

<報 文>

生物応答を用いた排水試験法による事業場排水調査*

古閑豊和**・柏原 学**・平川周作**・志水信弘**・石橋融子**

キーワード ①WET ②ムレミカツキモ ③ニセネコゼミジンコ ④ゼブラフィッシュ

要 旨

環境省が導入を検討している生物応答を用いた排水管理手法（日本版WET（Whole Effluent Toxicity））の知見を得るために、福岡県内の事業場排水の調査を行った。その結果、淡水藻類を用いる生長阻害試験とミジンコ繁殖試験においてTUが10を超えた排水試料が3事業場あった。胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験ではTUが10を超える試料はなかった。今回の調査では単一の生物種で捉えきれなかった毒性を別の生物種で捉えることができ、複数の生物種により毒性を検知する日本版WETの有効性が示された。また、生物影響が認められた3事業場の1つについて毒性原因を探ったところ、水質測定の結果からニッケルや亜鉛が影響していることが推測された。

1. はじめに

我が国では水質汚濁防止法に規定される排水基準に基づき、排水監視を行っている¹⁾。排水基準には有害物質やその他の項目（生物化学的酸素要求量（BOD）・化学的酸素要求量（COD）等）が規定されており、分析機器等を用いた化学分析の実施により、排水水質の監視を行っている。一方、海外では化学分析以外に水生生物を用いることで、その生死や繁殖数などの『生物応答』を指標に活用した排水管理手法が検討され、導入が進んでいる²⁾。これらは米国でWET（Whole Effluent Toxicity）試験として排水監視ツールの1つとなっている²⁾。近年、我が国でも環境省が生物応答を用いた水環境の評価・管理手法（日本版WET）について議論を重ね、その導入の是非が検討されている³⁾。

我が国で検討されている生物応答を用いた排水管理手法はその具体的な試験手順が『生物応答を用いた排水試験法（検討案）』（以下、試験法）として示されており、日本版WETを用いた研究や環境省のパイロット事業で、知見が得られつつある^{4),5)}。しかしながら、原因究明や対策の検討は事業場のみで対応が難しいこと、生物影響低減策などの知見が乏しいことが指摘されている^{4),6)}。

事業場排水を対象としている日本版WETであるが、我が国における排水基準監視を担っているのは地方自治体（地方環境研究所）である。この新しい排水管理手法の

導入にあたっては、これまでの排水監視で蓄積してきた地方環境研究所の経験や知見が役立つと考えられる。そこで、WET試験の技術習得や知見収集のため2013年から国立研究開発法人国立環境研究所と地方環境研究所との共同研究（I型共同研究・II型共同研究）が実施され、2019年度には「生物応答を用いた各種水環境調査方法の比較検討」というテーマで埼玉県環境科学国際センター主導のもと、共同研究が実施されている⁷⁾。しかし、地方環境研究所における日本版WETによる水質評価事例は先進的に日本版WETを導入し事業場排水調査を実施している名古屋市や、ニセネコゼミジンコを用いた事業場排水・河川水質等の評価を実施している奈良県と和歌山県、さいたま市など一部の自治体に限られており、情報が不足している⁸⁾⁻¹³⁾。

これまで、筆者らは試験法に示された試験生物（ムレミカツキモ、ニセネコゼミジンコ、ゼブラフィッシュ）の導入を進め、生物応答試験を実施できる体制を整えてきた¹⁴⁻¹⁵⁾。そこで、本研究では日本版WETにおける試験生物を用いて福岡県内の複数の事業場排水を調査し、日本版WET手法の知見を得ることを目的とした。

2. 研究方法

2.1 排水試料について

研究に用いた排水試料は10種類（A～J）で2017年9月から2019年7月にかけて褐色ガラス瓶に採水した。排水

*Investigation of Industrial Effluent toxicity by the Bioassay protocol for Effluent testing

**Toyokazu KOGA, Manabu KASHIWABARA, Shusaku HIRAKAWA, Nobuhiro SHIMIZU, Yuko ISHIBASHI（福岡県保健環境研究所）Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences

試料は孔径60 μ mのナイロンネットフィルター（メルク株式会社製）でろ過し生物応答試験に供した。調査事業場の業種を表1に示す。業種は平成25年10月改定の日本産業分類（中分類）で示した。

表1 調査事業場の業種と試料数

業種	試料数	事業場名
食料品製造業	2	A, B
輸送用機械器具製造業	3	C, D, E
電気機械器具製造業	1	F
化学工業	4	G, H, I, J

2.2 試薬

生物応答試験に使用した試薬は富士フィルム和光純薬株式会社製のOECD培地濃縮液 I～IV（植物培養用）、硫酸ナトリウム（残留農薬・PCB試験用）である。

培地の希釈や水質測定に用いる超純水は超純水製造装置（RFU665DA, 東洋濾紙株式会社製）を用いた。

2.3 生物応答試験

2.3.1 淡水藻類を用いる生長阻害試験

淡水藻類を用いる生長阻害試験は、試験法に従い実施した。試験には国立研究開発法人国立環境研究所微生物系統保存施設から分譲されたムレミカヅキモ

（*Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35)）を用いた。これをC培地の斜面培地により継代培養し、試験にはC培地からOECD培地に接種してから約3日後の細胞密度が $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$ cells/mLに達したものを前培養液として使用した。OECD培地は、OECD培地濃縮液を超純水で希釈して使用した。OECD培地濃度は20%とした。

試験に用いた排水試料は事業場A～D, F～Jである。試験濃度は公比2として5濃度区（5～80%, 事業場Dのみ0.625～10%）を設定した。繰り返し数について対照区は6容器、試験区は3容器で実施した。藻類生長阻害試験の初期生物量は5000 cells/mLとし、培養条件は、水温が $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光強度が $100 \pm 15 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ （連続照射）で振とう培養（100rpm）を行った。生物量は培養開始から24, 48, 72時間後に粒子計測装置（CDA-1000, シスメックス株式会社製）にて細胞数を測定した。

2.3.2 ミジンコ繁殖試験

ミジンコ繁殖試験は、試験法に従い実施した。試験には国立研究開発法人国立環境研究所水環境実験施設（NIESアクアトロン）から分譲されたニセネコゼミジンコ（*Ceriodaphnia dubia*）を用いた。試験は当研究所にて維持した親虫から生まれた24時間以内の仔虫を供し

た。

試験に用いた排水試料はA～C, F, Gである。試験濃度は公比2とし、5濃度区（5～80%, 事業場Cは0.625～10%）を設定した。繰り返し数は1濃度区あたり10容器（1個体/容器）で実施した。試験開始後は、ライトボックス（カラーイルミネータープロA4, 富士フィルム株式会社製）上で供試個体の生死観察と産仔数を毎日計測した。対照区および排水の希釈水は飼育水に利用している飛驒の水（飛驒銘水株式会社製, 硬度：85.9mg/L）を用いた。

2.3.3 胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験

胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験は、試験法に従い実施した。試験にはNIESアクアトロンから分譲されたゼブラフィッシュ（*Danio rerio*）を用いた。試験には分譲後に当研究所にて継代し、維持している3～6カ月齢の親魚から採卵した受精後4時間以内の胚を供した。

試験に用いた排水試料はA～C, E～Hである。試験濃度は公比2とし、5濃度区（5～80%）を設定した。繰り返し数は1濃度区あたり4容器（15粒/容器）で実施した。試験開始後は、実体顕微鏡を用いて供試個体の胚発生の観察や、死亡及びふ化個体数を毎日計測した。ふ化後の仔魚についても遊泳異常や死亡について観察した。対照区および排水を希釈した水は飼育水（紫外線殺菌および活性炭フィルター通水後の水道水）を用いた。

2.4 統計処理

生物応答試験のエンドポイントについて最大無影響濃度（NOEC: No observed effect concentration）とx%影響濃度EC_x（x% effective concentration）について統計解析ソフトRを用いて算出した¹⁶⁾。統計処理の手法は試験法に従った。統計解析ソフトRの計算に用いる関数については既報に従った¹⁷⁾。さらに、排水試料の毒性値については、NOECの逆数である毒性単位TU（Toxic Unit, TU=100/NOEC）を算出した。

2.5 水質測定

測定項目はpH、電気伝導率（EC）、全有機体炭素（TOC）、懸濁物質（SS）、全窒素（T-N）、全リン（T-P）、金属類、イオン類、残留塩素である。残留塩素以外の検査方法は、JIS K 0102 工場排水試験法を参考に実施した¹⁸⁾。pH及びECの測定機器はpH/ECメーター（MM-60R, 東亜ディーケーケー株式会社製）を用いた。TOCは、全有機体炭素計（TOC-L, 株式会社島津製作所製）にて測定した。T-N及びT-Pの測定は分光光度計（UVmini-1240, 株式会社島津製作所製）を用いた。金属類の測定は、ICP-MS（Agilent7900, Agilent社製）を

用いた。金属類はベリリウム (Be), アルミニウム (Al), バナジウム (V), クロム (Cr), マンガン (Mn), 鉄 (Fe), コバルト (Co), ニッケル (Ni), 銅 (Cu), 亜鉛 (Zn), ヒ素 (As), セレン (Se), モリブデン (Mo), 銀 (Ag), カドミウム (Cd), アンチモン (Sb), バリウム (Ba), タリウム (Tl), 鉛 (Pb), トリウム (Th), ウラン (U) の21種類を測定した。イオン類 (ナトリウムイオン (Na⁺), アンモニウム態窒素 (NH₄-N), 塩化物イオン (Cl⁻), 硫酸イオン (SO₄²⁻) の測定は, イオンクロマトグラフ (Dionex Integriion HPIC システム, Thermo Fisher Scientific 社製) により実施した。残留塩素の測定は, 残留塩素計 (FTC-01, 株式会社カスタム製) にて測定した。

3. 結果及び考察

3.1 生物応答試験の結果

試験法による生物応答試験結果を表2~表4に示した。試験生物の状態などを考慮し, 採水後36時間以内に試験できなかった排水試料については各試験結果から除外した。なお, 最大濃度区 (80%) でも生物影響が確認されなかった試験はNOEC : >80%と示し, TUは1.25とした。

淡水藻類を用いる生長阻害試験 (表2) では輸送用機械器具製造業と化学工業の一部の試料においてTUが10~40であり, 藻類生長阻害が確認された。

ミジンコ繁殖試験 (表3) は食料品製造業, 輸送用機械器具製造業, 電気機械器具製造業の一部の試料でTUが2.5~40であり, 生物影響が確認された。

胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験 (表4) は輸送用機械器具製造業の一部の試料において, 孵化率と生存指標をエンドポイントとした場合にTUが2.5であり, 生物影響が確認された。

日本版WETではTUが10を超える排水について, 毒性同定評価や毒性削減評価を実施するという考え方が¹⁹⁾ある。この評価基準で考えると, 今回の生物応答試験でTUが10を超えた排水試料は, 淡水藻類を用いる生長阻害試験で事業場D, ミジンコ繁殖試験で事業場CとFであった。胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験ではTUが10を超える試料はなかった。今回の調査では複数種の水生生物を用いることで, 単一の生物種で捉えられなかった毒性を検知することができた。渡部ら (2015) は感受性の異なる複数の生物を用いて排水を評価する必要があることを指摘しており, 今回の結果も複数種の生物を用いることの有効性を示した²⁰⁾。

今回の調査における業種間の特徴として, 食料品製造業と化学工業はTUが10を超える生物影響が確認できなかった。

表2 淡水藻類を用いる生長阻害試験

業種	事業場名	NOEC (%)	EC ₂₅ (%)	EC ₅₀ (%)	TU
食料品製造業	A	>80	-	-	1.25
	B	>80	-	-	1.25
輸送用機械器具製造業	C	10	24	59	10
	D	2.5	9.2	13	40
電気機械器具製造業	F	>80	-	-	1.25
	G	>80	-	-	1.25
	H	>80	-	-	1.25
化学工業	I	10	53	>80	10
	J	10	76	>80	10

表3 ミジンコ繁殖試験

業種	事業場名	NOEC (%)	EC ₂₅ (%)	EC ₅₀ (%)	TU
食料品製造業	A	>80	-	-	1.25
	B	40	32	>80	2.5
輸送用機械器具製造業	C	2.5	1.5	4.5	40
電気機械器具製造業	F	5	11	18	20
化学工業	G	>80	-	-	1.25

表4 胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験

業種	事業場名	エンドポイント	NOEC (%)	EC ₂₅ (%)	EC ₅₀ (%)	TU
食料品製造業	A	Ha,P,S,T	>80	-	-	1.25
	B	Ha,P,S,T	>80	-	-	1.25
	C	Ha,P,S,T	>80	-	-	1.25
輸送用機械器具製造業	E	Ha	40	48	>80	2.5
		P	>80	-	-	1.25
	E	S	>80	-	-	1.25
		T	40	47	>80	2.5
電気機械器具製造業	F	Ha,P,S,T	>80	-	-	1.25
	G	Ha,P,S,T	>80	-	-	1.25
化学工業	H	Ha,P,S,T	>80	-	-	1.25

Ha:孵化率, P:孵化後生存率, S:生存率, T:生存指標

3.2 毒性原因の推定

複数の水生生物 (藻類とミジンコ) において生物影響 (TU ≥ 10) が確認された事業場Cを用いた毒性原因の推定を行った。毒性原因の推定には水質測定値 (表5~7) と文献値の毒性情報 (表8) を用いた²⁰⁻³⁰⁾。

金属類のうちBe, V, Cr, Cu, As, Se, Mo, Ag, Cd, Sb, Tl, Pb, Th, Uは下限値以下であった。Al, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, Baが0.0070~0.55mg/Lの範囲で検出された。またイオン類 (Na⁺, NH₄-N, Cl⁻, SO₄²⁻) は1.3~710mg/Lの範囲で検出された。残留塩素は検出されなかった。金属類のうちニッケルと亜鉛はそれぞれ0.32mg/Lと0.27mg/Lであり, 文献の毒性値 (EC₅₀) よりも高い濃度で検出された。

表5 排水水質の測定結果①

事業場名	pH	EC (mS/cm)	TOC (mg/L)	T-N (mg/L)	T-P (mg/L)
C	7.0	3.4	3.4	28	0.18

表6 排水水質の測定結果②

事業場名	Al	Mn	Fe	Co	Ni	Zn	Ba
C	0.011	0.55	0.15	0.0070	0.32	0.27	0.021

単位：mg/L

表7 排水水質の測定結果③

事業場名	Na ⁺	NH ₄ -N	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
C	470	1.3	600	710

単位：mg/L

表8 水質測定項目における毒性値 (EC₅₀)

	Al	Mn	Fe	Co	Ni	Zn	Ba	NaCl	SO ₄ ²⁻
藻類(ムレミカヅキモ)	0.1 ^{a,1)}	1.27 ³⁾	3.28-4.95 ⁵⁾	0.52 ^{c,6)}	0.187 ³⁾	0.053 ³⁾	26 ^{d,9)}	870 ¹⁰⁾	1260 ¹²⁾
ミジンコ(ニセネコゼミジンコ)	3.2 ²⁾	8.07 ⁴⁾	6.27 ⁴⁾	<0.003-0.013 ^{a,7)}	0.00086 ⁴⁾ , 0.001 ^{a,8)}	0.0933 ⁴⁾	14.5-410 ^{b,e,9)}	470-1480 ^{f,11)}	1060 ²⁾

単位：mg/L

a:NOEC, b:急性毒性値(48時間), c:生物種が*Chlorella pyrenoidosa*, d:生物種が*Lemna minor*, e:生物種が*Daphnia magna*, f:EC₂₅
 1): 引用文献 21, 2): 引用文献 22, 3): 引用文献 23, 4): 引用文献 24, 5): 引用文献 25, 6): 引用文献 26, 7): 引用文献 27
 8): 引用文献 28, 9): 引用文献 29, 10) 引用文献 30, 11) 引用文献 20
 12): 硫酸ナトリウムを用いた藻類生長阻害試験を実施して算出した。

また、イオン類のうちNH₄-Nは1.3mg/L検出されている。水生生物に対するアンモニアの毒性はpHに依存し、USEPA毒性削減評価ガイドランスの評価基準に従うと5mg/Lを超過するときに生物影響が懸念される^{31,32)}。しかし事業場CのNH₄-Nは5mg/L以下であるためアンモニアが毒性に関与した可能性は低いと考えられる。

今回、文献値に記されたよりも高い濃度で検出されたニッケルと亜鉛が毒性候補物質と推定されるものの、金属類の毒性は溶存有機物質等との関係で変化することが報告されている^{33,34)}。そのため今後、毒性同定評価や毒性削減評価を通じて毒性原因の特定を進めていく。

4. まとめ

生物応答を用いた排水試験の結果、淡水藻類を用いる生長阻害試験では輸送用機械器具製造業(事業場D)でTUが10を超える生物影響が確認された。また、ミジンコ繁殖試験では輸送用機械器具製造業(事業場C)と電気機械器具製造業(事業場F)でTUが10を超えた。なお、胚・仔魚期の魚類を用いる短期毒性試験ではTUが10を超える

試料はなかった。なお、今回の調査では食料品製造業と化学工業において生物影響(TU>10)が確認できなかった。

また、淡水藻類を用いる生長阻害試験とミジンコ繁殖試験において生物影響が確認された試料(事業場C)の毒性原因の推定を行った。その結果、ニッケルと亜鉛の水質測定値が文献値(EC₅₀)よりも高い濃度で検出されており、これらが毒性候補物質と考えられた。今後、毒性原因の特定には毒性同定評価や毒性削減評価を実施する必要がある。

5. 引用文献

- 1) 環境省：一律排水基準
<https://www.env.go.jp/water/impure/haisui.html>
 (2020.1.28アクセス)
- 2) 鐘迫典久：生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内外最新動向，株式会社エヌ・ティー・エス，東京(2014)

- 3) 環境省：生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会（第9回）の開催について
<https://www.env.go.jp/press/106556.html>
(2020.1.28 アクセス)
- 4) 生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会：パイロット事業事例集，2019
- 5) 排水（環境水）管理のバイオアッセイ技術検討分科会：生物応答を用いた排水試験法（検討案），2013
- 6) 生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会：生物応答を用いた排水の評価手法とその活用の手引き（中間とりまとめ），2019
- 7) 国立研究開発法人国立環境研究所：2019年度地方環境研究所等との共同研究応募課題一覧
<https://www.nies.go.jp/kenkyu/chikanken/kadai/h31.html> (2021.4.30 アクセス)
- 8) 長谷川絵理，山守英朋，岡村祐里子，大畑史江，長谷川瞳：生物応答を用いた名古屋市内事業場排水の実態調査と原因物質の推定，第52回日本水環境学会年会講演プログラム・広告集，p.602，2018
- 9) 長谷川絵理：第2編日本の現状 第3章生物応答を用いた環境評価事例 第3節名古屋市における生物応答を用いた排水試験，生物応答を用いた排水評価・管理手法の国内外最新動向，p.219-226，鎌迫典久監修，株式会社エヌ・ティー・エス，東京（2014）
- 10) 平井佐紀子，佐羽俊也：ニセネコゼミジンコを用いた工場排水の生物影響評価について，奈良県景観・環境総合センター研究報告・第4号，p.58-59，2016
- 11) 長尾 舞，平井佐紀子，佐羽俊也：WET法による大和川水系の生物影響評価について，奈良県景観・環境総合センター研究報告・第4号，p.63-64，2016
- 12) 山中典子，猿棒康量，梶本かおり：WET手法を用いた水環境調査のケーススタディ，和歌山県環境衛生研究センター年報第65巻，p.56-59，2019
- 13) 板倉直哉，川合裕子：生物応答手法を用いたさいたま市内河川水質調査，さいたま市健康科学研究センター年報 第12号，p.150-152，2018
- 14) 古閑豊和，柏原 学，志水信弘，石橋融子：生物応答を利用した排水水質評価手法の導入に向けた精度管理（比較）について，福岡県保健環境研究所年報第44号，p.133-136，2017
- 15) 古閑豊和，柏原 学，志水信弘，石橋融子：ニセネコゼミジンコ (*Ceriodaphnia dubia*) を用いた全排水毒性試験の検証と事業場排水への適用，福岡県保健環境研究所年報第45号，p.88-91，2018
- 16) R Core Team: R: Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available at <http://www.R-project.org/> (2015)
- 17) 古閑豊和，柏原 学，平川周作，志水信弘，石橋融子：全排水毒性試験における藻類生長阻害試験の小スケール法の検討，環境化学，**29**(2)，p.67-77，2019
- 18) JIS K 0102，工場排水試験方法（2017）
- 19) 環境省：生物応答を利用した排水管理手法の活用について，
<http://www.env.go.jp/press/files/jp/28556.pdf>，
(2017.11.9 アクセス)
- 20) 渡部春奈，林 岳彦，田村生弥，中村 中，阿部良子，高信ひとみ，荻野仁子，小塩正朗，鎌迫典久：生物応答を用いた排水試験法案の検証と事業場排水の実態調査，環境化学，**25**(1)，p.43-53，2015
- 21) 八尾泰子，井澤智生：水生生物を用いたスラッグの環境影響評価技術，JFE 技法 No. 37，p.55-59，2016
- 22) 山本裕史，池幡佳織，安田侑右，田村生弥，鎌迫典久：徳島県内の事業所排水を対象にしたTIEの事例，環境化学，**25**(1)，p.11-17，2015
- 23) 楠井隆史，Christian BLAISE，佐藤美和子，清水宏裕，田嶋美樹，筒井孝次：富山県内の産業排水の生態毒性評価，環境工学研究論文集，33，p.215-226（1996）
- 24) 環境省：平成25年度化学物質の複合影響評価に関する公開シンポジウム，
https://www.env.go.jp/chemi/risk_assess/report/140218/tatarazako_2.pdf，（2020.2.19 アクセス）
- 25) Arbildua, J. J., Villavicencio, G., Urrestarazu, P., Opazo, M., Brix, K. V., Adams, W. J., Rodriguez, P. H.: Effect of Fe(III) on *Pseudokirchneriella subcapitata* at circumneutral pH in standard laboratory tests is explained by nutrient sequestration, *Environ. Toxicol. Chem.* **36**(4), p.952~958, 2017
- 26) Lin, K. C., Lee, Y. L., Chen, C. Y.: Metal toxicity to *Chlorella pyrenoidosa* assessed by a short-term continuous test, *J. Hazard. Mater.* **142**(1-2), p.236-241, 2007
- 27) WHO: Cobalt and inorganic cobalt compounds, concise international chemical assessment document 69, 2006

- 28) 板津靖之, 高野智弘, 金 俊, 福富真実子, 楠井隆史: 事業所排水の生態毒性学的評価: 毒性原因物質の特徴化と放流先河川への影響, 環境化学, **25**(1), p.19-26, 2015
- 29) 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部: 国際化学物質簡潔評価文書 No.33 Barium and Barium Compounds (2001) バリウムおよびバリウム化合物, 2006
- 30) Santos, M. A. P. F., Vicensotti, J., Monteiro, R. T. R. : Sensitivity of four test organisms (*Chironomus xanthus*, *Daphnia magna*, *Hydra attenuate* and *Pseudokirchneriella subcapitata*) to NaCl : an Alternative reference toxicant, *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.* **2**(3), p. 229-236, 2007
- 31) 若林明子: 化学物質の毒性や濃縮性に影響を与える因子, 環境毒性学会誌, **1**(2), 27-40, 1998
- 32) USEPA: Toxicity Reduction Evaluation Guidance for Municipal Wastewater Treatment Plants, EPA/833B-99/002, 1999
- 33) Heijerick, D. G., Bossuyt, B. T. A., De Schampelaere, K. A. C., Indeherberg, M., Mingazzini, M., Janssen, C. R. : Effect of varying physicochemistry of european surface waters on the copper toxicity to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Ecotoxicology*. **14**(6), p. 661-670, 2005
- 34) 永井孝志: 環境水中重金属のスペシエーションと生物利用性, 環境毒性学会誌, **14**(1), p. 13-23, 2011