによる生物酸化が活発であり、栄養源が減少するにしたがい酸化量が減少していくことが主な要因であると説明できる。また活性汚泥の呼吸量は、生物酸化に消費される酸素量、化学的酸化による酸素消費の総和であるが、しかし実際には化学的酸化に消費される酸素は常温、酸化促進剤の無添加状態では量的にごく小さいものであると考えられる。

このような区域の設定で、毒性域内に入る塩酸濃度は0.5%以上であり、0.1%付近では、毒性危険域内に入るといえる。また、完全に無毒域に入るのは0.1%以下の濃度といえる。

洗浄剤の実験結果を考えてみると、10,000ppmでは添加直後から呼吸量は零であり明らかに毒性域内である。また微生物の出現も全くなく、完全に毒性のために活性汚泥の生物社会の活動が停止したといえる。1,000ppmでは添加後24時間、48時間後における呼吸量の異常値を切り捨てた平均値は、 $2.18 \mu\text{L}/10\text{ml}/10\text{mm}$ 、 $2.56 \mu\text{L}/10\text{ml}/10\text{mm}$ 、となる。この値は添加後からただちに汚泥に強い影響を与えていたと考えられる。微生物相も組成がきわめて乱れており毒性の強いことがうかがえる。洗浄剤100ppmでは、全ての値が毒性域外の呼吸量であり、微生物相の組成も安定してきたといえる。10ppmの濃度では、呼吸量、微生物群の種類組成も全く安定し、対照とほぼ同じ状態であり無毒域といえた。

このように結果をみると洗浄剤の毒性は、1,000ppmが毒性域の限界であり、100ppmで毒性危険域の限界といえる。

洗浄剤に最大の10%の塩酸が含有されているとして塩酸自身では毒性限界が0.1%であることと対比して考えるなら、洗浄剤は10,000ppmが塩酸含有量からは毒性限界と推定できる。しかし実際には一連の実験から明らかなように、1,000ppmが毒性域の限界であり、10倍の差がある。これは洗浄剤の添加物による相乗作用により起こるものと推定され、特に界面活性剤の影響に疑いがもたれた。毒性の危険性ということで、毒性の範囲を考慮するならば、主成分の塩酸の毒性との差は10~100倍となり、相乗的な毒性効果を充分に推定できる。

以上のことは呼吸量を中心に論じたが各濃度で出現した微生物相の検討の結果でもこれはきわめて明らかであった。

著者らはこの相乗作用に関する研究及び界面活性剤の毒性研究をさらに進めていく考えであるが、今後このような洗浄剤の開発に際しては、企業側自身も主成分の毒性は勿論のこと相乗的な作用による洗浄剤の毒性を充分に考慮すべきであると考える。

(昭和48年7月「技術部会報No.1」より)