

図17 未添着アルミナへのクロム酸のアニオン交換におけるイオン価数別での $n_{c}$ 変化

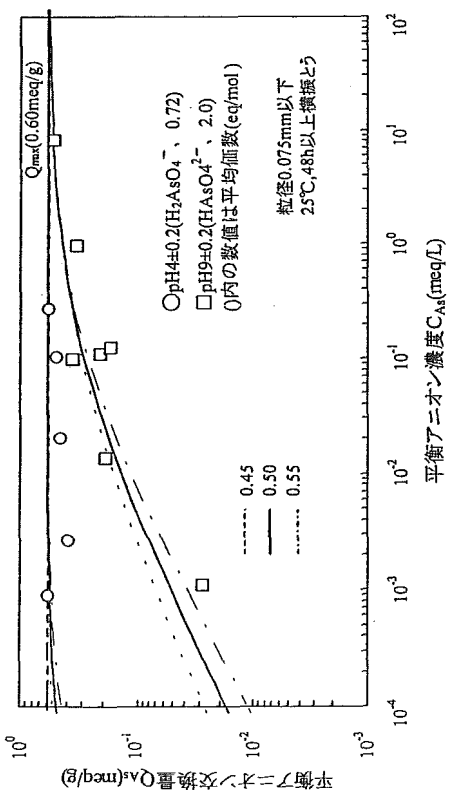


図18 未添着アルミナへのヒ酸のアニオン交換におけるイオン価数別での $n_{As(V)}$ 変化

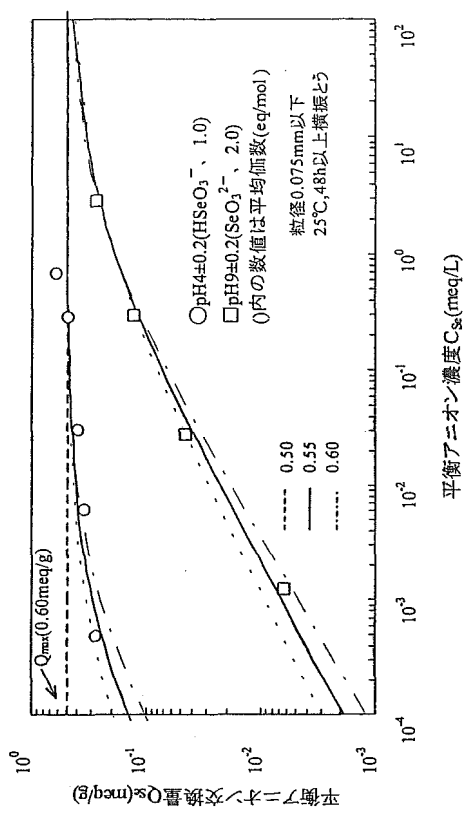


図19 未添着アルミナへの亜セレン酸のアニオン交換におけるイオン価数別での $n_{s(IV)}$ の変化

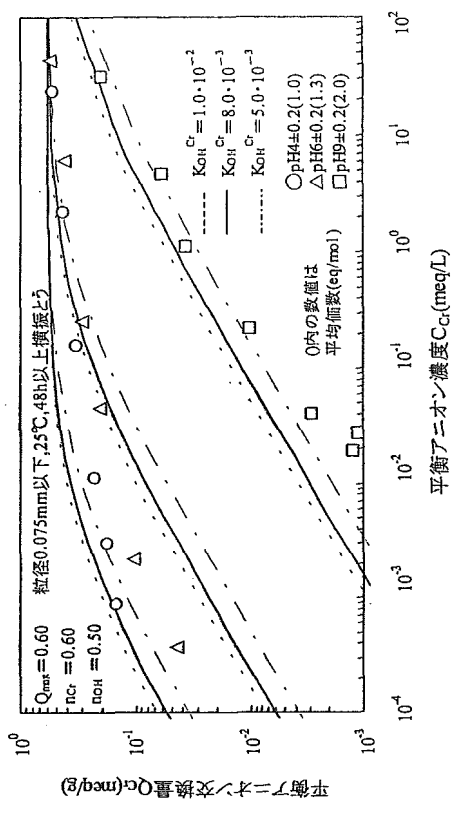


図20 未添着アルミナへのクロム酸のアニオン交換における水

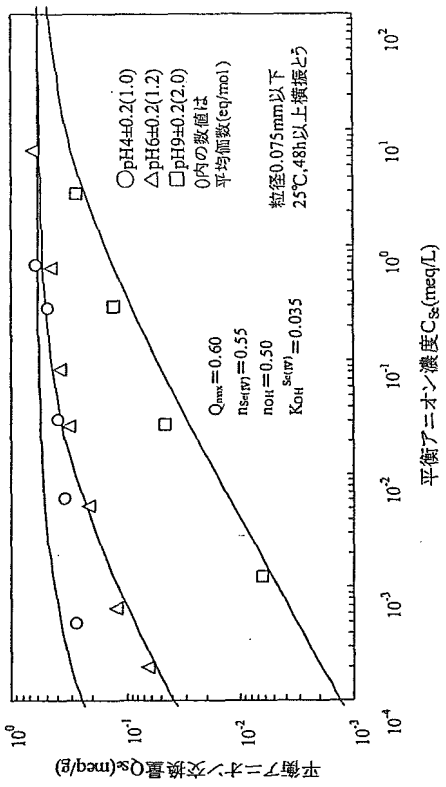


図21 未添着アルミナへの亜ヒ酸のアニオン交換における水酸化物イオンの影響

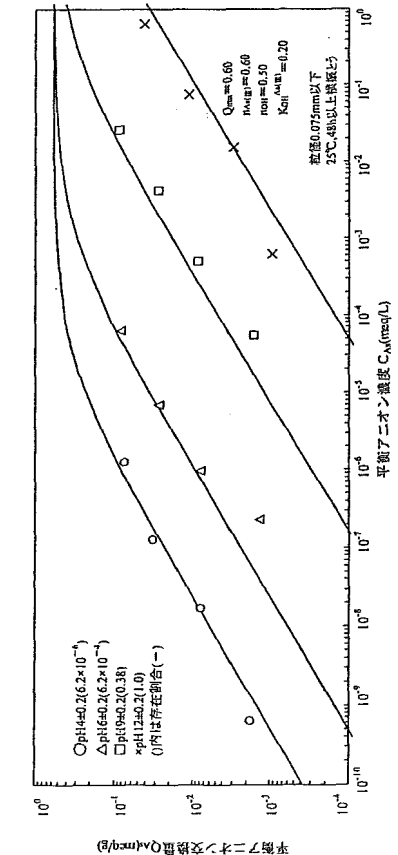


図22 未添着アルミナへのヒ酸のアニオン交換における水酸化物イオンの影響

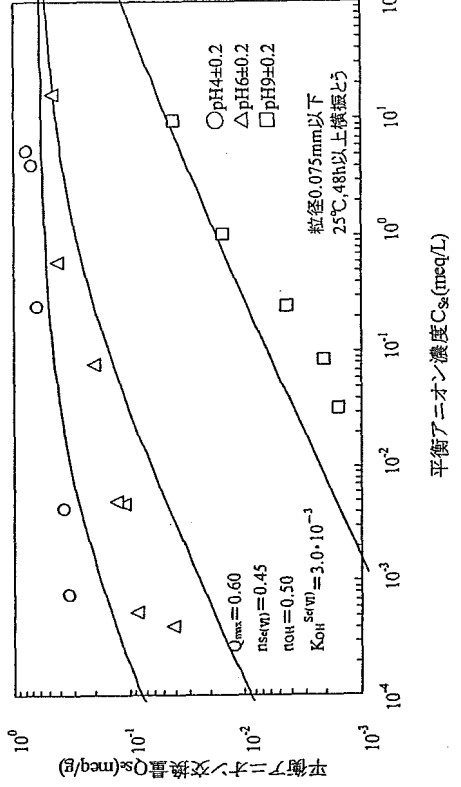


図23 未添着アルミナへの亜セレン酸のアニオン交換における水

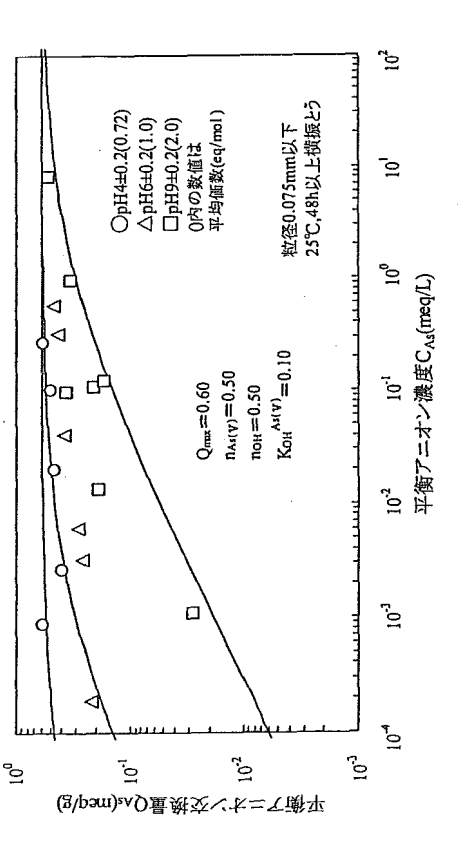


図24 未添着アルミナへのセレン酸のアニオン交換における水

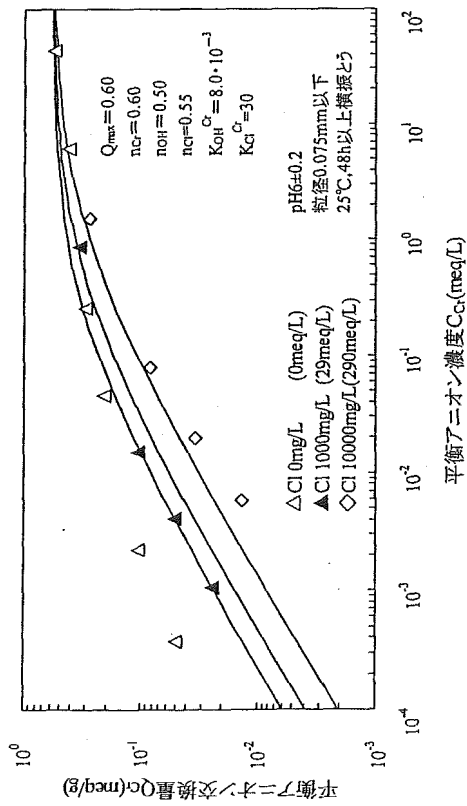


図25 未添着アルミナへのクロム酸のアニオン交換における塩化物イオンの影響

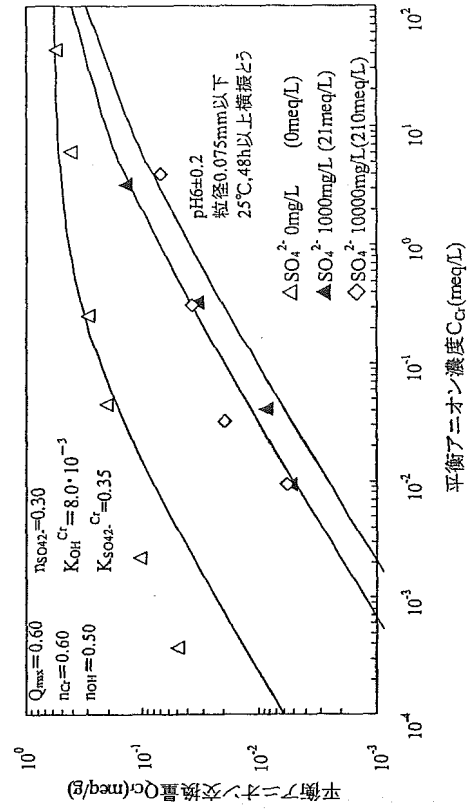


図27 未添着アルミナへのクロム酸のアニオン交換における硫酸イオンの影響

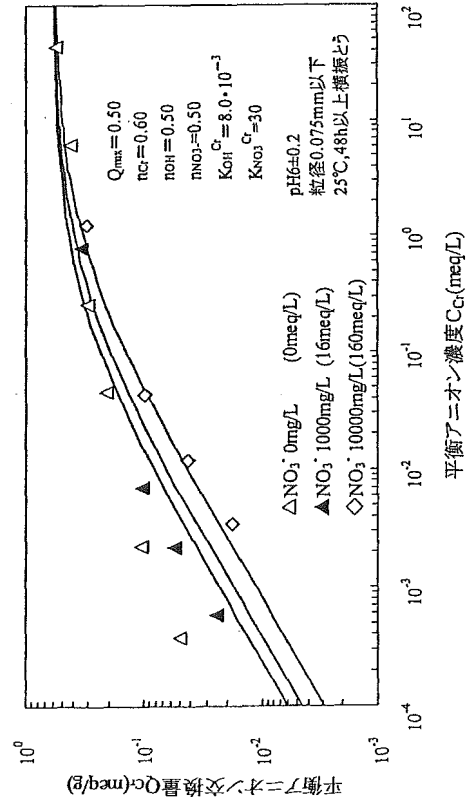


図26 未添着アルミナへのクロム酸のアニオン交換における硝酸イオンの影響

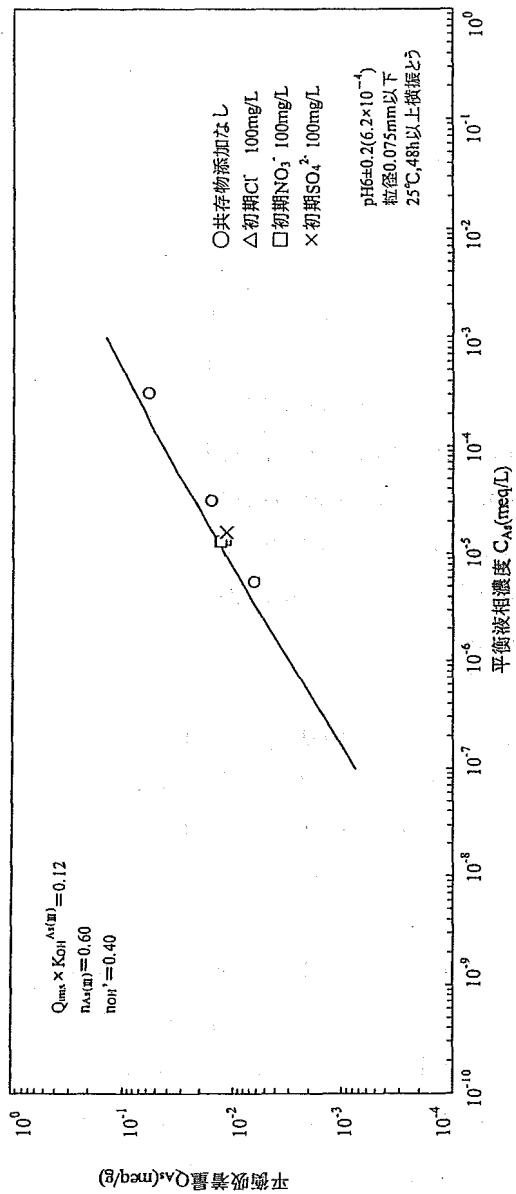


図28 添着アルミナへの珪ヒ酸の吸着量における塩化物、硝酸、硫酸イオンの影響

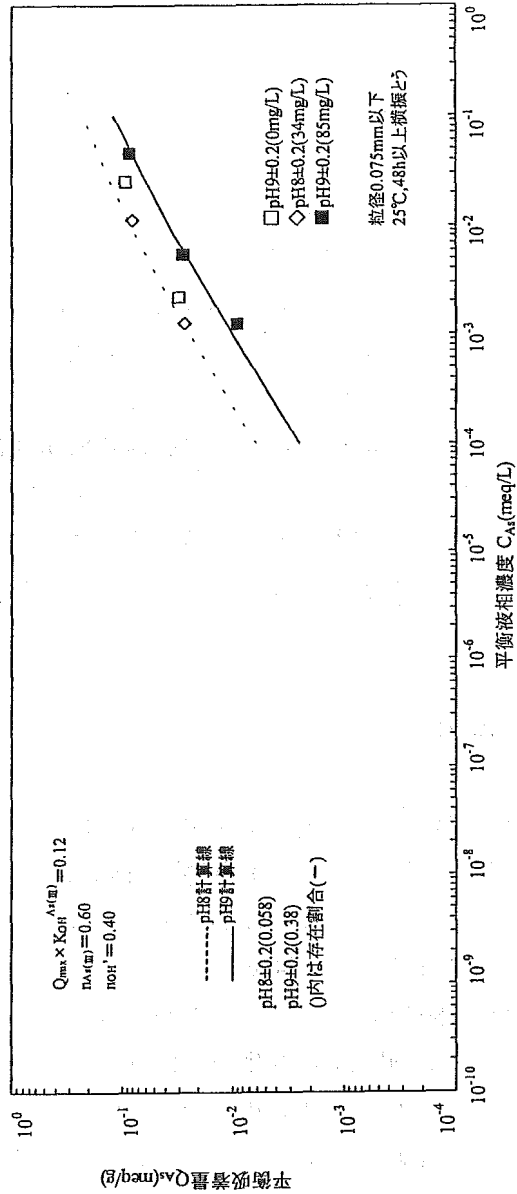


図29 添着アルミナへの珪ヒ酸の吸着量における炭酸水素イオンの影響

コミュニティレベル水システム構築のための高度バイオアッセイの開発

分担研究者 高梨啓和 鹿児島大学工学部 助教授

研究要旨

化学物質による健康影響リスクを回避した自律・分散型の水システムを構築するための評価方法の選定、要素技術の検討を行った。評価法として、化学物質の上市前管理に世界的に広く用いられているサルモネラ菌を用いた Ames 変異原性試験を用いるのが適切と考えられることを示した。また、水道水中の変異原性物質の大部分が変異原性を示さない前駆物質が塩素消毒される際に生成することから、水道水源の水質保全のための指標として変異原性物質生成能 (Mutagen Formation Potential, MFP) という指標を提案した。MFP を用いて、代表的な水道水源の汚染源である下水中の変異前駆物質の除去速度を検討した結果、溶存有機炭素の除去速度よりも遅かった。したがって、処理時間を長くするか活性汚泥の濃度を高くすることが有効であることが明らかになった。

A. 研究目的

水資源の供給に関する持続可能性を向上させるためには、多様な水資源を有効活用することによって自律・分散型の水システムを構築することが重要である。しかし、多様な水資源を活用して水道水を供給する際には、化学物質による健康影響リスクを注意深く回避する必要がある。これは、水資源の持続可能性を向上させるために、従来は水道水源として利用されていなかった水質悪化が進行した水源を活用する必要性が生じるためである。

従来、健康影響リスクが高い一部の物質に対しては、個別濃度測定により安全管理が行われているが、その他多くの物質に

ついては、管理の負担が大きく成りすぎることなどの理由から管理が行われていない。このため、多くの物質の安全性評価・管理を一括して行うことのできるバイオアッセイによる評価・管理の導入が望まれている。

そこで本研究では、化学物質による健康影響リスクを回避した自律・分散型の水システムを構築するのに適したバイオアッセイを選定することを目的とした。また、塩素処理副生成物生成能をバイオアッセイにより評価することの必要性についても検討を加えることとした。さらに、選定されたバイオアッセイを用いて従来は下水処理技術を再検討し、自律・分散型の水システムの構築に重要な水道水源の保全技術に関する要素技術の検討を行った。

Table 1 Principal Water Quality of Water Samples

Sample name	A	B	C	D	E	F
Sampling facility	DWT <sup>1)</sup>	ST <sup>2)</sup> -A	ST <sup>2)</sup> -B	ST <sup>2)</sup> -A	ST <sup>2)</sup> -A	ST <sup>2)</sup> -C
Sampling date	4 Feb, '99	27 Sep, '99	22 Nov, '99	24 May, '00	27 Jan, '01	7 Aug, '02
Sampling time	13:00	13:00	13:00	11:00	13:00	11:00
DOC [mg/L]	42.1	22.1	29.7	48.9	25.5	48.5
A <sub>260</sub> [1/10cm]	0.23	0.66	0.89	0.75	0.98	1.0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N[mg/L]	22.3	21.9	25.2	23	26.7	21.1
MFP [10 <sup>3</sup> net rev./L]	100	14	12	16	22	29

1) Domestic water treatment in a university

2) Sewage Treatment

## B. 研究方法

### 1. 試料水および活性汚泥の採取

要素技術の検討に用いた下水の水質を Table 1 に示す。下水は、分流式の終末処理場より採取した。サンプリングは、沈砂池上部で行った。サンプリングした下水は、直ちに実験に供した。

なお、採取した下水は、塩素処理せずに変異原性を測定しても有意な変異原性は観察されなかった。

活性汚泥は、同じ終末処理場の返送汚泥を採取した。採取した汚泥は、Table 2 に示す人工排水を用いて研究室内で1ヶ月以上馴養してから実験に用いた。馴養は、Fill&draw 法で行った。すなわち、馴養タンクの曝気、攪拌を止めて汚泥を沈降させ、上澄みを除去した後人工排水を加える操作を1日1回行った。曝気量は、1vvm 以上とした。

### 2. 活性汚泥処理操作

実験を開始するに当たり、活性汚泥の状態を一定に保つために、活性汚泥に Table 2 に示した人工排水を加え、活性汚泥が基質中の溶存有機炭素をほぼ除去するのに必要な時間である1時間放置した。その後、実験に必要な量の活性汚泥をろ紙でろ過した。汚泥中の残留有機物除去のため、生理食塩水で十分に洗浄した。このように調整した汚泥のグルコース・ペプトン比除去速度が  $(8.7 \pm 1.0) \times 10^{-4} \text{ mg DOC (mg SS h)}^{-1}$  であることを予め確認し、実験を行った。

実験は25℃に保って行った。試料水の入った反応槽に所定のSSになるように濃縮した活性汚泥を加え、空気で曝気を行いながら攪拌速度35rpmで攪拌した。活性汚泥処理水は、各サンプリング時刻に2.5Lずつ採取し、No.1のろ紙を用いて自然ろ過した。この時、ろ紙からの有機物の溶出を防ぐため、予めRO水を用いて十分に洗浄・乾燥させたろ紙を用いた。

### 3. 変異原性物質生成能の測定

変異原前駆物質を塩素処理して変異原性物質に変化させるため、Fig. 1に示す手順

Table 2  
Composition of synthetic wastewater  
to accumulate activated sludge

Component	Conc. [mg/L]
Glucose	470
Polypepton	90
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	170
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	140
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	120
NaHCO <sub>3</sub>	70
NaCl	70
NaHPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	38
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	13

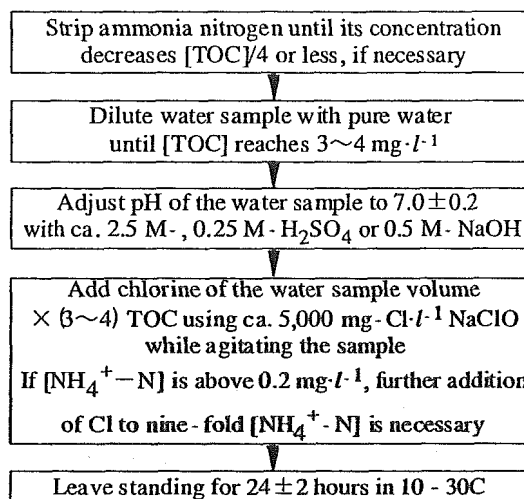


Fig. 1. Chlorination procedure for measuring mutagen formation potential, MFP.

で塩素処理した。すなわち、試料水の TOC 濃度が 3? 4 mg l<sup>-1</sup> になるように RO 水で希釈し、pH7.0±0.2 に調整した。次に、次亜塩素ナトリウム溶液を 3? 4 mg Cl (mg C)<sup>-1</sup> 添加し、24 時間放置した。24 時間後に、残留遊離塩素が 0.2 mg Cl l<sup>-1</sup> 以上残存していることを確認した。

生成した変異原性物質は、Sep-pak plus CSP-800 を用いた固相吸着脱理法により濃縮した。その手順を Fig. 2 に示す。この方法により、水中の変異原性活性の 90% 以上を回収し、1,000 倍に濃縮することができることが明らかになっている<sup>11, 2)</sup>。

#### 4. Ames 変異原性試験方法

生成・回収した変異原性物質は、Ames 変異原性試験により評価した。Ames 変異原性試験は、労働省の微生物を用いる変異原性試験ガイドブック<sup>3)</sup>を基にしたプレインキュベーション法で行った。なお、今回は TA100 株のみを用い、代謝活性剤を添加せずに試験した。これは、著者らの従来の研

究<sup>4)</sup>において、TA98 株を用いた場合、また TA100 株を用いても代謝活性剤を添加した場合、水道水の変異原性はほとんど検出されなかったためである。このため、水道原水保全のための検討は、TA100 株を用いて代謝活性剤を添加せず (TA100-S9) に行えばよいと考えられる。

また、同じ条件の試験を必ず 2 枚のプレートを用いて行った。ただし、陽性対照試験は 4 枚のプレートを用いて行った。陽性対照物質としては、4-ニトロキノリン-1-オキシド (4NQO) の DMSO 溶液を用いた。陰性対照試験の結果は、106~128 rev./plate、陽性対照試験の結果は 8,900~11,000 net rev./ug 4NQO と安定しており、変異原性の値同士を比較するのに十分であった。

#### (倫理面への配慮)

本研究に関し、倫理に関して配慮が必要な部分がないため、特に配慮した点はない。

#### C. 研究結果及び考察

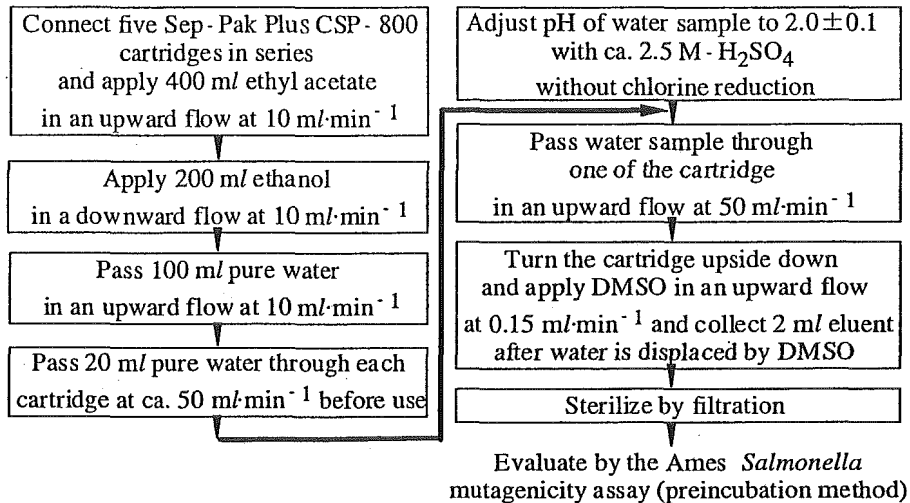


Fig. 2. Procedure for concentration of mutagens formed.

## 1. 評価方法の選定

### 1. 1 バイオアッセイの役割

水試料中の化学物質の安全性を管理するために、毒性が明らかになっているいくつかの物質についてはガイドライン、基準が制定されている。しかし、既存のガイドライン、基準の考え方では、1) 毒性が明らかになっていない物質や測定方法が確立されていない物質は管理の対象にならない、2) 多くの物質の基準を定めると測定の負

担が大きくなる、3) 複合影響の評価がほとんど行われていない、4) 未知物質については対処できない、などの問題点に対処できない。したがって、既存の考え方に固執してはならず、個別物質に関する基準項目を増やすのではなく、水試料中に含まれている化学物質全体の毒性の強度を評価して安全性管理を行う方法を併用することが重要である。

水試料中に含まれている化学物質全体の毒性の強度を評価して安全性管理を行う方法として、バイオアッセイによる方法が挙げられる。バイオアッセイは、評価対象と

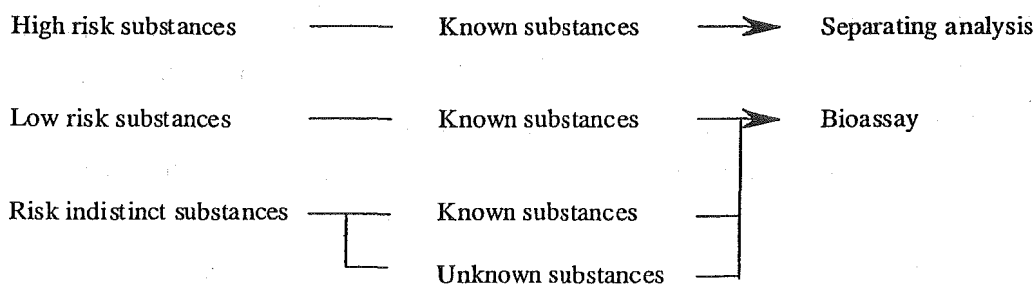


Fig. 3. Applicability of bioassay for safety management of pollutant in water.



なる化学物質が特定されていなくても毒性を評価することができるという優れた特徴を有するが、一方で、物理・化学的な測定（個別物質の濃度分析）と比較して一般的に1) 1回の測定の労力が大きい、2) 多量の検体を必要とする、3) 定量性・再現性に乏しい、4) 細菌などを用いて得た結果から人などへの正確に毒性を評価しにくい、などの問題点を有している。このため、評価の目的や対象に個別物質の濃度分析とバイオアッセイのどちらが適しているかを考え、両者の特長を活かすことが重要である。

バイオアッセイの特徴を活かした利用方法を明らかにするために、水試料中に含まれる毒性物質を安全性管理手法の適用範囲の観点から分類・整理し、Fig. 3 に示す。毒性が強かつ濃度が高い、すなわち、単一物質での健康影響リスクが高い少数の既知物質については、個別物質の濃度分析を行う必要がある。しかし、健康影響リスクが低いか不明な多くの既知物質については、個別測定を行うと労力が大きくなりすぎるため、バイオアッセイによりそれらの物質全体の毒性の強度を評価して安全性管理を行うことが有効である。また、健康影響リスクが高くなる可能性がある未知物質、および、測定が困難な物質の場合には、個別測定による管理ができないため、バイオアッセイによる管理以外には現在のところ方法がない。さらに、複数の物質の相乗作用、相加作用、拮抗作用などの複合影響については、個別物質の濃度分析ではほとんど評価できない。このため、複数の物質が含まれている水試料には、従来から行われているリスクが高い既知物質の個別測定と併用

してバイオアッセイで評価を行うことが重要である。

## 2. バイオアッセイの種類と Ames 変異原性試験の位置づけ

### 2. 1 代表的なバイオアッセイ

水試料の安全性評価・管理に用いられている主なバイオアッセイを検出する毒性の種類で分類すると、急性毒性試験、内分泌攪乱性試験、変異原性試験に大別することができる。急性毒性試験の一部は、試験操作が比較的簡易で試験生物の維持が容易なことなどから、すでに実用化されている方法もある。代表的な例として、USEPA の毒性削減評価（Toxicity Reduction Evaluation, TRE）の中で、排水の安全性や排水処理装置の性能を評価する方法として採用されている例<sup>5)</sup>が挙げられる。この他にも、化学物質毒性・生態毒性欧州センター（European Center for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, ECETOC）の工場排水試験法<sup>6)</sup>、ヨーロッパ連合（European Union, EU）諸国の水質モニタリングが挙げられる。しかし、下水など、新たな水資源として持続性向上のために活用すべきに資源の中に含まれる可能性がある急性毒性物質については基準が設けられており、また、急性毒性物質が多量に含まれている場合には、におい・色などから感覚的に利用不能と判断できる場合が多いためと考えられる。このため、バイオアラームとしてコイなどの淡水産魚類を用いた監視で代用可能と考えられる。

内分泌攪乱性については、水試料への適

用例が多い内分泌攪乱性試験として、ヒト乳がん細胞由来細胞 MCF-7 の増殖試験、酵母を用いた Two Hybrid System 試験などがあげられ、女性ホルモン（エストロゲン）と同様の作用をもつ化学物質の検出、作用強度評価に用いられている試験が多い。水環境中の内分泌攪乱物質の研究は始まったばかりであり、研究例も少なく、規格化されているバイオアッセイも見あたらない。今後の発展が望まれる。

これに対して、変異原性試験は、様々な方法が確立されてから久しく、水試料への適用例が多く、ISO などで規格化されている。さらに、毒性学上の意味も明確である。また、変異原性物質は、急性毒性物質と異なり、極低濃度で含まれていても問題になるのでバイオアッセイにより評価することの意義は大きい。したがって、化学物質による健康影響リスクを回避した自律・分散型の水システムの構築には、変異原性試験による評価を取り入れることが有効と考えられる。

## 2. 2 代表的な変異原性試験

変異原性を検出する指標ごとに主な変異原性試験を分類すると、DNA 損傷性試験、染色体異常試験、点突然変異（遺伝子突然変異）試験に大別される。DNA 損傷性試験には、細菌やほ乳類、魚類等の培養細胞を用いた試験が多い。DNA 損傷性試験を水試料の安全性評価・管理に適用した例は比較的多い。DNA 損傷性試験の中で適用例が多いのは、umu assay、Rec-assay およびコメットアッセイである。

umu assay は、操作が簡易、試験期間が

短いなどの利点を有するため、日本水道協会の浄水試験法で採用されているが、定量性に乏しい。Rec-assay は、菌体の増殖を阻害する物質が含まれる場合でも、野生株の結果で補正することができるので比較的影響を受けにくい。結果の定量性にやや乏しい。コメットアッセイ、別名 SCG (Single - Cell Gel Electrophoresis) アッセイは、DNA 損傷の検出感度が高く、個々の細胞単位でデータが取得でき、手法が簡易かつ短時間に行え、統計的解析も行われているが、他の DNA 損傷性試験と同様、結果の定量性にやや乏しい。今後、結果の定量性向上などの検討が進み、水試料への適用例が増えることが望まれる。

染色体異常試験はほ乳類や齧歯類の初代または培養細胞を用いることが多く、細胞を長期間安定に培養することが困難なこと、染色体異常の検出・特定に熟練を要することなどの理由から、水試料の安全性評価・管理に適用した例は少ない。

遺伝子突然変異試験には細菌やほ乳類培養細胞を用いた試験が多く、最も代表的な試験はサルモネラ菌の一種であるネズミチフス菌 (*Salmonella thphimurium*) を用いた Ames assay (Ames 変異原性試験) である。Ames 変異原性試験は、突然変異を起こした細菌数を指標とした試験であり、水試料の安全性評価・管理への適用例は多く、水道水の安全性評価・管理へのバイオアッセイの適用例の大部分を占める。遺伝子突然変異に比べて染色体異常の方が変異の程度が大きいと考えられるため、染色体異常の方が重大な変異のように思われがちである。しかし、遺伝子突然変異が原因でがん化する場合が多く報告されており<sup>7)</sup>、遺伝子突

Table 3  
Comparison of characteristics of bioassay

	chromosome aberration	gene mutation	DNA repair		
	SCE <sup>a)</sup>	Ames	umu	Rec	Comet assay <sup>b)</sup>
no specific difference with human	○	×	×	×	○
standardized in nation or international organization	○	○	○	×	×
quantitative test results have been stored into data base	×	○	×	×	×
sensitivity	○	○	○	○	○
quantitativity	×	○	△	△	△
rapidity	○	○	○	○	○
simplicity	△	○	○	○	○
stable supply of test organism	○	○	○	○	○
cost of test organism	○	○	○	○	○
appropriate sample preparation method has been developed	△	△	△	△	△
statistical analysis method has been developed	△	△	△	△	○

a) sister chromatid exchange, b) single cell gel electrophoresis assay  
○: yes or good, △: under developing or middle, ×: no or bad

然変異も重要であると言える。同様に、膀胱がんなどは最も変異の度合いが小さい塩基対置換型の変異が原因でがん化することが明らかになっており、より変異の程度が大きいフレームシフト型、架橋型の遺伝子突然変異と同様に塩基対置換型の遺伝子突然変異も重要である。

### 2. 3 Ames 変異原性試験の位置づけ

バイオアッセイを水試料の安全性評価・管理手法として採用するには、1) 世界的に認知された方法であり、同一の試験生物、方法で試験がなされ、結果の相互比較が容易にできること、2) 多くの化学物質の試験結果があり、データベース化されていること、3) 国または国際機関で化学物質のバイオアッセイとして採用されている方法であるか、あるいはそれと同等の方法であること、4) 十分な感度があること、5) 再現性や定量性に優れていること、6) 迅速に結果が得られること、7) 必要な試験

生物、薬品等が安価で安定した供給が得られること、8) 適切な試料調製方法が開発されていること、9) 結果の統計的な解析方法が確立されていること、10) 浄水処理技術者、水道水質管理技術者が広く試験できるように操作方法が簡易で標準化されていることが必要である。

ここで、各変異原性試験の特徴を比較した結果を、Table 3 に示す。Ames 変異原性試験は、ネズミチフス菌を用いるためにヒトとの種差があるが、ヒト培養細胞を用いるより簡易性、定量性に優れるという利点を有する。本研究では、定量的な指標を用いて水試料の日常的な安全性管理を行うことによってリスクを回避した水システムの構築を目的としていることから、簡易性、定量性を優先することとし、それらに優れる Ames 変異原性試験を用いるのが適していると考えられる。

### 2. 変異原性物質生成能による水質評価の提案

多様な水資源を活用して水道水を供給する際には、塩素消毒時に変異原性物質が副生しないようにすることが重要である。既往の研究により、水道原水となる河川水の変異原性の流域調査<sup>8-15)</sup>、浄水処理工程での変異原性の消長の検討<sup>16-18)</sup>が行われ、河川水等の水道原水の変異原性は水道水の変異原性に比べて極めて低いこと、水道水中の変異原性物質の大部分は浄水工程における塩素処理により変異原前駆物質から生成することが明らかになった。すなわち、水道水が変異原性物質で汚染されるのは、水道原水が変異原前駆物質で汚染され、浄水処理工程における塩素処理で前駆物質が変異原性物質に変化するのが主な原因であることが明らかになった。

塩素処理は、消化器伝染病等に対する安全確保のためには欠かすことができない処理で、義務づけられている国も多く、今後普及すると考えられる。このため、変異原前駆物質による水道水源の汚染防止、浄水工程での変異原前駆物質削減のための処理条件の最適化を行い、塩素処理を行っても高い変異原性が発現しないように対策を講じることが重要である。

しかし、変異原前駆物質には、人工物質だけでなく、人工物質が自然界で変化した物質や天然物質など様々な物質があり、構造等が明らかになっていない物質が多いので、すべてを個別に測定することはできない。また、水道水の変異原性と全有機炭素(TOC)濃度、波長 260 nm における吸光度  $A_{260}$  などとの相関関係が弱い<sup>19)</sup>ことから、原水や排水などの総括的な有機物濃度を測定しても前駆物質の評価にはつながらない

と考えられる。

そこで、浄水処理の塩素処理で変異原性物質に変化する物質を変異原前駆物質と定義して、変異原性物質生成能、Mutagen Formation Potential (MFP) という新しい水質指標・測定方法を提案した。MFP により多様な水資源の水質を評価・管理することにより、自律・分散型の水システムを構築する際の化学物質による健康影響リスクを効率的に回避することが可能になると考えられる。

### 3. 活性汚泥処理による下水中変異原前駆物質の除去技術の検討

MFP を用いて従来の活性汚泥処理技術を再検討し、自律・分散型の水システムの構築に重要な要素技術の検討を行った。すなわち、下水を活性汚泥する際に下水中の変異原前駆物質がどの程度除去可能なのか、また、その除去速度はどのように記述できてどのような特徴があるかについて検討した。その結果、Fig. 4 に示すように、処理時間と共に MFP が削減されることが確認できた。Fig. 4 にあわせて示したように、DOC も除去されており、最終的な除去率は 55 ~ 80 % となり、一般的な除去率であった。MFP 削減率と DOC 除去率を各試料水に対して求め、Table 4 にまとめて示す。両者を比較すると、DOC 除去率と MFP 削減率とは相関関係が認められ、しかもほぼ同じ値になる試料水が多いことが明らかになった。しかし、試料水 D の様に、DOC 除去率が 80 % と高くても MFP 削減率が 37 % と低い試料水も存在し、DOC 除去率だけでは MFP 削減率を議論することはできなかった。こ

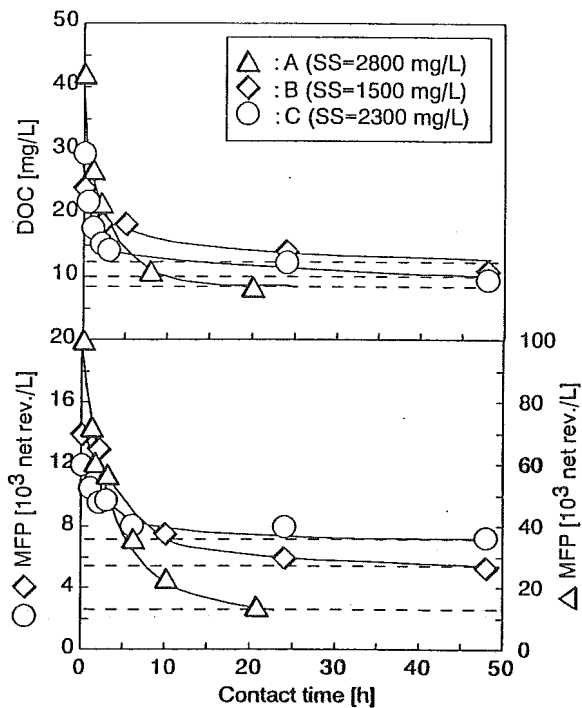


Fig. 4. Time course of MFP and DOC in activated sludge treatment.

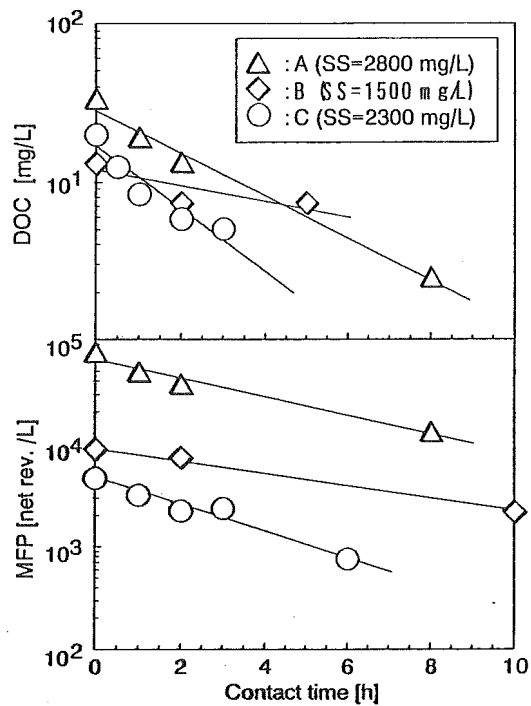


Fig. 5. Logarithmic time course of MFP and DOC in activated sludge treatment.

Table 4  
Maximum DOC removal and MFP reduction

Sample name	A	B	C	D	E
SS [mg/L]	2800	1500	2300	3000	3000
Treating time duration [h]	20	48	48	24	24
DOC in treated sample [mg/L]	8.4	11	9.5	7.9	13
MFP of treated sample [net rev./L]	23000	5300	7300	10000	13000
DOC removal [-]	0.80	0.55	0.68	0.80	0.49
MFP reduction [-]	0.77	0.63	0.39	0.37	0.41

これは、変異原前駆物質と塩素処理しても変異原性物質を生成しない物質の生分解性が異なることを意味している。

このように、活性汚泥処理により下水中の変異原前駆物質が除去できることが明らかになったので、次に動力的な検討を行った。すなわち、Fig. 4の結果を方対数プロットして反応次数について検討した。その結果、Fig. 5に示すようにいずれの試料

水においても直線近似することができ、1次反応と見なせることが示唆された。そこで、1次反応と見なせるか確認するために、同一の試料水を段階的に希釈し、初濃度を変化させる実験を行った。その結果、Fig. 6に示すようにいずれの初濃度でも経時変化を直線近似することができ、かつ、その勾配を一定と見なすことができた。このことから、変異原前駆物質の除去反応は疑一次

反応と見なせることが明らかになった。同様に、DOC についても疑一次反応と見なすことができた。

一般的に、下水中有機物の活性汚泥処理は Monod 式に従うと考えられている。そこで、DOC 除去速度について動力的な定数

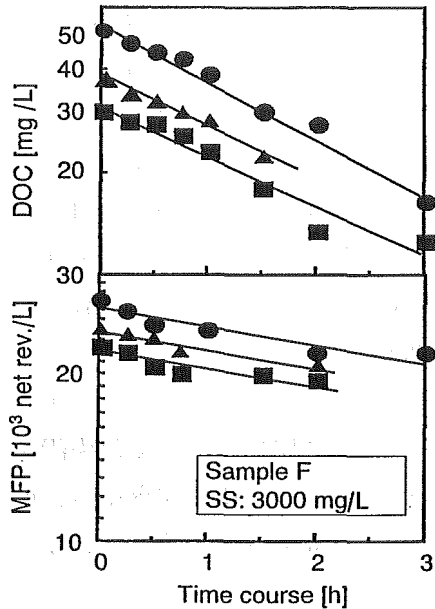


Fig. 6. Effect of initial concentration

を求めて Monod 式のパラメータと比較した。最小二乗法により求めた DOC 除去速度定数  $k_D$  は  $1 \sim 3 \times 10^{-4} L / (mg-SS h)$  であった。Aysegul らの報告<sup>20)</sup>から下水の DOC 除去に対する Monod 定数から  $k_D$  を求めると、 $1.18 \times 10^{-4} L / (mg-SS h)$  となり、本研究で得られ

た値と一致した。したがって、本研究における除去速度も Monod 型の濃度依存性を示すが、下水中の有機物濃度が飽和定数よりも小さく、事実上一次反応と見なせたものと考えられる。MFP 削減速度に対する動力的な検討は見あたらないが、同様の理由から事実上一次反応と見なせたと考えられる。

このように、DOC 除去および MFP 削減が一次反応式に従うと見なすことができたため、DOC 除去速度定数  $k_D$  と MFP 削減速度定数  $k_M$  とを比較した。その結果、Table 5 に示すように  $k_M/k_D$  は 0.24~0.85 となり、1 未満であった。すなわち、変異原前駆物質除去速度は、溶存有機炭素除去速度よりも遅いことが明らかになった。従来の下水処理装置の運転条件は、有機物などの除去に対して最適化されており、MFP 削減のためには条件の検討が行われていない。MFP 削減の観点からは、従来の下水処理条件よりも処理時間を長くする、または汚泥の返送率を高くして活性汚泥の濃度を高く維持することが有効と考えられる

また、本研究で得られた数  $k_M$  と Aysegul らの報告<sup>20)</sup>から算出した数  $k_M$  とがほぼ一致したことから、本研究で得られた速度定数は他の下水を用いて検討した場合に得られ

Table 5 Apparent rate constants

Sample name	A	B	C	F
SS [mg/L]	2800	1500	2300	1500
Treating duration [h]	20	48	48	48
$k_D [10^{-4} L / (mg-SS h)]$	1.9	1.0	3.2	0.91
$k_M [10^{-4} L / (mg-SS h)]$	0.98	0.85	1.3	0.22
$\frac{k_M}{k_D}$	0.52	0.85	0.41	0.24

る結果と大きく異なるとは考えにくく、多くの下水において  $k_0, k_M$  共に  $10^{-4} L / (mg-SS h)$  オーダーの値が得られると考えられる。

#### D. 結論

化学物質による健康影響リスクを回避した自律・分散型の水システムを構築するためには、変異原性物質生成能 (Mutagen Formation Potential, MFP) を用いた評価を取り入れることが有効と考えられる。そこで、多様な水資源の一つとして下水に着目し、下水処理における MFP 削減について検討した結果、MFP 削減率は 37~77% と下水により大きく異なった。また、変異原前駆物質の除去速度は前駆物質濃度に対して一次比例し、一次反応と見なせることが明らかになった。さらに、溶存有機炭素除去速度と比較した結果、変異原前駆物質除去速度は溶存有機炭素除去速度よりも遅く、MFP 削減の観点からは、従来の下水処理条件よりも処理時間を長くする、または汚泥の返送率を高くして活性汚泥の濃度を高く維持することが有効なことが明らかになった。また、本研究で用いた下水以外にも、多くの下水において変異原前駆物質除去速度定数は  $10^{-4} L / (mg-SS h)$  オーダーになると考えられる。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Rudi Nugroho, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata and Tadashi Hano, Denitrification of industrial wastewater with sulfur and

limestone packed column, *Water Science and Technology*, Vol. 46 (11-12), 99-104, 2002.

- 2) Hirokazu Takanashi, Miho Mayumi, Mitsue Kato, Makoto Hirata and Tadashi Hano, Removal of mutagen precursor from wastewater by activated sludge and oxidation treatment, *Water Science and Technology*, Vol. 46 (11-12), 389-394, 2002.
- 3) 中島常憲、福山秀人、光永弘幸、高梨啓和、前田 滋、大木 章、環境試料中のアンチモンを測定するための分析方法の検討、*環境科学会誌*、Vol. 15, No. 6, 306-406, 2002.
- 4) 岩下 章、大山謙二、中島常憲、高梨啓和、大木 章、鹿児島市の大気汚染調査 (第15報) 平成13年度調査報告、鹿児島大学工学部研究報告第44号、113-121, 2002.

##### 2. 学会発表

- 1) Hirokazu Takanashi<sup>1</sup>, Mieko Akama, Kaori Miyahara, Makoto Hirata and Tadashi Hano, Removal of mutagen precursors from sewage by activated sludge treatment, *Proc. the Regional Symposium on Chemical Engineering, 2003, Kuala Lumpur*, 1, 277-284, 2002.
- 2) Rudi Nugroho, Kwon Tae Ok, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata and Tadashi Hano, Effect of nitrite on denitrification of wastewater by autotrophic bacteria, *Proc. the Regional Symposium on Chemical Engineering, 2003, Kuala Lumpur*, 1, 701-708, 2002.

## 引用文献

- 1) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、藤江幸一、水道水の Ames 変異原性に関する研究 第1報 変異原性物質濃縮回収用の吸着剤、水環境学会誌、Vol. 17, 451-460, 1994.
- 2) 浦野紘平、高梨啓和、金澤伸浩、岡部文枝、藤江幸一、水道水の Ames 変異原性に関する研究 第2報 高性能吸着剤を用いた変異原性物質の濃縮・回収方法、水環境学会誌、Vol. 17, 461-469, 1994.
- 3) 労働省化学物質調査課、安衛法における変異原性試験、中央労働災害防止協会、1986、東京。
- 4) 高梨啓和、変異原性による水道水の安全性管理手法に関する研究、学位論文、東京大学、2000.
- 5) United States of Environmental Protection Agency, Generalized methodology for conducting industrial toxicity reduction evaluations (TRES) EPA/600288070.
- 6) 鈴木基之、内海英雄、バイオアッセイ水環境のリスク管理、講談社、pp.262、東京、1998.
- 7) 松原 聡、がんの生物学、裳華房、pp.140、東京、1992.
- 8) 内海英雄、濱田 昭、早津彦哉、橋本徳蔵、相沢 靖、河川水中変異原活性の季節・流域変動-青綿法による検討及び従来の水質汚濁指標との比較-、水質汚濁研究、Vol. 13, 227-234, 1990.
- 9) Filipic M., Mutagenicity toxicity of water extracts from the Sora river area, *Mutation Research*, Vol. 342, 1-8, 1995.
- 10) 長井 章、加納芳直、船坂鎌三、長良川上流域における河川水の変異原性に関する研究、水環境学会誌、19(8)、657-663, 1996.
- 11) Nakamuro K., Ueno H. and Sayato Y. , Evaluation of mutagenicity of municipal river water concentrated using XAD resin column method, *Water Science and Technology*, Vol. 25, No. 11, 293-299, 1992.
- 12) Sanchez P. S., Coimbra C. A., Coelho M. C. L., Valent G. U. and Sato M. I. Z., Assessment of mutagenic activity in drinking water from Sao Paulo city, Brazil, *Environmental Toxicology and Water Quality*, Vol. 7, 141-155, 1992.
- 13) Rehana Z., Malik A. and Ahmad M., Mutagenic activity of the Ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj, *Mutation Research*, Vol. 343 No. 2/3, 137-144, 1995.
- 14) 朴 永圭、李 哲熙、李 淳和、河 紀成、金 洙賢、鄭 然孫、韓 相国、内海英雄、韓国洛東江水系における変異原性の流域・季節変動とその負荷原因の解析、水環境学会誌、Vol. 20, 763—767, 1997.
- 15) Otsu R., Horikawa K. and Min B. Y., utagenicity of river water in Korea, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, Vol. 60, No. 4, 615-619, 1998.
- 16) Monarca S., Ziglio G., Pasquini R., Beltramelli G., Feretti D., Donato F., Nardi G., Gervasoni M., Micheli F., Dalmiglio A. and Moretti M., Mutagenicity of drinking water obtained by different treatment procedures from two northern Italian lakes. *International Journal of Environmental Health Research*,



Vol. 2, 192-200, 1992.

- 17) Huck P. M., Anderson W. B., Savage E. A., Borstel von R. C., Daignault S. A., Rector D. W., Irvine G. A. and Williams D. T., Pilot scale evaluation of ozone and other drinking water disinfectants using mutagenicity testing, *Ozone Science & Engineering*, Vol. 11, 245-269, 1989.
- 18) Magara Y., Kurosawa Y. and Hisamatu Y., Evaluation of a water purification system referring to mutagenicity, *Aqua*, Vol. 43, No. 5, 252-261, 1994.
- 19) 浦野紘平、岡部文枝、高梨啓和、藤江幸一、水道水の Ames 変異原性に関する研究 第 3 報 日本の水道水の変異原性レベルの解析、*水環境学会誌*、Vol. 18、1001-1011, 1995.
- 20) Aysegul Pala and Enis Tokat, Color removal from cotton textile industry wastewater in an activated sludge system with various additives, *Water Research*, Vol. 36, 2920-2925, 2002.

小型分散型膜分離リアクターの運転制御に関する基礎的研究

分担研究者 長岡 裕 武蔵工業大学工学部都市基盤工学科 助教授

研究要旨

膜分離活性汚泥法では、膜表面に粘着質の物質や菌体外ポリマーが多く堆積することによって起こる膜ファウリングへの対応が運転管理上重要である。特に小型分散型膜リアクターにおいては、運転管理において専門知識を必要としない支援システムの開発が重要である。活性汚泥法の運転において得られる測定データは、微生物の生成・死滅により不規則な変動をしているが、不規則な変動はその発生メカニズムを一義的に表現することは難しく、現象を確率論的に扱うことが妥当である。本研究では、膜目詰まりの要因を菌体外ポリマーなどの粘性物質として、ろ過抵抗の上昇を表すモデル式を直接カルマンフィルタに適応させて、膜目詰まりの時期を予測する手法を開発した。

状態量は、膜面上の体積ポリマー密度、混合液粘性係数、混合液中ポリマー濃度、ポリマー生産率、ポリマーの膜面からの剥離速度とし、観測量は、混合液粘性係数とろ過抵抗とし、拡張カルマンフィルターを用いた。

カルマンフィルターを用いて状態量を推定し、求めた状態量の値を用いてろ過抵抗の長期予測を試みた結果、予測値と実測値が良く一致し、本手法によって、膜ろ過抵抗の将来予測を簡易に行うことができることがわかった。

A. 研究目的

膜分離活性汚泥法には、膜目詰まりにより十分な処理水量が得られなくなるという問題がある。膜目詰まりは、膜表面に粘着質の物質や菌体外ポリマーが多く堆積することによって起こる。

活性汚泥法の運転において得られる測定データは、微生物の生成・死滅により影響され、不規則な変動をしている。不規則な変動は、その発生メカニズムを数式で表現することは難しい。そこで、そのようなデータは、確率論的に扱うことが妥当である。

本研究の目的は、膜目詰まりの要因を菌体外ポリマーなどの粘性物質として、ろ過抵抗の上昇を表すモデル式を直接カルマンフィルタに適応させて、膜目詰まりの時期を予測することである。

B. 研究方法

推定に用いるモデル式は膜目詰まりの原因を、槽内に蓄積した菌体の代謝物質である菌体外ポリマーであるとした数理モデルである。

$$\frac{dp}{dt} = YL\beta - k_d p \quad (1)$$

$$\frac{dm}{dt} = CpJ - K \quad (2)$$

$$R_p = (R_t - R_{memb}) = \alpha m \quad (3)$$

$$\mu = ap^2 \quad (4)$$

(1)式は、菌体外ポリマー濃度の変化を示す式である。菌体の増殖量に対して、ある割合の菌体外

ポリマーが生成されると考えた。また、ポリマーの自己分解は、 $k_d$ により一定速度により分解すると考えた。(2)式は、膜面に付着する菌体外ポリマー量の変化を示す式である。ポリマーの膜面への付着速度は、ポリマー量とフラックスの関係で付着し、剥離量  $K$  により剥離していくものと考えた。(3)式は、膜面に付着する菌体外ポリマー量のみがろ過抵抗に影響を与えるものとした式である。(4)式は、菌体外ポリマー量の 2 乗の値が混合液粘度と比例するものとした式である。

$Y$ : 収率,  $L$ : TOC 容積負荷(g/L/day),  $\beta$ : 菌体に対するポリマーの割合,  $p$ : 菌体外ポリマー量(g/L),  $k_d$ : 自己酸化定数 (1/day),  $m$ : 膜付着ポリマー量 ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ),  $C$ : 定数=0.2,  $J$ : 膜透過流束 (m/day),  $K$ : ポリマーの剥離量( $\text{kg}/\text{m}^2 \cdot \text{day}$ ),  $R_t$ : ろ過抵抗 ( $\text{m}^{-1} \times 10^{12}$ ),  $R_p$ : 付着物によるろ過抵抗 ( $\text{m}^{-1} \times 10^{12}$ ),  $R_{memb}$ : 膜のろ過抵抗 ( $\text{m}^{-1} \times 10^{12}$ ),  $\alpha$ : ポリマーの比抵抗 (m/kg),  $\mu$ : 混合液粘度 (mPa·sec),  $a$ : 菌体外ポリマーの粘度への影響( $\text{m}^5 \cdot \text{sec}/\text{g}$ )

線形離散時間確率システムは以下の式となる。

$$x_{t+1} = F_t x_t + G_t w_t \quad (5)$$

$$y_t = H_t x_t + K_t v_t \quad (6)$$

ここに、 $x_t$ : 状態ベクトル,  $y_t$ : 観測ベクトル,  $w_t$ : システム雑音,  $v_t$ : 観測雑音,  $F_t$ : 状態遷移行列,  $G_t$ ,  $K_t$ : 駆動行列,  $H_t$ : 観測行列, 雑音は平均値 0 のガウス白色雑音とする。

(1), (2), (3), (4) 式を(5), (6) 式に適応させる。観測ベクトルを混合液粘度, ろ過抵抗とし、

状態ベクトルを混合液粘度，膜附着ポリマーの量，菌体外ポリマーの量，菌体に対するポリマーの割合，ポリマーの剥離量とすると以下のようなになる。時間を  $\Delta t$  (day) 間隔で変化するものとする。

$$G_i = \begin{pmatrix} 0.3 \\ 0.001 \\ 0.01 \\ 0.0001 \\ 0.00001 \end{pmatrix} \quad x_i = \begin{pmatrix} \mu \\ m \\ p \\ \beta \\ K \end{pmatrix} \quad K_i = \begin{pmatrix} 1 \\ 4 \end{pmatrix} \quad y_i = \begin{pmatrix} \mu \\ R_p \end{pmatrix}$$

$$F_i = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 2\alpha YL\beta\Delta t - 4ak_d p\Delta t & 2\alpha YLp\Delta t & 0 \\ 0 & 1 & CJ\Delta t & 0 & -\Delta t \\ 0 & 0 & 1 - k_d\Delta t & YL\Delta t & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

$$H_i = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \alpha & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

### C. 研究結果

観測値となるデータは，1999年に浜谷らが行った実験の値を使用した。使用している膜はMF平膜である。

初期値は  $Y=0.5$ ,  $L=0.5$ (g/L/day),  $k_d=0.018$ (1/day),  $C=0.2$ ,  $J=0.15$ (m/day), サンプル間隔:  $\Delta t=2$ (day) とする。状態ベクトルの初期値は， $\mu=3.0$ (mPa·sec),  $m=0$ (kg/m<sup>2</sup>),  $p=0.082$ (g/L),  $\beta=0.01$ ,  $K=0.004$ (kg/m<sup>2</sup>·day),  $a=85$ (m<sup>5</sup>·sec/g),  $\alpha=1.9 \times 10^{17}$ (m/kg) とする。カルマンフィルタの計算で用いる推定誤差共分散行列の初期値は，5×5の単位行列として一度計算した結果，収束した値を再度初期値として用いた。

以上の条件を用いてカルマンフィルタでの推定を行った。図1, 2, 3, 4にそれぞれ混合液粘度，ろ過抵抗， $\beta$ : 菌体に対するポリマーの割合，K: ポリマーの剥離量の推定結果を示す。図5に p: 菌体外ポリマーの測定値と推定値の比較，図6にろ過抵抗の長期予測したものを示す。

混合液粘度，ろ過抵抗ともに観測値に追従した推定値をとった。180日以降から，ろ過抵抗の観測値と推定値との差が広がった。この差の広がりには，ろ過抵抗の観測値が180日以降から急激に上昇したための影響といえる。 $\beta$ : 菌体に対するポリマーの割合，K: ポリマーの剥離量は，それぞれ0.035, 0.014(kg/m<sup>2</sup>·day)付近で収束している。この値を用いて78日，143日から，ろ過抵抗の長期予測を行った。78日からの予測よりも143日からの予測の方が精度のよい予測といえるが，両方ともろ過抵抗の上昇傾向をとらえた予測であるといえる。

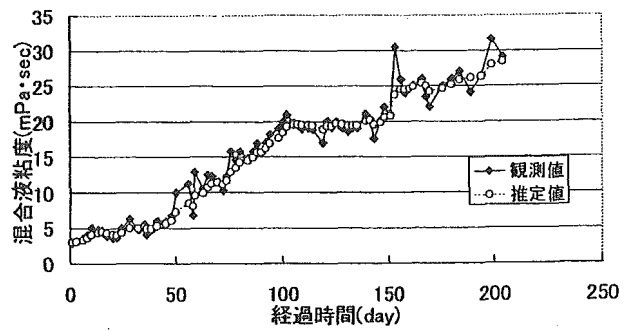


図1 混合液粘度

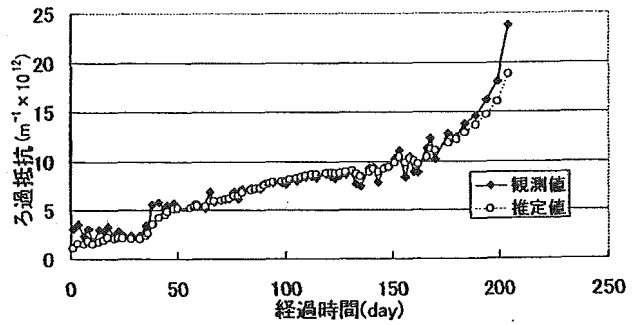


図2 ろ過抵抗

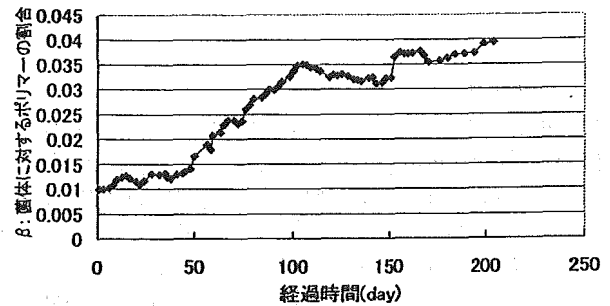


図3 β: 菌体に対するポリマーの割合

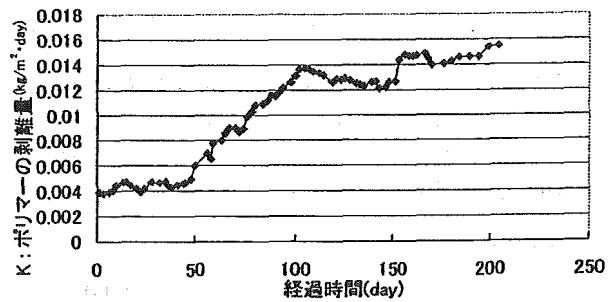


図4 K: ポリマーの剥離量

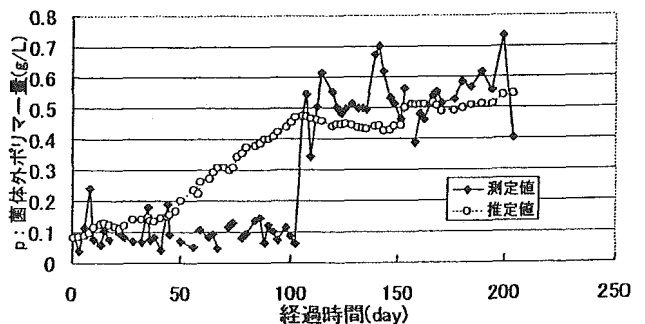


図5 pの測定値と推定値の比較

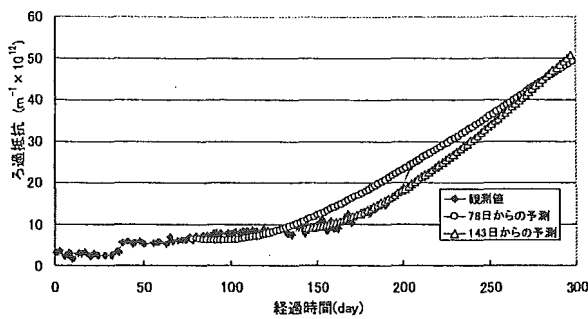


図6 ろ過抵抗の長期予測結果

#### D. 考察

(4)式で、菌体外ポリマー量の2乗の値が混合液粘度と比例するものとしたことで、従来よりも収束性のよいパラメータ同定を行うことができた。同定されたパラメータを用いて長期予測を行ったことで、ろ過抵抗の上昇傾向を把握することができた。

#### E. 結論

膜分離活性汚泥法における膜目詰まり過程に非線形システムを用い、これに拡張カルマンフィルタを適用することにより、膜ろ過抵抗の長期将来予測が可能であることが示された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

信澤 雄一郎、長岡 裕：カルマンフィルタを用いた膜分離活性汚泥法の膜目詰まりの推定、土木学会関東支部技術研究発表会講演集、2003