

「持続可能な水利用を実現する革新的な技術とシステム」
平成 21 年度採択研究代表者

岡部 聡

北海道大学 大学院工学研究科・教授

水循環の基盤となる革新的水処理システムの創出

§ 1. 研究実施の概要

本研究の目標は、安心安全な水供給の持続可能性を向上させるため、従来のような一過型の水利用から脱却し、多様な水資源を有効活用する自律・分散型の水循環システムを実現させることである。この目標を達成するため、自律・分散型の先端的水処理技術の開発、および水の安全性評価・管理手法の開発を行う。先端的水処理技術の開発に関しては、原水水質や目的に応じて、膜分離プロセスと既存の各種水処理プロセスを組合せ、処理の高度化と高効率化を達成する。また、水の安全性評価・管理手法の開発に関しては、微量汚染化学物質リスクと病原微生物(ウイルス、細菌)リスクを対象とし、トキシコゲノミクスを用いた新規多指標型毒性評価法の開発や腸管系ウイルスの感染性評価法の確立を目指す。

本研究の目標を達成するために、2 つの要素研究グループ: I. 膜分離技術を核とした先端的水処理システムの開発(要素研究-1)と II. 水の新規安全性評価・管理手法の開発(要素研究-2)により研究を実施した。本年度は、要素研究-1 では、①エアスクラビングの効率化による膜ファウリングの低減、②生物反応槽・膜ろ過槽分離型 MBR の運転効率の解析、③仕切り板挿入型 MBR の最大負荷量の検討、④原子間力顕微鏡(AFM)とカンチレバーによる膜と Foulants の付着力の測定、⑤超高塩基度ポリ塩化アルミニウムの凝集処理性と凝集剤自体の保存安定性を評価、を行った。要素研究-2 では、要素研究-1 で開発された革新的水処理プロセスによって造水された各種水質の再生水の病原微生物(ウイルス、細菌)リスクと微量汚染化学物質リスクを評価するためのウイルス感染性評価法や新規バイオアッセイの開発を行った。

研究を開始し具体的な検討が進むに連れて、各研究開発項目に関する新たな知見が蓄積されつつある。今後、さらに多くの知見と具体的な成果が得られるものと期待している。

§ 2. 研究実施体制

(1) 北海道大学「水の安全性評価」グループ

- ① 研究分担グループ長： 岡部 聡（北海道大学、教授）
- ② 研究項目：
病原微生物・微量化学物質のモニタリングと健康リスク評価手法の開発

(2) 北海道大学「膜処理」グループ

- ① 研究分担グループ長： 木村 克輝（北海道大学、准教授）
- ② 研究項目：
膜分離技術を核とした先端的下水処理システムの開発

(3) 「大阪市水道局」グループ

- ① 研究分担グループ長： 河谷 幸生（大阪市水道局、工務部長）
- ② 研究項目：
 - ・膜ろ過による浄水処理技術の革新
 - ・高速生物ろ過＋凝集＋MF 膜ろ過（セラミック膜及び PTFE 膜）システムの開発

(4) 「阪神水企業団」グループ

- ① 研究分担グループ長： 小林 健一（阪神水道企業団、技術部長）
- ② 研究項目：
 - ・膜ろ過による浄水処理技術の革新
 - ・高速生物ろ過＋凝集＋MF 膜ろ過（セラミック膜及び PTFE 膜）システムの開発

(5) 「メタウォーター(株)」グループ

- ① 研究分担グループ長： 大和 信大（メタウォーター(株)、研究員）
- ② 研究項目：
 - ・膜ろ過による下 wastewater 処理の革新
 - ・低ファウリングセラミック膜の開発

§ 3. 研究実施内容

膜分離技術を核とした先端的下水処理システムの開発に関する研究では、膜ファウリング機構の解明とその制御に関連する研究を推進した。まず、都市下水を処理する膜分離活性汚泥法(MBR)における可逆的及び不可逆的ファウリングの季節変動を調査した結果、長い SRT(50 日)においてファウリング形成の季節変動が見られないこと、また高温期において不可逆的ファウリングが進行しやすいことなど、MBR におけるファウリング形成に関する知見を得た。MBR に

おける膜ファウリングは、まず膜細孔内あるいは表面に有機物が吸着し、膜の細孔径が徐々に縮小しながら差圧が緩やかに上昇する第 1 段階、膜細孔径が小さくなり、局所的な膜透過水フラックスが限界フラックスを超えた結果汚泥の膜面堆積が急速に進行する第 2 段階に分けられると考えられる。ファウリング進行の第 1 段階で吸着する有機物は、大半が微生物の代謝産物 (Soluble Microbial Products, SMP) であると考えられる。SMP は主に糖とタンパク質から構成されている。そこで、どのような糖・タンパク質が MBR の膜ファウリングを引き起こすのかを実験的に検討した。さらに、MBR リアクター内に存在する糖類の分画、膜ファウリングを引き起こしていたタンパク質の構造決定、膜構造と膜ファウリング発生度との関連性などについて検討した。実下水処理場に設置しているパイロットスケールの MBR リアクター内水を試料とし、18 種類のレクチンに通水して通水前後における膜ファウリング発生ポテンシャルをデッドエンドろ過により測定した。実験は水温の異なる時期に二回、二種類の MBR 用平膜を用いて行った。実験の結果、季節および膜の種類毎に、膜ファウリングの発生度が小さくなるレクチンが存在していたことが明確に示された。このことは、MBR リアクター内に存在する多種多様な糖類の中で、ファウリングへの関与度が高い糖類画分が存在することを示すものである。

これまでの研究で MBR の諸運転条件 (SRT、水温、膜材質、膜透過水フラックスなど) が変化することでリアクター内の SMP 特性が変化することおよび膜ファウリングに関与する成分が変化することを見出した。今後は、MBR 内リアクターに存在する多種多様な糖・タンパク質類のどのような部分が膜ファウリングに関与しているのかを明らかにできれば、新たな MBR のファウリング制御手法が開発可能となる。

膜ろ過による浄水処理技術の革新に関する研究では、新しい固液分離システムとして MF 膜ろ過・生物反応・粉末活性炭処理を融合させたハイブリッド膜ろ過システムを運転し検討を行った。ハイブリッド膜ろ過システムは 2 系列からなり、一方は浸漬型 MF 膜 (PTFE 製) を、他方はケーシング型 MF 膜 (セラミック製) を採用した。実験装置のフローを図 1 に示す。今年度は、膜差圧の上昇速度を指標とした安定運転条件の検討と、濁度や有機物等の基本水質項目に関する処理性の把握を主目的として、データ収集を行った。

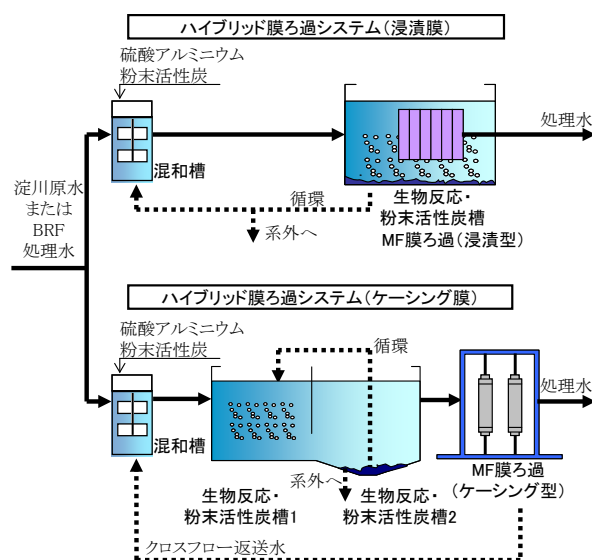


図 1 実験装置フロー

浸漬膜システムおよびケーシング膜システムの膜差圧の挙動を図 2 および図 3 にそれぞれ示す。膜差圧については、維持管理上の観点から、年 1~2 回の薬品洗浄を想定して 1 ヶ月当たり 4kPa 程度の上昇速度を目安とした。

浸漬型膜システムの膜差圧については、RUN2①においては上昇速度目安を満たしていな

かった。次に、RUN3①において、塩素添加水による物理洗浄実施を実施したところ、上昇速度目安を満たしていた。現在、膜を新膜に切り替え、生物反応槽の pH および散気量以外の運転パラメータについては

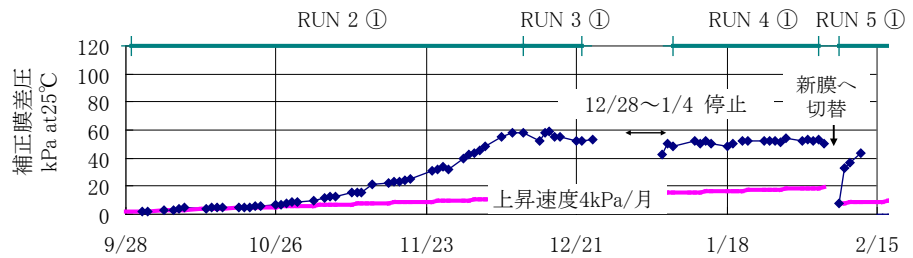


図2 浸漬膜システムにおける膜差圧の挙動

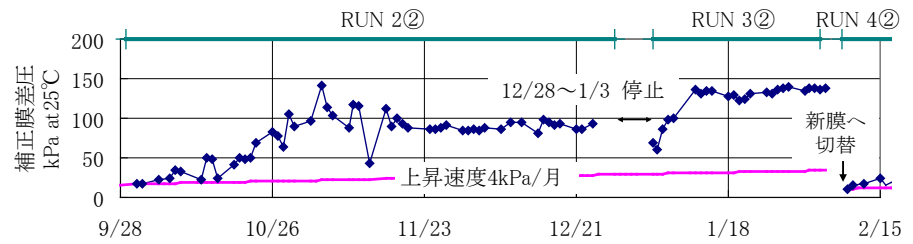


図3 ケーシング膜システムにおける膜差圧の挙動

RUN3①とほぼ同条件とし、RUN5①を実施している。ケーシング型膜システムの膜差圧については、RUN2②において運転開始後約 50 日間は上昇速度目安を満たしていなかったが、以降は上昇速度目安を満たしていた。また、約 1 週間装置を停止した後、RUN3②を実施したところ、ベースラインがRUN2②に比べ上昇したものの、運転開始後約 10 日間以降は上昇速度目安を満たしていた。現在、膜を新膜に切り替え、RUN3②とほぼ同条件で RUN4②を実施している。

浸漬膜システムおよびケーシング膜システムの処理水質を表1に示す。濁度については常時 0.1 度未満、有機物処理性の評価指標である TOC については平均 0.6~0.7mg/L であった。また、生物反応効果の評価指標であるアンモニア態窒素については、水温 10℃以上では平均 0.02~0.03mg/L、10℃未満では平均 0.07~0.08mg/L で、水温低下にともなう処理性の低下が認められた。この傾向は、同じく生物反応効果の評価指標であるマンガンにおいても同様であった。

病原微生物・微量有害化学物質のモニタリングと健康リスク評価に関する研究では、トキシコゲノミクスを用いた多指標型バイオアッセイの開発を開始した。本年度は、トキシコゲノミクスを用いた新規毒性評価法確立のための基礎的データとして、酸化作用 (H₂O₂, SDS)、発癌性 (DMN, MMC, TPA)、タンパク変成作用 (フェノール) 物質及び種々の重金属 (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Sb) に曝露したヒト由来細胞の DNA マイクロアレイ解析を行い、遺伝子発現パターンを比較することによって、曝露物

質の毒性作用の分類、評価を試みた。各物質曝露細胞から得られた遺伝子発現プロファイルのうち、未処理の対照系と比較して 2 倍以上の有意な

表1 処理水質

	淀川原水	浸漬膜処理水	ケーシング膜処理水
濁度 (n=73)	2.1~59度 (平均:7.3度)	0.1度未満	0.1度未満
TOC (n=57~59)	1.4~4.3mg/L (平均:2.1mg/L)	0.34~1.2mg/L (平均:0.66mg/L)	0.33~1.1mg/L (平均:0.61mg/L)
NH ₄ -N	≥10℃ (n=40)	0.030~0.20mg/L (平均:0.067mg/L)	0.02未満~0.13mg/L (平均:0.033mg/L)
	<10℃ (n=22)	0.049~0.31mg/L (平均:0.091mg/L)	0.02未満~0.26mg/L (平均:0.072mg/L)
Mn	≥10℃ (n=3)	0.051~0.15mg/L	0.0030~0.024mg/L
	<10℃ (n=2)	0.035~0.072mg/L	0.012~0.014mg/L

発現変動 (p<0.05)を示した遺伝子は合計 1230 遺伝子を用いた。酸化作用 (H₂O₂, SDS)、発癌性 (DMN,

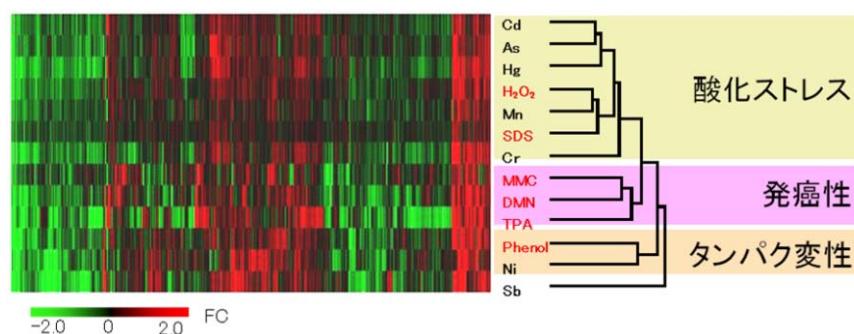


図4 階層的クラスター解析による化学物質の分類

MMC, TPA)、タンパク変成作用(フェノール)物質及び高濃度の重金属(As, Cd, Cr, Hg, Ni, Sb)曝露によって特異的な遺伝子発現変動が認められた。図4は、各物質曝露細胞における当該遺伝子の発現パターンをもとに、階層型クラスター解析を行った結果である。本解析によって、主な作用が酸化作用であると考えられる過酸化水素と SDS、蛋白変性作用であると考えられるフェノール、発癌性であると考えられるマイトマイシン C、ジメチルニトロソアミンおよび TPA をそれぞれ含む3つのクラスターが形成された。供試した重金属のうちカドミウム、ヒ素、水銀、クロムおよびマンガンは酸化作用、ニッケルは蛋白変性作用のクラスターに含まれており、これら重金属の高濃度曝露による主要な毒性作用が、前者5種は酸化作用、後者は蛋白変性作用であると推測できる。また、酸化作用のクラスターに含まれる物質のうち、カドミウム、ヒ素、水銀は比較的好ままとまとまったグループを形成しており、他の物質から明確に区別された。これら3種の重金属は事前の試験でも、他の4種と比較して高い細胞毒性を示しており、作用機序に何らかの共通点があると考えられる。以上の解析結果より、発現変動遺伝子を用いた階層的クラスター解析により化学物質を酸化作用、発癌性、蛋白変性作用の3種の基礎的害作用に分類可能であることが示唆された。本手法は、環境水のリスク評価および新規化学物質の毒性スクリーニングに有用であると考えられる。

病原微生物リスク評価に関する研究では、宿主特異的 16S rRNA 遺伝子マーカーの開発を行った。ヒト、ウシ、ブタ糞便および河川水を試料とし、*Bacteroides-Prevotella* に特異的なプライマー (Bac32F-Bac708R)を用いて 16S rRNA 遺伝子配列に基づき系統解析を行なった。宿主動物ごとに特異的な qPCR プライマーを設計するため系統解析を行なった結果、各糞便から得た *Bacteroides-Prevotella* に属するクローンは、ヒトから1種類、ウシから3種類、ブタから2種類の近縁なクラスターをそれぞれ形成した。次に、それぞれのクラスターを対象とした6種類の host-specific プライマー (Human-Bac1, Cow-Bac1, 2, 3, Pig-Bac1, 2)と *Bacteroides-Prevotella* 属を包

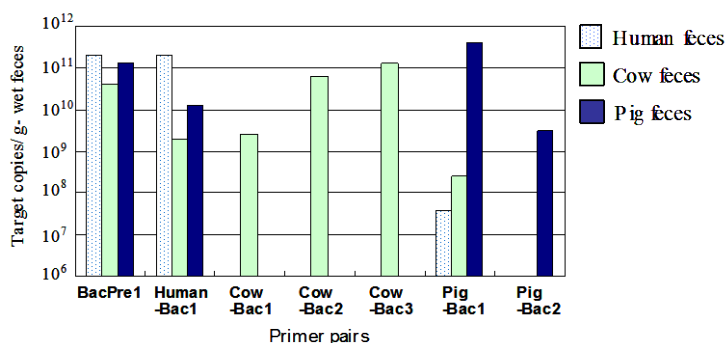


図5 各host-specificプライマーの特異性評価

括的に検出するプライマー (BacPre1) を設計した。qPCR 法の検量線作成のための標準物質は、Human-Bac1 および BacPre1 は *B. fragilis* DNA を、その他のプライマーは系統解析で構築した plasmid DNAs を用いた。その定量範囲は、それぞれ $4.0-4.0 \times 10^5$ copies/well-PCR および $6.0 \times 10^1 - 6.0 \times 10^8$ copies/well-PCR の範囲で得られ ($r^2=0.99$)、低濃度まで検出可能であることが確認された。

次に、host-specific プライマーの宿主動物に対する特異性を評価し本手法の妥当性を検証するために、qPCR 法により各 host-specific プライマーを用いて糞便試料から検出される各宿主動物の遺伝子マーカーのコピー数を定量した (図 5)。Cow-specific プライマーおよび Pig-specific プライマーを用いると、それぞれ対象とする宿主動物の糞便以外から検出されるコピー数は、検出限界値以下または 3 オーダー以上低く検出され、Cow-Bac1, 2, 3 および Pig-Bac1,2 の高い特異性が示唆された。Human-specific プライマー (Human-Bac1) は、ヒトの糞便から最も高いコピー数を検出した。また Human-Bac1 はウシ、ブタの糞便に含まれ比較的ヒト由来の *Bacteroides* に近縁なクローンを検出し、ヒトマーカーを過大評価する可能性があるが、ウシ、ブタに特異性の高いプライマーが設計できたことから、本手法では 3 種の host-specific プライマーを併用することによって糞便汚染を宿主動物ごとに定量評価できると考えられた。

「胃腸炎ウイルス粒子安定性評価」に関する研究については、アビジン固定化ゲルを用いたバッチ形式による酸化損傷ウイルス粒子回収手法を新たに構築した。ロタウイルスに対して新手法を適用したところ、塩素負荷の増大に伴いアビジン固定ゲルによるウイルス粒子の回収率が増加する結果が得られ、ロタウイルス粒子の酸化損傷を定量的に評価することが可能であることが示された。さらに感染価の低下は見られるが定量 RT-PCR では遺伝子量の低下が見られない低塩素負荷条件において、ウイルス粒子上の酸化損傷を検出可能であることも確認された。このアビジン固定ゲルを用いたバッチ形式の新手法においては、原理は同じであるがアビジンカラムクロマトグラフィを用いた旧手法と比べ、サンプル処理数と処理時間に関して効率が 15 倍に増加した。また、本手法の改良手段として RNase の使用が有効であると考えられた。

「ノロウイルス吸着バクテリア」に関する研究については、抗 HBGA 抗体を用いたスクリーニングにより得られた腸内細菌に関して血液型決定キットにより HBGA 抗原の存在を確認した。さらに胃腸炎患者由来のノロウイルス粒子を用いた吸着実験により、Langmuir 型吸着を仮定した場合の吸着平衡定数と飽和吸着サイト数を推定した。その結果、対照として用いた *E. coli* K12 よりも低い菌体濃度において血液型決定キットで陽性を示す細菌が 3 株得られた。16S rDNA 解析による同定の結果、これら 3 株はそれぞれ *Pseudomonas* sp.、*Klebsiella pneumoniae*、及び *Proteus mirabilis* の近縁株 (配列相同性はそれぞれ 92、98、及び 97%) であった。これらの菌株を増菌後、ノロウイルス粒子を用いた吸着実験を行った結果、すべての菌株において見掛けの吸着平衡定数は $10^{13} M^{-1}$ 前後の値を示した。以上の結果により、当初目的の一つであった「ノロウイルス吸着細菌の存在証明」を行うことができたものと考えられる。