参考資料2

過年度の環境省調査事業における事業場排水を対象とした生物応答試験の実施目的等と得られた知見等

※本資料（別紙含む）では、「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報告書）を単に「報告書」と呼称する。

実施年度	生物応答試験の実施目的	得られた主な知見、成果、課題等 （詳細は別紙1及び2参照）	試験方法、使用した生物種等	試験実施対象 （詳細は別紙1参照）	試験実施等により取得した情報・項目	（参考）事業全体の内容の概要
平成21年度	精度確保などの観点から国内での実施可能性が高いと考えられる生物応答試験法を検討するため、米国のWET手法（報告書の試験法でも参考とされたもの）で用いられているものと同様の方法により、事業場排水を対象に試行的に生物応答試験を実施。	・生態毒性データが得られることが確認された。 ・試験サンプル採取方法、前処理方法等が妥当なものか、検討が必要とされた。	・魚類（ゼブラフィッシュ）魚胚・仔魚毒性試験 ・ニセネコゼミジンコ繁殖試験 ・藻類（ムレミカヅキモ）生長阻害試験 ・発光バクテリア試験（※米国では制度化されていないが一部運用ベースで用いられている場合がある）	4業種、16事業場、16サンプル （※対象は、公募による選定ではなく、事業請負先が個別に協力要請等を行い、協力が得られた者とした）	・各試験生物種を用いた生物応答試験による排水の生態毒性データ（最大無影響濃度値） ・基本水質項目（水温、pH、溶存酸素量（DO））、全有機体炭素量（TOC）	諸外国におけるWET手法の実施自供等を踏まえた生物応答試験を用いた事業場排水及び公共用水域を対象とした生態影響評価手法の検討等
平成22年度	国内で生物応答試験を実施する際の作業の手順書等を作成に向けて、OECDテストガイドラインなど米国で用いられているもの以外の試験法・手順（いずれも報告書の試験法でも参考とされたもの）も踏まえた方法で生物応答試験を実施。	・試験条件、試験生物の飼育方法等に係る詳細について、引き続き検討が必要とされた。	・魚類（ゼブラフィッシュ）魚胚・仔魚毒性試験 ・ニセネコゼミジンコ繁殖試験 ・藻類（ムレミカヅキモ）生長阻害試験 （※発光バクテリア試験については、WET手法を導入している諸外国でも標準的な試験法として確立されていない場合があり、他3種に係る試験法の確立を優先するため、以降実施せず）	3業種、11事業場、17サンプル （※対象は、公募による選定ではなく、事業請負先が個別に協力要請等を行い、協力が得られた者とした）	同上	前年度事業の結果等を踏まえた国内で生物応答試験を実施する場合の具体的な手順（排水毒性試験だけでなく、そのための準備（排水サンプルの採等）等に係る作業を含む）の検討等
平成23年度	当時の時点で整理された試験手順書等の案（※報告書に示した試験法の原案に相当）について、試験精度の確保等の観点から妥当性を検討するため、計9つの試験分析機関の協力を得て、複数の事業場から排出された排水を混合する等して準備したサンプルを対象に試験結果のばらつき等を調査。	・異なる試験分析機関で手順書等の案に従って試験を行った場合でも、試験結果のばらつきは、諸外国における制度運用のために満たす必要あるとされている水準と同程度と確認された。 ・しかし、サンプルとされた排水の生態毒性（最大無影響濃度値）が大きくなる場合にも試験精度が確保されるのかは未確認となったため、この点が課題とされた。	・魚類（ゼブラフィッシュ又はメダカ）魚胚・仔魚毒性試験 ・ニセネコゼミジンコ繁殖試験 ・藻類（ムレミカヅキモ）生長阻害試験 （※当該年度では国産種で試験生物としての知見の蓄積があるメダカも試験に用いた）	（事業場排水の生態毒性を直接評価する観点からの試験は実施していない）		前年度までの事業の結果等を踏まえた国内で生物応答試験を実施する場合の試験手順書等の案の検討・作成等
平成24年度	生態毒性（最大無影響濃度値）が比較的大きな事業場排水を対象に前年度までに作成された試験手順書等の案に基づき生物応答試験を行った場合においても、試験精度が確保されるかどうかを確認するため、計3つの試験分析機関及び過年度業務に協力した事業場等の協力を得て、これらの事業場の排水を用いて生物応答試験を実施。	・試験結果のばらつきは排水の生態毒性が比較的大きな場合でも、、諸外国における制度運用のために満たす必要あるとされている水準と同程度と確認された。 ・21年度以降の一連の検討結果を踏まえ、平成25年3月、**国内で排水を対象とした生物応答試験を実施する場合の試験法案として、「生物応答を用いた排水試験法（検討案）」（排水（環境水）管理のバイオアッセイ技術分科会）（報告書の参考2）を作成**。	・魚類（ゼブラフィッシュ）魚胚・仔魚毒性試験 ・ニセネコゼミジンコ繁殖試験 ・藻類（ムレミカヅキモ）生長阻害試験	3業種、3事業場、3サンプル（※一部は過年度業務に協力した事業場。公募による選定ではなく、対象は、個別に事業請負先から協力要請等を行い、協力が得られた者とした。）	・各試験生物種を用いた生物応答試験による排水の生態毒性データ（最大無影響濃度値）	前年度までの事業で作成された国内で生物応答試験を実施する場合の試験手順書等の案に係る試験精度確保の観点からの修正の要否等の検討等
平成25年度	下記2つの目的で生物応答試験を実施。 ①前年度とりまとめた試験法案の改良 ②試験法案を用いて事業場排水の改善を行おうとする場合の排水改善に係る手引き（ガイドライン）の作成を視野に、その作成に資するため、試験結果に応じて排水改善に必要な排水毒性の原因調査や改善手法の検討を可能な範囲で実施	・1種以上の試験生物種について最大無影響濃度＜40%となるデータがあった事業場について、排水毒性データと併せて測定を行った水質項目の範囲で、その濃度レベルから、試行的に、毒性に寄与した可能性がある項目を考察。ただし、事業実施期間内では、毒性が検出された場合の原因調査等のための試験等の実施には至らず、体系的な検証や未測定項目の毒性寄与の検証等については、データの制約等により、特段行われていない。 ・なお、**当時の協力事業者において事業終了後に自主的な判断で毒性原因調査や排水改善等を行った又は検討している事例もある**が、各事業者において、原因調査が完了していない、実施した（実施中の）改善の効果を十分確認できていない、取組状況に係る情報を提供するに当たり懸念がある等の理由により、**別紙1及び2で示した事例との対応関係が分かる形で各事業者の取組状況を示すことは困難**となっている。（※他の年度の事業に係る協力事業者においても、確認できた範囲において同様）	・魚類（ゼブラフィッシュ又はメダカ）魚胚・仔魚毒性試験 ・ニセネコゼミジンコ繁殖試験 ・藻類（ムレミカヅキモ）生長阻害試験 【備考】 ・各事業場における毒性試験は1地点から採取した排水サンプルについて1回のみ実施（精度確認のため、追試した場合を除く）。毒性が検出された場合の原因調査等のための試験は実施していない。	9業種、15事業場、15サンプル（※広く関心のある事業者から協力を得ることができるよう、公募により選定）	・各試験生物種を用いた生物応答試験による排水の生態毒性データ（最大無影響濃度値） ・水濁法規制項目：pH ・同法未規制項目：TOC、DO、電気伝導度、塩分、遊離塩素濃度、全塩素濃度、アンモニア態窒素、重金属類（*1） ・事業場の排水量	国内で生物応答試験を実施・運用する場合の技術的課題の整理、課題への対応方策の検討等
平成26年度	同上	・前年度より多くの水質項目についてデータを取得した上で、前年度と同様の方法により排水毒性が検出された場合について毒性に寄与した可能性がある項目について考察。 ・しかし、事業実施期間内では、毒性が検出された場合の原因調査等のための試験等の実施には至らず、これらを実施して十分な知見を蓄積するためには、**試験結果の取扱いといった社会的な課題等も考慮に入れつつ、異なる方法での事業の実施が必要**と考えられた。 ・かかる段階までの知見、課題等を踏まえ、平成27年11月の報告書の内容は整理されたもの。	・魚類（ゼブラフィッシュ）魚胚・仔魚毒性試験 ・ニセネコゼミジンコ繁殖試験 ・藻類（ムレミカヅキモ）生長阻害試験 【備考】 ・平成25年度同様にメダカを使用した試験を事業者に選択することを可能としたが、26年度は選択した者がいなかった。 ・各事業場における毒性試験は1地点から採取した排水サンプルについて1回のみ実施（精度確認のため、追試した場合を除く）。毒性が検出された場合の原因調査等のための試験は実施していない。	3業種、5事業場、8サンプル（※広く関心のある事業者から協力を得ることができるよう、公募により選定）	・各試験生物種を用いた生物応答試験による排水の生態毒性データ（最大無影響濃度値） ・水濁法規制項目：(*2) （人健康項目（6項目））トリクロロエチレン、ジクロロメタン、1,4-ジオキサン、チオベンカルブ、カドミウム、ほう素 （生活環境項目（10項目））全リン、全窒素、pH、BOD、COD、銅、溶解性鉄、溶解性マンガン、クロム、亜鉛 ・同法未規制項目(*3)：TOC、DO、残留塩素、硬度、外観（着色の有無等） ・事業場の排水量	同上

*1 重金属類は協力事業者と事業請負先事業者の守秘義務契約のためデータ非公開
*2 各事業場において水濁法の下で自主測定を行っている項目について、測定を行ったもの。□
*3 生態毒性試験時の基本水質項目として測定。

別紙1

過年度の環境省調査事業における排水毒性試験のデータ等

（注：本資料は第2回検討会参考資料2－2の一部の字句等を修正したものである）

※生態毒性試験の方法としては、報告書に示された方法を基本的に用いている。
※NOEC：最小無影響濃度、TU：Toxic Unit、100/NOECから算出される値。TU値が大きいほど、生態毒性が強い。下表では、TU＞10の場合について色付きとしている。
※各データは、平成21年度から平成26年度に環境省の請負業務において行った試験結果をベースに記載している。なお、平成23年度の事業においては、事業場排水の生態毒性を直接評価する観点からのデータ取得を行っていない。

年度	事業場番号(*1)	サンプル番号	業種	生態毒性試験の結果（NOEC値・TU値）									水質等に係る他の測定項目	生態毒性原因についての推定の状況	備考（試験方法の詳細についての相違点等）
				魚類試験			ミジンコ試験			藻類試験					
				NOEC	TU	ランク(*2)	NOEC	TU	ランク(*2)	NOEC	TU	ランク(*2)			
平成21年度（4業種、16事業場、16サンプル）	1	1	化学工業	6.25	16	5	1.56	64	7	6.25	16	5	基本水質項目（水温、pH、溶存酸素両（DO））、全有機体炭素量（TOC）	特段実施せず	米国のWET手法で用いられている試験法（検討会報告書でも使用を推奨しているものの一つ）が用いられた。
	2	2	〃	80	1.25	1	80	1.25	1	80	1.25	1			
	3	3	〃	80	1.25	1	50	2	2	40	2.5	2			
	4	4	〃	80	1.25	1	80	1.25	1	80	1.25	1			
	5	5	〃	40	2.5	2	12.5	8	4	20	5	3			
	6	6	ゴム製品製造業	100	1	1	100	1	1	40	2.5	2			
	7	7	〃	100	1	1	50	2	2	25	4	3			
	8	8	〃	80	1.25	1	3.125	32	6	40	2.5	2			
	9	9	電気業	40	2.5	2	10	10	4	20	5	3			
	10	10	〃	25	4	3	6.25	16	5	6.25	16	5			
	11	11	〃	20	5	3	5	20	5	20	5	3			
	12	12	〃	25	4	3	12.5	8	4	13	8	4			
	13	13	廃棄物処分業	80	1.25	1	2.5	40	6	20	5	3			
	14	14	〃	100	1	1	100	1	1	100	1	1			
	15	15	〃	100	1	1	100	1	1	100	1	1			
	16	16	〃	100	1	1	100	1	1	100	1	1			
平成22年度（3業種、11事業場、17サンプル）	17	17	化学工業	10	10	4	20	5	3	40	2.5	2	基本水質項目（水温、pH、DO）、TOC	特段実施せず	OECDテストガイドラインなどの米国で用いられているもの以外の試験法を参考として、具体的な試験条件等を設定。
	18	18	〃	5	20	5	10	10	4	40	2.5	2			
	19	19	〃	20	5	3	5	20	5	>80	1.25	1			
	20	20	〃	>80	1.25	1	10	10	4	>80	1.25	1			
	21	21	〃	40	2.5	2	20	5	3	>80	1.25	1			
	21	22	〃	40	2.5	2	40	2.5	2	>80	1.25	1			
	21	23	〃	20	5	3	20	5	3	>80	1.25	1			
	21	24	〃	>80	1.25	1	80	1.25	1	>80	1.25	1			
	21	25	〃	40	2.5	2	80	1.25	1	>80	1.25	1			
	21	26	〃	40	2.5	2	2.5	40	6	20	5	3			
	21	27	〃	20	5	3	10	10	4	>80	1.25	1			
	22	28	ゴム製品製造業	>80	1.25	1	80	1.25	1	>80	1.25	1			
	23	29	電気機械器具製造業	20	5	3	10	10	4	40	2.5	2			
	24	30	〃	>80	1.25	1	10	10	4	10	10	4			
	25	31	〃	>80	1.25	1	5	20	5	2.5	40	6			
	26	32	〃	80	1.25	1	>80	1.25	1	>80	1.25	1			
	27	33	〃	>80	1.25	1	10	10	4	>80	1.25	1			
平成24年度（3業種、3事業場、3サンプル）	28	34	化学工業	5	20	5	5	20	5	5	20	5	―	特段実施せず	―
	29	35	金属製品製造業	>80	1.25	1	<5	>20	6	5	20	5			
	30	36	電気機械器具製造業	>80	1.25	1	5	20	5	>80	1.25	1			
平成25年度（9業種、15事業場、15サンプル）	31	37	食料品製造業	80	1.25	1	10	10	4	10	10	4	【水質項目】(*3) ・水濁法規制項目：pH ・同法未規制項目：TOC、DO、電気伝導度、塩分、遊離塩素濃度、全塩素濃度、アンモニア態窒素、重金属類(*4) 【その他】事業場の排水量	・1種以上の試験生物種についてTU＞2.5（NOEC＜40%）となるデータがあった各事業場毎に（事業場33、34、35、38、44は除外）、測定を行った水質項目の濃度レベルから毒性寄与の有無を考察。（詳細は別紙2参照） ・推定した要因はあくまで原因候補の一つであり、体系的な検証や未測定項目の毒性寄与の検証等については、データの制約等により、特段行われていない。	【前処理】試験法を改訂し、従前のガラス繊維ろ過からプランクトンネットろ過へ変更。 【魚類】試験法改訂検討：試験期間が9日間から「ふ化日＋5日間」へ変更された影響について、（8日間と9日間で）毒性に違いがあるか検証した結果、両者に違いはなかった。
	32	38	パルプ・紙・紙加工品製造業	80	1.25	1	<5	>20	6	40	2.5	2			
	33	39	化学工業	80	1.25	1	80	1.25	1	80	1.25	1			
	34	40	〃	80	1.25	1	80	1.25	1	80	1.25	1			
	35	41	〃	10	10	4	80	1.25	1	40	2.5	2			
	36	42	窯業・土石製品製造業	80	1.25	1	40	2.5	2	<5	>20	6			
	37	43	はん用機械器具製造	80	1.25	1	<5(<1.25	>80	7	80	1.25	1			
	38	44	〃	80	1.25	1	80	1.25	1	40	2.5	2			
	39	45	電子部品・デバイス・電子回路製造業	80	1.25	1	10	10	4	80	1.25	1			

年度	事業場番号(*1)	サンプル番号	業種	生態毒性試験の結果(NOEC値・TU値)									水質等に係る他の測定項目	生態毒性原因についての推定の状況	備考(試験方法の詳細についての相違点等)
				魚類試験			ミジンコ試験			藻類試験					
				NOEC	TU	ランク(*2)	NOEC	TU	ランク(*2)	NOEC	TU	ランク(*2)			
	40	46	輸送用機械器具製造	80	1.25	1	<5(2.5)	40	6	5	20	5			
	41	47	〃	80	1.25	1	<5	>20	6	10	10	4			
	42	48	下水道業	40	2.5	2	40	2.5	2	80	1.25	1			
	43	49	〃	80	1.25	1	<5	>20	6	80	1.25	1			
	44	50	〃	80	1.25	1	80	1.25	1	80	1.25	1			
	45	51	廃棄物処分業	80	1.25	1	10	10	4	40	2.5	2			
平成26年度(3業種、5事業場、8サンプル)	46	52	化学工業	80	1.25	1	<5	>20	6	20	5	3	【水質項目】 ・水濁法規制項目:(*5) (人健康項目(6項目))トリクロロエチレン、ジクロロメタン、1,4-ジオキサン、チオベンカルブ、カドミウム、ほう素 (生活環境項目(10項目))全リン、全窒素、pH、BOD、COD、銅、溶解性鉄、溶解性マンガン、クロム、亜鉛 ・同法未規制項目(*6):TOC、DO、残留塩素、硬度、外観(着色の有無等) 【その他】事業場の排水量	・得られた水質項目データ等から、一部の金属が影響原因物質の一つと推定された事例もあるが、この点について、実際に排水毒性の原因としてどの程度寄与していたのか、未測定項目が要因となった可能性があったのかどうかなどについては、データの制約等により、特段検証されていない。	【魚類】試験法を改良し、試験期間が9日間から「ふ化日+5日間」へ変更したため、一部サンプルは8日間で終了。
	46	53	〃	80	1.25	1	<5	>20	6	20	5	3			
	47	54	〃	10	10	4	<5	>20	6	20	5	3			
	48	55	〃	80	1.25	1	<5	>20	6	40	2.5	2			
	49	56	はん用機械器具製造	80	1.25	1	80	1.25	1	40	2.5	2			
	49	57	〃	80	1.25	1	80	1.25	1	40	2.5	2			
	50	58	電子部品・デバイス・電子回路製造業	40	2.5	2	<5	>20	6	40	2.5	2			
	50	59	〃	80	1.25	1	5	20	5	40	2.5	2			

*1 事業場数は、年度毎にカウントしている。
*2 ランク:検討会報告書におけるTU値の大小に応じた区分(1～7)。
*3 基本水質項目として測定。
*4 重金属類は協力事業者と事業請負先事業者の守秘義務契約のためデータ非公開。
*5 各事業場において水濁法の下で自主測定を行っている項目について、測定を行ったもの。
*6 生態毒性試験時の基本水質項目として測定。

別紙2

平成25年度調査事業における排水の生態毒性が検出された事例における原因推定の状況

（注：本資料は第2回検討会参考資料2－2に加筆・修正したものである）

※下記は、あくまで測定した範囲の排水サンプルに係る水質項目データから請負先が行った原因推定の状況を整理したものであり、推定した要因が実際に排水毒性の原因としてどの程度寄与していたのか、未測定項目により生態毒性が当該排水から検出された可能性があったかどうかなどについては、特段検証を行っていない。
※生物応答試験の結果、1種以上の試験生物種についてTU＞2.5となるデータがあった事業場を列記している。

事業場番号	業種	生態毒性試験の結果（NOEC値・TU値）									採水地点	原因推定の状況（※）	（参考）排水量（t/日）	（参考）水質項目データ						
		魚類試験			ミジンコ試験			藻類試験						pH	DO	電気伝導度	塩分	遊離塩素	全塩素	TOC	アンモニア態窒素
		NOEC	TU	ランク	NOEC	TU	ランク	NOEC	TU	ランク				－	mg/L	mS/m	%	mg/L	mg/L	mgC/L	mgN/L
31	食品製造業	80	1.25	1	10	10	4	10	10	4	最終排水口の前に塩素処理があるが、最終排水口から採水	【ミジンコ】 ・水質項目データの値及び既存の文献の情報から、アンモニアを主な影響原因物質と推定。	21000	7.20	9.4	250	0.14	<0.02	0.04	15.5	51
32	パルプ・紙・紙加工品製造業	80	1.25	1	<5	>20	6	40	2.5	2	最終排水口から採水	【ミジンコ】 ・生物応答試験データの37、40、41番の事業場との類似性から、金属類を影響原因候補物質の一つと推定しているが、この点について、具体的なデータに基づく検証等は行われていない。	13300	7.54	8.65	35	0.01	<0.02	<0.02	5.4	1.6
36	窯業・土石製品製造業	80	1.25	1	40	2.5	2	<5	>20	6	複数ある最終排水口のうち、製造工程に由来する排水を含むもの（1カ所、他は雨水又は生活排水由来）のみから採水	【ミジンコ】【藻類】 ・水質項目データの値から亜鉛を影響要因候補物質の一つとして挙げているが、藻類試験において生態影響が時間の経過とともに減衰していることから、有機化合物による影響があった可能性を併せて推定。 ・これらの推定について、具体的なデータに基づく検証等は行われていない。	600	7.93	8.15	85	0.04	<0.02	0.02	5.7	0.85
37	はん用機械器具製造業	80	1.25	1	<5(<1.25)	>80	7	80	1.25	1	最終排水口に生活排水等が混合されるため、敷地内排水放流槽で採水（水濁法に基づくモニタリングでも同様）	【ミジンコ】 ・当該事業場の排水処理工程（めっき処理を伴う）等から金属類を影響原因候補物質の一つと推定しているが、この点について、具体的なデータに基づく検証等は行われていない。	40	7.23	9.64	99	0.04	<0.02	<0.02	10.4	3.2
39	電子部品・デバイス・電子回路製造業	80	1.25	1	10	10	4	80	1.25	1	最終排水口直前の塩素処理の前段階から採水	・原因となる化学物質等については、具体的な推定を行っていない。	40	6.82	8.35	23	0.01	0.03	0.04	7.1	0.40
40	輸送用機械器具製造業	80	1.25	1	<5 (2.5)	40	6	5	20	5	最終排水口から採水	【ミジンコ】【藻類】 ・別途行った塩化ナトリウムを用いた感受性試験において、塩分（塩化ナトリウム）濃度と供試個体の平均死亡率等を調査した結果を踏まえ、塩分が一つの要因として考えられるとしつつ、他の影響要因物質の存在を併せて推定。 ・塩分以外の影響要因物質については、当該事業場の排水処理工程（めっき処理を伴う）等から金属類を候補として推定しているが、この点について、具体的なデータに基づく検証等は行われていない。	450	7.06	9.99	476	0.25	<0.02	<0.02	4.9	0.26
41	輸送用機械器具製造業	80	1.25	1	<5	>20	6	10	10	4	最終排水口から採水	【ミジンコ】 水質項目データの値から、全塩素を原因の一つとして考えられると推定しつつ、排水の希釈率が高い条件（排水濃度が40%以下）での生物応答試験の結果等から、他の影響要因物質の存在を併せて推定。 【ミジンコ】【藻類】 ・塩分以外の影響要因物質については、当該事業場の排水処理工程等から金属類を候補として推定しているが、この点について、具体的なデータに基づく検証等は行われていない。	500	7.40	9.9	79	0.03	<0.02	0.82	5.4	2.6
42	下水道業	40	2.5	2	40	2.5	2	80	1.25	1	最終排水口直前の塩素処理の前段階から採水（採水地点の処理水には海水が含まれる）	【魚類】 ・試験中の溶存酸素量の低下を、原因として推定。 【ミジンコ】 ・別途行った塩化ナトリウムを用いた感受性試験において、塩分（塩化ナトリウム）濃度が0.20%の場合の供試個体の平均死亡率が40%であったこと及び産仔数がほぼゼロであったことから、塩分を主要因として推定。	14200	6.78	9.23	463	0.24	0.01	0.04	10.9	16
43	下水道業	80	1.25	1	<5	>20	6	80	1.25	1	最終排水口の前に塩素処理があるが、最終排水口から採水	【ミジンコ】 ・生物応答試験データの37、40、41番の事業場との類似性から、金属類を影響原因候補物質の一つと推定しているが、この点について、具体的なデータに基づく検証等は行われていない。	26960	7.59	9.65	82	0.04	0.02	0.07	10.0	4.7
45	廃棄物処分業	80	1.25	1	10	10	4	40	2.5	2	最終排水口の前に塩素処理があり、一時的に塩素注入を止めた状態で最終排水口から採水	【ミジンコ】【藻類】 ・別途行った塩化ナトリウムを用いた感受性試験において、塩分（塩化ナトリウム）濃度と供試個体の平均死亡率等を調査した結果を踏まえ、塩分が一つの要因として考えられるとしている。	40	7.7	9.68	499	0.24	<0.02	<0.02	30.8	7.9