# 最終処分場浸出水・処理水のバイオアッセイの検討

堀内孝信」・佐藤民雄」・柳澤英俊2・鹿角孝男」・山本一海3

発光細菌を用いたバイオアッセイにおける阻害率に及ぼす塩濃度の影響について、高濃度食塩水を模擬試料として用いて検討した。最終処分場浸出水の塩濃度の影響は CI- を指標として評価した。その結果、最終処分場浸出水の塩濃度が測定値へ及ぼす影響はほとんど認められなかった。実際の最終処分場浸出水・処理水のバイオアッセイでは、浸出水 30 件中 5 件が阻害率 10%以上を示し、そのうち 2 件は EC50 が求められた.

キーワード:バイオアッセイ,発光細菌,廃棄物最終処分場,浸出水,塩濃度

#### 1. はじめに

廃棄物最終処分場には、経済活動や日常生活の中で発生した燃え殻、廃プラスチック、不燃ごみ等、様々な廃棄物が搬入され、埋め立てられる。埋め立てられた廃棄物に雨水が浸透して発生する浸出水には、様々な化学物質が含まれ1,未知の有害物質も含まれている可能性が考えられる。このため、処理水の化学検査が行われているが、多数の項目を実施するには、多大な労力を要している。そこで試料の1次スクリーニングとして試料全体の毒性影響を総合的に評価できる発光細菌を用いたバイオアッセイ(生物検定法)2)が注目されており、廃棄物最終処分場浸出水の毒性評価の研究2)~7)が多数報告されている。

本研究では、発光細菌を用いたバイオアッセイの阻害率に及ぼす塩濃度の影響について検討した後、実際の廃棄物最終処分場浸出水・処理水のバイオアッセイを行ったので、その概要について報告する。

## 2. 実験方法

#### 2.1 発光細菌を用いたバイオアッセイ

ドイツの DRLANGE 社が開発した毒性評価システムを使用した. 供試生物には発光細菌 (*Vibrio fischeri* NRRL B-11177) を用い、測定には専用の光度計 (LUMISmini) およびインキュベーター (15℃に制御)

を使用した.

#### 2.1.1 発光細菌の活性化

凍結乾燥された発光細菌に再活性溶液を入れ, 15℃で15分間静置して活性化した.

## 2.1.2 阻害率の測定

試料および対照 (純水) 0.45mL をそれぞれのキュベットにとり、そこへ 20w/v% 食塩水 0.05mL 加えた. 次に、活性化した発光細菌液 0.5ml を試料と対照それぞれのキュベットに加え、15  $^{\circ}$   $^{\circ}$  で 15 分間静置後、対照、試料の順にキュベットを LUMISmini にセットして阻害率を測定した。なお、阻害率の定量範囲は、 $10 \sim 90$ %である。

## 2.2 塩濃度の影響の検討

最終処分場の浸出水には、焼却灰等の埋立廃棄物の影響で塩濃度が高いものがあり、高浸透圧によるバイオアッセイへの影響 $^{3)}$ が指摘されている。このため、高濃度食塩水( $2\sim16$ w/v%)を模擬試料としてバイオアッセイを行い、阻害率に及ぼす塩濃度の影響を検討した。

# 2.3 廃棄物最終処分場浸出水・処理水のバイオアッセイ

2004 年度に県内の廃棄物最終処分場(一般廃棄物最終処分場14 施設,産業廃棄物最終処分場17施設)から採水した浸出水30件,および処理水18件を試験に供した. 試料は、実験室に持ち帰り、孔径0.45 μ m のメンブレンフィルター(親水性

- 1 長野県環境保全研究所 循環型社会部 〒380-0094 長野県長野市安茂里米村1978
- 2 長野県環境保全研究所 保健衛生部
- 3 財団法人長野県廃棄物処理事業団 〒 380-0836 長野市南県町 688-2

表1 高濃度食塩水の阻害率

食塩水濃度 (w/v%)	2	4	8	16	
Cl- (mg/L)	12000	24000	48000	97000	
阻害率 (%)	0	0	<10	>90	

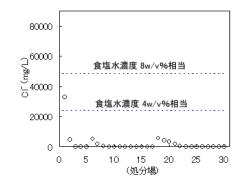


図1 浸出水の Cl-濃度

PTFE)でろ過し、ガラス製 10ml 遠沈管 に密栓し試験までの期間冷蔵庫(-5°C)に保管した.

なお、採水時に電気伝導率 (EC:Electrical Conductivity) を携帯測定器で測定し、試料を実験室に持ち帰り、塩化物イオン

(Cl-), 化学的酸素要求量(COD)の測定を行った.

## 3. 結果及び考察

## 3.1 阻害率に及ぼす塩濃度の影響の検討

## 3.1.1 高濃度食塩水による検討

高濃度食塩水の阻害率測定結果を表1に示す.塩濃度が及ぼす阻害率への影響は、食塩濃度 4w/v%以下では阻害率が0%で全く認められず、8w/v%でわずかに認められた.16w/v%では阻害率が>90%であり、大きな影響を受け測定が行えないことがわかった.

#### 3.1.2 最終処分場浸出水の塩濃度の影響について

最終処分場浸出水等の阻害率および Cl- 濃度等の測定結果を表 2 に示す. 浸出水の塩濃度を現す指標として Cl- を用いて高濃度食塩水の Cl- と比較を行い,阻害率に及ぼす最終処分場浸出水の塩濃度の影響について検討した. 今回測定に用いた最終処分場の浸出水の Cl- 濃度レベルを図 1 に示す. 高濃度食塩水による検討において阻害率への影響がわずかに認められた食塩濃度 8w/v%に相当する Cl-

表 2 最終処分場浸出水等の阻害率と Cl- 濃度等の水質

		コスパベス		. П. 1. П.	7171	1 C 01	1/12/2	1 - 2/11/54	
最 終		浸出水			処理水				
取 於 処分場	種類	阻害率	Cl-	EC	COD	阻害率	Cl-	EC	COD
处归物		(%)	(mg/L)	(mS/m)	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(mS/m)	(mg/L)
1	産廃	>90	33000	>2000	170	-	_	_	_
2	産廃	85	4600	1300	150	<10	3000	1000	2.0
3	産廃	36	220	330	150	<10	190	270	77
4	産廃	19	62	97	18	<10	60	89	18
5	産廃	10	94	160	18	<10	85	160	17
6	一廃	<10	5300	1500	12				
7	一廃	<10	1900	590	7.0	_	_	_	_
8	産廃	<10	390	77	7.5	_	_	_	_
9	一廃	<10	230	170	10	_	_	_	_
10	産廃	<10	200	170	8.0	_	_	_	_
11	産廃	<10	11	72	77	_	_	_	_
12	一廃	<10	10	63	2.9	_	_	_	_
13	産廃	<10	8.8	68	6.7	_	_	_	_
14	産廃	<10	6.5	43	5.2	_	_	_	_
15	産廃	<10	2.7	6.1	10	_	_	_	_
16	一廃	<10	< 0.5	3.5	13	_	_	_	_
17	産廃	<10	< 0.5	76	79	_	_	_	_
18	一廃	<10	5700	1700	26	<10	1500	630	1.9
19	一廃	<10	4400	1400	23	<10	4000	1200	4.6
20	一廃	<10	3200	840	5.7	<10	810	260	2.6
21	一廃	<10	1900	590	14	<10	1400	450	3.9
22	一廃	<10	410	300	49	<10	420	260	37
23	一廃	<10	180	180	4.6	<10	140	140	3.8
24	産廃	<10	120	300	27	<10	120	240	18
25	産廃	<10	100	230	26	<10	9.2	14	1.1
26	産廃	<10	96	250	0.8	<10	90	240	0.8
27	産廃	<10	87	150	23	<10	98	190	14
28	産廃	<10	57	150	18	<10	23	81	7.2
29	一廃	<10	53	110	22	<10	430	190	5.1
30	一廃	<10	25	33	6.5	<10	20	32	7.0
31	一廃	_	_	_	_	<10	19	49	2.2
- 144	. 60.06	₹ <b>25</b> 88m/m /△↓↓	of the refer	本类成态的	- hr / \ LH		nomple		

一廃:一般廃棄物処分場 産廃:産業廃棄物処分場 一:no sample

が 48000mg/L 以上の浸出水は全く認められなかった. 処分場 1 が 33000mg/L で食塩濃度に換算して 5.4w/v%で最も高く,その他は全て測定値への影響が全く認められなかった食塩濃度 4w/v%に相当する CI- が 24000 mg/L 以下の浸出水であった.このことから,今回測定した最終処分場浸出水の塩濃度が測定値へ及ぼす影響はほとんどないものと考えられた.

## 3.2 最終処分場浸出水等のバイオアッセイ

## 3.2.1 最終処分場浸出水等の阻害率

最終処分場の浸出水の阻害率は,処分場1が>90%で最も高く,次いで処分場2が85%を示した.また,処分場3,4,5もそれぞれ36,19,10%を示し,30件中5件(17%)が阻害率10%以上であった(表2).

一方, 処理水の阻害率は, 浸出水で阻害率 10% 以上を示した処分場 2,3,4,5 を含め, 18 件全てが阻害率 <10%であった. この結果から, 阻害物質を含んだ浸出水は, 排水処理されることにより阻害物質が分解, 分離, 希釈等され阻害率が低下したと推測される.

表3 浸出水の阻害率(%)

処分場	最小	最大	平均值	測定回数
1	>90	>90	>90	3
2	84	87	85	4
3	25	41	36	4
4	18	20	19	2
5	9	11	10	2

また、阻害率 10%以上を示した処分場 1,2,3,4,5 の浸出水について、阻害率をくり返し測定し測定値の確認、および測定精度を検討した。その結果を表3に示す。測定を2回から4回繰り返し行った結果、処分場3を除き、測定値はよく一致した。

次に、阻害率 10%以上を示した処分場 5件の浸 出水のうち、阻害率が定量上限(90%)を超え、 定量化できなかった処分場1および、阻害率85% を示した処分場2の浸出水を用いて、浸出水を原 液から2倍ずつ16倍まで希釈して阻害率を測定 し、50%阻害濃度 (EC50: Effect Concentration 50). 即ち阻害率 50%に相当する試料比の算出を試みた. 希釈試料の希釈倍数と阻害率の関係を図2に示す. 処分場 1,2 とも試料の希釈に伴って阻害率は対数関 数的に減少し,回帰直線が得られた.この回帰直線 の傾きから処分場 1,2 の EC50 はそれぞれ 4.8% お よび 7.3% と算出された。処分場 1 は, 希釈なし(原 液)では阻害率(阻害の強さ)が定量化できなかっ たが、EC50を求めることにより阻害の強さが定量 化できた. また, 他の浸出水についても希釈倍率を 変化させ傾きを求めることにより EC50 を算出し処 分場別, または他のバイオアッセイの結果と比較<sup>4)</sup> することが可能であることが示唆された.

## 3.2.2 阻害率と水質等の比較

阻害率と水質の関係を調べるため、浸出水の阻害率と EC, および COD (表 2) について、散布図を作成し図 3 および図 4 に示す.

浸出水のECと阻害率(EC>2000mS/m は, 2000mS/m, 阻害率<10%は,5%,>90%は,95%とした.)の散布図では,EC1000mS/m以上で阻害率85%以上の試料が2件あったが、<10%の試料も3件あり、明らかな関係は認められなかった.

浸出水のCODと阻害率(阻害率<10%は,5%,>90%は,95%とした.)の散布図(図4)では,CODが高い試料で阻害率が高い傾向が見られ,阻害物質と有機物の関連性が示唆された.

浸出水の阻害率が10%以上であった処分場はすべて産業廃棄物の処分場(表2)で、その埋立物を

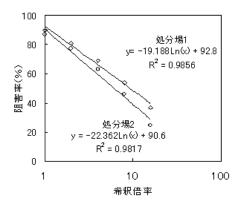


図2 希釈試料の阻害率

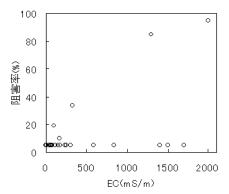


図3 浸出水のECと阻害率

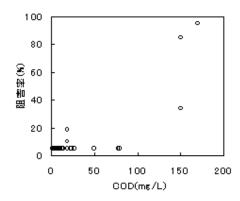


図4 浸出水の COD と阻害率

調査し結果を表4に示した.これらの処分場は廃プラスチック類,燃え殻および汚泥が主な埋立物であり,処分場1を除き4カ所の処分場で廃プラスチックが主な埋立物であった.なお,処分場1は廃プラスチックの埋立可能な処分場であった.笹井®らは,廃プラスチックが埋め立てられた処分場の浸出水からビスフェノールA,ブチルフェノール等の化学物質を検出している.また,発光細菌を用いたバイオアッセイにおいて阻害を示す物質として水銀,砒素等の重金属の他,フェノール,クロロフェノール等

表 4 最終処分場の主な埋立物

	27 - 121 (0.03) 22 - 23 - 22 - 13
処分場	埋立物の種類
1	燃え殻、汚泥等
2	燃え殻、汚泥、廃プラスチック類等
3	廃プラスチック類、ガラス及び陶磁器くず等
4	燃え殻、廃プラスチック類等
5	廃プラスチック類、がれき類等

の有機物が報告されている<sup>2)</sup>. 今回の測定において, 廃プラスチック等に由来した有機物が発光細菌の阻 害に関与した可能性もあると推測された.

# 4. まとめ

- (1) 発光細菌の阻害率に及ぼす塩濃度の影響は,食 塩濃度 4w/v%以下では,全く認められず,8w/v% でわずかに認められた.
- (2) 今回試験に供した最終処分場浸出水の塩濃度は、最高値でも Cl- 換算で食塩濃度 8w/v%相当以下であった。30 件中 29 件(97%)は、Cl- 換算で食塩濃度 4w/v%相当以下で、最終処分場浸出水の塩濃度が測定値へ及ぼす影響はほとんどないものと考えられた。
- (3) 浸出水 30 件中 5 件 (17%) が阻害率 10%以上であった. 処理水の試料がない処分場 1 を除き処分場 2,3,4,5 の処理水は, 阻害率が <10% に低下した. このことは, 排水処理工程において阻害の要因となった物質が分解, 分離, 希釈等の作用を受けて阻害率が低下したと推測された
- (4) 阻害率が85%以上を示した処分場1,2の浸出水は,希釈試料の阻害率を測定してEC50の算出を行った.処分場1の浸出水は,希釈なし(原液)では阻害率(阻害の強さ)が定量化できなかったが、EC50を求めることにより阻害の強さを定量化することができた.
- (5) 発光細菌を用いたバイオアッセイは、ミジンコを用いたバイオアッセイ<sup>4)</sup> に比べ、供試生物の管理が容易な上、試験時間は約1時間で迅速性にも優れていた。また、処分場の浸出水や処理水の塩濃度による影響がほとんど認められなかったことから、最終処分場浸出水・処理水の

バイオアッセイに有効な試験方法であると考えられた.

## 謝辞

本研究は、財団法人長野県廃棄物処理事業団の産業廃棄物処理技術研究会の調査研究として実施した.バイオアッセイの測定は、長野市保健所の測定装置を使用させていただいた.関係各位に厚くお礼申し上げます.

## 文 献

- 1) 安原昭夫,中杉修身 (1992) 廃棄物埋立地浸出水中の化学成分 (第1報),環境化学,**2**,25-30.
- 2) 細見正明 (1993) マイクロトックスによる水質評価, 用水と廃水, **35**, 333-336.
- 3)長島寛,藤原朋広,国本学(2001)バイオアッセイによる排水試料の有害性評価に伴う問題点の解析,水環境学会誌,24,110-114.
- 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(2005)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,33-2,49-58.
- 5) 渡部富廣,上田成一,衛藤毅,本多邦隆 (1995) マイクロトックスを用いた産業廃棄物処分場の 毒性スクリーニング,長崎県衛生公害研究所報, 41,82-85
- 6) 水谷博和,山川雅弘,前田雅也,地主昭博,松岡行利,白井宣一郎 (1996) バイオアッセイによる産業廃棄物の浸出液の毒性評価について,三重県環境科学センター研究報告,16,21-29.
- 7) 北橋伸一 (1997) マイクロトックスによる最終処分場浸出水の毒性評価,千葉県廃棄物情報技術センター年報,4,99-103.
- 8) 笹井春雄, 細井要一, 小口文子, 川又秀一, 白石不二雄, 白石寛明 (2003) 廃棄物最終処分場排水における内分泌攪乱化学物質の実態—化学分析とバイオアッセイ—, 長野県衛生公害研究所研究報告, 26, 7-15.

# Bioassay of the Leachate eluted from Landfills befor and after the Treatment

Takanobu Horiuchi  $^1$  • Tamio Sato  $^1$  • Hidetoshi Yanagisawa  $^2$  Takao Katsuno  $^1$  and Kazumi Yanamoto  $^3$ 

- 1 Nagano Environmental Conservation Research Institute, Recycling Society Division, 1978 Komemura, Amori, Nagano 380-0944, Japan.
- 2 Nagano Environmental Conservation Research Institute, Pablic Health Division.
- 3 Nagano Prefectural Waste Treatment Coop., 688-2 Minamiagatamachi, Nagano 380-0836, Japan.