

# 日本版 WET 試験による排水管理の事例と課題

いであ株式会社 環境創造研究所 ○澤井 淳、岡村哲郎、宮本信一

Effluent management by Whole Effluent Toxicity test in Japan: Case studies and challenges, by Atsushi SAWAI, Tetsuro OKAMURA, 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（日本版 WET 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。一部の先進的な企業では、CSR 活動の一環として日本版 WET 試験による排水管理が行われている。

本発表では、日本版 WET 試験結果の事例を示すとともに、米国において排水に毒性がみられた場合に行われる毒性原因物質の同定方法を紹介する。また、毒性原因物質の同定における課題とその解決のための取り組みを紹介する。

## 2. 日本版 WET 試験の実施例

### (1) 排水試料

排水基準を遵守している 8 か所（a～h）の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) 日本版 WET 試験

試験生物には、ゼブラフィッシュ（魚類）、ニセネコゼミジンコ（甲殻類）、ムレミカヅキモ（藻類）を用いた（図 1）。「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。

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 2 に示す。



図 1 日本版 WET 試験で用いる試験生物

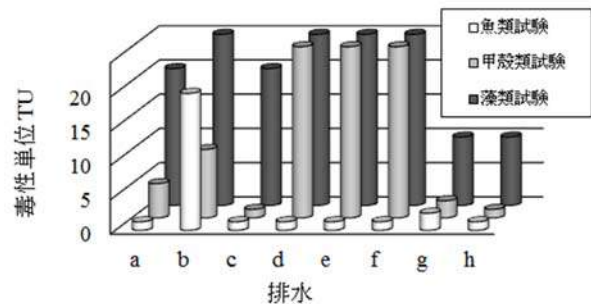


図 2 排水の毒性評価事例

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> )	ムレミカヅキモ ( <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> )
供試生物数	15粒／試験容器	1個体／試験容器	5×10 <sup>3</sup> 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 °C	25 ± 1 °C	23 ± 2 °C
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 <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>
給餌	なし	・ムレミカヅキモ（3.5×10 <sup>7</sup> 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

魚類に対する TU は <1.25~20、甲殻類に対する TU は <1.25~77、藻類に対する 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。

### 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 3) を実施する。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 (図 4)。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 手法では、Phase II において有機化合物の化学分析も行われるが、既存のデータベースにある化学物質でなければ同定はできない。

### 4. 毒性原因物質の探索についての取り組み

米国における排水の毒性削減の成功率を表 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、毒性削減の成功率は、工場で 60%、下水処理場で 35% であった。下水処理場には多種多様な化学物質が流入するため、毒性原因物質の同定が困難となり、成功率が低くなったと考えられる。

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である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 5) の開発に取り組んでいる。

表 2 米国における毒性削減の成功率<sup>2)</sup>

	毒性削減 対策実施中				不明
	Total TREs**	Toxicity Eliminated	Toxicity Not Completely Eliminated or Study Still in Progress	Toxicity Disappeared	
Industrial 工場	20	9 (45%)	4 (20%)	3 (15%)	4 (20%)
Municipal 下水処理場	57	11 (19%)	24 (42%)	9 (16%)	13 (23%)
Total	77	20 (26%)	28 (36%)	12 (16%)	17 (22%)

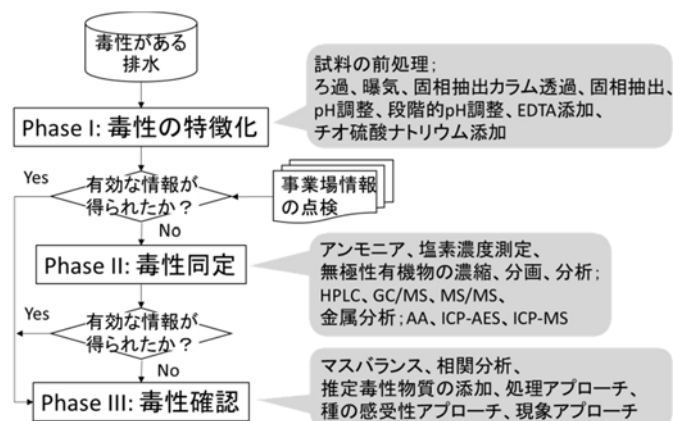


図 3 毒性同定評価の流れ<sup>1)</sup>

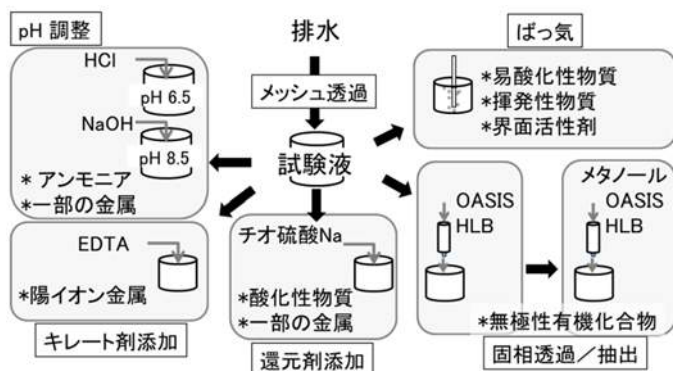


図 4 毒性原因物質の特徴化の例

\*: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

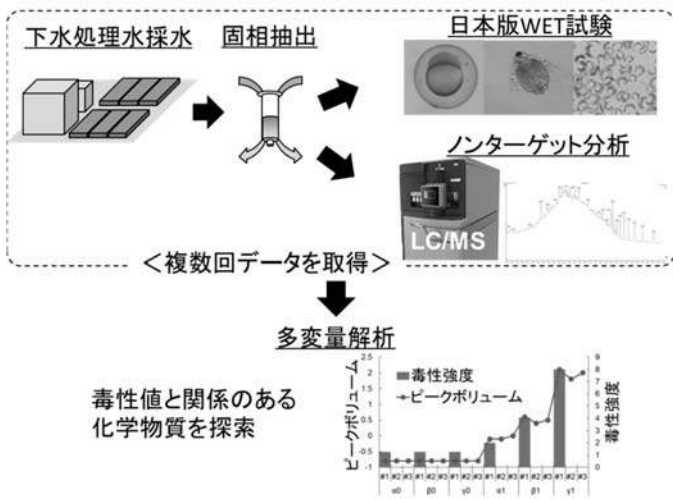


図 5 有機化合物を対象とした毒性原因物質の探索<sup>3)</sup>

### 参考文献

- 1) T. J. Norberg-King *et al.*, (2001), SETAC
- 2) Water Environment Association of Texas *et al.*, (2010)
- 3) 澤井ら, (2017), 第 26 回環境化学討論会 講演要旨集, 2B-02.