

## 生物応答を利用した排水管理手法の活用について

平成 27 年 11 月

生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会

## 目次

はじめに	1
1. 生物応答を利用した排水管理手法の活用の背景・意義	3
(1) 我が国における化学物質対策と水生生物保全の観点の取組	3
(2) 生物応答を利用した排水管理手法の活用の意義	4
(3) 各国の生物応答を利用した排水管理制度	5
(4) わが国における活用状況	8
2. 生物応答を利用した排水試験・評価方法	13
(1) 対象とする毒性	13
(2) 試験法の種類と使用する生物種	14
(3) 試料	16
(4) 試験の実施頻度	16
(5) 試験結果の評価	16
(6) 試験の簡略化	17
(7) 試験実施にあたっての留意事項	18
(8) 試験の実施体制と精度管理	19
(9) 試験実施コスト	19
3. 生物応答を利用した排水管理の在り方	21
(1) 排水管理における位置付け	21
(2) 現行の排水管理手法との関係	21
(3) 試験実施事業場	22
(4) 試験結果の活用方策	22
(5) 本手法の普及促進	23
(6) 公共用水域を対象とした生物応答試験	23
(7) 水質事故時への活用	24
おわりに	25
参考資料	26

## はじめに

様々な産業活動や日常生活で利用される多種多様な化学物質の中には、人の健康や生態系に有害な影響を及ぼすおそれがあるものが存在する。これらの化学物質による環境汚染を防止するため、製造・使用・廃棄時に適切な管理を行うための様々な法規制が行われているが、10万種類にも上る化学物質が利用される現在、より効率的な管理手法について検討を進める必要がある。平成24(2012)年に策定された生物多様性国家戦略2012-2020の中でも、化学物質による生態系への影響については、多くのものがいまだ明らかではなく、適切なリスク評価の実施等の対応の必要性が指摘されている。

我が国の化学物質対策は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(昭和48(1973)年法律第117号。以下「化学物質審査規制法」という。)や「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」(平成11(1999)年法律第86号。以下「化学物質排出把握管理促進法」という。)により、化学物質による環境汚染の未然防止のための審査・規制や事業者の自主的な取組の推進が図られてきた。

また、水環境保全の観点から、環境基本法(平成5(1993)年法律第91号)第16条により維持されることが望ましい基準として、水質汚濁に係る水質環境基準が健康項目(27項目)と生活環境<sup>\*1</sup>項目(12項目)について定められており、その中で水生生物の保全の観点からの環境基準(3項目)も定められている。

さらに、水質汚濁防止法(昭和45(1970)年法律第138号)に基づき、人の健康の保護と生活環境<sup>\*1</sup>の保全を目的として、特定施設を設置する工場又は事業場(以下「特定事業場」という。)から公共用水域へ排出される排水に対して排水規制が実施されており、有害物質28物質と生活環境<sup>\*1</sup>項目15項目について定められた排水基準値への適合が求められている。

しかし、近年は日々の暮らしの中で使用されている化学物質等の種類が年々増加しており、毒性情報について未知のものや排水規制の対象としない化学物質について、水環境中で水生生物に影響を及ぼし得ることが懸念されている。また、全国の一級河川において原因不明の魚の浮上死も毎年報告されている<sup>1)</sup>。

諸外国では、有害性が明らかにされた物質の個別規制に加え、このような未知物質や規制対象外の物質も含めて評価する取組として、排水の水生生物への影響を総合的に把握することが可能な、排水に対してバイオアッセイ(生物応答試験)を適用する手法が排水規制の一手段として実施されてきている。

一方、我が国では、平成23(2011)年3月に今後の水環境の保全の在り方について検討会報告<sup>2)</sup>が取りまとめられ、その中で、水環境への影響や毒性の有無を総合的に把握・評価し、必要な対策を講じるため、現行の排水規制を補完する手法として、生物応答を利用した排水管理手法<sup>\*2</sup>の有効性について検討が求められた。ただし、バイオ

アッセイの排水への適用にあたっては、排水に含まれる水生生物に有害性を有する未規制物質を監視することが可能と考えられるものの、試験に要する時間やコストの負担、一般的な化学分析と異なる、使用生物種の違いによる試験結果の変動等、試験を実施する上での様々な課題が指摘されている。

このようなことを受け、平成 22(2010)年度に、本手法の導入の在り方を検討する「生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会（座長：須藤隆一東北大学大学院工学研究科客員教授）」が設置され、制度・運用について検討する「生物応答を利用した水環境管理手法の制度・運用分科会（座長：森田昌敏愛媛大学農学部客員教授）」において、現行の個別排水規制との関係整理等、制度的な課題の抽出・検討を行ってきた。同時に、具体的な試験方法を検討する「排水管理のバイオアッセイ技術検討分科会（座長：楠井隆史富山県立大学工学部環境工学科教授）」も設置され、諸外国や国際的な試験法等を参考に我が国における試験法を提案し、実際の排水への適用事例から様々な課題の抽出・検討も行ってきた。

このように本検討会では、生物応答を利用した排水管理手法の必要性・技術的対応可能性等を検証するとともに、本手法を導入する場合の枠組みのあり方や課題等について様々な検討を行い、その結果をここにとりまとめた。なお、一定の結論を得るに至っていないものは、今後の検討に向けた論点の整理のため、各節に＜検討課題＞を記載した。

\* 1 環境基本法により、「生活環境」には、人の生活に密接な関係のある財産並びに人の生活に密接な関係のある動植物及びその生育環境を含む。

\* 2 米国では全排水毒性（WET：Whole Effluent Toxicity）試験という。

#### 出典

- 1) 国土交通省水管理・国土保全局河川環境課（2015）：平成 26 年全国一級河川の水質現況（[http://www.mlit.go.jp/river/toukei\\_chousa/kankyo/kankyousuisitu/pdf/h26\\_suisitu/02\\_syousai.pdf](http://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kankyo/kankyousuisitu/pdf/h26_suisitu/02_syousai.pdf)）
- 2) 今後の水環境保全に関する検討会（2011）：今後の水環境保全の在り方について（取りまとめ）（<http://www.env.go.jp/press/files/jp/17164.pdf>）

## 1. 生物応答を利用した排水管理手法の活用の背景・意義

### (1) 我が国における化学物質対策と水生生物保全の観点の取組

#### ①化学物質審査規制法による取組

人の健康を損なうおそれ又は動植物の生息若しくは生育に支障を及ぼすおそれがある化学物質による環境汚染を防止するため、化学物質審査規制法に基づき、新規の化学物質の製造・輸入の事前審査及び化学物質の製造・輸入・使用等について必要な規制が行われている。

この法律は、平成 15(2003)年の改正により、それまでの人の健康保護の観点だけではなく、人の健康と環境（生態系）の両者の保護に目的が拡大されたことから、事業者が新規化学物質の製造又は輸入の届出を行う際に生態毒性試験の試験成績の提出が求められることとなるとともに、水生生物、鳥類等の生息・生育に支障を及ぼすおそれのある化学物質も規制対象に加えられた。

#### ②水質汚濁に係る環境基準及び水質汚濁防止法に基づく排水規制

環境基本法（平成 5 年法律第 91 号）第 16 条第 1 項に基づき、人の健康を保護し、及び生活環境を保全する上で維持されることが望ましい基準として、環境基準が定められている。

同法第 2 条第 3 項において、「生活環境」には「人の生活に密接な関係のある財産並びに人の生活に密接な関係のある動植物及びその生育環境を含む」と定義されており、このことを踏まえ、水産動植物に影響を及ぼす富栄養化や底層の貧酸素化の防止のための窒素・リンの環境基準の設定及び必要な排水規制が行われてきた。その後、生活環境保全の対象として、水生生物保全の観点が新たに加わり、生活環境の概念の中心にある有用な水生生物及びその餌生物並びにそれらの生育環境の保護を対象とした水生生物の保全の観点から、化学物質や重金属についても環境基準が設定されることとなり、平成 15(2003)年 11 月に全亜鉛に係る環境基準が設定された。

亜鉛の排水規制については、水質汚濁防止法の制定当初から、当時の水道への影響、漁業及び農作物被害の防止の見地からの知見に基づき、生活環境の保全に係る項目として排水基準が設定されてきたが、上記の環境基準設定を受け、水生生物保全の観点から平成 18(2006)年 12 月に排水基準が強化された。

その後、水生生物の保全の観点からの環境基準は、平成 24(2012)年 8 月にノニルフェノール、平成 25(2013)年 3 月に直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩がそれぞれ追加設定され、排水基準の設定についても現在検討が進められている。

#### ③化学物質排出把握管理促進法による取組

事業者による化学物質の自主的な管理の改善を促進し、環境保全上の支障の未然防止を図るため、化学物質排出把握管理促進法に基づき、事業者が環境への化学物質の排出量の把握や届出等を行う PRTR 制度及び事業者が化学物質の性状及び取扱に関する情報（SDS）を提供する SDS 制度等が定められている。

対象となる化学物質のうち、動植物の生息・生育に支障を及ぼすおそれがあるものについては、水生生物（藻類、ミジンコ、魚類）に対する生態毒性を考慮して選定されている。現在 PRTR・SDS 両制度の対象となっている第一種指定化学物質 462 物質のうち、生態毒性を考慮して選定されたものは 331 物質、SDS 制度の対象となっている第二種指定化学物質 100 物質の中では 59 物質となっている。

#### ④農薬取締法による取組

農薬の品質の適正化とその安全かつ適正な使用の確保を図るため、農薬取締法（昭和 23(1948)年法律第 82 号）に基づき、農薬の登録制度が設けられ、販売及び使用の規制等が行われている。

登録の申請のあった農薬に対し、登録を認めるかどうかの判断基準として、作物残留、土壌残留、水産動植物の被害防止、水質汚濁等様々な観点から農薬登録保留基準が定められているが、このうち水産動植物の被害防止に係る登録保留基準値は、水生生物（藻類、甲殻類等、魚類）に対する毒性試験の結果から求めた急性影響濃度を基に設定されている。農薬の成分の公共用水域における環境中予測濃度が、登録保留基準値に適合しない場合は、その農薬の登録は保留とされる。

平成 27(2015)年 9 月 14 日現在、水産動植物の被害防止に係る登録保留基準の評価が実施された 403 農薬のうち、基準値が設定済みの農薬は 293 農薬、基準値の設定が不要とされた農薬は 110 農薬となっている。

### （２）生物応答を利用した排水管理手法の活用の意義

#### ①水質の現況

現行の排水規制は、人の健康の保護と生活環境の保全を目的として、特定事業場に対し、個別物質ごとに定められた排水基準値の遵守を求めており、これまで各事業場の努力等により、公共用水域における環境基準達成率が上昇（平成 25 年度における全公共用水域の環境基準達成状況は、健康項目で 99.2%、生活環境項目（BOD 及び COD に限る）で 87.3%）し<sup>1)</sup>、一定の成果が得られている。

しかしながら、平成 26 年度には、全国の一級河川において、原因物質が特定できない魚の浮上死が 139 件発生しており、またシアン、有機溶剤、農薬等の化学物質の流出が原因とされる事故も 64 件報告されている<sup>2)</sup>。

森田ら<sup>3)</sup>は、河川水の毒性影響の評価、毒性の傾向と分布等を調べるため、全国の一級河川のうち 22 水系の環境基準点 28 地点において、平成 23 年 10 月から平成 24 年 4 月にかけて、藻類・ミジンコ・魚類の慢性毒性試験を実施し、そのうち 11 地点で何らかの毒性影響が検出されたと報告している。生物種別では、ニセネコゼミジンコ繁殖阻害試験で調査対象の 4 分の 1 に当たる 8 地点で毒性影響が検出され、ムレミカヅキモ生長阻害試験では 4 地点、ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験では 5 地点で検出されている。なお、何らかの毒性影響が検出された上記 11 地点では、人の健康の保護に関する環境基準及び水生生物の保全に係る水質環境基準を達成していた<sup>4)5)</sup>。また、三島ら<sup>6)7)</sup>や大塚ら<sup>8)</sup>は、神奈川県内の河川を対象とした調査事例で、

オオミジンコ遊泳阻害が認められたと報告している。さらに、板津ら<sup>9)</sup>は、事業場排水の河川流入地点の上下流の河川水を対象としてバイオアッセイを行い、下流の河川水で藻類と甲殻類に対する影響が認められたと報告している。

このように現時点では限られた知見ではあるが、公共用水域における生態毒性の影響を示唆する調査事例が報告されており、未規制の化学物質等が水環境中で水生生物に影響を及ぼし得ることが懸念される。

## ②活用の意義

工場等からの排水には、現行の排水基準に適合していても多様な化学物質が含まれている場合があり、工場等から少量で排出される物質や工場内で非意図的に生成される物質による影響、あるいはそれらの相加的又は相乗的な影響を的確に把握するための対応が求められる。

すなわち、排水中の多様な化学物質による水生生物への影響については、現在環境基準や排水基準が設定されている物質に限られている一方で、排水の排出先の水域への直接的な影響が懸念されることから、毒性自体や毒性のメカニズムが不明な化学物質についても対応が可能であり、かつ、化学物質の水環境への影響や毒性の有無を総合的に把握・評価する生物応答を利用した排水管理手法の活用によって、水生生物に影響を及ぼすおそれがある化学物質による環境汚染を効率的に防止することが期待される。

水生生物の生息・生育環境は水域の護岸や河床など物理的な構造といった要因の影響も受けており、本手法のみによって水生生態系の健全性が担保されるものではないが、排水を通じて公共用水域に排出される化学物質の水生生物への影響を評価・管理する一つの「ものさし」として利用を進めることが考えられる。

このように、各工場等における予防的措置の観点から、生物応答を利用した排水管理手法の活用を図ることが有意義であると考えられる。

## (3) 各国の生物応答を利用した排水管理制度

我が国においては、これまで、人の健康の保護及び水生生物の生息・生育を含む生活環境の保全の観点から、個別物質の規制を中心に排水規制を実施してきたところであるが、欧米諸国では、工場等からの排出負荷の管理及び水生生物の保全の観点から、生物応答を利用した排水管理制度が導入されている国も見受けられる。また、我が国においても本手法の自主的な活用事例が広がりつつある。

### ①米国

米国では、化学物質同士の相互作用や副生成物、水生生物基準がない化学物質による潜在的リスクの評価に対応し、排水に含まれる有害な化学物質を総合的に評価する規制に取り組むため、1987年の水質浄化法（CWA：Clean Water Act）改正により、生物応答を用いた排水評価法がWET（Whole Effluent Toxicity）試験という名称で排水監視ツールに追加され、国家汚濁物質排出削減計画（NPDES：National Pollutant

Discharge Elimination System) による排水認可制度において WET 試験が個別物質の規制と併用して利用されるようになった<sup>10)11)</sup>。

現在、藻類、大型藻類（海洋性）、無脊椎動物、魚類を対象とした急性および慢性毒性試験法が全部で 17 種類規定されており<sup>12)</sup>、排水量や放流先環境等に応じて 1 ～ 数種類の試験実施が各事業者に要求される。従来の化学物質の個別規制において、化学物質同士の相互作用や水生生物基準がない化学物質による潜在的リスクの評価が十分でない場合に、生物応答試験がリスク決定の一手段となることから、個別物質の規制と併用することで、総合的な評価が行われ、事業場排水の認可制度に利用されている。

削減計画の運用は各州や米国 EPA の地域事務所 (Region) が行うため、各州・Region は米国 EPA が定めた WET を用いた規制を実施するための技術文書 (1985 年公表、1991 年改訂)<sup>13)</sup>を参考に制度を定めている。

WET 試験では、基本的に排水口 (End of Pipe) において排水を採取し、清澄な水 (排水放流先または放流先上流の環境水、試験生物の飼育に用いている水等) で希釈して WET 試験に供試し、排水放流先のミキシングゾーン (排水の受水域) 周縁部における排水の希釈率において毒性がみられないことを排水放流許可の条件としている<sup>14)-16)</sup>。実施する WET 試験 (急性毒性試験、慢性毒性試験) の種類や数、実施の頻度、許容される限界値超過頻度等は、業種や排水量、排出先水域の水量に占める排水量の割合及び生産工程の変更等の情報から決定されている<sup>14)-18)</sup>。

さらに、排水の生物応答試験において基準を超過する影響がある程度の頻度で検出された場合、排水全体の生物影響を削減することが義務づけられており、原因物質群の同定や適切な処理工程の選択を行う一連の手順が、米国 EPA により毒性削減評価 (TRE : Toxicity Reduction Evaluation) として標準化されている<sup>18)-20)</sup> (参考資料 5 参照)。

具体的な導入・運用方法は州・Region ごとに異なっているが、例えば、メリーランド州では本手法の導入により、毒性を示す排水の発生率が 45% まで減少 (1994 年 (1988 年比)) した事例が報告されている<sup>21)</sup>。また、製造プロセスで 1 日 200 種以上の化学物質を使用している繊維製造業における排水処理の改善の事例や、大規模製油所における排水毒性を最小化する効率的で低コストの代替法の事例が報告されている<sup>11)</sup>。

## ②カナダ

カナダでは、個別物質の規制に加え、魚類とその生息地の保護を目的に、排水認可制度の要件として、排水を用いた魚類への急性毒性試験が 1970 年代に順次導入された<sup>22)</sup>。1971 年に紙パルプ排水、1973 年に流出油分散剤と石油精製排水、1977 年に金属採鉱業廃液と食肉・家禽生産廃液に関する規制が導入され、BOD や総懸濁固形物 (TSS) 等の汚濁物質とともにニジマスの 96 時間急性毒性試験が排水モニタリングとして規定された<sup>23)</sup>。

その後、製紙業と金属鉱業についてはそれぞれ 1992 年、2002 年に排水規制が強化され、オオミジンコの急性毒性試験が排水の試験法に追加されるとともに、排水認可要件にこれらの排水試験の実施に加え、排水の放流先水域における影響を調査する環



境影響モニタリング (EEM: Environmental Effect Monitoring) の実施が規定された。

この環境影響モニタリングでは、排水及び放流先水域の化学分析と魚類・甲殻類・藻類（放流先が淡水の場合は大型植物種のウキクサも対象）の亜致死毒性試験 (Sublethal Toxicity Testing) 及び放流先の水域生態系の生物モニタリング調査が実施される<sup>24)</sup>。試験頻度は、化学分析と亜致死毒性試験について、製紙業では年3回<sup>25)</sup>、金属鋳業では当初3年間にわたり年2回で4年目から年1回実施する<sup>26)</sup>。生物モニタリング調査については、いずれの業種も3年ごとの報告が義務づけられている<sup>25)26)</sup>。

2012年には下水処理システムの改善を図るため、下水処理施設の排水について、水量に応じてニジマス急性毒性試験の実施が義務づけられた<sup>27)</sup>。100%排水（無希釈排水）で50%の生存基準を満たす必要があり<sup>27)</sup>、カナダ国内の既存下水処理施設の約75%がすでに基準に適合しているが、残りの25%の施設については改善に向けて排水監視と報告書の提出が義務づけられている<sup>28)</sup>。

このようにカナダでは対象業種を限定して制度運用がなされている。

排水による水生生物への影響を総体的に捉える手法として、米国、カナダ等では、生物応答試験（バイオアッセイ）が個別物質規制を補完する形で排水規制に導入されており、生物応答試験で示された排水毒性によって受水域の水生生物が影響を受けるかどうか予測するツールとして用いられている<sup>29)</sup>。

米国やカナダにおける検証によると、毒性が示された排水の放流先において、魚類や底生生物の生物学的状態に影響が示されており<sup>30)31)</sup>、排水処理の改善によって影響が改善されたケースが報告されている<sup>32)</sup>。

### ③欧州

生物応答試験を環境モニタリング手法として発達させてきた欧州では、一部の国において排水規制の手法としても導入されている。ドイツでは1976年より排水の生物応答試験（急性毒性）が排水賦課金制度に用いられており、フランス、スウェーデン、ノルウェー、北アイルランドでも規制的な手法として導入されている<sup>33)</sup>。

英国では、1990年代の初頭、米国とカナダで確立された全排水毒性（WET）試験の取組をモデルとした直接毒性評価（DTA: Direct Toxicity Assessment）手法が開発された<sup>34)</sup>。水生生物が死なない水環境を目指し、試験法は現時点で急性毒性試験のみ規定されている<sup>35)</sup>。イングランドとウェールズでは、1997年から4年間の実証プログラムを経て、2006年に統合的汚染防止管理指令（IPPC: Integrated Pollution Prevention and Control Directive）におけるDTA手法の利用法について定めたガイダンス文書が公表された<sup>36)</sup>。この中で、DTAの実施に当たり最低限必要な手順が明示されている。

DTAが求められるのはIPPCの規制対象工業地域であり、対象事業者は、有機化学工業と無機化学工業の業種に属し、かつ、河川、湖沼、海域等の水域に直接100m<sup>3</sup>/日以上排水する工場等に限定されている<sup>36)</sup>。また、排水中に1物質しか含まれていない場合や2物質以上でも追加の生態毒性試験をしなくても化学的及び毒性学的な相互作用

用が明確に実証されている場合は対象外となり、DTA を実施すべき工場等が約 100 箇所選出されている<sup>37)</sup>。2012 年には、スコットランドでも同様のガイダンス文書が公開されている<sup>38)</sup>。

また、ドイツやフランスなどでは、変異原性試験が排水管理の試験法として利用されており<sup>33)</sup>、このような手法についても今後の検討課題とすることが考えられる。

#### ④韓国

韓国では「生態学的に健全な河川」と「有害物質からの安全の確保」を目指し、排水中の化学物質を管理することを目的として、2011 年に排水の生物応答試験制度が導入された。一部の排水において、金属やフェノール等の化学物質が許容レベル未満であるにもかかわらずオオミジンコ急性毒性が検出されたことや、化学物質の相互作用から生じる未知のヒト健康リスクと生態毒性の懸念などから、水生生態環境とヒト健康の保護において、現行の個別化学物質管理では十分でないという認識が広がったため、制度が導入された<sup>39)40)</sup>。

具体的にはオオミジンコの 24 時間遊泳阻害試験による排水規制を実施しており、月 1 回の測定頻度による試験の実施が、下水処理場を含むすべての事業場に求められている<sup>39)40)</sup>。

なお、中国、シンガポール、マレーシア等他のアジア諸国でも生物応答を用いた排水監視手法の導入の検討が進められている。

#### (4) わが国における活用状況

我が国では生物応答を利用した排水管理の制度化はされていないが、バイオアッセイの手法自体は、化学物質審査規制法における生態毒性試験を活用する形で、様々な主体により自主的な利用が始められている。

製造事業者の自主的な取り組み例として、印刷インキメーカーの事例<sup>41)</sup>があげられる。当該事業者は、印刷インキ、容器包装用インキ、粘・接着剤等、様々な製品を合成、加工、販売しており、製造過程で使用される化学物質の種類は膨大で、個々の物質の環境影響評価を行うことは不可能に近い。このため、2007 から 2012 年にかけて国内主要 4 工場の排水を対象として生物応答試験を実施して排水の生物影響を定量的に把握し、工場によって影響を示した生物種が異なることやその年変動が異なることが明らかとなった。当該事業者では、排水放流後の希釈倍率を考慮すると、受水域における生態系へのリスクはほとんど無視できると判断しているが、相対的に毒性の高かった工場の排水について原因究明を実施し、排水の環境に対する生物影響負荷を低減させることに成功している。

また、住宅、管材、住宅建材、高機能プラスチック等の樹脂加工メーカーの事例<sup>42)</sup>では、排水先の水生生物にとって安全な水環境を確保し、排水による悪影響を未然に防止することを目的として、2013 年度から本手法を活用して国内の生産事業所排水の評価を実施しており、2014 年度までに公共用水域に排出される全排水の 85%について確認を完了している。排水放流先の河川における水生生物の生息状況調査もあわせて実施するなど、生物多様性の保全を目的とした CSR の取組の一環として位置付けら

れている。

さらに、医薬品メーカー、住宅建材メーカー、半導体等電子部品メーカー等においても、国内生産事業所の排水の生物応答試験を実施する事例<sup>43)~46)</sup>が公表されており、工場排水が水環境に及ぼす影響を排水の総合的な毒性を把握する生物応答試験によって評価する手法が様々な業種に広がりつつある。この他、複写機・印刷複合機、光学デバイス等の機器メーカーの事例<sup>47)</sup>では、国内製造拠点の排水だけではなく、海外の製造拠点の排水についても生物応答試験を実施して水生生物に及ぼす影響の有無を確認している。

このように様々な業種の製造事業者が自主的に排水の生物応答試験に取り組み、結果をCSR報告書などに積極的に公表して、生物多様性の保全や持続可能な社会構築への貢献を目指す姿勢をアピールしている。

大学等の研究機関においても、製造事業者の協力を得て排水の生物応答試験を実施し、生物影響が認められた工場排水試料に関する知見の蓄積が進められるなど、生物応答を利用した排水管理の実施例や、排水管理の試験方法としての有用性を実証するための研究事例が着実に蓄積されつつある<sup>9)</sup>。

また、本検討事業においても、公募で選出された39の事業場の59の排水サンプルについて生物応答試験を実施し、魚類（ゼブラフィッシュ）と藻類（ムレミカヅキモ）の試験では全サンプルの10%に当たる6サンプルで、甲殻類（ニセネコゼミジンコ）の試験では37%に当たる22サンプルで影響がみられ、魚類と藻類に比べて甲殻類への影響が大きい結果が得られている。（次章及び参考資料3参照）。

一方、(2)①で示したように、バイオアッセイ手法を公共用水域で使用した調査事例<sup>3)6)~9)</sup>もある。

## 出典

- 1) 環境省水・大気環境局（2014）：平成25年度公共用水域水質測定結果  
(<https://www.env.go.jp/water/suiiki/h25/01.pdf>)
- 2) 国土交通省水管理・国土保全局河川環境課（2015）：平成26年全国一級河川の水質現況  
([http://www.mlit.go.jp/river/toukei\\_chousa/kankyo/kankyousuisitu/pdf/h26\\_suisitu/02\\_syousai.pdf](http://www.mlit.go.jp/river/toukei_chousa/kankyo/kankyousuisitu/pdf/h26_suisitu/02_syousai.pdf))
- 3) 森田隼平，安田侑右，駕田啓一郎，田村生弥，鏑迫典久，山本裕史（2012）：水生生物3種を用いた全国一級河川の短期慢性毒性試験，土木学会論文集G（環境），68（7）：Ⅲ217-Ⅲ225.
- 4) 環境省水・大気環境局（2012）：平成23年度公共用水域水質測定結果  
(<http://www.env.go.jp/water/suiiki/h23/full.pdf>)
- 5) 環境省水・大気環境局（2013）：平成24年度公共用水域水質測定結果  
(<http://www.env.go.jp/water/suiiki/h24/full.pdf>)
- 6) 三島聡子，大塚知秦，齋藤和久（2010）：バイオアッセイによる河川水の生態影響評価，第34回神奈川県市環境・公害研究合同発表会（平成22年6月4日開催）  
(<http://www.k-erc.pref.kanagawa.jp/center/gakkai/kennishi22-4.pdf>)
- 7) 三島聡子，大塚知秦，長谷川敦子，齋藤和久（2013）：河川水中化学物質による生態影響の評価，神奈川県環境科学センター研究報告，35，1-7.

- (<http://www.k-erc.pref.kanagawa.jp/center/bulletin/h24bull01.pdf>)
- 8) 大塚知泰, 石割隼人, 三島聡子, 長谷川敦子 (2014) : バイオアッセイによる目久尻川の水質評価, 第 38 回神奈川県環境研究合同発表会  
(<http://www.k-erc.pref.kanagawa.jp/center/tyousa-kenkyu/kensi-happyou/26kensi/kensi2014-3.pdf>)
  - 9) 板津靖之, 高野智弘, 金俊, 福富真美子, 楠井隆史 (2015) : 事業所排水の生態毒性学的評価 : 毒性原因物質の特徴化と放流先河川への影響, 環境化学, 25(1), 19-26.
  - 10) US EPA Office of Wastewater Management: Water Permitting 101  
(<http://www.epa.gov/npdes/pubs/101pape.pdf>)
  - 11) Diamond J. and S. Belanger (2012) : 米国における全排水毒性 (WET) 試験状況および現在の課題. 諸外国における生物応答を用いた排水管理手法に関するセミナー講演資料
  - 12) US EPA (2002) : Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants; Whole Effluent Toxicity Test Methods; Final Rule, 40 CFR Part 136.
  - 13) US EPA (1991) : Technical support document for water quality-based toxics control .EPA/505/2-90-001(<http://www3.epa.gov/npdes/pubs/owm0264.pdf>)
  - 14) DeBiasi D.L. (2010) : 米国における WET システムに関するセミナー (平成 21 年度) 講演資料
  - 15) WDNR (2005) : WET guidance document  
(<http://dnr.wi.gov/topic/wastewater/WETguidance.html>)
  - 16) Debra L. Denton (2010) : 米国における WET システムに関するセミナー (平成 21 年度) 講演資料
  - 17) Wisconsin Department of Natural Resources: Making WET limits and monitoring decisions. (<http://dnr.wi.gov/topic/wastewater/WETChecklist.html>)
  - 18) US EPA (1989) : Generalized Methodology for Conducting Industrial Toxicity Reduction Evaluations (TREs), EPA/600/2-88/070
  - 19) US EPA (1999) : Toxicity Reduction Evaluation Guidance for Municipal Wastewater Treatment Plants, EPA/833B-99/002
  - 20) US EPA (2001) : Clarifications Regarding Toxicity Reduction and Identification Evaluations in the National Pollutant Discharge Elimination System Program.  
(<http://water.epa.gov/polwaste/npdes/basics/upload/owmfinaltreetie.pdf>)
  - 21) Fisher, D. J., Knott, M. H., Turley, B. S., Yonkos, L. T. and Ziegler, G. P. (1998) : Acute and chronic toxicity of industrial and municipal effluents in Maryland, US Water Environ. Res. 70, 101-107.
  - 22) Environmental Canada (1999) : Guidance Document on Application and Interpretation of Single-species Tests in Environmental Toxicology. EPS1/RM/34.
  - 23) カナダ環境省 (2014) : カナダにおける生物応答を用いた排水管理、鑪迫典久監修「生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内外最新動向」、NTS、pp. 35-71.
  - 24) Scroggins R. (2012) : カナダ排水規制における毒性試験の適用性. 諸外国における生物応答を用いた排水管理手法に関するセミナー講演資料
  - 25) Canada (2012) : Pulp and Paper Effluent Regulations (2012 年 6 月 29 日修正)

- (<http://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/SOR-92-269.pdf>)
- 26) Canada (2015) :Metal Mining Effluent Regulations (2015年1月1日修正)  
(<http://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/SOR-2002-222.pdf>)
- 27) Canada (2015) :Wastewater Systems Effluent Regulations (2015年1月1日修正)  
(<http://laws-lois.justice.gc.ca/PDF/SOR-2012-139.pdf>)
- 28) Environmental Canada:  
(<https://www.ec.gc.ca/eu-ww/default.asp?lang=En&n=0D689118-1>)
- 29) Grothe D. R., K.L. Dickson, D.K. Reed-Judkins (eds.) (1996) : Whole effluent toxicity testing: An evaluation of methods and prediction of receiving system impacts, SETAC Press, Pensacola, FL.
- 30) Diamond J., C. Daley (2000) : What is the relationship between whole effluent toxicity and instream biological condition? Environ. Toxicol. Chem, 19 (1) 158-168.
- 31) Diamond J. (2014) 米国における WET (全排水毒性) 試験、鑪迫典久 (監修) 「生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内最新動向」、エヌティーエス、東京、pp. 26.
- 32) McMaster M.E., L. M. Hewitt, J.L. Parrott (2006) : A decade of research on the environmental impacts of pulp and paper mill effluents in Canada: Field studies and mechanistic research, J. Toxicol. Environ Health, Part B, 9, 319-339.
- 33) Power EA and Boumphrey RS. (2004): International trends in bioassay use for effluent management. Ecotoxicology. 13(5):377-98.
- 34) Wharfe J. (2004): Hazardous chemicals in complex mixtures--a role for direct toxicity assessment. Ecotoxicology. 13(5):413-21. (複合体中の有害な化学物質-直接毒性評価の役割、鑪迫典久監修「生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内外最新動向」、NTS、pp. 111-121.)
- 35) Tinsley D., J., D. Campbell, P. Chowm, D. Taylor J. Upton and C. Taylor (2004): The Use of Direct Toxicity Assessment in The Assessment and Control of Complex Effluents in The UK: A Demonstration Programme. Ecotoxicology. 13(5):423-436.
- 36) Environment Agency (2006) : Integrated Pollution Prevention & Control, Guidance on the Use of DTA in PPC Impact Assessments.
- 37) Leverett D., P. Simpson and L. Surl (2011) : Direct toxicity assessment of mixtures in effluents: current UK experiences, SETAC Europe Annual Meeting, Poster, WE310 ([http://www.wca-environment.com/wp-content/uploads/2011/05/wca\\_SETAC2011\\_DTA-effluents\\_WE310\\_May-2011\\_A0.pdf](http://www.wca-environment.com/wp-content/uploads/2011/05/wca_SETAC2011_DTA-effluents_WE310_May-2011_A0.pdf))
- 38) Scottish Environment Protection Agency (2012): Supporting Guidance (WAT-SG-57) Toxicity Screening for Discharges  
([https://www.sepa.org.uk/media/152970/wat\\_sg\\_57.pdf](https://www.sepa.org.uk/media/152970/wat_sg_57.pdf))
- 39) Kim Sang-Hoon (2012) 諸外国における生物応答を用いた排水管理手法に関するセミナー講演資料
- 40) 新野 竜大 (2015) : 韓国における生物応答を用いた排水管理の現状、鑪迫監修「生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内外最新動向」, p. 87-93.
- 41) 富川恵子, 入江俊行, 内田弘美, 渡部春奈, 鑪迫典久 (2015) : WET 法を活用した工場排水

管理：化学工業における排水改善の取り組み，環境化学，25(1)，27-33.

42) [https://www.sekisui.co.jp/csr/eco/env\\_return/biodiversity/index.html](https://www.sekisui.co.jp/csr/eco/env_return/biodiversity/index.html)

43) <http://www.daiichisankyo.co.jp/corporate/csr/management/business/environment/risks/index.html>

44) [http://www.takeda.co.jp/company/reports-publications/2013\\_ebook/2013cdb/index.html#page=37](http://www.takeda.co.jp/company/reports-publications/2013_ebook/2013cdb/index.html#page=37)

45) [https://www.ykk.co.jp/japanese/corporate/csr/eco/report/2014/pdf/2014\\_04-06.pdf](https://www.ykk.co.jp/japanese/corporate/csr/eco/report/2014/pdf/2014_04-06.pdf)

46) <http://www.sii.co.jp/eco/pickup/wet.html>

47) [http://www.konicaminolta.jp/about/release/2012/0926\\_02\\_01.html](http://www.konicaminolta.jp/about/release/2012/0926_02_01.html)

## 2. 生物応答を利用した排水試験・評価方法

本検討会では、生物応答を利用した排水管理に関して、既に導入されている米国やカナダ等の諸外国の動向について、導入に至る経緯、具体的な制度の内容、運用方法等の観点から整理するとともに（1（3）及び参考資料1参照）、我が国に本手法を導入する場合の課題、具体的な試験方法や試験結果の評価方法等について、我が国での排水規制や化学物質管理の現状等を踏まえて検討してきた。平成24年度には、米国EPAの試験法やOECDテストガイドライン等を参考にして、具体的な試験方法を「生物応答を用いた排水試験法（検討案）」（参考資料2参照）として取りまとめた。この試験法検討案は、平成23年度に実排水を用いた9機関によるリングテスト、平成25年度に10機関による感受性試験データの収集が行われ、十分な試験機関間再現性および試験精度が示された<sup>1)</sup>。また、これらの試験結果については、現行の排水基準の考え方を踏まえて整理を試みた（参考資料3参照）。ここでは、具体的な試験方法の概要を示すとともに、試験の適用方法や結果の評価に当たっての検討課題を以下に示す。

### （1）対象とする毒性

我が国の水生生物の保全に係る水質環境基準は、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ものであることから、基本的に慢性影響の観点から目標値を導出することが妥当とされている。1980年代に排水管理に生物応答手法を導入した米国では、当初、急性毒性試験が使用されていたが、より感度が高くかつ生物の成長や繁殖等の個体群の維持の指標としての信頼度が高い慢性毒性試験に移行してきた。

実際、本検討会の実証事業として、我が国の事業場排水に対して実施した、藻類（ムレミカヅキモ）、甲殻類（ニセネコゼミジンコ）、魚類（ゼブラフィッシュ）の3生物種を用いた慢性毒性試験においても、約3割の排水において慢性的な影響が懸念される結果となっている（参考資料3参照）。また、慢性毒性試験は成長段階に応じて感受性が異なる生物に対する評価が可能なこと、慢性毒性試験は急性毒性試験に比べて、より低濃度の影響をみることができること、我が国の公共用水域の水質は比較的良好であること等からも、生物応答試験を排水管理手法として適用する際には、慢性影響を評価する試験法を基本とすることが望ましい。

一方、急性毒性試験は慢性毒性試験に比べて短期間で結果が得られるため、コストや手間の観点からも負担の少ない試験方法であることから、事業者にとって取り組みやすく、現実的な手法としてはあり得る。また、固相抽出法による試料濃縮を行うことによって試験法の感度を上げ、河川水の毒性を評価した事例も報告されている<sup>2)3)</sup>。このため、生物応答試験による排水管理手法への理解を促進するよう、当面は急性・慢性いずれか一方の選択が可能となるよう試験方法の検討を行うことも考えられる。

< 検討課題 >

- ・試験法は、慢性毒性試験を用いることを基本として検討してきたが、急性毒性試験も必要に応じて利用できるようにすべきか検討が必要。

## (2) 試験法の種類と使用する生物種

我が国では、化学物質審査規制法における動植物への影響評価として、新規化学物質の審査については、藻類生長阻害試験、ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験の試験成績等に基づき判定を行っており、優先評価化学物質のリスク評価については、これらの試験に加えてミジンコ繁殖試験、魚類初期生活段階毒性試験の試験成績等に基づき第二種特定化学物質への該当性を判定している。

これらの試験法は、生物の栄養段階を考慮し、化学物質の水生生物への有害影響を予測する手法として世界的に広く利用されており、同様の手法で排水中の化学物質の影響を把握することが可能であることから、これらの試験法を参考にして、また(1)で示したように、慢性影響を評価する試験法を基本とすることが望ましいと考えられることから、日本の実情にあった効率的な試験法として、排水の生態毒性の有無を総合的に把握する試験法を、①藻類生長阻害試験、②ミジンコ繁殖試験、③魚類胚・仔魚期短期毒性試験の3種の方法として取りまとめた(別添「生物応答を用いた排水試験法(検討案)」(以下「試験法検討案」という。)参照)。

それぞれの試験法に用いる生物種については、以下の考え方から選定している。

### ①藻類生長阻害試験

藻類の試験では、単細胞緑藻類のムレミカヅキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata*) が、化学物質審査規制法による試験法の推奨種とされ、OECD テストガイドラインなどの既存試験法で最も広く用いられていることから、排水の試験生物種とすることが推奨される。

ムレミカヅキモは昭和 59(1984)年 6 月に採択された OECD テストガイドライン 201 藻類生長阻害試験では、*Selenastrum capricornutum* とされていたが、形態的特徴から、*P. subcapitata* が正しい種名とされ、平成 18(2006)年に改訂された OECD テストガイドライン 201 では、*P. subcapitata* に変更され、現在に至っている。*P. subcapitata* は国内生息種ではないが、我が国には、当初推奨種とされていた *S. capricornutum* の同属種である *S. bibraianum* (*Synonyms: Ankistrodesmus bibraianus*) 等が生息しており、水生生物の保全の観点からの環境基準の検討に際しても、ムレミカヅキモの試験結果も参照されていることから、本手法の試験生物種とすることが推奨される。

### ②ミジンコ繁殖試験

甲殻類については、米国 EPA 試験法 1002.0 およびカナダ環境省の試験法に準じた試験法で、甲殻類の慢性影響試験として世界的に普及しているニセネコゼミジンコ (*Ceriodaphnia dubia*) を用いた繁殖試験法が適当である。

甲殻類の試験では、化学物質審査規制法による試験法ではオオミジンコ (*Daphnia*



*magna*) が推奨されており、一般的にオオミジンコが使用されたデータの蓄積が多いが、ニセネコゼミジンコは感受性がオオミジンコと大きくかわらないことを示す試験結果が多数報告されており<sup>4)-6)</sup>、かつ、ライフサイクルが短いことが特徴であり、試験期間は7日間で、オオミジンコ(21日間)の1/3の短期間で実施可能である。

このように、感受性差が大きくないこと、試料とする排水の保存性や試験コストの観点から、ミジンコ繁殖試験においてはニセネコゼミジンコの使用が推奨される。

ニセネコゼミジンコは世界の至る所で見られる種類だが、我が国では一部の水域での採集例があるものの少なく、オオミジンコと同様に外来種とされている。我が国には同属種のネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia quadrangular*)等複数種が普通に生息しており、水生生物の保全の観点からの環境基準の検討に際しても、ニセネコゼミジンコの試験結果も参照されていることから、本手法においても試験生物種とすることが推奨される。

なお、ニセネコゼミジンコはオオミジンコに比べて幼体が小さいため、試験実施機関の技術者の技能向上を図ることにより、計数の困難さや飼育水等による再現性の低下を招かないように留意する必要がある。

### ③魚類胚・仔魚期短期毒性試験

魚類については、OECD テストガイドライン 212 胚・仔魚期短期毒性試験および米国 EPA 試験法 1001.0 を参考に、魚の胚期から仔魚前期までの2つのステージを対象に比較的短期間かつ小スケールで、慢性影響評価に利用可能な情報を得ることが可能であり、試験に用いる生物体の用意が比較的容易な、胚・仔魚期短期毒性試験法が適当である。

化学物質審査規制法による試験法ではメダカ(*Oryzias latipes*)が推奨されているが、メダカは受精卵(胚)から仔魚への孵化に8~10日を要する。メダカと感受性が大きくかわらないゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)は3~4日前後で孵化するため試験期間が8~9日と短期間で実施可能であり、また、多量の卵を得やすいという点で優れている。このため、魚類の試験では、国内生息種のメダカと、国内生息種ではないが諸外国で適用事例が多いゼブラフィッシュを本手法の試験生物種とし、任意に選択可能とすることが推奨される。

なお、外来種であるニセネコゼミジンコとゼブラフィッシュを用いた試験では、試験終了後に生態系への影響が生じないよう適切な配慮が必要である。

#### <検討課題>

- OECD テストガイドラインや化学物質審査規制法テストガイドラインにおいて推奨種とされているオオミジンコやメダカにかわり、外来種のニセネコゼミジンコやゼブラフィッシュの使用を推奨することについて、合理的な理由を示しつつ理解を求めることが必要。なお、オオミジンコを用いた試験も排除しないこととする場合は、結果の評価に当たっての留意点を示すことが必要。
- ニセネコゼミジンコはオオミジンコに比べて幼体が小さいため、計数が困難なこと

や飼育水等による再現性の低下を招かないように技術者の技能向上方策について検討が必要。

### (3) 試料

本試験は、事業者が排水管理に取り組むための手法として位置付けられたものであることから、試験の実施対象となる試料は、事業場から公共用水域に排出される排水とすることが適当である。

排水の採取は、水質や水量の変動性や有害性、連続放流か間欠放流か、排水口の構造などを考慮して採水計画を策定し、原則として最終放流口である排水口で採取することが適当である。採取後は冷蔵保存して 36 時間以内に試験を実施することとし、pH 調整によって懸濁物が生成して試験結果に影響を及ぼす可能性があるため、pH は 6.5～8.5 の範囲内であれば調整は行わないことが適当である。

### (4) 試験の実施頻度

現行の排水規制においては、事業者による排水の測定は、通常の操業状態において、排水の汚染状態が最も悪いと推定される時期及び時刻に排水を採取し、排出される物質について最低限年 1 回の測定を実施することとされている。

生物応答試験による排水管理手法についても、こうした現行の排水規制の考え方を踏まえると、最低限年 1 回の試験を実施することが必要と考えられる。

他方、少量多品種の製品製造工場等、使用される原材料の種類や量、施設の運転条件等が頻繁に変動すること等に伴い、排水の汚染状態の変動が想定される場合には、実際の運転状況や試験に要するコスト等を勘案しつつ、必要に応じて試験実施頻度を上げることも考えられる。

#### <検討課題>

- ・試験の実施頻度はどの位が適当か。使用原材料の変更等により排水の汚染状態が頻繁に変動することから回数を増やす場合や、継続的に「影響なし」の試験結果が得られることから回数を減らす場合は、どの程度を目安とすべきか。

### (5) 試験結果の評価

現行の排水規制では、排水の水質は、公共用水域に排出されると、そこを流れる河川水等により、排水口から合理的な距離を経た公共用水域において、通常少なくとも 10 倍程度に希釈されると想定されることに基づき、排水基準は原則として、環境基準の 10 倍値に設定されている。

この排水基準の設定の考え方を踏まえ、排水に対する 3 種類の生物応答試験結果のいずれかにおいて、排水の毒性を無影響にするために必要な希釈倍率が 10 倍を超過する場合（排水を 10 倍以上に希釈しないと排水の毒性が無影響にならない場合）、す

なわち、最大無影響濃度 NOEC (%) の逆数 TU (Toxic Unit=100/NOEC) が 10 を超過する場合、その排水について、改善の必要があると評価することが想定される。

(参考) 米国 EPA 指針では、排出先の公共用水域における排水の希釈倍率 (IWC) が、最大無影響濃度の希釈倍率 (NOEC) より小さい場合\*に慢性影響ありと判断される。

※ $TU_c (=IWC/NOEC) < 1$  の場合。ここで IWC (Instream Waste Concentration) は、排出先のミキシングゾーンの周縁における排水の希釈倍率を表す。

一方、水生生物の保全に係る水質環境基準の設定の際の、生物種による感受性の相違の考え方を踏まえれば、生物応答試験で使用を推奨している生物種が (2) に記載のとおり、藻類のムレミカヅキモ、甲殻類のニセネコゼミジンコ、魚類のゼブラフィッシュもしくはメダカの 4 種の生物に限定されていることから、他の生物との感受性の差を考慮した係数として「10」を適用し、より厳しい値とすることも想定される。

このように、公共用水域における排水の希釈、生物間の感受性の相違等をいかに考慮すべきかについて、諸外国の適用例等を参照しつつ今後検討が必要である。

#### < 検討課題 >

- ・排水の毒性を無影響にするために必要な希釈倍率の評価基準の考え方について検討が必要。
- ・排水の生物応答試験結果に対する評価にあたり、生物応答試験に用いる生物とそれ以外の生物との感受性差の考え方について検討が必要。

### (6) 試験の簡略化

水生生物の保全の観点からの環境基準等の水質目標は、生活環境という概念の中心にある有用な水生生物及びその餌生物並びにそれらの生育環境の保護を対象として設定されていることから、排水の生態毒性の有無の総合的な把握に関しても、藻類、甲殻類、魚類への影響を個別にすべて把握することが適当である。

また、用量反応関係を確認するための試験濃度は、無希釈の排水を 100%とした際、公比 2 で最高濃度の 80%から、40、20、10、5%の 5 濃度区と対照区が基本となる。

米国 EPA 技術指針では、2 年目以降のモニタリングは最も感受性の高い生物 1 種類のみを軽減する規定もある。このように、最初にいずれか 1 種類の試験を実施して影響があった場合に他の種類の試験を実施する逐次的な実施方法や、濃度区を少なくした試験など、試験実施の負担軽減の観点からの試験の簡略化の可能性についての指摘がある。

現時点では生物応答試験による排水管理の実績が不足していることから、当面は標準的な試験方法による排水管理を行い、試験結果や関連する知見の蓄積を図ることが適当と考えられるが、結果の蓄積が進んだ段階で、試験の精度を確保しつつよりコストのかからない方法として、簡略化した手法を用いることが可能か検討を進めることが適当と考えられる。

#### < 検討課題 >

- ・試験実施の負担軽減の観点からの効率的な試験方法について、逐次的な試験の実施や濃度区を少なくした試験の検討が必要。

## (7) 試験実施にあたっての留意事項

### ①排水の海域放流事業所・海水の工程内使用事業所への適用

海に囲まれたわが国では、海域や汽水域に排水を放流する工場等が多く存在し、また、冷却水として海水を工程内で使用する場合もある。

一方、国内生息種の海産生物を用いた慢性毒性試験はまだ十分に確立されておらず、現時点における生物応答試験は、淡水生物を用いたものとなっている。このため、前述したような海域や汽水域に排水を放流する工場等における現在の生物応答試験の有効性についての疑問が指摘されている。

本手法の主眼は、排水の水生生物に対する生態毒性の有無を総体的に把握して、水生生物に影響を及ぼすおそれがある化学物質による環境汚染を効率的に防止することであり、海産生物と淡水生物の毒性値の換算も現時点では困難であることから、当面は排水の排出先等にかかわらず、指定された淡水生物に関する生物応答試験を統一的に実施して知見の集積を図ることが適当と考えられるが、海産生物と淡水生物との感受性の違い等に関する知見を集積し、試験方法や評価方法に反映させるべく検討していく必要がある。

### ②排水の中和処理による塩の影響

水質汚濁防止法により水素イオン濃度指数が排水基準として定められていることから、工場等からの排出される酸性やアルカリ性の排水は、排水基準に適合するように水素イオン濃度指数の調整が行われる。

生物応答試験は基本的に環境中に排出される排水の安全性を確認する試験であることから、供試水は中和後の排水とすることが適当と考えられるが、化学物質の水生生物に対する毒性は、水中の塩分濃度やその変化の影響を受けることから、試験結果の評価に当たっては、排水の中和処理で生じた塩が水生生物に及ぼす影響について、塩により毒性が増大するか減少するかの確認の必要性を含め、評価の考え方について整理しておく必要がある。

### ③塩素消毒した排水への適用

排出前の排水に塩素が添加される場合には、製造工程で製造・使用等される様々な化学物質との相互作用等により、生態に影響を及ぼすおそれのある消毒副生成物が生成するおそれがある。消毒のための塩素の安易な過剰使用による水質事故事例もあることから、塩素添加が行われる場合には、②の考え方と同様、原則として塩素添加後の公共用水域に排出される排水口を試料採取地点とし、塩素が添加された排水を用いて試験を行う方が望ましいと考えられる。

他方、塩素添加後の排水を用いた試験で「影響あり」との結果がでた場合には、プロセス改善のための原因究明を目的として、塩素添加前の排水についても試験を行い

適切に評価することが有効と考えられ、②と同様に評価の考え方を整理しておく必要がある。

#### < 検討課題 >

- ・試験に用いる生物種は淡水生物に限定されているため、海域への排水に対応するための海産生物を用いた試験法の開発や、淡水生物を用いた試験結果の活用方法（感受性の違いの評価方法等）について検討が必要。
- ・酸やアルカリの中和による污水处理や塩素消毒を実施している事業場からの排水について、排水の中和や塩素消毒が生態毒性に影響を及ぼす場合の評価の考え方について整理が必要。

### （８）試験の実施体制と精度管理

生物応答試験の排水への適用による試験方法については、現時点では、信頼性のある試験を実施できる試験機関が十分確保されておらず、実績が少ないことを考慮し、当面は、信頼性のある結果を得るために例えば OECD の優良試験所基準（GLP）に適合した機関や、自治体（地方環境研究所等）・事業者等で GLP と同等の設備や技術を有する機関で実施することが適当である。

適切な技術を有する試験機関の拡大を図るため、試験結果の蓄積を図りつつ、以下のような検討を進めていくことが望ましい。

- ①環境省における試験方法のマニュアルや評価方法のガイドラインを整備する。
- ②試験の実施に知見やノウハウを有する機関が中心となってセミナー等を開催し、事業者や分析機関による知見やノウハウの蓄積を促し、試験実施能力の向上や試験そのものの精度向上を図っていく。
- ③事業者が自ら生物応答試験を実施することを推奨するため、自ら行った試験結果について信頼性を高める方法についてマニュアルに盛り込む。
- ④環境省の優良試験所基準（GLP）に準ずる新たな認証制度の創設を検討する。

現在、国立研究開発法人国立環境研究所の環境リスク研究センター内に生態影響試験の標準機関としてレファレンスラボラトリーが設立され、生態影響試験（本検討の生物応答試験も含む）の基礎的な知識・技術等の普及を目的とした実習セミナーの開催のほか、試験用水生生物の維持及び提供が行われている。生物応答試験についても、試験結果の正確性と再現性を確保するためには、同様に試験に用いられる生物を安定的に供給できる体制の整備が必要である。

#### < 検討課題 >

- ・精度の高い試験を実施するための方策について検討が必要。
- ・試験に用いられる生物を安定的に供給できる体制の整備が必要。

### （９）試験実施コスト

我が国では、国内の分析可能な機関が限られていることもあり、3種類の生物種の試験をすべて実施した場合の試験費用は、現時点では1検体あたり100万円程度かかると見込まれる例もある。今後、試験実績の拡大を図り、同時に試験方法に関する知見やノウハウを蓄積することにより、コストの削減が図られていくことが期待される。

他方、制度が普及するまでの間は、国による技術的・財政的支援が可能か検討していく必要がある。

(参考) 生物応答試験を排水規制に導入済みの米国の民間分析機関では、一例として3種類すべての試験を実施した場合で4,000ドル(50万円)程度となっている。

#### <検討課題>

・試験実施のコスト削減方策や本手法実施のための技術的・財政的支援の検討が必要。

#### 出典

- 1) 渡部春奈, 林岳彦, 田村生弥, 中村中, 阿部良子, 高信ひとみ, 荻野仁子, 小塩正朗, 鑓迫典久 (2015) : 生物応答を用いた排水試験法案の検証と事業場排水の実態調査, 環境化学, 25(1), 43-54.
- 2) 鈴木穰, 北村清明, 岡安祐司, 北村友一 (2009) : 都市水環境における水質評価手法に関する調査, 平成20年度下水道関係調査研究年次報告書集, 152-158.
- 3) 高木茜, 亀屋隆志, 浦野紘平 (2004) : ヒメダカ仔魚毒性試験を用いた多摩川水系の水質健全性評価, 第38回日本水環境学会年会講演集, 563.
- 4) Versteeg, D. J., Stalmans, M., Dyer, S. D. and Janssen, C. (1997) : *Ceriodaphnia* and *Daphnia*: A comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. *Chemosphere*, 34, 869-892.
- 5) Constantine, L. A. and Huggett, D. B. (2010) : A comparison of the chronic effects of human pharmaceuticals on two cladocerans, *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia*. *Chemosphere*, 80, 1069-1074.
- 6) 新野竜大, 阿部良子, 山口直子, 新倉良之, 吉村奈緒子, 押岡香, 中山光二, 鑓迫典久, 新野竜大, 北村清明, 岡安祐司, 北村友一 (2015) : 数種類の有機化学物質に対する淡水性甲殻類 *Daphnia magna* および *Ceriodaphnia dubia* の慢性毒性による感受性比較, 環境化学, 25(1), 55-60.

### 3. 生物応答を利用した排水管理の在り方

これまでの検討を踏まえ、生物応答試験の結果を活用して行う排水管理の方向性と検討課題を以下に示す。

#### (1) 排水管理における位置付け

生物応答を用いた排水管理手法は、化学物質の水環境への影響や毒性の有無を総合的に把握・評価することが可能であり、また、毒性自体や毒性のメカニズムが不明な化学物質についても対応が可能であるため、工場等から排出される多様な化学物質が水環境に及ぼす影響を予防する観点から、事業者が生物応答試験を排水管理に適用する意義は大きい。

一方、生物応答試験は、現行の有害性が確認された個別物質による排水規制とは異なる考え方で実施される試験であり、生物応答試験そのものの制約や結果の不確実性に対応する知見の蓄積が必要である。また、試験に要する費用は現時点では高額であり、事業者にかかる負担にも十分配慮する必要がある。

このように、生物応答を用いた排水管理手法の導入については、多くの課題が存在する。また、水質汚濁防止法等の既存の規制体系との整合性も十分考慮する必要がある。

このため、現時点では、本手法を排水管理に適用するか否かは、個々の事業者の自主的な判断に委ねることとし、生物応答を用いた排水管理手法の制度的枠組みとしては、当面、排水中の化学物質による水環境への影響の低減につながる工場内の工程改善を目的とした自主的取組の一環として位置付けることが適当と考えられる。

水質汚濁防止法第14条の4においては、事業活動に伴う汚水等の公共用水域への排出等を把握し、水質汚濁防止のために必要な措置を講ずることが、事業者の責務として規定されている。このことも踏まえ、生物応答を利用した排水管理手法の活用について、事業者による取組みを促し、事例の蓄積を図ることも考えられる。

今後、知見が蓄積された段階で、排水改善に伴う生態影響の軽減効果やコスト等についての調査・検討を踏まえ、水質汚濁防止法等の規制体系への取り入れについて改めて検討することが適当である。

#### <検討課題>

- ・当面は自主的な取組の一環として位置付けることが適当と考えられるが、将来的に事業者に義務づけるかどうかについて検討が必要。

#### (2) 現行の排水管理手法との関係

化学物質のうち、生態毒性等の知見が蓄積された物質で、その物質の物理化学的特性や生産・使用状況等からみて水環境中で広範にあるいは継続して存在し、水生生物が継続して暴露しやすい物質については、個別に規制が行われている。

具体的には、水生生物の保全に係る環境基準項目として、全亜鉛、ノニルフェノール、LAS の 3 物質が定められている。また、亜鉛については排水基準値が設定され、他の 2 物質についても排水基準の設定について検討が進められている。

このような現行の個別物質による排水規制との重複を指摘する意見もあるが、基本的には、生物応答による排水管理手法は、個別物質の規制を補完するものとしてとらえ、規制対象となっている個々の物質や現時点では規制対象外の物質を含め様々な化学物質の影響の総和を評価できる手法であると位置付けることが適当と考えられる。

#### < 検討課題 >

- ・ 現行の個別物質規制との関係について整理が必要。

### (3) 試験実施事業場

生物応答試験による排水管理は、様々な化学物質による水生生物への影響を総合的に把握し、水生生物に影響を及ぼすおそれがある化学物質による環境汚染を効率的に防止することが目的である。

生態毒性を有する化学物質を複数製造・使用している工場・事業場や、生態毒性を有する化学物質を含む排水を大量に排出している工場等については、排水中の多様な化学物質又はそれらの総和により、生態毒性を有する排水を排出して公共用水域の水環境を損なうおそれがあることから、生物応答試験による排水管理を実施することが望ましい。

(参考) 前述したとおり、化学物質排出把握管理促進法に基づく PRTR 制度では、生態毒性を考慮して対象物質の選定が行われており、今後、PRTR の届出状況を解析し、生物応答試験による排水管理を実施することが望ましい事業場として、生態毒性を有する化学物質の排出量の多い業種等を特定することが考えられる。

#### < 検討課題 >

- ・ 化学物質による環境汚染を効率的に防止するため、生物応答試験による排水管理を実施することが望ましい事業場等について検討が必要。

### (4) 試験結果の活用方策

#### (事業者)

工場等からの排水に生物応答試験を適用することにより、工場排水が水生生物の生息・生育に影響を及ぼす可能性があるかどうかの判断材料が得られることから、データのフィードバックにより得られた結果に基づいて排水管理の改善に活用することが期待される。

環境省としても、試験結果を踏まえて事業者が排水管理を改善するためのガイドラインを作成し、事業者による取り組みを支援していくことが必要である。



(行政)

地方自治体においては、事業者の本試験の実施を促すとともに、これらの結果を踏まえて、水域ごとの水生生態系の保全のための効果的な対策を検討していくことが期待される。

<検討課題>

- ・生物応答試験を適用して生態毒性が検出された場合に、原因物質やその発生源の特定を事業者に促すためのガイドライン作りが必要。

## (5) 本手法の普及促進

国内の一部の製造事業者では、自社工場の排水を対象とした生物応答試験を自主的に実施し、結果を CSR 報告書などに積極的に公表している事例もみられるが、現時点では限定的である。

今後、事業者に対して生物応答による排水管理手法のメリットや適用範囲・限界について正しい知識を持ってもらうよう、普及促進を図るとともに、自主的に行う事業者には何らかのインセンティブを与えるような取り組みについての検討が必要である。例えば、本手法を実施して実際に水質改善が図られた事業者の表彰や、本手法実施のための技術的・財政的支援などが考えられる。

他方、処理プロセスの見直しによる排水改善が実施された場合等の試験結果の公表も含めた取扱いについて、事業者と行政との間で十分検討しておく必要がある。本試験を自主的に実施したことにより、事業者が不利益を被るのではこの試験法の普及は進まない。自主的な取組を促すためにも、試験結果の取扱いに関するガイドラインを定めておく必要がある。

<検討課題>

- ・当面は事業者による自主的な取組として実施することが適当と考えられることから、生物応答試験による排水管理手法の意義についての理解を増進し、現時点で限定的な事業者の取組事例を増やしていくための方策の検討が必要。
- ・排水改善が実施された場合等の試験結果の公表も含めた取扱いについて、事業者と行政との間で十分検討し、試験結果の取扱いに関するガイドラインを定めておくことが必要。

## (6) 公共用水域を対象とした生物応答試験

米国の WET 試験では、排水が放流先の河川である程度希釈された状態において、慢性影響が検出されないことを排水放流許可の条件としているケースが多いが、事業者が比較的密集して立地し、様々な排水が河川や海域で混じり合っている我が国の実態を踏まえれば、影響が検出された場合の原因究明の実施可能性の観点から、生物応答試験は、2(3)で示したように、排水口において採取した排水を用いて試験を実施

することが適当である。

他方、国や先進的な自治体等の研究機関が公共用水域において生物応答試験を実施することは、周辺住民への水環境への理解を促す材料として有効であり、知見の蓄積が図られることから期待される。ただし、この場合は、多くの排水が混じり合った後の状況を見ることになることから、影響が判明した場合の原因究明は一般的に困難であるため、さらに多くの知見を集積した上で結果の評価や取扱いについて検討すべきである。

#### <検討課題>

- ・生物応答試験の適用対象として工場排水だけでなく、公共用水域についても対象とすべきか、適用する際の留意点も含め検討が必要。

### (7) 水質事故時への活用

水質汚濁防止法では、事業場から事業活動に伴って公共用水域に排出される排水に対し、排水基準の遵守を求める規制を行っているほか、事故時については、応急の措置と知事への報告に関する規定が定められている。このような事故時への対応のために生物応答試験が活用できないかとの指摘がなされることがある。

事故時の対応では、速やかに排水や環境水の分析を実施して、排水の改善状況や環境の回復状況を確認する必要があるが、ニセネコゼミジンコによる繁殖試験や魚類による短期毒性試験は、24時間齢未満の仔虫や受精後4時間未満の受精卵を試験に供する必要がある、任意のタイミングで速やかに試験を開始できる体制を整えておくことは、供試生物の日常管理にかかる負担が非常に大きい。このため、生物応答試験は、通常の操業時における排水を日常的に管理することを目的として使用することが適当である。

他方、水質事故による環境汚染からの回復措置が適切に実施されているかを確認する作業として生物応答試験を活用し、地域住民に分かりやすい形で情報提供する活用方策等も想定されるため、事故時における生物応答試験の活用方法についても検討することが望ましい。

#### <検討課題>

- ・水質事故発生時における汚染回復状況を確認するための手法等として、生物応答試験の適用可能性について検討してはどうか。

## おわりに

水生生物が多くの化学物質に長期間暴露される状況が生じている一方、化学物質による水生生態系への影響については多くのものがいまだ明らかではない。

本検討会では、排水中の多様な化学物質による生態影響が懸念されることから、化学物質の水環境への影響を総合的に把握・評価する生物応答を利用した排水管理手法について、その必要性、技術的な課題を踏まえた適用可能性、さらにはわが国への本手法の導入のあり方について検討を重ねてきた。

その結果、現行の個別物質による排水規制を補完する手法として、生物応答を利用した排水管理手法が有効であることが示されたが、一方で導入する際の様々な具体的課題も指摘された。

今後、環境省においては、本報告、特に運用に当たって検討すべきとして指摘された課題を踏まえ、生物応答を利用した排水管理手法の実効性等について検討するため、幅広く意見を求めるとともに、産業界や地方自治体等の意見も聴きつつ、さらに検討を深めることが期待される。

生物応答を利用した排水管理手法については、その実効性も含めてようやく広く関係者が参加できる検討が可能となったところであり、上記検討の結果を踏まえて、より良い水環境の実現に向けた新たな取り組みとして、その活用が図られるよう求めるとともに、今後の生態系・生物多様性保全施策の一助となることを期待する。

