

## 〈特集〉

## 下水道分野における WET の適用とその課題

岡本 誠一郎\*, 武田 文彦, 真野 浩行

国立研究開発法人 土木研究所 水環境研究グループ  
(〒305-8516 つくば市南原 1-6 \*E-mail: s-okamoto@pwri.go.jp)

## 概要

現在、排水管理の一環として WET の導入が検討されているが、下水道への WET 適用に関する国内の知見は少ない。多様な排水が流入する下水道では、生物影響が観測された際の原因特定が困難であり、下水道への WET 適用に際しては影響源特定的手法確立が不可欠である。このため、実際の下水とその生物処理水に対してゼブラフィッシュによる WET 試験を実施し、生物処理による影響低減効果等を確認するとともに、影響が確認された流入下水に対する TIE を試みた。TIE の結果、本実験における影響物質はアンモニアと推定された。

キーワード：WET, 下水道, TRE, TIE

原稿受付 2015.5.11

EICA: 20(1) 15-19

## 1. はじめに

近年、水生生物の保全を目的として、水質環境基準の基準項目の追加が進められている。水生生物保全環境基準は、平成 15 年の水質環境基準の一部改正（環境省告示第 123 号）で、公共用水域における水生生物及びその生息又は生育環境を保全する観点から、基準項目として「全亜鉛」が設定されたのが最初である。その後、環境省では、平成 24 年 8 月にノニルフェノールを、平成 25 年 3 月には直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）を水生生物保全環境基準の項目に追加しており<sup>1,2)</sup>、それに対応した排水基準の制定も予想されている。

一方、国内外で流通・使用される化学物質の増加に伴い、個別の化学物質の毒性評価に基づく規制・管理から、バイオアッセイによる毒性評価に基づく化学物質の管理が注目されるようになってきている。バイオアッセイは、個別の化学物質等の定量などによる従来の物理化学的分析方法に対して、総合的（複合的）な影響を評価することが可能であることや、一般的に評価結果が理解されやすいなどの特徴がある。その評価手法としては、生物の個体レベル（魚類、無脊椎動物、藻類など）の影響を直接見る手法（*in vivo* 系）から、細胞（培養・単離細胞、細菌、酵母など）、遺伝子等の生物材料を用いる手法（*in vitro* 系）まで、広範囲な生物材料が用いられている。

特に生物応答を用いた排水試験（WET：Whole Effluent Toxicity test）については、平成 22 年度から環境省が生物応答を利用した水環境管理手法に関する検討会を設

置し、制度の導入や運用方法、試験法について検討が進められてきた。このうち試験法については概ね確定され、「生物応答を用いた排水試験法（検討案）」として、平成 25 年 3 月に国立環境研究所において公表<sup>3)</sup>されている。本試験法は、*in vivo* 系による試験一胚・仔魚期の魚類（ゼブラフィッシュ又はメダカ）による短期毒性試験、ミジンコ繁殖試験、淡水藻類による生長阻害試験一から構成されている。一方、制度の運用方法等については、環境省において引き続き検討が行われている状況にある。また、こうした状況を踏まえ、国立研究開発法人土木研究所（以下、「土木研究所」という）では、下水道へのバイオアッセイ適用の課題や留意点を把握するため、各種調査研究を行っている。

本稿では、現在検討が進められている生物応答手法を用いた排水試験（WET）の下水道への適用について、想定される課題を整理するとともに、土木研究所で実施した下水・下水処理水に対する WET の適用研究の概要を紹介したい。

## 2. 下水道への WET の適用～その課題

## 2.1 毒性同定評価（TIE）と毒性源評価（TSE）

生物応答手法による排水試験は、現状では毒性情報などが未知の化学物質が多く、生態系への影響など水環境中で支障が発生する恐れがあるとの問題認識から導入が検討されているものである<sup>3)</sup>。これまで実施されてきたような個別物質規制とは異なり、排水の「影響を規制」するシステムであり、これまでの規制とは概念そのものが異なる<sup>4)</sup>。

この手法を下水道に適用するとした場合、従前の個別物質規制と比べて、未規制物質や毒性情報が不十分な物質による影響も評価することが可能であること、下水道に流入する様々な物質の複合影響も含めて評価が可能であること、などのメリットが考えられる。一方で、多様な排出源から様々な物質が流入するというシステムから、WET の適用に向けては、解決すべきいくつかの課題があると考えている。Fig. 1 に下水道における水質規制の概念図を示す。下水道は下水処理場自体が水質汚濁防止法の特定期間として規制されるとともに、下水道法により自らの放流水基準を設け、それに処理水質を適合させるために必要な受入れ基準を事業場の排水に対して課すことが可能となっている。下水道法の受入れ基準は、下水処理場における処理可能物質、処理困難物質別に個別の物質に対して規定されている。

こうした既存の個別物質規制に基づく制度体系に、どのように WET にもとづく排水管理の考え方を導入するかは行政サイドの検討に委ねるとして、多様な排出主体から様々な水と物質が流入してくる下水道において、Fig. 1 に示すような規制体系の中で WET を仮に導入した場合、排水中に何らかの異状が確認された場合に行うべき毒性同定評価 (TIE: Toxicity Identification Evaluation) と、毒性源評価 (TSE: Toxicity Source Evaluation) が極めて重要となる。下水道の管理主体である全国の地方公共団体において容易に実行可能な TIE と TSE の手法を確立することは、下水道への WET 適用の必須要件と言えよう。下水道の場合、多くの事業場からの排水を受け入れている。また最近では前述の LAS のように家庭排水に多く含まれる化学物質でも生物影響が懸念されていることから、中小市町村を含む下水道管理者が、異状時に迅速かつ的確に生物影響の発生源を特定して対策を講ずることはかなりの困難を伴うと予想される。

2.2 米国の公共下水道における TRE の概要

こうした TIE や TSE などを含む一連の手順は、毒

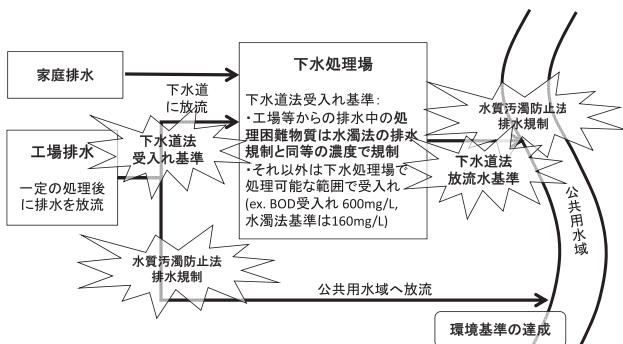


Fig. 1 Overview of the Water Quality Regulations on Sewerage System in Japan

性削減評価 (TRE: Toxicity Reduction Evaluation) と呼ばれている。以下では、既に WET が導入されている米国の公共下水道における TRE 手法の概要を見ていきたい。

米国 EPA は 1999 年に公共下水道の下水処理場に対する TRE のガイダンスを公表している<sup>5)</sup>。本ガイダンスで示される下水処理場における TRE の項目は Table 1 のとおりである。WET 試験の結果が基準を超過する場合、TRE によってその影響を軽減する必要がある。TRE は米国 NPDES の水質基準の超過を引き起こしうる排水の原因調査と影響の低減措置を決定するために行われる。

排水中の主な生物影響物質は Table 2 に示すように塩素、アンモニア、無極性有機物、金属類、界面活性剤、全溶解固形分 (Total Dissolved Solids, TDS)、その他化学的添加物に区分されている<sup>5)</sup>。Fig. 2 には TIE のフローを示した。Phase I の毒性特性解析 (Toxicity Characterization) では、最初に初期毒性試験を実施し、試験水に生物への急性毒性が認められた場合、Table

Table 1 Components of the TRE at Municipal WWTP in USA

手順	項目	内容
1	情報とデータ収集	公共処理場のデータ (排水毒性データ、処理場の設計容量、処理能力、作業と維持管理の実施) 前処理プログラムデータ (河川中排水濃度、業者の許可、前処理検査レポート、監視と法令順守レポート)
2	施設性能評価	公共下水処理場の性能評価
3	毒性同定評価 (TIE)	毒性試験による排水毒性の原因となる化学物質 (群) の推定・解明
4	毒性源評価 (TSE)	下水管路内の排水、業者や商業施設等由来の排水の分析
5	毒性制御評価 (TCE)	排水毒性削減のための対策を考案し、最も実行可能な手法を選択
6	毒性制御施行	毒性制御技術の施行、及び TRE や排水毒性基準を満たしているかどうかを監視

Table 2 Toxicants Identified in POTW Effluents

毒性物質	毒性発現が懸念される濃度	潜在源
塩素	0.05~1 mg/L	公共下水処理場の消毒過程
アンモニア	NH <sub>3</sub> -N として 5 mg/L	家庭あるいは工業由来 公共下水処理場汚泥処理副流
無極性有機物 (ダイアジノン、クロルピリホス等の有機リン殺虫剤など)	ダイアジノン: 0.12~0.58 μg/L クロルピリホス: 0.03 μg/L	自宅所有者、アパート、 獣医、害虫駆除、芝生 の手入れ、営利事業
金属 (カドミウム、銅、クロム、 鉛、ニッケル、亜鉛など)	物質により異なる	公共下水処理場の処理 添加物 工業由来
処理化学添加物 (脱塩素物質やポリマー など)	物質により異なる	公共下水処理場における 消毒、脱塩、汚泥処理、 固形物浄化
界面活性剤	物質により異なる	工業由来
全溶解固形分 (Total Dissolved Solids, TDS)	1000~6000 μghos/cm エンドポイント、試験生物、 TDS 構成物質により異なる	工業由来、汚泥処理副流

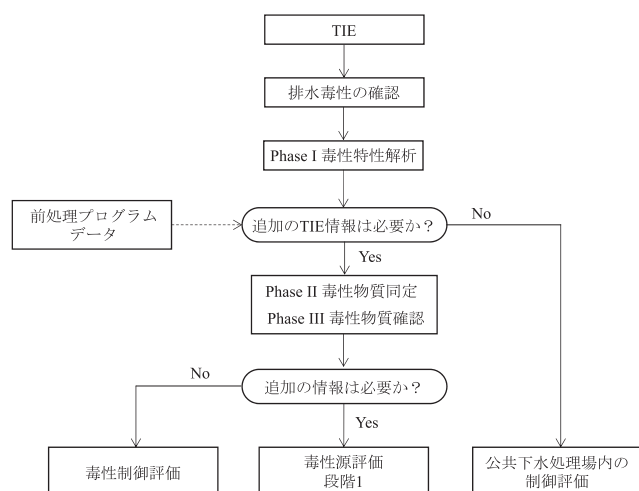


Fig. 2 TIE flow diagram for municipal wastewater treatment plants

Table 3 Characterization of Effluent Toxicity by Bench-top Treatment Tests

	pH	ろ過	ばっ気	SPE	チオ硫酸 ナトリウム	EDTA	備考
酸化物			○		○		4℃保存で時間とともに生物影響消失
アンモニア	○ <sup>1</sup>						
無極性有機物				○			SPEカラムのメタノール溶出物に毒性あり
界面活性剤		○	○	○			4℃保存で時間とともに生物影響消失
陽イオン金属		○ <sup>2</sup>		○	○	○	
全溶解固形分							

○：生物影響が低下 ○<sup>1</sup>：pHが低いほど生物影響小  
 ○<sup>2</sup>：pH調整とろ過を組み合わせると生物影響低下  
 SPE：固層抽出 (Solid Phase Extraction), EDTA：エチレンジアミン四酢酸

3に示した前処理を行った試験水と処理をしなかった試験水の結果を比較し、原因となる物質(群)を評価していく。また、Phase IIでは無極性有機化合物、アンモニア、陽イオン、塩素、ろ過除去される物質などを同定するために行われる。さらにPhase IIIでは、Phase IIで同定された物質について、生物影響と原因物質濃度との相関、試験生物の症状の観察、生物種の感受性の評価、疑わしい物質によるスパイクテスト、全毒性の原因となる物質のマスマランス評価により原因物質の確認を行う、とされている<sup>5)</sup>。

米国では早くからWETの導入が進められ、こうしたガイダンス等の整備も進んでいるが、日本国内では、事業場排水におけるWET試験の適用研究事例は見られる<sup>6-8)</sup>が、下水や下水処理水に対する事例は極めて限られている<sup>9)</sup>。今後は、下水道分野におけるTIEやTSEさらには対策の評価と実行方策(Toxicity Control Evaluation/Implementation)などについての知見の蓄積とその評価手順の確定が必要になると考えられる。このため土木研究所では、以下に示すような下水道における生物応答に関する試験研究を行いつつ、知見の集

積に努めているところである。

### 3. 生物応答試験の下水への適用例

#### 3.1 下水処理による生物影響の低減効果の確認

##### (1) 試験の目的と方法

下水処理による生態影響の変化を確認することを目的として、実際の下水を用いた生物応答試験を行った<sup>10)</sup>。茨城県内のA下水処理場に設置した活性汚泥処理

実験装置において、流入下水、生物処理水(二次処理水)、塩素処理水を採水した。1回目(2013年12月実施)はスポット採水、2~3回目(2014年1月、2月実施)は24時間連続採水した。採水後、直ちに0.22μmポアサイズのフィルターを用いて減菌ろ過を行い、国立環境研究所による試験法<sup>3)</sup>に従ってゼブラフィッシュによる生物応答実験を行った。

対照系の水は脱塩素水道水(1回目)、pH調整蒸留水(2~3回目)とした。それぞれの試料水の割合が5、10、20、40、80%となるような希釈水により試験を行った。ゼブラフィッシュの受精卵はいずれの試験水も10個/連、試験は4連とした。試験終了後、以下の式(1)と(2)に基づき各試験水におけるふ化率と生存指標を求めた。

$$\text{ふ化率} = \frac{\text{最大ふ化所要日数での総ふ化仔魚数}}{\text{供試卵数}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{生存指標} = \frac{\text{ふ化率} \times \text{ふ化後生存率}}{100} \quad (2)$$

また、ふ化率と生存指標に対する試験水の無影響濃度NOEC(No Observed Effect Concentration)を求め、NOECに基づき各試験水の生態影響を比較した。

##### (2) 試験結果と考察

各試験水のふ化率と生存指標のNOECに及ぼす影響と塩素処理水の総残留塩素濃度をTable 4に示す。流入下水では、1回目のふ化率のNOECが20%、2回目の両指標が40%となり、ゼブラフィッシュに対する影響が確認された。しかし生物処理水ではいずれもNOECが80%となったことから、活性汚泥法による生物処理によってゼブラフィッシュに対する生態影響

Table 4 No Observed Effect Concentration (NOEC) on embryo and sac-fry stages of *Danio rerio*

		1回目	2回目	3回目
流入下水	ふ化率	80%	40%	80%
	生存指標	20%	40%	80%
生物処理水	ふ化率	80%	80%	80%
	生存指標	80%	80%	80%
塩素処理水	ふ化率	80%	80%	80%
	生存指標	80%	80%	80%
総残留塩素濃度 (mg/L)		0.15	0.11	0.55

が低減していたと判断された。また、本研究で用いた塩素処理水の総残留塩素濃度は 0.11~0.55 mg/L の範囲であったが、塩素処理水の NOEC は生物処理水と同様に両指標で 80% であったことから、上記の濃度の範囲では塩素処理によるゼブラフィッシュへの生物影響は生じないと考えられた。

### 3.2 流入下水に対する TIE の試行

#### (1) 試験の目的と方法

本研究では、影響物質に関する基礎的知見の収集を目的とし、TIE を組み合わせた生物応答試験を行った<sup>11)</sup>。3.1 と同じ A 処理場に設置した活性汚泥処理実験装置において、2014 年 10 月に流入下水、処理水を採水した。試験は文献<sup>3)</sup>の方法に従い、試験条件と方法は 3.1 の試験と同様として、ゼブラフィッシュによる試験を行った。試験終了後、各試験水におけるふ化率と生存率を求めた。

生物影響が見られた試料水に対しては、EPA 資料<sup>12)</sup>を参考に TIE を行った。試験水に対しチオ硫酸ナトリウム添加 (5 mg/L)、EDTA 添加 (0.25 mg/L)、ばっ気 (試験水 1 L/(1 L air/min)、1 時間)、ろ過 (1.0  $\mu\text{m}$  ポアサイズ)、pH 調整 (pH 約 7.4  $\rightarrow$  6.6 に調整) し、上記の試験に供した。また、SPE カラム (Sep-Pak C18, Waters) を用い、試験水を 1.0  $\mu\text{m}$  ポアサイズフィルターでろ過後に SPE カラムに通水したもの (SPE カラム通過水)、及び SPE カラムに吸着した物質をメタノールで溶出し、脱塩素水道水に添加したもの (メタノール溶出物) も試験した。

#### (2) 試験結果と考察

流入下水と放流水に対する試験結果を Fig. 3 に示す。対照系と比較し、放流水は全ての系でふ化率、生存率いずれも有意差は無く ( $p > 0.05$ )、流入下水は 80% の系のみ対照系に比べ生存率が有意に低下 ( $p < 0.05$ ) していた。そこで流入下水 80% の試験水に対し、TIE を行った (Fig. 4)。ふ化率では全ての系で対照系と同等であった ( $p > 0.05$ )。生存率では無処理の系は対照系に比べ有意に低下した ( $p < 0.05$ )。無処理に比べてメタノール溶出物及び pH 調整の系で有意に生存率が増加した ( $p < 0.05$ )。またメタノール溶

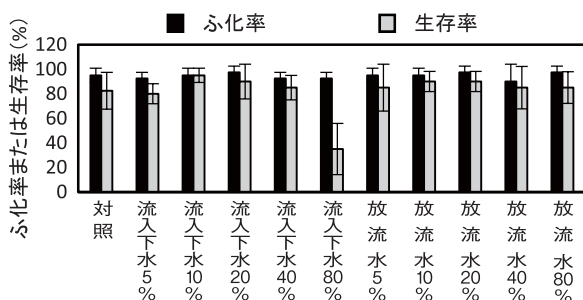


Fig. 3 WET test Results to Influent and Effluent

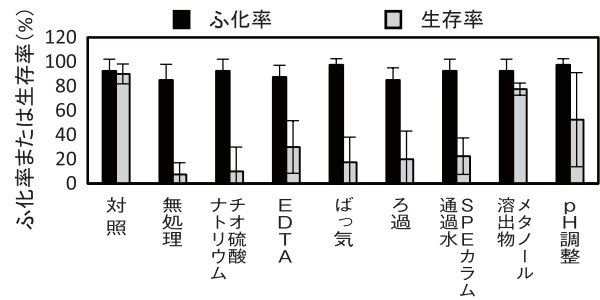


Fig. 4 Result of TIE Test on Influent Wastewater (diluted by 80%)

出物の系は対照系とも同等であった ( $p > 0.05$ )。

本研究で使用したカラムは無極性物質を吸着するものであるが、メタノール溶出物の系では対照系とふ化率と生存率が同等となることから、流入下水中の無極性物質は無影響であると分かった。一方、pH 調整の系での結果は生物影響の改善を示すものであった。流入下水原水 (100%) のアンモニア態窒素濃度は 15.1 mg/L と高かったこと、pH を低下させると生物影響の強い非イオンアンモニアの割合が低下する<sup>12)</sup>ことから推定して、この流入下水によるゼブラフィッシュの生存率の低下はアンモニアが主な原因物質であると考えられた。

## 4. おわりに

土木研究所では、WET の制度検討の動きも視野に入れつつ、下水道への適用の際に特に重要となる TIE や TSE に関する知見を得ることを先行して、本稿で紹介したような調査研究を進めている。しかし、たとえば下水処理水の放流先の影響調査のあり方の検討や、放流後の希釈による生物影響の変化に関する知見の収集など、検討すべき課題は多く残されている。全国の下水道管理者が WET 試験を実施できるような体制をどのように構築するかも、実施上の大きな課題である。

土木研究所では、引き続き関係機関とも連携しながら、WET などのバイオアッセイに関連する知見の収集に向けた調査研究を進めていく予定である。

#### 参考文献

- 1) 中央環境審議会水環境部会水生生物保全環境基準専門委員会：水生生物の保全に係る水質環境基準の項目追加について (第 1 次報告)  
[http://www.env.go.jp/council/09water/y090-29/mat02\\_1.pdf](http://www.env.go.jp/council/09water/y090-29/mat02_1.pdf) (2012)
- 2) 中央環境審議会水環境部会水生生物保全環境基準専門委員会：水生生物の保全に係る水質環境基準の項目追加について (第 2 次報告)  
[http://www.env.go.jp/council/09water/y090-30/mat02\\_2.pdf](http://www.env.go.jp/council/09water/y090-30/mat02_2.pdf)

- (2012)
- 3) 国立環境研究所・環境省：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（2013）
  - 4) 鎌迫典久：新しい排水管理手法（WET）について，第35回環境・公害研究合同発表会，神奈川県環境科学センター  
<http://www.k-erc.pref.kanagawa.jp/center/gakkai/kennishi23-7.pdf> (2011)
  - 5) USEPA: Toxicity Reduction Evaluation Guidance for Municipal Wastewater Treatment Plants (1999)
  - 6) 楠井隆史他：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，Vol. 33, pp. 215-226 (1996)
  - 7) Kusui et. al.: Whole Effluent Toxicity Assessment of Industrial Effluents in Toyama, Japan with a Battery of Short-term Chronic Bioassays, *Journal of Water and Environmental Technology*, Vol. 12, No. 1, pp. 55-63 (2014)
  - 8) 渡部春奈他：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，Vol. 25, No. 1, pp. 43-53 (2015)
  - 9) 山本裕史他：下水処理施設放流水中の残留塩素に着目した毒性同定評価，土木学会論文集 G, Vol. 69, No. 7, pp. III375-III384 (2013)
  - 10) 武田文彦，真野浩行，北村友一，小森行也，岡本誠一郎：下水の魚類と藻類に対する生態影響に及ぼす生物処理の効果，日本水処理生物学会第51回大会要旨集 (2014)
  - 11) 武田文彦，真野浩行，北村友一，小森行也，岡本誠一郎：生物応答試験による下水中の生物影響化学物質の推定，第49回日本水環境学会年会講演要旨集，p. 165 (2015)
  - 12) USEPA: Toxicity Identification Evaluation: Characterization of Chronically Toxic Effluents, Phase I (1992)