

2018.2.16

化学物質の安全管理に関するシンポジウム

「多種多様な化学物質群への新たなリスク管理の方向性」



# 下水道及び水環境における化学 物質の影響評価

国立研究開発法人 土木研究所 水環境研究グループ 水質チーム

○小川 文章、小森 行也、北村 友一、村田 里美、鈴木 裕識

# 本日の話題

○下水道における化学物質管理上の課題

○土木研究所における下水処理過程での化学物質挙動研究

①下水処理過程における微生物担体によるLASの除去特性  
(続報)

②下水道におけるWETを用いた化学物質の影響評価

③下水処理水が両生類の変態に及ぼす影響に関する基礎的研究

④下水道における新たな汚染物質の存在実態の把握

～マイクロファイバー検出の試み～

# 下水道における化学物質管理上の課題



- 下水道の整備に伴い、日常生活や事業場で使用・廃棄された多くの物質が下水処理場に流入

下水道処理人口普及率 1988:40% ⇒ 2018:78.3%

(30年間で38%上昇し、現在、約1億人が下水道を利用)

- 未規制の化学物質や医薬品、内分泌攪乱物質などの多様な物質が流入
- 下水処理水の消毒方法は未だに塩素消毒が主流
  - ・現在も新たな化学物質や医薬品が製造され商品化されているが、それらは下水処理場の処理対象物質ではない
  - ・処理場で処理・除去されなかった物質は処理水を通じて水環境中へ流出
  - ・下水処理水消毒に用いられる塩素、水環境中へ流出する化学物質等が各種水生生物に及ぼす影響については未だよくわかっていない



下水処理水の生物影響や下水処理プロセスにおける化学物質等の処理方法について研究する必要

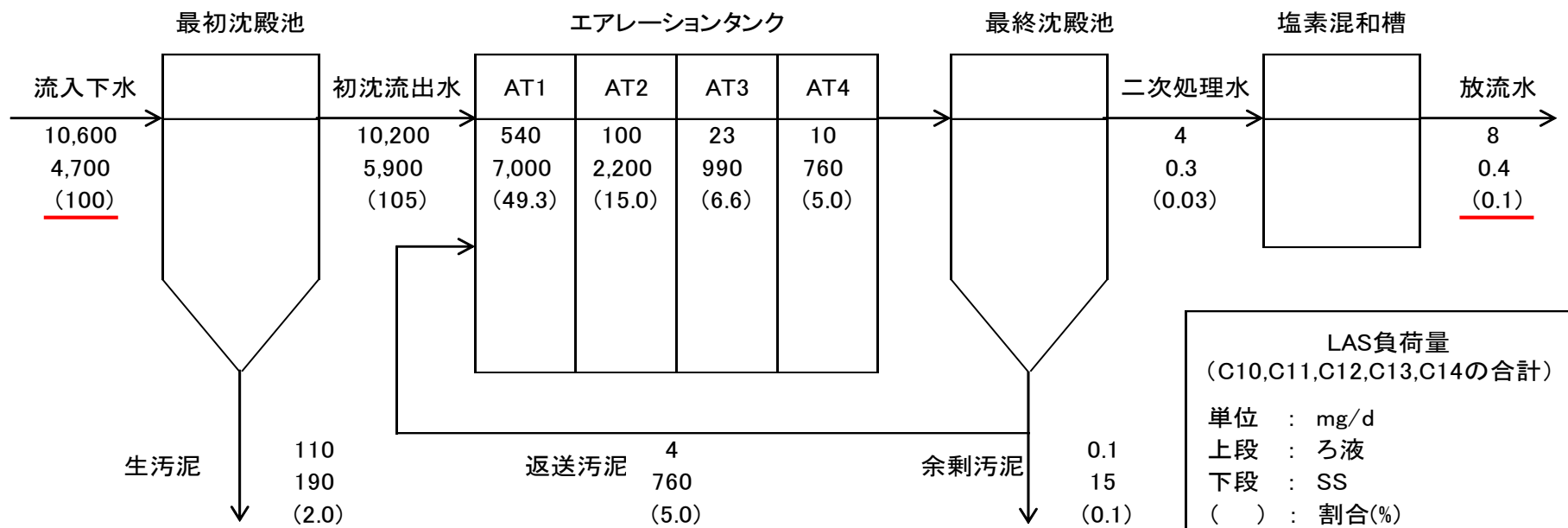
# ①下水処理過程における微生物担体による LASの除去特性(続報)

# 土木研究所における下水処理過程のLASの除去特性に関する研究

- 環境基準追加(2013.3.27)された項目に対する下水道での挙動や除去特性に関する研究を実施
- 目的・概要
  - 生活排水等から下水道に流入するLASがどの程度下水処理場で除去されているかを把握
  - 下水処理場での実測や実験装置を用いて物質収支を把握
- 成果の活用
  - 今後、排水基準や下水道受入基準等が検討される場合、当該研究データを活用

※LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonic acid) 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸

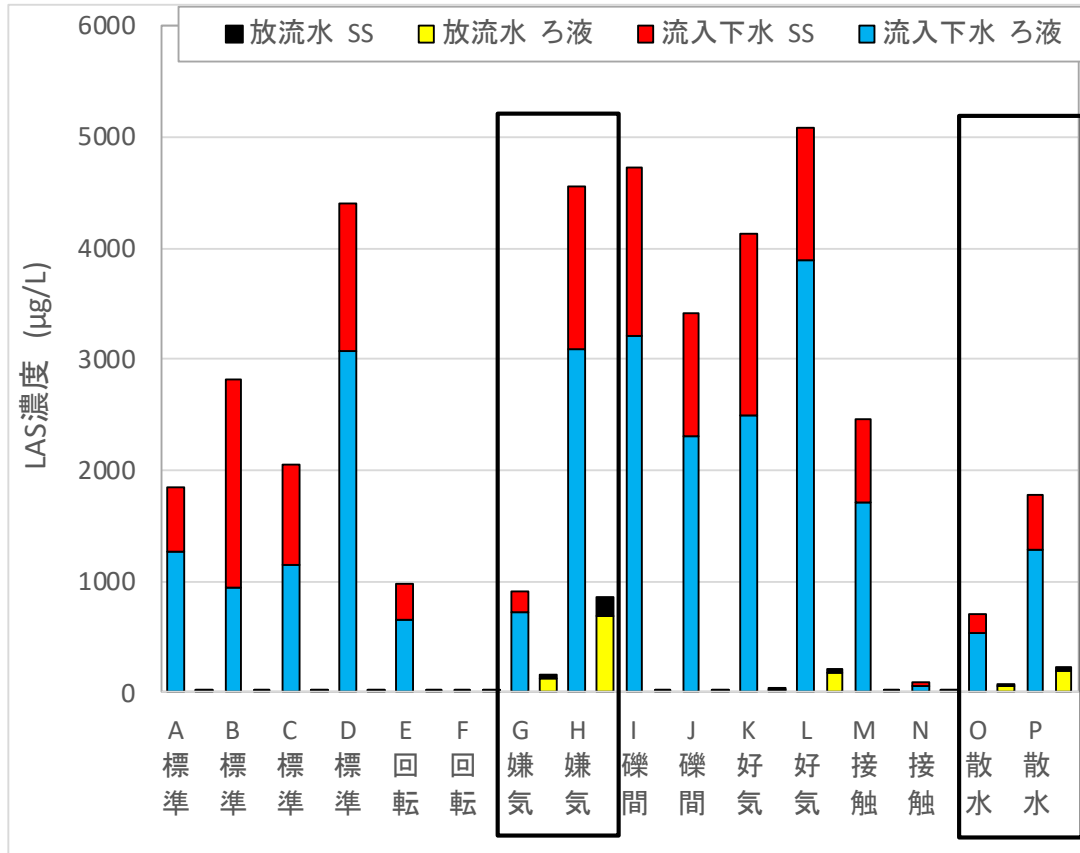
# 下水処理実験施設におけるLAS負荷量の挙動



LASの流入負荷量に対する排出負荷量(放流水、生汚泥、余剰汚泥)の合計は**2.2%**であった。**残りの97.8%**は活性汚泥処理により**分解・除去**されたものと考えられる。

↓ 次に、実際の下水処理場での除去特性を調査

# 実際の下水処理場におけるLASの実態調査結果\*)



標準活性汚泥法、回転生物接触法、嫌気好気ろ床法、礫間接触酸化法、好気性ろ床法、接触ばっき法、高速散水ろ床法の各処理場で調査



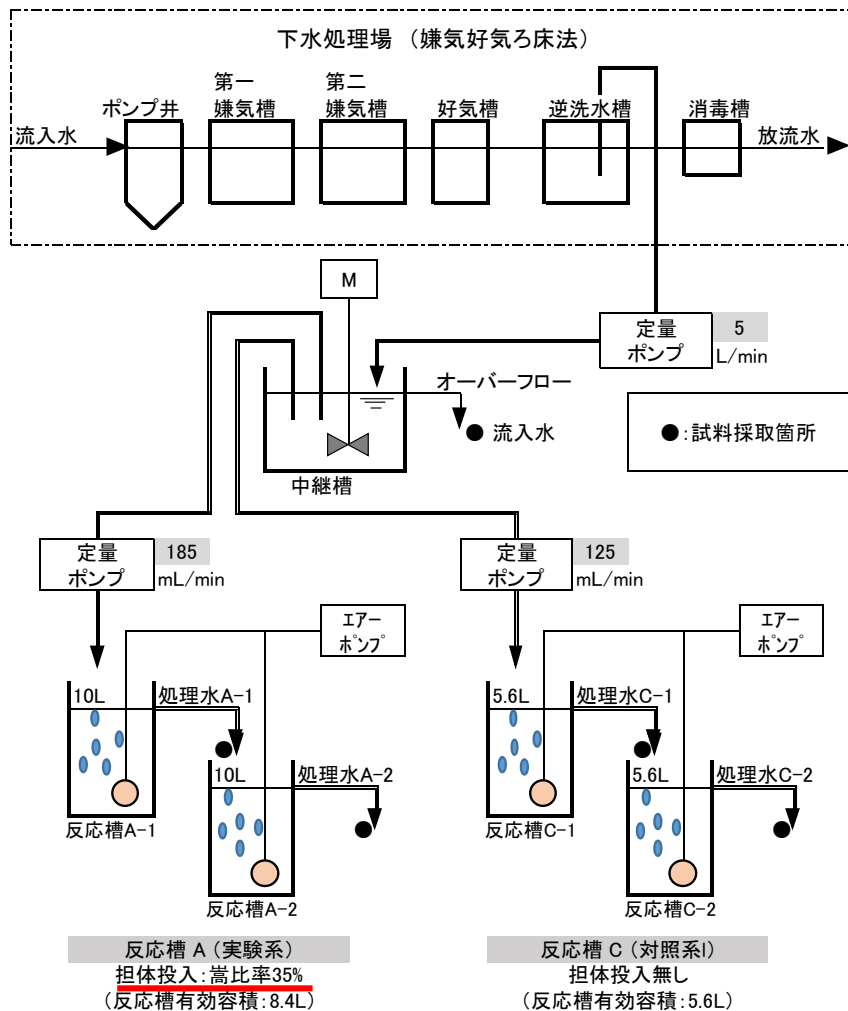
## LAS除去率について

標準活性汚泥法 : 99.7~99.9%  
 回転生物接触法 : 96.1~98.4%  
**嫌気好気ろ床法 : 81.3~81.5%**  
 礫間接触酸化法 : 99.6~99.9%  
 好気性ろ床法 : 95.9~99.1%  
 接触ばっき法 : 90.0~99.8%  
**高速散水ろ床法 : 87.2~89.0%**

**高速散水ろ床法や嫌気好気ろ床法では他の好気処理方式に比べてLAS除去率が少し低くなる(90%以下)傾向が見られた\*)**

\*) 小森行也、岡本誠一郎、実下水処理場における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸(LAS)の除去特性、第51回下水道研究発表会講演集、pp.307-309(2014)

# 微生物担体処理によるLASの除去特性に関する調査



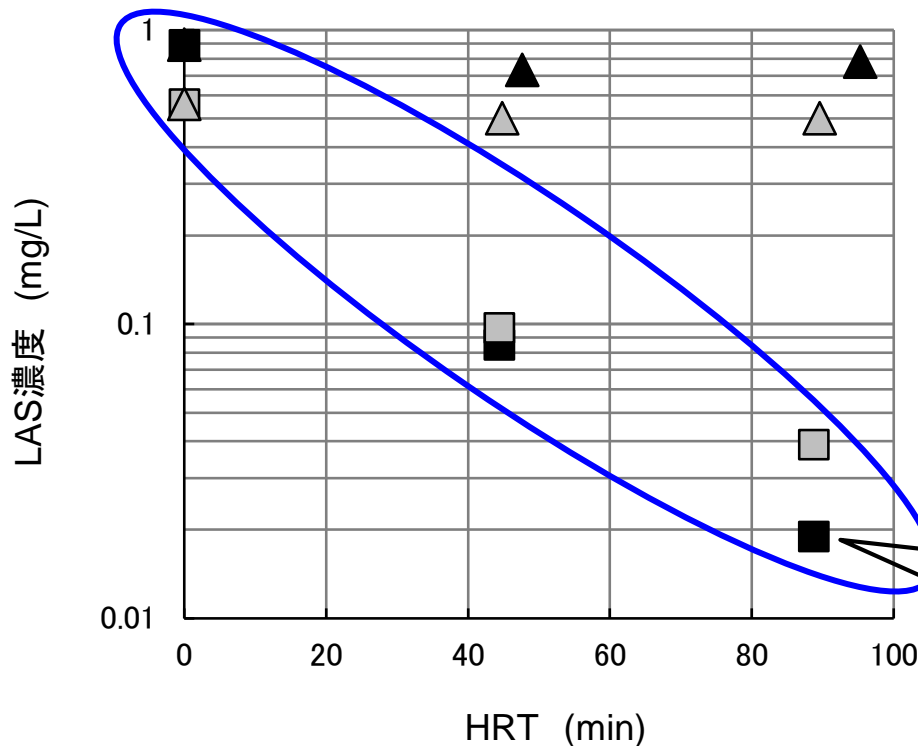
4mmOD × 3mmID × 5mm



微生物担体処理実験装置(概要)



# 微生物担体処理によるLASの除去特性に関する調査結果 (中間報告)



各調査のLAS分析結果

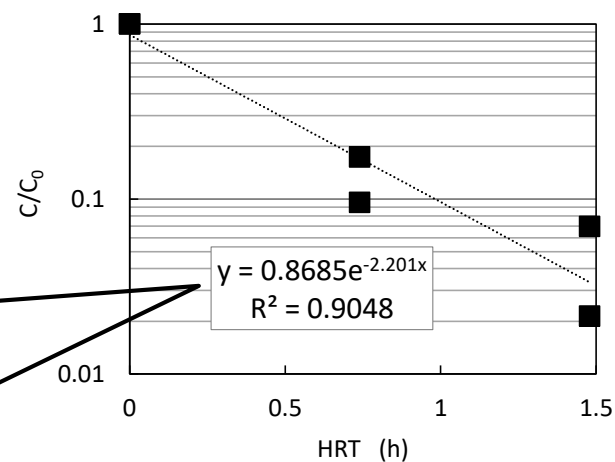
- 反応槽A(調査①)
- 反応槽A(調査②)
- ▲ 反応槽C(調査①)
- △ 反応槽C(調査②)

※反応槽A 担体投入  
反応槽C 担体投入無し

※HRT 水理学的滞留時間

LAS濃度が0.56~0.89mg/Lの流入水を微生物担体処理したところ、HRTを約90minとることにより、流入水中のLASは90%以上除去

微生物担体処理におけるLAS除去を1次反応と仮定し反応係数 $k_1$  (1/h)を求めたところ2.2が得られた。  
この関係式から、微生物担体処理によるLAS除去率90%を得るために必要なHRTは約60min, LAS除去率99%を得るのに必要なHRTは約120minであることが分かった



## ②下水道におけるWETを用いた化学物質の影響評価

# 生物応答を利用した排水管理手法 (WET) とは

- ・現在日常生活、産業活動で**使用される化学物質の増加・多様化**  
→日本化審法: 3万、米国TSCA: 8~9万、欧州REACH: 10万
- ・環境中の化学物質の影響を評価する際、**機器分析だと限界がある**  
→複合影響は測定が難しい



特に下水は何が入っているかわからないブラックボックス

生物応答 (WET) を用いた試験が有力 (複合影響も判定できる)

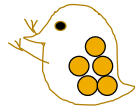


判定基準: 生き死に、繁殖率 → 単純でわかりやすい

# WETの実験方法



ニセネコゼミジンコ



・・・仔から親として生育する間の生残率と  
その際に生む仔の数(8日間)

ゼブラフィッシュ



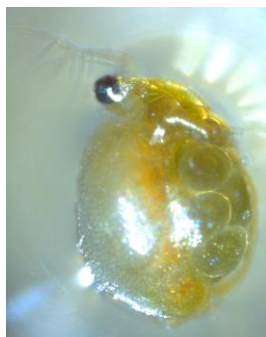
・・・卵から暴露した場合、全体の何%が孵化するか、また孵化した後の全体の何%の稚魚が5日間生きられるか？(8~10日間)

ムレミカツキモ



・・・3日間培養中に細胞数がどのくらい増えるのか

# WETの実験方法(ニセネコゼミジンコ)



ニセネコゼミジンコ  
(*Ceriodaphnia dubia*)

実体顕微鏡で見ながら



- ・餌: YCT(酵母etc.) + ムレミカツキモ + クロレラ
- ・飼育水: エビアン + ボルビック



## 試験条件

暴露方式	止水式
試験期間	8日間
対照区、希釈水	ミネラルウォーター
餌	YCT 50 $\mu$ l, 藻類 0.02-0.05 mgC
換水	1日おき
使用量/容器	15ml/50ml
くりかえし数	10連



それぞれニセネコゼミジンコの仔を入れて  
25°Cで8日間培養(各濃度n=10)

- ・ 親の生死(死亡率)
- ・ 正常に仔を生んで増殖できるか(3腹分の産仔数)

# WETの実験方法(ゼブラフィッシュ)

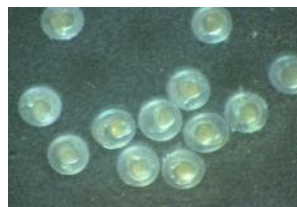


ゼブラフィッシュ  
(*Danio rerio*)

産卵



卵(1mm程度)



実体顕微鏡で見ながら  
正常な受精卵を判別



それぞれのビーカーに卵を10個入れて  
26°Cで8~10日間培養(各濃度n=4)

0%(Control)

5%

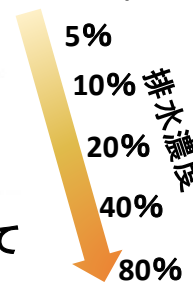
10%

20%

40%

80%

排水濃度



稚魚

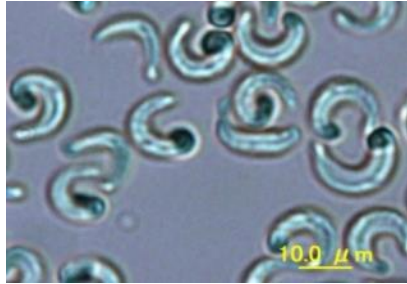
ふ化できるか?  
幼魚が生残できるか?

**ふ化率(%)** = 最大ふ化所要日数での総ふ化仔魚数 / 供試卵数 × 100  
**生存率(%)** = (曝露終了時の生存胚体数 + 生存仔魚数) / 供試卵数 × 100

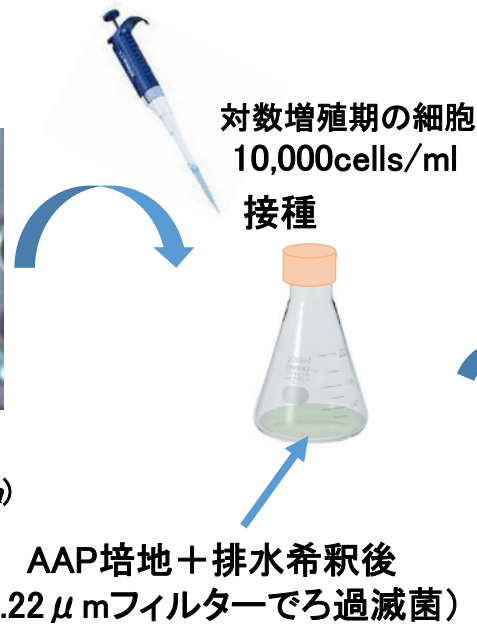
## 試験条件

暴露方式	半止水式
試験期間	8~10日間
対照区、希釈水	脱塩素水
餌	なし
換水	1日おきに換水
使用量/容器	50ml/100ml
くりかえし数	4連

# WETの実験方法(ムレミカツキモ)



ムレミカツキモ  
(*Pseudokirchneriella subcapitata*)



細胞の増殖量を測定

成長速度から  
成長阻害率の算出

## 試験条件

暴露方式	止水式、振とう培養(100rpm)
試験期間	72時間
対照区、希釈水	脱塩素水
培地	AAP培地
換水	なし
使用量/容器	30ml/100ml
くりかえし数	6連(対照)、3連(濃度区)



# 土木研究所におけるWET研究の成果

- ・6下水処理場(日本国内、流入下水と終沈流出水)  
4処理方法 → 標準活性汚泥法  
嫌気好気活性汚泥法  
オキシデーションディッチ法  
嫌気好気ろ床法
- ・季節変動(春夏秋冬)も確認
- ・3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)で実施
- ・WET試験でNOEC  $\leq 40$ \*のサンプルについては、毒性同定評価(TIE)試験を実施

※ 過去の試験結果を参考に線引した



# WET試験結果(流入下水 NOEC ≤ 40)



P: ムレミカツキモ、C: ニセネコゼミジンコ、D<sup>H</sup>: ゼブラフィッシュ(発生率)、D<sup>S</sup>: ゼブラフィッシュ(生残率)

場所	タイプ	年	月	WET				TIE																	
				NOEC				酸化物			アンモニア			無極性有機物			界面活性剤			陽イオン金属			総溶解固形分		
				P	C	D <sup>H</sup>	D <sup>S</sup>	P	C	D	P	C	D	P	C	D	P	C	D	P	C	D	P	C	D
A	標準活性汚泥	2014	10	≥80	/	≥80	40																		
			1	10	≥40	40	40	○		○			○			○			○						
B	標準活性汚泥	2014	9	42	/	≥80	5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			12	40	/	≥80	40		/	○			/			/	○			/			/		
		2015	3	20	≥40	20	20			○	○				○	○			○						
C	標準活性汚泥	2014	11	5	/	40	40	○	/	○		/		○	/	○	/	○		/			/		
			2	10	≥40	≥80	40			○				○			○			○					
		2015	5	20	≥40	≥80	40			○	○			○			○			○					
		8	20	≥40	≥80	40			○						○			○							
D	嫌気好気活性汚泥	2015	1	20	20	40	40		/	○			○	/		/	○		/			/			
			4	40	≥40	≥80	≥80	○			○				○			○							
		7	20	≥40	40	40			○	○							○			○					
		10	20	≥40	≥80	40	○			○					○			○	○						
E	オキシデーショントリッチ	2016	1	20	≥40	≥80	40				○		○		○	○		○			○				
			7	20	≥40	40	20										○					○			
F	嫌気好気ろ床	2016	2	20	≥40	≥80	≥80	○							○										
			8	20	≥40	≥80	≥80				○			○											
全体に対する割合				95%	5%	37%	89%	26%																	

NOEC ≤ 40の場合、ムレミカツキモ、ゼブラフィッシュ(生残率)で検出されやすい。(NOEC ≤ 10は少ないが。)

ムレミカツキモはアンモニア、無極性有機物、界面活性剤で影響が検出されると推察される。

ゼブラフィッシュは酸化物、界面活性材で影響が検出されると推察される。

完全一致ではない

# WET試験結果(終沈の流出水)



P: ムレミカツキモ、C: ニセネコゼミジンコ、D<sup>H</sup>: ゼブラフィッシュ(発生率)、D<sup>S</sup>: ゼブラフィッシュ(生残率)

場所	タイプ	年	月	WET				TIE																	
				NOEC				酸化物			アンモニア			無極性有機物			界面活性剤			陽イオン金属			総溶解固形分		
				P	C	D <sup>H</sup>	D <sup>S</sup>	P	C	D	P	C	D	P	C	D	P	C	D	P	C	D	P	C	D
A	標準活性汚泥	2014	10	≥80	/	≥80	≥80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			1	40	<5	≥80	≥80	○																	
		2015	2	40	≥40	≥80	≥80	○		○															
B	標準活性汚泥	2014	9	≥83	/	≥80	≥80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			12	≥80	/	≥80	≥80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
		2015	3	10	≥40	≥80	≥80	○		○															
			6	≥80	≥40	≥80	≥80																		
C	標準活性汚泥	2014	11	≥80	/	≥80	≥80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			2	40	≥40	≥80	≥80	○		○															
		2015	5	≥80	≥40	≥80	≥80																		
			8	≥80	≥40	≥80	≥80																		
D	嫌気好気活性汚泥	2015	1	40	<5	≥80	≥80	○	/	/	/	/	○	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			4	≥80	<5	≥80	≥80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
			7	≥80	<5	≥80	≥80																○		
			10	≥80	<5	≥80	≥80			○													○		
E	オキゲンデーンリッチ	2016	1	40	≥40	≥80	≥80																		
			7	≥80	≥40	≥80	≥80																		
F	嫌気好気ろ床	2016	2	20	≥40	≥80	≥80	○																	
			8	20	≥40	≥80	≥80			○		○										○			

終沈流出水では流入下水に比べて影響が軽減された。  
 → 嫌気好気ろ床は影響が残った  
 ・ゼブラフィッシュの影響は全て見られなかった

ニセネコゼミジンコは金属に対して感受性が高い。  
 → 原因は金属特性変化？ 貧栄養水化？

### ③下水処理水が両生類の変態に及ぼす影響に関する 基礎的研究

# 研究目的と研究内容

## 研究目的

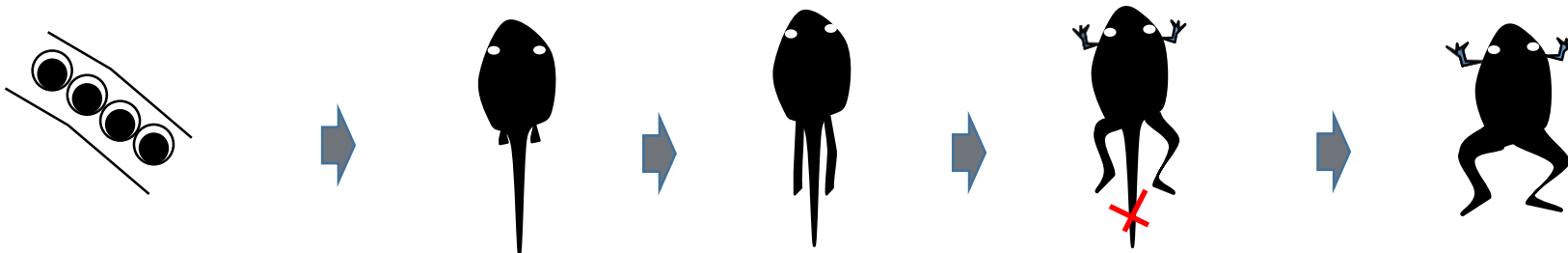
- 環境中から奇形のカエルが見つかるたび、水中の有害化学物質やホルモンかく乱物質の存在が疑われる
- 有害微量化学物質、ホルモンかく乱物質の排出源として下水処理水が疑われる可能性
- 下水処理水がカエルの変態に及ぼす影響は未解明
- 下水処理水がカエルの変態に及ぼす影響を把握しておく必要



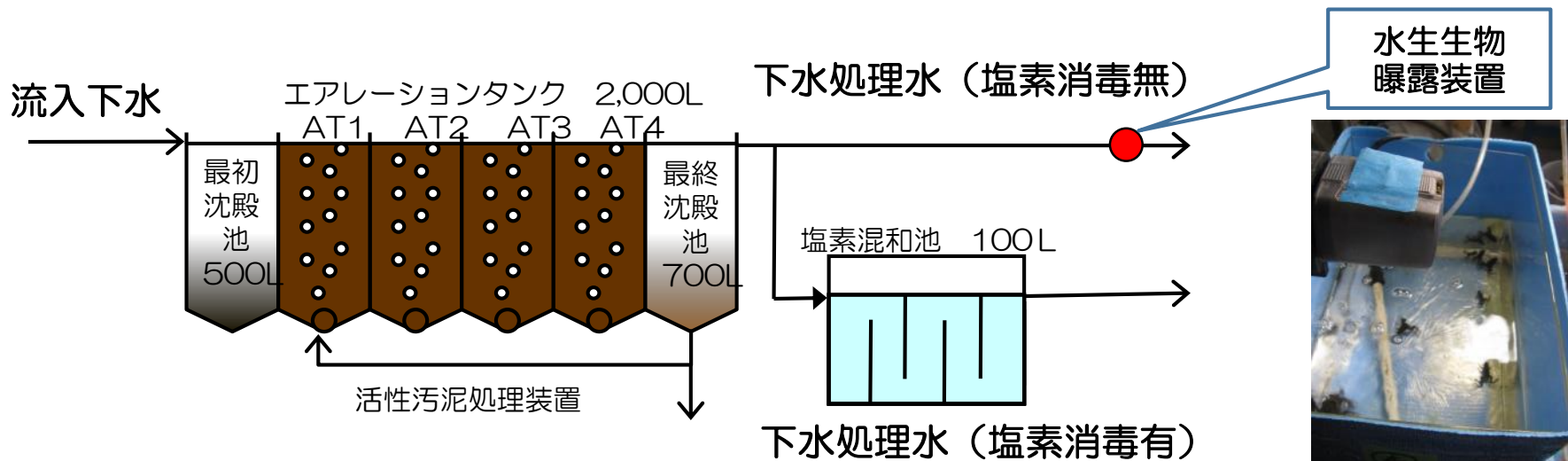
過剰足のカエル  
(米国で多数発見)

## 研究内容

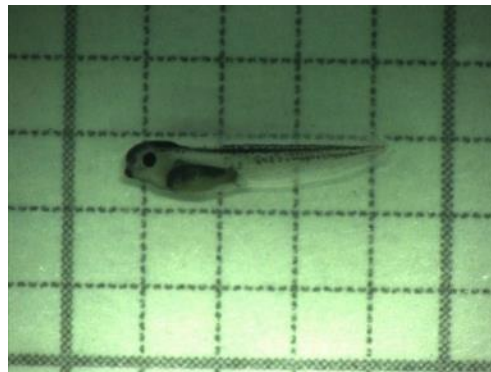
- 実験に使用するカエル種類の選定 → 一生涯水中で生活するカエルを選定  
(アフリカツメガエル又はニシツメガエル)
- カエルの受精卵を曝露させ、オタマジャクシを経てカエルに変態するまで下水処理水で飼育
- 評価法の検討：
  - ① 変態するまでの要する時間
  - ② 足が出ているか、手が出ているか、尾が消えているか
  - ③ 臓器に異常はないか



# 研究で使った実験装置と実験内容



本実験で使ったカエル  
→アフリカツメガエル



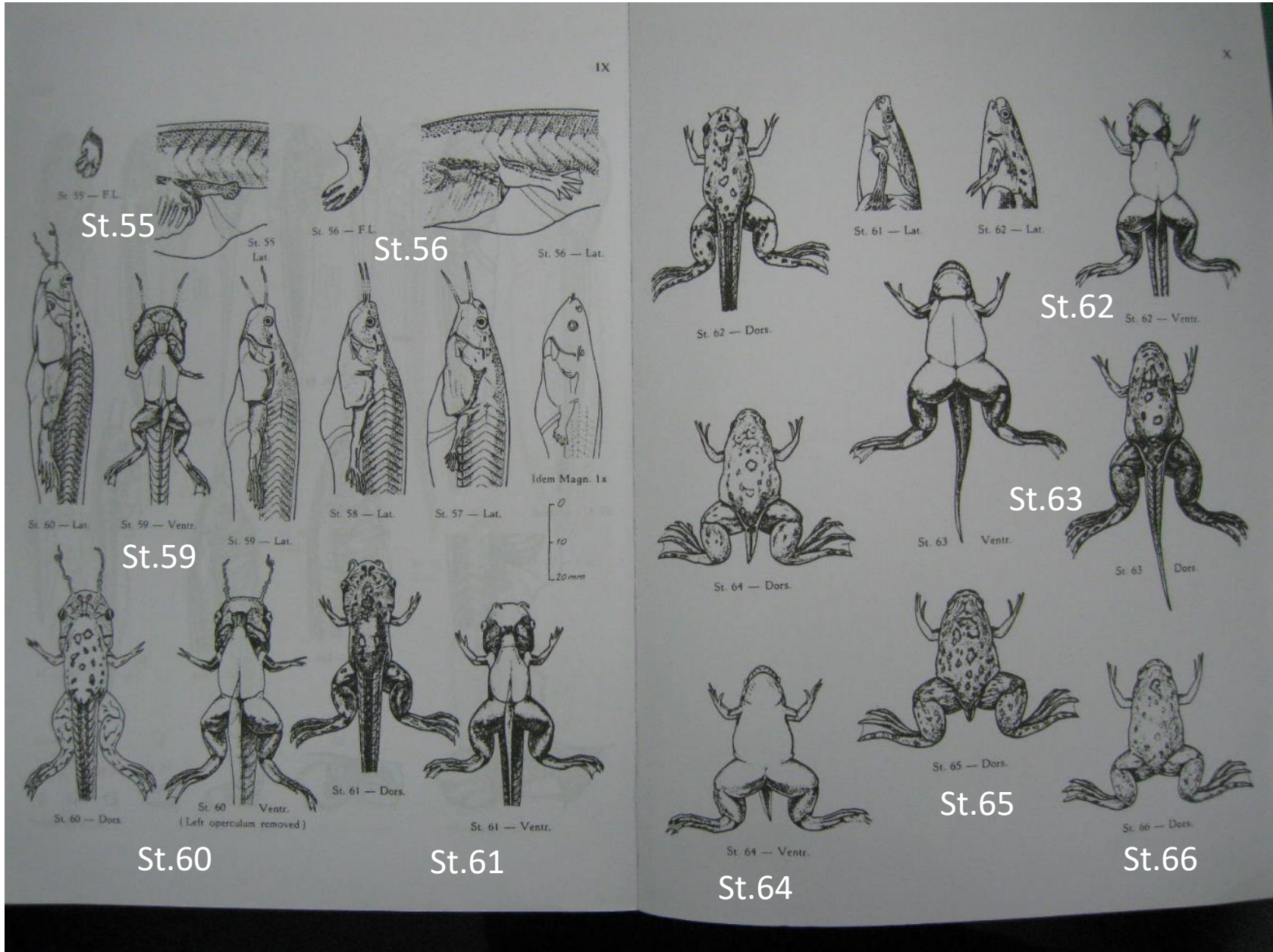
孵化後2~3日目の  
オタマジャクシを曝露  
→ 体長：3~4mm



観察方法：一匹ずつ週2回  
発達ステージ表と比較しながら、  
観察

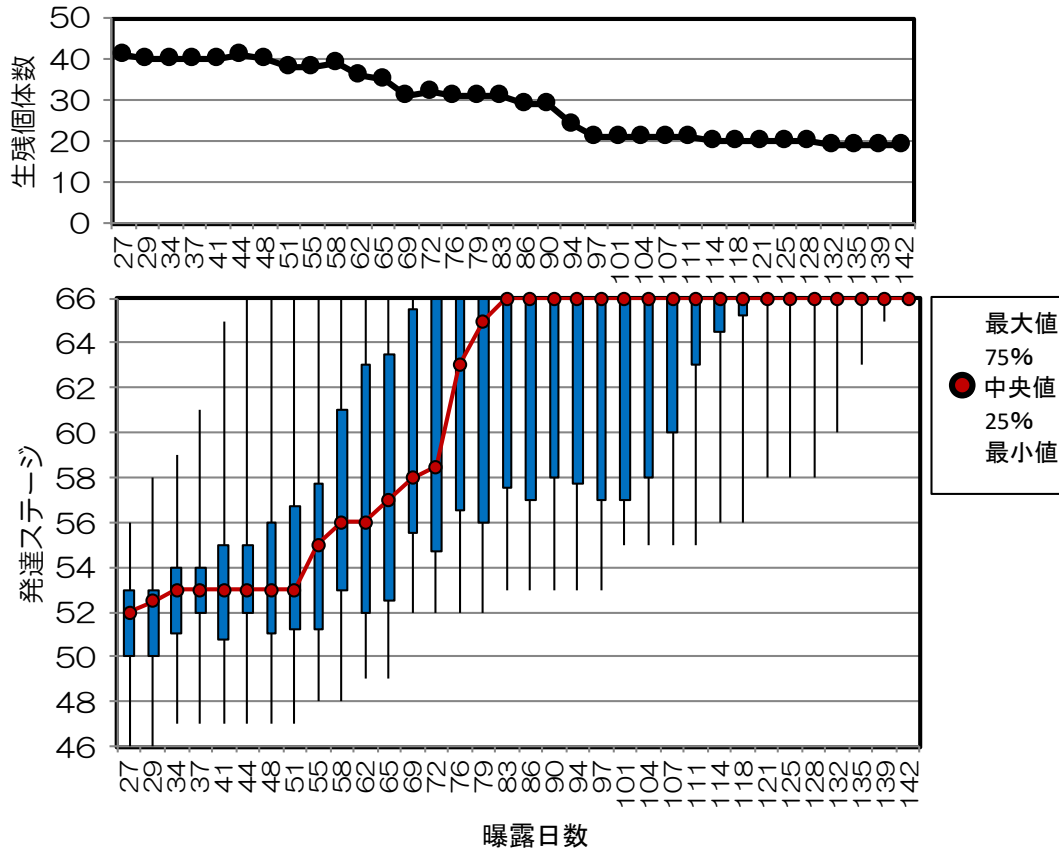


# アフリカツメガエルの発達ステージ表 P. D. Nieuwkoop and J. Faber



# 下水処理水(塩素消毒無)がオタマジャクシの変態に及ぼす影響

## 実験結果

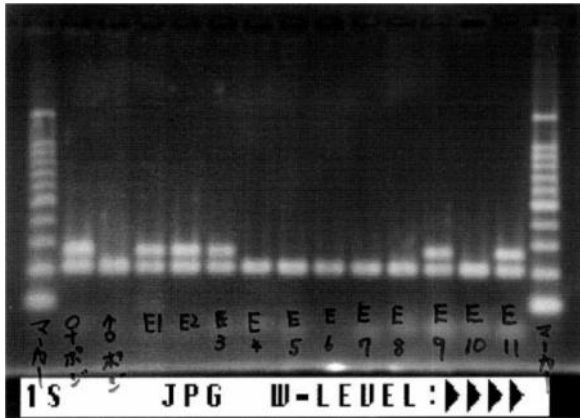


下水処理水(塩素消毒無)曝露区では、

- 変態停止、奇形といった影響は観られない
- 変態期間が長くなる傾向あり

# 生殖腺の組織観察による変態後カエルの評価

## 評価結果



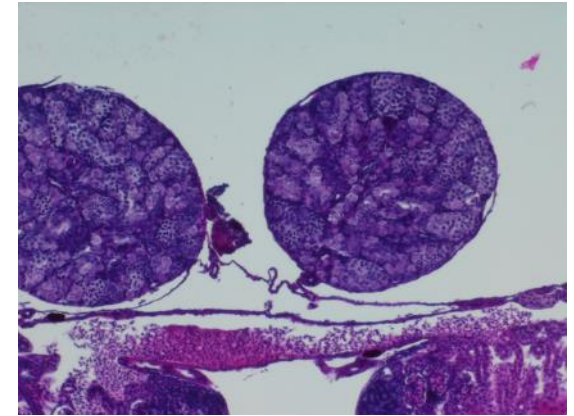
PCRによる遺伝子レベルでの性  
(雌または雄)の確認の例  
2本のバンドが確認されれば雌  
1本のバンドが確認されれば雄

下水処理水(塩素消毒無)曝露区  
の生残個体の遺伝子レベルの  
性と生殖腺(精巣と卵巣)の形  
態は一致

→ 異常なし



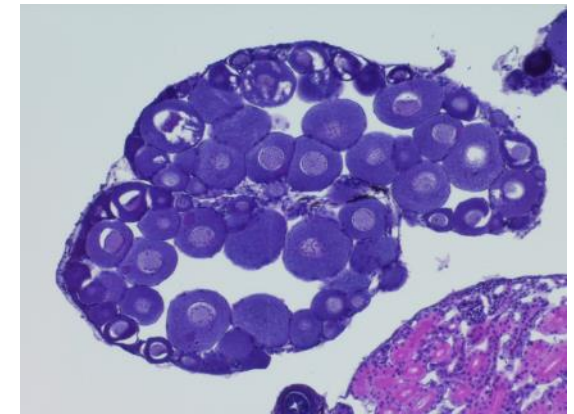
下水処理水(塩素消毒無)曝  
露区の雄カエルの精巣の例



精巣の組織観察



下水処理水(塩素消毒無)曝  
露区の雌カエルの卵巣の例



卵巣の組織観察

下水処理水(塩素消毒無)曝露区で、生殖  
腺の組織の異常は観察されず



## ④下水道における新たな汚染物質の存在実態の把握 ～マイクロファイバー検出の試み～



## マイクロプラスチック(MP)とは

- ◇ 微細なプラスチック片(5mm以下)
- ◇ 一次的MP(マイクロサイズで製造)  
二次的MP(自然環境中で破砕・細分化)
- ◇ 国内外の海や湖沼で検出報告され始めている
- ◇ 水生生物への影響評価を研究した事例も
  - ワムシ (寿命、生殖能力、体長などの低下)
  - イガイ(二枚貝) (組織や血球に影響) (Jeongら,2016)
  - ナマズ (肝臓の組織に影響) (Paul-Pontら,2016)
  - (Karamiら,2016)

東京湾のカタクチイワシの消化管から検出  
(京都大学 田中周平准教授研究グループ調査結果)

### 海洋ごみ問題に対処するためのG7行動計画

海洋環境に流出するマイクロプラスチックを含む廃棄物について、**下水及び雨水を経由するものを削減し**、及び予防するための持続可能かつ費用対効果の高い解決策の研究

出典: 外務省 2015 G7エルマウ・サミット首脳宣言(仮訳)

# マイクロビーズは製造・使用の制限へ

## マイクロビーズとは

- ◇ 一次的MP(マイクロサイズで製造)のうち、  
ポリエチレンやポリプロピレンなどでできた球状の小さなビーズ
- ◇ **スクラブ剤等の洗顔剤、化粧品等**に使用されてきた



## ➡ 英国でマイクロビーズ製造の禁止(2018年)



The screenshot shows a news article from The Guardian. The headline is "Plastic microbeads ban enters force in UK". Below the headline, it says "Manufacturing ban means the tiny beads which harm marine life can no longer be used in cosmetics and personal care products". There is a photograph of a fingerprint with several small, white, spherical beads on it. The article is attributed to Damian Carrington, Environment editor.

◇ 米国でも製造・販売禁止  
の法令化が進んでいる

◇ 国内メーカーはこれまでに  
使用自粛の動き

出典: マイクロプラスチックビーズへの対応  
(花王HP, カネボウ化粧品HPなどから)

(2018年1月9日報道、英国ガーディアン紙)

# 下水処理場調査の事例

(垣田ら, 日本水環境学会シンポジウム, 2017(鈴木研究員共著))

## 調査概要

調査日: 2017年4月

調査場所: 近畿圏の下水処理場

処理方式: ステップ流入式多段硝化脱窒法

## 結果

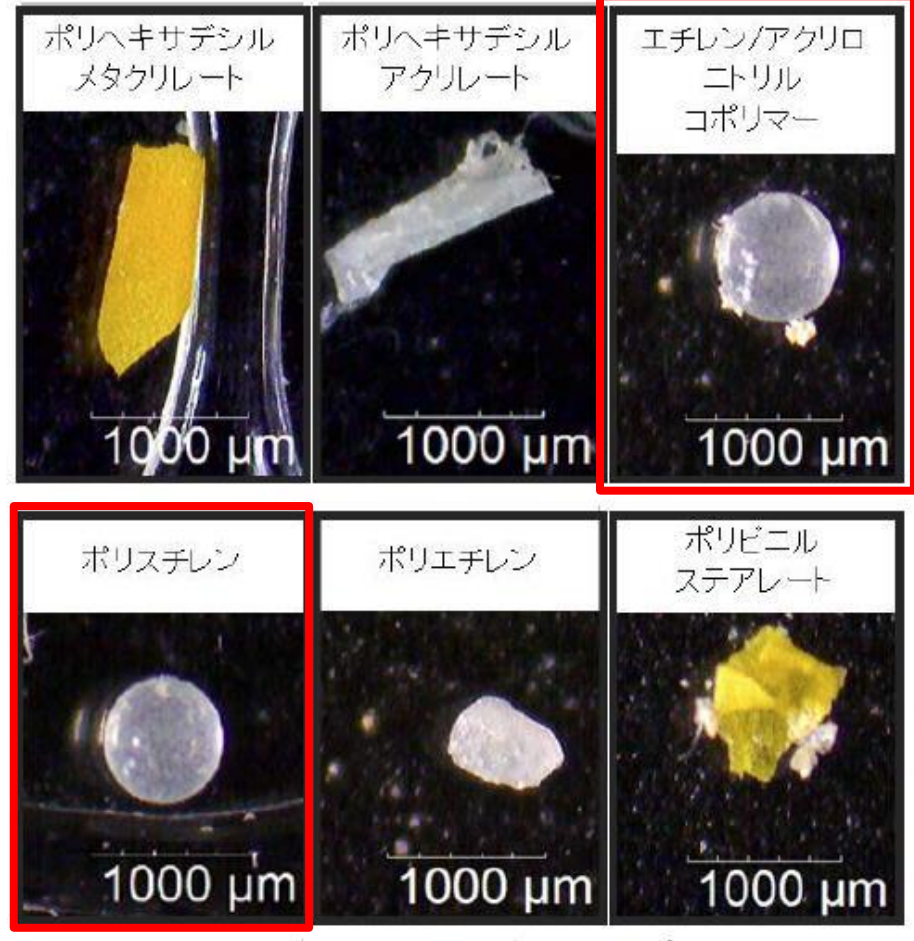
流入下水・最初沈殿汚泥から  
マイクロプラスチックを確認  
(マイクロビーズも)

## 課題

- ✓ 下水試料は夾雑物質が多く、MPの検出が容易ではない
- ✓ 下水処理放流水からの検出方法(存在有無の確認手法)が検討されている



## マイクロプラスチック 検出されたMPの例とその成分





# マイクロファイバーとは？

## マイクロプラスチックの一種（英語ではMicroplastics Fiberとも）

◇一次的MP（マイクロサイズで製造）と二次的MP（自然環境中で破砕・細分化）の両方で環境中に存在している可能性

## 洗濯排水等からの発生・下水道への流入が懸念

ENVIRONMENTAL  
Science & Technology

Article  
pubs.acs.org/est

### Microfiber Masses Recovered from Conventional Machine Washing of New or Aged Garments

Niko L. Hartline, Nicholas J. Bruce, Stephanie N. Karba, Elizabeth O. Ruff, Shreya U. Sonar, and Patricia A. Holden\*

Bren School of Environmental Science and Management, University of California, Santa Barbara, California 93106, United States

Supporting Information

**ABSTRACT:** Synthetic textiles can shed numerous microfibers during conventional washing, but evaluating environmental consequences as well as source-control strategies requires understanding mass releases. Polyester apparel accounts for a large proportion of the polyester market, and synthetic jackets represent the broadest range in apparel construction, allowing for potential changes in manufacturing as a mitigation measure to reduce microfiber release during laundering. Here, detergent-free washing experiments were conducted and replicated in both front- and top-load conventional home machines for five new and mechanically aged jackets or sweaters: four from one name-brand clothing manufacturer (three majority polyester fleece, and one nylon shell with nonwoven polyester insulation) and one off-brand (100% polyester fleece). Wash water was filtered to recover two size fractions (>333  $\mu\text{m}$  and between 20 and 333  $\mu\text{m}$ ); filters were then imaged, and microfiber masses were calculated. Across all treatments, the recovered microfiber mass per garment ranged from approximately 0 to 2 g, or exceeding 0.3% of the unwashed garment mass. Microfiber masses from top-load machines were approximately 7 times those from front-load machines; garments mechanically aged via a 24 h continuous wash had increased mass release under the same wash protocol as new garments. When published wastewater treatment plant influent characterization and microfiber removal studies are considered, washing synthetic jackets or sweaters as per this study would account for most microfibers entering the environment.



ENVIRONMENTAL  
Science & Technology

Article  
pubs.acs.org/est

### Polyester Textiles as a Source of Microplastics from Households: A Mechanistic Study to Understand Microfiber Release During Washing

Edgar Hernandez,<sup>†</sup> Bernd Nowack,<sup>†</sup> and Denise M. Mitrano<sup>\*†‡</sup>

<sup>†</sup>Empa, Swiss Federal Laboratories for Materials Science and Technology, Technology and Society Laboratory, Lerchenfeldstrasse 5, 9014 St. Gallen, Switzerland

<sup>‡</sup>Eawag, Swiss Federal Institute for Aquatic Science and Technology, Process Engineering, Überlandstrasse 133, 8600 Dübendorf, Switzerland

Supporting Information

**ABSTRACT:** Microplastic fibers make up a large proportion of microplastics found in the environment, especially in urban areas. There is good reason to consider synthetic textiles a major source of microplastic fibers, and it will not diminish since the use of synthetic fabrics, especially polyester, continues to increase. In this study we provide quantitative data regarding the size and mass of microplastic fibers released from synthetic (polyester) textiles during simulated home washing under controlled laboratory conditions. Consideration of fabric structure and washing conditions (use of detergents, temperature, wash duration, and sequential washings) allowed us to study the propensity of fiber shedding in a mechanistic way. Thousands of individual fibers were measured (number, length) from each wash solution to provide a robust data set on which to draw conclusions. Among all the variables tested, the use of detergent appeared to affect the total mass of fibers released the most, yet the detergent composition (liquid or powder) or overdosing of detergent did not significantly influence microplastic release. Despite different release quantities due to the addition of a surfactant (approximately 0.025 and 0.1 mg fibers/g textile washed, without and with detergent, respectively), the overall microplastic fiber length profile remained similar regardless of wash condition or fabric structure, with the vast majority of fibers ranging between 100 and 800  $\mu\text{m}$  in length irrespective of wash cycle number. This indicates that the fiber staple length and/or debris encapsulated inside the fabric from the yarn spinning could be directly responsible for releasing stray fibers. This study serves as a first look toward understanding the physical properties of the textile itself to better understand the mechanisms of fiber shedding in the context of microplastic fiber release into laundry wash water.



洗濯した衣服の0.3%超（重量ベース）がマイクロファイバーとして流出するという報告も

下水道への流入状況の調査が必要

# 下水試料中のマイクロファイバー検出の試み

実処理場の最初沈殿汚泥  
(2017年10月採取)

落射型蛍光顕微鏡  
(BX51, Olympus製)



酸化分解、遠心分離、比重分離、染色法を  
組み合わせた方法

前処理

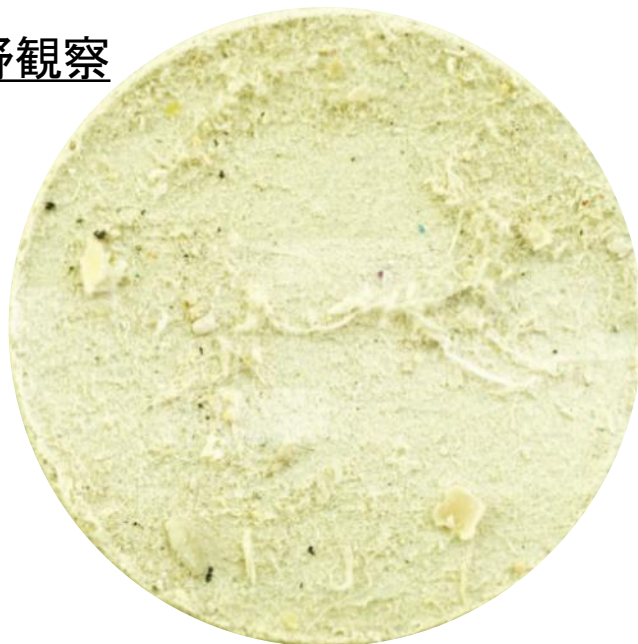
\*未発表のため詳細は不記載

観察

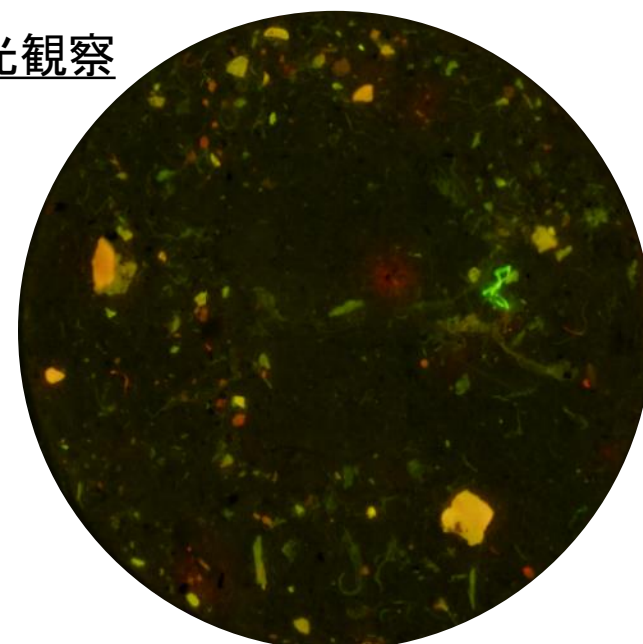
(B励起モード)



明視野観察



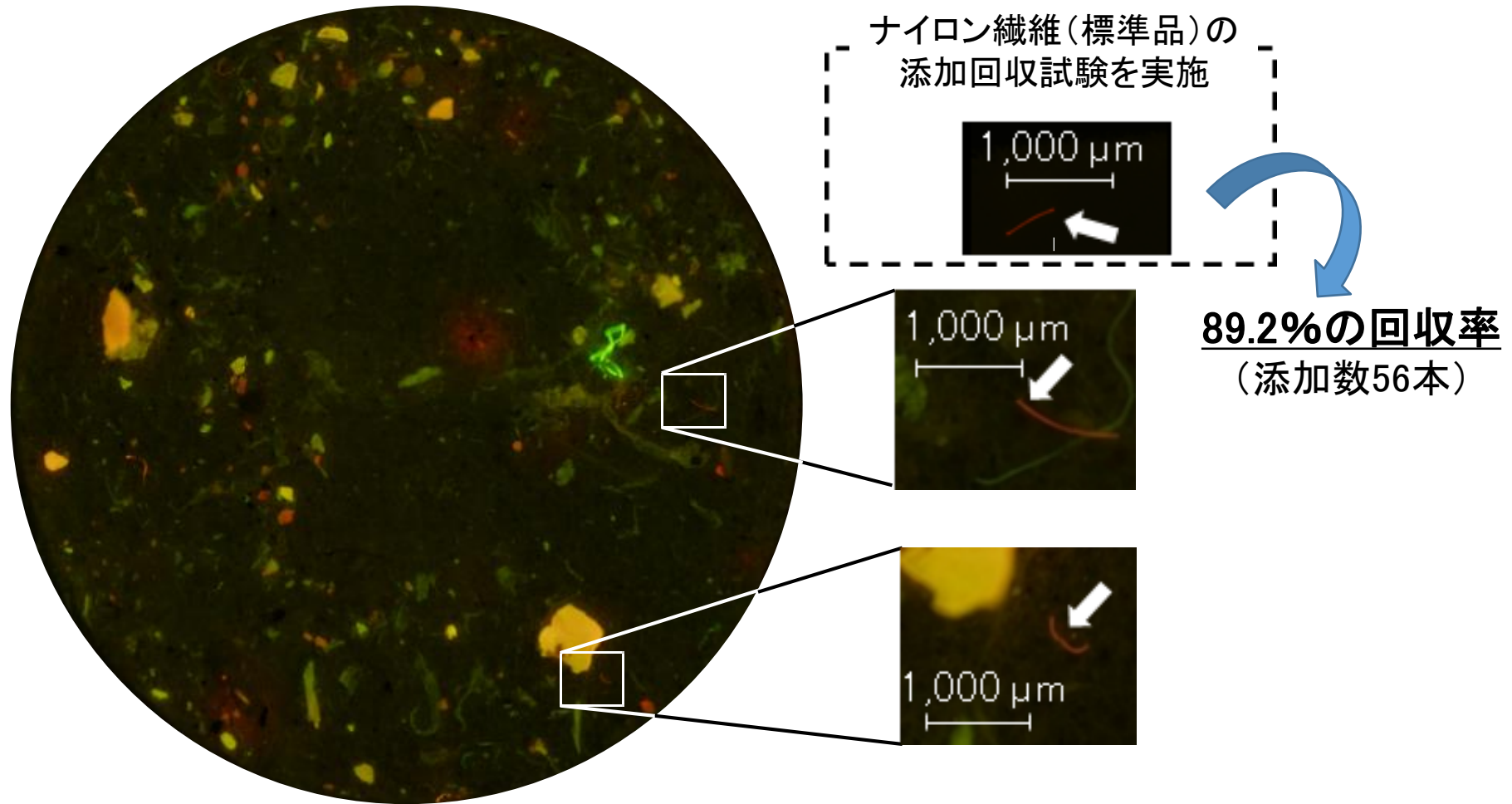
落射蛍光観察



5,000  $\mu\text{m}$

落射蛍光観察によりファイバー状の物質を確認

# 落射蛍光観察下でマイクロファイバーと 考えられる繊維状物質を検出



初沈汚泥由来の赤発色繊維を 3,560本/L 計測

➡ 検出法を確立し、さらなる実下水処理場調査へ

# ご清聴ありがとうございました

当研究チームでは交流研究員として民間企業から来ていただけるかたを募集しています。

特に、

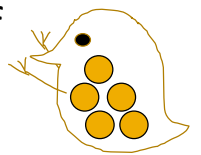
- ・WETに興味があり技術を習得したいかた
  - ・各種化学物質の水環境中での挙動や生物影響について研究したいかた
- を募集しています。

交流研究員募集パンフレット(下記URL)をご覧ください、  
[https://www.pwri.go.jp/jpn/employ/ukeire/pdf/kouryuu\\_pamphlet.pdf](https://www.pwri.go.jp/jpn/employ/ukeire/pdf/kouryuu_pamphlet.pdf)

土木研究所水質チームまでご連絡ください。

[TEL:029-879-6777](tel:029-879-6777) (研究室代表)

E-mail : [f-ogawa@pwri.go.jp](mailto:f-ogawa@pwri.go.jp)



お待ちしております！