

(87) 徳島県内の下水処理施設放流水を対象にした WET試験

山本 裕史^{1*}・安部 香緒里²・池幡 佳織³・安田 侑右²・田村 生弥³・
中村 友紀⁴・鎌迫 典久⁵

¹徳島大学大学院ソシオ・アーツ・アンド・サイエンス研究部 (〒770-8502徳島市南常三島町1-1)

²徳島大学総合科学部 (〒770-8502徳島市南常三島町1-1)

³徳島大学大学院総合科学教育部 (〒770-8502徳島市南常三島町1-1)

⁴徳島県保健環境センター (〒770-0941徳島市万代町5-71)

⁵国立環境研究所環境リスク研究センター (〒305-8506茨城県つくば市小野川16-2)

* E-mail: hiroshi@ias.tokushima-u.ac.jp

水生生物に対する影響を直接調べることで、未知物質や複合影響も含めて下水などの排水を評価できる手法として知られるWET（全排水毒性）試験について、昨年度から環境省でも導入に向けた検討が始まっている。本研究では、主に米国環境保護庁のガイドラインを参考にして、水生生物3種（メダカ、ミジンコ、緑藻類）のWET試験系を徳島県内の4箇所の下水処理施設の放流水に2回ずつ適用した。その結果、処理施設によって影響が検出された生物種が異なるなど、米国で実用化されたWET試験系の国内下水処理施設放流水への適用可能性が再確認できた。水生生物3種の中では藻類は生活排水由来の栄養塩等によって毒性影響がマスキングされる傾向も認められたが、毒性影響が認められた排水についてはトリクロサンや残留塩素の寄与が示唆された。ミジンコについては大部分の処理施設で繁殖阻害が確認された。

Key Words : whole effluent toxicity, sewage treatment plant, chronic toxicity, wastewater management, domestic sewage

1. はじめに

天然ホルモン¹⁾や環境ホルモン物質²⁾、医薬品・パーソナルケア製品(PPCPs)³⁾をはじめとした様々な生理活性物質が下水放流水中から検出され、その水生生態系への低濃度・長時間曝露による有害影響が懸念されている。著者らのグループ⁴⁾は、これらの物質のうち、PPCPsについて個別の物質の生態リスク評価を実施してきたが、数千種にもおよぶ物質全てを実施することは困難であり、ましてや複数物質の複合影響、未知の影響物質については評価できないという課題が浮かび上がってきた⁵⁾。

この課題に対する一つの回答が、1995年に米国に初めて導入されたWhole Effluent Toxicity (WET: 全排水毒性)の考え方である⁷⁾。WET試験は、下水をはじめとした事業所排水について、魚類、甲殻類、藻類などの水生生物に対する影響を直接調べることで、生物影響をベースにして従来の化学物質ベースの方法を補完する形で排水管理

を行うという点で画期的である。同様の手法がカナダ⁸⁾、ドイツ⁹⁾などでおこなわれているほか、来年には韓国¹⁰⁾で導入予定である。国内でも、環境省が昨年度から米国のWET試験を念頭に導入に向けた検討を開始¹¹⁾しており、米国から専門家を招いたセミナー¹²⁾を実施するなど、試験法の開発・選定、導入に向けた実態の把握が強く求められている。

事業所排水に対して生物影響を調べる先行的な取り組みを実施したのが、富山県立大学の楠井らの研究¹³⁾である。彼らは、富山県の小矢部川に流れ込む一般事業所排水と下水処理放流水を、メダカ、ミジンコ、藻類、発光細菌、ヒドラなどを用いて急性毒性で評価した。その結果、調査した事業所のうち8割以上から何らかの毒性影響が検出されたと報告¹³⁾している。また、鎌迫¹⁴⁾は、製紙・パルプ排水のバイオアッセイに着目し、様々な工場で毒性削減評価なども実施してきたほか、近年になって、種々の事業所排水の評価手法として、短期慢性影響

試験を実施している^{15,16)}。

米国のWET試験¹²⁾では、藻類・ミジンコ・魚類の3種の短期慢性毒性試験を基本にしていて、急性毒性試験では検知できない実際の事業所排水放流先で想定される低濃度・長時間での影響を考慮している。一方、ドイツ⁹⁾では、藻類・ミジンコ・魚類に加えて発光細菌やサルモネラ菌を用いた変異原性試験(*umu* テスト)が採用されている¹⁷⁾が、基本は致死などをベースにした急性毒性試験である。ほかに、韓国については、ミジンコ1種の急性毒性試験のみでの導入が予定されている。そういった背景から、国内では事業所のコスト負担の問題から急性試験による簡易化をはかるべきという主張¹⁸⁾もあり、米国のWET試験における3種の水生生物を用いた短期慢性毒性試験をベースにした方法の必要性を再確認する必要がある。

特に、今回対象とするような下水処理施設の放流水にはPPCPsをはじめとした微量汚染化学物質が多数含まれ、それらの水生生物に対する複合的影響や比較的低濃度・長時間曝露が想定される。ところが、下水処理施設の放流水に対してこのような影響を考慮して、急性毒性試験だけでなく短期慢性影響を含むWET試験を実施して評価をおこなった例は米国¹⁹⁾や豪州²⁰⁾、韓国²¹⁾などでは見られるものの、国内ではほとんどなく基礎的情報の収集が望まれる。そこで本研究では、WET試験の国内導入に向けた先行的実態調査として、徳島県内の下水処理施設や生活排水処理施設のうち4箇所を選定し、主に米国環境保護庁のWETガイドラインに準拠して、メダカ、ミジンコ、藻類の3種の短期慢性毒性試験を実施して、その適用可能性を確認することを目的とした。また、その毒性影響の原因と考えられる塩素や陰イオン界面活性剤、抗菌剤トリクロサンについても濃度測定を同時に実施し、その寄与についても考察をおこなった。

2. 実験方法

(1) 試料の採取と保存

徳島県内の生活排水を主とした処理施設のうち、活性汚泥処理や生物膜処理を採用する集水域人口が5000人を超える4か所(A, B, C, D)の施設を選定し、2009年10月～2010年1月にかけて2回ずつ放流水を採水した。採水は平日の昼間に実施し、1度に必要量を採水し、試験終了時まで4±2℃で冷蔵保存した。USEPAのドラフトガイドライン²²⁾に基づき、採取後36時間以内に毒性試験を開始した。

(2) 各種水質項目の測定

一般的な水質項目のうち、pHはHORIBA製のD-55を、DO、電気伝導度(EC)はHACH社製のHQ40d18ポータブル水質測定装置を用いて放流水の採取時に測定した。いずれの処理施設も塩素剤による消毒処理を実施しているため、残留塩素による急性の悪影響が考えられる。そこで、卓上残留塩素計(Eutech社製Colorimeter C201)と付属のDPD液キットを用いて分光光度法で遊離および結合塩素を測定した。また、残存する有機汚濁物質量を把握するために、ガラス繊維ろ紙(GF/B: Whatman社製、公称孔径1.0 μm)でろ過後に、TOC計(Shimadzu TOC-5000)を用いてDOCを測定した。さらに、栄養塩類については、全窒素・全リンについて、それぞれアルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解紫外線吸収法とペルオキシ二硫酸カリウム分解モリブデンブルー法²³⁾によって測定した。

合わせて、一部の試料については、生活関連汚染物質としてPRTR排出量が中性洗剤のポリオキシエチレンアルキルエーテル(AE)に次いで多く、比較的生態毒性の強い陰イオン界面活性剤の直鎖アルキルベンゼンスルホン酸²⁴⁾の主成分であるC₁₂-LASを測定した。C₁₂-LAS濃度は平成12年度環境省要調査項目調査マニュアル²⁵⁾に準拠して、C18 Sep-pakカートリッジ(Waters社製)で固相抽出し、蛍光検出器付きHPLC(Shimadzu LD-10ADVP)で測定した。生態毒性が非常に強く生態影響が懸念される抗菌剤のトリクロサンについても測定を実施した。測定方法は、Canosaら²⁶⁾の方法に準じて、Oasis HLBカートリッジ(Waters社製)で固相抽出後、MTBSTFAで誘導体化してGC-MS(JEOL JMS-Q1000)を用いて定量した。

(3) 短期慢性毒性試験によるWET試験

WET試験は、最新のUSEPAガイドラインに準拠して、淡水生物の魚類、甲殻類、藻類の3種の短期慢性試験を実施した。魚類については、USEPAガイドラインではファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)を供試生物として用いているが、日本国内では同じくOECD指定魚種であるヒメダカ(*Oryzias latipes*)を用いた生態毒性試験が実施されることが多く、情報が最も豊富である。そこで、本研究では魚類はヒメダカを供試生物とした。

a) 魚類延長胚毒性試験

USEPAのガイドラインNo.1000²⁷⁾をやや改良し、欧州で一般化している魚類延長胚毒性(FET)試験に準拠する形でエンドポイント等をやや簡易化して実施した。産卵後24時間以内のヒメダカの卵を用い、6濃度区およびコントロール区について、12匹ずつ(12穴マイクロプレート)の各Wellに1匹用意した。曝露期間はふ化後4日間までとした。曝露終了後、ふ化率、死亡率を算出した。個別の濃度区では標準偏差が算出できないため、コントロール

表-1 対象とした下水処理施設放流水の採取時の一般水質項目測定結果

		残留塩素(mg/L)		pH	EC (mS/cm)	DO (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)	DOC (mg/L)	Cr-LAS (μg/L)	Triclosm (ng/L)
		遊離	結合								
処理施設 A	1回目	0.2	0.4	6.9	4.7	1.5	8.2	0.9	12	13	1100
	2回目	0.3	0.4	6.9		3.7	11	1.4	15		
処理施設 B	1回目	<0.1	<0.1	7.1		7.4	5.6	1.5	11		
	2回目	<0.1	<0.1	7.0	3.2	8.6	5.2	0.6	15	<4.0	91
処理施設 C	1回目	<0.1	0.1	6.8		6.0	9.1	1.6	11		
	2回目	0.2	0.2	7.1	0.32	8.0	5.2	1.6	11	<4.0	43
処理施設 D	1回目	0.2	1.3	7.2		6.0	2.8	1.9	10		
	2回目	<0.1	1.5	7.3	0.36	6.1	1.8	1.8	10	<4.0	100

区の95%信頼区間を逸脱した最小濃度を最小影響濃度(LOEC), その1つ下の濃度区を最大無影響濃度(NOEC)とした。

b) ミジンコ繁殖阻害試験

USEPAテストガイドラインNo.1002²⁹⁾に準拠し, 生後24時間以内のニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)の幼体を用いて実施した。6濃度区およびコントロール区を用意して, 各濃度区10匹ずつ(1容器1匹)曝露した。曝露期間は7(±1)日間とした。曝露終了後, 死亡した親ミジンコ数と3腹目までの累積産仔数を調べた。統計解析は大分大学の吉岡先生によって開発され, 日本環境毒性学会により無料配布されているEcoTox-Statistics Ver.2.6²⁹⁾によって実施し, それぞれProbit変換により7日間の半数致死濃度(LC₅₀)とDunnnett多重比較検定により産仔数のNOECを算出した。

c) 藻類生長阻害試験

US-EPAテストガイドラインNo.1003³⁰⁾に準拠し, 国立環境研究所(NIES-35株)から分譲されたムレミカヅキモ(*Pseudokirchneriella subcapitata*)を用いて実施した。300 mL

三角フラスコ内に100 mLの培地と排水の調整液を入れ, 7濃度区およびコントロール区について4連で試験を行った。曝露期間は96時間として24時間毎に細胞数を測定し, 24時間毎の平均生長速度から生長阻害率を求め, 96時間のNOECを算出した。なお, 統計解析にはミジンコと同様にEcoTox-StatisticsによりDunnnett多重比較検定を用いた。濃度-応答関係が逆転して異常値が算出される場合があったので, その場合は検定によって有意水準5%で阻害が認められた最小の濃度区をLOEC, その一つ下の濃度区をNOECとした。

3. 結果

(1) 水質測定結果

各処理施設の放流水に対する水質測定結果を表-1にまとめる。処理施設Aについては, 他の3箇所の処理施設と比べて2回ともDOが4 mg/Lを下回っているなど低く, T-Nも比較的高かった。処理施設BおよびCのDOは全て6

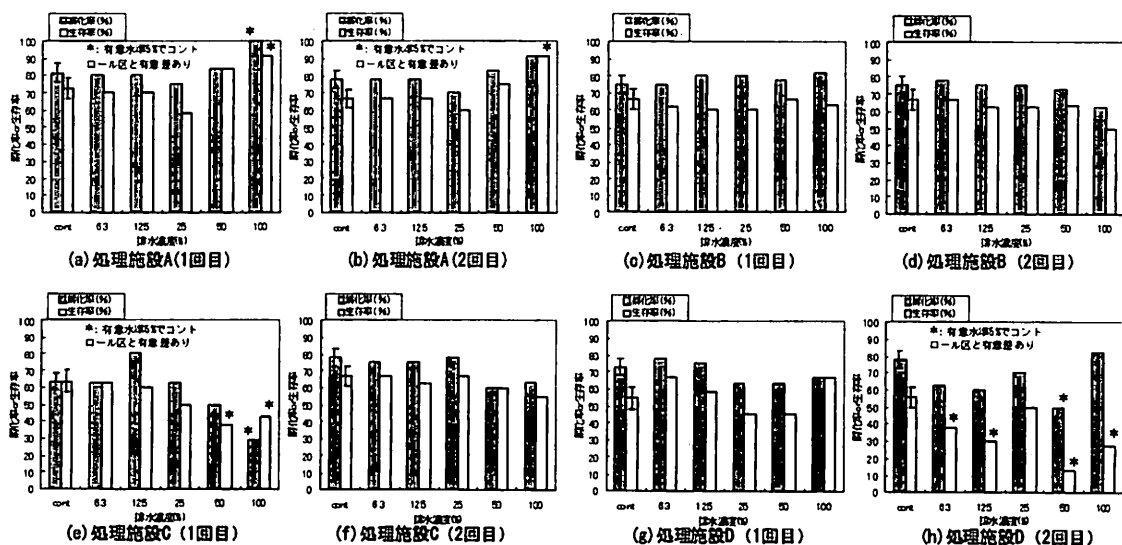


図-1 下水処理施設放流水のメダガ胚延長毒性試験結果

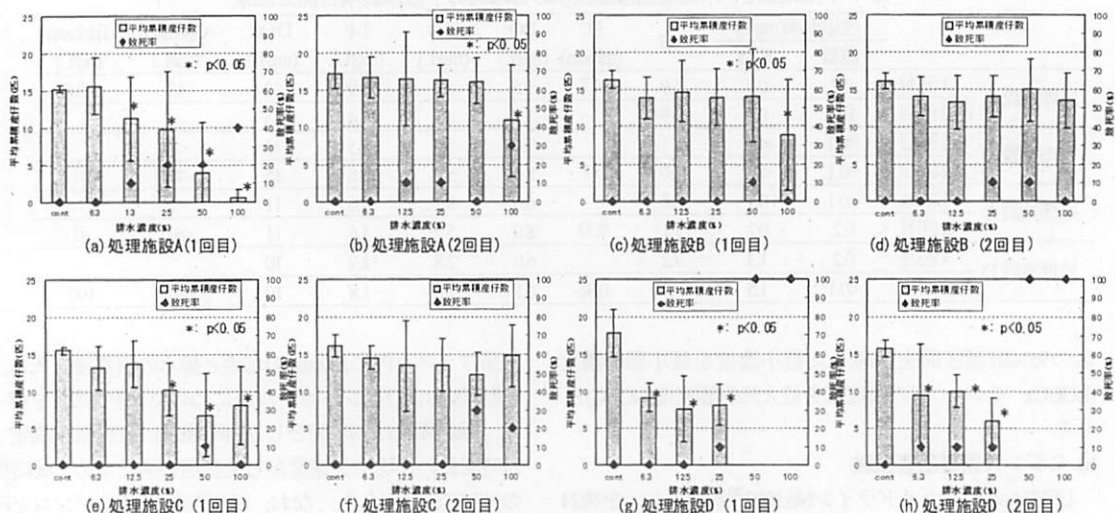


図-2 下水処理施設放流水のミジンコ繁殖阻害試験結果

mg/Lを上回っていて高く、遊離、結合塩素とともに濃度は低かった。処理施設Dでは、T-Nの濃度がともに3 mg/Lを下回っていて良好であるのに対して結合塩素がいずれも1.3 mg/L以上と比較的高く、水生生物への悪影響が懸念される。なお、DOCやpH、T-Pについては、どの処理施設もほぼ同様の値であった。

なお、生活関連物質のうち毒性への寄与が想定されるC₁₂-LASとトリクロサン2物質については、ともに処理施設Aで比較的高濃度で検出された。残りの3箇所では比較的低濃度であった。

(2) 毒性試験結果

a) 魚類延長胚毒性試験結果

ヒメダカを用いた延長胚毒性試験の結果を図-1に示す。

合計での8試料の試験を実施した結果、処理施設Cの1回目と処理施設Dの2回目の2試料でのみ、毒性影響が検出された。それ以外については、コントロールから有意な減少が認められた試料はなかった。孵化後に死亡する個体もあり、孵化率よりも生存率（もしくは死亡率）の方が鋭敏な結果が得られた。

b) ミジンコ繁殖阻害試験結果

ニセネコゼミジンコを用いた繁殖阻害試験の結果を図-2に示す。処理施設Dについては、2回とも最も低い濃度区である6.3%でも産仔数に影響が認められた。一方で、処理施設BおよびCについては1回目に比較的高濃度で影響が認められたが、2回目では影響は検出されなかった。処理施設Aについても、1回目には13%で影響が認められ

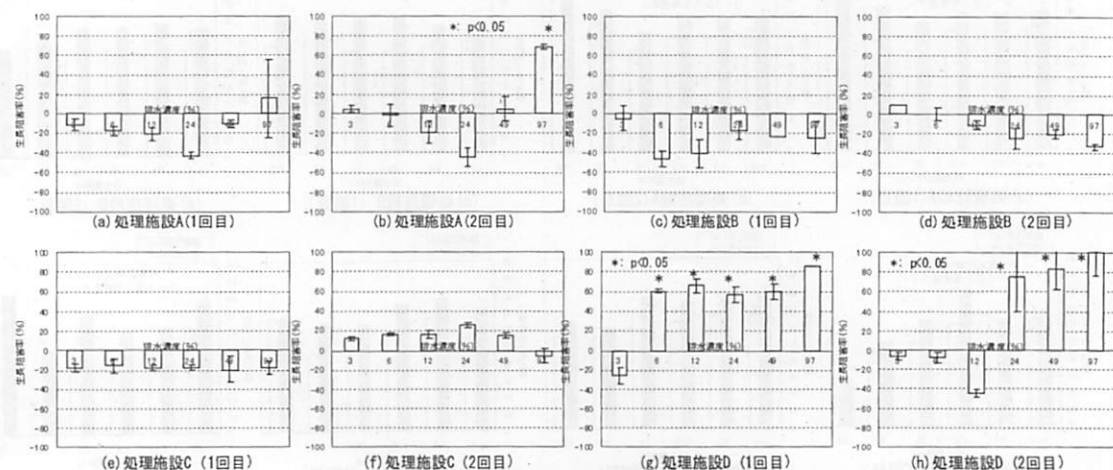


図-3 下水処理施設放流水の藻類生長阻害試験結果

表-2 下水処理施設に対するWET試験結果のまとめ

		藻類生長阻害試験	ミジンコ繁殖阻害試験		魚類延長胚毒性試験	
		NOEC	NOEC	LC ₅₀	NOEC(死亡率)	NOEC(孵化率)
処理施設 A	1 回目	97%<	<6.3%	100%<	100%<	100%<
	2 回目	49%	50%	100%<	100%<	100%<
処理施設 B	1 回目	97%<	50%	100%<	100%<	100%<
	2 回目	97%<	100%<	100%<	100%<	100%<
処理施設 C	1 回目	97%<	13%	100%<	25%	50%
	2 回目	97%<	100%<	100%<	100%<	100%<
処理施設 D	1 回目	3%	<6.3%	100%<	100%<	100%<
	2 回目	12%	<6.3%	100%<	<6.3%	25%

たが、2回目は100%のみでしか影響が検出されなかった。致死によるLC₅₀が算出できたのは、処理施設Dのみであった。

c) 藻類生長阻害試験結果

藻類生長阻害試験の結果を図-3に示す。処理施設Dでは、ミジンコと同様に2回とも低濃度側でも生長阻害が認められた。他に処理施設Aの1回目で影響が認められた。それ以外の処理施設の放流水については、排水濃度が高い方が阻害率の負の値が大きくなる（つまり、増殖が促進される）現象が顕著に認められた。

4. 考察

以上の3種の水生生物に対する4か所、2回ずつの結果を解析し、NOECなどを求めた結果を表-2に示す。本研究で対象とした下水処理施設については、概してミジンコの繁殖阻害試験の感度が最もよく、逆にミジンコの致死のLC₅₀ではいずれの排水からも毒性影響が検出できなかった。藻類については、当研究グループの予備的な検討³¹⁾でも明らかのように、生活排水由来の栄養塩の影響で生長が促進されることによって、毒性影響がマスキング³²⁾された可能性がある。魚類については、従来のWET試験のファットヘッドミノを用いた試験に比べて煩雑さが大きく改善されたが、2検体で毒性影響が検出された。

その一方で、図-1～3でも明らかのように、排水によって3種の水生生物種のうちの生物に有害影響があるかは、傾向が異なっていた。このように単一の種ではなく、生産者（藻類）、一次消費者（ミジンコ）、高次消費者（魚類）の3種の水生生物試験バッテリーにより幅広いスペクトルでの毒性影響の検出可能性が国内の下水処理施設を対象した場合も改めて確認できたといえる。このことは、韓国で導入予定のミジンコの急性試験のみを用いた排水規制の利用¹⁰⁾では、毒性影響を見逃す危険性も示唆している。

処理施設間で比較すると処理施設Bが最も安定しており、1回目にミジンコに対して100%排水で影響が認められただけで、それ以外の試験では有意な影響が検出されなかった。逆に処理施設Dは結合塩素濃度が1 mg/Lを超えており、塩素系の消毒副生成物などの生成も想定され、藻類に対して顕著な影響が認められた。ただ、塩素については残留性が十分でないため、本研究のように1回の採水で行う短期慢性毒性試験系で十分に評価できるかどうかについては疑問が残る。さらに本研究では、C₁₂-LASとトリクロサンの2物質を選んで化学測定を実施したが、トリハロメタンなどの消毒副生成物の個別の物質の毒性影響については個別分析が実施されておらず、今後検討を要する。

処理施設AではDO濃度が低く、T-NやC₁₂-LAS、トリクロサン濃度も比較的高かった。C₁₂-LASについては、ミジンコの繁殖阻害に影響を及ぼす濃度（NOEC: 0.10 mg/L³¹⁾）、藻類に対して影響を及ぼす濃度（NOEC: 1 mg/L²⁹⁾）などよりも1オーダー以上も測定濃度は低く、毒性影響の主要な原因として考えにくい。一方、トリクロサンについてはミジンコの繁殖（EC₅₀: 170 µg/L³³⁾）についてはその原因とは考えにくい、藻類の生長（EC₅₀: 3.4 µg/L³³⁾）とは3倍程度しか濃度差がなく、何らかの毒性影響に対する寄与が懸念される。しかしながら、先述したようにT-NやTPなどの濃度が高いために生長が促進され、毒性影響がマスキングされている³³⁾とも考えられる。

処理施設間によるこのような違いについては、処理施設の受け入れ地域の人口、工場排水の受け入れの有無などのほかに処理形式や処理水量などがそれぞれ大きく異なることに起因するものと考えられる。今後、より多くの処理施設・一般事業所についての情報収集によって、毒性原因の同定や削減に有効な方策を考える必要がある。

最後に、次の式(1)で表わされるように、NOECの逆数である毒性単位(Toxicity Unit: TU)を求めることで、放流先で影響が認められなくなるまでに必要な希釈倍率を求

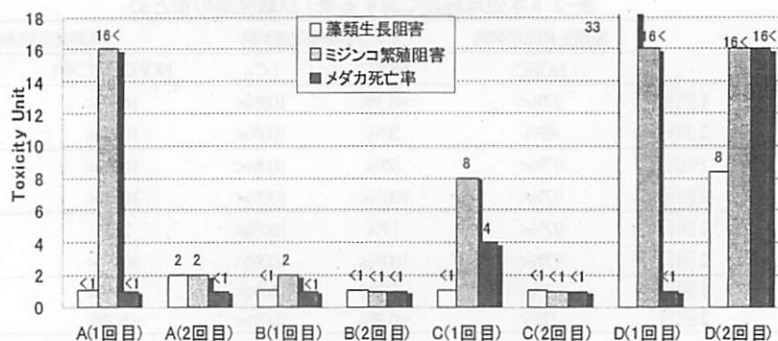


図-4 下水処理施設の放流水の TU 計算結果

めた。

$$TU = 100/NOEC$$

(1)

TUを各処理施設について3種の水生生物について求められた表-2のNOECをもとに算出した。その結果を図-4に示す。

図-4から明らかなように、TUはNOECの逆数なので、強い毒性影響が認められた処理施設Dが最も高く、16を上回っていた。つまり、放流先において、毒性影響を完全になくすためには、16倍以上の希釈が必要になることを意味する。一般事業所の結果で報告している³⁰⁾ように、河川に放流されている場合は、2倍程度から600倍を超えるまで、放流先河川の流量、排水の流量によって希釈倍率が大きく異なる可能性がある。本研究で対象とした下水処理施設については、河川に放流されているケースもあれば、海域や感潮域河川に放流されているケースもあった。USEPAでは毒性影響が検出された場合、放流先河川において希釈されていても、USEPAでは追加的処理や原因物質の聞き取り、分析などのプロセスを実施する毒性削減評価(Toxicity Reduction Evaluation: TRE)や原因物質を同定する毒性同定評価(Toxicity Identification Evaluation: TIE)を実施することを義務付けている³⁹⁾。本研究や一般事業所を対象にした先行の実態調査によって、WET試験の国内事業所への適用可能性を検討するための基礎的情報が獲得できた。実際の国内導入に向けては、ニセコゼミジンは日本国内では米国に比べて硬度が低いこともあり、繁殖阻害試験の際に硬度添加も含めた馴化や最適化を実施する必要がある³⁹⁾。また、藻類については、化審法やOECDガイドラインが72時間の試験であるのに対して、WETなど米国のガイドラインでは96時間となっている。このあたりも含めて、より詳細な基礎的検討も求められる。さらに、孵化日数が長いメダカを用いた試験系については、曝露期間やエンドポイントの設定なども基礎的情報を収集していく必要がある。

5. 結論

本研究では、徳島県内の4箇所の下水処理施設の放流水に対して、主にUSEPAのガイドラインを参考にして、水生生物3種(メダカ、ミジンコ、緑藻類)を用いた短期慢性影響試験をベースとしたWET試験系を2回ずつ適用する先行の実態調査をおこなった。また、放流水中の毒性影響の原因と考えられる塩素、C₁₂-LAS、トリクロサンなどの濃度測定も実施し、実際に影響が認められる濃度との比較検討も実施した。その結果、今後のWET手法の国内導入に向けて、下水処理施設放流水の毒性影響に関して毒性影響の検出頻度が比較的高いことやミジンコの致死よりも繁殖阻害は感度が大きく異なることなど基礎的情報が収集できた。一方で、塩素やトリクロサン濃度と藻類の影響についてはその寄与が指摘できたが、他にも毒性影響の要因と考えられる物質は多く、今後はさらなる検討を要する。

さらに、放流水によって影響が認められた種や毒性影響の強度が大きく異なっており、単一種もしくは急性毒性試験だけでなく、水生生物3種のバッテリーを用いる短期慢性影響を考慮したWET試験の魚類試験についてやや簡易化を実施する改良をおこなっても、鋭敏な感度でかつ多様なスペクトルで有害性評価が可能となることがわかった。また、増大するPPCPs等の生活排水由来ならびに消毒副生成物等の微量化学物質のリスク管理、さらには放流先生態系の個体群の維持の観点からも、慢性影響を考慮することの重要性は高いと考えられる。今後、USEPAの手法の日本版へのさらなる改良や、放流先において毒性影響が認められるレベルの場合の毒性削減、毒性原因物質の同定をどのようにしていくかなど具体的な作業が早急に求められる。

謝辞：本研究は(財)河川環境管理財団の河川整備基金研究事業によって実施しました。この場を借りて感謝申

上げます。

参考文献

- 1) Destrow, C.; Roudledge, E. J.; Brighty, G. C.; Sumpter, J. P.; Waldock, M.: Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. I. Chemical Fractionation and In Vitro Biological Screening, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.32, pp.1549-1558, 1998.
- 2) Ahel, M.; Giger, W.; Koch, M.: Behavior of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment- II. Occurrence and Transportation in Sewage Treatment, *Water Research*, Vol.28, pp.1143-1152, 1994.
- 3) Temes, T.A.: Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers, *Water Research*, Vol.32, pp.3245-3260, 1998.
- 4) Yamamoto, H., Nakamura, Y., Nakamura, Y., Kitani, C., Imai, T., Sekizawa, J., Takao, Y., Yamashita, N., Himi, N., Oda, S., Tatarazako, N.: Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan, *Environ. Sci.*, Vol. 14, No. 4, pp.177-193, 2007.
- 5) 山本裕史, 中村友紀, 木谷智世, 中村雄大, 関澤純, 鍵迫典久: 非ステロイド系医薬品 8 種の慢性影響を考慮した生態リスク評価, *環境衛生工学研究*, Vol. 22, No.1, pp.38-47, 2008.
- 6) 山本裕史, 関澤純, 鍵迫典久, 平井慈恵, 石橋弘志, 有苗幸司: 医薬品類とパーソナルケア製品(PPCPs)の水棲生物への影響, *用水と廃水*, Vol.50, No.7, pp.72-80, 2008.
- 7) 鍵迫典久: 環境水のバイオアッセイ〜Whole Effluent Toxicityの考え方, *水環境学会誌*, Vol.29, pp.426-432, 2006.
- 8) Environment Canada, Environmental Effects Monitoring, (<http://www.ec.gc.ca/ceem/>) (Last accessed on April 21, 2010)
- 9) Power, E. A., Bounphrey, R. S.: International Trends in Bioassay Use for Effluent Management, *Ecotoxicology*, Vol.13, pp.377-398, 2004.
- 10) Kim, E., Jun, Y.-R., Jo, H.-J., Shim, S.-B., Jung, J.: Toxicity identification in metal plating effluent: Implications in establishing effluent discharge limits using bioassays in Korea, *Mar. Poll. Bull.*, Vol.57, pp.637-644, 2008.
- 11) 環境省: 「WET 手法を活用した排水規制手法検討調査」, 平成 21 年度環境省予算(案)主要新規事項等の概要, (<http://www.env.go.jp/guide/budget/h21/h21-gaiyo/163.pdf>) (Last accessed on April 26, 2010).
- 12) 環境省・国立環境研究所: 米国における WET システムに関するセミナープログラム・講演資料, 2010.
- 13) 楠井隆史, Blaise, C., 佐藤美和子, 清水宏裕, 田嶋美樹, 筒井孝次: 富山県内の産業排水の生態毒性評価, *環境工学研究論文集*, Vol.33, pp.215-226, 1996.
- 14) 鍵迫典久: 紙パルプ工場排水の生物影響と評価法, *紙パルプ技術協会誌*, Vol.55, pp.1110-1109, 2001.
- 15) 内田弘美, 野中祥之, 水上春樹, 鍵迫典久: WET 法による新しい工場排水管理への試み, 第 17 回環境化学討論会講演要旨集, pp.244-245, 2008.
- 16) 野中祥之, 内田弘美, 水上春樹, 鍵迫典久: WET 法による新しい工場排水管理への試みー 2, 第 18 回環境化学討論会講演要旨集, pp.254-255, 2009.
- 17) 楠井隆史: ヨーロッパにおける排水管理へのバイオアッセイ応用, 連載〜水環境とバイオアッセイ 24, *用水と廃水*, Vol.43, No.9, pp.58-59, 2001.
- 18) 西田高志, 門田克行, 中村亜希子: 排水の生物影響評価に用いる魚類毒性試験法の比較・検証, 第 19 回環境化学討論会講演要旨集, pp.196-197, 2010.
- 19) Fisher, D. J., Knott, M. H., Turley, B. S., Yonkos, L. T., Ziegler, G. P.: Acute and chronic toxicity of industrial and municipal effluents in Maryland, US, *Wat. Environ. Res.*, Vol.70, pp.101-107, 1998.
- 20) Bailey, H. C., Krassoi, R., Elphick, J. R., Mulhall, A. M., Hunt, P., Tedmanson, L., Lovell, A.: Whole effluent toxicity of sewage treatment plants in the Hawkesbury-Nepean watershed, New South Wales, Australia, to *Ceriodaphnia dubia* and *Selenastrum capricornutum*, *Environ. Toxicol. Chem.*, Vol.19, pp.72-81, 2000.
- 21) Ra, J.-S., Kim, H.-K., Chang, N.-I., Kim, S.-D.: Whole effluent toxicity (WET) tests on wastewater treatment plants with *Daphnia magna* and *Selenastrum capricornutum*, *Environ. Monitor. Assess.*, Vol.129, pp.107-113, 2008.
- 22) USEPA: Draft National Whole Effluent Toxicity (WET) Implementation Guidance, EPA 832-B-04-003, 2004. (http://www.epa.gov/ttcds/pubs/wet_draft_guidance.pdf) (Last accessed on April 21, 2010)
- 23) 日本規格協会: 詳解工場排水試験法改訂 3 版, 1998.
- 24) 新エネルギー・産業技術開発機構: 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸およびその塩(アルキル基の炭素数が 10 から 14 までのもの及びその混合物に限る), 化学物質の初期リスク評価書 ver. 1.0, No. 5, 2005.
- 25) 環境省環境管理局水環境部企画課: 要調査項目等調査マニュアル, 2000.
- 26) Canosa, P., Rodriguez, I., Rubi, E., Cela, R.: Determination of Parabens and Triclosan in Indoor Dust Using Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography with Tandem Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, Vol.79, pp.1675-1681, 2007.
- 27) USEPA: No. 1000.0, Fathead minnow, *Pimephales promelas* Embryonal Survival and Growth, Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms Fourth Edition, EPA-821-R-02-013, Section 11, 2002. (<http://www.epa.gov/waterscience/methods/wet/disk3/ctf11.pdf>) (Last accessed on April 27, 2010)
- 28) USEPA: No. 1002.0, Daphnid, *Ceriodaphnia dubia*, Survival and Reproduction, Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms Fourth Edition, EPA-821-R-02-013, Section 13, 2002. (<http://www.epa.gov/waterscience/methods/wet/disk3/ctf13.pdf>) (Last accessed on April 27, 2010)
- 29) 日本環境毒性学会: EcoTox-Statistics (<http://www.intio.or.jp/jset/ecotox.htm>) (Last accessed on August 11, 2010)

- 30) USEPA: No. 1003.0 Green alga, *Selenastrum capricornutum*, growth, Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms Fourth Edition, EPA-821-R-02-013, Section 14, 2002. (<http://www.epa.gov/waterscience/methods/wet/disk3/cf14.pdf>) (Last accessed on April 27, 2010)
- 31) 山本裕史, 池幡佳織, 安部香緒里, 中村友紀, 鎌迫典久: WETの実用事例〜徳島県的生活排水を主とした事業所排水に対する予備的検討, 第12回日本水環境学会シンポジウム講演集, pp.47-48, 2009.
- 32) Carbonell, G., Fernandez, C., Tanzona, J. V.: A cost/effective screening method for assessing the toxicity of nutrient rich effluents to algae, *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, Vol.85, pp.72-78, 2010.
- 33) Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K., Arizono, K., Effects of triclosan on various aquatic organisms, *Environ. Sci.*, Vol.11, No.2, pp.133-140, 2003.
- 34) 池幡佳織, 田村生弥, 平田佳子, 安部香緒里, 中村友紀, 鎌迫典久, 山本裕史: 徳島県内事業所排水と放流先 (ミキシングゾーン) を対象とした総排水毒性(WET)試験の先行的検討, 第44回日本水環境学会年会講演集, p.201, 2010.
- 35) USEPA: Generalized Methodology for Conducting Industrial Toxicity Reduction Evaluations (IREs), EPA/600/2-88/070, 1989. (http://www.epa.gov/tpdes/pubs/wet_industrial_tre_manual.pdf) (Last accessed on April 26, 2010).
- 36) 鎌迫典久: *Ceriodaphnia dubia* を用いたミジンコ繁殖阻害試験, 生態影響試験ハンドブック, 日本環境毒性学会編, pp.83-87, 2003.

(2010.5.21 受付)

Whole Effluent Toxicity Test for the Effluent of the Selected Sewage Treatment Plants in Tokushima, Japan

Hiroshi YAMAMOTO¹, Kaori ABE², Kaori IKEBATA³, Yusuke YASUDA²,
Ikumi TAMURA³, Yuki NAKAMURA⁴, and Norihisa TATARAZAKO⁵

¹Inst. of Socio, Arts, and Sci., The University of Tokushima

²Faculty of Integrated Arts and Sci., The University of Tokushima

³Grad. School of Integrated Arts and Sci., The University of Tokushima

⁴Center for Public Health and Environ. Sci., Tokushima Pref.

⁵Research Center for Environ. Risk, National Institute for Environmental Studies

Japan Ministry of Environment started to investigate the effectiveness of US Environmental Protection Agency (EPA)'s Whole Effluent Toxicity (WET) test to directly evaluate the toxic effects of wastewater on aquatic organisms. The WET technique has an advantage over the conventional chemical analysis in terms of detecting the toxicity of unknown and/or combination of chemical compounds in various wastewater samples. In present study, the chronic WET tests were conducted in reference to the USEPA's guideline using three aquatic organisms (i.e., medaka, daphnia, and green algae) to evaluate the toxicity of the effluent of four sewage treatment plants in Tokushima, Japan. We found that the adversely-affected species were dependent on the treatment plant, and the advantage of the chronic WET test using the battery of three aquatic organisms was confirmed to evaluate the wastewater. Toxic effects on algae were somewhat masked by nutrients in domestic wastewater, while the potential effects of residual chlorine and triclosan were suggested. The reproduction of daphnia was inhibited in almost all the effluent samples. In some effluent samples, the lowest concentration (i.e., 6% or 3%) samples were adversely effective and the toxicity reduction evaluation might be necessary.