

迅速バイオアッセイ (BIOecsSM) の開発

Development of a swift bioassay (BIOecsSM)



藤原尚美*
Dr.Naomi Fujiwara
工学博士



豊久志朗**
Shiro Toyohisa



野中信一*
Shinichi Nonaka



三浦雅彦*
Dr.Masahiko Miura
農学博士



樋口壯太郎***
Dr.Sotaro Higuchi
工学博士

最終処分場の浸出水には多種多様な化学物質が含まれており、化学物質の複合影響や未規制物質までを評価するために、バイオアッセイの研究が行われている。しかし、バイオアッセイは一般的に大量の採水を必要とし、試験期間が長く、高額であることから維持管理に活用できるまでの実用化には至っていない。このような状況下、少量の採水で、かつ、短時間で容易に結果が得られる手法の検討を行なった。その結果、少量の採水で試験が可能なアカヒレと、化学物質の毒性データが豊富にあるオオミジンコを組合わせた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM) を開発した。

Leachate from solid landfill sites contains a wide variety of chemicals, including unregulated substances. Bioassay studies have been conducted to evaluate the combined effects of chemicals; however, bioassays have not been commercialized to the point where they can be used for maintenance management as they are expensive and generally require a large amount of water sampling and a long testing period. Under these circumstances, we investigated a method to obtain results faster and more easily with less water sampling. To this end, we developed a swift bioassay (BIOecsSM) by combining *Tanichthys albonubes* (red finfish), which can be tested with a small amount of water, and *Daphnia magna*, on which there are abundant data on the toxicity of chemical substances.

Key Words :

最終処分場	solid landfill site
浸出水	leachate
バイオアッセイ	bioassay
アカヒレ	<i>Tanichthys albonubes</i>
オオミジンコ	<i>Daphnia magna</i>

【セールスポイント】

- ・迅速バイオアッセイ (BIOecsSM : BIOassay Environment Comprehensive System) は、短期間・低コストで浸出水を評価できる。
- ・設備の整った研究所のみならず、最終処分場の現地においても十分な精度を得ることができる。

まえがき

最終処分場は国民の生活環境保全のため、必要不可欠な施設である。近年、廃棄物処理及び清掃に関する法律にもとづき、製品が廃棄されるまでの管理が製造者に義務付けられ、産業活動において廃棄に

関する製造者責任の重要性が認識され始め、かつ、国民の環境問題についての意識の高まりから、最終処分場管理の重要性がますます高まっている。

2019年度に開催された産業廃棄物最終処分場維持管理マニュアル¹⁾の全国説明会では、埋立地の安

*技術開発センター 技術開発部 資源循環技術室

**㈱イー・アール・シー高城

***福岡大学

定化が進まず閉鎖から廃止に踏み切れない状況が長期に続く事例が多く、事業者にとって問題となっており、廃止を見据えた維持管理の重要性が述べられている。このため最終処分場には構造的な安定化と、埋立廃棄物が早期に安定化し、早期に廃止されることが望まれている。

廃棄物を埋立てることで、埋立地から多種多様な化学物質を含む浸出水²⁾が流出し、ガスが発生するのは安定化のプロセスである。浸出水は、最終処分場の排水基準にて管理されているが、各物質濃度の基準値を満足していても浸出水中に含まれる多種多様な化学物質の複合的な影響まで評価するには不十分であり、この対応策として浸出水そのものの影響を評価できるバイオアッセイによる浸出水管理が求められている。

バイオアッセイは浸出水そのものを総合的に評価できる特長があるものの、その多くは外部機関への委託に頼らざるをえず、試験期間も時間を要するためコストも嵩み、日常の管理には適していない。このような背景下、少量の採水と24時間という短い評価時間で容易に結果が得られることで最終処分場の現場で完結できるアカヒレとオオミジンコを用いた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM) の開発について報告する。

1. 供試生物の選定

アカヒレ (*Tanichthys albonubes*) はコイ目コイ科に属する小型の淡水魚で、AOD 試験(水族環境診断法: Aquatic Organisms environment Diagnostics) に用いられてきた生物である³⁻⁵⁾。アカヒレ (図1) はヒメダカ (図2) と比較して個体が小さく、少ない溶存酸素でも生存できることが期待され、飼育も容易である⁶⁾。このため、小規模な設備で試験を行うことができ、最終処分場の現場であっても、日常的なモニタリングに活用が可能であると考えた。

ヒメダカ (*Oryzias latipes*) はダツ目メダカ科の本邦在来種であり、OECD TG203⁷⁾ の供試魚のひとつとして広く毒性試験に使用されている。ヒメダカはメダカの突然変異型 (品種) の一つである⁸⁾。国内においてはヒメダカを用いた研究が多く行われて



図1 アカヒレ (*Tanichthys albonubes*)



図2 ヒメダカ (*Oryzias latipes*)

おり、排水に対するバイオアッセイのデータが比較的豊富であり、なじみのある魚であるため、アカヒレとヒメダカの比較を行った。

一方、試験精度の向上と魚類以外の環境生物への影響も評価するために、感受性の異なるオオミジンコを用いた。オオミジンコ (*Daphnia magna*) は鰓脚綱双殻目に属する甲殻類で、化学物質に対する感受性が高く、国際的な試験ガイドラインにおいて供試生物に推奨されており⁹⁾、化学物質の毒性データも豊富であり、省スペースで飼育することができ繁殖は容易である。

アカヒレおよびヒメダカは、ともにペットショップ(熱帯魚通販ネオス、アクアノースビーチ)から購入し、1週間馴化した後、試験に供した。両種ともに150~300尾を脱塩素水道水(粒状ヤシガラ活性炭で処理後、ばっ気し、孔径0.2 μmのメンブレンフィルターでろ過したもの)を満たしたガラス製50L水槽に収容し、水温25±1℃、13時間明/11時間暗の照明条件下で飼育した。飼育は半止水(週2回、2/3の水量を交換)で行い、アルテミアのノープリウス幼生および市販の魚類用餌料(キョーリン株式会社、ひかりLabo450)を1日2~3回適量を与えた。オオミジンコは国立研究開発法人国立環境研究所水環境実験施設から分譲を受け、3週間以上馴化・育成した親個体から生まれた生後24時間以内の仔虫をバイオアッセイに供した。

2. 実験方法

2.1 標準物質によるアカヒレとヒメダカの感受性比較

国際的な試験ガイドライン(例えば、OECD TG201¹⁰⁾)で標準物質として用いられているニクロム酸カリウム(特級、関東化学(株))、水生生物の塩分耐性の指標となる塩化ナトリウム(特級、関東化学(株))、環境ホルモン物質として知見が集積されているノニルフェノール(環境分析用、関東化学(株))を被験物質とした。希釈水はいずれの被験物質にも飼育水と同じ脱塩素水道水(pH 7.6、電気伝導率165 μs/cm、塩分0.01%以下)を用いた。各被験物質の溶液は次のように調製した。ニクロム酸カリウ

ム 1 g を希釈水に溶解し、1 000 mL に定容した。この原液を順次希釈して、1, 3, 10, 30, 100 mg/L の試験溶液を作製した。塩化ナトリウムは、それぞれ所定量を希釈水に直接溶解、定容して0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 g/L の試験溶液を作製した。ノニルフェノールは、0.5 g を Dimethylformamide (DMF, 試薬特級, 関東化学) に溶解し、5 mL に定容した。この原液を DMF で希釈して各濃度用の DMF 二次原液を作製した。二次原液0.3 mL を希釈液に投入、3 L に定容して、0.1, 0.3, 1, 3, 10 mg/L の試験溶液を作製した。各濃度区とも DMF 濃度は0.1 mL/L とした。

曝露は表 1 に示す条件で行った。被験物質ごとにアカヒレとヒメダカは同時に試験した。24時間以内に結果が得られることも最終処分場の現場作業での要件であると考え、曝露期間は24時間とした。生死は曝露開始直後、6, 24時間後に目視により判定した。鰓蓋運動が停止し、外部刺激に反応しない個体を死亡と判定した。各観察時に水温をデジタル温度計 (アズワン (株) 製, 39240) で測定するとともに、曝露開始時および終了時に各容器の pH および溶存酸素 (DO) をそれぞれ pH 計 (HORIBA 製, F-22) および溶存酸素計 (東亜ディーケーケー (株) 製, DM-32P) を用いて測定した。各濃度の死亡率から24時間後の半数致死濃度 (LC₅₀) をグードロフ法 (被験物質の濃度を対数目盛に、死亡率を普通目盛にとってプロットし、50% に最も近い上下二つの測定値を結ぶ直線を引き、死亡率50% の線との交点に相当する濃度を LC₅₀ とする)¹¹⁾ により算出した。

2.2 アカヒレとヒメダカの飼育密度比較

現場にてバイオアッセイを実施する場合、その多くは広い試験スペースを確保することが出来ないため、少量の試料水で曝露個体数を増やす必要がある。

そこで、アカヒレとヒメダカがどの程度の高密度で飼育可能であるかを調べた。DO を測定後、アカヒレとヒメダカそれぞれ1連の3尾、5尾、7尾および10尾を40 mL の飼育水に投入し、24時間までの生存数と24時間経過後の DO を測定した。曝露は、先の表 1 に示す条件で行った。

2.3 浸出水によるアカヒレとヒメダカの感受性比較

最終処分場浸出水として、図 3 に示す浸出水原水 (A) と浸出水原水 (B) をそれぞれ250 mL ポリプロピレン製容器に採水後、速やかに試験に供した。試験には、浸出水原水を5から80% に希釈したものを用いた。各濃度調整後の供試水は50 mL 程度とし、希釈には飼育水を用いた。曝露は現場実施を目的とし、先の表 1 に示す条件で行った。浸出水原水ごとにアカヒレとヒメダカは同時に試験した。曝露期間、生死判定時間と判定方法は2.1項の標準物質によるアカヒレとヒメダカの感受性比較に記載した内容と同じとした。各観察時に水温をデジタル温度計で測定するとともに、曝露開始時および終了時に各容器の pH および DO をそれぞれ pH 計および溶存酸素計を用いて測定した。評価は各浸出水濃度における生存率を算出して実施した。

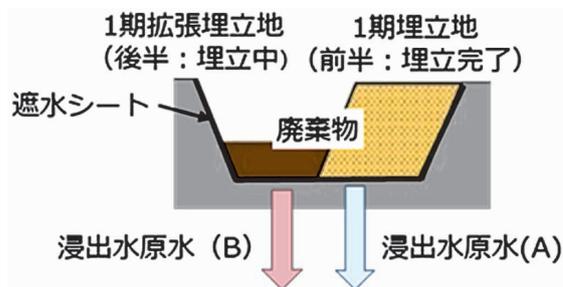


図3 浸出水原水採水箇所

表 1 各試験の曝露条件

	標準物質による 感受性比較	飼育密度比較	浸出水を用いた 感受性比較	浸出水を用いた簡略化バイオアッセイ (BI0ecs SM)	
供試体	アカヒレ, ヒメダカ	アカヒレ, ヒメダカ	アカヒレ, ヒメダカ	アカヒレ	オオミジンコ
容器の材質	ガラス製ビーカー	ガラス製ビーカー	ガラス製ビーカー	ガラス製ビーカー	ガラス製ビーカー
1 容器当たりの水量	3L	40mL	50mL	50mL	50mL
個体数密度	5 尾 / 3L	3, 5, 7, 10 尾 / 40mL	3 尾 / 50mL	3 尾 / 50mL	5 頭 / 50mL
連数	1 連	1 連	1 連	1 連	1 連
曝露時間	24 時間	24 時間	24 時間	24 時間	24 時間
換水	なし, 止水式で実施	なし, 止水式で実施	なし, 止水式で実施	なし, 止水式で実施	なし, 止水式で実施
水温	25±1℃	25±1℃	25±1℃	25±1℃	20±1℃
照明時間	13 時間明 / 11 時間暗	13 時間明 / 11 時間暗	13 時間明 / 11 時間暗	13 時間明 / 11 時間暗	16 時間明 / 8 時間暗

2.4 アカヒレとオオミジンコを用いた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM) による浸出水評価

研究対象処分場の浸出水原水に対して、廃棄物の処理及び清掃に関する法律に規定されている化学分析と、アカヒレとオオミジンコを用いた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM) を実施し比較した。

2.4.1 浸出水の化学分析

分析項目は、一般廃棄物及び産業廃棄物の最終処分場からの放流水の基準水質項目に加えて、塩化物イオン (Cl⁻) と全有機体炭素 TOC を追加した以下の7項目とし、工場排水試験方法 JIS K0102¹²⁾ に準拠して測定した。なお、各試験では必要に応じて溶存酸素量 (DO) を測定した。

pH は、ガラス電極法をもとに pH 計 (HORIBA 製, F-72) を用いて測定した。生物学的酸素要求量 (BOD) は、植種希釈隔膜電極法を用いて測定した溶存酸素量 (DO) をもとに算出した。化学的酸素要求量 (COD) は、過マンガン酸カリウムによる酸素消費量をもとに算出した。浮遊物質 (SS) は、網目 2 mm のふるいを通過した試料を孔径 1 μm 程度のガラス繊維ろ紙 (GFP: glass fiber filter paper) でろ過し、GFP に捕捉された物質を 105 ~ 110℃ で乾燥し、質量を測定して SS を求めた。窒素含有量 (T-N) は、紫外線吸光度法をもとに分光光度計 (JASCO corporation 製, V-650) を用いて定量した。塩化物イオン (Cl⁻) は、イオンクロマトグラフ法 (サーモフィッシャーサイエンティフィック (株) 製, ICS-2100) によって定量した。全有機体炭素 (TOC) は、燃焼酸化-赤外線式 TOC 分析法をもとに TOC 計 (SHIMADZU 製, TOC-V) を用いて測定した。溶存酸素 (DO) は、溶存酸素計 (東亜ディーケーケー製, DM-32P) を用いて測定した。

2.4.2 浸出水を用いた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM)

曝露は、先の表 1 に示す条件で行った。アカヒレの死亡判定は 2.3 項に記載のとおりとし、オオミジ

ンコについては、試験容器を軽く動かした後、15 秒間に一度も動かない個体を死亡とした。アカヒレおよびオオミジンコの各濃度の死亡率から 24 時間後の半数致死濃度 (LC₅₀) をダートロフ法¹⁵⁾ により算出した。さらに、化学分析と比較するために、毒性の強さが数値に比例する指標である毒性単位^{13,14)} (Toxic Unit: TU = 100 / LC₅₀) を算出した。

3. 結果および考察

3.1 標準物質によるアカヒレとヒメダカの感受性比較

試験に用いたアカヒレの平均体重 (±標準偏差) は 0.05 ± 0.03 g, 平均標準体長は 1.4 ± 0.27 cm, ヒメダカの平均体重は 0.21 ± 0.1 g, 平均標準体長は 2.2 ± 0.36 cm であった。アカヒレとヒメダカの死亡率と各被験物質の 24 時間 LC₅₀ 値を比較すると (表 2), ノニルフェノールでは死亡率に差は見られず, LC₅₀ 値はアカヒレ, ヒメダカともに 0.55 mg/L であった。

試験開始時の pH, DO は, アカヒレとヒメダカともに, pH 7.6 ± 0.1, DO 7.4 ± 0.1 であった。試験終了時の pH, DO は, アカヒレ pH 7.4 ± 0.2, DO 7.5 ± 0.4, ヒメダカ pH 7.4 ± 0.2, DO 7.6 ± 0.3 であった。カナダ環境省は, ファットヘッドミノー, ブルーギル, ニジマス, シープスヘッドミノーを試験生物としたノニルフェノールの急性毒性試験について調査し, 96 時間 LC₅₀ は 128 ~ 310 μg/L の範囲にあったと報告している¹⁵⁾。今回得られたアカヒレとヒメダカの LC₅₀ 値は, 96 時間曝露と 24 時間曝露の差であることを考慮すると, 他の魚種とはほぼ同程度の値と言える。二クロム酸カリウムでは, 今回の設定濃度範囲ではアカヒレ, ヒメダカともに死亡率 100% の濃度は得られなかった。このため, 二クロム酸カリウムの LC₅₀ の推定はできなかった。しかし, 設定濃度の最高濃度である 100 mg/L において, ヒメダカの死亡は見られなかったもののアカヒレの死亡率は 40% であったことから, アカヒレの LC₅₀ 値はヒメダカの LC₅₀ 値より小さいと考えられる。試験開

表 2 各濃度の 24 時間後の死亡率 (%) と各被験物質の LC₅₀

塩化ナトリウム			二クロム酸カリウム			ノニルフェノール		
濃度 (g/L)	アカヒレ	ヒメダカ	濃度 (mg/L)	アカヒレ	ヒメダカ	濃度 (mg/L)	アカヒレ	ヒメダカ
100	—	100	100	40	0	10	100	100
30	100	100	30	0	0	3	100	100
10	80	0	10	0	0	1	100	100
3	0	0	3	0	0	0.3	0	0
1	0	0	1	0	0	0.1	0	0
0.3	0	—	対照区	0	0	対照区	0	0
0.1	0	—						
対照区	0	0						
LC ₅₀ 値*	6.4	17	LC ₅₀ 値*	Ca.100	>100	LC ₅₀ 値*	0.55	0.55

* LC₅₀ の単位は, 塩化ナトリウムは g/L, その他は mg/L である。

始時の pH, DO は, アカヒレとヒメダカともに pH 7.8 ± 0.1 , DO 8.0 ± 0.1 であった。試験終了時の pH, DO は, アカヒレ pH 7.4 ± 0.1 , DO 8.4 ± 0.1 , ヒメダカ pH 7.1 ± 0.4 , DO 7.5 ± 0.2 であった。塩化ナトリウムでは, アカヒレとヒメダカの LC_{50} 値はそれぞれ 6.4, 17 g/L であり, 明らかな差がみられた。この差はメダカが広塩性魚であることから^{8,16)} 妥当な結果であると考えられる。試験開始時の pH, DO は, アカヒレ pH 7.4 ± 0.1 , DO 7.9 ± 0.1 , ヒメダカ pH 7.1 ± 0.1 , DO 8.6 ± 0.1 であった。試験終了時の pH, DO は, アカヒレ pH 7.9 ± 0.1 , DO 7.8 ± 0.1 , ヒメダカ pH 7.9 ± 0.1 , DO 7.7 ± 0.1 であった。本研究で得られた24時間 LC_{50} 値と, 14化合物のアカヒレとヒメダカの24時間 LC_{50} 値¹⁷⁾ が広範囲であるため対数比較すると (図4), クロルピリホスの LC_{50} 値はアカヒレ240 mg/L に対してヒメダカ13 mg/L と桁違いに異なっていたが, 他の被験物質では両者に大きな違いはなかった。

クロルピリホス以外の多くの化合物のプロットは 1:1 の直線より上 (ヒメダカの側) にあり, アカヒレの LC_{50} 値がヒメダカに比べやや小さい傾向がみられた。したがって, アカヒレの感受性は総じてヒメダカよりやや高いと考えられる。

3.2 アカヒレとヒメダカの飼育密度比較

試験に用いたアカヒレの平均体重 (\pm 標準偏差) は 0.10 ± 0.02 g, 平均標準体長は 1.8 ± 0.15 cm, ヒメダカの平均体重は 0.25 ± 0.11 g, 平均標準体長は 2.2 ± 0.31 cm であった。試験開始時の飼育水の DO は 9.0 mg/L であった。アカヒレは, 40 mL の飼育水に対して7尾までは24時間の生存を確認し, DO は 7.4 ~ 9.3 mg/L であった。10尾では1時間で1尾死亡, 24時間でさらに2尾の死亡を確認し, DO は 6.4 mg/L であった (図5)。一方, ヒメダカは3尾では24

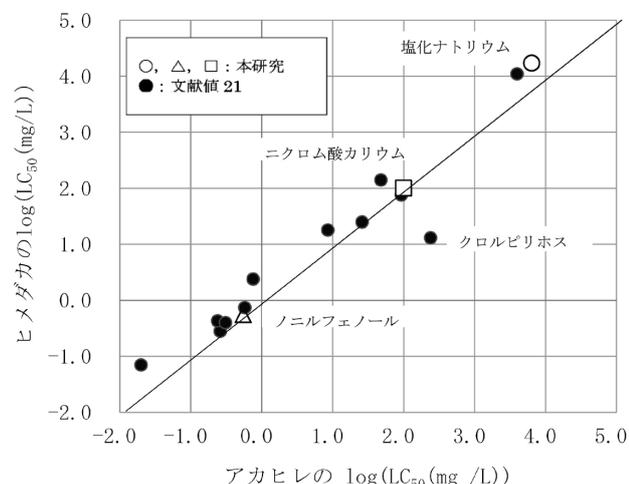


図4 アカヒレとヒメダカの LC_{50} 値の関係

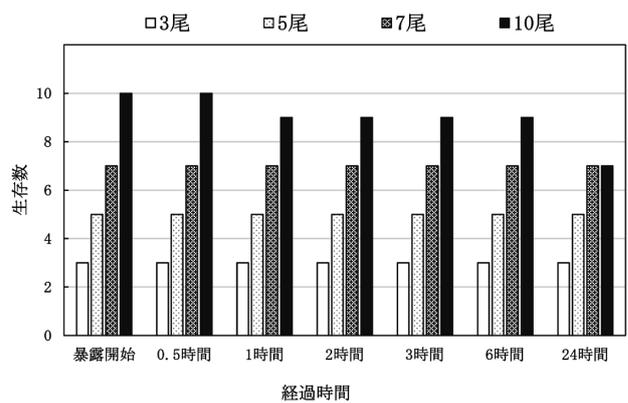


図5 アカヒレの各密度における経時生存数

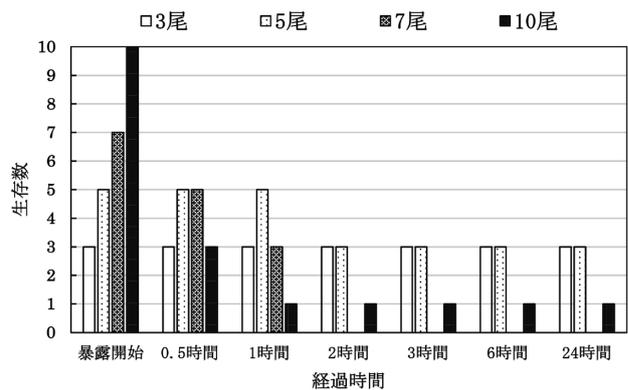


図6 ヒメダカの各密度における経時生存数

時間生存し, 試験終了時の DO は 5.0 mg/L であった。5尾では2時間で2尾死亡し, 24時間後の DO は 5.0 mg/L, 7尾では2時間で全例死亡し, 24時間後の DO は 4.6 mg/L, 10尾では1時間で9尾死亡し, 24時間後の DO は 4.6 mg/L であった (図6)。よって, アカヒレの方がより少量の飼育水で生存できることがわかった。これらのことから, アカヒレはヒメダカよりも高密度での試験が可能であり, 最終処分場の現場における浸出水の日常的なモニタリングに適していることがわかった。

3.3 アカヒレとヒメダカの浸出水による感受性比較

浸出水を用いた感受性試験においては, アカヒレ, ヒメダカともに24時間後まで全量生存していた3尾/40 mL よりも低い飼育密度である3尾/50 mL を採用した。

試験に用いたアカヒレの平均体重 (\pm 標準偏差) は 0.09 ± 0.02 g, 平均標準体長は 1.7 ± 0.15 cm, ヒメダカの平均体重は 0.13 ± 0.02 g, 平均標準体長は 1.8 ± 0.17 cm であった。アカヒレとヒメダカの生存率を比較した (図7)。2020年4月1日採水の浸出水原水 (B) では, アカヒレの生存率は濃度 20% 以下で 100% であったが 40% 以上において生存はみられなかった。ヒメダカの生存率は濃度 20% で 100

%であったが40%では67%となり、80%においては生存がみられなかった。2020年5月12日採水の浸出水原水(B)では、アカヒレの生存率は濃度20%以下で100%であったが40%では67%となり、80%においては生存がみられなかった。ヒメダカの生存率は濃度40%以下で100%であり、80%では生存がみられなかった。2020年4月1日採水の浸出水原水(A)では、アカヒレおよびヒメダカともに全ての濃度区において生存率100%で死亡はみられなかった。浸出水を用いたアカヒレの生存率は、ヒメダカと同様の傾向であるものの、浸出水原水(B)では生存率が低く、アカヒレはヒメダカに比べて感受性が高いことがわかった。

3.4 アカヒレとオオミジンコを用いた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM) による浸出水評価

3.4.1 浸出水の化学分析

各浸出水原水は毎月初旬の雨の降っていない日に採水した。浸出水原水(A)と浸出水原水(B)の2020年4月から9月の浸出水水質分析結果を表3に示す。浸出水原水(A)は一般水質環境項目の放流

基準を満足していた。一方、浸出水原水(B)ではCOD, T-Nが一般水質環境項目の放流基準を満足していなかった。

3.4.2 浸出水を用いた迅速バイオアッセイ (BIOecsSM)

3.1および3.2の結果から魚類にはアカヒレを用いた。曝露は表1に示す条件で行った。

浸出水原水(A)と浸出水原水(B)の2020年4月から9月の浸出水のバイオアッセイ結果を表4に示す。採水月によって、アカヒレとオオミジンコのTU値が変動している。この要因は、浸出水中に含まれる化学物質が、ミジンコに対して影響が強いが魚に対しては弱い化学物質がある一方で、魚に対して影響が強いがミジンコに対しては弱い化学物質もあるためである¹⁸⁾。したがって、浸出水の評価にはアカヒレとオオミジンコの2種類の生物を用いる必要がある¹⁹⁾。

一般水質環境項目である個々の化学分析と浸出水そのものの影響を評価するためにバイオアッセイの総毒性単位との相関係数を確認したところ、浸出水

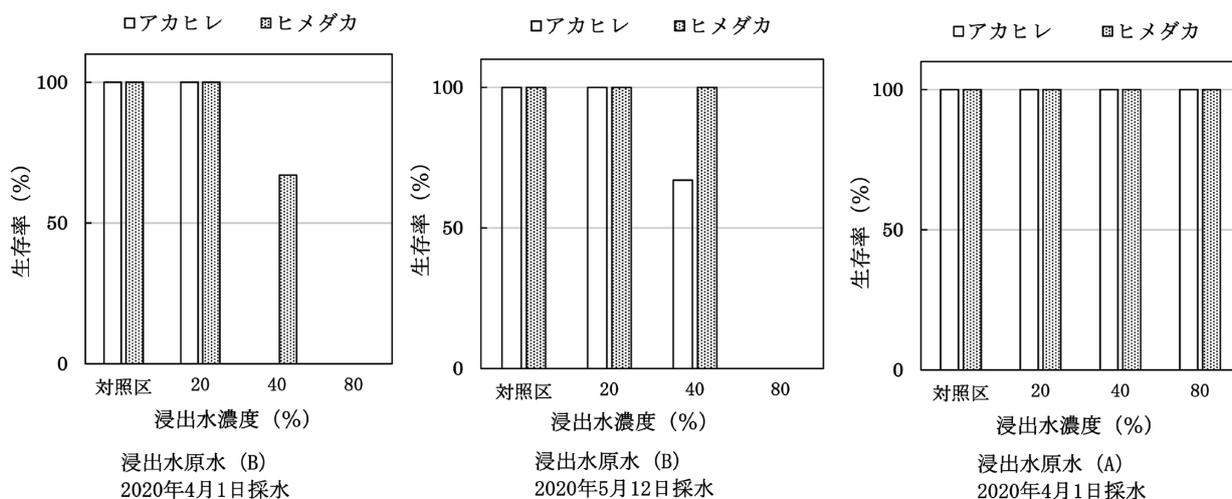


図7 浸出水による感受性比較

表3 浸出水水質分析結果

試料名 採水年月	処理水 水質基準 -	浸出水原水 (A)						浸出水原水 (B)					
		2020年						2020年					
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
pH	5.8~8.6	7.3	7.2	7.3	7.1	6.9	7.1	7.8	7.8	7.8	7.6	7.6	7.8
BOD (mg/L)	≤60	11	8	8	16	13	9	23	20	23	42	26	23
COD (mg/L)	≤90	34	34	26	41	38	32	130	118	133	223	168	131
SS (mg/L)	≤60	4	6	4	10	9	4	8	2	3	37	6	4
T-N (mg/L)	≤120*	56	56	48	50	60	62	110	88	140	220	197	156
Cl (mg/L)	-	3 360	3 810	3 120	2 510	3 020	3 370	4 300	4 480	4 640	3 560	2 900	3 030
TOC (mg/L)	-	32	30	24	37	35	33	112	98	121	187	145	125

*最大値を示す。

表4 浸出水のバイオアッセイ結果

試料名	浸出水原水 (A)						浸出水原水 (B)					
	2020年						2020年					
採水年月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	4月	5月	6月	7月	8月	9月
アカヒレ LC ₅₀ (%)	>80	>80	>80	34	57	>80	28	48	28	14	14	14
アカヒレ (TU)	1.3	1.3	1.3	2.9	1.8	1.3	3.6	2.1	3.6	7.1	7.1	7.1
オオミジンコ LC ₅₀ (%)	>80	71	71	57	57	57	18	22	22	15	26	28
オオミジンコ (TU)	1.3	1.4	1.4	1.8	1.8	1.8	5.6	4.5	4.5	6.7	3.8	3.6

原水 (A) では BOD 0.88, COD 0.76, SS 0.87 および TOC 0.73 と強い相関があったものの T-N と CI はそれぞれ -0.17, -0.85 と負の相関であった。浸出水原水 (B) では, BOD 0.87, COD 0.89, SS 0.81, T-N 0.91 および TOC 0.94 と強い相関があり, CI は -0.69 を示した。このため, 個々の化学分析とバイオアッセイの相関は, 浸出水ごとに異なることがわかった。坂本ら²⁰⁾の研究によると, BOD ならびに COD が廃止基準を満たしていたにもかかわらず, 処分場の安定化が進行していない可能性が示されている。バイオアッセイは一般水質環境項目以外の化学物質も含めた複合的な影響を評価することができ, 最終処分場の安定化評価のモニタリングに有効であると言える。

むすび

標準物質によるアカヒレとヒメダカの感受性を比較しアカヒレの感受性は総じてヒメダカよりも高いことがわかった。また, アカヒレはヒメダカよりも少量の飼育水で生存できることがわかった。さらに, 浸出水を用いた感受性比較においても, アカヒレはヒメダカよりも感受性が高いことがわかった。また, 感受性が異なるオオミジンコを加えることで, 短時間の試験ではあるが, 一定の精度のあることを確認した。これらのことから, アカヒレとオオミジンコを用いた BIOecsSM (図8) は最終処分場の浸出水管理に寄与できると考えられる。



図8 BIOecsSM のロゴ

(株) イー・アール・シー高城 ERC エコセンターの皆さまには, 試料の提供および現場での試験を実施頂き感謝します。

[参考文献]

- 1) 公益社団法人全国産業資源循環連合会：産業廃棄物最終処分場維持管理マニュアル (2019)
- 2) 結城修, 富永泰子, 石橋幸三：産業廃棄物最終処分場における未規制物質の挙動に関する研究, 新潟県保健環境科学研究所年報, 第20巻, pp.88-94 (2005)
- 3) 赤崎千香子, 松本啓：AOD 試験を活用し, 魚類へい死の主原因物質アルミニウムを特定した事例, 宮城県保健環境センター年報, 第36号, pp.59-62 (2018)
- 4) 清水直美, 青木一永, 内山道春：AOD (水族環境診断法) による新たな水質評価方法の検討 (第1報) 改善 AOD 法の検討, 静岡県環境衛生科学研究所報告, pp.71-75 (2009)
- 5) 内山道春, 青木一永, 濱口浩太, 清水直美, 小池明：AOD (水族環境診断法) による新たな水質評価方法の検討 - 第二報 河川の水質評価静岡県環境衛生科学研究所報告, pp.73-83 (2011)
- 6) 杉浦宏, 藤川清：増補カラー熱帯魚淡水魚百科, 株式会社平凡社 (1980)
- 7) OECD: Fish, Acute Toxicity Testing, Guidelines for Testing of Chemicals No.203 (2019)
- 8) 岩松鷹司：メダカ大全書, 大学教育出版 (2006)
- 9) OECD : Daphnia sp., Acute Immobilization Test, Test Guidelines for Testing of Chemicals No.202 (2004)
- 10) OECD: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, Guidelines for Testing of Chemicals No.201 (2011)
- 11) P. Doudoroff, Chairman, B. G. Anderson, G. E. Burdick, P. S. Galtsoff, W. B. Hart, P. Patrick, E. R. Strong, E. W. Surber, and W. M. Van Horn : Bio-assay Method for the Evaluation of Acute Toxicity of Industrial Wastes to Fish. Sewage and Industrial Wastes, Vol. 23, No. 11, pp. 1380-1397 (1951)
- 12) JIS K 0102 : 工場排水試験方法 (2013)
- 13) Pooja Ghosha, Indu Shekhar Thakurb, Anubha: Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review, Kaushik Ecotoxicology and Environmental Safety 141, pp.259-270 (2017)
- 14) Jun Jin, Xiaoyin Zhang, Takashi Kusui : Preliminary Toxicity Assessment of Combined Sewer Overflows in

- Toyama, Japan, Vol.16, No.5, pp. 185-198 (2018)
- 15) Canadian Council of Ministers of the Environment :
Canadian water quality guidelines for the protection of
aquatic life: Nonylphenol and its ethoxylates (2002)
 - 16) 柳島静江, 森主一: 魚類の適応変異に関する研究1
メダカ (*Oryzias latipes* T.S.) の塩水適応, 第2報 実
験的研究, 動物学雑誌, 第66巻, pp. 359-366 (1957)
 - 17) 国土交通省水文水質データベース: 7. 地質環境そ
の他の項目「平成8年2月 水質調査の基礎知識 (近
畿地方整備局近畿技術事務所) より抜粋」, [www1.
river.go.jp/100308.html](http://www1.river.go.jp/100308.html), 2020年7月7日参照
 - 18) 若林明子: 化学物質と生態毒性, 丸善 (株) (2003)
 - 19) 楠井隆史: 環境管理におけるバイオアッセイの役割,
安全工学, 第39巻, 第4号, pp.247-255 (2000)
 - 20) 坂本広美, 福井博, 高橋通正, 斎藤邦彦, 金子栄廣:
閉鎖後10年以上が経過した最終処分場浸出水中のピ
スフェノール A および 4-ノニルフェノール濃度の変
動特性とその要因, 廃棄物学会論文誌, 第17巻, 第4
号, pp.259-270 (2006)