

## 生物を用いた水環境の評価・管理（改善）手法の 技術的事項に関する現時点での整理

平成 29 年 11 月末時点

※本資料における「現時点」とは、特に断りない限り、整理がなされる時点を指す。また、「今後」とは、整理がなされる時点以降を指す。

※内容は今後の「生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会」及びその下に置かれた「生物応答試験法等検討ワーキンググループ」更新・充実させていく予定。

## はじめに

平成 28 年 6 月に環境省が設置した「生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会」(以下単に「検討会」という。)では、生物を用いた水環境の評価・管理(改善)手法(以下「本手法」という。)を用いる場合の有効性や検討課題を含めた在り方等について、手法活用の意義を含め、検討を進めている。

平成 29 年 3 月の検討会においてその下に設置することが了承された「生物応答試験法等検討ワーキンググループ」(以下「本WG」という。)では、検討会で指摘された本手法に関する検討課題のうち、技術的・専門的な議論を要する課題について集中的に検討することとされた。これを受け、本WGでは、平成 29 年 6 月の第 1 回以降、同年 11 月までの間に計 6 回にわたり、主に「本手法が現時点においてどのような技術的特徴、有効性、限界等を有し、その範囲内でどのような技術的な使い方が事業者にとって考えられるのか」という点について、集中的に検討を行ってきた。

本WGにおける検討は依然途上にあり、引き続き検討を継続すべき課題も残されているが、今般、現時点で得られている知見等をもとに、本手法の技術的事項について、手法の意義等との技術的な観点からの関係性を含め、現時点で可能な範囲で一定の整理を行った。(平成 29 年 11 月末時点)

今後、本WGでは、残された技術的な検討課題に対し、平成 28 年度から環境省が開始したパイロット事業等を通して引き続き本手法に関する技術的知見の収集等を進め、追加で得られた知見をもとに、今回の整理の内容を必要に応じ更新し、更に充実させていく予定である。

また、今後の検討会においては、今回の整理を踏まえ、本手法の社会的側面を含めた意義等をより明確化していくとともに、本手法の活用を自ら考える事業者等のニーズ等を必要に応じ把握しながら、幅広い関係者が本手法について理解を深めるための方策等を検討していくことを望みたい。

## 目次

### 序章 本資料について

- 1. 資料の位置付け . . . . 1
- 2. 資料の構成と主なポイント . . . . 1
  - (1) 資料の構成 . . . . 2
  - (2) 主なポイント . . . . 2

### 第1章 生物を用いた水環境の評価・管理（改善）手法の概要と意義

- 1. 手法の概要 . . . . 3
- 2. 手法の技術的な活用意義 . . . . 4
  - (1) 手法の技術的な活用意義について . . . . 4
  - (2) 手法の意義全体又は社会的意義と今回整理の関係について . . . . 6

### 第2章 事業場からの排水に対して用いる場合の主な留意点・考えられる使い方の例

- 1. 生物応答試験の対象毒性・試験生物種（試験法） . . . . 8
- 2. 生物応答試験の精度 . . . . 11
- 3. 排水変動の考慮 . . . . 12
- 4. 生物応答試験の結果の評価・解釈 . . . . 13
- 5. 排水改善の検討と生物応答試験活用の有効性 . . . . 15

### 第3章 環境省が実施したパイロット事業における活用事例・他の考えらえる活用方法

（事業の進捗、参加（協力）事業者の意向等を踏まえ、中間とりまとめに向けて今後  
記載を検討） . . . . 16

### 第4章 今後の主な検討課題

- 1. 検討会で議論すべき課題 . . . . 17
  - (1) 手法の活用意義等の更なる具体化 . . . . 17
  - (2) 多様な関係者への情報発信（リスクコミュニケーション）の視点を含む手法の使  
い方 . . . . 17
  - (3) 関係者の理解促進等の普及方策（排水改善ガイドライン（仮称）等） . . . . 17
- 2. WGでの継続検討が必要な技術的事項 . . . . 19
  - (1) 横断的事項 . . . . 19
  - (2) 個別事項 . . . . 19
- 3. その他 . . . . 21

[参考資料]手法の技術的事項に関する関係資料

・・・22

1. 生物応答試験の試験法について
2. 生物応答試験の精度について
3. 試験実施のタイミング等
4. 生物応答試験の結果の評価・解釈
5. 排水改善の検討と生物応答試験活用の有効性

(別添) 関係資料集

## 序章 本資料について

### 1. 資料の位置付け

本資料は、今後の検討会における議論が円滑に進められるよう、環境省が平成28年度から開始したパイロット事業において得られたものを含め、現時点で得られている知見をもとに、本手法の技術的特徴、有効性、現時点での限界、これらを踏まえて考えられる手法の使い方等について本WGとして暫定的に整理を行ったものである。

また、こうした整理を通して、これまでの検討会で議論がなされてきた本手法の活用意義についても、技術的観点から考えられる明確化等を提案するものである。

なお、本資料の内容はあくまで技術的観点から作成したものであるため、今後の検討会における更なる議論を通してより幅広い視点から充実させていく必要がある。また、技術的見地からも、パイロット事業における知見の蓄積等を経て本WGにおいて更新・充実させていく予定である。

### 2. 資料の構成と主なポイント

#### (1) 資料の構成

本資料は、4章から構成され、第1章「生物を用いた水環境の評価・管理（改善）手法の概要と意義」では、本手法の技術的特徴の概要を整理するとともに、これまでの検討会における議論を踏まえつつ考えられる活用意義の明確化等を提案している。

また、第2章「事業場から排水に対して用いる場合の主な留意点・考えられる使い方の例」では、本手法を自ら選択して活用することを考える事業者（事業場）にとって、実際に本手法を活用する際にどのような技術的事項に留意し、これらを踏まえてどのような使い方が考えられるのかを、事業者の自主性を前提としつつ整理を行っている。

第4章「今後の主な検討課題」では、今後の検討会及び本WGにおいて特に検討が必要と考えられる課題について整理した。なお、第3章「環境省が実施したパイロット事業における活用事例・他の考えられる活用方法」については、パイロット事業が実施途上にあるため内容の記載はしていないが、今後の事業の進捗等を踏まえ適宜追記していくことを想定している。

なお、第2章に記載した内容の検討にあたって用いた知見等は、その概要を本資料の参考資料として記載し、データ等は関係資料集として添付した。

#### (2) 主なポイント

本資料では、基本的な用語、特に今後の検討会等における議論に向けて重要と考えられる本手法の技術的特徴等の概要及びこれを踏まえた手法活用の意義について、次のと

おり整理している。

## ア 基本的な用語について

### 【生物応答試験】

化学物質に対する生物の応答を確認（利用）することにより、化学物質の有害性を評価する試験。生態毒性試験、バイオアッセイなどの名称でも呼ばれることがある。

本資料では、事業場から排出される排水や環境水に対して水生生物を用いて行うものを指し、国内の化学物質管理関連の諸制度（化学物質審査規制法、農薬取締法等）の下で導入されている水生生物を用いる試験とは、区別するものとする。

### 【事業場】

河川、湖沼、海域等の公共用水域などに排水を排出する工場や事業場で、業種は特に問わない。ただし、水質汚濁防止法等の法令に基づき排水基準等の適用を受けている場合には、法令は適切に遵守しており、その上で更に進んだ取組を自主的に行いたいと考えている工場・事業場を主な実施者と想定している。

なお、「事業者」は「事業場を所有・経営する事業者」の意味として用いる。

## イ 手法の概要

水中の物質の濃度や水生生物への影響を個別的に評価・把握するのではなく、試験生物を利用した生物応答試験を用いることで、多種多様な物質を含む事業場排水や環境水の水生生物に対する影響を総体として評価し、事業者等の利用者がその結果を事業場における化学物質管理の推進、関係者への情報発信等に活用するもの。（第1章参照）

## ウ 手法の活用意義について（※事業場排水に用いる場合）

事業者の手法の活用目的、使い方等に応じ、技術的には「事業場における化学物質管理の推進」と「排水の放流先の水生生物保全」の2通りの意義が考えられる。（第1章参照。なお、情報発信等の社会的側面に関わる意義については検討会での検討が必要。）

なお、第2章「事業場から排水に対して用いる場合の主な留意点・考えられる使い方の例」の内容はこれらを踏まえて整理しているが、本手法を事業者が自ら選択して行う事業場排水の評価や自主的な排水改善等を行う取組は、水質汚濁防止法等の法令に基づく取組と異なり、事業者自らがそれぞれの活用目的等に応じて用いる生物応答試験の方法や試験結果の評価方法を選択できるものであり、本資料をもって特定の手法の使い方を多様な事業者に一律的に求めるものではない。

1. 手法の概要

【ポイント】

- 生物応答試験は、本手法を特徴付ける最も重要な構成要素であり、事業場から排出される排水や環境水といった含有物質の組成等がケース・バイ・ケースで変動する水に対して用いることで、水中の多種多様な物質による水生生物への影響を個別にではなく、その水総体としての影響を評価することができる。
- 試験には、一般には結果に信頼性（精度）が得られる試験生物種が用いられ、その際、具体的な種は生物の栄養段階を考慮した3生物群（魚類、無脊椎動物、藻類）から選択する。
- こうした生物応答試験の結果は、事業場における化学物質管理の推進、関係者への情報発信等に活用し得る。
- 一方で、生物応答試験のみで排水や環境水の水質を適切に把握したり、試験結果で生態影響がみられた場合の原因を特定するものではない。このため、特に事業者が排水等の改善を含めて検討しようとする場合には、例えば、
  - ・排水に含まれる物質の濃度や組成を確認するためには化学分析を用いる
  - ・製造事業者であれば、各事業場の製造プロセス等の状況を改めて点検・確認する
  - ・排水処理プロセスの運転・管理状況等を改めて点検・確認する
  - ・その他、事業者自らが平素の排水管理において蓄積している知見を有効利用するという方法を生物応答試験と適切に組み合わせることが必要である。

（注）関係者への情報発信等の本手法の社会的側面に関しては、今後の検討会で検討が必要と考えられる。（第4章参照）

【説明】

本手法は、水中の物質の濃度や水生生物への影響を個別的に評価・把握するのではなく、試験生物を利用した生物応答試験を用いることで、多種多様な物質を含む事業場排水や環境水の水生生物に対する影響を総体として評価し、事業者等の利用者がその結果を事業場における化学物質管理の推進、関係者への情報発信等に活用できる可能性がある手法である（詳細は第2章、第3章（予定）参照）。試験に用いられる生物種は、【ポイント】に記載のとおり、一般に試験精度が得られ、なおかつ生物の栄養段階を考慮した3生物群（魚類、無脊椎動物、藻類）の中から選択される（詳細は第2章参照）。なお、このように事業場排水等の水質評価等に生物応答試験を用いる手法は、諸外国では既に多くの実施実績がある（参考資料参照）。

一方で、生物応答試験を行うことだけが本手法の活用方法ではなく、事業者が自らの目

的等に応じて本手法を活用する際には、【ポイント】にも記載のとおり、生物応答試験の結果や試験の実施を契機に化学分析等の様々な取組を組み合わせることが必要である。

なお、環境水（公共用水域）に対して用いる場合については今後の検討課題として第4章に記載し、以降の本章から第3章では事業場排水に対して本手法を用いる場合について整理した。

## 2. 手法の技術的な活用意義

### (1) 手法の技術的な活用意義について

#### 【ポイント】

##### ア 事業場における化学物質管理推進の観点からの意義

- 排水に対して生物応答試験を用いることで、排水に含まれる多種多様な物質に由来する排水そのものの水生生物への影響を検出することができる。
- 試験の結果を事業者自らが自主的に評価し、その評価結果に応じ、又は試験を契機に、事業者が事業場における排水中の生態毒性を有する物質の削減といった自主的な改善（排水改善）や他の自主的な化学物質管理を行うことで、公共用水域への環境負荷の低減が図ることができる。また、これにより排水基準等の法令を遵守する事業者の取組を補完。
- 事業者にとっては、・・・（事業者にとって本手法を化学物質管理の意義から着目して説明する際のメリットなど社会的側面からの意義を明確化できるよう、今後の検討会で検討が必要）

##### イ 排水放流先の水生生物保全の観点からの意義

- 生物応答試験の結果の自主評価や試験を契機とした排水改善その他の自主的な化学物質管理が事業者により行われることで、公共用水域への環境負荷が低減され、こうした取組が、ひいてはより良い水生生物の生息環境の実現に貢献できる可能性がある。
- 事業者にとっては、・・・（社会的側面からの意義を明確化できるよう、今後の検討会で検討が必要（同上））

(注) 「事業場における化学物質管理の推進」は、関連度合いは事例に様々でもひいては「排水の放流先の水生生物保全」にも資すると考えられるが、ここでは、本手法の活用を考える事業者が自らの関心、目的等に応じて活用意義を理解しやすくなるよう両者を区別して記載した。

#### 【説明】

公共用水域の水質指標としては、環境基本法に基づく水質環境基準（以下単に「水質環

境基準」という。)が設定されており、その達成率は全国的には年々改善傾向にある。

一方で、近年の水環境保全・水生生物保全に関する課題は地域・水域毎に多様化しており、全国的に設定されている水生生物保全に着目した水質環境基準（平成 29 年 11 月末時点で 3 項目（物質））の達成や水質汚濁防止法に基づく排水基準の遵守では、各地域における水生生物の生息状況、その保全に対するニーズ等に十分に答えられない場合もあると考えられる。

このようなニーズ等がある場合、本手法を活用し、排水に対して生物応答試験を用いることで、水質環境基準等が設定されていない物質も含めた多種多様な含有物質の水生生物への毒性影響を総体として自主評価し、必要に応じ評価結果を踏まえた排水等の自主改善を図る取組を行うことは、一つの手段になる場合があると考えられる。この場合における本手法活用の技術的意義としては、【ポイント】に記載のとおり、手法の使い方に応じて「事業場における化学物質管理の推進」と「排水の放流先の水生生物保全」の 2 通りが考えられる。また、これらの意義と「生物応答試験の結果の自主評価」及び「評価結果を踏まえた排水等の自主改善」との関係を整理すると、表 1 のとおりとなると考えられる。

表 1 手法活用の技術的意義と使い方の例の関係

手法活用の 技術的意義	手法活用時の自主的取組方法（手法の使い方）の「例」※1	
	生物応答試験※2の結果の自主評価	評価結果を踏まえた排水等の自主改善
事業場におけるの 化学物質管理推進	<p>○自主評価のための任意の影響評価値（TU値など）を置く。</p> <p>（例）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・社内で目標としやすい数字とする</li> <li>・環境基準に対する排水基準の倍率を参考にする など</li> </ul>	<p>○自主改善目標とした試験結果の影響評価値を目安に、排水総体の生態毒性値の改善を図る。</p> <p>○試験の実施や評価を契機に、各段階における化学物質等の使用量の更なる適正化を進めるなど、化学物質管理の自主的改善を図る。</p> <p style="text-align: right;">など</p>
排水放流先の 水生生物保全	<p>○排水放流先の水域の実態と関連付けて算出される任意の影響評価値（TU値など）を置く。※3</p> <p>（例）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・排水の放流先の水域の水量（河川流量等）に対する事業場の排水量の比（希釈倍率）を踏まえる など</li> </ul>	<p>○自主改善目標とした試験結果の影響評価値を目安に排水総体の生態毒性値を改善を図る。</p> <p style="text-align: right;">など</p>

※1 **特定の使い方を事業者に奨励するものではない**。特に「自主改善」については様々な取組が考えられ、上記（生態毒性値の改善等）はあくまで一例である。なお、留意点は第 2 章参照。

※2 米国等の諸外国では、「WET試験」等と呼ぶ。WET: Whole Effluent Toxicity。

※3 放流先水域の水生生物の生息状況調査などと組み合わせてもよい。

(注) 関係者への情報発信等の本手法の社会的側面に関しては、今後の検討会で検討が必要と考えられる。(第 4 章参照)

## (2) 手法の意義全体又は社会的意義と今回整理の関係について

- これまでの検討会で議論されてきた手法の意義は、概ね2つの要素に分けられる。
  - ①生物応答試験の結果とその自主評価を踏まえ、事業者による自主的な排水改善等の化学物質管理が行われ、これにより公共用水域への環境負荷が低減され、ひいてはより良い水生生物の生息環境の実現に貢献するという、主に水質の改善等に着目する技術的側面からの意義
  - ②排水等を生物応答試験を用いて評価（及びその結果を踏まえ自主的な取組を事業者が実施）し、その内容を関係者への情報発信等に活用するという、主に社会的側面からの意義
- ①と②は、「改善」にどの程度重点が置かれているかが主に異なるが、いずれの意義についても、「本手法がどのような技術的特徴、有効性、限界等を有し、その範囲でどのような技術的な使い方が考えられるのか」によって、どのような説明が具体的に可能になるのかが異なってくる。
- この点を、現時点で可能な範囲で本WGにおいて今回整理したもの。

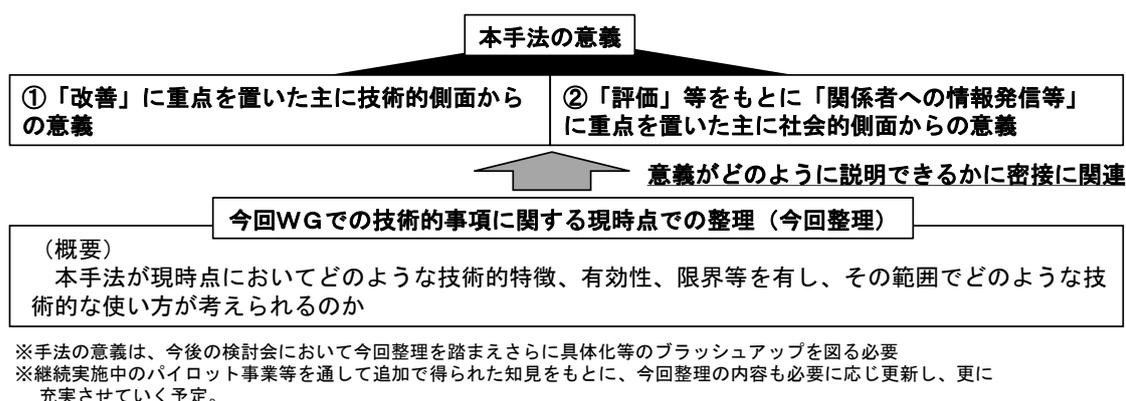


図1 本手法の意義と今回整理（平成29年11月末時点）の関係の概念図

(参考) これまでの検討会における「現段階で考えられる本手法活用の意義」（平成28年8月の第4回検討会時点）

- 本手法を事業場排水を対象に用いた場合、
    - 排水基準に適合する事業場が、自らは予期や認識をしていなかった排水の生態リスクを把握し、その結果を踏まえて排水に含まれる生態毒性を有する化学物質の削減（排水改善）を自主的に行うことを可能とする場合がある
    - 事業者の自主的な判断により排水改善等が行われた場合には、事業場排水の排出先の公共用水域における水生生物保全に資する場合がある
- といった、従来の排水基準を遵守する事業者の取組を補完。

○事業者の経営方針等によっては、生物多様性保全等の環境保全の観点から CSR 活動等の一環となる場合も。

(今後議論が必要と考えられる本手法活用の意義)

- ・公共用水域を対象とした水環境の評価試験法としての意義
- ・事業場排水の排出先の公共用水域に生息する水生生物の保全を直接の目的とする排水リスクの評価・管理（改善）手法としての意義
- ・公衆衛生確保のための取組と水生生物保全の観点からの水環境保全に係る取組のバランスをとることを可能にする手法としての意義

## 第2章 事業場からの排水に対して用いる場合の主な留意点・考えられる使い方の例

本項では、実際の手法の使い方を本手法の活用を自ら考える事業者がイメージしやすくなるように、現時点で考えられる手法の使い方の例を含めて記載した。

### 1. 生物応答試験の対象毒性・試験生物種（試験法）

#### （1）試験の対象毒性

##### 【ポイント】

- 排水に対して生物応答試験を用いる際には、複数の種類（試験法）が考えられ、特に試験の対象毒性（慢性毒性又は急性毒性）によっては試験そのものの持つ技術的な意味が異なってくる。
- 水生生物保全に着目した水質環境基準が慢性毒性を考慮して目標値を設定されていることを踏まえ、自主的取組の一つとして本手法の活用を考える事業者は、慢性毒性を優先して考慮することが考えられる。

（注）関連の技術的情報は、[参考資料] 1.（1）参照。

##### 【説明】

生物応答試験には、主に試験生物の生死等への影響を評価する急性毒性試験と、試験生物の成長、繁殖等といった個体群維持のために重要な指標への影響を評価する慢性毒性試験に大別され、これらはいずれも事業場排水に対して生物応答試験を適用する諸外国の制度等で用いられている。

一方で、我が国の水生生物保全環境基準については、公共用水域において通常維持されるべき水質の水準とするため、慢性毒性の観点から目標値が設定されている。

これらから、自主的取組の一つとして本手法を使うことを考える事業者にとっては、水生生物に対する急性影響より慢性影響を優先して考慮する方が選択しやすいと考えられる。

なお、物質の性質としては環境中では短期間しか存在しないものの、それらが継続的に排水に含まれることから水生生物への影響を評価したい場合などには、慢性毒性に着目した試験では影響検出が難しい場合がある。こうした場合には用いる試験法に留意が必要となる。

#### （2）試験生物種と試験法

#### 【ポイント】

- 生物応答試験法の試験生物種としては、生物の栄養段階を考慮した魚類、無脊椎動物（甲殻類等）及び藻類の3生物群から選択することが推奨される。ただし、具体の試験生物種については、ニーズとしては様々なものが考えられ得る一方、信頼性（精度）が確保された試験を実施できることが国内で確認されている試験法は現時点では限られている。
- 国内外で試験精度が確認された生物応答を利用した試験法は様々あるが、排水を対象としており、国内で試験精度、実施可能性等を行政レベルで検証されているのは、現時点（平成29年11月末時点）では、平成27年に環境省が公表した検討会報告書で提案された短期慢性毒性試験法案が唯一の試験法。
- ケースによっては、3生物群全てを用いる必要は必ずしもなく、例えば、排水の影響を受けないことが把握されていること、排水の排出先の水域の状況等を考慮し、一定の合理性があれば一部の生物種の試験を省略することも考えられる。

（注）関連の技術的情報は、[参考資料] 1.（2）参照。

#### 【説明】

生物応答試験を含めた生態毒性試験は、国内外の化学物質管理や水生生物保全に関連する制度等において幅広く用いられている。一方で、再現性を含めて信頼できる試験結果が得られることが国際的に広く認められている試験法とそれらに規定されている試験生物種は一定のものに限られている。また、試験生物種については、こうした試験法に由来する制約とは別に、飼育の容易さ等の実務的な制約から国内で安定して調達・利用できる種は限られている。

こうした実務上の制約の下で、国内外の化学物質管理や水生生物保全に関連する制度等においては、水生生物への単一化学物質による有害影響を評価する手法として、生物の栄養段階を考慮した魚類、無脊椎動物（甲殻類等）及び藻類の3生物群から試験生物種を選択することが広く行われている。

こうした試験生物種に関する一般的な状況に加え、平成27年11月に環境省が公表し、意見等の募集をその後行った「生物応答を用いた排水管理手法への活用について」（生物応答を利用した排水管理手法の活用に関する検討会。以下「平成27年検討会報告書」という。）において提案された事業場排水に適用する短期慢性毒性に係る試験法案（以下「短期慢性毒性試験法案」という。）では、

- ・ OECD テストガイドライン、米国環境保護庁（EPA）の WET 試験など国際的に信頼性が確保されている
- ・ 短期間（比較的 low コスト）で慢性毒性が評価できる

- ・国内の試験機関において実行可能である

等の点を考慮し、3生物群（魚類、無脊椎動物及び藻類）について試験法を示し、具体的な試験生物種としては、魚類はゼブラフィッシュ又はメダカ、無脊椎動物はニセネコゼミジンコ、藻類はムレミカツキモを推奨種としている。

また、国内外で試験精度が確認された生物応答を利用した試験法は様々あるが、事業場排水に適用できる生物応答試験法として、現時点（平成 29 年 11 月末時点）で排水への適用性や試験精度、国内での実施可能性等が行政レベルで検証されているものはこの短期慢性毒性試験法案に限られている。

なお、生物応答試験の実施に際して3生物群（魚類、無脊椎動物及び藻類）から選択することが基本となるが、常時3生物群全てを用いる必要は必ずしもない。諸外国の事例等を踏まえると、一部の生物種の試験を省略することに一定の合理性があると考えられる場合としては、例えば、排水性状が安定している場合において、過去に連続してある生物種を用いた試験で生態影響がみられないと判断された場合などがある。また、この他には、排水の排出先の水域の状況等を考慮することも考えられる。

※例えば、OECD テストガイドラインや、諸外国で用いられているその他の WET 試験等、短期慢性毒性試験法案以外の試験法を事業者が自主的に用いることを否定するものではなく、あくまで各事業者が試験結果の信頼性に十分な注意をしてその結果を適切に関係者に説明できることが重要である。

## 2. 生物応答試験の精度

### 【ポイント】

- 排水に対する生物応答試験の結果は、試料に由来する変動の他、各試験機関における試験生物の状態や試験者の技術水準などに伴い変動すると考えられ、この変動のしやすさは使用する生物応答試験の種類（試験法）によっても異なる。本手法を事業者が活用し、試験結果の評価などを行う際には、試験精度を十分に考慮することが必要。
- 諸外国で試験精度が確認された生物応答試験法は様々あるが、国内で試験精度、実施可能性等を行政レベルで検証されているのは、現時点（平成 29 年 11 月末時点）では、平成 27 年に環境省が公表した検討会報告書で提案された短期慢性毒性試験法案が唯一の試験法。
- ただし、短期慢性毒性試験法案でも、試験結果をもとに最大無影響濃度（NOEC）を算出する場合、各試験生物種とも中央値に対して 1 濃度区間（排水希釈濃度にして 2 倍）以内のばらつきを伴うなど、具体的な試験精度に十分考慮が必要。

（注）関連の技術的情報は、[参考資料] 2. 参照。

### 【説明】

短期慢性毒性試験法案の試験精度は、同試験法案の作成に際して参考とした米国の WET 試験の米国内での実績と比較して、国内でも十分な精度があると言える。

ただし、この試験精度は、NOEC を試験結果に係る指標として用いたときには魚類、無脊椎動物（ミジンコ）、藻類とも概ね中央値に対して 1 濃度区間（排水希釈濃度にして 2 倍）以内のばらつきを伴うものであり、また、排水濃度に依存しない生物影響がみられる場合がある。これに加え、各試験機関における試験毎の「検出力」\*、用いられる試験生物の系統の違い等が試験精度に影響する。試験の活用には、こうした試験精度に関する現状を各事業者が十分に考慮する必要がある。

また、事業場から試験を依頼された試験機関は、試験条件を満たす試験を行うことは当然として、どの試験機関がどのような精度の試験をどの程度のコストで提供しているのかを各依頼者に分かりやすく情報を提供することが望ましいと考えられる。

※ここでは、試験の対照区（排水を対象とする場合、排水濃度がゼロの場合）に対してどの程度統計学的に有意な差のある試験結果が得られるのかを意味する。各試験機関における対照区の試験結果のばらつきの管理状況等が影響する。

### 3. 排水変動の考慮

#### 【ポイント】

○事業場では、一般に、排水の性状（水質等）が、使用される原材料、生産品、製造プロセス（製造業の場合）、排水処理の方法・プロセス、これらの運転・管理状況等の様々な要因によって変化すると考えられる。このため、こうした変動を考慮して、事業者自らが排水の採取のタイミング・頻度等を決定することが考えられる。

（注）関連の技術的情報は、[参考資料] 3. 参照。

#### 【説明】

本手法を用いて事業場排水の評価等を自主的に行う取組は、現時点では国内では実施例が少ない。また、水質汚濁防止法に基づき全国的かつ多様な業種において従来から行われている事業者の排水管理と異なり、本手法を用いて自主的に排水改善等を行う取組も、今後の知見収集が待たれる状況にある。

このため、事業者の業種等に応じてどのようなタイミングで排水の採水を行い、生物応答試験を行うことが最も効果的であるのかは、現時点では十分な知見がないが、諸外国の事例等を踏まえると、排水処理設備等の設備の更新を行う前後に試験を行うことは、一つのタイミングだと考えられる。

また、環境省の平成 28 年度から開始したパイロット事業等においては、様々なタイミングや頻度で生物応答試験が行われている。今後、パイロット事業を進め、これらの事例を整理していくことで、平成 27 年検討会報告書で提案された現行の水質汚濁防止法に準じたタイミングで採水するかどうかも含め、事業場排水の実態、本手法を活用する目的等に応じて各事業者が自らにとって適当なタイミングで採水し、試験を実施するかを検討しやすくしていくことが考えられる。

#### 4. 生物応答試験の結果の評価・解釈

##### 【ポイント】

○事業者が、生物応答試験の結果をどのように評価・解釈するのかは、本手法を活用する自身の目的等に鑑みて各事業者が判断することが考えられる。

(注) 関連の技術的情報は、[参考資料] 4. 参照。

##### 【説明】

事業者が、排水に対して用いた生物応答試験の結果をどのように評価・解釈するのかは、本手法を活用する自身の目的等に鑑みて各事業者が判断する必要がある。

例えば、第1章2. で記述した本手法活用の技術的意義として考えられる「排水中の化学物質管理」と「排水放流先の水生生物保全」のそれぞれの目的で手法を用いる際、以下のような評価の方法が考えられる(表2)。ただし、これはあくまで一例に過ぎず、特定の使い方を事業者に奨励するものではない。

表2 手法の試験結果の自主評価の例

活用の目的(意義)	生物応答試験の結果の自主評価の例
事業場における化学物質管理推進	○自主評価のための任意の影響評価値(TU <sup>*1,2</sup> 値など)を置く。  (自主評価のための影響評価値の設定の例) ・社内で目標としやすい数字とする ・環境基準に対する排水基準の倍率を参考にする など
排水放流先の水生生物保全	○排水放流先の水域の実態と関連付けて算出される任意の影響評価値(TU値 <sup>*1</sup> など)を置く。  (自主評価のための影響評価値の設定の例) ・排水の放流先の水域の水量(河川流量等)に対する事業場の排水量の比(希釈倍率)を踏まえる など

※1 TU (Toxic Unit): 慢性毒性に着目した生物応答試験において最大無影響濃度 (NOEC) を算出した際に、 $TU = 100/NOEC$  により算出される量。TU が大きいほど慢性毒性が強い結果として現される。

※2 この場合、短期慢性毒性試験法案(排水の希釈倍率が2倍毎)を用いる場合、具体的な試験濃度区の設定の仕方について、試験機関と相談が必要となる可能性がある。

また、水生生物保全の観点から本手法の活用を考える場合、放流先水域の水生生物の生息状況調査などと組み合わせて用いてもよい。

次に、自主評価と試験精度の関係については、生物応答試験の精度には一定の結果の

ばらつきがある（本章2．参照）ことを考慮すると、試験結果がある一定の幅に収まった場合に応じ、試験結果を踏まえて各事業者が選択するその後の取組を変えることも考えられる。なお、短期慢性毒性試験法案以外の試験法を事業場排水に対して用いる場合については、現状では国内では試験精度の確認が行政レベルでは行われていないことから、現時点では、各事業者において試験機関からの助言等をもとに試験結果を評価することが考えられる。

また、試験結果の評価に用いる試験の回数については、試験の精度及び諸外国の事例を踏まえると、複数回の試験をもって判断することが技術的な観点からは考えられる。ただし、試験の実施回数を増やすことは事業者にとってのコストの増加につながる側面もあり、かつ、現状では排水性状の変動に応じてどのような試験結果が得られる傾向にあるのか等について知見が乏しいため、実際に本手法を事業者が活用する際には、その目的等に応じることが考えられる。

## 5. 排水改善の検討と生物応答試験活用の有効性

### 【ポイント】

- 生物応答試験の結果を踏まえて自主的な排水改善を含めて検討するかどうかは、本手法を活用する自身の目的等に鑑みて各事業者が判断することが考えられる。
- 事業者が、試験の結果によっては自主的な排水改善も含めて検討する場合には、
  - ・各事業場が使用している化学物質等の使用量等を点検して適正化の余地があれば実行するといった自主的な化学物質管理によっても、環境負荷の低減が図られる
  - ・生物応答試験の活用のみで排水の生態毒性の原因が特定可能な訳ではなく、化学分析等も適切に組み合わせることが有効な場合がある（第1章参照）
  - ・現時点では、どのようなケースでどの程度排水改善に取り組めるのか知見が乏しい※  
ことにも、考慮することが考えられる。

※平成28年度から環境省で開始したパイロット事業が現時点（平成29年11月末時点）でも継続中であり、その知見も踏まえて今後内容の更新・充実を図る予定。

(注) 関連の技術的情報は、[資料]5. 参照。

### 【説明】

本手法を事業場排水に対して活用した場合の排水改善への有効性については、平成28年度から開始したパイロット事業を継続し、事業者等の関係者に共有可能な形で知見の集積を行いつつ、検証することが必要である。

その際、全ての参加事業場（9事業場）において一律に当該有効性を検証するのではなく、各事業場の協力が得られる範囲において、いくつかの事業場に特に焦点を当てて重点的に調査するとともに、製品の製造工程等の切り替えのタイミングで排水の採水を行い、排水性状の変化によりどの程度の生物応答試験の結果の幅が生じ得るのかという点についても、調査することが考えられる。

また、米国の制度の枠組みの下で用いられている排水の毒性削減評価（Toxicity Reduction Evaluation、TRE）手法に準じて排水改善を図る手順、その際に各事業者が直面した実務的な課題等については、国内では実施事例が少数のため現時点では一般化することは困難だが、他の事業者がパイロット事業における各事例をできる限り参考にすることができるよう、今後中間取りまとめに向けて、排水改善ガイドライン（仮称）の形などで多くの関係者に理解しやすい形で共有できるよう情報整理を進めていくことが必要と考えられる。

さらに、排水等を受け入れている等の要因で自ら処理する排水の発生源やそれに起因する組成制御が困難な事業場（下水処理場等）については、当事者も把握が難しい多種多様な物質が排水中に含まれる可能性があり、特に本手法を用いて排水の総体としての毒性影響を把握することができる。一方で、その原因特定の困難性や排水改善の実現性について整理する必要があるとの意見があり、こうした事業場と他の事業場との実態の違いを踏まえた形で事業結果の整理を行うことも必要と考えられる。

### 第3章 環境省が実施したパイロット事業における活用事例・他の考えられる活用方法

(事業の進捗、参加（協力）事業者の意向等を踏まえ、中間とりまとめに向けて今後記載を検討)

## 第4章. 今後の検討課題

今後の検討会又はWGにおける検討課題として示したものを、以下に整理した。今後、平成30年度を目途に目指すこととされている検討会の中間取りまとめに向けて、これらの課題について検討を進めていく必要がある。

### 1. 検討会で議論すべき課題

#### (1) 手法の活用意義等の明確化

- これまでの検討会で議論されてきた本手法の意義等に関して、第1章で示したとおり、本WGにおいても技術的な観点から一定の議論を行った。
- 今後の検討会では、これらの技術的な意見も踏まえて手法の意義等を明確化する等のブラッシュアップを図る必要がある。なお、その際には、本WGにおいて提起された手法の社会的側面にも関わる下記の問題意識も踏まえることが望まれる。

#### (参考) WGにおいて提起された手法の意義等に関する問題意識

- 水環境保全施策全体の中での本手法の位置付けが、依然として十分明確になっていないのではないか。具体的には、
  - ・現状の水環境（の水質）に照らし、本手法を事業場排水に対して活用することでどのような水質改善が期待できるのか不明確なのではないか。
  - ・本手法を水環境の評価に用いるのであれば、事業場排水だけでなく、公共用水域の水質の評価に用いることを検討すべきではないか。
- 公共用水域の現状を評価するには、本手法を公共用水域に対して用いた場合に評価される水質に関する情報だけでなく、水生生物の生息状況やこれと水質との関係など、水質だけでなく様々な情報を総合的に考慮していくことが、今後は必要ではないか。

#### (2) 多様な関係者への情報発信（リスクコミュニケーション）の視点を含む手法の使い方

- これまでの検討会の議論において、リスクコミュニケーションとして本手法が活用できる可能性が指摘されており、本WGでも、事業者等における本手法の利用ニーズを把握しつつ今後の検討を進めることの重要性を指摘する意見があった。
- この指摘については、本WGではなく今後の検討会において考慮して、検討することが必要と考えられる。

#### (3) 関係者の理解促進等の普及方策（排水改善ガイドライン（仮称）等）

##### ア 排水改善ガイドライン（仮称）に盛り込むべき全体的な内容の検討

- これまでの検討会等において、本手法の関係者への理解促進等を図る具体的な方策と

して、排水改善ガイドライン（仮称）の作成が挙げられていた。

- このため、今回整理、パイロット事業の進捗状況等を踏まえつつ、排水改善ガイドライン（仮称）に盛り込むべき全体的な内容を検討する必要がある。

## イ 手法やガイドライン（仮称）の呼称を含めた用語の整理・統一等

- 今回整理の時点では、これまでの検討経緯から、手法の名称も含めて暫定的なものを用いているが、今後は、平成 30 年度を目途に目指す検討会の間とりまとめに向けて、手法や排水改善ガイドライン（仮称）の呼称を含め、関係者に分かりやすい形で用語の整理・統一を行う必要がある。
- 今回整理を踏まえた形で間とりまとめに向けて平成 27 年検討会報告書との内容の整理・統合等も進める必要がある。
- なお、この用語整理には、本 WG の議論を踏まえて行う「試験対象毒性の意味の幅広い関係者に向けた分かりやすい説明の検討」（本章 2.（2）ア参照）も含まれる。

### （参考）第 4 回検討会（平成 28 年 8 月 22 日）時点における用語整理に係る対応（抜粋）

次のとおり当面の議論に当たっての用語に係る考え方を整理した上で、本日の資料においては表現を可能な限り統一した。なお、現段階での統一が困難なものについては、本検討会の議論をまとめる段階で、統一を図ることとしたい。

#### ・生物応答試験

化学物質に対する生物の応答を確認（利用）することにより、化学物質の有害性を評価する試験を指す用語としてこれまで用いられており、今後の資料においても同様の趣旨で用いることとする。なお、関連して、本検討会において用いられる「生物を用いた・・・手法」といった用語は、特に断りがない限り、「生物応答試験を用いた・・・手法」という趣旨で用いることとする。

#### ・バイオアッセイ

検討会報告書等では、上記の「生物応答試験」と同義として用いている場合があるが、今後の資料においては原則として「生物応答試験」の方を用いることとし、「バイオアッセイ」の用語を用いることが必要な場合には、生物応答試験を含む生物の機能（生物材料を含む。）を利用して化学物質の有害性を評価する試験全般を指すこととする。

#### ・WET 手法

今後の資料においては、諸外国で排水規制制度等として導入されている生物応答試験を用いて全排水毒性（Whole Effluent Toxicity（WET））を評価する手法を指すときに「WET 手法」という用語を用いることとする。（注：各国により同様の制度の呼び名は様々であるが、今後の当面の議論においては「WET 手法」の呼び名で統一することとする）

#### ・生物を用いた排水の評価・管理（改善）手法

全排水毒性（WET）を評価する生物応答試験を用いた事業場排水の評価や管理（改善）を行う手法という趣旨で使用する。

#### ・生物を用いた水環境の評価・管理（改善）手法

排水のみでなく公共用水域を含めた水環境の評価・管理（改善）に生物応答試験を用いる手法を指す。なお、特に断りのない限り、評価・管理（改善）の対象とする「水環境」は、事業場排水及び公共用水域を指すこととする。

## 2. WGでの継続検討が必要な技術的事項

### (1) 横断的事項

#### ア 手法の活用意義等の更なる具体化に必要な技術的事項の整理

- これまでの検討会で議論されてきた本手法の意義等に関しては、本WGにおける議論を通して整理された今回整理を踏まえ、更なる具体化等のブラッシュアップを図っていく必要。（本章1. 参照）
- このための全体的な検討は検討会において進めるべきであるが、パイロット事業の実施等を通して技術的整理を進める必要がある本手法の「使い方」の事例など、手法の意義にもかかわる技術的事項の整理については、引き続き本WGで検討することが必要。

#### イ 排水改善ガイドライン（仮称）に盛り込むべき技術的事項及び具体的内容の検討

- 今後の検討会において排水改善ガイドライン（仮称）に盛り込むべき全体的な内容を検討するにあたり、並行して、本WGで技術的観点から同ガイドラインに盛り込むべき具体的な内容を検討する必要。

#### ウ 今回整理の平成27年検討会報告書との関係整理・統合、技術的な用語の整理等

- 今回整理と平成27年検討会報告書には、同じ技術的事項について異なる記載内容があるところ、今回整理を優先しつつ関係整理を行い、一つの内容に統合していく作業が本WGにおいて必要。
- なお、この過程では、技術的な用語の整理等も適宜進める必要。  
（例：「生態影響」と「生態毒性」の使い分けをするのか 等）

### (2) 個別事項

#### ア 試験対象毒性の意味の幅広い関係者に向けた分かりやすい説明の検討

- 従来から水質汚濁防止法等に基づき排水管理等を行っている多くの事業場、その周辺住民等の関係者にとっては、本手法で用いられる生物応答試験やその説明に用いられる対象毒性等の概念は新しいものであると考えられ、技術的・専門的観点から説明するだけでは、十分な理解を得ることが難しい可能性も想定される。
- このため、今後の検討会においては、今回整理を踏まえ、事業場排水に対する生物応答試験として慢性毒性試験（又は急性毒性試験）を用いる場合の意義について、生物応答

試験に関する知識をほとんど持たない関係者にも理解しやすくなるような説明ぶりを検討することが必要と考えられる。

○なお、現時点では以下のような説明が例として考えられる。

(各試験対象毒性に関する説明ぶりの例) ※表現はいずれも今後要精査

・慢性毒性試験を用いる場合

水生生物が「持続的に生息しやすい」水（排水）かどうかを調べる試験

・急性毒性試験を用いる場合

水生生物が「生息できる」水（排水）かどうかを調べる試験

## イ 試験精度の事業者等の関係者への「見える化」

○本手法の主な使い手となる事業者が、試験精度の確保の観点から安心して試験機関を利用できるように、どのような方策を試験機関等において行われることが望ましく、かつ現実的に実施可能かどうか、技術的観点から検討が必要。

## ウ 生物応答試験を活用する有効性（継続中のパイロット事業による検証等）

○平成 28 年度から実施しているパイロット事業を通して、排水改善の検討に際して生物応答試験を活用することの有効性の検証が引き続き必要。

○パイロット事業の過程で得られた米国の毒性削減評価 (TRE) 手法に準じて排水改善を事業者が図る際の手順、その際に実務的な課題等に関する知見を整理していくことが必要。この過程では、排水変動等が生物応答試験の結果や事業者の取組与える影響についても、可能な範囲で事例を収集することも必要。

○また、排水等を受け入れている等の要因で自ら処理する排水の発生源やそれに起因する組成制御が困難な事業場（下水処理場等）については、課題を含めて特に他の事業場との実態の違いを踏まえた形で事業結果の整理を行うことも必要と考えられる。

### (参考) WG における関連意見

○WG では、例えば下水処理場等について、当事者も把握が難しい多種多様な物質が排水中に含まれる可能性があり、本手法を用いて排水中の含有物質の総体としての毒性影響を把握することができる。一方で、その原因特定の困難性や排水改善の実現性について整理する必要がある旨の意見があった。

## エ 事業場排水に適用可能な生物応答試験法の拡充（海産生物を用いる生物応答試験等）

○海産生物を用いる生物応答試験については、一定の利用ニーズがあると考えられるが、国内では広く実施可能な試験法が確立されていないことから、引き続き検討課題として取り扱う必要。

○また、国内外で試験精度が確認された生物応答を利用した試験法は様々あるが、排水を

対象としており、国内で試験精度、実施可能性等を行政レベルで検証されているのは、現時点（平成 29 年 11 月末時点）では平成 27 年に環境省が公表した検討会報告書で提案された短期慢性毒性試験法案が唯一の試験法であり、国内でも同等の精度確認がなされた他の試験法を増やしていく必要。

#### オ 公共用水域への生物応答試験への適用

- 信頼性等が確認された方法は現時点では未確立なところ、今後の検討会における検討状況も踏まえ、可能な範囲で公共用水域に適用する場合についての考え方等を検討する必要。
- 具体的な方法論を含めた技術的な検討は、本手法の意義等に関する今後の検討会及び WG における検討状況を踏まえ、水域における水生生物の生息状況等との関係にも注意しながら、中長期的課題として検討する必要。

### 3. その他

上記 1. 及び 2. の他、本手法に活用にかかわる関係者に基盤的な情報を提供する観点から、化学物質の環境リスク削減に関する既存の関連制度の枠組みの下で行われるリスク評価等を今後も進め、関係者がこれらの結果にアクセスできるようにしていくことの重要性を指摘する旨の意見があった。

[参考資料]手法の技術的事項に関する関係資料

## 1. 生物応答試験の試験法について

### (1) 対象毒性

#### ○慢性毒性と急性毒性

生物応答試験<sup>(注1)</sup>には、主に試験生物の生死等への影響を評価する急性毒性試験と、試験生物の成長、繁殖等といった個体群維持のために重要な指標への影響を評価する慢性毒性試験の2種類があり、事業場排水に対して生物応答試験を適用する諸外国の制度等で用いられている。また、対象が排水・環境水ではなく化学物質となる生態毒性試験一般については、国内外の化学物質管理や水生生物保全に関する各種の制度においても、幅広く用いられている。(関係資料集：参考1)

なお、事業場排水や環境水の総体としての水生生物に対する急性毒性と慢性毒性の関係については知見が限られているが、環境省が平成28年度に14事業場を対象に短期慢性毒性試験法案を用いて行ったパイロット事業で得られたデータをもとに、慢性毒性試験期間中又は試験終了時の各試験生物種(魚類、ミジンコ及び藻類)の生存率等から急性毒性が検出された事例を抽出すると、各生物種について慢性毒性が検出された事業場のうち急性毒性も検出されるとみられたものは半数以下であった(魚類は該当なし)。(「平成29年11月末時点、関係資料集：参考2」)

#### ○国内での事例

我が国の水質環境基準は、項目によって様々な考え方で設定されているが、項目(物質)の毒性をもとに環境基準を設定している場合、基本的に慢性毒性を考慮して目標値を設定している(関係資料集：参考3)。おり、例えば、水生生物保全に関する制度の一つである水生生物保全環境基準の設定においては、

- ・特に感受性の高い生物個体の保護までは考慮せず、集団の維持を可能とするレベルとする
  - ・公共用水域において通常維持されるべき水質の水準を検討する
- 等の観点から、基本的に慢性影響の観点から基準値が設定<sup>(注2)</sup>されている。

#### ○海外での事例

事業場排水に対して生物応答試験(第4回検討会(平成28年8月22日)での暫定整理に沿って諸外国で用いられているものを総称して以下では「WET試験」と言う。)を制度等として用いている諸外国の事例では、米国、カナダでは慢性毒性試験と急性毒性試験のいずれかが個別の排水実態等に応じて用いられており、ドイツ等では急性毒性試験が用いられている(関係資料集：参考1)。ただし、米国も含めてWET試験に係る制度を導入している各国では、制度の導入時期は主に1970年代から1990年代にかけてであり(関係資料集：参考4)、その当初段階で用いられた生物応答試験は急性毒性試験であった点

は共通している（米国では、制度導入後しばらくして慢性毒性試験を用いるようになっていく）。

また、急性毒性と慢性毒性は水生生物にとって異なる影響をもたらすが、こうした意味とは別に、同じ試験生物種を用いる場合、急性毒性試験の方が慢性毒性試験に比べて試験期間が短い<sup>(注3)</sup>等の要因により、一般に試験コストが低いとされる。

(注1) 本資料における用語の定義は、第1章参照。

(注2) 水生生物保全環境基準の検討に際しては、検討の対象とされる物質によっては必ずしも慢性毒性試験のデータが十分に得られこともあり、こうした場合には、実務上は、慢性毒性試験の結果をなるべく考慮することとしつつ、必要に応じて急性毒性試験のデータを活用して慢性毒性値の推定を行っている。

(注3) 国内外の制度（WET試験に係るもの以外を含む）で用いられている急性毒性試験のほとんどは、試験期間が藻類、無脊椎動物及び魚類のいずれでも96時間（4日）以内。短期慢性毒性試験法案では、藻類、無脊椎動物及び魚類のいずれも試験期間が短期間となる慢性毒性試験が提案されており、試験期間は生物種により3日～2週間程度。

## (2) 試験生物種・試験法

排水・環境水に対して適用される生物応答試験を含めた生態毒性試験は国内外の化学物質管理や水生生物保全に関連する制度等において幅広く用いられている。一方で、再現性を含めて信頼できる試験結果が得られることが国際的に広く認められている試験法とそれらに規定されている試験生物種は一定のものに限られている。また、試験生物種については、こうした試験法に由来する制約とは別に、飼育の容易さ等の実務的な制約から国内で安定して調達・利用できる種は限られている。

こうした実務上の制約の下で、国内外の水生生物保全に関連する制度等においては、水生生物への単一化学物質による有害影響を評価する手法として、生物の栄養段階を考慮した魚類、無脊椎動物（甲殻類等）及び藻類の3生物群を用いることが広く行われている。

（関係資料集：参考1）

こうした試験生物種に関する一般的な状況に加え、

- ・ OECDテストガイドライン、米国環境保護庁（EPA）のWET試験など国際的に信頼性が確保されている
- ・ 短期間（比較的lowコスト）で慢性毒性が評価できる
- ・ 国内の試験機関において実行可能である

等の点を考慮し、平成27年検討会報告書において提案された短期慢性毒性試験法案では、

魚類はゼブラフィッシュ又はメダカ、無脊椎動物はニセネコゼミジンコ、藻類はムレミカヅキモを推奨種としている。短期慢性毒性試験法案における生物種毎の排水等の試料へのばく露期間は次表のとおりである。なお、この他の慢性毒性試験法・試験生物種で国内の関連制度で用いられている主なもの（底質に係るものを除く）としては、OECD テストガイドライン 211 に基づくオオミジンコ繁殖影響試験（試験期間 21 日）、OECD テストガイドライン 210 に基づく魚類初期生活段階試験（試験期間約 30-40 日）がある。（関係資料集：参考 1）

表 平成 27 年検討会報告書で提案された短期慢性毒性試験法案の概要

試験法	試料へのばく露期間	参考とした既存の試験法
魚類胚・仔魚期短期毒性試験 (推奨種はゼブラフィッシュ又はメダカ)	ゼブラフィッシュ：8～9日 メダカ：12～16日	OECD テストガイドライン 212 ISO 規格 15088 米国環境保護庁 (EPA) 試験法
ミジンコ繁殖試験 (推奨種はニセネコゼミジンコ)	6～8日	米国 EPA 試験法 カナダ環境省試験法 米国試験材料 (ASTM) ガイドライン
藻類生長阻害試験 (推奨種はムレミカヅキモ)	3日 (72時間)	OECD テストガイドライン 201

一方で、平成 27 年検討会報告書等において検討課題として指摘がある海産生物を用いる試験法については、淡水生物を用いる試験法に比べて国内では試験実績が限定されており、排水・環境水に対して用いる試験法として実施可能なものは現時点で確立されていない。また、公共用水域を対象とした試験については、研究レベルで個別に実施された事例が確認されているが、試験法は現時点では確立されていない。（関係資料集：参考 1）

なお、平成 27 年検討会報告書では、3 生物群（魚類、無脊椎動物、藻類）を用いた生物応答試験の活用を提案しているが、3 生物群をあらゆる場合の試験において常に用いるのかどうか等については、特段記載していない。

この点について、3 生物群に係る WET 試験を整備している米国の事例では、EPA の指針において、過去の試験結果によっては試験に用いる生物種を最も感受性の高いものに限定してよいこととしているなど、常に 3 生物群全てに係る試験を事業者に求めているわけではない。また、ドイツのように、排水基準が業種毎に設定されており、WET 試験に係る基準への適合性を評価する際に用いることが求められる試験生物種が業種により異なる事例もある。（関係資料集：参考 4）

## 2. 生物応答試験の精度について

平成 27 年検討会報告書で提案された短期慢性毒性試験法案の試験精度については、これまでの環境省事業や国立環境研究所で検証等が行われている。これらの検証等では、GLP 取得機関を含む国内の試験機関（9 機関）で同一の試験排水を用いて試験を実施したところ、米国で WET 試験に係る制度が導入されてから 10 年が経過した時点と同等以上の試験精度（試験機関間での試験結果のばらつきが小さい）が確認されている。

具体的な国内及び米国（2001 年時点）での試験結果の試験機関間でのばらつきの程度は、最大無影響濃度（No observed effect concentration、NOEC）では魚類、無脊椎動物（ミジンコ）、藻類とも概ね中央値に対して 1 濃度区間（排水希釈濃度にして 2 倍）以内であり、米国で用いられている IC25<sup>(注3)</sup> で評価した場合には変動係数（Coefficient of Variation、CV）<sup>(注4)</sup> で表現される相対的なばらつきは、概ね 30～40% 台である。（関係資料集：参考 5）

なお、上記に加え、水生生物に対する慢性毒性試験一般や事業場排水に慢性毒性試験を適用する場合、以下のような特徴、動向等がある。（関係資料集：参考 5）

### （試験毎の検出力の違い）

一般に生物応答試験では、試験の成立条件が各試験生物種・試験毎に定められているが、これらの成立条件を満たした試験であっても、検出可能な最小の統計学的有意差は、濃度区数や各試験区の繰り返し間結果のばらつき<sup>(注6)</sup>（標準偏差等で表現）によって異なる。例えば、同一試験条件・同一試料を用いて独立に行われた試験において、同じ濃度区で平均値では同じ影響がみられても、各試験の試験区内の結果のばらつきによって、対照区と比べて統計学的に有意な差があるかどうかは異なってくる。

短期慢性毒性試験法案では、試験結果に影響すると考えられる事項（供試生物の状態など）の適切な管理や、標準物質を用いた精度管理の実施が推奨されている。

なお、こうした試験毎の検出力の違いは、米国では Percent of minimum significant difference (PMSD) の指標等で評価され、各試験機関においてこの指標が一定の基準を満たさない試験結果は信頼性が低いとして当局が受理しないといった精度管理が行われている。また、一般に、生物応答試験において対照区の試験結果のばらつきを管理する場合には、試験生物の繁殖・成長の状態を一定に保つことが有効とされる。

### （排水濃度に応じない試験生物への影響がみられる例）

試験精度が低い場合以外にも、必須元素が毒性原因物質の場合、排水低濃度区で対照区より生長等が増加したり、硬度や有機物等による毒性緩和作用がある場合、高濃度区において影響が低くなるなど、排水濃度に応じない影響がみられることがある。

なお、米国 EPA では、WET 試験の結果によりみられる様々な排水濃度-影響関係について、試験精度の確認などガイダンスで解釈を示している。

(試験生物の系統の違いの影響)

試験生物の系統の違いによる試験結果への影響（感受性の違い）については、従来からの生物応答試験に係る関係者の間では広く認識されており、この点については、国内では国立環境研究所において一部の試験生物種の系統の確立・維持のための取組が行われている。

(注3) 濃度反応曲線モデルから、阻害率 25%が観察されると推定される濃度。

(注4) 結果のばらつきを、標準偏差を算術平均で割ることで示す量。

(注5) 試料中の被検物質の濃度（排水の場合には排水の割合）がゼロの試験濃度区。

(注6) 生物応答試験では、通常、一つの試験濃度に対して複数の検体を準備して試験を行い、結果のばらつきを評価できるようにする。

### 3. 試験実施のタイミング等について

試験の実施頻度に関して、平成 27 年検討会報告書では、現行の水質汚濁防止法において通常の事業場の操業状態の下で排水の汚染状態が最も悪いと推定されるタイミングで最低限年 1 回の排水水質の測定を事業者に対して義務付けていることを参考に、本手法を事業者が活用する際にも、最低限年 1 回の生物応答試験の実施が必要とする旨の考え方を提案していた。

一方で、平成 28 年に設置された検討会におけるこれまでの議論により、本手法が、従来からの水質汚濁防止法等に基づく規制的・制度的なアプローチではなく、自主的にその活用を考える事業者がそれぞれの考えに応じて使い方を含めて選択し、結果としてより良好な水環境の実現に資するものであるという意義等が整理されてきた。また、水質汚濁防止法に基づき全国的かつ多様な業種において従来から行われている事業者の排水管理に係る取組の実施実績と比べると、本手法を用いて行う事業場排水の評価や事業者による自主的な改善等に係る取組は、現時点では実施例が少ない状況にある。

また、現時点では、排水水質の変動等により生物応答試験の結果がどの程度異なるのかは、十分に明らかになっていない。この点については、平成 28 年度から開始した環境省のパイロット事業の一環として平成 29 年度に調査していく予定としている。

なお、WET 試験に係る制度等を導入している諸外国の事例では、米国の場合、EPA の技術指針では制度の対象とされている事業場に対する試験頻度を月 1 回～年 4 回とすることを基本としている。ただし、1 年目に生態影響がみられなかった事業場に対しては 2 年目以降に試験頻度を減らすことを許容する、設備変更等があった場合には基本の頻度に戻すこと等とされている。これらの EPA が定めた指針は、実際には各州で様々に運用されており、排水変動の大小や事業場の規模、過去の試験結果等に応じて異なる。カナダの場合も概ね同様であり、生態影響がみられた場合には試験頻度を増やし、影響が連続してみられない場合には頻度を減らす等されている。(関係資料集：参考 4)

#### 4. 生物応答試験の結果の評価・解釈について

平成 27 年検討会報告書では、短期慢性毒性試験の結果の評価方法について、NOEC を算出した上で、現行の水質汚濁防止法の排水基準の多くが環境基準の 10 倍値に設定されていることを踏まえ、3 生物群（魚類、無脊椎動物、藻類）のいずれかに係る生物応答試験の結果において排水が 10 倍超で希釈されないと無影響にならない場合（NOEC の逆数（TU）が 10 超となる場合）には、当該排水について改善を必要と評価することを想定する旨の考え方等を提案していた。この「TU>10」を試験結果の評価の目安とする考え方は、上記報告書がその後の検討のたたき台であることも勘案した上で、本手法の活用が事業者にとっての自主的な取組として行われるものであっても、一定の評価の目安を行政から示す方が本手法の活用を考える事業者にとって有用ではないかとの考え方から、環境基準と排水基準の関係に着目して提案されたものである。

また、水生生物保全環境基準等の設定に際しては、毒性データが得られている種がその物質への感受性において最も感受性が強いとは限らないことから、生物種による感受性の違い（種比）を考慮することとしている。この際、種比に係る係数として「10」を用いているものが多い。（関係資料集：参考 2）

一方で、実際の環境基準と排水基準の関係には様々な場合があり、特に水生生物保全に係る項目（亜鉛）を含めた生活環境項目の場合には、排水処理技術等を考慮して排水基準が環境基準の 10 倍値とされていないものもある（関係資料集：参考 6）。なお、水質汚濁防止法の一律排水基準は、国が全国一律に設定する排水基準であり、同法の枠組みでは、地域（水域）の実情に応じ、都道府県が国の一律排水基準より厳しい基準（上乘せ排水基準）を定めることができるようになっており、水域に応じた排水対策の実施は地方自治体に委ねられている。

なお、短期慢性毒性試験法案の試験精度については、2. で記載したとおり、試験結果に一定のばらつきが生じるものである。

また、WET 試験に係る制度等を導入している諸外国の事例のうち、米国等では、排水の排出先の受水域において希釈された状態で無影響であることに基づき、事業者が排水改善を行うべき排水の基準値が算出される一方、ドイツ等では、利用可能な最良の技術（Best Available Technique、BAT）を考慮して、業種等に応じて一律的に排水改善を必要とする TU 基準値を設定している。また、いずれの場合も、排水性状の変動や試験精度を考慮して基準値が定められている。排水や試験結果の変動への考慮として、米国の場合、多くの州で複数回の試験結果で基準超過率が 25%（4 回に 1 回）以上のとき排水改善を事業者に求めている。（関係資料集：参考 4）

## 5. 排水改善の検討と生物応答試験活用の有効性について

我が国の場合、本手法は規制的・制度的なアプローチではなく自主的なアプローチとして検討しているため、事業者にとっての位置付けは異なるが、WET 試験に係る制度を導入している諸外国では試験結果に応じて排水改善が事業者により行われている。

また、米国 EPA が 1989 年（産業系事業場）及び 1999 年（下水処理施設）について発行した排水改善に関するガイダンス等では、毒性削減評価（Toxicity Reduction Evaluation、TRE）と呼ばれる手法により事業者が排水改善を進める際の一般的な手順を示すとともに、個別事業場の排水改善事例を紹介している。これらの事例は、1970～1990 年代の事例であり、各事例で紹介されている排水改善の取組が現在の我が国の事業場で有効かは定かではないが、WET 試験を化学分析等と組み合わせて活用することで、排水の生態毒性の低減が行えることは示されている。（関係資料集：参考 4）

他方、国内では、生物応答試験を活用して事業場排水の改善に至った具体的な事例が、関係者に広く共有される形ではこれまで知られておらず、環境省が平成 28 年度から開始したパイロット事業（継続実施中）では、その目的の一つに「本手法を活用する事業場にとっての排水毒性原因の調査、排水改善等に係る具体的な手順や方法といった技術的な課題（略）について、更に具体的な実態を調査する」ことが掲げられている。

平成 28 年度に 14 事業場の協力を得て開始された本事業には、平成 29 年度は 9 事業場が継続参加し、このうち一部の事業場において、各事業者の意思に基づき、排水の生態毒性の原因調査や排水改善に向けた取組（米国の TRE 手法に準じた取組）が進められている。また、これまでに、参加 9 事業場のうち平成 27 年度以前の環境省事業に参加したことがある 7 事業場について試験結果の経年変化を整理したところ、これまでに具体的な排水改善の取組を行った事業場においては、排水が一定程度改善につながったことが示唆される結果が得られている。

ただし、現時点（平成 29 年 11 月末時点）において、事業は全体として継続中の状況にあり、引き続き広く共有可能な知見が得られるよう取り組んでいく必要がある。