

生物応答を用いた事業場排水の WET 試験と毒性原因探索

○澤井 淳、戸田美沙、岡村哲郎、宮本信一
いであ株式会社 環境創造研究所

1. はじめに

諸外国では、水生生物の生死、繁殖、生長といった生物応答によって、環境中及び排水中の化学物質による影響を総合的に把握する手法が排水管理に導入されている。米国では全排水毒性試験 (Whole Effluent Toxicity, WET) と呼ばれ、1995 年から施行されている。

我が国では、環境省の「今後の水環境保全に関する検討会」が 2009 年に中間取りまとめの中で、『生物応答を利用した排水管理手法 (WET 手法) 等の有効性について検討すべきである。』としたことを受けて、2010 年度から既存の規制を補完する新たな排水管理手法として WET 手法の導入が検討されてきた (図 1)。2016 年度からは、産業界や自然科学分野の専門家を含む幅広い分野の関係者で構成される検討会として「生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会」が設置され、自主管理制度としての導入を目指し、制度面及び技術面の課題について検討されている。

まだ検討中の排水管理手法であるが、一部の先進的な企業では既に排水管理に導入し、生物多様性保全活動の一環として、CSR 報告書等で取り組みを公表している。

行政

環境省:

- ・2010年度からWET導入を検討
- ・2016年度から産業界の委員を含めた検討会を設置
- ・自主管理制度としての導入を検討中

国土交通省:

- ・下水道技術ビジョン(2015)の中で、WETの下水道への適用と毒性削減評価手法の確立を目標に設定

研究機関

国立環境研究所:

- ・WET試験の普及、技術向上のため、セミナーを定期的開催

土木研究所:

- ・下水処理水にWET試験を適用し毒性の原因について調査

事業場

経団連:

- ・WET手法の活用の再考を提言

化学業界、製薬業界、製紙業界:

- ・WET勉強会開催、業界内で情報共有

一部の企業で、生物多様性保全活動の一環としてWET試験を実施

試験機関

民間試験機関:

- ・10機関程度でWET試験を受託

地方環境研究所:

- ・一部の研究所でWET試験を実施

図 1 各ステークホルダーの WET への対応状況

2. WET 試験の実施例

(1) 排水試料

排水基準を遵守している 8 事業場の最終放流口から、排水試料を採水した。排水試料は冷蔵、遮光条件で 24 時間以内に試験施設に搬入し、試験溶液の調製に用いた。

(2) WET 試験方法

「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)」に準拠し、魚類胚期仔魚期短期毒性試験(魚類試験)、ミジンコ類繁殖試験(甲殻類試験)、藻類生長阻害試験(藻類試験)を行った。試験条件を表 1 に示す。試験生物には、それぞれゼブラフィッシュ、ニセネコゼミジンコ、ムレミカツキモを用いた(図 2)。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、甲殻類試験から得られた累積産仔数、藻類試験から得られた生長速度について、最大無影響濃度(NOEC)を求めた。NOEC は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である。

(3) 排水の毒性評価

100 を魚類試験、甲殻類試験、藻類試験で得られた NOEC で除して毒性単位(TU: Toxic Unit)を算出した。各試験の TU を図 3 に示す。

魚類試験の TU は<1.25~20、甲殻類試験の TU は<1.25~>20、藻類試験の TU は 10~>20 であった。排水基準と環境基準の関係と同様に、排水が河川等に排出されて 10 倍以上に希釈されると考えると、排水濃度が 10%未満で生物に毒性がみられる(TU が 10 を超える)場合には、その毒性を削減する対策が必要となる可能性がある。3 生物種のいずれかで TU が 10 を超えた排水は a~f の 6 試料あり、排水基準を満たしていても水生生物に対して毒性がみられる排水があった。

表 1 日本版 WET 試験の試験条件

項目	魚類試験	甲殻類試験	藻類試験
ばく露方式	半止水式(2日ごとに換水)	半止水式(2日ごとに換水)	止水式、振とう培養(100 rpm)
ばく露期間	9~10日間	7~8日間	3日間
試験区	排水5、10、20、40、80%区および対照区		
連数	4連/試験区	10連/試験区	3連/試験濃度区、6連/対照区
供試生物	ゼブラフィッシュ (<i>Danio rerio</i>)	ニセネコゼミジンコ (<i>Ceriodaphnia dubia</i>)	ムレミカツキモ (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)
供試生物数	15粒/試験容器	1個体/試験容器	5×10 ³ cells/mL/試験容器
試験用水	脱塩素水道水	人工調製水(US EPA, Moderately hard)	OECD培地
試験液量	50 mL/試験容器	15 mL/試験容器	100 mL/試験容器
試験温度	26±1℃	25±1℃	23±2℃
照明	白色蛍光灯、 16時間明/8時間暗周期	白色蛍光灯、 16時間明/8時間暗周期	白色蛍光灯、連続光、 光子束密度60-120 μmol·m ⁻² ·s ⁻¹
給餌	なし	・ムレミカツキモ (3.5×10 ⁷ cells/mL、100 μL) ・YCT (1.8 g-solid/L、50 μL)	なし
エンドポイント	生存率、ふ化率、 ふ化後生存率、生存指標	累積産仔数、親個体の死亡率	生長速度、生長阻害率

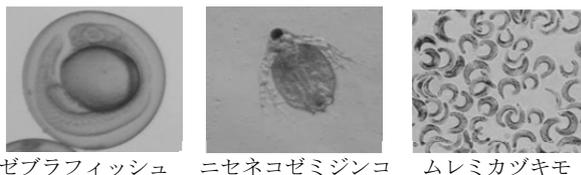


図 2 WET 試験の試験生物

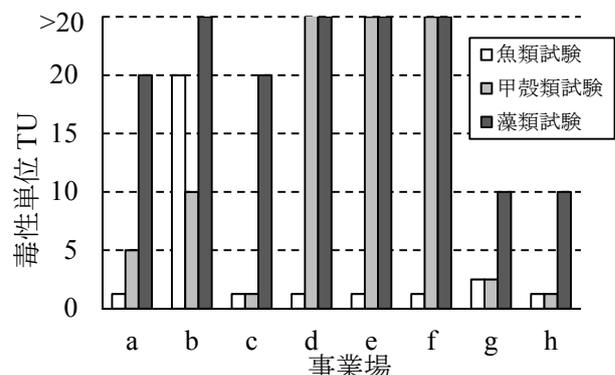


図 3 排水の毒性評価結果

3. 排水の毒性原因物質の絞り込み

米国では排水に毒性がみられた場合に、排水の毒性を削減する対策方法を考えるために、毒性削減評価 (TRE: Toxicity Reduction Evaluation) (図 4) を実施する¹⁾。現状の施設の運転管理、使用化学物質、排水処理システムに問題が見つからなければ、毒性原因物質を絞り込む方法として、毒性同定評価 (TIE: Toxicity Identification Evaluation) (図 5) を実施する²⁾。TIE は、毒性原因物質の特徴化、毒性原因物質の同定およびその確認の3段階で構成される。毒性原因物質の特徴化では、排水試料に pH 調整、キレート剤添加、還元剤添加、ばっ気、固相透過・抽出等の物理化学的な処理を施し、各処理前後の毒性を比較することで、大まかに毒性原因物質を絞り込む。例えば、キレート剤添加で排水の毒性が減少した場合、陽イオン金属が毒性原因物質と推定される。米国の TIE では、Phase II において有機化合物の化学分析も行われる。既存のデータベースにある化学物質と照合し、同定する手法である。

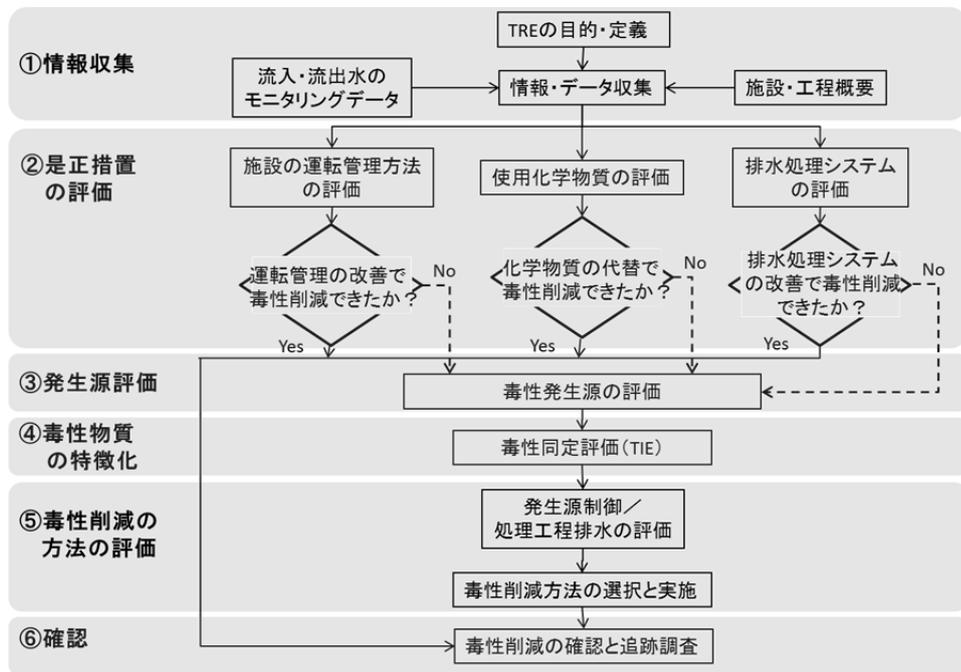
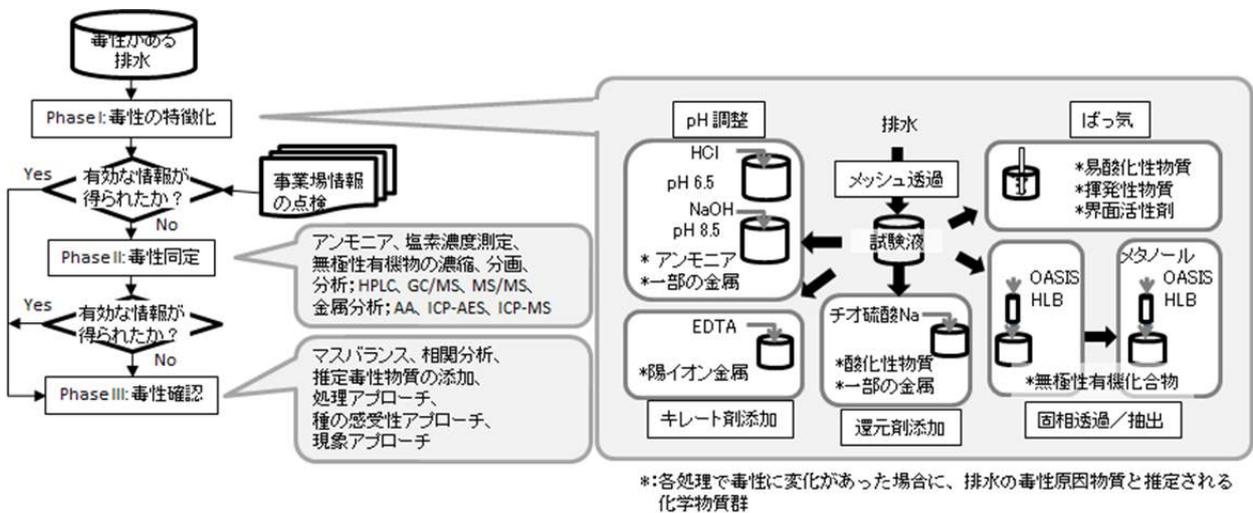


図 4 毒性削減評価 (TRE) の流れ¹⁾



*:各処理で毒性に変化があった場合に、排水の毒性原因物質と推定される化学物質群

図 5 毒性同定評価 (TIE) の流れ²⁾

4. 毒性原因物質の探索

米国における排水の TRE の成功率³⁾を表 2 に示す。成功事例を毒性が削減できた事例と毒性が消失した事例を足し合わせたものとする、TRE の成功率は、工場で 60%であるのに対し、下水処理場では 35%と低かった。下水処理場には多種多様な化学物質が流入しており、当時は毒性原因物質の同定が困難であったことが要因の 1つと考えられる。

現在、この課題を解決するため、毒性原因物質の特徴化により有機化合物群が原因と推定された場合に、LC/MS 等を用いたノンターゲット分析を行い、日本版 WET 試験で得られた毒性値と関係のある化学物質を、多変量解析により探索する手法(図 6)の開発に取り組んでいる⁴⁾。

表 2 米国における TRE の成功率³⁾

	TRE事例 総数	TRE事例数 (割合)			
		毒性が削減された	毒性が完全に 削減されていない またはTRE実施中	毒性が消滅した	毒性が削減 されたか不明
工場	20	9 (45%)	4 (20%)	3 (15%)	4 (20%)
下水処理場	57	11 (19%)	24 (42%)	9 (16%)	13 (23%)
合計	77	20 (26%)	28 (36%)	12 (16%)	17 (22%)

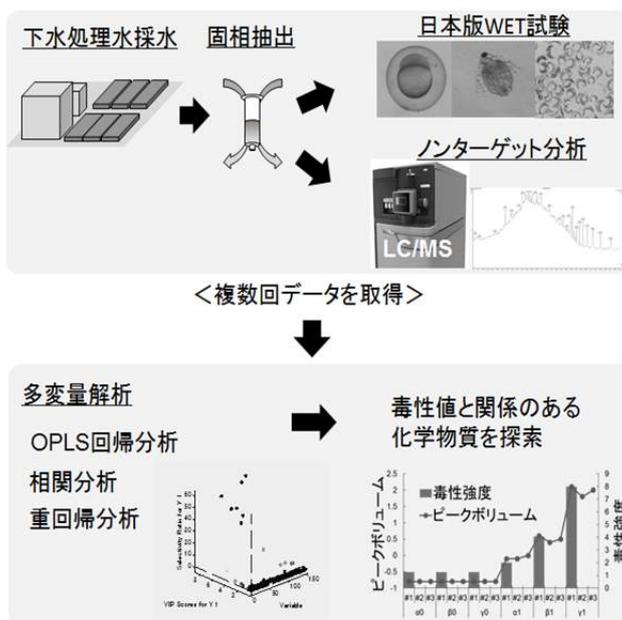


図 6 毒性原因物質の探索の流れ⁴⁾

参考文献

- 1) US EPA, (1989), Generalized Methodology for Conducting Industrial Toxicity Reduction Evaluations (TREs), EPA/600/2-88/070.
- 2) T. J. Norberg-King *et al.*, (2001), Toxicity Reduction and Toxicity Identification Evaluation for effluents, ambient waters, and other aqueous media, SETAC.
- 3) Water Environment Association of Texas *et al.*, (2010), Report on freedom of information act request to U. S. Environmental Protection Agency by Texas Coalition of Publicly Owned Treatment Works regarding sublethal toxicity reduction evaluations.
- 4) 澤井ら, (2017), 第 26 回環境化学討論会 講演要旨集, 2B-02.