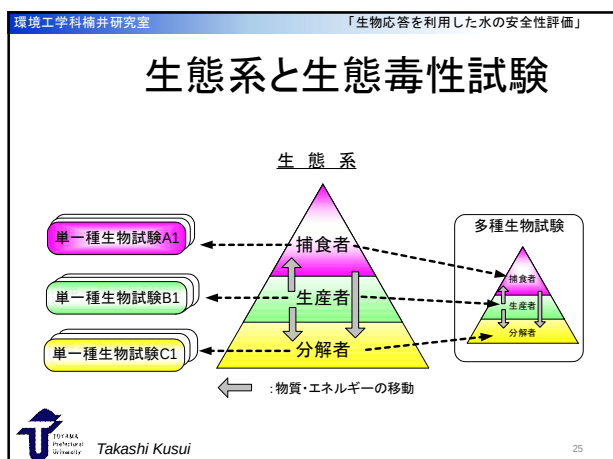
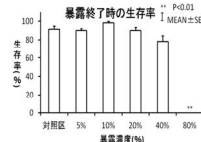




毒性試験の結果の表示法

- NOEC(無影響濃度): No Observed Effect Concentration
 - 実験を行った中で影響のなかった最大濃度
 - 安全性の確認できた最大濃度
- TU(毒性単位) $TU = \frac{100}{NOEC(\%)}$
- 例. 排水(5、10、20、40、80%)の試験結果



NOEC=40(%)
TU= 2.5

藻類

- 藻類
 - 水界生態系の第一次生産者
 - 食物連鎖の底辺
- 単細胞緑藻類
 - ライフサイクル: 時間単位
 - 短時間で数世代にわたる影響評価可能
- 実験の容易さ、再現性
 - *Selenastrum*属、*Chlorella*属

Pseudokirchneriella subcapitata



Chlorella vulgaris



藻類生長阻害試験(TG201)

生物種	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , <i>Scenedesmus subspicatus</i> , <i>Chlorella vulgaris</i>
試験期間	72時間
試験濃度	等比級数で少なくとも5濃度と対照区
連数	各濃度区三連(できれば対照区の2倍)
初期細胞濃度	約 10^4 cell/ml(<i>S. capricornutum</i> , <i>S. subspicatus</i>)
助剤	有機溶剤、界面活性剤、分散剤でそれぞれ100mg/Lを超えない
培養条件	振盪、攪拌、曝気下で無菌培養
試験温度	21~25±2℃
照明	400~700nmのスペクトル幅で均一照射 0.72×10^{20} photons/m ² Sの光量
観測または測定	生物量または細胞数(試験開始後24, 48, 72時間)、 温度(試験前後)、pH(試験前後)、被試験物質濃度 (実測しても良い)
結果の算出	成長曲線、EC50, NOEC

藻類生長阻害試験の試料調整

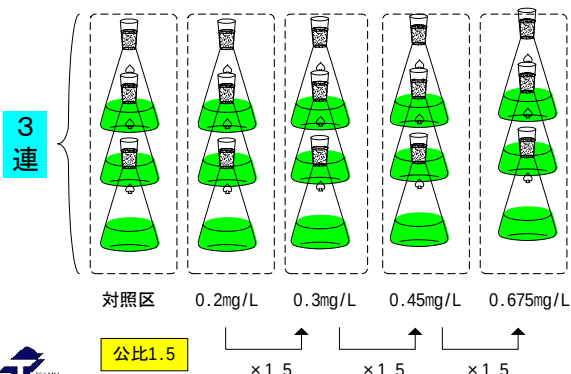
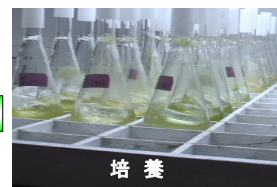
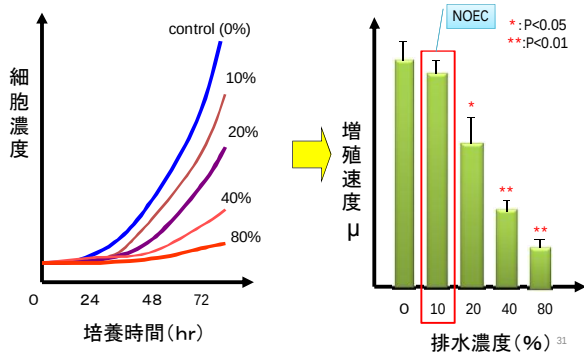


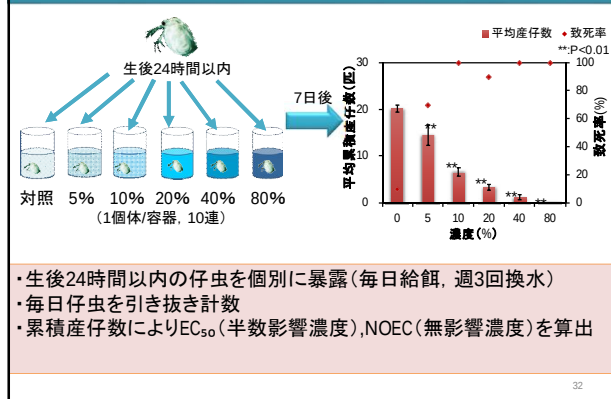
図 藻類生長阻害試験の手順



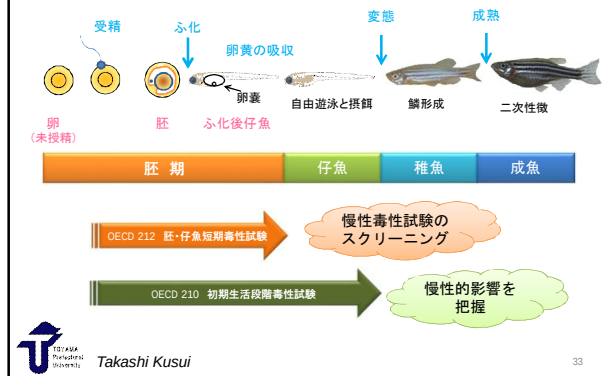
藻類生長阻害試験の結果



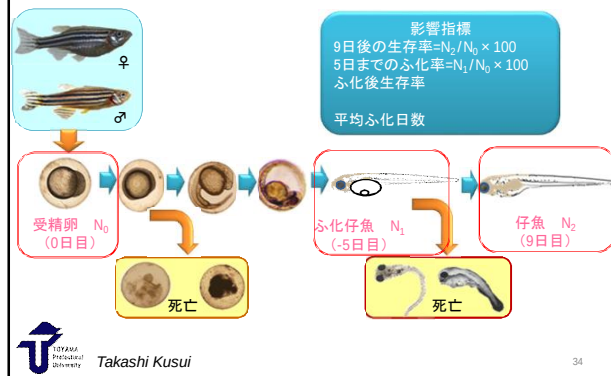
甲殻類繁殖試験



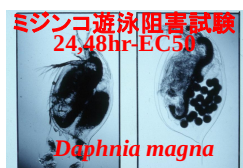
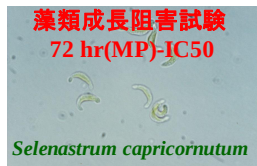
魚類の成長段階と魚類毒性試験



胚・仔魚短期毒性試験の評価指標

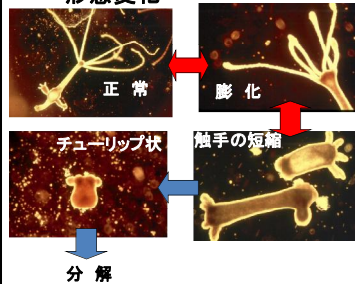


小規模バイオアッセイ



Hydra attenuata 急性毒性試験

・毒性ストレス条件下での形態変化



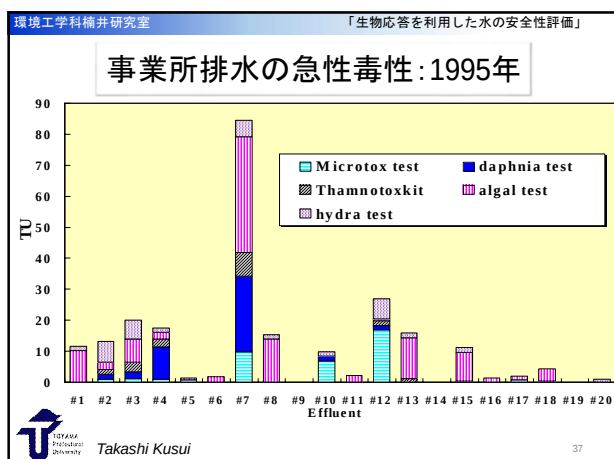
microplate(12well)

$20 \pm 2^\circ C$, 暗所



24-96hr- EC_{50} , LC_{50}

S.Trottier, C.Blaise, T.Kusui, E.M.Johnson: Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay, *Environmental Toxicology and Water Quality*, Vol.12, No.3, 265-271 (1997).



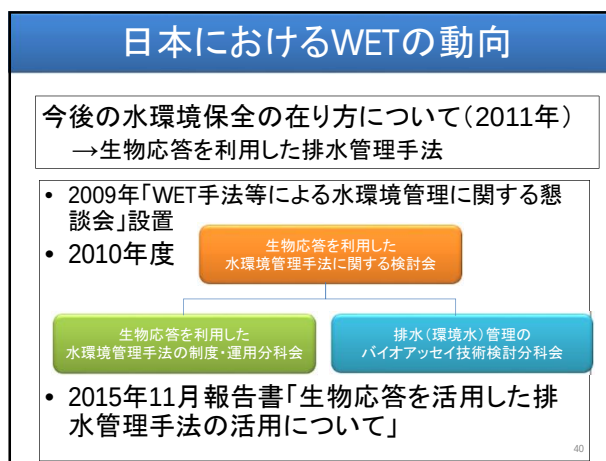
環境工学科桶井研究室 「生物応答を用いた水の安全性評価」

生物応答による排水規制の導入状況

分 類	排水規制あり	一部導入	研究調査
ヨーロッパ	ドイツ、フランス、北アイルランド、スウェーデン	ノルウェー、スペイン、イギリス	ベルギー、デンマーク、オランダ
アメリカ等	アメリカ合衆国、カナダ		
アジア / オセアニア	韓国	オーストラリア、ニュージーランド、香港	日本、中国

出典: Elizabeth A. Power and Ruth s. Boumphrey, 2004, Int'l Trends in Bioassay Use for Effluent Management, Ecotoxicology 13, pp377-398を引用し、桶井が編集

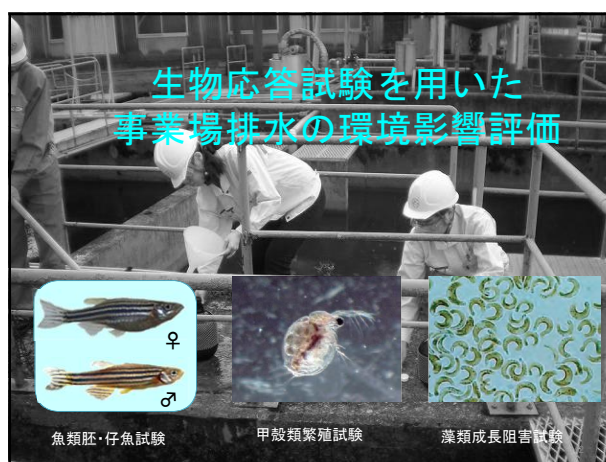
Takashi Kusui



検討会等での議論

- 導入の目的・対象
 - 目的: 水生生物保全、環境での影響、排水影響
 - 対象: 排出水の管理、環境水のモニタリング
- 急性vs慢性試験
- 生物種: 藻類、甲殻類、魚類、淡水種
- 適用対象施設: 水濁法の排水規制に係る施設、特定事業場を想定
- 導入の形態: 自主的管理制度～法規制(水濁法)

Takashi Kusui



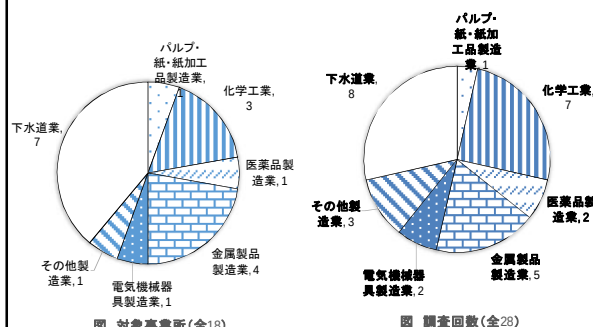
日本におけるWETの動向

テストガイドライン(2013年3月公表)ー淡水種、短期慢性毒性試験

	藻類生長阻害試験	甲殻類繁殖試験	魚類胚・仔魚試験
生物	 緑藻 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	 ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	 ゼブラフィッシュ <i>Zebra Danio</i> ヒメダカ <i>Oryzias latipes</i>
エンドポイント	生長 (比増殖速度)	生存と繁殖	胚発生、孵化、生存
暴露	止水式	止水式	半止水式
試験期間	72時間	8日間	9日間 (Zebra Danio)
換水	無	隔日	隔日
参照GL	OECD TG201 EPA-600-4-91-022 Test method number 1003.0	Environment Canada EPS/RM/21 EPA-600-4-91-022 Test method number 1002.0	OECD TG212 EPA-600-4-91-022 Test method number 1002.0

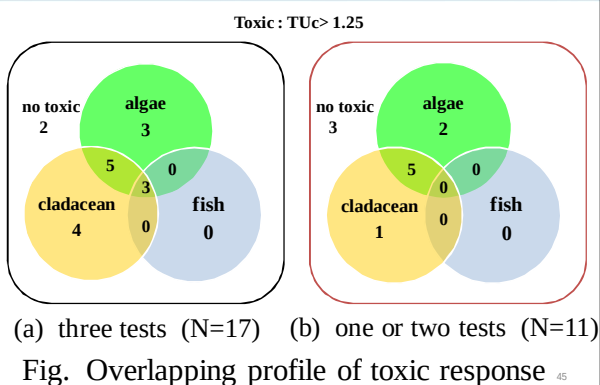
43

WET試験結果(2012~2014):TPU



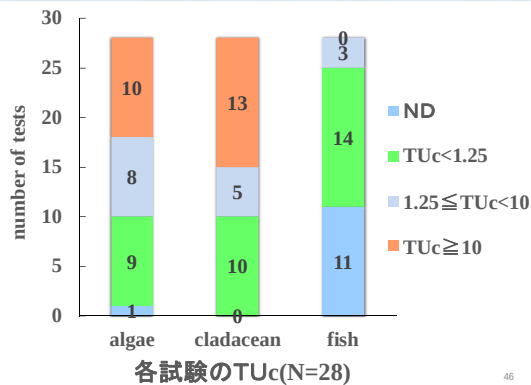
44

WET試験結果(2012~2014):TPU



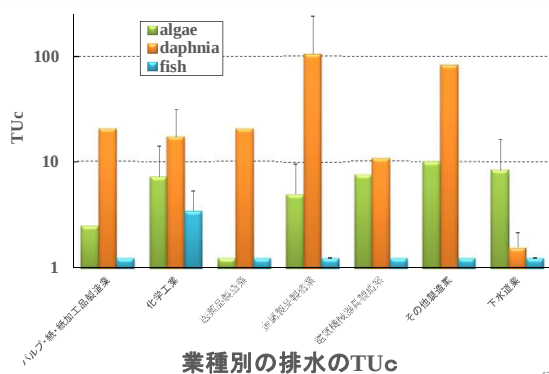
45

WET試験結果(2012~2014)



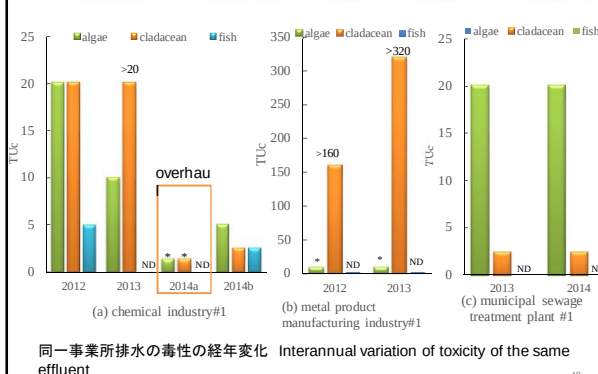
46

WET試験結果(2012~2014):TPU



47

WET試験結果(2012~2014):TPU



48