

# 底質環境における生態影響評価

発表者：安達 竜太 (化学物質安全部門)

## 1. 背景及び目的

環境リスク評価では、環境リスクは評価対象の化学物質の予測環境中濃度を求める暴露評価と、環境生物を用いた生態毒性試験データから、その化学物質の予測無影響濃度を求める有害性評価の掛け合わせとして求められる。一般的に、予測環境中濃度は河川等の水系での評価を主な対象とすることから、その場合の有害性評価では、藻類、ミジンコ類、魚類といった、水圏の食物連鎖の各栄養段階を代表する水生生物種に対する生態毒性試験データを用いることが基本である。一方で、評価対象の化学物質が底質へ移行する懸念がある場合は底質環境におけるリスク評価を行うことが求められる。この場合、暴露評価は底質における予測環境中濃度を算出し、有害性評価は底生生物を用いた生態毒性試験結果により底生生物に対する予測無影響濃度を求める必要がある。

一般的に、底質環境における生態影響評価は環境リスク評価において高次の評価という位置付けとなり、底生生物を用いた生態毒性試験は水生生物と比較して実施される頻度は高くない。例えば、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (以下、化審法) の生態影響リスク評価では、まずスクリーニング評価において水生生物の生態毒性試験データに基づき優先評価化学物質への指定がされたのち、リスク評価 (一次) の評価Ⅱ以降において、化学物質の性状に応じて底生生物も評価対象に追加されることになっている。

しかしながら、化審法では、これまで優先評価化学物質となった 221 物質中、令和 8 年 4 月 1 日現在でリスク評価 (一次) 評価Ⅰ段階に 88 物質、評価Ⅱ段階に 46 物質が移行しており、詳細なリスク評価へ進むにつれ、底生生物への生態影響評価が必要と判断される化学物質が明らかになりつつある。また、農薬取締法においては、近年、水生生物に対する農薬の長期暴露の影響評価が求められることになったが、ユスリカをはじめとする底生生物に対しても、長期的な影響を評価できる底質毒性試験の必要性が指摘されている。さらに近年、環境汚染物質として改めて認知されているマイクロプラスチックについても、プラスチック自体は水溶性が低く生物利用性が低い一方で、マイクロプラスチックは水面に浮遊したのち沈降し底質に堆積するため、底質環境における底生生物への影響が懸念されている。このような背景により、底質環境における生態影響を評価するための、底生生物を用いた底質毒性試験の重要性が改めて高まっている。

なお、化審法においては底生生物を用いた底質毒性試験として、既に、経済協力開発機構テストガイドライン (以後 OECD TG) 218「底質添加によるユスリカ毒性試験」が採択されている。

ユスリカは、水面付近に産卵された卵塊から孵化した幼虫が水底の底質に営巣して成長し、終齢幼虫になると水面で蛹化、そこから羽化して成虫となり、空中に飛翔する。成虫は交尾後、また、水面付近に卵塊を産み付けるといふ、底質から気相までを縦断的に循環するライフサイクルを有する (図 1)。

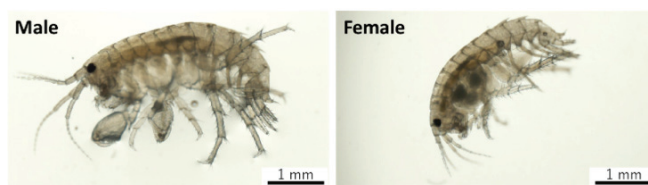


引用：第20回生態影響試験実習セミナー配布資料

図 1 セスジユスリカのライフサイクル

OECD TG 218 は、国内種のセスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*) を用いて、1 齢幼虫から羽化するまでのステージにおける化学物質の影響を調査する、最大 28 日間の試験である。本機構はこれまで、化審法に基づく優良試験所基準 (Good Laboratory Practice ; GLP) における、当該試験の国内で数少ない GLP 適合試験施設である。環境省事業などでも数多くの試験実績があり、過去には複数の農薬を用いた当該試験の結果を論文化し報告<sup>1),2)</sup>するなど、豊富な経験を有している。

一方で近年、リスク評価の精緻化のために、底質毒性試験種の拡充の取り組みがなされており、新たな底生生物試験として淡水ヨコエビ (*Hyalella azteca*) (図 2) 底質毒性試験の OECD TG 化が議論されている。



出典：OECD guideline draft

図 2 淡水ヨコエビ (*Hyalella azteca*)

ヨコエビは端脚目に含まれる小型甲殻類であり、あらゆる環境に生息する、食物連鎖における重要な餌資源生物である。ヨコエビの多くは体節が側偏しており横這いで移動する。水域の底質、砂礫の隙間等に生息し、底質の有機物の分解者としての役割をもつ。中でも、*Hyalella azteca* は古くから実験生物として多くの実績があることから、新たな底質毒性試験の対象生物となった。*Hyalella azteca* の底質毒性試験では化学物質に暴露させた後、産仔数を計数することで繁殖に対する影響も評価することになっており、OECD TG 218 よりも広いライフサイクルをカバーする設計になっている (図 3)。本機構はピレンを被験物質とする当該試験の国際リングテストに参加したため、その試験概要について以下に紹介する。

## 2. ピレンを用いた淡水ヨコエビ (*Hyalella azteca*) 底質毒性試験

### 2.1 試験方法

被験物質としてピレン (CAS No. :129-00-0) を用いて、リングテストの標準操作手順書に基づき、淡水ヨコエビ (*Hyalella azteca*) 底質毒性試験を実施した (図 3)。

被験物質を石英砂に吸着させた後、ピートモス及びはくとう土と混合して人工底質を調製し、試験容器へ分注した。これに試験用水 (SAM5-S 人工調製水) を添加し、暴露開始前に水-底質間でのピレンの平衡化を図った。なお、試験用水はかけ流しの流水式としたが、換水率が低いことから、1 日のうち一定時間のみ流水をする間欠的な流水暴露とした (半流水式)。

平衡化後、試験容器に 7~8 日齢の個体を 1 試験容器あたり 10 個体投入し、28 日間の底質暴露を行った。その後、繁殖評価のために被験物質を含まない石英砂のみの試験条件下でさらに 14 日間

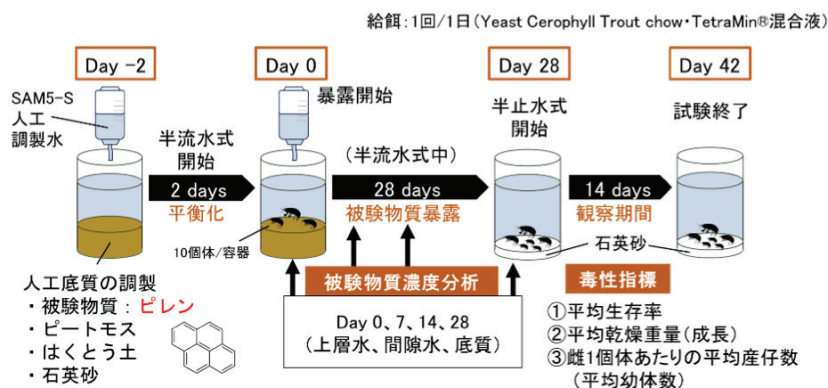
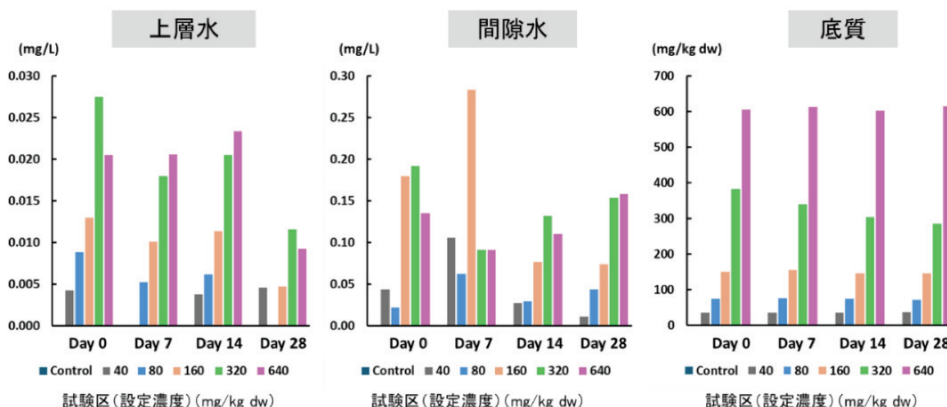


図 3 淡水ヨコエビ (*Hyalella azteca*) 底質毒性試験の概要

観察を継続した。暴露期間中、0、7、14 及び 28 日後に上層水、間隙水及び底質中の被験物質濃度を測定した。また、毒性指標として暴露終了時の各試験区における平均生存率、平均乾燥重量、雌 1 個体あたりの平均産仔数 (平均幼体数) を算出した。

### 2.2 試験結果

暴露 0、7、14 及び 28 日後における上層水、間隙水及び底質中の被験物質濃度測定結果を図 4 に示す。底質において設定濃度に対して 88.9~120%の被験物質が検出され、被験物質はほとんどが底質中に残存していた。



データの無い部分は定量下限未満 (上層水・間隙水: <0.00200 mg/L、底質: <1.49 mg/kg dw)

図 4 暴露 0、7、14 及び 28 日後の上層水、間隙水及び底質中の被験物質濃度測定結果

一方、上層水及び間隙水においては底質中と比較して相対的に低濃度であり、設定濃度に対して一部濃度相関は認められなかった。

試験生物の反応については、いずれの毒性指標においても概ね濃度依存的な低下傾向が認められた (図 5)。平均生存率については設定濃度 160 mg/kg dw (dw:乾燥重量)以上、平均乾燥重量及び平均幼体数は設定濃度 320 mg/kg dw 以上の試験濃度で有意な低下が認められた ( $p < 0.05$ )。

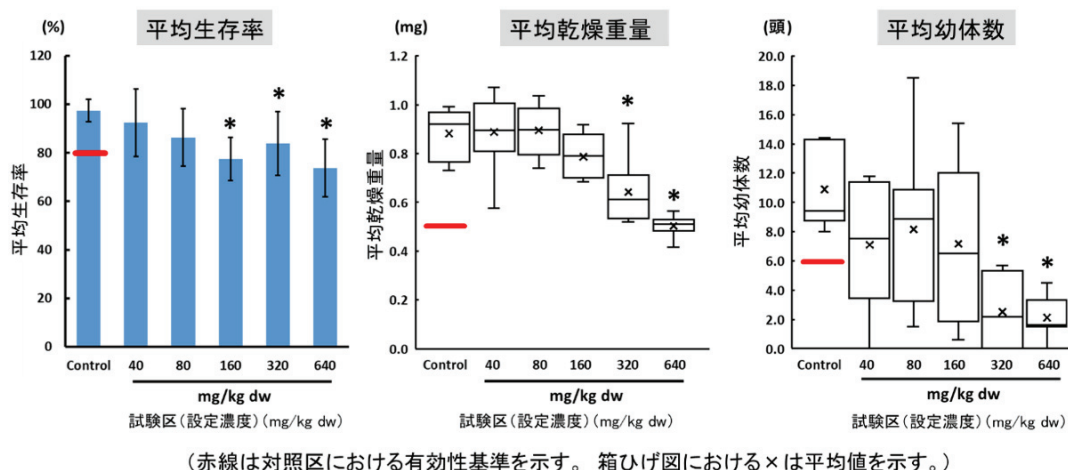


図 5 各毒性指標における試験生物の反応

図 5 に示すとおり、対照区における各指標は、有効基準値をいずれも満たしており、試験は適切な条件下で実施されたと判断された。なお、本結果をリングテストに参加した他のラボ間で比較したところ、本機構の結果は、リングテストの幹事機関である国立環境研究所の結果と概ね一致していた。

### 3. まとめ

底質環境の生態影響評価は高次のリスク評価の位置付けだが、淡水ヨコエビ (*Hyalella azteca*) を用いた新たな底質毒性試験の拡充とともに、今後、重要性が高まるものと見込まれる。

本機構は OECD TG 218 の化学物質 GLP 適合試験施設であり、今回紹介した淡水ヨコエビを用いた底質毒性試験についても取り組んでいる。水生生物を用いた毒性試験だけでなく、底生生物を用いた底質毒性試験についても、是非お問い合わせ頂きたい。

### 4. 参考文献

- 1) 久楽喬ほか. 日本農薬学会誌. 2019, 44(2), 115-123.
- 2) 久楽喬ほか. 水環境学会誌. 2020, 43(4), 127-132.