

# 排水等の毒性削減・毒性同定手法と下水道への適用の試み\*

澤 井 淳 高 梨 啓 和

## 1. はじめに

生物を用いた水環境の評価、管理手法が環境省で検討されている。評価手法は米国、カナダ、ISO等の方法を参考に検討されている。管理方法については、自主管理制度が検討されているが、排水等に毒性がみられた場合、その毒性を低減させることが望ましい。

米国の生物を用いた排水の評価、管理制度であるWET (Whole Effluent Toxicity) では、工場排水等に基準を超える毒性がみられた場合、毒性を低減させるため、原因究明、毒性低減に向けた対応策の実施が義務付けられている。排水等の毒性の原因を特定し、毒性低減対策を検討、実施し、対策の効果を確認する一連の手法が毒性削減評価 (TRE: Toxicity Reduction Evaluation) である。排水、下水処理水についてそれぞれガイドラインが作成され、運用されている。また、既存の情報等から毒性の原因がわからない場合、毒性低減対策を検討するための情報を得るため、毒性の原因物質 (群) を同定する。この手法が毒性同定評価 (TIE: Toxicity Identification Evaluation) であり、ガイドライン化されている。

本稿では、欧米で実施されている排水等の毒性削減の手法および毒性原因物質 (群) の同定手法を紹介するとともに、国内での実施事例、現行の毒性削減手法の課題および網羅的な機器分析を活用した下水試料中の毒性原因物質探索の試みについて紹介する。



Atsushi Sawai  
環境学修士  
平成15年 横浜国立大学大学院環境情報学府修了  
同年 国土環境(株)環境創造研究所リスク評価グループ  
18年 独立行政法人土木研究所水環境研究グループ水質チーム専門研究員  
20年 いであ(株)環境創造研究所リスク評価部研究員  
27年 同主査研究員



Hirokazu Takanashi  
博士 (工学)  
平成7年 横浜国立大学大学院博士課程後期中途退学  
同年 大分大学助手  
13年 鹿児島大学助教授  
16年 同大学准教授

\* Toxicity Reduction Evaluation (TRE)/Toxicity Identification Evaluation (TIE) Methods and Their Application to Sewerage

## 2. 排水等の毒性削減・毒性同定手法

### 2.1 米国

#### (1) 工場排水の毒性削減評価

米国では工場排水の毒性削減のためのTRE手法<sup>1)</sup>が1989年にまとめられ、使用されている。TREは図1に示す6段階で行われる。まず、流入・流出水のモニタリングデータ、施設・工程等の情報、データを収集する。これらの情報、データから、適切な運転管理方法となるよう是正措置を行い毒性削減ができたか確認する。是正措置としては、施設の運転管理の改善、工程や排水処理等で使用する化学物質の代替、排水処理システムの改善を検討する。それでも毒性が削減されない場合、TIEを実施し、毒性原因物質を絞り込む。毒性原因物質が絞り込めたら、原因物質に着目し、発生源での毒性削減方法を検討する原因物質アプローチ、または最終放流水の処理方法を検討する処理アプローチにより、毒性削減方法を評価し、最適な方法を選択する。最後に、毒性削減方法を実施することで排水の毒性が削減されたか確認する。追跡調査を実施し、毒性削減されたことを確認する。

#### (2) 下水処理水の毒性削減評価

下水処理水の毒性削減のためのTREガイドンスが1989年に作成され、その後ケーススタディを踏まえて1999年に改訂されている<sup>2)</sup>。TREは図2の流れで行われる。

まず、下水処理水の毒性に関連する情報および分析データを収集する。下水処理場の運転データ、処理施設の性能、工場からの排出情報等を、下水処理場の施設性能評価に用いる。施設性能評価では、前処理プログラムの見直しおよび下水処理性能の評価が行われる。前処理プログラムの見直しには工場からの排出情報等を用い、処

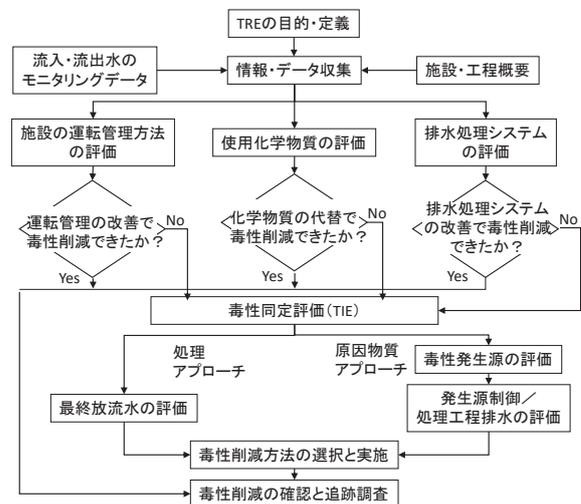


図1 工場排水の毒性削減評価 (TRE) の流れ<sup>1)</sup>

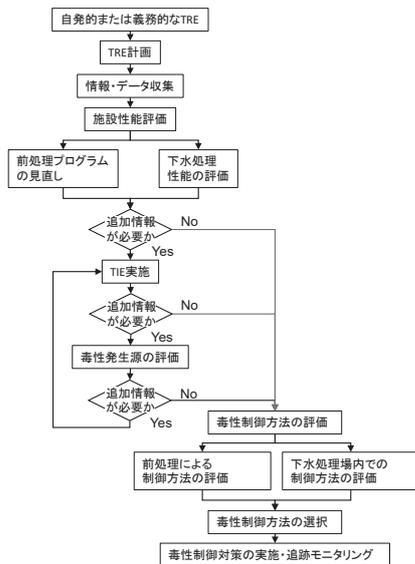


図2 下水処理水の毒性削減評価 (TRE) の流れ<sup>2)</sup>

理場内に毒性の原因となりうるものが流入していないか確認する。下水処理性能の評価には、下水処理場の運転データ、処理施設の性能等のデータを用い、現状の施設および運転方法に不備がないか確認する。処理施設の性能が下水処理水の毒性に関係していない場合、または処理方法を改善しても毒性が削減されない場合、TIEを実施し毒性原因物質を絞り込む。TIEの結果を踏まえて毒性発生源の評価が行われる。TIEで毒性原因物質が絞り込めた場合、化学物質に着目した追跡が行われ、原因物質が絞り込めない場合、毒性に着目した追跡が行われる。発生源の追跡は2段階で行われる。Tier Iでは主要な幹線を調査し毒性原因物質または毒性の原因を探索する。Tier IIではTier Iで毒性が高いと判明した幹線の上流にある枝線を調査する。毒性原因物質または毒性に関係のない幹線・枝線を除外することで、毒性原因物質または毒性に寄与している発生源を探索する。毒性の原因が同定できたら制御方法を検討する。複数の方法から技術およびコストに基づき選定する。毒性原因物質または毒性の発生源が同定できた場合、局所的な基準の設定を検討する。下水処理場内への対策が現実的である場合、処理可能性を試験し既存施設の最適化、処理の追加等を検討する。最後に、毒性削減方法を実施することで下水処理水の毒性が削減されたか確認する。また、追跡モニタリングを実施し、毒性が削減されたことを確認する。

### (3) 毒性同定評価

米国のTIEは図3のようにPhase I～IIIの3段階で実施される。Phase I<sup>3)</sup>では、毒性の原因物質の特徴解析を行う。特徴解析は、特定の化学物質群が原因となる毒性を削減するように計画された物理的、化学的処理を排水に施し、排水の毒性が低減された処理の種類から毒性を引き起こす成分の特徴を調べる手法である。物理的、化学的処理として、ろ過、エアレーション、pH調整、キレート剤添加、還元剤添加、固相抽出が行われる。

Phase II<sup>4)</sup>ではPhase Iで非極性有機物、アンモニア、金属、塩素が原因と疑われた場合に、それらが毒性の原因物質であるか化学分析の結果も踏まえて推定する。非極性有機物はC18樹脂に吸着させメタノールで溶出することで回収する。この際、メタノール濃度を100%から

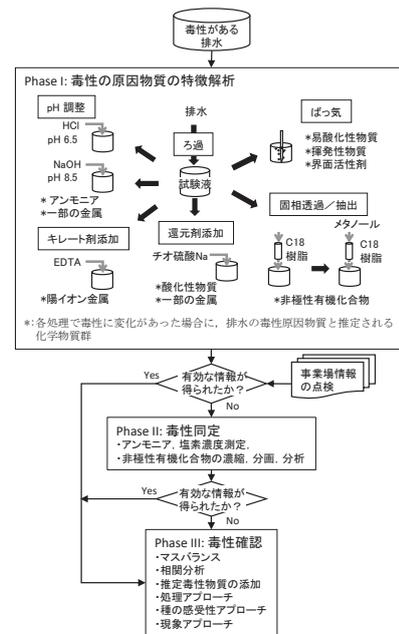


図3 毒性同定評価 (TIE) の流れ<sup>3~5)</sup>

20%まで変えて溶出し分画を行う。溶出液を毒性試験と機器分析に用いることで、毒性の原因となっている非極性有機物を同定する。

Phase III<sup>5)</sup>ではPhase IおよびPhase IIで推定された毒性原因物質(群)が排水等の毒性の原因となっていることを確認する。確認方法として、相関アプローチ、症状アプローチ、試験生物種の感受性アプローチ、推定した化学物質の添加アプローチ、マスバランスアプローチ等があり、単独または複数の方法を組み合わせて実施される。

### (4) 毒性削減・毒性同定手法の課題

米国におけるTREの成功率が2010年に調査されている。テキサス州下水道庁協会(Texas Association of Clean Water Agencies)、テキサス州水利協会(Texas Water Conservation Association)およびテキサス州水環境協会(Water Environment Association of Texas)が情報公開制度を利用して入手した77事例を解析している<sup>6)</sup>。表1に1990年～2010年に米国で実施されたTREのうち、情報公開された77事例の状況を示す。排水の毒性が削減または消失した事例の割合は工場排水で60%、下水処理水で35%であり、下水処理水のTREの成功率が低い。下水処理場でTREが成功した11事例の概要を表2に示す。9事例で毒性原因物質(群)を同定しており、原因が同定できればTREの成功率が上がると考えられる。しかし、下水道のように多種多様な化学物質が流入する場合、その処理水の毒性原因同定は、米国のTRE、TIE手法だけでは困難であると考えられる。

表1 米国における毒性削減評価 (TRE) の実績<sup>6)</sup>

TRE事例総数	毒性が削減された	毒性が消失した	毒性が完全に削減されていないまたは作業中	毒性が削減されたか不明
工場	9(45%)	3(15%)	4(20%)	4(20%)
下水処理場	11(19%)	9(16%)	24(42%)	13(23%)
合計	20(26%)	12(16%)	28(36%)	17(22%)

表2 米国における下水処理場での毒性削減成功事例<sup>6)</sup>

州	下水処理場名	TRE実施期間	毒性同定	毒性原因	毒性制御方法または毒性低減の要因
カリフォルニア	Inland Empire Utilities Agency	1996-1998	可	農業類	施設運転方法の改善
ノースカロライナ	Durham, City of	1989-1994	TIE未実施	—	—
ノースカロライナ	Reidsville, City of	1992-1998	否	—	処理法改善, 排出先の移動
オクラホマ	Lawton, City of	1991	可	ダイアジノン	家庭/公衆への教育
サウスカロライナ	Blacksburg, Town of	2004-2007	可	亜硝酸	下水処理場工程の変更
ウィスコンシン	Grantsburg, Village of	2003-2005	可	アンモニア, 銅, 亜鉛および有機化合物	—
ウィスコンシン	Mayville, City of	2003-2005	可	チーズ製造工場の洗浄剤	洗浄剤使用量の削減
ウィスコンシン	Monroe, City of	1997-1999	可	インク製品	工場閉鎖
ウィスコンシン	Oconomowoc, City of	2002-2005	可	製造業	製造業工程の変更
ウィスコンシン	Ripon, City of	2004-2005	一部可	塩素	塩素の基準設定, 毒性原因削減計画の要求
ウィスコンシン	Watertown, City of	1998-2001	可	界面活性剤	下水処理場改修

## 2.2 欧州

欧州では、毒性原因物質の推定に Effects-directed analysis (EDA) が使われている。機器分析による毒性原因物質の一般的な定量分析では、想定した標的物質の濃度を測定するため、毒性に寄与している有機化合物が試料中にあったとしても、それが想定外の物質であれば測定できない。EDAは、この環境汚染物質のモニタリングにおけるジレンマを解消するために作られた方法である。また、水枠組み指令 (Water Framework Directive) の観点から、規制対象物質が増え続けることに対処する方法として EDA の適用について議論されている<sup>7)</sup>。

EDAでは、膨大な数の化学物質の中から毒性と関係のある有機化合物を絞り込むため、図4のように分画した試料の毒性試験および化学分析を行う。また、毒性のある分画試料中の化学物質濃度を機器分析で測定する。EDAでは非常に多くの試料について試験、分析するため、ハイスループットな手法であることが望ましい。また、生物への作用メカニズムに関する情報は、未知の毒性物質の同定の際に有用である。このため、毒性試験として細胞等を用いた試験管内試験 (*in vitro* 試験) が行われることが多い。

## 3. 国内での毒性削減・毒性同定手法の事例

### 3.1 工場排水の毒性削減・毒性同定事例

米国の TRE, TIE 手法を用いて排水の毒性原因物質を推定または同定している事例がある。板津ら<sup>9)</sup>は、金属製品製造業および化学工業の工場排水について TIE Phase I の毒性原因物質の特徴解析を行い、ニッケルおよびアンモニアが原因であると推定している。山本ら<sup>10)</sup>は2事業所の工場排水について TRE, TIE を実施し、排水処理 (凝集沈殿) で用いる無機系処理剤および工程で発生する無機系イオンの影響が大きいと報告している。

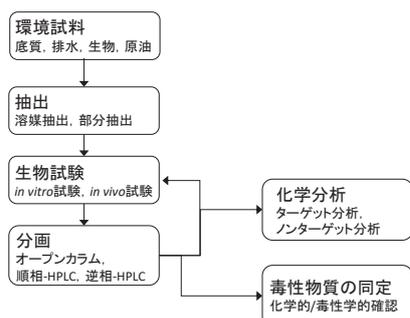


図4 Effect-directed analysis (EDA) の流れ<sup>8)</sup>

実際の排水処理技術を想定し、毒性削減手法を検討した事例もある。藤原ら<sup>11)</sup>は金属製品製造業の工場排水について、キレート樹脂吸着処理試験、凝集処理試験および毒性原因と推定した化学物質の添加試験を実施し、亜鉛およびニッケルが原因であると推定している。

新野ら<sup>12)</sup>は藻類に除草剤をばく露後、<sup>1</sup>H-NMRを用いて代謝物の変化を調べ、光合成阻害や細胞合成阻害等の除草剤の作用機序によって異なる変動パターンが得られることを報告している。さらに代謝物 (メタボローム) 解析の TRE や TIE への適用可能性を示唆している。

工場排水については工場内で使用している化学物質の情報等から毒性原因物質をある程度絞り込める。工場内で使用している化学物質を点検し、循環冷却水の添加剤が、藻類に対する毒性原因物質と推定された事例<sup>13)</sup>がある。一方で、生産品目が多岐にわたり排水の水質変動が大きい場合や有機化合物が毒性の原因である場合等、毒性原因物質の同定に時間がかかることもある<sup>14)</sup>。

### 3.2 下水処理水の毒性同定評価の事例

米国の TIE 手法を用いて下水処理水の毒性原因物質を推定している事例がある。山本ら<sup>15)</sup>は徳島県内の3ヵ所の下水処理場において TIE を実施し、藻類に対しては残留塩素の影響が大きく、ミジンコや魚に対しては塩分や有機物の影響が大きいと報告している。真野ら<sup>16)</sup>は金属濃度が高い下水処理水のミジンコに対する毒性および毒性原因物質を調査し、ニッケルおよびアンモニアが毒性原因物質と推定されたと報告している。武田ら<sup>17)</sup>は流入下水および下水処理水の藻類に対する毒性の季節変動を調査し、冬期には水温低下で活性汚泥処理の能力が低下し、下水処理水に毒性がみられたこと、流入下水の毒性原因物質は、非極性有機化合物、界面活性剤等と推定されたと報告している。

流入下水の毒性原因物質として推定された非極性有機化合物や界面活性剤等が、仮に下水処理水中で生物に影響する濃度で残存した場合、毒性制御方法を検討するためにはより詳細な情報が必要となる。

## 4. 毒性同定技術の下水道への適用

### 4.1 国内の下水道における水質規制

下水処理場は水質汚濁防止法の特定期間事業場に該当するため、放流水基準が設定されている。また、下水道法により処理水質を放流水基準に適合させるため、受け入れ基準を工場排水に対して設定している。受け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

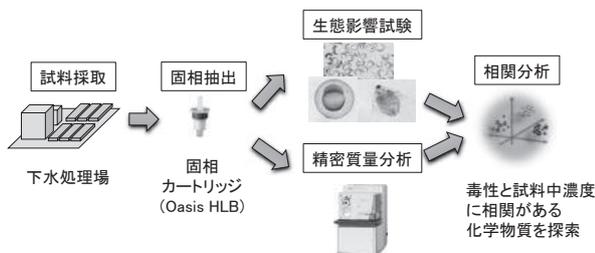


図5 網羅分析による毒性原因物質の探索方法

別の物質について規定されている<sup>18)</sup>。米国の事例(表2)のように、下水処理水の毒性原因物質が同定されれば、下水処理場内の処理工程の見直しや、下水道へ排出する工場に対して改善要求および基準設定を行う対策が検討できると考えられる。

#### 4.2 網羅分析を用いた毒性同定の試み

毒性に寄与している化学物質(群)を同定できれば、効率的に毒性削減できると考えられる。しかし、米国のTIE手法では有機化合物の同定が困難である。そこで、図5のように下水試料の生物に対する毒性と関連のある化学物質を網羅的な機器分析で探索する方法を検討している。下水試料の固相抽出画分に毒性が既知の化学物質を添加した模擬試料を用いて、精密質量分析および多変量解析により毒性原因物質の探索および同定を試みた。これまでに正・負の両イオンモードにおいて、毒性が現れる濃度で添加した化学物質を同定することに成功している<sup>19, 20)</sup>。

#### 5. おわりに

日本においても、米国の手法等を参考に環境省で排水改善ガイドライン(仮称)の作成が検討されている<sup>21)</sup>。米国のTRE, TIE手法は1980~1990年代に確立されており、下水処理場でのTREの成功率が低い等の課題がある。最新の化学分析技術等を取り入れ、日本独自のTRE, TIE手法を検討する必要があると考えられる。

#### 謝辞

本稿で紹介した著者らの研究の一部は国土交通省下水道技術研究開発(GAIAプロジェクト)により実施された。

#### 参考文献

- 1) US EPA, 1989. Generalized methodology for conducting industrial toxicity reduction evaluations (TREs), EPA/600/2-88/070. URL. [https://www3.epa.gov/npdes/pubs/wet\\_industrial\\_tre\\_manual.pdf](https://www3.epa.gov/npdes/pubs/wet_industrial_tre_manual.pdf) (2018年8月時点).
- 2) US EPA, 1999. Toxicity reduction evaluation guidance for municipal wastewater treatment plants, EPA/833B-99/002. URL. <https://www3.epa.gov/npdes/pubs/tre.pdf> (2018年8月時点).
- 3) US EPA, 1991. Methods for aquatic toxicity identification evaluations Phase I toxicity characterization procedures second edition, EPA/600/6-91/003. URL. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/300011NY.PDF?Dockkey=300011NY.PDF> (2018年8月時点).
- 4) US EPA, 1993. Methods for aquatic toxicity identification evaluations Phase II Toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity, EPA/600/R-92/080. URL. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/owm0343.pdf> (2018年8月時点).
- 5) US EPA, 1993. Methods for aquatic toxicity identification evaluations Phase III Toxicity confirmation procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity, EPA/600/

R-92/081. URL. <https://www3.epa.gov/npdes/pubs/owm0341.pdf> (2018年8月時点).

- 6) Texas Association of Clean Water Agencies, Texas Water Conservation Association, Water Environment Association of Texas, 2010. Report on freedom of information act request to U. S. Environmental Protection Agency by Texas coalition of publicly owned treatment works regarding sublethal toxicity reduction evaluations. URL. [http://www.tacwa.org/agendaandpresentations/presentation/FOIA\\_Report\\_0210.pdf](http://www.tacwa.org/agendaandpresentations/presentation/FOIA_Report_0210.pdf) (2018年8月時点).
- 7) A.S., Wernersson, M., Carere, C., Maggi, P., Tusil, P., Soldan, A., James, W., Sanchez, V., Dulio, K., Broeg, G., Reifferscheid, S., Buchinger, H., Maas, E., Van Der Grinten, S., O'Toole, A., Ausili, L., Manfra, L., Marziali, S., Polesello, I., Lacchetti, L., Mancini, K., Lilja, M., Linderoth, T., Lundeborg, B., Fjällborg, T., Porsbring, D.G.J., Larsson, J., Bengtsson-Palme, L., Förllin, C., Kienle, P., Kunz, E., Vermeirssen, I., Werner, C.D., Robinson, B., Lyons, I., Katsiadaki, C., Whalley, K., den Haan, M., Messiaen, H., Clayton, T., Lettieri, R.N., Carvalho, B.M., Gawlik, H., Hollert, C., Di Paolo, W., Brack, U., Kammann, R., Kase, 2015. The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. Environmental Sciences Europe 27, Article 7.
- 8) S., Hong, J.P., Giesy, J.S., Lee, J.H., Lee, J.S., Khim, 2016. Effect-directed analysis: current status and future challenges. Ocean Science Journal 51(3), 413-433.
- 9) 板津靖之, 高野智弘, 金俊, 福富真実子, 楠井隆史, 2015. 事業所排水の生態毒性的評価: 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), 19-26.
- 10) 山本裕史, 池崎佳織, 安田佑石, 田村生弥, 鎌迫典久, 2012. 徳島県内事業所排水のTRE/TIE事例. EICA: 環境システム計測制御学会誌 17(2・3), 180-183.
- 11) 藤原尚美, 野中真一, 豊久志郎, 鎌迫典久, 2015. 金属製品製造工場のWETを用いた排水中毒性要因の推定とその改善例. 環境化学 25(1), 35-42.
- 12) 新野竜大, 2012. メタボロームを活用した化学物質評価・管理~WETへの適用可能性について, 第15回日本水環境学会シンポジウム講演集, p.34.
- 13) 上田明弘, 2016. 積水化学グループにおけるWET手法を用いた排水評価の取り組み, 環境省「第2回生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会」資料1-1. URL. [http://www.env.go.jp/water/seibutsu/conf/02/mat01\\_1.pdf](http://www.env.go.jp/water/seibutsu/conf/02/mat01_1.pdf) (2018年8月時点).
- 14) 富川恵子, 入江俊行, 内田弘美, 渡部春奈, 鎌迫典久, 2015. WET法を活用した工場排水管理: 化学工業における排水改善の取り組み. 環境化学 25(1), 27-33.
- 15) 山本裕史, 矢野陽子, 森田隼平, 西家早紀, 安田佑石, 田村生弥, 鎌迫典久, 2013. 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(環境) 69(7), III\_375-III\_384.
- 16) 真野浩行, 武田文彦, 南山瑞彦, 2016. 溶存態金属の濃度が高い下水処理水を対象としたミジンコ2種への影響の調査と毒性同定評価試験の適用. 土木学会論文集G(環境) 72(7), III\_107-III\_115.
- 17) Takeda, F., Minamiyama, M., Okamoto, S., 2017. Seasonal variation ability of wastewater treatment for reduction in biological effects evaluation based on algal growth. Journal of Water and Environmental Technology 15(3), 96-105.
- 18) 岡本誠一郎, 武田文彦, 真野浩行, 2015. 下水道分野におけるWETの適用とその課題. EICA: 環境システム計測制御学会誌 20(1), 15-19.
- 19) 澤井淳, 岡村哲郎, 宮本信一, 新福優太, 高梨啓和, 2017. 下水試料を用いた毒性原因物質の探索技術の検討, 第26回環境化学討論会講演要旨集.
- 20) 澤井淳, 岡村哲郎, 宮本信一, 新福優太, 亀屋隆志, 高梨啓和, 2018. 精密質量分析と多変量解析による下水試料中の毒性原因物質の探索技術の検討, 第27回環境化学討論会講演要旨集.
- 21) 環境省, 2018. 生物を用いた水環境の評価・管理手法に関する検討会(第7回)資料5中間とりまとめの構成, 内容等について(イメージ). URL. [https://www.env.go.jp/press/seibutsu\\_conf/07/mat05.pdf](https://www.env.go.jp/press/seibutsu_conf/07/mat05.pdf) (2018年8月時点).