

マイクロコズムを活用した全排水毒性試験 (WET) の可能性の検討

千葉工業大学・生命環境 正員 ○村上和仁

東北工業大学・環境エネ 正員 小浜暁子

1. はじめに

化学物質の生態影響を捉えるための試験手法としては、単一の生物種を用いた試験と生物の複合作用を踏まえた試験に大別されている。単一種による毒性試験は比較的簡便で安価であることから、化学物質の登録や有害物質のスクリーニング等、化学物質の生態影響を判定する現場で用いられているが、その結果は実際の野外の生態系と同一条件が再現されることは稀で、この試験は毒性評価の相対的スクリーニングとしてのみ意味があるという意見もある。もう一方の生物の複合作用を踏まえた試験であるモデル生態系あるいは模擬生態系、いわゆるマイクロコズムやメソコズムを用いた化学物質の有害性評価は、より実際の生態系に近い条件での試験であり、米国の農薬登録、カナダでの優先物質での生態リスク評価、OECDにおける高生産量プログラムでの有害性評価手法などの中で取り上げられている。しかし、現段階では、試験系で用いる生物種やエンドポイントの選定、試験方法などに関する検討が行われている、あるいは今後行われる状況にあること、費用面での課題もあることから、試験方法が確定し、法規制等に利用されるにはさらに時間を要すると考えられる。

本報では、このような背景を踏まえて、模擬生態系、特にマイクロコズムに関して、全排水毒性試験 (Whole Effluent Toxicity ; WET) への適用の可能性について検討した。

2. 複数の生物種で構成された生態系モデルを用いた生態系影響評価の重要性

複数の生物種による生態系モデルを用いた生態系影響評価手法の重要性については次のようにまとめられる。既存及び新規の化学物質の製造や使用により、環境中には多種多様な化学物質が検出されており、自然生態系に対する化学物質の影響を正確に評価する手法の開発およびその確立が強く望まれているものの、現在までのところ明確な評価法は存在していない。生産者・捕食者・分解者で構成される生態系では、生物間相互作用が成り立っており、また生物種により化学物質に対する感受性は異なる。これまでに用いられている影響評価試験は単一生物試験であり、試験種に対する影響しか評価できない。生態系における生物間相互作用を含めた影響を評価するためには、複数以上の生物種が存在し、生産者・捕食者・分解者の存在する多種生物系試験で評価することがより適切である。多種生物系試験は、自然界に存在する様々な生物学的及び非生物学的側面を含有しているため、系の構成種に及ぼす影響や化学物質の消長を同時に評価することが可能である。これらの正確な影響評価は、実際の環境中で行えることが最善であるが、実際には不可能である。そこで、実際の環境により近い、模擬生態系を用いて、対象とする化学物質に対する生態系への影響評価を行うことが重要である。

3. 全排水毒性試験 (WET) の概要と課題

WETとはWhole Effluent Toxicityの略であり、米国で開発された生物応答を利用した水環境管理手法で、水質浄化法の下で早くからこのシステムが運用されている。わが国でも平成21(2009)年度より環境省がWETシステムの導入に向けて制度・運用および技術両面から検討を行っている。米国では、連邦水質汚染防止法改正(1972年)を受け、全国汚染物質排水削減制度(NPDES: National Pollutant Discharge Elimination System)が立ち上がり、1974年よりWETプログラムが開始されたので、既に40年近い歴史がある。排水毎に栄養段階・生態的地位の異なる3種生物(魚類・甲殻類・藻類)に対する試験を実施し、環境中に排出される濃度で影響がないことを示すことが必要である。通常の毒性試験は化学物質ひとつひとつに対応したものであり、実際の環境中で様々な化学物質が混在した状況については十分に対応しきれていない点があるが、このWETシステムは排水中の化学物質混在状態の毒性を評価することが可能と考えられている。米国以外では、カナダ、欧州10か国(英、仏、独など)、ニュージーランドがWETシステムを導入しており、韓国でも10年近い検討を踏まえて2011年から導入に踏み切った。わが国の環境省の技術検討分科会では試料のサンプリング方法や試験方法の改良について議論が進められているところである。

キーワード: マイクロコズム 全排水毒性試験 (WET) 環境リスク評価 生態系保全

〒275-8588 千葉県習志野市津田沼 2-17-1 千葉工業大学生命環境科学科 TEL 047-478-0455 FAX 047-478-0455

4. マイクロコズム試験法の概要

マイクロコズムとは自然生態系の一部を切り出した模擬生態系のことであり、様々な条件を人工的にコントロールし、生態系への影響評価を行うことができる。なかでも Gnotobiotic 型マイクロコズムは構成種が完全既知であり、生産者として 2 種の緑藻類 *Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp. と 1 種の糸状藻類 *Tolypothrix* sp.、捕食者として 1 種の原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*、2 種の後生動物輪虫類 *Lecane* sp.、*Philodina erythropthalma* および 1 種の後生動物貧毛類 *Aeolosoma hemprichi*、分解者として 4 種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、Coryneform bacteria の計 11 種で構成されている。培養は、TP₅₀ 培地を 300ml 容三角フラスコに 200ml 注入し、継代培養しているマイクロコズムを種として 10ml 接種し、25°C、2,500lux (L/D=12/12hr.)、静置条件で行う。培養開始後、16 日目の安定期に達したマイクロコズムに処理水や原水の評価対象となる試水を添加して、マイクロコズム構成微生物の個体数（構造パラメータ）および DO による生産量/呼吸量（機能パラメータ）を継続的に計測する。試水の添加については、例えば、25%、50%、100%のように、TP₅₀ 培地と試水の比率を段階的に設定して培養を行う。また、特定の化学物質については、EC₅₀ や LD₅₀ の濃度を参考にして、5 段階程度設定して添加する。

5. マイクロコズムによる微量汚染物質含有排水としての埋立地浸出水の影響評価

鄭ら (1995、1996) は微量汚染物質含有排水として、埋め立て地浸出水に着目し、ミジンコ (*Daphnia magna*) に対する影響とマイクロコズムシステムに及ぼす影響について評価を行っている。その結果、*D.magna* の遊泳阻害におよぼす影響については、無影響濃度である NOEC は 2.5% であり、半数影響濃度である EC₅₀ は 6.0% であることを明らかとし、マイクロコズム試験では、構成生物の個体数に影響が生じない NOEC は浸出水を 1~5% 添加した系であることを明らかとしている。また、生物処理プロセスの中間にオゾン酸化を組み込んだ系で埋立地浸出水を処理した際の処理水でも同様の試験を行った場合、*D.magna* の遊泳阻害におよぼす影響は 100% 処理水においても影響はみられなかったのに対して、マイクロコズム試験での無影響濃度は 5~10% であり、マイクロコズム試験の方が鋭敏な影響が観察された。このことより、OECD 試験等で位置づけられている単一種試験としての代表種である *D.magna* の遊泳阻害におよぼす影響よりもマイクロコズム試験の方が、鋭敏に影響が観察されることが明らかとなった。したがって、実際の生態系により近い混合培養系としてのマイクロコズム試験の有用性が明らかとされた。また、これらの埋立地浸出水の 100 日間の酸素消費すなわち Ultimate BOD と同様の原理に準じた酸素要求量から浸出水の影響評価を行ったところ、100 日間の酸素消費に影響がみられなかった濃度は、マイクロコズム試験で影響がみられなかった濃度と一致した。このことから、マイクロコズム試験の有効性が裏付けられている。

6. 課題および展望

現在、環境省環境研究総合推進費（平成 21~23 年度）「マイクロコズムを用いた生態系リスク影響評価システム手法の開発」、日本化学工業協会新 LRI（平成 24~26 年度）「マイクロコズムを活用した化学物質の生態系リスク影響評価システム手法の開発」および日本学術振興会科学研究費助成事業（平成 24~26 年度）「移入種生物がもたらす生態系影響評価のためのモデルエコシステムの汎用化に関する研究」の助成のもとに、各種化学物質等を対象として、試験法プロトコールの整備ならびにデータベースを構築している段階にある。これらの試験研究により、生態系評価指標の妥当性、マイクロコズム試験の適用範囲、メソコズム試験との相関関係より、自然生態系予測無影響濃度算出法の決定結果を得られるようにし、さらに、試験法、プロトコールを確立し、施設間リングテストによる各研究施設間での再現性を検証し、将来的にはマイクロコズム試験法の OECD 国際標準化を図ることを目指している。

参考文献

- 稲森悠平、村上和仁：環境指標としてのバイオアッセイ、化学工業、Vol.50 (9)、pp.657-667 (1999)
- 稲森悠平、他：マイクロコズムによる生態系影響評価、廃棄物学会誌、Vol.9 (5)、pp.368-378 (1998)
- 鄭 明淑、他：*Daphnia magna* の遊泳および増殖阻害からみた埋立地浸出水の生態系に及ぼす影響、日本水処理生物学会誌、Vol.32 (4)、pp.247-255 (1996)
- 鄭 明淑、他：マイクロコズムを用いた埋立地浸出水の水圏生態系に及ぼす影響評価、生物利用新技術研究シンポジウム論文集、No.3、pp.133-136 (1995)
- 日本下水道協会：下水試験方法、第 1 章 生物学試験、第 10 節 生態系影響評価試験、pp.562-573 (2012)