

製塩および造水プラント廃水の環境影響評価と同影響軽減に関する研究

角田 出¹⁾, 佐藤 利夫²⁾, 佐藤 周之³⁾, 柳 明⁴⁾

¹⁾ 石巻専修大学理工学部, ²⁾ 島根大学生物資源科学部, ³⁾ 高知大学教育研究部, ⁴⁾ 石巻専修大学人間学部

概要【目的】 製塩や造水プラントでは、大量の海水やかん水を取り込み、濃縮あるいは希釈した排海水を周辺の環境水中へ放流している。それぞれの施設では、使用する水の清浄処理や施設の維持管理等に使用される、あるいは、同使用に伴って発生する、種々の有機・無機性懸濁物質、前処理剤やメンテ用薬剤、重金属類や可塑剤等の流出、廃水の温度上昇、塩分濃度変化等による環境影響が懸念されている。特に、閉鎖性水域への排かん水放流に際しては、重大な環境問題を生じる可能性が高い。持続的、調和的な海水資源の利用を考えた場合、上記プラントからの流出水が周辺の水圏生物に及ぼす影響を評価するとともに、それらが周辺の環境に及ぼす影響をできる限り低減する方策を検討しておく必要がある。

本研究では、上記の課題解決に向け、先ず、海水中に生息する生物に対する塩分濃度や温度の変化が上述の環境負荷物質に曝露された生物の生理指標に及ぼす影響(複合影響)を調べるとともに、実際の製塩、造水施設からの廃水が環境・生態系に及ぼす影響を調査したので報告する。

【方法】

- 1) ヒラメ稚魚を、20℃下において、塩分濃度(22, 33 および 40 ppt)と銅濃度(0.001 mg/L 以下および 0.05 mg/L)の異なる海水中で3週間飼育し、血液中のコレチゾルおよびナトリウム・カリウム・塩化物イオン濃度を測定するとともに、肝臓中の銅濃度を調べた。また、一部の個体については、飼育開始から3週間後に45分間の空中放置試験を行い、血液中コレチゾル濃度の経時変化を調べた。
- 2) マハゼを、水温(16, 22 および 28℃)と重亜硫酸ソーダ濃度(SBS:0.25, 2.5 および 25 mg/L)の異なる海水中で3週間飼育し、血液中のコレチゾルおよびナトリウム・カリウム・塩化物イオン濃度を測定するとともに、生体防御指標として、体表の粘液分泌量とリゾチーム活性、血液中顆粒球の貪食および殺菌作用を調べた。加えて、16 および 22℃で飼育した一部の個体については、高温移行試験として、温度のみ1℃/時間の割合で28℃に上昇させた後、3日間、同水温下での飼育を課し、血液中のコレチゾルや上記イオン濃度変化を調べた。
- 3) 瀬戸内海および九州沿岸域の製塩および造水施設周辺の海域において、海水中の微生物叢、採捕されたハゼ類の生理指標(代謝関連酵素活性等)を調べた。

【結果および考察】

- 1) 異なる塩分濃度下で低濃度の銅に曝露されたヒラメ稚魚の血液中コレチゾル濃度に有意な変化は認められなかった。ただし、肝臓中の銅含有量は高塩分下で銅に曝露された個体で高かった。45分間の空中放置は、魚の血液中コレチゾル濃度を著しく上昇させたが、高塩分や銅添加海水に曝露されていた魚における反応性は高かった。また、低塩分や高塩分下で銅に曝露された魚では空中放置に伴うストレスからの回復速度が遅れることが分かった。加えて、高塩分下では、銅に曝露された魚の血液中カリウムおよび塩化物濃度が、同負荷なしの魚に比べ、有意に高くなった。すなわち、高塩分下では、銅等の汚染物に曝露されたり、二次的なストレス負荷が生じたりした場合、魚に高ストレス状態が惹起されるとともに、ストレス状態からの回復に通常以上の長い時間を要すようになることから、学習、摂餌、逃避等

の諸行動の異常や生体防御活性の低下等を通して、魚の生残率や成長率が低下する方向に進みやすいことが分かった。

- 2) 異なる温度下で SBS に曝露されたマハゼでは、28℃で 2.5 および 25 mg/L の SBS に曝露された個体において、血液中コルチゾル濃度が高値となる傾向にあったほか、顆粒球の殺菌活性の有意な低下が認められた。また、各温度とも、25 mg/L の SBS に曝露された魚では、体表粘液分泌量が減少する傾向にあった。高温移行試験では、SBS 添加なしの群に比べ、同添加群では、血液中コルチゾル濃度が有意に高くなった。なお、血液中コルチゾル濃度の変動は、温度差が大きいほど、また、SBS 濃度が高いほど、大きくなった。すなわち、高温下では SBS 等の環境負荷物の影響が出やすく、また、急激な温度変化の下では同負荷物の影響は大きくなる可能性の高いことが分かった。
- 3) 製塩施設周辺の微生物叢では、細菌数には大きな差は認められなかったが、*Pseudomonas* 属や *Flavobacterium* 属の細菌組成率が高くなり、一方、造水施設周辺では、*Streptococcus* 属、*Vibrio* 属や *Acinetobacter* 属の割合が増加する傾向にあった。ハゼの代謝関連酵素活性については、上記施設周辺で捕獲された魚で、血液中のグルタミン酸-ピルビン酸-アミノ基転移酵素活性の上昇、肝臓のフォスホフルクトキナーゼ (PFK) 活性の低下とカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I・II 活性の上昇、筋肉の PFK 活性の低下とクレアチンキナーゼの活性上昇がみられたが、魚を採捕した時期による変動が大きく、恒常的な違いを認めるに至らなかった。結果として、施設周辺海域の微生物叢やハゼ類の代謝関連酵素活性等からは、当該施設稼働に伴う顕著な影響を捉えることは出来なかった。上記施設によっては、分散あるいは多段階放流、希釈・一時貯留施設等を併設しているところもあり、廃水による環境影響軽減にはかなりの配慮が認められるところもある。

本結果は、今後、地球温暖化に伴う海水温上昇に加えて、閉鎖系海域への廃水流出については、廃水の温度差、塩分濃度差、環境負荷物質濃度等の削減対策に加えて、その短期間内での変動幅(変化速度)の大きさにも留意する必要性のあることを示唆する。

1. はじめに

製塩や造水施設では、大量の海水やかん水を取り入れ、濃縮あるいは希釈した海水を周辺の環境水域へ放流している。

それぞれの施設では、使用する水の清浄処理や施設の維持管理等に使用される、あるいは、同使用に伴って発生する、種々の有機・無機性懸濁物質、前処理剤やメンテナンス用薬剤、重金属類や可塑剤等の流出、廃水の温度上昇、塩分濃度変化等による環境影響が懸念されている⁽¹⁴⁾。特に、閉鎖性水域への排かん水放流に際しては、重大な環境問題を生じる可能性が高い。持続的、調和的な海水資源の利用を考えた場合、上記プラントからの流出水が周辺の水圏生物に及ぼす影響を評価するとともに、それらが周辺の環境に及ぼす影響をできる限り低減する方策を検討しておく必要がある。

本研究では、上記の課題解決に向け、先ず、海水中に生息する生物に対する塩分濃度や温度の変化が上述の環境負荷物質に曝露された生物の生理指標に及ぼす影響(複合影響)を調べるとともに、実際の製塩、造水施設

からの廃水が環境・生態系に及ぼす影響を調査した。

2. 材料及び方法

2. 1 製塩施設あるいは造水施設よりの廃水が海産魚類に及ぼす影響の調査

2. 1. 1 ヒラメ稚魚に対する、塩分濃度と銅濃度の複合影響

ヒラメ *Paralichthys olivaceus* 稚魚(体重約 20 g)を、水温 20℃において、塩分濃度(22, 33 および 40 ppt)と銅濃度(対照群;0.001 mg/L 以下、銅負荷群;0.05 mg/L)の異なる海水中で3週間飼育し、血液中のコルチゾル(ストレスホルモン)およびナトリウム・カリウム・塩化物イオン濃度を測定するとともに、肝臓中の銅濃度を調べた。

すなわち、ヘパリンリチウムにてコーティングした注射器を用い、心臓より採取した血液を 3,000 rpm、5 分間遠心分離し、血漿分画を得た後、血漿中のコルチゾルは、ジエチルエーテル(和光社製)を用いて抽出後、コルチゾル EIA キット(OXFORD BIOMEDICAL RESEARCH 社製 No.EA65)を用いて、ナトリウム、カリウム、塩化物イオンは

電極法(富士ドライケム DRI-CHEM 800)により測定した。また、肝臓中の銅は、切り出した肝臓試料を秤量後、テフロン製密閉容器に入れ、硝酸と過塩素酸の混合液(5:1)を加えて、オートクレーブで加熱溶解し、原子吸光分光光度計(島津製作所 A-660)を用いて計測した。

また、一部の個体については、飼育開始から3週間後に45分間の空中放置試験を行い、血液中コルチゾル濃度の経時変化を調べた。

なお、取り上げの前日まで、魚にはヒラメ用配合飼料(日清丸紅飼料(株)社製 EP)を、週に5日間、1日に体重の2%量を投与した。

2. 1. 2 マハゼに対する、水温と重亜硫酸ソーダの複合影響

マハゼ *Acanthogobius flavimanus* (体重 8 - 15 g) を、水温(16, 22 および 28°C)と重亜硫酸ソーダ濃度(SBS:0.25, 2.5 および 25 mg/L)の異なる海水中で3週間飼育し、血液中のグルコース濃度を測定するとともに、生体防御指標として、体表の粘液分泌量とリゾチーム活性、血液中顆粒球の貪食および殺菌作用を調べた。加えて、16 および 22°Cで飼育した一部の個体については、高温移行試験として、温度のみ1°C/時間の割合で28°Cに上昇させた後、3日間、同水温下で飼育して、上記指標を調べた。

血液中のグルコースは酵素法を用いたキット(和光社製グルコーステストワーカー)を用いて測定した。体表粘液分泌量は、ブアン固定した体表をパラフィン包埋し、薄切した後、PAS染色して、連続切片について体表粘液細胞数を測定し、体表一定面積当たりの粘液細胞数として記述した。体表粘液のリゾチーム活性は、一定面積の体表から粘液を掻き取り、同粘液試料をリン酸緩衝液(300 mM, pH7.0)で希釈後、*Micrococcus luteus* (和光純薬)を対象に溶菌活性を測定した。すなわち、*M. luteus* 液 200 μ l に対し、粘液試料 10 μ l を添加し、室温で120分間の吸光度の低下を調べ、その差(Δ 650nm 吸光度/時間)を活性とした。血液中顆粒球の貪食作用は、全血とザイモザン(和光純薬;酵母細胞壁)を溶解した生理食塩水(0.8% NaCl 溶液)を等量に混ぜ、ゆっくりと転倒混和しながら、室温 20°Cで40分間反応させた。反応終了後、均一化した反応液の一部をスライドグラスに滴下し、直ちに塗抹、風乾した後、メイグリーンワルド・ギムザ染色を施して検鏡した。貪食率は100個以上の顆粒球を観察し、貪食率(%) = (ザイ

モザンを食した顆粒球数/観察した顆粒球数) \times 100 として求めた。また、顆粒球の殺菌作用は、NBTの還元反応を、Park *et al.* (1968)の方法⁵⁾を一部改変して実施し、以下の方法により求めた。すなわち、全血 200 μ l を Ht 管に充填した後、1,000 g で5分間遠心し、白血球部分を中心に RPMI1640 で再分散させた後、この白血球分散液に NBT(Sigma 社製)を0.2%になるように RPMI1640 に溶解した液を1:2の割合で混合し、20°Cで60分間反応させた後、均一化した反応液の一部をスライドグラスに滴下し、直ちに塗抹、風乾し、ライト・ギムザ染色を施して検鏡した。NBT還元活性は、100個以上の顆粒球を観察し、ホルマザンを形成している顆粒球の出現率(陽性率)として表記した。

なお、取り上げの前日まで、魚にはヒラメ用配合飼料(日清丸紅飼料(株)社製 EP)を、週に5日間、1日に体重の2%量を投与した。

2. 1. 3 低塩分がマダイ稚魚の代謝活性に及ぼす影響

水温 25°Cに順化したマダイ *Pagrus major* 稚魚(全長約 30 mm:50 - 60 日令)を、塩分濃度(22, 28 および 33 ppt)下で5週間飼育後、一部個体を対象に高温負荷試験を実施した。5週間、異なる塩分濃度下で飼育した魚を対象に、酸素消費量を測定した。また、高温負荷試験では、1日に1°Cの割合で33°Cまで温度を上昇させ、その間の死亡個体数をチェックした。

なお、取り上げの前日まで、魚にはマダイ用配合飼料(日清丸紅飼料(株)社製育成用 EP スーパー)を、週に5日間、1日に体重の2%量を投与した。水中の酸素消費量測定に際しては、魚を流水飼育可能な容量 1 L の容器に収容し、1日静置後に、水流を止め、3時間の水中酸素濃度変化あるいは飼育水中の溶存酸素濃度が70%になるまでの時間を、ウインクラー法により飼育水中の酸素量を測定することで求めた。

2. 2 製塩、造水施設廃水の環境影響評価

2. 2. 1 製塩、造水施設周辺海域の微生物環境および魚類の生理指標調査

瀬戸内海および九州沿岸域の製塩施設 A と B および造水施設 α の排水路周辺から周辺海域の数カ所において、原則として異なる時期にそれぞれ複数回、バケツを用いて表層(表面~50 cm)から、および、採水器(ウォーターサンプラー WS;ケニス株式会社製)を用いて底層から

50 cm の位置から採水した。採取した海水は、孔径 1 μm のグラスファイバーフィルター(GS-25:ADVANTEC 社製)を用いてろ過した後にグルタルアルデヒドで固定した。同試料は孔径 0.2 μm と 0.8 μm のポリカーボネイトフィルター(ADVANTECH 社製)をホルダーにセットし、試料 100ml を吸引ろ過した後、0.2 μm のフィルターを Dapi 溶液(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)により反応させ、スライドガラスにマウントして蛍光顕微鏡により観察し、以下の式により海水中の全菌数を求めた:細菌(全菌)数(Cells/ml) = (Cf \times R) / Fs (Cf; 平均細胞数/視野, R; 有効ろ過面積/計数視野面積, Fs; 海水試料のろ過量(L))。また、生菌数および細菌組成は、採水後の早々に原液もしくは滅菌済み人工海水で段階希釈して、トリプトソイ寒天培地(一般従属性細菌)と ORI 培地(貧栄養細菌)に塗抹し、一定期間培養後コロニーの計数を行うと共に、前者で増殖が確認された細菌の組成を常法に準じて求めた。

また、周辺海域においてマハゼ *Acanthogobius flavimanus* とアゴハゼ *Chaenogobius annularis* を採捕し、以下の生理指標を調べた。すなわち、マハゼについては、血中コルチゾル濃度、体表粘液分泌量(粘液細胞数)、血液中顆粒球の NBT 還元活性を前述の方法によって測定するとともに、血中グルタミン酸-ピルビン酸-アミノ基転移酵素(GPT)、肝臓および筋肉中のフォスホフルクトキナーゼ(PFK:解糖系の律速酵素)、カルニチン-o-アセチルトランスフェラーゼ(CPT: β 酸化経路で代謝される脂肪酸の量を調節する酵素)、グルタミン酸脱水素酵素(GDH:糖代謝経路途中の有機酸である α -ケトグルタル酸とアンモニアを反応させ、グルタミン酸をつくる反応を触媒する酵素)を調べた。また、アゴハゼ(潮間帯で採捕)では、個体全体のホモジナイズ液のコルチゾル濃度を前述のキットを用いて測定した。

血中 GPT 活性は、ヘパリンナトリウムでコートした注射器を用いて採取した血液を 5,000 g で遠心し、血漿分画を得て、血漿を試料として GPT 測定用キット(和光純薬社製:トランスアミナーゼ CII テストワコー)を用いて測定した。

また、採取した肝臓や体側筋を 5 倍量の冷緩衝液(pH 7.4, 0.25 M スクロースと 0.1 mM EDTA 含有 3 mM Tris-HCl 緩衝液)中で均一化後、4°C, 8,000 g で 30 分間遠心分離し、上清を PFK 測定用に、沈殿を Tween80 含有

20 mM Tris-HCl 緩衝液で再溶解後、超音波処理し、再度、4°C, 8,000 g で 30 分間遠心して得た上清を GDH 測定用に供した。CPT 活性は、同上清に 0.24 M スクロース含有の 20 mM Tris-HCl 緩衝液(pH 7.5)を加え、良く混和後、14,000 g で 10 分間遠心分離し、沈殿に前述の緩衝液を加えて良く混和してから、再び 14,000 g で 10 分間遠心分離し、沈殿に同緩衝液を加えて均一化したものを試料として測定した。

PFK は、50 mM Tris HCl(pH 7.5)緩衝液に 4.5 mM フルクトース 6リン酸、3 mM ATP、25 mM KCl、6 mM MgCl₂、0.15 mM アルドラーゼ、0.15 mM トリオーズリン酸イソメラーゼ、0.15 mM グリセロール 3リン酸デヒドロゲナーゼを混合し、酵素液を 100 μL 添加(最終量 1.0 mL)することで反応を開始し、340 nm で NADP の還元率を測定(5 分間、20°C)した。GDH は、Iwata らの方法⁽⁶⁾に準じて(α -ケトグルタル酸、アンモニアの存在下で、340 nm で NADH の酸化率を測定)測定した。また、CPT は、試料と 20 mM HEPES 緩衝液(pH7.5 ; 1 mM EGTA, 220 mM スクロース, 40 mM KCL, 0.1 mM ジチオビス)に 1.3 mg/ml BSA, 40 mM パルミトリン-CoA, 酵素液 200 μL を混合し、1 mM カルニチンを添加(最終量 1.2 mL)することで反応を開始し、412 nm で 5 分間の吸光度変化を記録した。なお、酵素活性の測定は 20°Cで行ない、各活性は酵素液中に含まれる 1 mg のタンパク質が 1 分間あたりに何 μmol の基質または補酵素を変化させることができるか($\mu\text{mol}/\text{mg}$ タンパク質/分)で示した。試料中のタンパク質量はフォーリン・ローリー法⁽⁷⁾によって測定した。

2. 2. 2 製塩施設 A の廃海水が海産魚類の生残および生理指標に及ぼす影響

製塩施設 A より複数回採取・混合した廃海水、周辺海域(前述の R5, 6 に相当付近)の海水、および、人工海水に全長 35~40 mm のマダイ稚魚を収容(20尾/60 L)し、20°Cで飼育し、14 日間の生残率変化を求めた。飼育期間を通じて、魚には毎日、鯛稚魚用ハイウェー EP(日本配合飼料社製)を 5 分間で食べきれぬ量を与えた。また、同試験で 14 日間生存した個体の鰓を対象に、一価イオンの輸送(浸透圧調節)に係わる Na-K-ATPase 活性を Ban の方法⁽⁸⁾により測定するとともに、酸化ストレスマーカーとしてスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)活性を SOD Assay Kit-WST(同仁化学社製)を用いて測定⁽⁹⁾した。

3. 結果および考察

3. 1. 1 ヒラメ稚魚に対する、塩分濃度と銅濃度の複合影響

異なる塩分濃度(低塩分海水;2/3 海水=22 ppt, 通常海水;33 ppt, 高塩分海水;6/5 海水=40 ppt)と銅濃度(銅負荷なし条件;0.001 mg/L 以下, 銅負荷条件;0.05 mg/L)下で飼育したヒラメ稚魚, および, 当該魚に 45 分間の空中放置ストレス負荷試験を行った際の血液中コルチゾル濃度を Fig. 1 に示す。異なる塩分濃度下で 0.05 mg/L の銅に曝露した場合, 静置(他のストレスが負荷されていないような)状態では, 低塩分や高塩分下で銅に曝露されても, ヒラメ稚魚の血液中コルチゾル濃度に有意な差は認められなかった。すなわち, 静置状態下のヒラメ稚魚は低塩分や高塩分海水への曝露, 0.05 mg/L の銅含有海水への曝露, および, その複合曝露によって有意な影響を受けることはなかった。しかしながら, 各塩分下で飼育されたヒラメ稚魚にストレス負荷試験として45分間の空中放置を行い, 同負荷に伴う魚の血液中コルチゾル濃度の経時的変化を調べると, コルチゾル濃度の低下に時間を要したり

(ストレスからの回復期間の延長), コルチゾルの最高濃度が上昇したりする(ストレス強度の上昇が生じる)ことが分かった。すなわち, 低塩分海水下で 0.05 mg/L の銅に曝露された場合には前者が, 高塩分海水での飼育時には後者が観察されたほか, 高塩分下で 0.05 mg/L の銅を含む海水に曝露されたヒラメでは両者の変化が現れた。本結果は, 高塩分下に置かれている魚では, 銅を含めた環境汚染物質への曝露, 温度の上昇や下降, 溶存酸素濃度の低下等の二次的ストレスが負荷された場合, その影響が出やすい, あるいは, 大きく出てしまう可能性の高いことを示唆する。また, 低塩分海水に曝露されている魚は, 通常海水中にいる魚に比べて, 二次的ストレスを受けた場合の回復が遅れる可能性のあることを示す。

異なる塩分濃度と銅濃度下で飼育したヒラメ稚魚の肝臓中の銅含有量を Fig. 2 に示す。肝臓中の銅含有量は, 飼育水に銅を添加した状態で飼育した場合に増加したが, その増加率は海水の塩分濃度により異なり, 高塩分下で銅に曝露された個体においてのみ有意に増加した。

異なる塩分濃度と銅濃度下で飼育したヒラメ稚魚の血

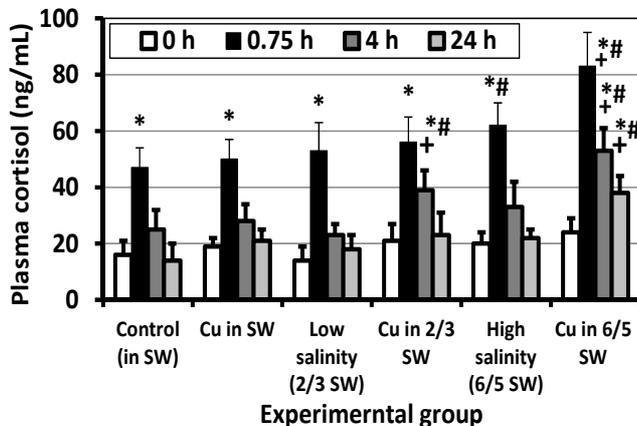


Fig. 1. Effect of copper and salinity on the plasma cortisol levels of juvenile flatfish. Fish were exposed to different salinity seawater with or without 0.05 mg/L copper for 3 weeks, and then air exposure test (for 45 m) was carried out.

Data are given as mean \pm SD, n=5.

*; Significant difference for the initial (0h), $p < 0.05$

#; Significant difference for the control (in SW), $p < 0.05$

+; Significant difference for Cu free (under 0.001 mg/L) group, $p < 0.05$

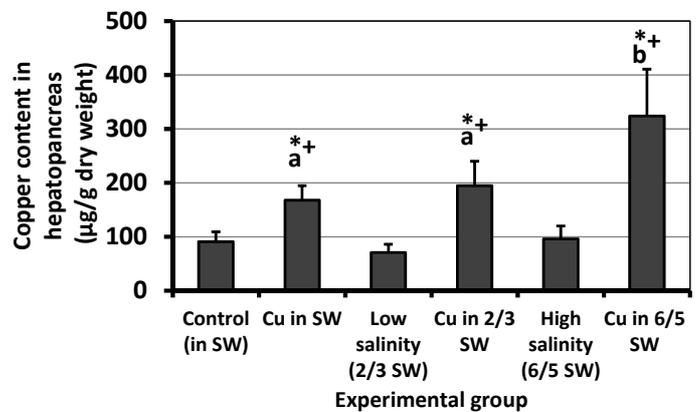


Fig. 2. Effect of copper and salinity on the copper content in hepatopancreas of juvenile flatfish. Fish were exposed to different salinity seawater with or without 0.05 mg/L copper for 3 weeks.

Data are given as mean \pm SD, n=5.

*; Significant difference for the control (in SW), $p < 0.05$

+; Significant difference for Cu free (under 0.001 mg/L) group, $p < 0.05$

a, b; The different script indicates a significant difference, $p < 0.05$

漿中ナトリウム, カリウム, 塩化物濃度を Fig. 3 に示す。高塩分海水への曝露は、ヒラメ稚魚血漿中のナトリウム濃度を上昇させた。高塩分下で銅に曝露された魚では、通常海水で飼育された魚と比べて、血漿中のナトリウム濃度、カリウムおよび塩化物濃度の全てが有意に高くなった。また、塩化物濃度の値は、高塩分下に置かれた銅への曝露なしの個体に比べても、有意に高かった。

以上の結果より、海域が高塩分化すると、そこに生息する魚が銅等の環境汚染物質に曝露されたり、高水温や溶存酸素濃度が低下するなどの悪条件に曝されたりした(二次的なストレス負荷を被った)場合、通常塩分の海水中に生息している時に比べて、魚にはより大きなストレス状態が惹起されるとともに、ストレス状態からの回復にも長い時間を要すようになる(ストレス応答性の変化が生じる)こと、重金属の蓄積が促進されること、体内のイオン組成調整に余分なエネルギー支出が必要であること等が示唆された。ストレス応答性の変化は、魚の学習、摂餌、逃避等の諸行動に影響を及ぼし、正常な行動が抑制されるほか、生体防御活性を低下させることにより、魚の生残率や成長率が低下する方向に進みやすい。すなわち、これらは魚の健康や成長、食品としての安全性に負の影響を与える

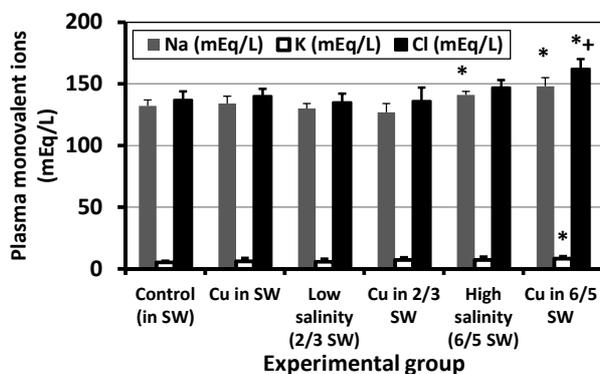


Fig. 3. Effect of copper and salinity on the plasma monovalent ions (Na^+ , K^+ , Cl^-) levels of juvenile flatfish. Fish were exposed to different salinity seawater with or without 0.05 mg/L copper for 3 weeks, and then air exposure test (for 45 m) was carried out.

Data are given as mean \pm SD, n=5.

*; Significant difference for the control (in SW), $p < 0.05$

+; Significant difference for Cu free (under 0.001 mg/L) group, $p < 0.05$

可能性が高いことから、環境水の高塩分化を避けるため、造水施設からの高濃度塩分廃水等の周辺環境水中への直接放流はできる限り抑え、多段階かつ分割的放流や下水等との混合・希釈放流を行うことに加えて、製塩施設との相互利用を進めること等により、できる限り廃水を減らして水資源の有効利活用を促進することが肝要である。

3. 1. 2 マハゼに対する、水温と重亜硫酸ソーダの複合影響

異なる水温(16, 22 および 28°C)と重亜硫酸ソーダ濃度(SBS:0.25, 2.5 および 25 mg/L)下で飼育したマハゼの血漿中グルコース濃度を Fig. 4 に示す。28°Cでの飼育, および, 16°Cから 28°Cへの急激な温度上昇は, SBS の影響を大きくした。すなわち, 16°Cや 22°C飼育時には当該値に SBS 添加の影響は認められなかったが, 28°C飼育では 2.5 および 25 mg/L の SBS 添加により, 16°Cから 28°Cへの急激な温度上昇試験では 0.25 あるいは 25 mg/L の SBS 添加により, それぞれ, 血漿中グルコース濃度は有意に上昇した。また, 後者では, 単純な高温下での飼育時に比べて, SBS 無添加時にも血漿中グルコース濃度が上昇する傾向にあるとともに, 0.25 mg/L (低濃度の)SBS に曝露された場合にも有意な値の上昇がみられた。

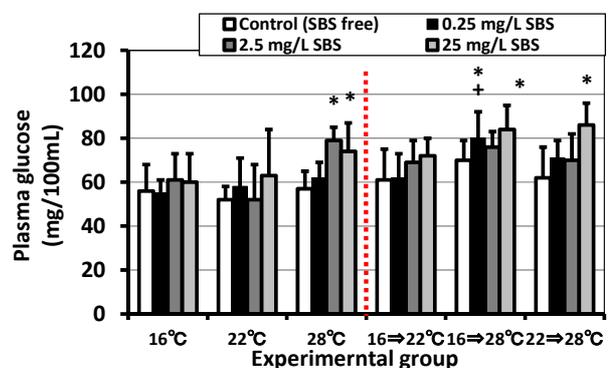


Fig. 4. Effect of SBS and temperature on the plasma glucose levels of spiny goby. Fish were exposed to different temperature with or without SBS for 3 weeks, and in some fish physiological response was examined for testing temperature change.

Data are given as mean \pm SD, n=5.

*; Significant difference for the control (SBS free), $p < 0.05$

+; Significant difference for 28°C group, $p < 0.05$

異なる水温と重亜硫酸ソーダ濃度下で飼育したマハゼの体表粘液分泌量を Fig. 5 に示す。SBS 無添加あるいは 0.25 mg/L の SBS 添加条件下では、22°Cあるいは 28°Cでの飼育時に体表粘液分泌量は増加する傾向を示した。一方、各温度とも、25 mg/L の SBS 添加は粘液分泌量を減少させる傾向を示した。なお、16°Cから 28°Cへの急激な温度上昇時には、2.5 mg/L の SBS への曝露は、同無添加での飼育に比べ、有意に値が低下した。

異なる水温と重亜硫酸ソーダ濃度下で飼育したマハゼの体表粘液による溶菌活性を Fig. 6 に示す。体表粘液の溶菌活性(650 nm での吸光度変化)として 0.03~0.04/mgタンパク質/時間の範囲にあり、その値は飼育温度や飼育海水中の SBS 濃度の違いの影響を受けなかった。

異なる水温と重亜硫酸ソーダ濃度下で飼育したマハゼの顆粒球の貪食活性を Fig. 7 に示す。顆粒球の貪食活性は、ほぼ 30~40%の範囲にあり、その値は飼育温度や飼育海水中の SBS 濃度の影響を受けなかった。

異なる水温と重亜硫酸ソーダ濃度下で飼育したマハゼの顆粒球の殺菌活性を Fig. 8 に示す。28°Cでは、22°Cに比べて、SBS 無添加および 25 mg/L の SBS 存在下における顆粒球の NBT 還元活性が有意に低下した。また、同一温度における SBS 添加の影響については、22°Cおよび 28°Cでは、25 mg/L の SBS 存在下の値は、同無添加時に比べて、有意に低くなった。加えて、急激な温度上昇は、2.5 mg/L の SBS 存在下での値の低下を導いた。

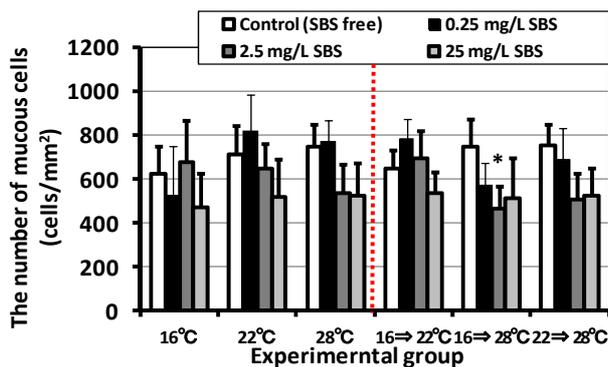


Fig. 5. Effect of SBS and temperature on the number of skin mucous cells of spiny goby. Fish were exposed to different temperature with or without SBS for 3 weeks, and in some fish physiological response was examined for testing temperature change.

Data are given as mean \pm SD, n=5.

*; Significant difference for the control (SBS free), $p < 0.05$

魚の血漿中グルコース濃度の上昇は、ストレス状態が惹起されていること、あるいは、エネルギー供給が必要とされる状況にあることを暗示する。体表における粘液分泌量(細胞数)や粘液の溶菌活性、血液中に存在する顆粒球の貪食活性や NBT 還元活性は非特異的な生体防御活性因子であり、それらの値の低下は生体防御活性の低下、ひいては病原性および環境性疾病に掛かりやすくなることを示唆する。なお、顆粒球の NBT 還元活性の低下は、病原生物や異物排除に加え、障害を受けた自己の細胞除去についても、その殺菌・分解機能が制限されている可能性を示すと考えられる。すなわち、高水温下や海水

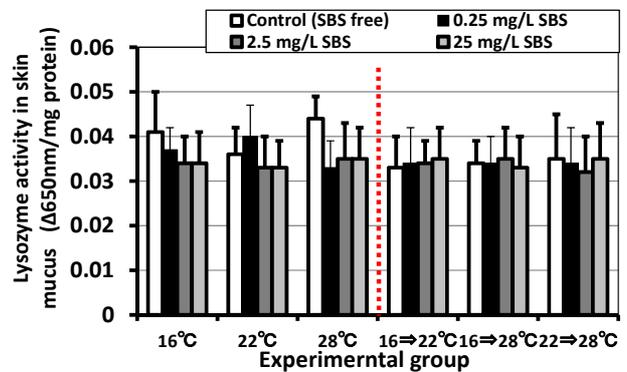


Fig. 6. Effect of SBS and temperature on the lysozyme activity in skin mucus derived from spiny goby. Fish were exposed to different temperature with or without SBS for 3 weeks, and in some fish physiological response was examined for testing temperature change. Data are given as mean \pm SD, n=5.

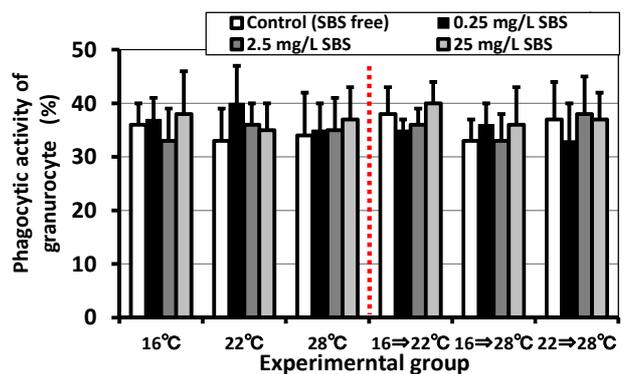


Fig. 7. Effect of SBS and temperature on the phagocytic activity of granulocyte derived from spiny goby. Fish were exposed to different temperature with or without SBS for 3 weeks, and in some fish physiological response was examined for testing temperature change.

Data are given as mean \pm SD, n=5.

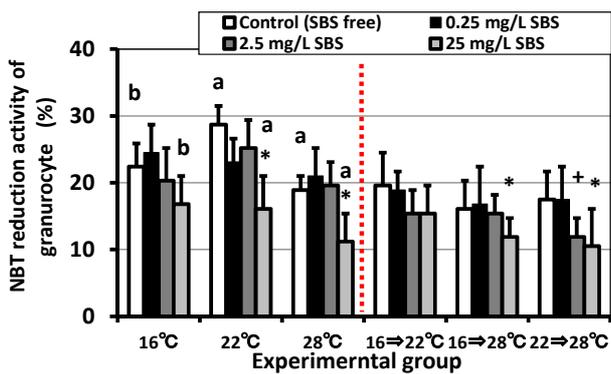


Fig. 8. Effect of SBS and temperature on the NBT reduction activity of granulocyte derived from spiny goby. Fish were exposed to different temperature with or without SBS for 3 weeks, and in some fish physiological response was examined for testing temperature change.

Data are given as mean ± SD, n=5.

*; Significant difference for the control (SBS free), p<0.05

+; Significant difference for 28°C group, p<0.05

a, b; The same script in each SBS level indicates a significant difference, p<0.05

温が急激に上昇する時期には、魚は環境汚染物質の影響を受けやすい状況にあり、このような時期に汚染源が来ると、魚にはより大きなストレス状態が惹起されるとともに、生体防御活性低下や自己修復機能阻害等に由来する健康障害が生じやすい状況が生まれると考えられる。

以上の結果から、海域の水温が上昇すると、特に、水温の上昇が急激であればさらに、そこに生息する魚が SBS 等の製塩や造水施設の洗浄等に用いられている薬剤の影響を受けやすくなり、魚の健康や成長等に負の影響が出やすいたことが分かる。海水の高温化は、地球温暖化や海域の酸性化と密接に関係していることから、製塩施設、造水施設、発電関連施設等からの高温廃水等の周辺環境水中への直接放流はできる限り抑え、多段階かつ分割的放流等を行うことに加えて、可能な限り廃熱の有効利活用を実践していくことが危急の課題である。

3. 1. 3 低塩分がマダイ稚魚の代謝活性に及ぼす影響

異なる塩分条件下におけるマダイ稚魚の酸素消費量を **Fig. 9** に示す。22 ppt で飼育された魚の酸素消費量は、塩分濃度 33 ppt の海水(正常海水)で飼育された魚の値に比べ、有意に低くなった。28 ppt で飼育した場合の値と正常海水下での値の間に差は認められなかった。

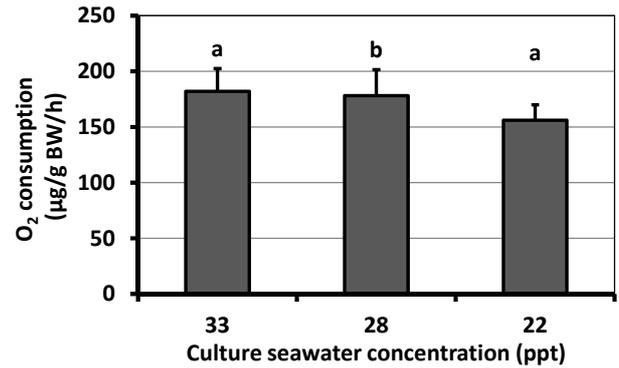


Fig. 9. Effect of hypo-salinity seawater on the O₂ consumption rate of juvenile red sea bream

Data are given as mean ± SD, n=5.

a, b; The same script indicates a significant difference, p<0.05

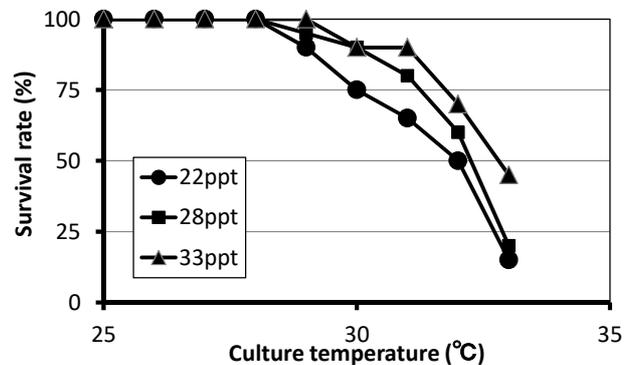


Fig. 10. Effect of elevated temperature on the survival rate of juvenile red sea bream exposed to hypo-salinity seawater

異なる塩分濃度で飼育しマダイ稚魚の高温負荷試験に伴う生残率変化を **Fig. 10** に示す。飼育水温が 29°C を超える時点から、死亡する魚が認められるようになり、31°C における生残率は 33 ppt では 90%、28 ppt では 80%、22 ppt では 65%、33°C での生残率は、それぞれ、45%、20%、15% となった。すなわち、低塩分下では、水温上昇に伴う生残率の低下が急であることが分かった。

以上の結果は、塩分濃度 22 ppt の(低塩分)海水で飼育された魚(少なくとも稚魚)は、通常海水下の魚に比べ、酸素消費速度が低く抑えられていたことから、低塩分下では浸透圧調節のためのエネルギーが節約できていることが示唆された。この余剰エネルギーは成長その他に振り分けができると考えられる。しかしながら、各塩分条件下

で一定範囲を変えて急激に水温を上昇させた場合に低塩分海水中の魚の生残率が大きく低下したことから、体内外の浸透圧差の減少に伴う余剰エネルギーが生存を高めるためのストレス適応等に上手く利用されていないのかもしれない。

低塩分濃度海水への曝露は、浸透圧適応に必要なエネルギー量を軽減でき、また、その余剰エネルギーを成長等に回すことができるため、一見、魚にとっては好条件のように見える。しかしながら、急激な温度ストレスが負荷される等の際には、エネルギーの節約効果(利点)が必ずしも活かされておらず、適度な塩分ストレスが負荷され続けていることが真のストレス耐性向上に貢献するのかもしれない。

以上の結果は、低塩分廃水は通常時には魚のエネルギー消費を抑えることにより、魚の成長を促進したり、索餌や繁殖行動等に正の影響を及ぼしたりする方向に作用することを示唆する。ただし、温度の高い廃水や高濃度に汚染物質を含んだ廃水等の一時的かつ過剰供給がある場合(異常時)には、低塩分廃水が日常的に供給されている海域に生息しており、そのような環境に慣れた魚達にとっては、過大なストレス負荷に晒されたと同義の状態となることに留意すべきである。

3. 2. 1 製塩、造水施設周辺海域の微生物環境およびマハゼとアゴハゼの生理指標調査

製塩および造水施設の周辺海域の表層および底層海水中の総細菌数を Fig. 11 に示す。製塩施設 A については、調査地点の海水 1 mL 当りの総細菌数は 10^8 個のレベルにあり、同施設の廃水口の周辺(R1 と R2)では総細菌数の年間変動が小さかったのに対し、数十メートル(R3 と R4)あるいは数百メートル(R5 と R6)離れた海域では細菌数の年間変動が大きくなり、初夏から秋季に比べて、冬季には少ないという季節差が認められた。また、表層と底層海水中の総細菌数に顕著な差はみられなかった。製塩施設 B についても、総細菌数こそ施設 A の 2 分の 1 から数分の 1 程度とやや少なかったが、A と類似した傾向を示した。造水施設 α についても、施設の排水口周辺では季節変動が小さく、数十メートル以上離れた海域では細菌数の年間変動が大きくなり、初夏から秋季に比べて、冬季には少ないという季節差が認められた。なお、表層と底層海水中の総細菌数に顕著な差はみられなかった。

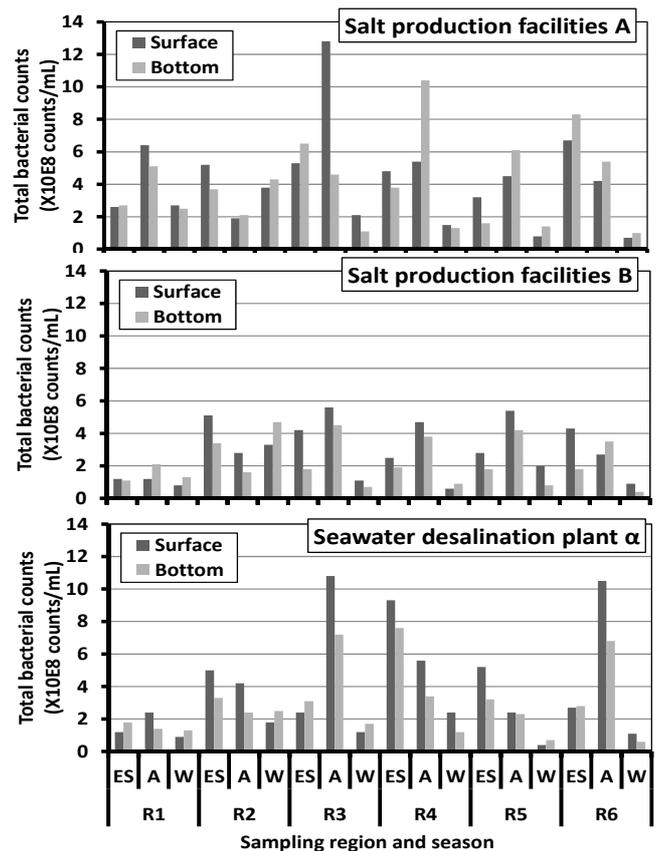


Fig. 11. Total bacterial counts in seawater samples collected at various regions and seasons

R1 and R2; near the facility (in several meters from the plant), R3 and R4; a little bit away (a few tens of meters from the plant), R5 and R6; a little far away (a few hundred meters from the plant)

ES ; early summer, A ; autumn, W ; winter

製塩および造水施設の周辺海域の表層および底層海水中に試料において、トリプトソイ寒天培地(一般従属性細菌)と ORI 培地(貧栄養細菌)を用いて培養可能であった生細菌の数は 1 mL 当り $10^5 \sim 10^7$ レベルであり、一般従属性細菌の組成では *Acinetobacter* 属, *Pseudomonas* 属, *Vibrio* 属, *Moraxella* 属, *Aeromonas* 属, *Alteromonas* 属, *Pseudoalteromonas* 属, *Alcaligenes* 属, *Flavobacterium* 属, *Cytophaga* 属, *Streptococcus* 属, *Staphylococcus* 属, *Bacillus* 属, *Enterobacteriaceae*, *Coryneforms* 等が検出された。また、製塩や造水施設周辺の微生物叢では、細菌数には大きな差は認められなかったが、*Vibrio* 属, *Aeromonas* 属, *Pseudomonas* 属, *Flavobacterium* 属, *Moraxella* 属, *Streptococcus* 属, *Acinetobacter* 属細菌が多

く検出された。なお、製塩施設では、*Pseudomonas* 属や *Flavobacterium* 属の細菌組成率が高くなり、一方、造水施設周辺では、*Streptococcus* 属、*Vibrio* 属や *Acinetobacter* 属の割合が増加する傾向にあった。

初夏および秋季に、製塩および造水施設の近傍海域 (R1-4) と周辺海域 (R5, 6) で捕獲したマハゼを対象に測定した、ストレス指標として血漿中コルチゾル濃度を Fig. 12 に、生体防御活性指標として体表粘液分泌量 (粘液細胞数) と血液中顆粒球の NBT 還元活性を Fig. 13 に示す。製塩施設または造水施設の近傍海域と同周辺海域で採捕したマハゼの血漿中コルチゾル濃度では、造水施設の近傍海域で初夏に採捕された魚に著しく高い値がみられたが、個体差が大きく、統計的には採捕の場や季節の違いによる有意差はなかった。

体表粘液細胞数では、初夏に製塩施設 B の周辺海域で採捕された魚に、同施設近傍海域で採捕された魚に比べて、有意に低い値がみられた。しかし、この違いは別の製塩や造水施設、あるいは同施設でも他の季節にはみられず、恒常的なものではなかった。また、血液中顆粒球の NBT 還元活性についても、各施設の近傍と周辺海域で採捕されたマハゼの値に有意な差はなかった。

一般生理および代謝活性の指標として、血漿中 GPT 活性を Fig. 14 に、肝臓と筋肉の代謝関連酵素である PKF 活性、CPT 活性、および、GDH 活性を Fig. 15 に示す。血漿中の GPT 活性については、製塩や造水施設の近傍海域で採捕した魚に、同施設周辺海域で採捕した魚よりも、平均値あるいは最高値は高かったものの、採捕の場所や季節の違いによる有意差は認められなかった。GPT は、主に肝細胞に存在し、体内でのアミノ酸代謝やエネルギー代謝の過程で重要な働きをしているが、肝細胞が破壊されると血液中に漏出する⁽¹⁰⁾。そのため、肝機能の指標として使われることが多い。本指標の変化のみから魚の生理状態を云々することはできないが、それでも本指標に差がなかったことから、製塩施設や造水施設の廃水が周辺海域に生息する魚の肝機能に及ぼす影響はほとんどない、あるいは、極めて軽微であると考えられた。

肝臓および筋肉の代謝関連酵素については、製塩や造水施設の近傍海域で採捕した魚は、同施設の周辺海域と比較して、肝臓 PKF 活性の低下や CPT 活性の上昇、筋肉の PKF 活性の低下や GDH 活性の上昇のみられるこ

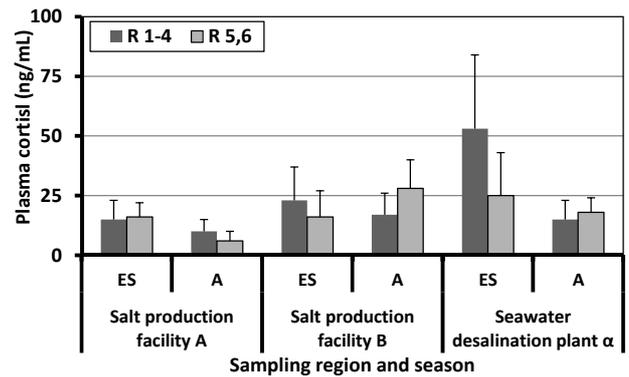


Fig. 12. Plasma cortisol levels of spiny goby collected at various regions and seasons

Data are given as mean \pm SD, n=5.

R1-4; within a few tens of meters from the plant

R5, 6; at a few hundred meters from the plant

ES; early summer, A; autumn

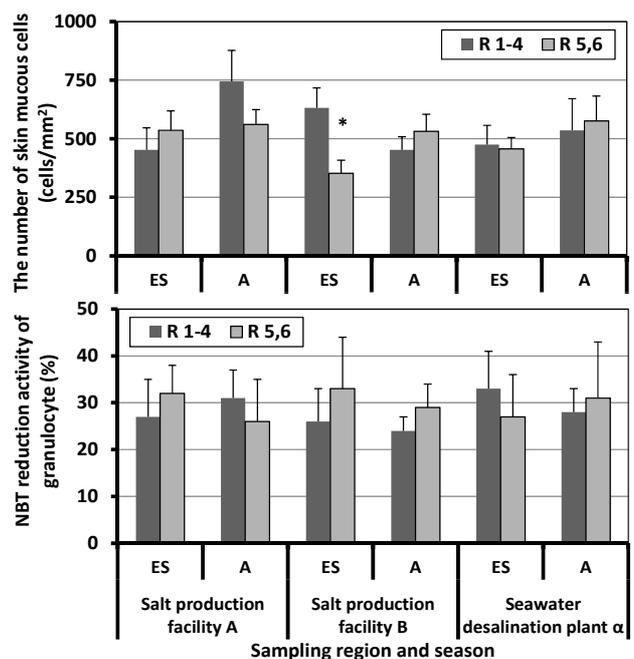


Fig. 13. The number of skin mucous cells and NBT reduction activity of granulocyte (non-specific biodefense activity) of spiny goby collected at various regions and seasons

Data are given as mean \pm SD, n=5.

*; Significant difference between R1-4 and R5,6, $p < 0.05$.

R1-4; within a few tens of meters from the plant

R5, 6; at a few hundred meters from the plant

ES; early summer, A; autumn

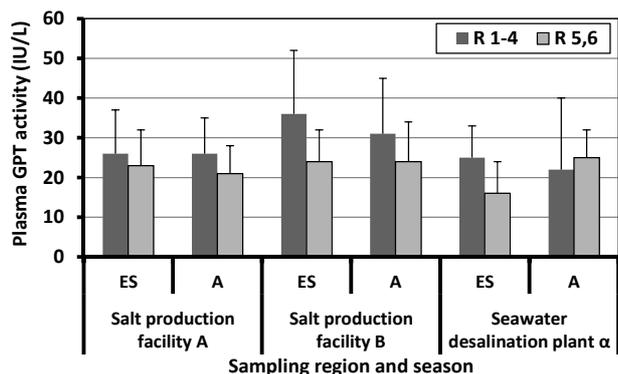


Fig. 14. Plasma GPT activity of spiny goby collected at various regions and seasons

Data are given as mean \pm SD, n=5.

R1-4; within a few tens of meters from the plant

R5, 6; at a few hundred meters from the plant

ES; early summer, A; autumn

とが多かったが、これら酵素の活性についても、採捕場所の違いによる差は認められなかった。製塩や造水施設の近傍および周辺の両海域で採捕した魚の間で、肝臓および筋肉に存在する各種酵素、すなわち、解糖系の調節酵素である PFK、脂肪酸のミトコンドリア内への取り込みに関与する酵素である CPT、有機酸とアンモニアからグルタミン酸をつくる反応を触媒する GDH のいずれの活性にも有意な差がみられなかったことから、製塩施設や造水施設の廃水が周辺海域に生息する魚の肝臓や筋肉の糖・脂質・アミノ酸代謝に及ぼす影響はほとんどない、あるいは、極めて軽微であると考えられた。今回の調査項目の全てにおいて、これまで魚類について報告されてきた値との間に大きな差がみられないことから、今回の調査対象魚に異常が生じていたとは考え難い。

施設によっては、分散あるいは多段階放流、希釈・一時貯留施設等を併設しているところもあり、廃水による環境影響軽減にはかなりの配慮が認められるところもあるため、一概には言えないが、本試験でみられた造水施設 α の近傍海域で初夏に採捕された魚の高い血漿コルチゾル濃度や製塩施設 B の近傍海域で初夏に採捕された魚の血漿中 GPT 活性の高値は、それらの周辺海域で採捕された魚における値との間に統計的な差こそなかったものの、同時期に同海域で採捕された魚における粘液分泌量(細胞数)の有意な減少とともに、今後、当該指標の変動には注

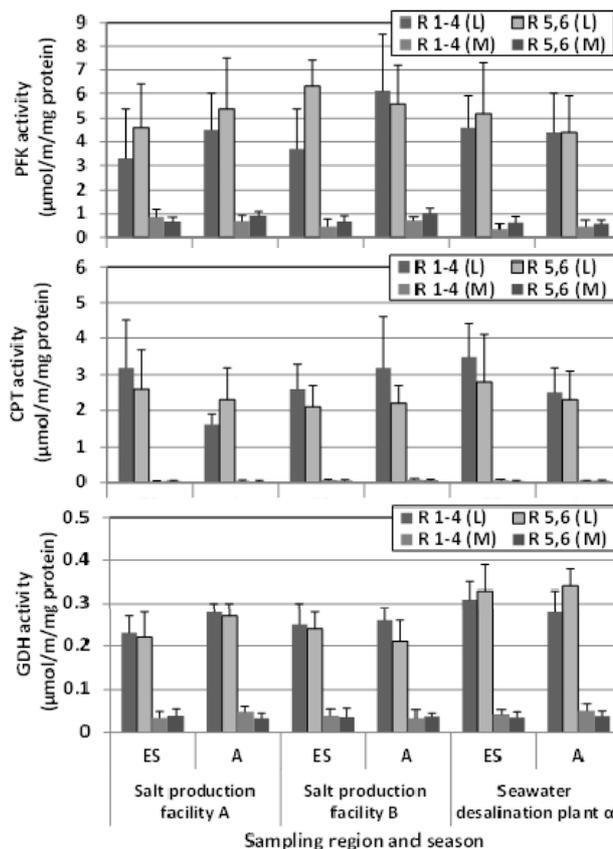


Fig. 15. PFK, CPT and GDH activity derived from liver and muscle of spiny goby collected at various regions and seasons

Data are given as mean \pm SD, n=5.

R1-4; within a few tens of meters from the plant

R5, 6; at a few hundred meters from the plant

(L); liver, (M); muscle

ES; early summer, A; autumn

意を払う必要のあることを暗示する。一方、ハゼは移動性に乏しい魚ではあるが、調査海域内での移動が制限されていたわけではないことから、製塩や造水施設の近傍と周辺の両海域間を行き来していた可能性を無視することはできず、また、採捕直前に調査対象海域外から移入したり、別の汚染源への曝露やストレス要因の負荷の影響が残存していたりする個体を分析対象とした可能性も排除できない。したがって、今後、移動能力のある動物を用いて製塩施設や造水施設からの廃水の環境影響を評価する際には、監視対象生物の移動範囲を制限したり、移動の追跡ができる状況下での調査をしたりすべきである。

そこで、マハゼよりも移動性の小さいアゴハゼのストレス

指標を調べた。アゴハゼの場合、標識再放流による移動力の予備調査の結果、少なくとも1週間は周辺数十m以内に生息していることを確認している。初夏および秋季に、製塩および造水施設の近傍と周辺海域の潮間帯で捕獲したアゴハゼの体内コルチゾル濃度を Fig. 16 に示す。なお、製塩施設 A の近傍海域にて初夏に採捕した魚、および、製塩施設 B の近傍海域にて初夏および秋季に採捕した魚は、両施設からやや離れた周辺海域で採捕した魚に比べて、体内コルチゾルレベルが高かった。すなわち、製塩施設近傍の潮間帯に生息している魚にとっては、少なくとも間接的に製塩施設からの廃水がストレス因子となりえた可能性は棄却できない。ただし、現状においては、当該影響を受ける可能性のある海域において魚のストレスレベルが上昇した理由、環境因子の特定や複合影響の解析には至っていない。

以上の結果は、施設周辺海域の微生物叢やハゼ類のストレス応答、生体防御指標、代謝関連酵素活性等からは、製塩および造水施設の稼働に伴う施設廃水が周辺の海域環境やそこに生息する魚類に及ぼす影響は、閉鎖的要因が強くない、また、少なくとも潮間帯に生息する生物(今回はアゴハゼ)を除けば、ほとんどない、あるいは、極めて軽微であることを示唆する。ただし、閉鎖的要因の強い海域の環境やそこに生息する生物への影響、および、周辺の潮間帯に生息する魚への影響に関しては詳細を

捉えるには至っておらず、今後に十分な検討が必要である。

3. 2. 2 製塩施設 A の廃海水が海産魚類の生残および生理指標に及ぼす影響

製塩施設 A の廃海水、周辺海域の海水、および、人工海水中でマダイ稚魚を14日間飼育し、生残率変化を Fig. 17 に示す。採水日の異なる試験海水を用いて、3度の飼育試験を行ったところ、2度は製塩施設の近傍海水と周辺海水での飼育時の生残率に差は認められず(1度は飼育

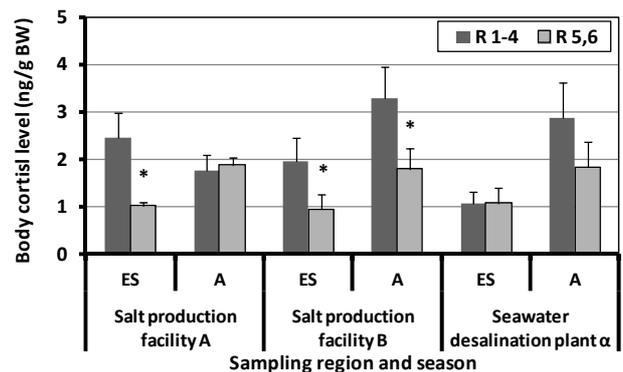


Fig. 16. Body cortisol levels of Samoan mullet goby (Abehaze) collected at various regions and seasons

Data are given as mean ± SD, n=5.

R1-4; within a few tens of meters from the plant

R5, 6; at a few hundred meters from the plant

ES; early summer, A ; autumn

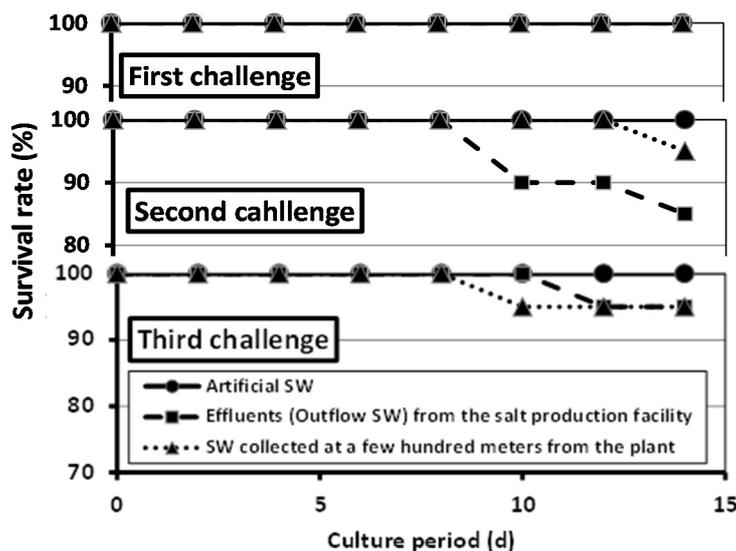


Fig. 17. Changes in the survival rate of juvenile red sea bream exposed to hypo-salinity seawater released from salt production facility A

期間を通じて死亡個体はなく, 1 度 (Second challenge) のみに, 同施設近傍海水での飼育時に, 周辺海水での飼育時や人工海水での飼育時に比べて, 高い死亡率が認められた。

製塩施設 A の廃海水への 14 日間の曝露がマダイ稚魚の鰓の Na-K-ATPase 活性に及ぼす影響を Fig. 18 に示す。採水日の異なる試験海水に 14 日間曝露したマダイ稚魚の鰓の Na-K-ATPase 活性は, 約 8 $\mu\text{mol Pi}/\text{mg}$ タンパク質であり, 試験に用いた海水の採水日や曝露した海水の種類による差は認められなかった。

製塩施設 A の廃海水への 14 日間の曝露がマダイ稚魚の鰓のスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性に及ぼす影響を Fig. 19 に示す。採水日の異なる試験海水に 14 日間曝露したマダイ稚魚の鰓の SOD 様酵素活性は, 3 回の曝露試験中の 2 回 (1 および 3 回目) は 7 Unit/mg タンパク質程度であり, 試験に用いた海水の採水日や曝露した海水の種類による差は認められなかった。しかしながら, 2 回目の曝露試験では, 製塩施設からの廃海水に曝露した時のみ, 人工海水や製塩施設の周辺 (数百メートル離れた海域から採取した) 海水に曝露した場合に比べ

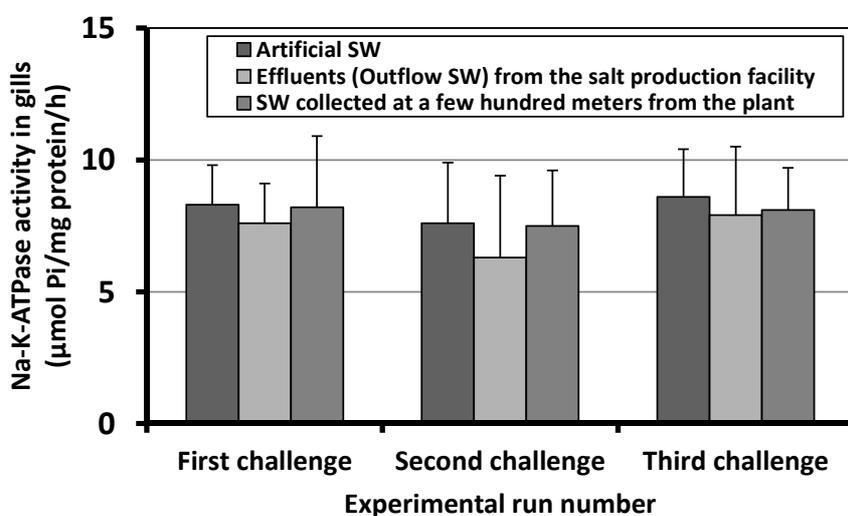


Fig. 18. Changes in Na-K-ATPase activity in the gills of juvenile red sea bream exposed to different sea water conditions
Data are given as mean \pm SD, n=5.

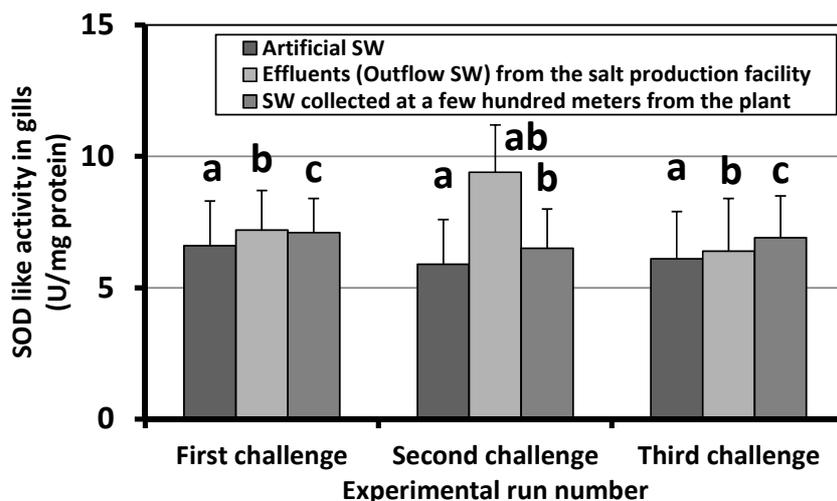


Fig. 19. Changes in SOD like activity in the gills of juvenile red sea bream exposed to different sea water conditions
Data are given as mean \pm SD, n=5.

a, b, c; The same script indicates a significant difference, $p < 0.05$

て、有意に高い値が認められた。鰓の SOD 様活性は、環境が酸化状態になると一般に上昇する⁹⁾。したがって、今回の試験結果は、2 回目の曝露試験に使用した製塩施設よりの廃海水中に何らかの酸化物質が混在していた可能性を示唆する。酸化物質の種類や起源、混入の理由、および、当該インパクトの不連続性等については、今回の調査からは何ら提示はできない。配管や各種膜の洗浄、濾過槽逆洗のタイミング等に合わせて施設廃水の採取を行うとともに、廃水中の水質調査と並行して、継続的に周辺生態系への影響評価を実施することが肝要と考える。

上述した如く、現在稼働中の製塩や造水施設には、分散あるいは多段階放流、周辺海水や下水・雨水等を用いた希釈、一時貯留後に一部越流水のみ放出する等の事後処理を実施しているところもあり、また、廃水の水質も一定しているわけではない。加えて、昨今、特定の施設のみが限定された海域に廃水を放流し、当該海域の水質や生態系の変化等が当該施設のみの影響によると言及できる状況にはない。したがって、不連続的に採取した施設からの廃水や周辺海域の海水、および、それに付随する、あるいは、それをもとにした生物影響の評価には自ずと限界がある。軽微あるいは不連続的な廃水の影響を把握するためには、廃水を連続的に水槽等に取り入れ、その内で飼育している生物への影響(行動、形態、生理状況他)を経時的にチェックするか、廃水の放流部周辺に設けた生簀内で生物を飼育し、その影響を長期的に把握する等の試験を、廃水中の汚染物質の連続的あるいは経時的モニタリングと同時に実施する必要がある。

今回の試験結果からは、施設単独で限定海域に放出される廃水のみによる継続的な環境影響が危急の対策をとる必要レベルにあるとは言えない。ただし、廃水の採取時期によっては魚類への影響が懸念される場合があったり、水温や塩分の変化が廃水中に含まれる可能性のある重金属や薬剤等と複合されたりすることで生物に大きな影響を及ぼし、特にその影響は水質変動の速度が高いと大きくなる可能性のあることも分かった。すなわち、今後、地球温暖化に伴う海水温上昇への対策も必須ながら、製塩や造水施設からの閉鎖系海域への廃水流出については、廃水の温度差、塩分濃度差、環境負荷物質濃度等の削減対策に加えて、短期間内での水質の変動幅(変化速度)の大きさにも留意する必要性のあることを示唆する。

4. まとめ

製塩や造水施設からの廃海水が周辺環境および同所に生息する魚類に及ぼす影響を、現地調査および室内実験により検討した。

- 1) ヒラメ稚魚を塩分濃度と銅濃度の異なる海水中で 3 週間飼育したが、血漿中コルチゾル濃度に差は認められなかった。高塩分下では、銅曝露個体の血漿中 K や Cl 濃度が有意に上昇した。肝臓の銅含有量は高塩分下の銅曝露個体で高かった。空中放置により血漿中コルチゾル濃度は著しく上昇したが、高塩分や銅添加海水下の魚の反応性は高かった。低塩分や高塩分下での銅曝露個体では空中放置に伴うストレスからの回復が遅れた。すなわち、高塩分下では、銅等の汚染物への曝露や二次的なストレス負荷があった場合、魚に高ストレス状態が惹起されるとともに、ストレス状態からの回復期間が延びることから、行動異常や生体防御能低下等を通して、魚の生残率や成長率が低下する方向に進みやすいことが示唆された。
- 2) マハゼを、水温と重亜硫酸ソーダ濃度(SBS)の異なる海水中で 3 週間飼育したところ、高温下で SBS に曝露された魚は、血漿中グルコース濃度が上昇し、顆粒球の殺菌活性は有意に低下した。血漿中一価イオン濃度、体表の粘液分泌量とリゾチーム活性、顆粒球の貪食活性に差はなかった。高温移行試験では、SBS 添加無し群に比べ、血漿中グルコース濃度が大きく上昇した。その変動は、温度差が大きいほど、SBS 濃度が高いほど大きくなった。すなわち、高温下では SBS 等の環境負荷物の影響が出やすく、急激な温度変化の下では同負荷物の影響は大きくなる可能性の高いことが分かった。
- 3) 低塩分がマダイ稚魚の代謝活性に及ぼす影響を調べた。低塩分下では酸素消費量(エネルギー消費)が抑制されたが、低塩分下で水温を急激に上げると生残率は著しく低下した。

上記の結果より、水温や塩分の変化は廃水中に含まれる可能性のある重金属や薬剤等と複合されたりすることで生物に大きな影響を及ぼし、特にその影響は水質変動の速度が高いと大きくなる可能性のあることが分かった。また、低塩分や高塩分下では、ストレス負荷に

対する耐性が低下する可能性の高いことが示唆された。

4) 製塩および造水施設の近傍および周辺海域で、海水中の微生物叢、ハゼ類の生理指標を調べるとともに、製塩施設の廃海水がマダイ稚魚の生残や鰓のイオン調節酵素や抗酸化酵素に及ぼす影響を調べた。微生物叢では、細菌数には大きな差は認められなかったが、製塩施設近傍では、*Pseudomonas* 属や *Flavobacterium* 属の細菌組成率、造水施設近傍では、*Streptococcus* 属、*Vibrio* 属や *Acinetobacter* 属の割合が高まる傾向にあった。時期により、製塩や造水施設の近傍海域と同周辺海域で捕獲したマハゼの血漿中コルチゾル濃度や体表粘液分泌量に差がみられたり、血漿中 GPT 活性の上昇、肝臓の PFK 活性の低下と CPT 活性の上昇、筋肉の PFK 活性の低下と GDH 活性上昇等がみられたりしたが、値の変動幅が大きく、恒常的な差を認めるに至らなかった。移動性の小さいアゴハゼを用いた調査では、一部製塩施設の近傍海域で、体内コルチゾル濃度の上昇が確認された。すなわち、当該施設から放出されている廃水による継続的な環境影響が危急の対策をとる必要レベルにあるとは言えないが、廃海水への魚の曝露試験から、廃水の採取時期によっては魚類への影響が懸念される場合があり、懸念物質の中には酸化物質も関係している可能性が示唆された。

本研究の結果は、今後、地球温暖化に伴う海水温上昇に加えて、閉鎖系海域への廃水流出については、廃水の温度差、塩分濃度差、環境負荷物質濃度等の削減対策に加えて、その短期間内での変動幅(変化速度)の大きさにも留意する必要性のあることを示唆する。

引用文献

- 1) 日本学術会議 海水科学研究連絡委員会(第 19 期) 報告書, “沿岸・浅海域の資源の有効利活用を目指した技術開発”, 平成 17 年 7 月 21. <http://www.sej.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-19-t1031-17.pdf>
- 2) I.S. Al-Mutaz, “Environmental Impact of Seawater Desalination Plants”, *Environmental Managing and Assessment*, 16, pp.75-84 (1991).
- 3) M. Latorre, “Environmental Impact of Brine Disposal on *Posidonia* Seagrasses”, *Desalination*, 182, pp.517-524 (2005).
- 4) 東郷 育郎, “海水に関する技術的提言 ー主に RO 濃縮水処理についてー”, *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, 69, pp.84-89 (2015).
- 5) B.H. Park, M.D. Seoul National, S.M. Fikrig, M.D. Istanbul, E.M. Smithwick and M.D. Wisconsin, “Infection and Nitroblue-tetrazolium Reduction by Neutrophils: A Diagnostic Aid”, *The Lancet*, 292(Issue 7567), pp.532-534 (1968).
- 6) K. Iwata and I. Kakuta, “A Comparison of Catalytic Properties of Glutamate Dehydrogenase from Liver and Muscle between Amphibious *Periophthalmus cantonensis* and Water-breathing Gobid Fishes *Tridentiger obscurus obscurus*”, *Bull. Soc. Sci. Fish.*, 49(12), pp.1903-1908 (1983).
- 7) O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, “Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent”, *J. Biol. Chem.*, 193, pp.265-275 (1951).
- 8) M. Ban, “Influence of Various Growth Rates on Development of Gill Na^+, K^+ -ATPase in Juvenile Chum Salmon, *Oncorhynchus keta*”, *SUISANZOSHOKU*, 48(3), pp.503-508 (2000).
- 9) 角田 出, 仙石 俊治, “酸化ストレス負荷が魚類の皮膚, 肝臓および腎臓の抗酸化酵素活性に及ぼす影響”, *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, 63, pp.100-107 (2009).
- 10) H.U. Bergmeyer, and E. Bernt, “Glutamate-pyruvate Transaminase, UV-assay, Manual Method”. In : Bergmeyer H.U. (ed.) *Methods of enzymatic analysis*, Vol. 2., Academic Press, New York, p. 752-758 (1974).

Environmental and Ecological Impacts of Discharged Effluents from Salt-Making and Desalination Plants and Minimizing These Impacts

Izuru KAKUTA¹⁾, Toshio SATO²⁾, Shushi SATO³⁾ and Akira YANAGI¹⁾

¹⁾ Ishinomaki Senshu University, ²⁾ Shimane University, ³⁾ Kochi University

Summary

There is a possibility that salt-making and desalination plants might cause environmental changes of local effects. In this report, impacts of the effluents from the salt-making and the desalination plants into the seawater environment were discussed.

High stress conditions of the fish were caused and the recovery period was prolonged, when fish exposed to copper and sodium hydrogen sulfite (SBS) in hyper-salinity seawater were subjected to the secondary stresses. Rapid changes in water temperature, thermal conditions, have large physiological and behavioural impacts on fish. Stress tolerance was also reduced in fish exposed to hypo-salinity seawater. These were suggested that the prolonged exposure to the brine derived from salt-making and desalination plants effects on ecosystem health and biodiversity.

On the other hand, in the field study, noticeable effects of the brine from salt-making and desalination plants on the number of and composition of bacteria and the physiological functions of wild fish inhabiting coastal area released continuously the brine were little. Lowered survival rate and increased SOD (an anti-oxidant enzyme) activity in gills from the fish exposed to the brine from a salt-making plant, however, were observed by chance (only one trying in three).

The result of this study will suggest that to minimize the large fluctuations of temperature and salinity, and the environmental load material density of the effluents from the salt-making and desalination plants is mostly important for reduction the environmental impacts, as much as possible.