排水と4種類の化合物のムレミカヅキモ増殖阻害試験における無機塩類の影響

浦野 紘平^{1, 2), *} 太宰 久美子²⁾
加藤 研太²⁾ 浦野 真弥²⁾

Effect of Inorganic Salt on *Pseudokirchneriella Subcapitata* Growth Inhibition of Wastewater and Four Types of Compounds

Kohei URANO^{1, 2), *}, Kumiko DAZAI²⁾, Kenta KATO²⁾ and Shinya URANO²⁾

¹⁾ Professor Emeritus of Yokohama National University, Tokiwadai 79-1, Hodogaya-ku, Yokohama 240-8501, Japan

²⁾ Institute of Environment and Resource Systems, Kitashin 29-10, Seya-ku, Yokohama 246-0036, Japan

Abstract

Pseudokirchneriella subcapitata growth inhibition test of wastewater, which was diluted in five stages by mixing of 5%–80% wastewater with 20%–95% OECD medium, was proposed as a wastewater management tool by a research project of the Ministry of the Environment. In this study, the growth inhibition test was conducted in wastewater samples from five factories. Mixtures of 80% wastewater with 20% OECD medium, mixtures of 80% wastewater with 1/50 seawater salts and 20% OECD medium, and 100% wastewater samples after adding a concentrated OECD medium for it to become 100% OECD medium composition were tested. Four types of compounds were tested in this manner. As a result, the inhibition varies greatly in the wastewater from four factories depending on the coexistent inorganic salts. Furthermore, the 20% OECD medium samples show higher inhibition than the 100% OECD medium samples for zinc and copper, but equal or lower inhibition than those for DBS and aniline. Because the concentration and composition of inorganic salts change in the proposed dilution test, the relationship between the dilution rate and inhibition is unclear. Therefore, for wastewater management purposes, the test should be performed in undiluted wastewater by adding a small amount of concentrated OECD medium so it to be 100% OECD medium composition.

Keywords: *Pseudokirchneriella subcapitata* growth inhibition; Algae toxicity; Influence of inorganic salts; Whole effluent toxicity; Wastewater management

1. はじめに

環境省は、工場・事業場からの排水には多様な化学物質が含まれており、それらの複合的影響の管理のためには、水生生物毒性（バイオアッセイ、生物応答、生態毒性などともいう）を用いた排水管理（通称 WET: Whole Effluent Toxicity 管理）手法の導入が有効であるとして、調査を国立環境研究所に委託し、日本での導入を検討している¹⁻⁶⁾。この調査では、5段階に希釈した排水について、ムレミカヅキモ増殖（成長）阻害、ニセネコゼミジンコ繁殖阻害、ゼブラフィッシュ（またはヒメダカ）の孵化・初期生長阻害等の慢性毒性試験を行う方法（以下、「試験方法案」と記す）⁶⁾が提案されている。しかし、何らかの WET 管理を自主管理方法として導入する場合にも塩素消毒の影響、希釈による塩類濃度や pH の変化の影響、長期間の慢性毒性試験中の水質変化等々の技術的な問題点、および1試験に100万円近い経費を要する⁶⁾

という経済的な問題点など、明確にするべき点や改善すべき点が少なくない⁷⁻¹⁰⁾。

例えば、試験方法案のムレミカヅキモ増殖阻害試験では、OECD 培地と排水を 80, 40, 20, 10, 5% 混合して5段階希釈する（OECD 培地は 20, 60, 80, 90, 95% となる）か、20% OECD 培地組成になるように5段階希釈するとされている。

しかし、金属類の生態毒性については、無機塩類や pH の影響があるとして、これを予測するための Biotic Ligand Model (BLM) が提案され¹¹⁾、米国 EPA ではこの BLM を用いて金属類の環境基準の設定を行っている¹²⁾。有機物についても同様に無機塩類や pH の影響がある可能性がありうる。また、試験機関によって排水の希釈方法等が異なり、試験結果が異なる場合があることなどが報告されている¹³⁻¹⁵⁾ものの、詳しい報告はない。

そこで本研究では、5ヶ所の工場排水について、試験方法案と同じく排水 80% と OECD 培地を 20% 混合した

1) 横浜国立大学名誉教授 〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-1

2) 有限会社環境資源システム総合研究所 〒246-0036 横浜市瀬谷区北新 29-10

* 連絡先: k-urano@ynu.ac.jp

試料のほかに、実際の排水でありうる塩類濃度範囲での無機塩類濃度の影響を調べるために、1/50 海水相当濃度に人工海水塩を添加した試料、および著者が横浜国立大学在職中から同大学発ベンチャー（有）環境資源システム総合研究所でも行ってきた、排水に濃厚 OECD 培地を 100% OECD 培地に相当するだけ加えた試料について、ムレミカヅキモ増殖阻害試験を行い、無機塩類の影響がある実例を示した。また、4 種類の化合物についても同様の試験を行って、提案されている試験方法案に示された希釈試験の妥当性を考察し、代案を示すことを目的とした。

2. 方法

2.1 試料調製用水

化合物溶液を調製するための純水には、イオン交換後に精製活性炭で処理した水を用いた。この純水の導電率（以下、EC と記す）は 0.01 mS m^{-1} 未満、硬度は 0 mg L^{-1} であった。

化合物溶液や排水の試料調製に用いた OECD 培地の組成を **Table 1** に示す。この OECD 培地の pH は 8.1、EC は 16 mS m^{-1} 、硬度は 17 mg L^{-1} であった。

なお、OECD の 2006 年改定（最新）テストガイドライン 210 にある培地の Stock solution 1~4 のうち、Stock solution 1 は 1,000 倍濃度にするためと沈殿が生じるために OECD 培地の 100 倍濃度とされ、Stock solution 2~4 は OECD 培地の 1,000 倍濃度とされている。そこで本研究では、混合すると同じ組成になるが、1,000 倍濃度でも沈殿を生じない改訂前のテストガイドラインにある **Table 1** の I~IV に分けて OECD 培地の 1,000 倍濃度の保存液を調製して使用した。

また、無機塩類調整に用いた Red Sea 社製の人工海水塩は、海水蒸発塩 72% を成分調整した固体で、主要無機塩の組成は海水とほぼ等しい。この人工海水塩を 1/50 海水相当濃度に溶解した液（以下、1/50 海水相当濃度塩添加試料と記す）の pH は 7.3、全蒸発残分は 710 mg L^{-1} 、EC は 130 mS m^{-1} 、硬度は 127 mg L^{-1} であった。

また、pH は東亜 DKK 製の IM-22 P 型 pH メーター、EC は堀場製作所製の D-54 型導電率計で測定し、硬度はカルシウム濃度とマグネシウム濃度から計算した値、または標準液で検定した共立理化学研究所製全硬度用ドロップテストで測定した。

2.2 工場排水試料

工場排水試料は、5 ヶ所の機械・金属系工場（A~C）と電気・電子系工場（D、E）の凝集沈殿処理や活性汚泥処理等を行った後の塩素消毒前の排水をプラスチック容

器に口まで採取し、冷蔵輸送し、懸濁物質がほとんどなかったで濾過せずに上澄みを用いた。各排水試料の pH、EC および硬度を **Table 2** に示す。排水 D の EC や硬度が高いが、他の排水の EC や硬度は水道水レベルであった。また、いずれの試料も DO 濃度は 8 mg L^{-1} 以上、TOC 濃度は $3\sim5 \text{ mg L}^{-1}$ であった。

これらの排水試料について、試験方法案に示されているように、OECD 培地と、排水または海水の 1/50 相当濃度となるように人工海水塩を加えた排水とを 20:80 に混合した試料（以下、それぞれ「OECD 培地 20% 混合試料」、「OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料」と記す）、および 100% OECD 培地組成になるように、1,000 倍濃度の I から IV 液をそれぞれ 1/1,000 ずつ、良く混合しながら添加して調整した試料（以下、「100% OECD 培地組成試料」と記す）を試験に用いた。この方法では、OECD 培地 20% 混合試料または OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料では、排水が 80% に希釈されるが、100% OECD 培地組成試料では、排水がほぼ 100% で試験できることになる。

2.3 化合物試料

試験化合物には、金属化合物として関東化学製の特級塩化亜鉛（純度 98% 以上）と関東化学製の特級塩化銅二水和物（純度 99% 以上）、有機化合物として和光純薬製の衣料用合成洗剤試験用ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム（DBS）（純度 95% 以上）、および関東化学製特級アニリン（純度 99% 以上）を用い、濃度を 2 倍ずつ（公比 2）、5~6 段階に変えた液を調製して試験に用いた。

それぞれの化合物は、試験方法案に示されているように、OECD 培地と、純水溶液または海水の 1/50 相当濃度になるように人工海水塩を加えた溶液とを 20:80 に混合した試料（OECD 培地 20% 混合試料と OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料）、および 100% OECD 培地組成になるように、1,000 倍濃度の I から IV 液をそれぞれ 1/1,000 ずつ、良く混合しながら添加して調整した試料（100% OECD 培地組成試料）を試験に用いた。ただし、OECD 培地を 20% 混合した場合には、試験濃度の 1.25 倍濃度の化合物溶液を用いて試験濃度とした。

各化合物純水溶液の pH は 5~7 程度、EC は 0 または $2\sim7 \text{ mS m}^{-1}$ 程度、硬度は 0 mg L^{-1} であったので、OECD 培地 20% 混合試料の pH は 7.1 程度、EC は試験液濃度によって $3\sim10 \text{ mS m}^{-1}$ 程度、硬度は 3 mg L^{-1} 程度になった。また、OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料では、pH は 7.5 程度、EC は 105 mS m^{-1} 程度、硬度は 102 mg L^{-1} 程度で 1/50 海水相当濃度塩添加の値の

Table 1 Components of OECD medium.

	Compound	(mg L^{-1})		Compound	(mg L^{-1})
I	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.08	II	NH_4Cl	15
	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1		$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	18
	H_3BO_3	0.185	III	KH_2PO_4	1.6
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.415		NaHCO_3	50
	ZnCl_2	3×10^{-3}	IV	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	12
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.5×10^{-3}		$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	15
	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1×10^{-5}			
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7×10^{-3}			

Table 2 pH, EC and hardness of sample wastewater.

Wastewater	pH	EC (mS m^{-1})	Hardness (mg L^{-1})
A	6.5	39	52
B	7.5	30	37
C	7.1	32	42
D	7.3	213	191
E	7.2	57	63

ほぼ80%となり、100% OECD 培地組成試料の pH は8程度、EC は16~23 mS m⁻¹ 程度、硬度は17 mg L⁻¹ 程度になった。

なお、いずれの試料も DO 濃度は8 mg L⁻¹ 以上であった。

2.4 試験方法

ムレミカツキモ増殖阻害試験は、OECD¹⁶⁾ および環境省等¹⁷⁾ が示している化学物質の毒性試験方法に準じ、OECD 培地での陰性対照試験を6連 (n=6)、試料の試験を3連 (n=3) で行った。また、塩化亜鉛の OECD 培地溶液を用いた陽性対照試験を行い、ムレミカツキモの感受性の安定性を確認をした。なお、ムレミカツキモは優良試験所 (GLP) 認定を受けて各種の化学物質の毒性試験を行っている Z 社から入手して継代培養したものを用いた。また、同じ化合物や排水で OECD 培地の濃度や無機塩類濃度の異なる試験は、添加藻類の感受性等の違いがないように同一日時に試験した。

試験操作の詳細は省略するが、各試料液100 mLを300 mL 三角フラスコにとり、予め3日程度前培養したムレミカツキモを初期濃度が1 × 10⁴ cells mL⁻¹ になるように添加し、23 ± 2 °C、約4,500 lxの光照射下で72 h 振とう培養し、72 h (3d) 後の細胞数 N₃ を Sysmex 社製 CDA-500 型の粒子計数計で計数した。

それぞれの細胞数 N₃ から、(1)式によって増殖速度定数 μ を求め、試料の増殖速度定数 μ と OECD 培地での陰性対照試験の平均増殖速度定数 μ_T とから、(2)式によって阻害率 I_μ (%) を算出した (速度法という)。

$$\mu = \{ \ln N_3 - \ln (1 \times 10^4) \} / 3 \quad (1)$$

$$I_\mu = 100 (\mu_T - \mu) / \mu_T = 100 - 100 \mu / \mu_T \quad (2)$$

化合物については、試験濃度 C の対数 (logC) と n=3 の阻害率 I_μ の平均値との関係図から、非線形回帰分析法で50%阻害濃度 (EC₅₀) および10%阻害濃度 (EC₁₀) を求めて評価し、排水については、n=3 の阻害率 I_μ の平均値で評価した。

3. 結果および考察

3.1 工場排水試料での試験

各工場排水試料の3回の増殖阻害率 I_μ とそれらの平均値を Table 3 に示す。

なお、排水試験時の6連 (n=6) の陰性対照試験における平均増殖速度定数 μ_T は、1.02 d⁻¹~1.06 d⁻¹、それらの標準偏差は0.02~0.03 d⁻¹であった。また、塩化亜鉛による陽性対照試験での EC₅₀ は、いずれの場合も亜鉛として0.1 mg L⁻¹ 付近にあり、藻類の感受性が安定していることが確認された。

試験方法案と同じ OECD 培地20%混合試料に比べて、OECD 培地20%混合1/50 海水相当濃度塩添加試料では、阻害率 I_μ が約0.74 倍~1.0 倍でやや毒性が低い傾向があったが、明確な差は認められなかった。一方、OECD 培地20%混合試料 (排水80%) に比べて、100% OECD 培地組成試料は、排水が希釈されずに100%であるにも係わらず、阻害率 I_μ が約0.30 倍~0.80 倍となり、明らかに毒性が低くなった。

以上のように、排水試料についても、ムレミカツキモ増殖試験の結果は、共存する OECD 培地濃度や無機塩類

Table 3 Inhibition I_μ (%) and their mean values for wastewater (n=3).

Wastewater		100% OECD medium 20% + Wastewater 80%	20% OECD medium + 2% Sea-water component wastewater	100% OECD medium component wastewater
A	I_μ	41;43;45	28;32;36	15;21;28
	Mean	43	32	21
B	I_μ	49;50;53	48;50;54	42;43;47
	Mean	51	51	44
C	I_μ	87;88;88	70;73;74	38;40;45
	Mean	88	72	41
D	I_μ	52;55;57		16;20;25
	Mean	55	—	20
E	I_μ	58;63;64		15;18;23
	Mean	62	—	19

濃度によってかなり変化することが示された。これは、OECD 培地濃度が低いと藻類増殖に必要な無機塩類が不足気味になること、および Biotic Ligand Model で考えられているように、共存する多くの無機塩類によって毒性物質の生物への取り込まれ易さが変わることなどによる可能性が考えられた。したがって、様々な無機塩類組成の排水について、試験方法案に示されている OECD 培地20~95% (排水5~80%) あるいは OECD 培地20%組成になるようにして5段階希釈する試験では、試験試料の無機塩類の濃度と組成が希釈によって変化し、試験結果の意味が不明確になる。

3.2 化合物溶液試料での試験

各化合物の各試験濃度での n=3 の阻害率 I_μ とそれらの平均値、および試験濃度の対数と平均阻害率との関係図から求めた EC₅₀ と EC₁₀ を Table 4 にまとめて示す。なお、金属化合物の毒性濃度は金属換算濃度で表示した。

6連 (n=6) の陰性対照試験における平均増殖速度定数 μ_T は、塩化亜鉛、塩化銅、DBS、アニリンの試験時には、それぞれ1.02 d⁻¹、1.08 d⁻¹、0.96 d⁻¹、1.01 d⁻¹ で、いずれも OECD の定めた増殖速度定数0.92 d⁻¹ 以上を満たしていた。また、それらの標準偏差は0.02~0.03 d⁻¹ であった。

なお、n=3 という少数試験での増殖速度 μ の標準偏差は試験ごとにやや大きな差があり、また、阻害率 I_μ が低い範囲での標準偏差はやや大きくなるが、EC₅₀ と EC₁₀ の標準偏差は30%程度であった。

亜鉛については、試験方法案と同じ OECD 培地20%混合試料に比べて、OECD 培地20%混合1/50 海水相当濃度塩添加試料では、EC₅₀ が約5.3 倍になって毒性が低くなったが、EC₁₀ は約1.2 倍で大差なく、毒性を示す濃度範囲が広がった。また、OECD 培地20%混合試料に比べて、100% OECD 培地組成試料では、EC₅₀ は約2.9 倍、EC₁₀ は2.0 倍になり、毒性が低くなった。

なお、米国 EPA の生態毒性 (ECOTOX) データベース AQUIRE、化学物質毒性・生態毒性欧州センター (ECETOC) データベース、および環境省の公開データで、ムレミカツキモ増殖阻害データを調査した結果、亜鉛の EC₅₀ については、0.0447~0.798 mg L⁻¹ (幾何平均

Table 4 Inhibition I_{μ} (%) and their mean values of typical compounds (n=3)

	Test concentration (mg L ⁻¹)		0.013	0.025	0.050	0.10	0.20	0.40	EC ₅₀	EC ₁₀
	OECD medium 20% + Solution 80% mixture	I_{μ}	13;14;18	35;37;42	58;58;60	88;90;91	94;96;96		0.038	0.010
ZnCl ₂		Mean	15	38	59	90	95			
	OECD medium 20% + 1/50 Seawater salt solution 80% mixture	I_{μ}	7;11;14	13;19;19	23;24;26	32;33;38	46;52;52	88;90;90	0.20	0.012
		Mean	11	17	24	34	50	89		
	100% OECD medium component solution	I_{μ}	2;8;8	11;13;15	25;28;28	45;45;48	88;89;90	94;94;95	0.11	0.020
		Mean	6	13	27	46	89	94		
	Test concentration (mg L ⁻¹)		0.013	0.025	0.050	0.10	0.20		EC ₅₀	EC ₁₀
	OECD medium 20% + Solution 80% mixture	I_{μ}	9;14;20	88;88;90	89;92;92	93;95;95	93;94;96		0.015	0.013
CuCl ₂		Mean	14	89	91	94	94			
	OECD medium 20% + 1/50 Seawater salt solution 80% mixture	I_{μ}	9;10;11	37;42;44	83;86;86	85;87;88	87;90;94		0.028	0.013
		Mean	10	41	85	87	90			
	100% OECD medium component solution	I_{μ}	1;5;5	8;13;14	69;75;78	88;90;90	94;94;95		0.040	0.022
		Mean	4	12	74	89	94			
	Test concentration (mg L ⁻¹)		13	25	50	100	200		EC ₅₀	EC ₁₀
	OECD medium 20% + Solution 80% mixture	I_{μ}	0;6;6	9;11;11	28;28;35	62;64;70	78;81;84		81	24
DBS		Mean	4	10	29	65	81			
	OECD medium 20% + 1/50 Seawater salt solution 80% mixture	I_{μ}	3;5;12	21;23;26	52;54;61	83;84;84	84;86;86		45	15
		Mean	7	23	56	84	85			
	100% OECD medium component solution	I_{μ}	1;4;5	7;13;15	23;27;34	58;58;64	78;80;81		83	22
		Mean	3	12	28	60	80			
	Test concentration (mg L ⁻¹)		13	25	50	100	200		EC ₅₀	EC ₁₀
	OECD medium 20% + Solution 80% mixture	I_{μ}	6;6;13	8;11;13	22;22;22	34;44;55	66;70;70		110	24
Aniline		Mean	8	11	22	44	69			
	OECD medium 20% + 1/50 Seawater salt solution 80% mixture	I_{μ}	5;11;15	17;21;24	30;33;35	65;65;71	84;88;88		70	13
		Mean	10	21	33	67	87			
	100% OECD medium component solution	I_{μ}	2;5;15	16;20;22	43;45;50	73;73;76	79;81;81		53	17
		Mean	7	19	46	74	80			

0.12 mg L⁻¹) の中広い 12 データがあり、本研究の OECD 培地 20% 混合試料での EC₅₀ の 0.038 mg L⁻¹ は低すぎであり、100% OECD 培地組成試料での EC₅₀ の 0.11 mg L⁻¹ は妥当であると考えられた。

銅については、試験方法案と同じ OECD 培地 20% 混合試料に比べて、OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料では、EC₅₀ が約 1.9 倍になって毒性が低くなったが、EC₁₀ は等しく、毒性を示す濃度範囲が広がった。また、OECD 培地 20% 混合試料に比べて、100% OECD 培地組成試料では、EC₅₀ は約 2.7 倍程度、EC₁₀ は約 1.7 倍になり、毒性が低くなった。

なお、銅の EC₅₀ について文献調査した結果、0.01～0.917 mg L⁻¹ (幾何平均 0.082 mg L⁻¹) の中広い 23 データがあり、本研究の OECD 培地 20% 混合試料での EC₅₀ の 0.015 mg L⁻¹ は最低値に近く、100% OECD 培地組成試料での EC₅₀ の 0.040 mg L⁻¹ は妥当であると考えられた。

ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (DBS) については、試験方法案と同じ OECD 培地 20% 混合試料に比べて、OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料では、EC₅₀ が約 0.55 倍、EC₁₀ が約 0.63 倍になって毒性が高くなった。また、OECD 培地 20% 混合試料に比べて、100% OECD 培地組成試料では、EC₅₀、EC₁₀ ともほぼ等しく、毒性に差は認められなかった。

なお、DBS の EC₅₀ について文献調査した結果、29～172 mg L⁻¹ (幾何平均 77 mg L⁻¹) の 5 データがあり、本研究の EC₅₀ はいずれもこの範囲にあった。

アニリンについては、試験方法案と同じ OECD 培地 20

% 混合試料に比べて、OECD 培地 20% 混合 1/50 海水相当濃度塩添加試料では、EC₅₀ が約 0.64 倍、EC₁₀ が約 0.54 倍になって毒性が高くなった。また、OECD 培地 20% 混合試料に比べて、100% OECD 培地組成試料では、EC₅₀ が約 0.48 倍、EC₁₀ が 0.71 になり、毒性が高くなった。

なお、アニリンの EC₅₀ について文献調査した結果、19 と 110 mg L⁻¹ (幾何平均 46 mg L⁻¹) の 2 データがあり、本研究の OECD 培地 20% 混合試料での EC₅₀ 110 mg L⁻¹ は文献の高い値と同じであり、100% OECD 培地組成試料での EC₅₀ の 53 mg L⁻¹ は幾何平均値に近い値であった。

以上のように、ムレミカヅキモ増殖試験の結果は、共存する無機塩類濃度や OECD 培地濃度によって複雑に変化した。本ノートでは、これらの原因を説明することは目的としていないが、OECD 培地濃度が低いと藻類増殖に必要な無機塩類が不足気味になること、および Biotic Ligand Model で考えられているように、共存する多くの無機塩類によって毒性物質の生物への取り込まれ易さが変わることなどによって複雑な影響を受けるためと考えられた。したがって、試験方法案に示されている、20～95% OECD 培地や 20% OECD 培地となるようにして 5 段階希釈する試験では、OECD 培地の混合率や試料の無機塩類濃度が変化し、試験結果の意味が不明確になる。

4. おわりに

本研究の結果から、実際の排水や化合物溶液でのムレミカヅキモ増殖試験の結果は、共存する無機塩類の濃度と質によって大きく変化することが明らかになった。し

たがって、無機塩類の濃度や組成が異なる排水にムレミカツキモ増殖試験を適用する場合に、環境省委託調査で提案されている OECD 培地混合率や希釈水の組成を定めずに5段階希釈して試験し、10倍希釈で無影響であるか否かを判定する方法^{2, 4, 6)}では、希釈によって無機塩類の濃度や組成が変化するために希釈率（排水含有率）と毒性との関係が不明になり、排水の毒性を適正に評価することはできないと考えられる。

また、排水の無機塩類成分は様々であり、また排水の放流先の河川等の水量（希釈率）や塩類濃度等の水質も様々で、かなりの変動もあるので、実際の放流先の水環境中での排水の生態影響を評価することは困難である。すなわち、排水の生態毒性試験は特定条件で試験した結果で、排水の生態毒性管理を進めるための一手段にすぎないといえるので、排水管理のためには、放流前の排水に毒性物質が含まれているか否かを簡便に判定する試験方法を採用するのが妥当である。また、藻類増殖に必要な無機塩類が不足しているために、見かけ上阻害率が高くなり、排水に藻類毒性があると判定されること等は避けなければならない。

したがって、効果的な排水管理（WET 管理）方法としては、無希釈排水（Whole Effluent）のみについて、OECD 培地の濃厚液を 100% OECD 培地組成となるように少量添加し、藻類の増殖に必要な無機塩類が十分に存在する統一した条件で試験し、EC₅₀などで評価する方法が適当と考えられる。

謝 辞

本研究の試験排水の提供等にご協力頂いた関係者、および試験実施等にご協力頂いた（有）環境資源システム総合研究所の太木裕氏に記して謝意を表する。

（原稿受付 2015 年 9 月 29 日）

（原稿受理 2016 年 4 月 12 日）

参 考 文 献

- 1) 環境省, 2011. 今後の取組の進め方について. URL. <https://www.env.go.jp/water/confs/fpwq/torimatome2/04.pdf> (2015 年 6 月時点).
- 2) 国立環境研究所, 2012. 生態影響評価における WET. URL. <https://www.nies.go.jp/kanko/news/31/31-4/31-4-03.html>

(2015 年 6 月時点).

- 3) 早水輝好, 2015. 水環境保全から「健全な水循環」, 「豊かな海」へ. 用水と廃水 57, 3-5.
- 4) 渡部春奈, 鍾迫典久, 2012. 事業場における生物応答を用いた排水評価・管理手法の検討. 用水と廃水 55, 75-83.
- 5) 鍾迫典久, 2012. 排水管理ツールとしての WET. 水環境学会誌 35(A)(4), 122-127.
- 6) 環境省, 2016. 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) に対する意見等の募集について. URL. <http://www.env.go.jp/press/101686.html> (2016 年 2 月時点).
- 7) 浦野紘平, 2015. 排水の水生生物毒性 (WET) による管理の問題点と提案. 化学物質と環境 130, 12-15.
- 8) 浦野紘平, 2015. 前号「排水の水生生物毒性 (WET) による管理の問題点と提案」へのご質問・ご意見に対する補足説明. 化学物質と環境 131, 17-19.
- 9) 浦野紘平, 浦野真弥, 2015. バイオアッセイ (生物応答) による工場排水・下水・浸出水の調査事例. 用水と廃水 57, 547-557.
- 10) 浦野紘平, 浦野真弥, 2015. バイオアッセイによる河川水の毒性調査事例. 用水と廃水 57, 621-629.
- 11) Paquin, P.R., Gorsuch, J.W., Apte, S., Batley, G.E., Bowles, K.C., Campbell, P.G.C., Delos, C.G., Di Toro, D.M., Dwyer, R.L., Galvez, F., Gensemer, R.W., Goss, G.G., Hogstrand, C., Janssen, C.R., McGeer, J.C., Naddy, R.B., Playle, R.C., Santore, R.C., Schneider, U., Stubblefield, W.A., Wood, C.M., Wu, K.B., 2002. The biotic ligand model: a historical overview, Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Toxicology & Pharmacology 133(1-2), 3-35.
- 12) Jarvis, C.M., Wisniewski, L., 2006. An Introduction to the Biotic Ligand Model, Environmental Protection Agency Presentation.
- 13) 澤井淳, 岡村哲郎, 宮本信一, 板津靖之, 楠井隆史, 2013. 2 試験機関で実施した日本版 WET 試験結果の比較, 第 16 回日本水環境学会シンポジウム講演集, pp.92-93.
- 14) 澤井淳, 岡村哲郎, 宮本信一, 楠井隆史, 鍾迫典久, 2013. 排水の希釈方法が藻類生長阻害試験の結果に及ぼす影響, 第 16 回日本水環境学会シンポジウム講演集, p.97.
- 15) 名久井博之, 太田暁子, 2014. WET 試験における塩類イオンの生物影響について, 第 48 回日本水環境学会年会講演集, p.218.
- 16) OECD, 2011. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Test No.201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. URL. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en (2015 年 6 月時点).
- 17) 厚生労働省, 経済産業省, 環境省, 2011. 新規化学物質等に係る試験の方法について. URL. <http://www.env.go.jp/chemi/kagaku/hourei/02-tsuuchi-shiken.pdf> (2015 年 6 月時点).

【論 文 要 旨】

排水管理方法として、OECD 培地に排水を混合する 5 段階希釈でのムレミカツキモ増殖阻害試験が提案されている。本研究では、5ヶ所の工場排水 80%と OECD 培地 20%の混合試料、1/50 海水相当濃度の塩添加排水 80%と OECD 培地 20%の混合試料、排水を OECD 培地 100%組成にした試料のムレミカツキモ増殖阻害試験を行った。また、4種類の化合物溶液で同様の試験を行った。その結果、4種類の排水では共存無機塩類によって阻害率が大きく変化した。また、亜鉛と銅では OECD 培地 20%混合試料で OECD 培地 100%組成にした試料より阻害率が高くなり、DBS とアニリンでは同等か低くなった。すなわち、希釈排水試験では、無機塩類の濃度や組成が変化し、希釈率と毒性との関係が不明確になると考えられた。したがって、排水管理には、無希釈排水に濃厚 OECD 培地を 100% OECD 培地組成になるだけ添加して試験し、毒性の高い排水を放流しないようにする方法が適当と考えられた。

キーワード：ムレミカツキモ増殖阻害；藻類毒性；無機塩類影響；WET 管理；排水管理