



秋草学園短期大学

環境内運命試験 及び生態毒性試験の現状と課題

秋草学園短期大学

北野 大

(2020年9月11日)



化学物質の安全管理の在り方

1) 規制 + 自主管理

2) 事前審査 + 事後管理

易分解性試験条件の例



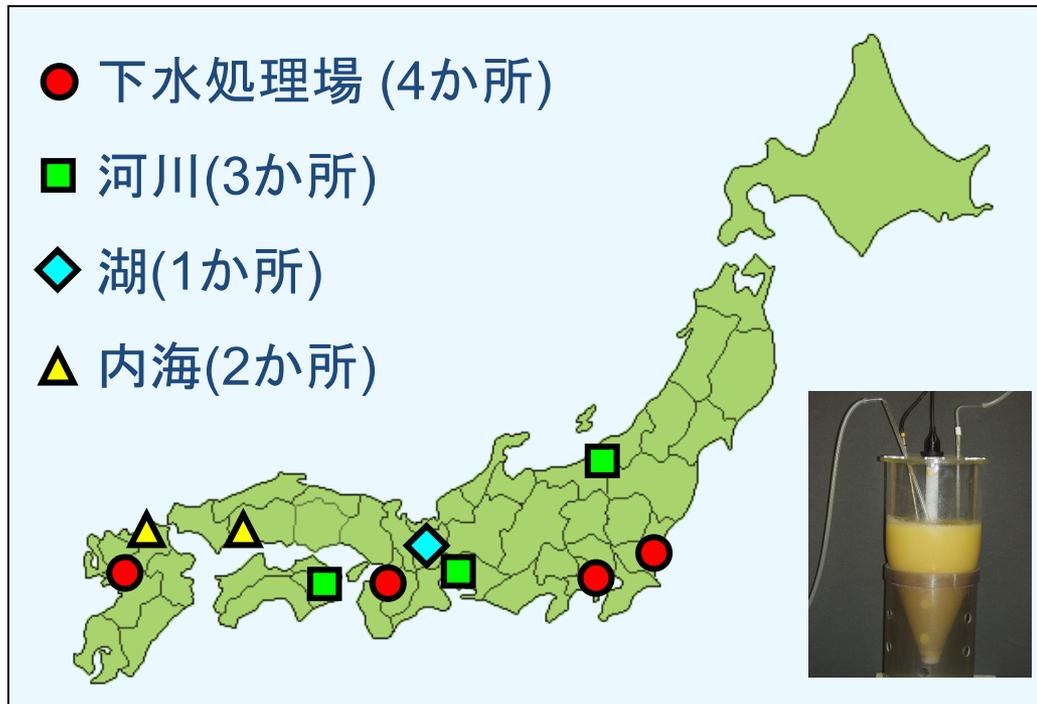
秋草学園短期大学

(OECD TG 301C)

- | | | |
|----------|--------|---------|
| 1)微生物源 | 標準活性汚泥 | 30mg/l |
| 2)試験物質濃度 | | 100mg/l |
| 3)培養温度 | | 25度C |
| 4)培養期間 | | 4週間 |
| 5)分析 | | BOD,DOC |
| | | 本体及び変化物 |
| 6)結果の表示 | | 分解度 |

活性汚泥

全国10か所から汚泥を採集・混合し、合成下水(微生物の栄養源)で培養したもの(採集は年6回実施)



下水処理場



河川





生分解性の検討事項

1) 現行の試験法で十分か？

-----標準汚泥は必須か？(試験条件の改定)

-----アニリンが標準物質でよいのか？

-----試験濃度は現行でよいか、特に微生物への毒性がある物質の場合(試験条件の改定)

2) 本質的分解性試験の導入基準は？

3) 嫌気性の試験法の開発は？

その他、

1) 光分解性試験法の開発



(OECD TG 301F)

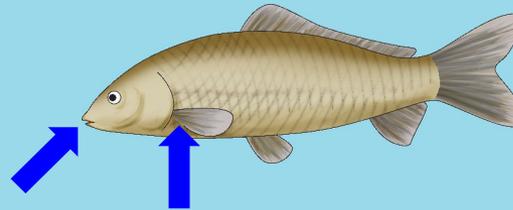
追加試験区

表2 TG301F の追加試験区の概要

	非生物区	微生物阻害区	補助物質添加区
内容	非生物的影響を確認する目的でTG301Cの非生物区と同様の試験区を設定する。	微生物への阻害性がある被験物質に対してより低濃度における生分解性を確認する目的で、濃度30mg/Lの生分解区を設定する。	難水溶性物質について、試験液中での分散状態を改善する目的で、補助物質を添加した生分解区、ブランク区及び基準物質区を設定する。
備考	特になし。	通常濃度(100mg/L)において微生物阻害が認められた場合に限り設定可能。	難水溶性物質に限り設定可能。補助物質の妥当性(生分解性及び微生物阻害性が無い)を示す必要がある。

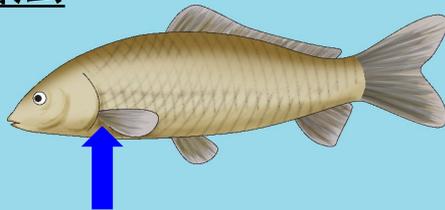
魚類の濃縮性評価手法

実環境（環境モニタリング）で得られる結果（Field-data）



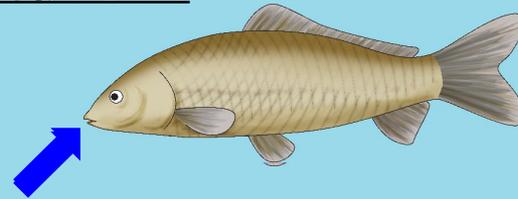
自然界の全ての経路による取り込み
BAF (bioaccumulation factor)

水暴露法



水（経鰓）からの直接的取り込み経路
BCF (bioconcentration factor)

餌料投与方法



餌（経口）からの間接的取り込み経路
BMF (biomagnification factor)

実験により得られる結果（Lab-data）



濃縮性

1) 難水溶性物質(水溶解度 0.001 mg/L 且つ $\log P_{ow} < 5$) に対して餌料投与法を導入

----- OECD/TGはあるが、行政の判断には使用しえない試験法と個人的に判断

現状: 本法による申請実績30件程度、 $BMF=0.007$ ($BCF=400 \text{ L/kg}$ 程度)を「高濃縮性でない」とする基準(BCF と BMF の相関式から $BCF=1000 \text{ L/kg}$ の BMF を求め、ラボ間でのバラツキ等の安全係数から設定) 問題は $BMF=0.007$ を超える物質の判断(高濃縮性相当の BMF 値は?)

2) BCF の判断基準は現行でよいか?

----- 脂質含量による標準化が必要、現行は BCF が 1000 L/kg を超える場合は
5%脂質含量で標準化した BCF を報告

----- 5%脂質含量で標準化した BCF が 5000 L/kg を超えると高濃縮性相当と判断

----- QSARの精度を上げるためにも、すべての BCF を脂質含量で標準化した値とすべき

----- その他、現行の判定では試験魚の成長を考慮(補正)した排泄の程度を重視

BCF が 1000 L/kg を超える場合、部位別試験の他、排泄試験が必要、成長補正した BCF が 5000 L/kg を超えると高濃縮性相当と判断、また、明確な数値は規定されていないが、成長補正した排泄半減期が例えばおよそ14日以上の場合には慎重な審査⇒ストックホルム条約に近い運用に

3) 高濃縮性物質は事実上、上市不可となる

----- これでよいか? 毒性が無くても、それを証明するための多額の費用

4) BAF を求める試験法の開発

----- スtockホルム条約では主として BAF の判断



試験生物としての条件

- 1) 生態学的重要性(位置づけ)
- 2) 適度な感受性
- 3) 実験室での飼育可能性
- 4) 年間を通じての入手の可能性



生態毒性試験

--- OECDでの考え方

1) 基礎レベル(食物連鎖上異なるレベルの3生物)

ミジンコ遊泳阻害試験、繁殖試験

魚類急性毒性試験

藻類成長阻害試験

II) 発展レベル

基礎レベルの生物での試験期間の延長

基礎レベルの生物での異なった成長段階での試験

(例 early life stage)

基礎レベル以外の生物(鳥、ミミズなど)での試験



生態毒性試験における4つのエンドポイント

生死 (death)

成長 (growth)

繁殖 (reproduction)

挙動 (behavior)

藻類成長阻害試験

生産者: ムレミカズキモ
(*Pseudokirchneriella subcapitata*)

試験の概要

段階的な濃度の化学物質を含む試験培地に増殖期の供試藻類を入れ、光照射下で72時間培養する。
24時間毎に供試藻類の生物量または細胞数を測定し、**50%生長阻害濃度 (EC₅₀)**あるいは**最大無作用濃度 (NOEC)**を求める。



ミジンコ類急性遊泳阻害試験

一次消費者:

オオミジンコ

(*Daphnia magna*)



試験の概要

段階的な濃度の化学物質を含む試験水中にミジンコの幼体を入れ、48時間保ち、供試ミジンコの半数が遊泳阻害される濃度(EC50)を求める。

魚類急性毒性試験

二次消費者

:メダカ (*Oryzias latipes*)



試験の概要

段階的な濃度の化学物質を含む試験水中に試験魚を入れ、96時間保ち、
供試魚の半数が死亡する濃度(LC50)を求める



生態毒性試験法検討点(1)

1) そもそも現行の生態毒性試験法で生態系への影響がわかるのか。

本来なら、生態系の機能と構造への影響を考えるべきだが。

2) 現行の試験法

- 個々の生物に対する主とした短期毒性の評価
- 複数の生物の共存する試験は行われたい。
- あまりにも単純化した系(水系のみ、土壌はなし)



生態毒性試験法検討点(2)

1) エンドポイントは生死、成長、繁殖、挙動
のみでよいのか？

2) 外見への変化のほかにも外見にあらわれない
影響はないのか？

例えば遺伝子レベルの変化は？



生態毒性試験結果の判定

1) 水に難溶性の物質は生態毒性なしと判断してよいのか？

溶解状態のみが毒性を発現するのか、分散状態は毒性に無関係なのか？

2) 現在の判定は飽和溶解度で毒性が出なければ毒性なしと判断。

3) 純粋の水への溶解性、分散性と自然環境中での溶解性、分散性(例えば界面活性剤などの共存物質の存在)でことなる可能性



定量的構造活性相関の導入

1) 現在のモデルは既存物質の結果をもとに構築

-----新規物質に対する予測精度が不十分

2) 新規物質に適用するためには新規物質のデータを基にしたモデルが必要

-----パーフルオロ化合物など