

第 N16050656 号

2016 年 08 月 19 日

株式会社 NIMURA 様

試験結果報告書

生物応答を利用した排水試験

2016 年 05 月 23 日採取

計量証明事業愛知県知事登録 第 273 号



株式会社 愛 研

Aiken Co., Ltd.

名古屋市守山区天子田二丁目 710 番地

TEL 052-771-2717 〒463-0037

試験概要

工場排水の水生生物への総合的な影響の程度を、胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いて短期毒性試験を行い評価した。

試験結果を下記に示す。

試験種類 評価項目	胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験			
	生存率	孵化率	孵化後生存率	生存指標
NOEC（最大無影響濃度）	80%以上	20%	80%以上	20%
TU（Toxic Unit）	1.25 未満	5	1.25 未満	5

被験試料は生存率、孵化率、孵化後生存率及び生存指標の影響指標それぞれにおいて、NOEC（最大無影響濃度）は80%以上、20%、80%以上、20%であり、TU（Toxic Unit）は1.25 未満、5、1.25 未満、5であった。

TUとは、NOECの逆数をとったもので、放流先で毒性影響が見られなくなるために必要な希釈倍率であり、TUが10を超える場合改善の必要ありと評価されることが想定されている。

したがって、被検試料には胚・仔魚期の魚類に対する短期毒性は認められなかった。

試驗結果報告書

試験結果報告書

第 N16050656 号

2016 年 08 月 19 日

株式会社 NIMURA 様

計量証明事業愛知県知事登録 第 273 号

株式会社 愛 研

名古屋市守山区天子田二丁目 710 番地

TEL 052-771-2717 〒463-0037

ご依頼の試料について下記の通り分析結果を報告します。

記

1. 試験名 胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ）を用いる短期毒性試験
2. 試験目的 事業所排水の水生生物への総体的な影響の程度を、魚類を用いて把握することを目的とする。
3. 試料名 工場排水
4. 採取場所 株式会社 NIMURA 南工場
5. 試験方法 生物応答を用いた排水試験法（検討案）（排水（環境水）管理のバイオアッセイ技術検討分科会 第三版 2015 年 03 月 20 日）
受精後 4 時間以内のゼブラフィッシュの受精卵を排水にばく露した。ふ化日から 5 日後まで（合計 10 日間）24 時間ごとに観察し生死及び孵化した胚の数を観察した。試験フローを添付資料に示す。
6. 試験期間 2016 年 05 月 24 日 ～ 06 月 02 日

7. 試料情報

採取担当者	久保 敦
採取地点	株式会社 NIMURA 南工場
採取日時	2016年05月23日 10時35分
採取方法	スポット採水
採水器具	ステンレス製バケツ
試料容器、採取量	3L容褐色ガラス瓶（生物試験用） 2L 容ポリ瓶（一般項目用） 計 5L
採取時の試料状況	水温：22.0℃、外観：無色、臭気：薬品臭 沈降物質：なし
試料の輸送方法	保冷剤を入れたクーラーボックス
試料の前処理	pH調整なし、エアレーションなし
試料の保存方法	冷蔵保存（6℃）

8. 試験条件

項 目	試 験 条 件
試験生物	ゼブラフィッシュ 国立研究法人 国立環境研究所より分与された個体を継代させたもの
試験用水	活性炭ろ過した水道水
ばく露方式	半止水式（2日ごとに換水）
ばく露期間	10日間
試験区	排水5、10、20、40、80%濃度区及び対照区
連数	4連／試験区
供試生物数	受精卵15粒／試験容器
試験液量	50mL／試験容器
試験温度	26℃
照明条件	室内光（白色蛍光灯） 明暗周期：明 16時間／暗 8時間
給餌	なし
影響指標	生存率、孵化率、孵化後生存率、生存指標
観察項目	生死、孵化した胚体数
水質測定項目	水素イオン濃度、溶存酸素濃度、水温
統計解析手法	Steelの検定

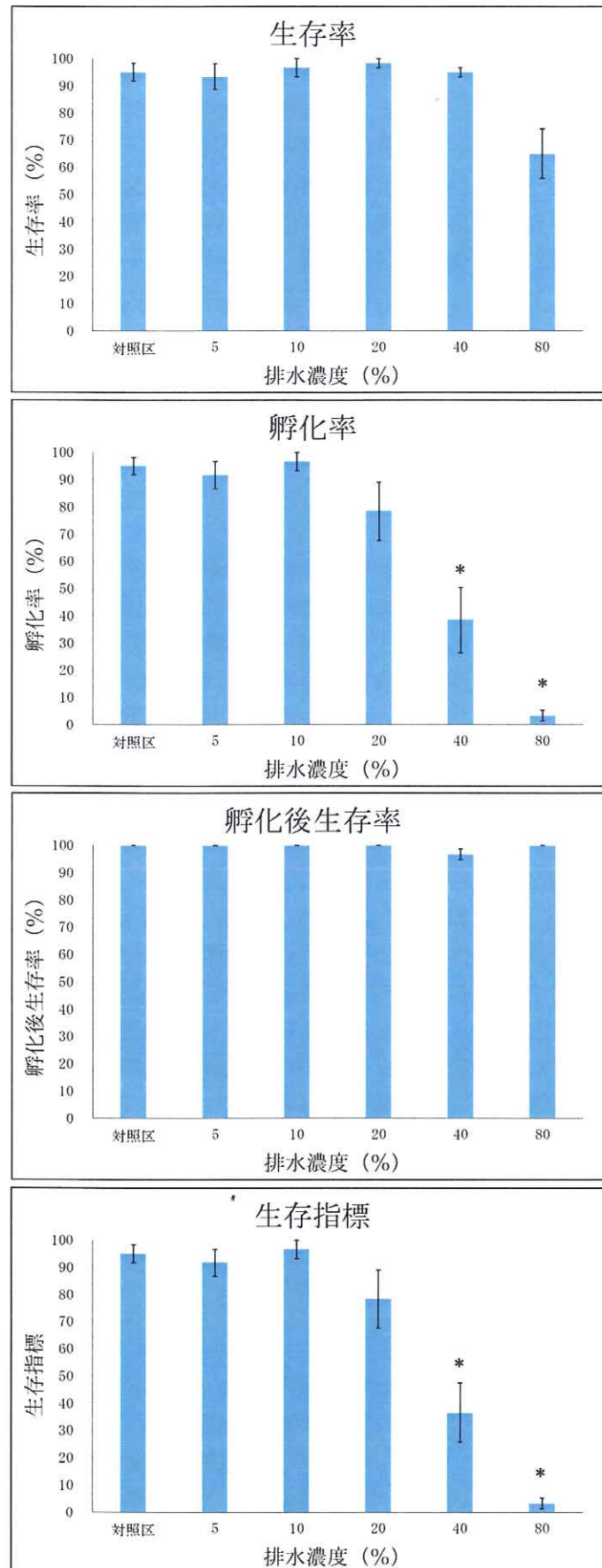
9. 試験結果 各濃度区における生存率、孵化率(※1)、孵化後生存率、生存指標(※2)及び各指標の平均値及び標準誤差を表及び図に示す。

濃度区	影響指標	生存率 (%)	孵化率 (%)	孵化後生存率 (%)	生存指標
対照区	1	86.7	86.7	100	86.7
	2	93.3	93.3	100	93.3
	3	100	100	100	100
	4	100	100	100	100
	平均	95.0	95.0	100	95.0
	標準誤差	3.2	3.2	0.0	3.2
5%	1	100	100.0	100	100
	2	93.3	86.7	100	86.7
	3	80.0	80.0	100	80.0
	4	100	100.0	100	100.0
	平均	93.3	91.7	100	91.7
	標準誤差	4.7	5.0	0.0	5.0
10%	1	100	100	100	100
	2	86.7	86.7	100	86.7
	3	100	100	100	100
	4	100	100	100	100
	平均	96.7	96.7	100	96.7
	標準誤差	3.3	3.3	0.0	3.3
20%	1	93.3	93.3	100	93.3
	2	100	86.7	100	86.7
	3	100	46.7	100	46.7
	4	100	86.7	100	86.7
	平均	98.3	78.3	100	78.3
	標準誤差	1.7	10.7	0.0	10.7
40%	1	93.3	73.3	93.3	68.4
	2	100	26.7	100	26.7
	3	93.3	20.0	100	20.0
	4	93.3	33.3	93.3	31.1
	平均	95.0	38.3	96.7	36.6
	標準誤差	1.7	12.0	1.9	10.9
80%	1	86.7	0.0	100	0.0
	2	73.3	6.7	100	6.7
	3	46.7	6.7	100	6.7
	4	53.3	0.0	100	0.0
	平均	65.0	3.3	100	3.3
	標準誤差	9.2	1.9	0.0	1.9

※1 孵化率＝最大孵化所要日数（曝露開始から5日後）での総孵化仔魚数/供試卵数×100

※2 生存指標＝孵化率×孵化後生存率/100

試料の胚に対する影響（孵化率）と孵化後の仔魚に対する影響（孵化後生存率）を総合する指標。生存のみでなく、孵化に対する遅延の影響も加味している。



図中の*は、対照区と比較して有意な差が認められた濃度区を示す
 図中のエラーバーは、標準誤差を示す

最大無影響濃度（NOEC）の算出

生存率、孵化率、孵化後生存率、生存指標の4つの影響指標値に対して、Steel の検定を行い、対照区と比較して統計学的に有意な低下が認められる濃度区を求めた。有意水準は5%とし、片側検定を行った。

生存率及び孵化後生存率においては、全濃度区で統計学的に有意な低下がみられなかった。孵化率及び生存指標においては、40%試験濃度区で統計学的に有意な低下がみられた。

よって、生存率及び孵化後生存率の影響指標における NOEC（最大無影響濃度）は80%以上となり、孵化率及び生存指標においては20%となる。また、生存率及び孵化後生存率の影響指標における TU（Toxic Unit）は1.25 未満となり、孵化率及び生存指標においては5となる。

注）各影響指標について、対照区と比較して統計学的に有意な低下が認められた最も低い試験濃度を最小影響濃度（LOEC）、その一つ下の試験濃度を最大無影響濃度（NOEC）とする。すべての試験濃度において、いずれの影響指標値も対照区と有意差が認められなかった場合は、最も高い試験濃度を NOEC とする。また、NOEC の逆数をとった値を TU とする。

$(TU=100/NOEC)$

10. 考 察

孵化率及び生存指標において、NOEC（最大無影響濃度）は20%、TU（Toxic Unit）は5であった。TU とは、NOEC の逆数をとったもので、放流先で毒性影響が見られなくなるために必要な希釈倍率であり、TU が10を超える場合改善の必要ありと評価されることが想定されている。これは、放流先で約10倍に希釈されるという想定のもと、排水基準が水質環境基準の10倍に設定されていることに倣っている。

今回の結果ではその基準を満足し、毒性影響は検出されなかった。同時に行った排水基準項目の水質測定結果においても基準超過はみられなかった。

11. 試験責任者

測定分析部 増田 遊子

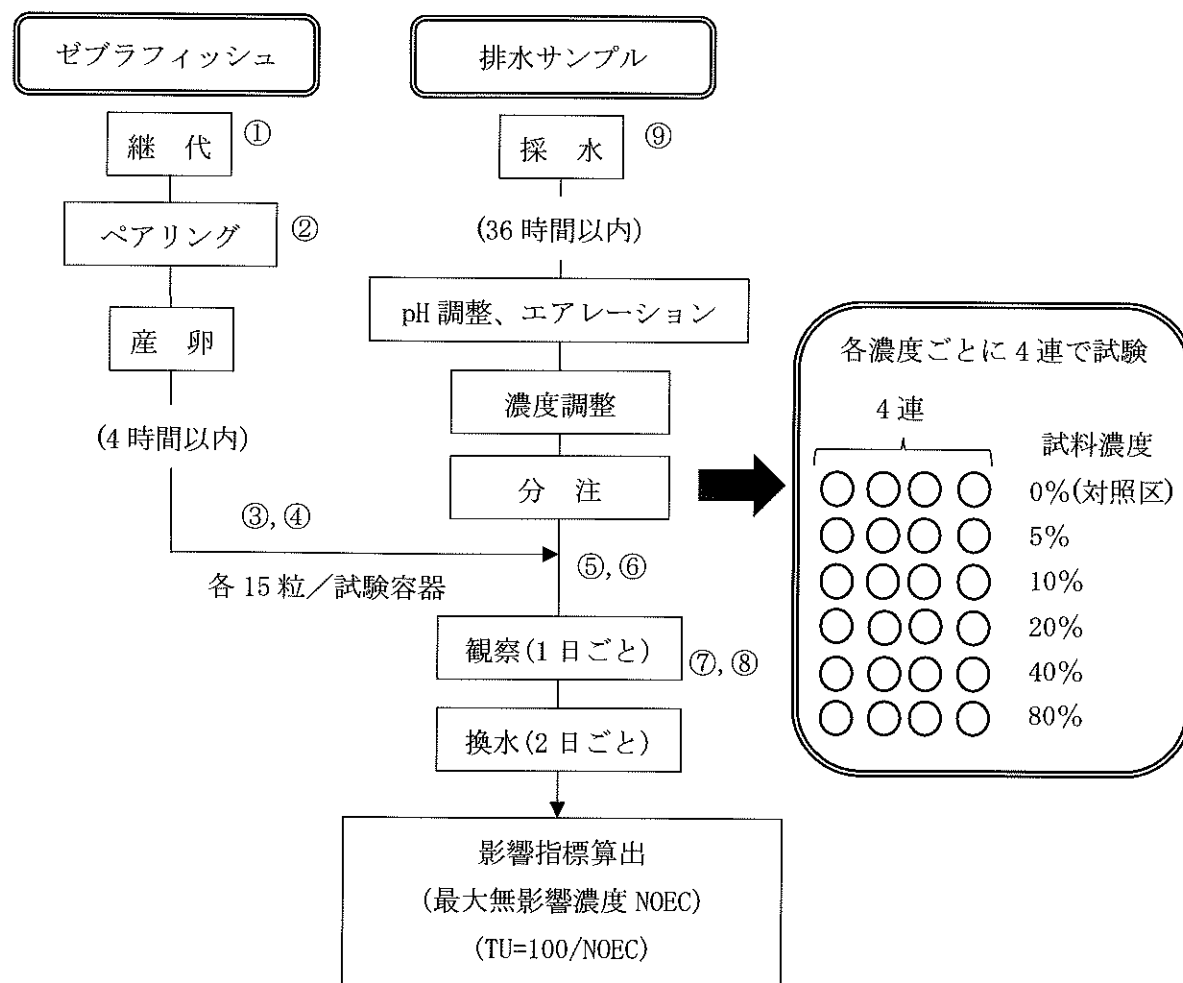
12. 添付資料

生物応答を用いた排水試験フロー図
試験中の水質測定結果の概要
有効性確認結果
排水基準項目の分析結果
試験状況写真

添 付 資 料

- ・ 生物応答を用いた排水試験フロー図
- ・ 試験中の水質測定結果の概要
- ・ 有効性確認結果
- ・ 排水基準項目の分析結果
- ・ 試験状況写真

【生物応答を用いた排水試験フロー】



①～⑨は、添付資料の試験状況写真に対応する。

参考資料：生物応答を用いた排水試験法（検討案）

（排水（環境水）管理のバイオアッセイ技術検討分科会 第三版 2015 年 03 月 20 日）

【試験中の水質測定結果の概要】

試験期間中の水素イオン濃度、溶存酸素濃度及び水温を測定した。各試験区の平均、最大及び最小濃度を表に示す。

試験期間を通して、各試験濃度区においても対照区と同様に水質は安定していた。

項目 濃度区	水素イオン濃度 (pH)			溶存酸素濃度 (mg/L)			水温 (°C)		
	平均	最大	最小	平均	最大	最小	平均	最大	最小
対照区	7.1	7.4	6.8	8.2	8.7	7.7	23.9	24.7	23.5
5%	7.1	7.3	6.8	8.0	8.8	6.4	23.9	24.7	23.4
10%	7.1	7.3	6.9	8.0	8.7	6.8	23.9	24.6	23.3
20%	7.2	7.3	6.9	8.0	8.7	7.0	24.0	24.9	23.4
40%	7.2	7.4	7.1	8.1	8.9	7.4	23.9	24.5	23.3
80%	7.3	7.4	7.1	8.1	9.0	7.4	24.1	24.8	23.3

【有効性確認結果】

試験の成立要件は以下の条件を全て満たすこととされている。

3条件とも満足しており、試験結果は有効とみなせる。

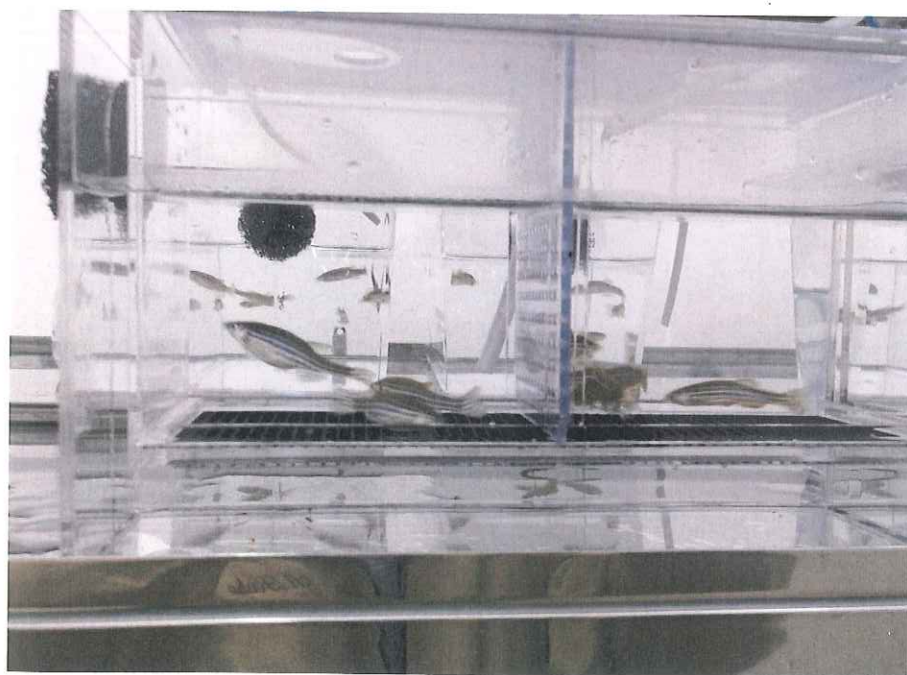
試験有効条件	実測値	合否
対照区における孵化率が80%以上	95.0%	合
対照区におけるばく露終了時の生存率が70%以上	95.0%	合
対照区における溶存酸素がばく露期間を通して飽和酸素濃度の60%以上	最小値 7.7 mg/L (飽和濃度の93%)	合

【排水基準項目の分析結果】

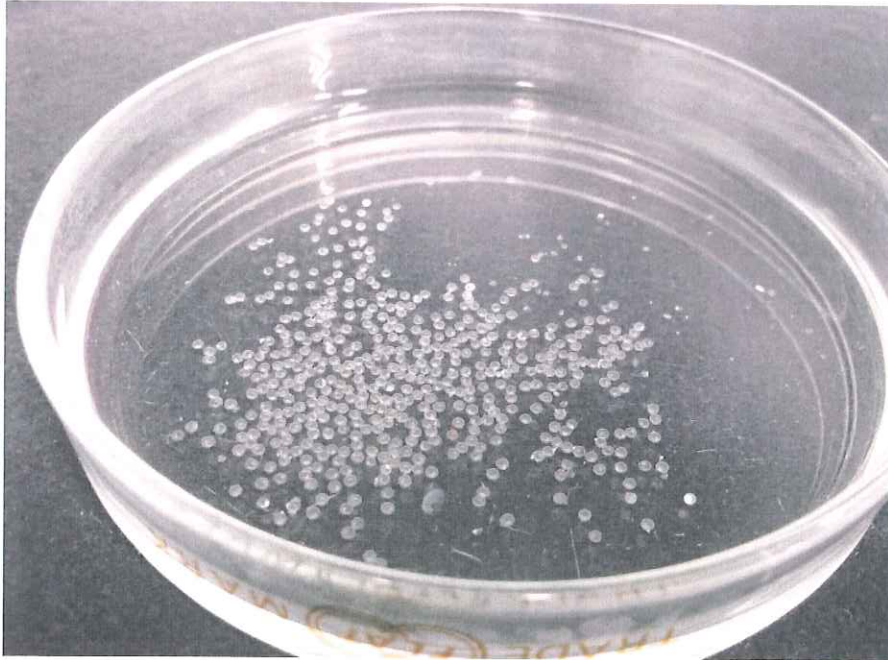
分析項目	単位	分析結果	排水基準
水素イオン濃度(pH)	-	7.2	5.8～8.6
生物化学的酸素要求量(BOD)	mg/L	8.6	25
化学的酸素要求量(COD(Mn))	mg/L	8.8	25
浮遊物質(S S)	mg/L	9	30
ノルマルヘキサン抽出物質含有量 (鉱油類含有量)	mg/L	0.5 未満	5
ノルマルヘキサン抽出物質含有量 (動植物油脂類含有量)	mg/L	0.5 未満	30
フェノール類	mg/L	0.025 未満	5
銅	mg/L	0.38	3
亜鉛	mg/L	0.02	2
溶解性鉄	mg/L	0.1 未満	10
溶解性マンガン	mg/L	0.1 未満	10
全クロム	mg/L	0.04 未満	2
全窒素	mg/L	4.3	30.6
全リン	mg/L	0.02	3.89
カドミウム	mg/L	0.005 未満	0.03
全シアン	mg/L	0.1 未満	1
鉛	mg/L	0.02 未満	0.1
六価クロム	mg/L	0.04 未満	0.5
ほう素	mg/L	0.5 未満	50
ふっ素化合物	mg/L	0.6	15
ニッケル	mg/L	0.51	-
コバルト	mg/L	0.1 未満	-
すず	mg/L	0.05 未満	-
全有機炭素(TOC)	mg/L	3.9	-
電気伝導率	mS/m	250	-
全硬度	mg/L	91	-



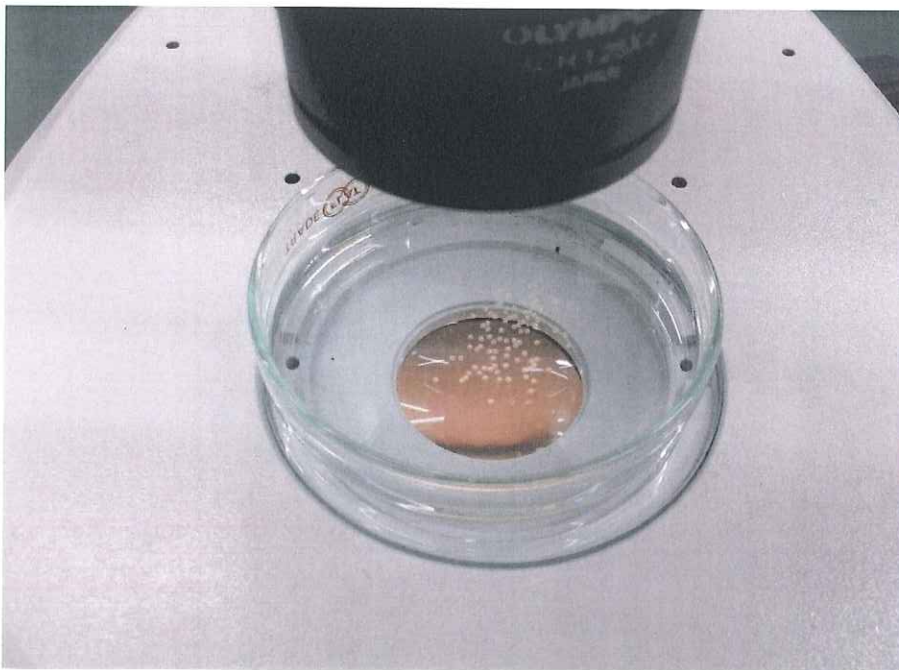
① 飼育状況



② ペアリング状況
左：雌 右：雄



③ 採卵状況



④ 受精卵の選別状況



⑤ 試験状況
ばく露状況



⑥ 試験状況
試験用培養器



⑦ 観察状況



⑧ 観察状況



⑨ 採水現場