

岡部 聡

北海道大学大学院工学研究院・教授

水循環の基盤となる革新的な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、②超高塩基度ポリ塩化アルミニウム(PAC)凝集剤+微粉炭吸着+セラミックMF膜処理システムの開発、③新規モジュールによる省エネルギー効果の定量的評価、④槽外型MBRにセラミック膜を装着した都市下水の連続処理実験、⑤仕切り板挿入型MBRの処理モデル構築、を行った。要素研究-2では、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を行うために、①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、②腸管系ウイルスの新たな検出方法および感染性評価手法の開発、③人畜糞便汚染源の特定と定量のための宿主特異的16S rRNA遺伝子マーカーの開発、④ナノマテリアルを用いた網羅的重金属分析システムの開発を行った。

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 (北海道大学大学院工学研究院、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 (北海道大学大学院工学研究院、准教授)

②研究項目

・膜分離技術を核とした先端的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

・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)「阪神水道企業団」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

・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

・低ファウリングセラミック膜の開発

§3. 研究実施内容

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)

膜分離技術を核とした先端的水処理システムに関する研究では、22年度において、散気管形状の最適化および活性汚泥への酸素供給に必要な補助曝気装置経由の送気量とのバランスを検討し、新規モジュールによる省エネルギー効果を定量的に評価した。通常型の膜モジュールと新規モジュールを並列に設置して都市下水の連続処理実験を行った結果、新規モジュールでは送風量を2/3に減らしても、通常型と同等の膜透過性能を維持できることが示された。

また槽外型 MBR にセラミック膜を装着した都市下水の連続処理実験では、定期的実施する逆洗時に添加する薬品の濃度および種類が、連続運転において維持可能な膜透過水フラックスに大きな影響を及ぼすことが示された。現在市販されているセラミック膜を用いた実験において当初目標とした 2.5m/d での運転を継続するためには、次亜塩素酸ナトリウムに加えて何らかの薬剤を併用した逆洗浄を実施する必要があることが示された。

革新的な省エネ・省スペース型 MBR に関する研究では、仕切り板挿入型 MBR (BMBR)を開発している。22年度においては、約3時間という短い滞留時間での BMBR の運転において、TOC、総リン及び総窒素の除去率が 83、85 及び 91%に達することが確認された。非可逆的なファウリング物質蓄積は観察されたが、酸洗浄がアルカリ洗浄に比較してファウリング物質の除去に有効であり、酸洗浄後にアルカリ洗浄を行うことでより効率的に膜洗浄を行うことが可能であることが示された¹⁾。

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用いて検討を行った。ハイブリッド膜ろ過システムは、浸漬型 MF 膜 (PTFE 製)を採用した系列と、ケーシング型 MF 膜 (セラミック製)を採用した系列の2系列からなっている。22年度は、昨年度から引き続き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行った。

浸漬膜の膜差圧の挙動については、生物反応・粉末活性炭槽の pH 条件(以下、pH 条件)と運転時期による影響が見られた。pH 条件の違いについて検証したところ、この期間においては、膜差圧の上昇傾向に明確な違いが見られなかった。一方、運転時期の違いについては、季節性のある水質項目として、溶解性マンガンと藻類に着目して膜差圧の上昇傾向と比較した結果、相関が見られた。これらのことから、溶解性マンガンや藻類に由来する項目等の季節性のある水質項目が膜の安定運転に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

ケーシング膜システムの膜差圧の挙動については、生物反応槽内の濁質濃度を低下(SS濃度約3000→1500mg/L)させ、膜への濁質負荷を低減させたが、差圧上昇傾向は変化しなかった。これは、生物反応槽に設置されている傾斜板の除濁効果によるものと考えられる。なお、運転継続は3ヶ月程度となる差圧上昇傾向であった。一方、膜直前で再凝集、凝集 pH を凝集剤の適正 pH に安定させる等、凝集操作を適正化したことにより差圧上昇を抑制することができた。

II. 水の新規安全性評価・管理手法の開発（要素研究-2）

微量有害化学物質のモニタリングに関する研究では、まず化学物質の細胞に対する有害作用を酸化ストレス作用、膜障害作用、タンパク変性作用および DNA 障害作用の 4 つのカテゴリーに分類し、それぞれの有害作用に代表的な化学物質を用いて、これら化学物質によって誘導される遺伝子(群)を DNA マイクロアレイ技術を用いて網羅的に解析することで発現遺伝子ライブラリーを構築した。さらに、この発現遺伝子ライブラリーを基に、重金属(特にヒ素)やナノ粒子を披検物質とし、特に低濃度における慢性毒性に着目し毒性の有無および毒性作用をトキシコゲノミクスにより評価を行った。

異なるヒ素濃度に暴露した HepG2 細胞における細胞毒性試験(ニュートラルレッドアッセイ)の結果、ヒ素濃度 4 μM までは細胞の増殖が確認され、それ以降の濃度域では細胞生存率が 100%を下回る結果となった。この結果より、遺伝子発現解析を実施する暴露濃度をヒ素では、環境レベルの濃度である 0.005 μM (細胞生存率 110%)、水道水質基準値濃度である 0.07 μM (120%)、最も高い生存率を示した 0.5 μM (140%)、生存率が 100%以下になり始めた 6 μM (90%)、顕著な生存率の低下を示した 40 μM (10%)の 5 つの濃度を採用した。暴露濃度上昇とともに変動した遺伝子数の増加が確認され、濃度が高くなるに従い、より多くの機能に影響を及ぼすことが示唆された。階層的クラスタリング解析の結果、0.005、0.07、0.5、6 μM 暴露群が互いに類似した発現パターンを示し、40 μM 暴露群では、他の暴露群とやや異なる発現パターンが得られた。

データベースを基に有意変動した遺伝子の機能分類を行ったところ、0.07、0.5、6 μM において、M phase に分類され細胞分裂を促進する作用を持つ遺伝子の発現上昇が特徴的であったのに対し、40 μM ではこの機能に属す遺伝子発現の抑制が確認された。また、0.005 μM では、この分類群の顕著な発現は確認されなかった。この分類群で発現上昇した遺伝子には、0.07、0.5、6 μM に共通して、細胞分裂期中期にある紡錘体チェックポイントを制御する *CDC20*、有糸分裂開始に必要なタンパク質のコードや DNA 損傷をチェックする *CDC25B* があつた。その他に 0.5 μM や 6 μM において、過剰発現することで異常な細胞増殖を引き起こし、発癌における腫瘍進行に重要な役割を果たすと報告されている *UBE2C*、*BIRC5*、*BUB1B*、*CKS1*、*CKS2* が含まれていた。一方で、40 μM では G1/S 期及び G2/M 期への移行、M 期の制御に関わる *CDC2*、*CCNA2*、*CCNB2* の発現が抑制されており、これらの遺伝子が正常に発現しないことによる細胞増殖の抑制が示唆された。また、この M phase 関連遺伝子の発現上昇は、発癌性物質である 12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート(TPA)、テトラクロロエチレン(TCE)暴露においても類似した発現パターンを示したが、非発癌性物質であるカプロラクタム暴露においては、この分類群の発現上昇は全く確認されなかったため、この分類群に属す遺伝子の発現量の増加と発癌性との関連が推測される。ヒ素による発癌性は比較的低濃度で顕著に検出されることが示唆された。

病原微生物リスク評価に関する研究では、鳥類の便汚染評価を行うために家禽及び野鳥に関する遺伝子マーカーの開発を行い、糞便汚染源の特定と汚染度の定量を試みた。系統解析の結

果を基に、カモ及びニワトリ糞便に特異的な *Bacteroides-Prevotella* 属を標的とした 16S rRNA 遺伝子配列を特定し、定量可能な Duck-Bac、Chicken-Bac、及び Chicken/Duck-Bac プライマーセットを設計した。Duck-Bac、Chicken-Bac 及び Chicken/Duck-Bac プライマーセットの検出限界 (plasmid DNA) は、それぞれ 5, 63, 50copies / reaction、環境水中における定量限界はそれぞれ 12, 570, 540 copies / reaction であることを確認した。開発した鳥類特異的遺伝子マーカーは、環境水に適用可能であり、宿主動物毎の汚染度の評価可能であることが示された。

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完成させた。代表的な胃腸炎ウイルスである A 群ロタウイルスに対して当該手法を適用したところ、約 2 log の感染価低下は見られるが遺伝子量の低下が見られない低塩素負荷条件において、ロタウイルス粒子上の酸化損傷を定量的に検出可能であることが示された。

ノロウイルス吸着性細菌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 (*Enterobacter* sp.) に関し、細胞表面上にノロウイルス様粒子が特異的に吸着することが示され、「ノロウイルス吸着性細菌」の分離に成功したことが確認された。

ナノマテリアルを用いた重金属センサーに関する研究については、ナノマテリアル 1 の開発に成功した。ナノマテリアル 1 のイオン応答特性を評価するため、ナノマテリアル濃度が一定 (1 μ M) のアセトニトリル溶液に、濃度が 50 μ M となるように 13 種類のイオン (Na^+ 、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Pb^{2+}) の過塩素酸塩を加え、蛍光スペクトル測定を行った。ナノマテリアル 1 の蛍光極大波長は 538 nm であった。ナノマテリアル 1 は、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} と混合された場合にのみ蛍光を発した。イオン存在下では蛍光極大波長は長波長側へ移動した。移動幅はイオン種によって異なった。移動幅は Ca^{2+} (18 nm)、 Mg^{2+} (27 nm)、 Cd^{2+} (29 nm)、 Zn^{2+} (39 nm) の順に大きくなった。次に、ナノマテリアル 1 に応答した 4 種のイオンを用い、蛍光滴定実験を行った。ナノマテリアル濃度一定 (1 μ M) の条件下でイオン濃度を徐々に増加させ、蛍光スペクトル測定を行った。例えば、 Zn^{2+} 濃度を 0 μ M から 1.5 μ M まで徐々に増加させた場合、 Zn^{2+} 濃度の増加に伴い、ナノマテリアル 1 自身に由来する 538 nm の蛍光強度が徐々に減少し、ナノマテリアル 1 が Zn^{2+} と錯体形成した際に現れてくる 565 nm での蛍光の強度が徐々に増加した。538 nm および 565 nm での蛍光強度比を Zn^{2+} 濃度に対しプロットすることでシグモイド型の検量線が得られた。 Zn^{2+} 検出範囲は 0.01 mg/L から 0.3 mg/L であった。以上の結果から、移動幅の差異は小さいものの、極大波長により検出したイオン種を区別でき、蛍光強度によりイオン濃度を定量できることが明らかとなった。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Kimura, K., Watanabe, E., and Watanabe, Y. Treatment of municipal wastewater with a short retention time by a baffled membrane bioreactor: performance and

- fouling characteristics. Proceeding of 4th Specialised Conference on Decentralized Water and Wastewater International Network. 415-420.
2. Okabe, S., Satoh, H., and Kindaichi, T. (2011) A polyphasic approach to study eco-physiology of complex multispecies nitrifying biofilms. *Methods in Enzymology*, **496**, 163-184.
 3. May, T., Tsuruta, K., and Okabe, S. Exposure of conjugative plasmid carrying *Escherichia coli* biofilms to male-specific bacteriophages, *The ISME Journal*, **5**(4), 771-775.
 4. Sano, D., Perez, U., Guix, S., Pinto, R. M., Miura, T., Okabe, S., and Bosch, A. (2011) Quantification and genotyping of human sapoviruses in the Llobregat River catchment, Spain, *Applied and Environmental Microbiology*, **77**(3), 1111-1114.
 5. Hafuka, A., Sakaida, K., Satoh, H., Takahashi, M., Watanabe, Y., and Okabe, S. (2011) Effect of feeding regimens on polyhydroxybutyrate production from food wastes by *Cupriavidus necator*, *Bioresource Technology*, **102**(3), 3551-3553. (DOI: 10.1016/j.biortech.2010.09.018)
 6. Cho, S., Fujii, N., Lee, T., and Okabe, S. (2011) Development of a simultaneous partial nitrification and anaerobic ammonia oxidation process in a single reactor, *Bioresource Technology*, **102**(2), 652-659. (DOI: 10.1016/j.biortech.2010.08.031)
 7. May, T., Itoh, A. and Okabe, S. (2010) Characterization and global gene expression of F⁻ phenocopies during *Escherichia coli* biofilm formation, *Molecular Genetics and Genomics*, **284**, 333-342. (DOI: 10.1007/s00438-010-0571-2)
 8. Cho, S., Takahashi, Y., Fujii, N., Yamada, Y., Satoh, H. and Okabe, S. (2010) Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor, *Chemosphere*, **78**, 1129-1135. (DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.12.034)
 9. Miyoshi, T., Tanaka, I., Tsuyuhara, T., Watanabe, E., Aizawa, E., Kimura, K. and Watanabe, Y. (2010) Fouling potentials of polysaccharides in membrane bioreactors (MBRs) assessed by lectin affinity chromatography, *Water Science and Technology*, **61**(7), 1787-1792. (DOI: 10.2166/wst.2010.113)
 10. Tsuyuhara, T., Hanamoto, Y., Miyoshi, T., Kimura, K. and Watanabe, Y. (2010) Influence of membrane properties on physically reversible and irreversible fouling in membrane bioreactors, *Water Science and Technology*, **61**(9), 2235-2240. (DOI: 10.2166/wst.2010.122)
 11. Kimura, K., Hara, H. and Watanabe, Y. (2010) Elimination of selected pharmaceuticals by biosolids from municipal wastewater treatment plants: importance of modest pH change and degree of mineralization, *Water Science and*

Technology, **62**(5), 1084-1089. (DOI: 10.2166/wst.2010.356)

12. Ogawa, N., Kimura, K. and Watanabe, Y. (2010) Membrane fouling in nanofiltration/reverse osmosis membranes coupled with a membrane bioreactor used for municipal wastewater treatment, *Desalination and Water Treatment*, **18**, 292-296. (DOI: 10.5004/dwt.2010.1795)

(4-2) 知財出願

① 平成 22 年度特許出願件数(国内 0 件)

② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)