

生態影響チャレンジテストの結果と考察

いであ株式会社 環境創造研究所 ○澤井 淳、岡村哲郎、戸田美沙、宮本信一

Results and Discussions of ecotoxicity “challenge test”, by Atsushi SAWAI, Tetsuro OKAMURA, Misa TODA, Nobukazu MIYAMOTO (Inst. of Environ. Ecol. /IDEA Consultants, Inc.)

1. はじめに

事業場排水の生物応答試験は、環境省において自主管理制度として国内導入が検討されている。2017年2月に国立環境研究所は、国内で用いられる生態影響試験のうち、どのような手法が適切または有効であるかを調べるため、共通の模擬事業所排水を用いた生態影響試験（生態影響チャレンジテスト）の実施機関を公募した。

本発表では、環境省が提案している生物応答を用いた排水試験を実施した結果を示すとともに、他の試験機関の試験結果との比較から試験法の課題等について考察する。

2. 試験方法

(1) 被験試料

国立環境研究所から2017年3月14日に送付された模擬事業所排水を被験試料とし、試料搬入から28日後に用いた。被験試料は4℃で冷蔵保存した。目開き60μmのナイロンメッシュ（ニッタル DIN 100-60、株式会社 田中三次郎商店）でろ過し、試験溶液の調製に用いた。藻類試験用の被験試料は、ろ過滅菌中の目詰まりを防止するために、孔径0.7μmのガラスフィルター（GF/F、GEヘルスケア・ジャパン）でろ過した。

(2) 生態影響試験方法

試験生物には、ムレミカヅキモ（藻類）、ニセネコゼミジンコ（甲殻類）、ゼブラフィッシュ（魚類）を用いた。「生物応答を利用した排水管理手法の活用について」（生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会報告書、平成27年11月）の参考資料「生物応答を用いた排水試験法（検討案）」（試験法検討案）に準拠し、藻類生長阻害試験（藻類試験）、ミジンコ類繁殖試験（甲殻類試験）、魚類胚期仔魚期短期毒性試験（魚類試験）を行った。

藻類試験の試験条件を表1に示す。試験法検討案では、2種類の試験液の調製方法が記載されている。OECD培地で排水を希釈する調製法①では、対照区、排水5%、10%、20%、40%、80%区でOECD培地の濃度はそれぞれ、100%、95%、90%、80%、60%、20%となり、試験区間で培地の濃度が異なる。培地の濃厚液を添加する調製法②では、OECD培地の濃度はすべての試験区で20%となる。本試験では、調

製法②で試験液を調製した。

類試験から得られた生長速度、甲殻類試験から得られた累積産仔数、魚類試験から得られた生存率、ふ化率、ふ化後生存率および生存指標について、無影響濃度（NOEC）を求めた。対照区と比較して統計学的に有意な差がない試験濃度区のうち、最も高い試験濃度区の排水濃度をNOECとした。

3. 試験結果

(1) 藻類試験

各試験区の試験期間を通じた平均生長速度を図1に示す。平均生長速度は、対照区と比較して排水5%～80%において有意に低下した。NOECは<5%、10%生長阻害濃度（EC₁₀）は4.6%、50%生長阻害濃度（EC₅₀）は32.9%であった。

表1 藻類試験の試験条件

項目	条件
ばく露方式	止水式、振とう培養（100 rpm）
ばく露期間	3日間
試験区	排水5、10、20、40、80%区および対照区
連数	3連/試験濃度区、6連/対照区
供試生物	ムレミカヅキモ (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)
供試生物数	5×10 ³ cells/mL/試験容器
試験用水	OECD培地（全試験区20%濃度に統一）
試験液量	100 mL/試験容器
試験温度	23±2℃
照明	白色蛍光灯、連続光、光量子束密度60-120 μmol·m ⁻² ·s ⁻¹
影響評価の指標	生長速度、生長阻害率

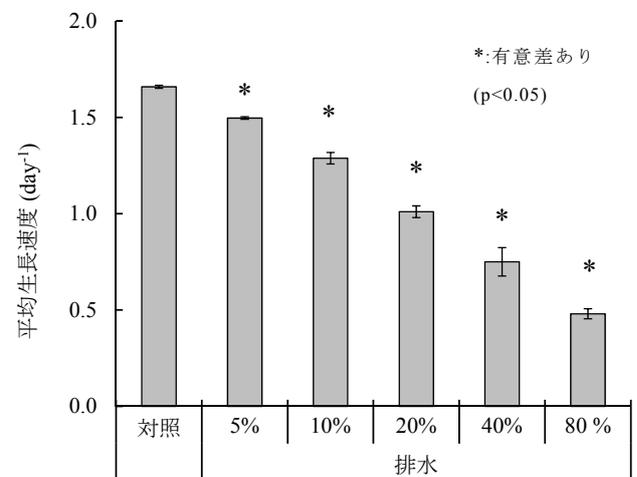


図1 藻類試験における各試験区の平均生長速度

(2) 甲殻類試験

各試験区の平均産仔数を図 2 に示す。平均産仔数は、対照区と比較して排水 10%~80%において有意に低下した。NOEC は 5%、EC₁₀ は 1.3%、EC₅₀ は 9.9%であった。

(3) 魚類試験

各試験区の生存指標を図 3 に示す。生存指標は、対照区と比較して排水 10%~80%において有意に低下した。NOEC は 20%、EC₅₀ は 29.2%であった。

4. 考察

本試験では、藻類試験および魚類試験において国立環境研究所の試験結果と異なる傾向がみられた。藻類試験について、国立環境研究所の試験結果と比較すると、特に排水 5%~40%において、曝露時間に対する細胞密度（対数値）の直線の傾き（平均生長速度）が小さくなる傾向がみられた¹⁾ため、この要因を考察した。

図 4 に金属類を含む事業場排水を、2 種類の希釈方法で試験溶液を調製し、試験した結果を示す²⁾。調製法②で希釈調製した試験区の方が、排水 5%~40%における平均生長速度が低かった。OECD 培地に含まれる EDTA は、金属類の藻類への取り込みを抑制するため³⁾、金属類が排水の毒性原因物質である場合、OECD 培地の濃度が低い方が排水の毒性が高くなる可能性がある。

本試験は調製法②で試験を実施し、国立環境研究所では調製法①で試験を実施したことから、図 4 に示した事例と同様の傾向がみられたと考えられる。

現在の試験法検討案では、調製法①および②の両方が認められている。適切な調製法に統一することで、試験液の調製法に起因する試験結果の差はなくなり、試験精度の向上につながると考えられる。

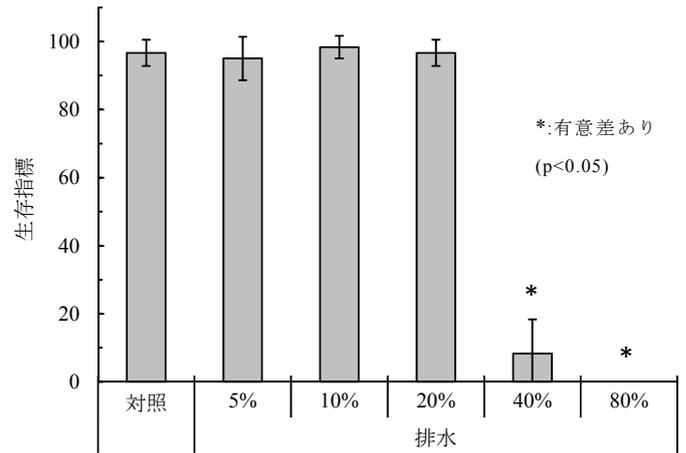


図 3 魚類試験における各試験区の生存指標

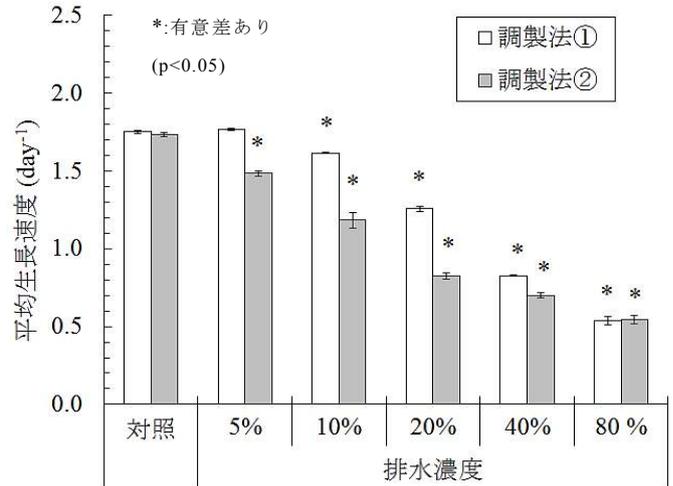


図 4 2 種類の調製法による平均生長速度の比較²⁾

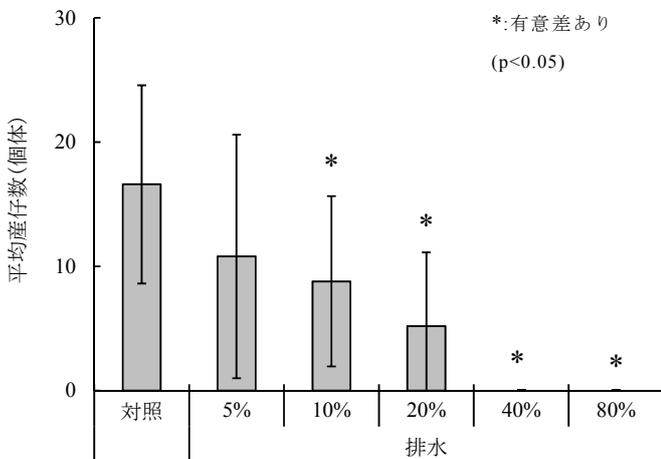


図 2 甲殻類試験における各試験区の平均産仔数

参考文献

- 1) 鑑迫ら (2017) 第 26 回環境化学討論会講演資料、SETAC ジャパンホームページ、<http://setac-ea.org/>
- 2) 澤井ら (2013) 第 16 回日本水環境学会シンポジウム要旨集
- 3) M. Ma *et al.*, (2003) *Aquatic Toxicology* 63, 221-228.