

(30) 生活排水に汚染された河川水に対する 短期慢性毒性試験

安田 侑右¹・米多 佐織¹・田村 生弥¹・駕田 啓一郎¹・中田 典秀²
花本 征也²・亀田 豊³・木村 久美子⁴・鎌迫 典久⁵・山本 裕史^{6*}

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

²京都大学大学院工学研究科付属流域圏総合環境質研究センター (〒520-0811 滋賀県大津市由美浜1-2)

³埼玉県環境科学国際センター (〒347-0115 埼玉県加須市上穂足914)

⁴さいたま市健康科学研究センター (〒338-0013 埼玉県さいたま市中央区鈴谷7-5-12)

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)

⁶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 徳島県徳島市南常三島町1-1)

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

国内では、水環境中に排出される規制対象物質は重金属等のヒト健康の保護に関わる物質や一部の生活環境項目(排水では27物質+15項目、環境基準では26物質+10項目)に限られており、生活排水中に含まれる多数の微量化学物質の実際の環境中の生物への複合的毒性影響については把握できていないのが現状である。そこで本研究では、米国の排水・環境水の管理に用いられるWET(全排水毒性)の手法を使い、徳島、京都、埼玉を流れる生活排水によって汚染された河川・水路で、2010年9月から2011年2月までの期間で各地点2回ずつ調査を行い、水生生物3種に対する亜慢性影響を調べた。その結果、藻類では生活排水由来の栄養塩の影響でほとんどの地点で生長阻害は確認できなかったが、ニセネコゼミジンは特に埼玉の鴨川や綾瀬川などで50%を超える高い致死率が認められ、ゼブラフィッシュは徳島の4河川で孵化及び致死に対する影響が認められた。

Key Words : ambient water, whole effluent toxicity, domestic sewage, short-term chronic toxicity

1. はじめに

2011年5月現在、Chemical Abstract Serviceに登録されている化学物質数は6,000万種¹⁾を超え、実際に使用されている物質数も数万種に上る。これらの化学物質は様々な経路で水環境中に排出されているが、排水規制の対象となっているのは27種(+15項目)、PRTRの第一種指定化学物質も462種に過ぎない。一般に河川水中には個々の化学物質の濃度は ng/L ないし $\mu\text{g/L}$ レベルと低いものの、多数の化学物質が存在しており、それらの複合汚染による水域生態系や飲料水への混入によるヒト健康への影響が懸念される。しかしながら、従来の特定の個別物質を対象とした規制では無数にある化学物質の調査やリスク評価には限界があり、未知の化学物質及び多数の個別物質による複合影響には対応できず、健全な水環境を保つに

は不十分であると考えられる。現行の制度では、河川の環境基準に含まれる生態系保全の項目は全亜鉛やBODなどの一般水質項目に限られ、その影響を把握することの重要性が指摘されはじめて²⁾。欧米ではすでに水環境中の有害な物質を評価するために個別物質による評価に加えて、水生生物を用いたバイオアッセイが排水・環境水の評価・管理に適用されている³⁾。中でも米国の排水規制に用いられているWET(Whole Effluent Toxicity)の手法は藻類、甲殻類、魚類などの水生生物に対して前処理を行わない排水や環境水に直接曝露し、その結果を利用して排水を評価・管理する方法である。つまり生物を直接曝露することで、排水試料全ての毒性影響を測定することができ、従来の化学分析では検出することが困難な毒性物質の影響も検出することができる。

この手法は米国環境保護局(USEPA)によって1995年に

導入されて⁴⁾以来、現在まで行われている。国内でも平成21年度から環境省が本格的な導入に向け議論がされている。

河川には工場排水や農業排水など様々な排水が流入している一方で、我々の日常生活から排出される生活排水や下水処理水は主要な汚染源であり、流域によっては下水処理水や未処理の生活排水が流量の大部分を占める河川も多く、その環境リスクの評価・管理は重要な課題の一つである。生活排水に含まれる微量化学物質の評価・管理は下水処理場や浄化槽などにおける個別物質の動態が詳細に検討され、評価・管理が図られてきた。しかしながら、河川水中の変異原の原因として下水処理水が推定⁵⁾されているなど、下水処理を受けている場合でも有害な微量化学物質による毒性影響が発現する可能性がある。国内では河川水の変異原性⁶⁾や細胞毒性⁷⁾を評価した研究報告例はいくつか存在するほか、農業類の流出による有害性を評価した報告も多く見られる。ところが、WETの手法をベースにした排水に対する亜慢性試験の実施報告は少なく^{8,9)}、河川水について適用した例はない。またバイオアッセイを用いた既往の研究では多くの場合、前処理で濃縮を行い^{10,11)}急性影響について調べた報告である。しかし濃縮を行うと実試料の毒性影響を変化させ評価している可能性があり、実際の環境に近い状況下を反映しているとはいえないと考えられる。

そこで本研究では、WETの手法をベースに河川水への適用の検討として、生活排水由来の汚濁物質が流入または下水処理水が流入する河川・排水路を調査対象とした。対象地点は流域人口や下水普及率などを考慮し、徳島市近郊4地点、さいたま市近郊5地点、京都市近郊4地点、計13地点を対象とし、主に米国環境保護庁のWETテストメソッドに準拠して、栄養段階が異なる水生生物

3種(藻類、甲殻類、魚類)を用いて短期慢性毒性試験を実施して、毒性影響を調べることを目的とした。

2. 実験方法

(1) 調査対象地点概要及び調査方法

本研究では、下水処理放流水及び生活排水による影響が大きいと予想される地点を中心に地点の選定を行った。下水道未整備の徳島市近郊の住宅地からの生活排水が流れ込む4箇所(図-1)、飯尾川、神宮入江川、田宮川、冷田川を選定した。また埼玉ではさいたま市近郊に位置する5箇所(図-2)、鴨川、芝川、古隅田川、中川、綾瀬川を選定した。京都では京都市近郊に位置する4箇所(図-3)、桂川(久世橋、宮前橋)、西高瀬川、巨椋池排水路を加えた全13地点を調査地点とした。芝川、中川、綾瀬川、桂川は国の環境基準点を選定した。

徳島市近郊の飯尾川は養鶏場や農耕地が広がる地域で、上流は下水道が整備されていない石井町からの未処理の生活排水が多く流入している。神宮入江川は近くにある住宅団地の終末処理場の影響を受けており、田宮川と冷田川は共に下水道未整備の住宅街を流れ、未処理もしくは浄化槽で処理した生活排水が直接流入している。さいたま市近郊の鴨川と古隅田川は下水道未整備の地域を流れ、芝川は生活排水と下水処理水が流入し、中川と綾瀬川は生活排水と工場排水が混入している河川である。京都市近郊の西高瀬川は100%が下水処理水からなり、その後桂川と合流する。合流した下流に桂川(宮前橋)があり、その上流に桂川(久世橋)が位置している。巨椋池排水路は宇治市の下水道未整備地域を流れており、病院排水も流入している。



図-1 徳島市近郊河川

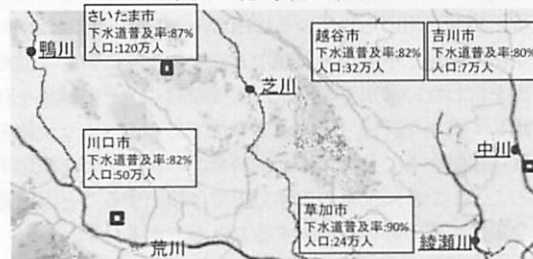


図-2 さいたま市近郊河川



図-3 京都市近郊河川

- ※ □ は下水処理場、● はサンプリング地点。
※ アンダーラインはサンプリング地点の名称を示す

(2) 河川試料採取

2010年9月～11月(秋季)および2011年1月～2月(冬季)の2つの期間内で採水した。採水は降雨の影響がない日を選び、1度に必要な量をステンレス製容器を用いてガラス瓶に採取し、4±2℃で冷蔵保存した。採水後36時間以内に各種生物試験を開始した。河川水試料は毎回使用する直前にその日に使う分だけ水浴中で温度を25±1℃にした。また対照区及び各試験濃度区の試験水の水温、pH、溶存酸素(DO)、電気伝導度(EC)は毎回換水の前後の試料について測定を行った。

(3) 各種水質測定

水質項目のうち、pHはHORIBA製のD-55を、水温、溶存酸素(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河川水の採取時に測定した。栄養塩については、T-N・T-P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、硬度はキレート滴定法によって測定した。なお、今回は有機物の一般的な指標であるBODやCODなどは測定していなかったが今後、調査を継続して行っていく上で、必ず測定を行う必要がある。

(4) WET試験

WET試験は、栄養段階の異なる淡水生物の藻類、甲殻類、魚類の短期慢性毒性試験を実施した。藻類、甲殻類はUSEPAのWETテストメソッド、魚類はOECDテストガイドラインを参考に、試験を行った。USEPAではファッドヘッドミノー(*Pimephales promelas*)がWET試験に用いられているが、維持・管理のスペース・卵の孵化に

要する期間や試料の劣化などを考慮すると、欧州で使われているゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)が試験に適しており、本研究では供試生物とした。

a) 藻類生長阻害試験

USEPAのWETテストメソッドNo.1003¹²⁾に準拠し、供試生物として、国立環境研究所(NIES-35株)から分譲され、現在まで研究室内で継代飼育されている単細胞緑藻類のムレキカヅキモ(*Pseudokirchneriella subcapitata*)を用いた。前培養として、WET培地を用いて初期細胞濃度 1.0×10^4 cells/ml、23±1℃、4000lux、24時間明周期、100 rpmで3～6日経過した対数増殖期にあるものを本試験に用いた。試験には100 mL三角フラスコを用いて、培地と河川水の調整液を入れ、4濃度区(公比2)及び対照区について4連で試験を行った。試験条件は培養方法と同様に設定し、曝露期間は96時間として24時間毎に吸光度を測定し、測定した吸光度から細胞数を算出した。算出した細胞数から平均生長速度を求め、対照区と比較して生長阻害率を求めた。

b) ミジンコ繁殖阻害試験

USEPAのWETテストメソッドNo.1002¹³⁾に準拠し、供試生物として、ニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)を用いた。飼育水及び試験水(対照区及び希釈水)は脱塩素した水道水に硬度添加したものを用いた。水道水の硬度は年間を通じて40mg/L前後であるため、硬度調整液を用いて65±5mg/Lに調整した。また親虫の選別として、6～8日間で15個体以上仔虫を産んだ親虫を本試験のために用いる仔虫の親とし、試験には24時間以内に産まれた仔虫を用いた。試験はガラス製容器に4濃度区(公比2)及び対照区について、各濃度10匹(1匹/1容器)、25±1℃、600lux 16明8暗周期で曝露した。餌は1容器当たり単細胞緑藻類

表-1 実験に用いた河川水(秋季)の水質項目測定結果

河川名	pH	DO mg/L	EC mS/m	硬度 mg/L
飯尾川	6.7	7.7	36	66
神宮入江川	7.2	8.3	45	80
田宮川	7.0	5.3	30	74
冷田川	8.4	8.4	21	65
鴨川	7.3	欠測	40	100
芝川	7.1	欠測	55	110
中川	7.5	欠測	39	100
綾瀬川	7.1	欠測	79	160
桂川久世橋	7.4	8.6	13	欠測
桂川宮前橋	7.1	7.2	22	欠測
西高瀬川	6.7	8.1	37	欠測
巨椋池排水路	6.9	6.8	33	欠測

表-2 実験に用いた河川水(冬季)の水質項目測定結果

河川名	pH	DO mg/L	EC mS/m	T-N mg/L	T-P mg/L	硬度 mg/L
飯尾川	7.1	10.0	38	5.9	0.4	67
神宮入江川	7.2	10.1	39	5.9	1.2	53
田宮川	7.8	12.7	28	9.2	1.1	54
冷田川	6.5	10.2	20	3.0	0.2	75
鴨川	7.1	5.0	39	4.5	0.1	110
芝川	7.0	5.3	162	5.8	0.3	280
古隅田川	7.0	4.6	40	4.9	0.1	140
綾瀬川	7.0	4.2	46	4.2	0.1	150
桂川久世橋	7.1	欠測	13	0.8	0.03	48
桂川宮前橋	6.9	欠測	20	2.6	0.2	44
西高瀬川	6.2	欠測	40	9.4	1.7	42
巨椋池排水路	6.8	欠測	63	11	1.7	68

クロレラを $20\mu\text{L}$ (約 $2.0 \times 10^5 \text{ cells/ml}$)、YCT(1.9g/L(ただし乾燥重量)を $20\mu\text{L}$ /日与えた。試験水は48時間毎に全換水を行い、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生存した親ミジンコの3腹目までの平均累計産仔数を調べた。データ解析にはDunnett多重比較検定を用いて有意差検定を行い、日本環境毒性学会から無料公開されているEcoTox-Statistics Ver.2.6を用いLogit変換により25%影響濃度(EC_{25})と25%致死濃度(LC_{25})を求めた。

c) 魚類胚・仔魚毒性試験

今回は2011年1月-2月にかけてそれぞれの地点で1回ずつ試料を採取し試験を行った。OECDテストガイドライン212¹⁴⁾を参考に、供試生物として、ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)を用いた。試験は産卵直後のゼブラフィッシュの卵を用い、4濃度区(公比2)及び対照区について、ガラス製容器に10個(1容器)×3連、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、600lux、16明8暗周期で曝露した。餌は試験期間中は与えなかった。試験水は48時間毎に半換水を行い、曝露期間は9日間とした。曝露4日後までに孵化した割合を孵化率として算出し、9日後に生存している仔魚の割合から孵化した仔魚の致死率を算出した。データ解析には多重比較検定ができないため対照区の95%信頼区間から逸脱したものを有意差ありと見なし、ミジンコと同様にLogit変換により25%影響濃度(EC_{25})と25%致死濃度(LC_{25})を求めた。

3. 結果および考察

(1) 水質測定結果

水質測定の結果を表-1、表-2に示す。冬季における芝

川の電気伝導度及び硬度は 162mS/m と 284mg/L で他の地点と比べ2倍以上高かった。冬季の埼玉の河川は全体的にDOが低く約 5mg/L 付近であった。西高瀬川のT-N、T-Pは共に 9.4mg/L 、 1.7mg/L と高く下水処理場で十分に除去できていないことが示唆された。

(2) 短期慢性毒性試験結果

a) 藻類生長阻害試験結果

藻類生長阻害試験結果を図-4に示す。生長の阻害は全13地点で秋季、冬季共に認められなかった。9試料で生長阻害率の値が -50% を超え、生長が促進された。特に2月に徳島で採取した試料ではその影響が顕著にみられた。2月の神宮入江川と田宮川ではT-N、T-Pの濃度はそれぞれ神宮入江川では 5.9mg/L と 1.2mg/L 、田宮川では 9.2mg/L 、 1.1mg/L と高く生活排水由来のT-N、T-Pを栄養源として藻類の生長が促進されたと推測される。このため河川水中に有害物質が存在する場合でも、栄養塩の存在で有害物質の影響がマスキングされ生長阻害が確認できない可能性がある^{15, 16, 17)}。このマスキングの影響についてはそのメカニズムについて詳細な検討を要する。

なお、今回、9-11月に採取した試料では濾過は行わなかったが、排水の放流先水域では試験生物に影響を与える土着の微生物が含まれている恐れがある場合、WETテストメソッド¹⁸⁾では $0.45\mu\text{m}$ のフィルターを通す濾過が義務づけられている。しかし濾過を行うと河川水中の懸濁物質に付着した物質の影響により試験結果が変化する可能性が考えられるため、濾過を行う際は慎重な判断が求められる。

b) ミジンコ繁殖阻害試験結果

ミジンコ繁殖阻害試験の結果を図-5に示す。10月に採

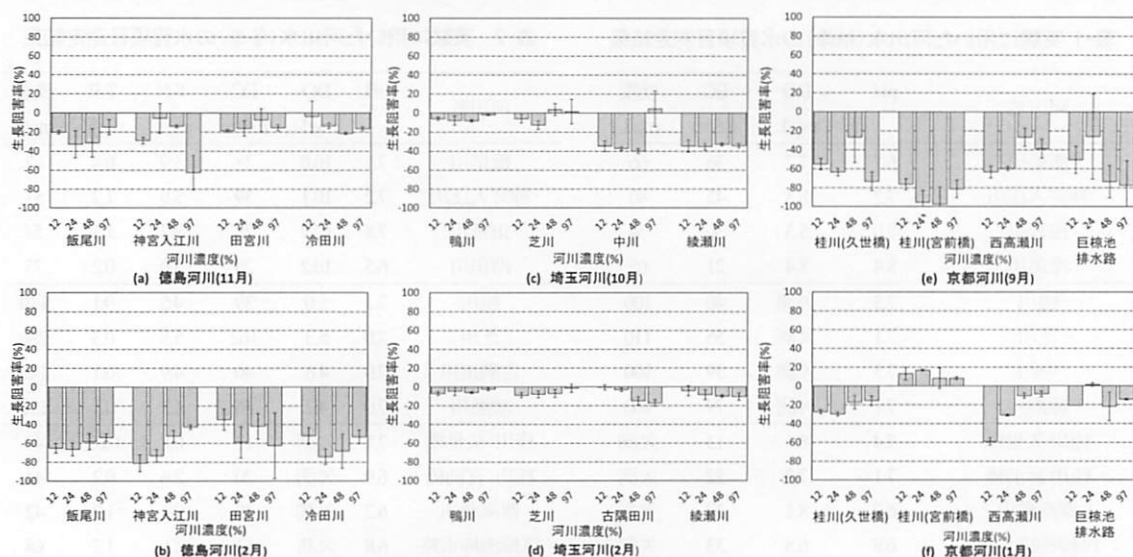


図-4 河川水の藻類生長阻害試験結果

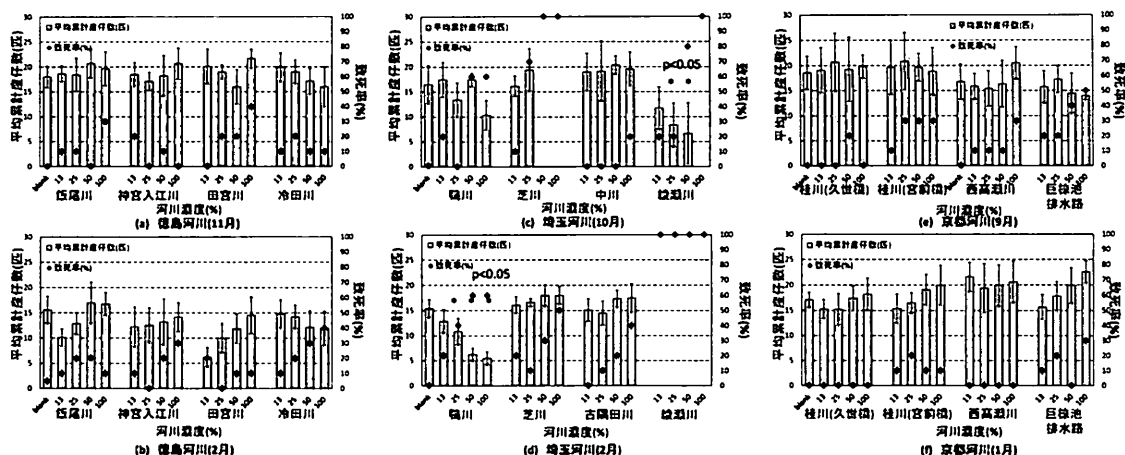


図5 河川水のミジンコ繁殖阻害試験結果

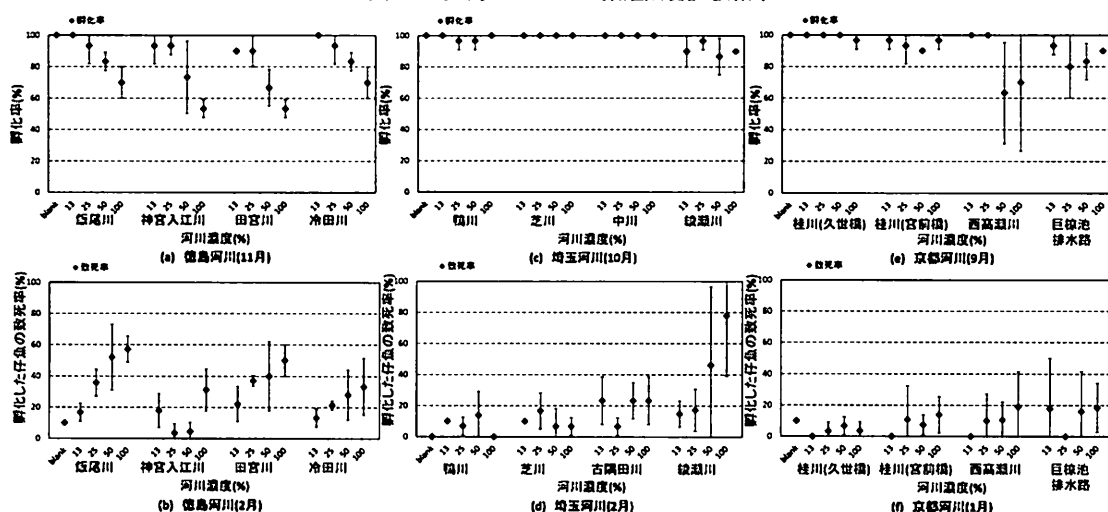


図6 河川水の魚類胚・仔魚毒性試験結果

取した埼玉の綾瀬川25%, 50%, 2月に採取した埼玉の鴨川25%, 50%, 100%の試料で対照区と比べ5%有意水準で繁殖の影響が確認された。しかし、徳島と京都では全地点で繁殖の影響は確認されなかった。致死の影響は徳島、京都、埼玉すべてで認められた。特に埼玉の鴨川や綾瀬川など都市部に近い地域を流れる試料で確認されやすい傾向であり、 LC_{50} は鴨川と綾瀬川はそれぞれ10月では33%と24%、2月では14%と<13%で希釈しても致死率は改善されなかった。また河川水試料では対照区と比べると、試料濃度が高くなるにつれ平均累計産仔数が増加する傾向も多くみられた。これは下水処理放流水¹⁹⁾や事業所排水¹⁰⁾にWETを用いた場合、試料濃度が高くなるにつれ平均累計産仔数が減少するといった典型的な用量-応答反応とは明らかに異なる結果が確認できた。

徳島では致死の影響が確認された理由としては、飯尾川では上流の養鶏場の排水または未処理の生活排水など

の影響が考えられ、田宮川、冷田川では共に未処理の生活排水による影響の可能性が推測される。しかし、その原因物質については不明であることから今後より詳細な調査を要する。

2月に採取した徳島の飯尾川と田宮川の試料の低濃度側の方で平均累計産仔数が減少している。この理由としては、親虫の調子が悪化したため、同じ親虫から産出した仔虫をすべての濃度区に均一に配分できなかったことが考えられる。そのため、より正確な試験を実施するためには親個体の調子の維持・管理には注意を払う必要がある。

埼玉を流れる河川では、中川を除く全地点の試料で LC_{50} を超える致死の影響が認められた。致死の影響が認められる理由として、鴨川が流れる地域は流域人口が多く、多量の未処理の生活排水が流入している影響が考えられ、綾瀬川では工場地域も流れることから生活排水に

表-3 河川水に対するミジンコ及びゼブラフィッシュ試験結果のまとめ

	ミジンコ繁殖阻害試験(秋季)		ミジンコ繁殖阻害試験(冬季)		魚類胚・仔魚毒性試験(冬季)	
	EC ₂₅	LC ₂₅	EC ₂₅	LC ₂₅	EC ₂₅ (孵化率)	LC ₂₅ (致死率)
飯尾川	100%<	71%	100%<	100%<	79%	30%
神宮入江川	100%<	100%<	100%<	73%	47%	85%
田宮川	100%<	59%	100%<	100%<	41%	13%
冷田川	100%<	100%<	100%<	36%	79%	39%
鴨川	76%	33%	18%	14%	100%<	100%<
芝川	100%<	14%	100%<	42%	100%<	100%<
中川	100%<	100%<	-	-	-	-
古隅田川	-	-	100%<	53%	100%<	100%<
綾瀬川	<13%	24%	<13%	<13%	100%<	30%
桂川久世橋	100%<	100%<	100%<	100%<	100%<	100%<
桂川宮前橋	100%<	43%	100%<	100%<	100%<	100%<
西高瀬川	100%<	84%	100%<	100%<	100%<	100%<
巨椋池排水路	100%<	29%	100%<	89%	100%<	100%<

よる影響だけではなく工場排水による影響も推測される。また、鴨川と綾瀬川では、10月よりも2月の試料で繁殖及び致死の影響が大きいことが示された。特に綾瀬川では、その影響が顕著にみられた。

京都では未処理の生活排水や病院排水が流れ込む巨椋池排水路では、9月と1月の試料両方で致死の影響が確認された。桂川と西高瀬川では9月の試料で確認された致死の影響は1月の試料では確認されなかった。

桂川は他の地点と比べると流量が多く川幅も広いいため、下水処理放流水などが混入しも希釈されたため、あまり汚染がみられなかった。また西高瀬川を形成する上流の下水処理場ではオゾン処理などの高度処理を行っており、水生生物に対する影響を除去できている可能性が考えられる。今回の調査では25%影響濃度(EC₂₅)が確認されたのは24試料中4試料であるのに対し、25%致死濃度(LC₂₅)は15試料で確認された。下水の放流先河川について同じ *Ceriodaphnia dubia* を用いて致死・繁殖を調べた研究の結果とほぼ同様といえる¹⁹⁾。この結果から今回対象とした試料では、繁殖に影響を及ぼすよりも先に致死に対する影響が発現することが理解できた。

今後は繁殖・致死の影響について個別の生活関連物質の観点から毒性の同定をする予定である。

c) 魚類胚・仔魚毒性試験結果

魚類胚・仔魚毒性試験結果を図-6に示す。京都では全地点で孵化・致死共に影響が確認されなかった。埼玉では孵化に対して全地点影響は確認されなかったが、綾瀬川の試料ではLC₂₅は30%であった。徳島では全地点でEC₂₅とLC₂₅が認められ、試料濃度が高くなるに従い孵化率は低下し、孵化した仔魚の致死率は上昇する傾向が確

認された。この影響の理由は不明であるが、全体的に徳島の試料で影響が観察された。しかし、西高瀬川の50%、100%試料の孵化率や綾瀬川50%、100%試料の致死率では、誤差が大きくなっている。本試験では、ゼブラフィッシュの卵を1容器(10個)×3連で行っているため、誤差が大きくなるので、今後は実験条件を改良し、1容器(15個)×4連で試験を行う予定である。

一般に魚の胚は仔魚に比べて感受性が低い^{20, 21)}ことで知られているが、今回徳島の試料では孵化に関しても影響が認められた。この理由についても現在検討中である。ミジンコとゼブラフィッシュの試験結果のまとめについては表-3に示す。

4. まとめ

本研究では3府県13地点の河川・排水路について秋季と冬季にWETの手法をベースに水生生物3種(藻類、ミジンコ、ゼブラフィッシュ)を用いて短期慢性毒性試験を行い得られた結果を以下に示す。

水生生物3種の中ではニセネコゼミジンコを用いたミジンコ繁殖阻害試験が最も感度がよかった。しかしニセネコゼミジンコは飼育の維持・管理が難しく試験をするにあたり親個体の調子には注意を払う必要がある。ミジンコ繁殖阻害試験では都市部を流れる河川では50%を超える高い致死率が確認されやすく、全体的には繁殖の影響よりも致死の影響が検出されやすい傾向が観察された。一方で、藻類生長阻害試験は先述したように栄養塩の影響で毒性影響は確認できなかった。また下水道の整備状

況に関わらず、ミジンコ、ゼブラフィッシュでは毒性影響が検出され、藻類、ミジンコでは9月-11月と1-2月による影響の違いが確認された。しかし、現段階では毒性影響が認められた原因については不明であり、今後の調査ではWET試験を実施すると同時に化学分析を行い毒性影響となる物質の同定や分画を行うことで毒性発現の原因を解明することが課題である。

また栄養段階の異なる水生生物3種を用いることで、生産者(藻類)、一次消費者(ミジンコ)、二次消費者(魚類)のそれぞれに対する毒性影響が理解でき、生物種により感受性も異なることから河川によっては幅広く毒性影響を検出でき、短期慢性毒性試験を実施することでミジンコの繁殖や魚の孵化といった毒性影響も感度よく検出できることが可能であることが分かった。これは従来の急性毒性試験では検出されない可能性²⁾が考えられ検出感度や検出頻度または実際の環境影響を短期間かつ感度よく検出できるWETをベースにした短期慢性毒性試験は非常に重要であると考えられる。また河川水中に存在する多種多様な化学物質の水生生物に対する慢性影響や複合影響、水域に存在する生物の個体数や生態系の維持といった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。

今後も経年変化に伴い同様の調査を継続していくことで、その河川の実際の流域特性に近い環境影響を知ることが可能であり、水域生態系への影響を把握するための基礎的な知見が得られると考えられる。

参考文献

- 1) Chemical abstracts service home page, アメリカ化学会 (<http://www.cas.org/>) (Last accessed on May, 2011)
- 2) 中央環境審議会水環境部会 水生生物保全環境基準専門委員会 (第1回) 議事次第 (<http://www.env.go.jp/council/09water/y094-08b.html>) (Last accessed on May, 2011)
- 3) Power, E. A., Bounphrey, R. S.: International Trends in Bioassay Use for Effluent Management, *Ecotoxicology*, Vol.13, pp.377-398, 2004.
- 4) USEPA: Draft National Whole Effluent Toxicity (WET) Implementation Guidance, EPA 832-B-04-003, 2004. (http://www.epa.gov/npdcs/pubs/wet_draft_guidance.pdf) (Last accessed on April 21, 2010)
- 5) 大江武, 竹内信江: o-アセチル転換酵素高産生株を用いたウムテストおよびAmes試験による河川水の遺伝毒性モニタリング, *水環境学会誌*, Vol.20, pp.722-731, 1997
- 6) 田中一浩, 守田康彦, 高橋敏雄: 新潟県内の水道水・河川水の変異原性について, *水環境学会誌*, Vol.16, pp.657-665, 1993
- 7) 国本学, 安原昭夫, 相馬悠子, 中杉修身: 哺乳動物培養細胞系を用いた水環境試料の毒性評価, *水環境学会誌*, Vol.19, pp.855-860, 1993.
- 8) 鋤迫典久: 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.
- 9) 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.
- 10) 朴明玉, 岡村秀雄, 青山勲, 須戸幹, 大久保卓也, 中村正久: ミジンコ致死試験による農業地帯を流下する河川水の毒性評価, *環境毒性学会誌*, Vol.7, No.1, pp.23-33, 2004.
- 11) 山下尚之, 田中宏明, 宮島深, 鈴木穰: AGP試験と藻類生長阻害試験を用いた下水処理水の河川水質に対する影響評価, *土木学会論文集G*, Vol.62, No.1, pp.91-200, 2006.
- 12) 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/ctf14.pdf>) (Last accessed on April 27, 2010)
- 13) 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)
- 14) OECD: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages, Test Guideline for Chemicals No.212, (1998).
- 15) 山本裕史, 安部香緒里, 池嶋佳織, 安田侑右, 田村生弥, 中村友紀, 鋤迫典久: 徳島県内の下水処理施設放流水を対象にしたWET試験, *環境工学論文集*, Vol.47, pp.727-734, 2010.
- 16) 池嶋佳織, 安部香緒里, 安田侑右, 平田佳子, 田村生弥, 中村友紀, 鋤迫典久, 山本裕史: 徳島県内一般事業所排水に対するWET試験と放流先ミキシングゾーン端での毒性影響評価, *環境工学研究フォーラム講演集*, Vol.47, pp.142-144, 2010.
- 17) Carbonell, G., Fernandez, C., Tarazona, 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.
- 18) USEPA: Dilution water, Sampling, Sample Handling, and Preparation for Toxicity Tests, Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms Fourth Edition, EPA-821-R-02-013, Section 7, 2002. (<http://www.epa.gov/waterscience/methods/wet/disk3/ctf7.pdf>) (Last accessed on April, 2010)
- 19) A. Kosmalaa, S. Charvetb, M.-C. Rogerb, B. Faesselb, Impact assessment of a wastewater treatment plant effluent using instream invertebrates and the *Ceriodaphnia dubia* chronic toxicity test, *Water Research*, Vol.33, 1, pp. 266-278, 1999.

20) Woltering, D.M.: The growth response in fish, chronic and early life stage toxicity tests: a critical review, *Aquat. Toxicol.*, 5, 1-21. 1984

21) 中川久機, 石尾真弥: 重金属イオンに対するメダカの卵, 仔魚および成魚の感受性の比較, 水産増殖, Vol39, No. 4, pp.435-440. 1991

22) 山本裕史: 資源環境研究, Vol. 47, No5, pp. 76-81, 2011.

(2011.5.30 受付)

Short-Term Chronic Toxicity Tests Applied to River Water Contaminated by Treated or Untreated Domestic Sewage

Yusuke YASUDA¹, Saori YONEDA¹, Ikumi TAMURA¹, Keiichiro KAGOTA¹,
Norihide NAKADA², Seiya HANAMOTO², Yutaka KAMEDA³, Kumiko KIMURA⁴,
Norihiisa TATARAZAKO⁵, and Hiroshi YAMAMOTO^{1,6}

¹Graduate School of Integrated Arts & Sciences, University of Tokushima,

²Research Center for Environ. Quality Management, Kyoto University

³Saitama Institute of Environmental Sciences

⁴Saitama City Institute of Health Science & Research

⁵National Institute for Environmental Studies

⁶Institute of Socio, Arts, and Sciences, Graduate School of the University of Tokushima

In Japan, chemical substances under regulation is limited to 27 compounds and 15 items for effluent and 26 compounds and 10 items for environmental standard. Numerous kinds of chemical compounds released in domestic sewage such as pharmaceuticals and surfactants were not evaluated for their effects on aquatic organisms. We used the short-term chronic toxicity protocols in USEPA's whole effluent toxicity (WET) to evaluate the toxic effects of the river water sampled in Tokushima, Kyoto, and Saitama, where highly affected by treated or untreated domestic sewage. The bio-assays were conducted twice for each samples collected in between July 2010 and February 2011. As results, no growth inhibition was found for green algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*) but was rather promoted the growth probably due to the relatively high concentrations of nutrients. In contrast, at least one of mortality and reproductive effects were found for *Ceriodaphnia dubia* for approximately a half of the 24 samples. Particularly strong mortality was found for the samples collected in Kamo River and Ayase River of Saitama. Hatching and survival of zebrafish (*Danio rerio*) was significantly affected in the all four samples collected in Tokushima area.