

分担研究者 福士謙介 東京大学環境安全研究センター助教授

研究要旨

本研究はコミュニティレベルの自律的水システムを構築する際に問題となる蓄積性物質とくに有害金属の除去に焦点を当て研究を行った。微生物が生成するバイオポリマーは金属と結合することが知られており、その中で特にタンパク質は金属と特異的に結合することが知られている。本研究はその機構を汚染水から有害金属を除去するプロセス開発の基礎として応用することを試みた研究である。研究の成果としては混合微生物系から粗タンパク質を電気泳動で分離し、金属結合タンパク質を検索するための基礎プロトコルを開発した。

A. 目的

A. 1 研究背景

水を循環させた系において問題となるものはその系内に蓄積する有害物質である。ごく少量ではその影響がないものでも常に外部から供給があり、循環の過程において蓄積し、濃度の上昇に従い悪影響が出てくる場合が想定される。その状況に陥った場合には既に系内に多量の蓄積性有害物質が存在することになり、その除去には多くのコストと時間を費やさねばならなくなるおそれがある。蓄積性物質の多くは難分解性物質であり、特に無機有害物質（有害金属など）は蓄積する可能性が高い。

本研究は有機物と有害金属などが混合した廃水（発展途上国の住居・工業混在地域など）を処理ターゲットとして、選択的に有害な無機物質を除去可能である浄化システムの構築を目指すものである。

本研究で目指しているシステムはたとえば活性汚泥等従来型生物水処理システムの有害金属除去能力を上げたり、アドオンシステムとして小規模の処理プロセスを設けたりするものである。重金属が高濃度で含有されている下水は発展途上国で多く見られ（例えばタイ王国のサムプラカン地区等）、需要は少なくないと見込んでいる。

本研究で開発に取り組んでいるシステムは重金属と結合する微生物タンパク質を利用して特に有害金属の除去に関して高効率なバイオシステムであり、「健康で豊かな水環境を創造するための新しい水管理システムの可能性—その戦略的構築と支援技術開発」の中で特に水の循環系に有害金属が入り込むことを未然に阻止するオプションプロセスの一つとし

て開発を進めている。

A. 2 金属結合タンパク質とは

金属結合タンパク質（**metalloproteins**: メタロプロテイン）とは金属を含有（ないしは結合する）するタンパク質の総称である。生体タンパク質のおよそ3分の1が何らかの形で金属と関係を持つと言われている。次のような機能を持つ（Changlin Liu, *et al.*(2002)）。

- ・ 生体内での生命維持
- ・ 物質生産のための触媒機能
- ・ 物質運搬、情報伝達
- ・ 毒性発現抑制

金属結合タンパク質の例として、多くの生物体に存在が認められている Cd、Zn などと結合するメタロチオネイン、Fe と結合し、酸素を運搬するヘモグロビンなどがある。

金属結合タンパク質が金属を吸着するメカニズムの一つに、タンパク質構造内のサルファヒドリル基（-SH）が関わっていると考えられている。特に **Metallothionein** は、そのおよそ 60 のアミノ酸からなる配列の中にチオール基を持つアミノ酸であるシステインを 20 持っており、Cd、Zn の吸着に大きく寄与していることが分かっている（Yutaka K, 1991）。このような機構からサルファヒドリル基と結合しないアルカリ金属やアルカリ土類金属とは金属吸サイトを巡る競合は起こらない。

近年、金属結合タンパク質の持つ上記のような機能を、金属汚染土壌の浄化に応用する研究が試みられている。特定の有害金属吸着能を持つ金属結合タンパク質を人工的にある植物に発現させ、植物の有害金属耐性を高め、

植物体内にその金属を蓄積させ、植物を回収することで浄化を行う、というものがある (S. Karenlampi, et al. 2000; U. Kramer)。また有機水銀 (MH-Hg) を植物に吸収させた後に、植物内で金属水銀に変化させ、金属水銀の蒸気として大気中に放出させる能力を持つ植物を開発している例もある。このような生物を利用した浄化技術は、低濃度で広範囲な汚染に対して適用可能であり、また従来方法に比べ低コストであることなどから、注目されてきている技術である。

金属結合タンパク質の研究は、生体機能としての金属と関与しているタンパク質の研究としてはじまり、様々な事実が発見されてきているが、さらなる研究が必要とされている。またとくに自然環境中の生物から応用可能性を秘めた金属結合タンパク質を検索する研究は少ない。特に微生物の持つ金属結合タンパク質はごく少数しか見つかっておらず (つまり通常の状態では混合微生物系は特異的な金属除去は不得手であると考え)、今後の研究が期待されている。

本研究の研究戦略は自然環境中の生物に存在すると考えられる重金属耐性を持つ生物を採取し、既知の金属結合タンパク質を発現するような遺伝情報を持つか、既知の金属配位部位 (Metal-binding site) を発現する遺伝子情報を持つかどうかを調べる。その生物が既知のタンパク質の金属配位部位と同じ、もしくは近い遺伝情報を持つことが分かった場合、その混合微生物の中のどの微生物がその遺伝子を持つかを調べ、最終的には微生物を同定する。ただし、この方法は金属結合タンパク質の報告例が少ない微生物に対しては有効な方法であるかわからない。

別なアプローチとしては本研究で行っているように分離し、さらに分離したタンパク質と金属の親和性を調べる方向である。この方法では未知の金属結合タンパク質を検索することができる利点があり、新しい金属結合サイトなどの発見も期待できる。

B. 方法

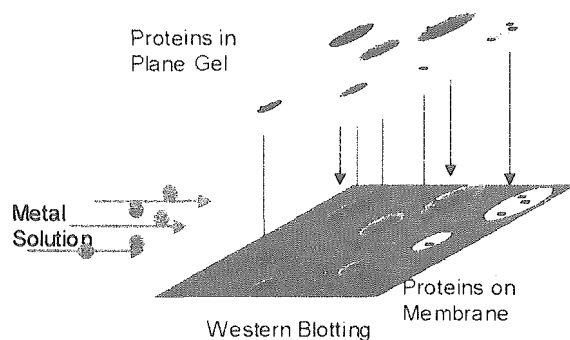
B. 1 混合生物試料

本年度の研究で混合微生物試料として採用したものは、足尾銅山坑道中から採取してきた土壤中微生物である。これは重金属耐性を示す微生物はその耐性のある微生物と結合するタンパク質を生成しているという既存の知見に基づくものである。無選択培地 (表 1 Control) と Control 培地へ銅を添加したもの (濃度は 2.5mM)、と含まないもの 2 種類の培地で培養を行い、タンパク質抽出のサン

プルとした。培養は不純物を取り除き、安定した微生物叢を得るため、3回植え継ぎを行った。

表 1 培地組成

培地	培地成分			
	Glucose, g/l	Trypton, g/l	Yeast Extract, g/l	Cupric ion, mM
Control	1.0	5.0	2.5	0
Test	1.0	5.0	2.5	2.5



2.2 タンパク質の抽出

図 1 : ブロットイングの略図

微生物からタンパク質を抽出するために、凍結融解、超音波処理 (100W、5min.×3回) を行った後、リン酸緩衝液 (PBS) に溶解させたものを、粗タンパク質 (crude protein) 抽出液とした (保存する場合は、-20°Cで保存)。粗タンパク質抽出液から電気泳動を阻害する不純物を除去するために、2-D Clean-up Kit (Amersham Bioscience 社) による精製を行った。

抽出したタンパク質の濃度は Lowry 法を用いて測定した。(Bio-Rad 社製の定量キットを使用) 検量線は牛血清アルブミンを用いて作成した。

B. 3 2次元電気泳動装置によるタンパク質の分離

不純物を除去した粗タンパク質サンプルを分離のため、2次元電気泳動にかけた。1次元目は等電点電気泳動法 (IPGphor, Amersham Bioscience)、2次元目は SDS-PAGE (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法) (ミニプロティアンセル 3 Bio-Rad, Ettan DALT six

Electrophoresis Unit (Amersham Bioscience) を用いた。

また泳動後タンパク質の染色には銀染色法・CBB 染色法を用いた。

2.4 プロットティング

2次元電気泳動によって分離したタンパク質を、プロットティング法を用いてゲル中からPVDF (Polyvinylidene Fluoride) 膜上へ転写した (転写の成功具合を調べるために、転写後の膜にCBB 染色を施した)。

を行うことのできる十分に高い濃度のタンパク質が得られている。

表2 タンパク質定量結果

試料	タンパク質濃度 mg/ml
Control	1.94
Test (銅と培養)	0.52

C. 2 電気泳動の結果

それぞれのサンプルに関して2次元電気泳

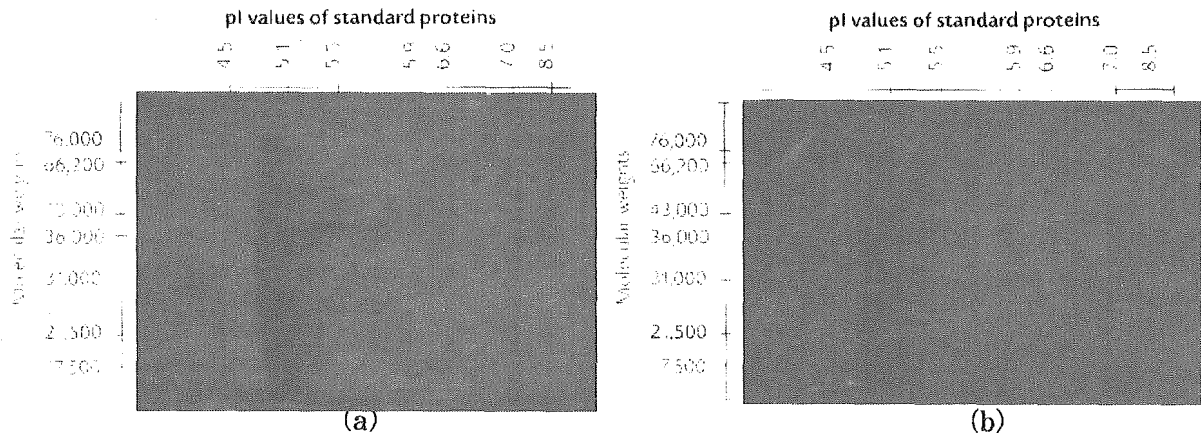


図2: 銀染色結果。(a) Cu 含まない培地で培養した微生物からのタンパク質泳動結果。(b) Cu 含む培地で培養した微生物からのタンパク質泳動結果

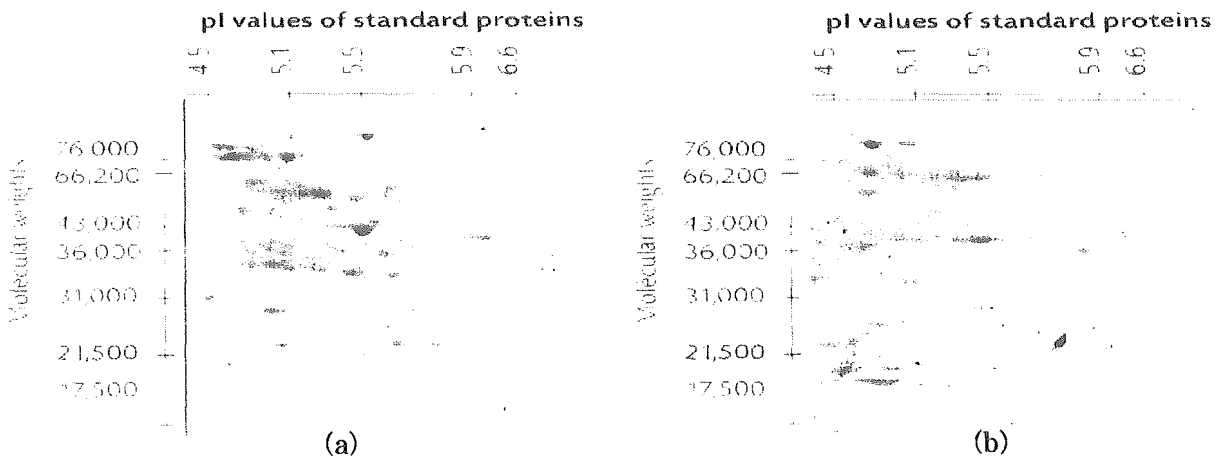


図3: プロットティング後のCBB 染色結果。(a) Cu 含まない培地で培養した微生物からのタンパク質プロットティング結果。(b) Cu 含む培地で培養した微生物からのタンパク質プロットティング結果

C. 研究結果

C.1 タンパク質定量結果

培養した微生物から抽出した粗タンパク質を2-D Clean-up Kitで調製したものに関してLowry 法を用いてタンパク質の定量を行った。結果は表2のようになった。2次元電気泳動

動にかけ、銀染色を行って泳動を確認した。染色結果は図2に示されている。当初はかなりノイズが入り、スポットが確認できるに至らなかったが、抽出方法や泳動条件などを改良し、のような泳動結果が得られるに至った。まだ、ノイズが見られるが、精製をもう少し

工夫すると良好な分離結果が得られることが期待される。本年度の研究では2次元電気泳動で混合微生物タンパク質を分離するための精製方法や各条件を求めることに主眼をおいたので広い pI の範囲のゲルディスクを用いたが、次年度はターゲットのタンパク質スポットにフォーカスを当て、より高い分解能に主眼をおいた条件(より狭い pI の範囲のゲルディスクを使用する等)でより精密な分離を行う予定である。

C. 3 プロットニングの結果

2次元電気泳動をかけた後、電圧を厚さ方向に印加し、ゲル中のタンパク質をPVDF膜に転写した。その転写した膜をCBB染色した結果を図3に示す。今年度は転写したタンパク質の存在をタンパク質を無選択に染色する色素を使用しているが、実際に金属結合タンパク質を検索する場合は、この膜を金属を含む溶液に浸潤し、それぞれのスポットで金属の有無を調べ、そのスポットを金属結合タンパク質として検出する方法をとる。スポット中の金属の存在を調べる方法としてはラジオアイソトープ(RI)を使用することが最も感度がよいが、一度RIと接触したものは管理区域から出すことができず、その後のタンパク質の検査(アミノ酸配列解析など)に支障があるので、電子線を利用して金属を検出することなどを考えている。

D. 考察

本年は微生物が持つ金属結合タンパク質を単離するには至らなかった。次年度の研究としては、単離した微生物から得られた粗タンパク質からの金属結合タンパク質の検索を進める予定である。元来、本年度で行った混合微生物系からの金属結合タンパク質の検索は、その微生物系に金属と結合するタンパク質がそのような多様性を持って存在するかを定性的に見る方法としては有効であるが、多種多様な微生物が有する(構成する)タンパク質を混合した状態として検出するため、どの微生物が精製するタンパク質であるかの判断ができないため、微生物を特定して金属結合タンパク質を検索・精製する目的には向かない。

E. 結論

本研究はコミュニティレベルの水循環システムを実現する上でその系内に入るおそれのある有害金属を除去するための高効率

のシステムを作り出す事を目的としている。本年度の成果としては混合微生物系からの粗タンパク質から比較的良好なタンパク質の分離ができたということである。今後は分離した粗タンパク質の金属との特異的親和性の検証と単離微生物からの金属結合タンパク質を行い、金属結合タンパク質を生成する微生物の同定やその生成条件などを研究し、最終的には污水浄化プロセスの中での利用方法を提案したい。

F. 引用文献

Changlin Liu, Huibi Xu (2002) The metal site as a template for the metal binding protein structure formation. *Journal of Inorganic Biochemistry* 88, 77-86

Yutaka K (1991) Definitions and Nomenclature of Metallothioneins. *Methods in Enzymology* 205, 8-10

Daniel Van Der Lelie, Jean-Paul Schwitzgebee, David J. Glass, Jaco Vagransveld, Alan Baker (2001) Assessing Phytoremediation's Progress in the United States and Europe. *Environmental Science & Technology* November 1, 447A-452A

S. Karenlampi, H. Schat, J. Vagransveld, J.A.C. Verkleij, D. van der Lelie, M. Mergeary, A.I. Tervahauta (2000) Genetic engineering in the improvement of plants for Phytoremediation of metal polluted soils. *Environmental Pollution* 107, 225-231

U. Kramer, A.N. Chardonnens, (2001) The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements. *Appl Microbiol Biotechnology* 55, 661-672

Amersham Bioscience (1998), 2-D Electrophoresis principles & methods

平野 久 (2001) プロテオーム解析 - 理論と方法 - 東京化学同人

G. 研究発表

無

H. 知的財産権の出願・登録状況

無

厚生労働科学研究費補助金(健康科学総合 研究事業)

(総合) 研究報告書

健全な水環境の水質モニタリングに関する研究

分担研究者 亀屋隆志 横浜国立大学大学院工学研究院助教授

研究要旨

水の安心・安全が懸念される原因として遺伝子毒性に着目し、ISO-13829 で規格化された umuDNA 損傷性試験の操作法や定量法を汎用性ある試験法に改良し、水道水や水道水源の河川水、汚染源となる排水についての適用性を確認した。

A. 研究目的

水道水源が家庭排水や工場排水、農業排水、ゴルフ場排水等の多様な発生源からの化学物質で汚染され、健康悪影響や浄水処理の負荷増が問題になっている。平成 15 年の水道水質基準の改訂 では、基準項目が 46 項目から 50 項目へ拡大(追加 13, 削除 9)され、管理目標設定項目(農薬 101 等)も新設された。一方で、個別物質の詳細な健康リスク評価と分析測定に頼る水質管理の限界も見えている。そこで本研究では、浄水器の普及の要因ともなり、利用者に関心が高い水の遺伝子毒性について、ISO 規格もある umuDNA 損傷性試験の改良を図り、水道水や水道水源の河川水、その汚染源となる排水等への適用性を検討した。

B. 研究方法

過去の調査で Ames 変異原性レベルの高かった水道水、相模川、多摩川の水、下水処理場 2ヶ所の処理水を用いた。また、ISO-13829 umuDNA 損傷性試験に対し、以下の改善を図った。

- ①凍結保存菌株の培養温度を 30℃とし、培養時間を 16~18 時間に延長した。
- ②試料水 1.5L を Sep-Pak plus PS-2 に通水し、1.5mL の DMSO で脱離して、濃縮方法の高感度化を図った。
- ③検液添加 DMSO を約 3 倍量の 8%として高感度化を図った。
- ④換算添加水量 D[L]あたりの正味 IR[-]を DNA 損傷性強度 GA[1/L]または DNA 損傷性物質生成能 GFP[1/L]と定義した。

$$GA \text{ or } GFP = (IR - 1) / D \quad (1)$$

- ⑤増殖菌体濃度(G)の採用範囲を確定し、結果の過大評価を 10%未満に抑えた。

(倫理面での配慮) 特に倫理面で問題となるような事項は含まれていない。

C. 研究結果

(1) 水道水への適用

比較対照の Ames 試験では、水道水の変異原性物質生成能 MFP は 5 地点の全試料で定量限界未満、1 試料は検出限界未満(N.D.)であった。改良 umu 試験では、用量応答関係に良い直線性が確認され、高度浄水処理による遺伝子毒性の低減効果も定量的に評価できた(図 1)。

(2) 河川水への適用

多摩川水系河川水の Ames 試験では、MFP が 13 地点中 1 地点で定量限界超、8 地点で検出限界以上定量限界未満、4 地点で検出限界未満であった。改良 umu 試験では、GFP[1/L]の最高と最低の地点間に -S9 で約 7 倍、+S9 で 4 倍以上、排水とは約 10 倍の差があり、下水処理水流入後に GFP が高くなる傾向が見られた。-S9 では全地点で GFP が検出され、定量地点数も +S9 に比べ多かった(図 2)。

D. 考察

(1) 改良 umu 試験法の有用性

改良 umuDNA 損傷性試験法は、データ蓄積が豊富な Ames 試験に比べ高感度であった。また、GA や GFP の用量依存性が確認でき、高度処理浄水から河川水、排水までの広濃度範囲の水試料を比較評価できた。また、簡便な操作により、効率的な試験が行えた。

(2) 水道水の遺伝子毒性

オゾン・活性炭処理などによる高度処理水では、GA の値が高々 20[1/L]以下と小さく、遺伝子毒性が低減されると示唆された。

また、水道水の変異原性は 10 年前に比べて 1/3~1/4 程度に改善されていると示唆された。

(3) 河川水の遺伝子毒性物質生成能

多摩川上流部の河川水は GA が高度処理浄水レベルの 20[1/L]程度以下と良好だが、支川の根川で GFP 130[1/L]、本線中流部で GFP 50[1/L]を超え、下流部では 90[1/L]もの GFP が検出され、遺伝子毒性物質汚染の適切な管理が必要と考えられた。

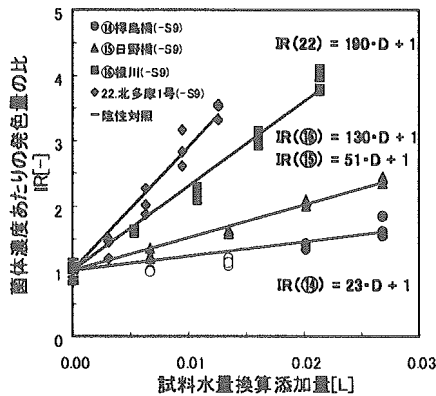


図2 河川水のDNA損傷性物質生成能(-S9)

E. 結論

水道水中の DNA 損傷性物質 GA や河川水・排水中の塩素処理後の DNA 損傷性物質生成能 GFP を簡便で高効率に濃縮する方法、ISO13829 umu 試験の凍結保存菌株培養で夜間作業を必要としない方法、各試料水の GA や GFP を定量比較できる評価方法を確立し、実際水道水 8 地点、河川水 13 地点、排水 1 地点を調査した。

(1) 改良 umu 試験法は Ames 試験より高感度であり、高度浄水処理での低減効果も定量評価できる。-S9 と+S9 は相関が高く、-S9 の方が高感度であり、通常試験は -S9 のみでよく、改良 umu 試験の GFP は Ames 変異原性 MA や同生成能 MFP と相関がある。また、改良 umu 試験は、用量依存性を考慮した指標化である GA や GFP によって高度処理浄水から河川水、排水までの広濃度範囲の水質を比較評価でき、操作も簡便であるため、日常的な水質管理に適している。

(2) 水道水の改良 umu 試験により、全国の一般的な水道水の GA のレベルは 30[1/L]程度であり、高度浄水処理により遺伝子毒性を低減できる可能性があった。

(3) 河川水の塩素処理後の GFP が上流部では 20[1/L]程度であるが、下水処理水

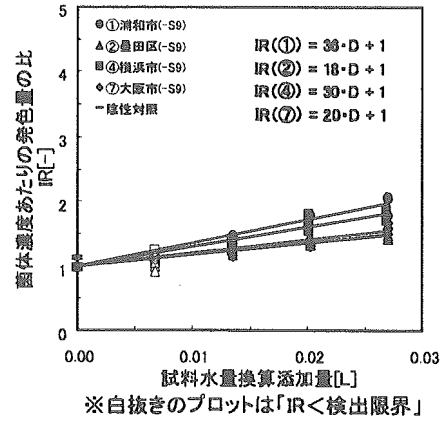


図1 水道水のDNA損傷性強度(-S9)

等の流入により 10 倍程度高い地点も存在した。

参考文献

- 1) 厚生労働省(2004)新しい水質基準、<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/> kijun/index.html.
- 2) US-EPA (1975) US-EPA Report to the US Congress on Suspect Carcinotgens in Water Supplies.
- 3) Bull R. J. (1981) Is drinking water a significant source of human exposure to chemical carcinogens and mutagens?, *Environ. Sci. Res.*, 22, 135-139.
- 4) 中西準子(1990)いのちの水、読売新聞、227、東京。
- 5) 鈴木規之、中西準子、松尾友矩(1992)水道水の変異原性原因物質の分画および還元剤との反応性に関する研究、水環境学会誌、15(11)、814-821.
- 6) 浦野紘平、岡部文枝、高梨啓和、藤江幸一(1995)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、18、1001~1011.
- 7) 村田尚子、浦野紘平、亀屋隆志:改良 umu 試験を用いた相模川水系の変異原性生成能の評価、第36回日本水環境学会年会講演集、p530 (2003)
- 8) 久保隆、村田尚子、亀屋隆志、浦野紘平: umu 試験による水道水源の遺伝子毒性物質生成能評価のための水試料濃縮方法、第37回日本水環境学会年会講演集 (2004)

F. 研究発表

1. 論文発表 (未定)
2. 学会発表 (一部関連部分)
 - 1) 第36回日本水環境学会年会 (2003)
 - 2) 第37回日本水環境学会年会 (2004)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 (未定)
2. 実用新案登録 (予定なし)

3. その他

(特になし)

小規模分散型水供給システム導入と消毒技術の評価

分担研究者 伊藤 禎彦 京都大学大学院工学研究科・教授

研究要旨

LCA 分析によって水供給システムのエネルギー消費量と CO₂ 排出量を算出し、小規模分散型の水供給システムの導入を検討する意義について評価した。まず、上水道システムでは、事業規模 5 万～10 万 m³/日に単位配水量あたりの環境負荷排出量が最小となる範囲が存在した。一方、下水道システムでは、規模が大きい方が単位処理量あたりの環境負荷排出量が小さかった。

また、浄水プロセスにおけるオゾンおよび二酸化塩素使用の効果と限界を調査した。まず、塩素処理に先だってオゾン処理を行うことは、処理水の有害性を大きく低減させる効果を有することを確認した。ついで、塩素処理水と二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の変化を比較した結果、消毒方法を、現行の塩素消毒の運用条件をそのままとして二酸化塩素に変更するならば、処理水の変異原性を塩素の場合の 70～80%程度に低減できると推定した。しかし、滞留時間が増大するほど、塩素処理水と二酸化塩素処理水の変異原性の差が縮まっていくことを指摘した。

A. 研究目的

ライフサイクルアセスメント（LCA）分析によって水供給システムを対象としてエネルギー消費量・CO₂排出量を算出し、現状における環境負荷排出量を定量的に把握する。これにより、流域において、小規模分散型の水供給システムの導入を検討する意義について評価することを目的とする。

また、小規模分散型水道において重要な操作となる消毒技術について、特に副生成物の有害性に焦点を当てた検討を行った。

B. 研究方法

上水道システムと下水道システムをとりあげ、評価範囲として建設段階と運転段階の 2 段階を評価した。算出方法としては「積み上げ法」と「産業連関分析法」をあわせた方式を用いて、水供給システムにおける CO₂ 排出量とエネルギー消費量を算出した。

浄水処理における代表的な酸化および消毒法であるオゾン処理と塩素処理を取り上げ、処理水の安全性を測定しつつ、その特性を把握した。処理水の安全性評価には、哺乳動物細胞を用いたバイオアッセイを用いた。また、消毒処理後の染色体異常誘発性の変化

を測定するとともに、塩素および二酸化塩素の染色体異常誘発性の大小関係の相対的な変化を推定した。

C. 研究結果および考察

(1) 上下水道システムのCO₂排出量とエネルギー消費量の評価

上水道システムのCO₂排出量については、1万m³/日以下の小規模では効率が悪くなる傾向が見られ、5万～10万m³/日規模でもっとも小さい値となった。一方、あまり大規模になると逆に効率が悪くなることがわかった。

下水道システムのCO₂排出量については、規模が大きいほど単位処理量あたりのCO₂排出量が小さかった。また、上水道システムの場合と異なり電力より下水管渠の割合が大きい。

上水道システムのライフサイクルエネルギー消費量（＝建設（イニシャル）段階のエネルギー消費量＋運用（ランニング）段階のエネルギー消費量）を事業規模別に表わした結果、5万～10万m³/日をもっとも小さい値となった。これはCO₂排出量の場合と同じ結果である。

下水道システムのライフサイクルエネルギー消費量は、規模が大きいほど単位処理量あたりのエネルギー消費量が小さい。また、上水道システムの場合と異なり電力より下水管渠の割合が大きい。

(2) 水道原水中に臭化物イオンを含む場合、塩素処理を行うと、臭素化反応が速やかに進行し、新しく水質基準項目となった臭素酸イオンに変換される。原水中の臭化物イオンとその運命の把握、ならびにこれに対する対応策は今後の課題とすべき点である。

塩素処理に先だってオゾン処理を行うことは、処理水の有害性の低減に有効であることを確認した。

(3) 塩素処理水と二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性が緩やかに生成し、最大となった後、低減する過程を把握した。

また、塩素処理水と二酸化塩素処理水では、染色体異常誘発性の生成に要する時間や、その後の低減過程での染色体異常誘発性の低下速度が異なることがわかった。

さらに、処理水中に消毒剤が残留するほど、染色体異常誘発性の低減は緩やかであるが、その傾向は特に塩素処理水で顕著であった。この染色体異常誘発性の低下速度は、二酸化塩素処理水の方が1.4～1.9倍小さく、より安定であった。

以上の結果から、消毒方法を、現行の塩素消毒の運用条件をそのままとして二酸化塩素に変更するならば、処理水の変異原性を塩素の場合の70～80%程度に低減できると推定した。しかし、滞留時間が増大するほど、塩素処理水と二酸化塩素処理水の変異原性の差が縮まっていくことを指摘した。

また、二酸化塩素を使用すれば、有機塩素化合物の生成量は塩素の場合と比較してはるかに少なくなるものの、処理水の変異原性の強さを大きくは低減できないことを指摘した。

D. 結論

- (1) 上水道システムを対象として事業規模別にライフサイクル CO₂ 排出量とライフサイクルエネルギー消費量を算出した結果、ともに事業規模 5 万～10 万 m³/日で単位配水量あたりの環境負荷排出量が最小となった。
- (2) 下水道システムを対象として事業規模別にライフサイクル CO₂ 排出量とライフサイクルエネルギー消費量を算出した結果、規模が大きいと単位処理量あたりの環境負荷排出量が小さくなった。下水道システムでは上水道システム以上にスケールメリットが大きく働くといえた。
- (3) 塩素処理に先だってオゾン処理を行うことは、処理水の有害性を大きく低減させる効果を有することを確認した。
- (4) 塩素処理水と二酸化塩素処理水の染色体異常誘発性の変化を比較した結果、処理水の変異原性を塩素の場合の 70～80%程度に低減できると推定した。しかし、滞留時間が増大するほど、塩素処理水と二酸化塩素処理水の変異原性の差が縮まっていくことを指摘した。

厚生科学労働研究費補助金（健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

健康で豊かな水環境を創造するための新しい水管理システムの可能性

—その戦略的構築と支援技術開発に関する研究

分担研究課題：システムの総合評価（遺伝子）

研究要旨

本分担研究では、潜在的な危険性（リスク）を持つ病原微生物および有害汚染物質をモニタリングしかつそれらの除去を達成するために必要となる新規なバイオテクノロジーの可能性を探る研究を行った。その成果として、水系感染微生物を対象として水環境を適切に管理することの重要性、特に新しい水循環システムを構築するうえで必要となる要素技術として遺伝子工学的的手法等の新規な病原微生物モニタリング技術を活用する水環境管理が必要であることを明らかにした。

A. 研究目的

本研究では、既存の検出方法によっては原理的および感度的に検出できない水環境の病原微生物リスクについて、遺伝子工学的方法を駆使して水系感染病原微生物の遺伝子またはその転写産物の高性能濃縮方法、およびPCR法とを組み合わせた分子生物学的方法について総合的に検討するとともに、水管理システムの総合リスク評価における有効性について検討することを研究目的とした。

B. 研究方法

本研究のタスクとして、最新の分子生物学的手法を用いて病原微生物および重金属汚染による水環境リスク因子を鋭敏に検出するための高感度バイオテクノロジー技術を開発するうえで必要な研究手順を明らかにすることを目的とした。本研究で取り上げた

Crypto-sporidium 属原生動物は、宿主の組織細胞の内部に寄生して一生を過ごす寄生性の原生動物である。健常なヒトに感染して下痢症の原因となるのは小腸に寄生する小型の *C. parvum* である。*C. parvum* は特定の宿主に限定されずに、広い範囲の哺乳動物に感染することが確認されている。*C. parvum* オーシストから抽出したDNAをできるだけ精製することなくPCR法（*r-Taq*と *hsp70*プライマーを使用）によって増幅し検出するうえでの、PCR反応阻害防止剤の添加効果について調べた。本研究ではPCR反応阻害防止剤としてAmpdirect^Rを用いた。

用いた実験手順は以下の通りである。

- ① 凍結融解処理による *C. parvum* オーシストからのDNAの溶出
- ② 凍結融解処理液を鋳型DNAとした Firsr-PCR増幅（Ampdirectを添加および無

添加による PCR)

- ③ First-PCR 産物を鋳型 DNA とした
Second-PCR 増幅 (nested-PCR、Ampdirect
は無添加せず)
- ④ 1.5%濃度アガロースゲル電気泳動による検
出
- ⑤ 定量 PCR 法によって検出・定量を試みた。
- ⑥ PCR 阻害防止剤 (Ampdirect、Amp Addition)
を用いて、定量 PCR 法によって検出・定量
を試みた。
- ⑦ MICROCON-PCR を用いて、*Cryptosporidium*
の DNA と活性汚泥を分離させ、DNA を精製・
回収した。その後、定量 PCR 法によって検
出・定量を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究で採用した研究方法は、科学倫理及び
人権擁護上の配慮に抵触するものを含んでお
らず、倫理面の問題はないと考える。

C. 研究結果

- (1) *parvum* のオーシスト 420 個、210 個、84
個、21 個、4.2 個の凍結融解液を鋳型として 1
回および 2 回 PCR 増幅を行った結果、何れの個
数の場合でも阻害防止剤 Ampdirect を使用す
ることによって DNA が増幅でき検出が可能で
あった。
- (2) 420 個、210 個、84 個では Ampdirect を使
用しない場合には、オーシストから溶出した阻
害物質の影響のため、PCR 法によって DNA は増
幅できず検出することができなかった。
- (3) 活性汚泥 4・1 に *C. parvum* のオーシスト
数 21 個を加えて PCR を行った結果、および活
性汚泥量 20・1 にオーシスト数 4.2 個を加えて
PCR 増幅を行った結果、活性汚泥量の少ない場
合に DNA の検出に成功した。また活性汚泥量が
多くオーシスト数が 4.2 個と少ない場合でも、

Ampdirect を使用した場合は DNA を検出するこ
とができた。

(4) 定量 PCR 法により、活性汚泥が存在しな
い場合に *Cryptosporidium* の DNA を検出・定量
することができ、活性汚泥が存在した場合には
検出・定量することができなかった。

(5) PCR 阻害防止剤を用いた定量 PCR 法による
検出・定量結果は、活性汚泥の量を 20 μ L まで
設定した場合に *Cryptosporidium* の DNA を検出
することができた。しかしながら、定
量値は活性汚泥の量に関係なく正確性に欠け
ていた。

(6) MICROCON-PCR を用いた定量 PCR 法による
検出・定量結果は、活性汚泥の量を 20 μ L まで
設定した場合に *Cryptosporidium* の DNA を検出
することができた。しかしながら、定量値は活
性汚泥の量に関係なく正確性に欠けていた。

D. 考察

既存の病原微生物の分子生物学的検出方法
では、さまざまな阻害要因によって検出が困難
な水環境リスク要因が存在することが明らか
となった。また、下水処理活性汚泥のような高
濃度の混合微生物系中に潜んでいる病原微生物
を検出する方法として、より適切な方法を組
み合わせて PCR 法を改良すれば、高感度検出方
法としても PCR 方が利用可能であると考えら
れる。

E. 結論

本研究によって得られた結論は下記の通り
である。

- (1) 蛍光抗体染色法は活性汚泥や下水のよう
な夾雑物を含む水中の *C. parvum* オーシストの
検出には適さないと考えられた。
- (2) 活性汚泥のような PCR 阻害物質を多量に
含む試料中のオーシストであっても、適切な

PCR 阻害防止剤を使用することによって PCR 法による高感度な検出可能であることが知られた。

(3) リアルタイム定量 PCR 法等の分子生物学的方法は、健康危機情報をその危機が発生するのに先だって検出することに利用可能であることが知られた。

F. 健康危機情報

本研究は、健康危機情報を直接収集することを目的にしておらず、研究機記情報の収集方法を確立することを目的になされたものである。しかし、定量 PCR 法等のバイオテクノロジー的方法は、健康危機情報をその危機が発生するのに先だって検出することに利用可能であるという知見を得ることができた。

G. 研究発表

1. 論文発表

・ T. Yamagata, M. Ishii, M. Narita, C. C. Huang and G. Endo: Bio-affecting mercury detection using mercury resistance gene module fused with bioluminescence reporter

genes. *Water Science and Technology*, Vol. 46, No. 11-12, pp. 253-256 (2002)

・ G. Endo, M. Narita, C-C. Huang and S. Silver: Heavy metal resistance transposons and plasmids: Potential use for Environmental Biotechnology. *J. Environmental Biotechnology*, Vol. 2, No. 2, pp. 71-82 (2002)

2. 学会発表

・ 遠藤銀朗、小澤隆之、成田勝、松井一彰：クリプトスポリジウム・オーシストの PCR 法による検出に関する研究、平成 15 年度土木学会東北支部技術研究発表会、2004 年 3 月（秋田大学）

・ 小出繭子、熱海裕介、松井一彰、遠藤銀朗：可動性遺伝子（トランスポゾン）の転移頻度に及ぼす UV 照射とヒートショックの影響に関する研究、平成 16 年度東北支部技術研究発表会、2005 年 3 月 11 日（宮城県仙台市）

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合 研究事業）
分担研究報告書

微量汚染化学物質除去への膜分離法の適用に関する研究

分担研究者 尾崎 博明 大阪産業大学 工学部 教授

研究要旨

安全で清浄な飲料水を供給する浄水処理技術や、水の再利用を視野に入れて人の健康に多大な影響を及ぼす微量有害物質をも確実に除去できる下・排水の新処理システムを構築するために、低圧逆浸透膜を用いる内分泌攪乱物質の分離に関する検討を行った。超低圧逆浸透膜は実験に供した内分泌攪乱物質の多くを90%以上の阻止率で分離したが、非分離状態にあるものについては80%以下の阻止率を示すものがあった。疎水性が強い内分泌攪乱物質ほど阻止率が高くなる結果を得るとともに、自然由来有機物（NOM、Natural Organic Matter）の共存下ではとくにフミン酸に吸着して分離されることを示した。これらの結果は、実際の対象水を処理するにあたっての有用な知見であると考えられる。

A. 研究目的

コミュニティーにおいて、安全かつ快適で豊かな自律分散持続型水システムを創生するためには、多様な水源に適用できる浄水技術や、下・廃水中の有害物質を含む様々な汚濁物質を適切に処理した後、水の再利用が可能な水処理技術の開発が重要である。近年では内分泌攪乱物質など微量汚染化学物質による環境汚染が顕在化している。

本研究では数種の内分泌攪乱物質を対象物質として(超)低圧逆浸透膜による分離を試みた。低圧逆浸透膜は0.3~1MPa程度の低圧下で操作可能であり、従来型の逆浸透膜には及ばないが高い溶質阻止率（最高99%程度）を達成できるため汎用できる実用技術として期待されている。本研究では内分泌攪乱物質の単一溶液のほか、フミン酸等のNOMが共存する系での内分泌攪乱物質の超低圧逆浸透膜の膜による分離について検討を行い、内分泌攪乱物質の分離特性と分離に及ぼす影響因子について検討した。

B. 研究方法

実験は、膜モジュールとしてのアクリル樹脂製のテストセル C-10T(日東電工(株)製、有効膜面積60cm²)に低圧逆浸透膜のUTC60(東レ(株)製全芳香族ポリアミド系・公称のNaCl除去率55%)あるいは超低圧逆浸透膜のUTC70(NaCl除去率99.7%)を装着し、ポンプ加圧による薄層流クロスフロー方式により行った。実験には数種の内分泌攪乱物質(17β-エストラジオール(E2)、ビスフェノールA(BPA)、ジエチルフタレート(DEP)、ノニルフェノール(NP)など)を用いた。フミン酸はAldrich社製のものを用い、フルボ酸は同フミン酸を基に実験室で作成した。なお各内分泌攪乱物質は1mg/Lとなるように添加した。本供試液温度は25±2℃に維持し、圧力は0.30MPaの印加圧力で操作した。供試液のpHは7.0±0.10の範囲に保った。試料液中の内分泌攪乱物質の分析は、単独の系の試料は蛍光光度計により、共存系試料の分析はELISA法(酵素免疫測定法)を用いて行った。

また実験は各内分泌攪乱物質の単一溶液の分離実験のほか、フミン酸溶液(TOC; 10mg/C)、フルボ酸溶液(TOC; 2.5mg/C)、

下水二次処理水 (DDW、TOC ; 10mg/C) との共存系でも行った。

C. 研究結果

全芳香族ポリアミド系膜の超低压逆浸透膜 (UTC70、NaCl 阻止率 99.7%) を用いて各種内分泌攪乱物質の膜分離 (印加圧力 0.3Mpa) を行ったところ、Bisphenol A、17 β -estradiol、Diethyl phthalate のように 100% 近い分離率が得られるものがあった。一方、Pentachlorophenol や 2,4-Dichloro phenol の阻止率は pH 依存性を示し、酸性域で阻止率が 80% 以下と低く、アルカリ性域で高くなった。この pH 依存性は内分泌攪乱物質の解離性と阻止率の差は 20% 以上となり、実処理でも注意が必要となると考えられた。

一方、E2、BPA 及び NP の単独系及びそれらの 1 種とフミン酸、フルボ酸、下水二次処理水のいずれかとの混合系において膜分離を行った。これらの内分泌攪乱物質の単独系における除去率は低い方から BPA (約 36%)、E2 (約 57%)、NP (約 80%) の順となった。混合系ではとくにフミン酸との混合系において各内分泌攪乱物質とともに単独系よりも除去率が上昇したが、NP のように逆に低下するものもあった。下水二次処理水の混合系では NP のように上昇するものもあったが、他では大きな影響は認められなかった。

なお用いたフミン酸の分子量は 6,000~20,000、フルボ酸の分子量は約 300、下水二次処理水中有機物の分子量は 5,000~20,000 でフルボ酸領域の分子量の有機物も認められた。

D. 考察

内分泌攪乱物質の単独系での除去率は NP>E2>BPA であったが、この結果はオクタノール/水分配係数 (Kow) の大きさの順 (疎

水性が強い順) と一致する。疎水性の大きい物質ほど膜への収着量が大きく、吸着除去されるとともに、膜の疎水性部分 (水の透過部) へ接近しにくいために除去率が上昇すると考えられる。

下水二次処理中の NP の除去率が単独系より上昇したのは、同水中のフミン酸に吸着した結果と考えられる。一方、NP よりも親水性が高いと考えられる E2 と BPA については下水二次処理水中でも除去率が高くなかった。下水二次処理水中の NOM で卓越するのは親水性酸であるとの報告もあり、それに収着されやすい E2 や BPA がこの親水性酸とともに膜を透過した可能性がある。

E. 結論

低压逆浸透膜による内分泌攪乱物質の分離に関し、本研究で得られた結論は主に以下の通りである。

(1) 膜による内分泌攪乱物質除去率は、溶質の分子量や解離性及び膜の電位のほかに、溶質の疎水性が関与している。

(2) NOM の共存下においては、とくに分子量の大きいフミン酸への内分泌攪乱物質の収着により除去率が向上する。共存する NOM が親水性酸である場合は、疎水性の低い内分泌攪乱物質がそれに収着され、膜を通過して除去率が低下する可能性がある。

以上のように本研究では、低压逆浸透膜あるいは超低压逆浸透による内分泌攪乱物質の分離特性を明らかにし、とくに超低压逆浸透膜利用では pH 条件をうまく選択することにより十分な分離が可能であることを明らかにした。また低压逆浸透膜利用であっても共存 NOM の存在下では十分な分離性能を望める場合があることを示唆した。

このような知見は低压逆浸透膜の水分野の適用範囲の拡大に寄与するものと考えられる。

河川水中の自然由来有機物とエストロゲンの挙動に関する研究

分担研究者 湯浅晶 岐阜大学流域圏科学研究センター教授

研究要旨

長良川における自然由来有機物（NOM）の特性とエストロゲンの分解挙動について検討した。水中有機物のコロイド荷電特性の測定から、上流域では荷電密度の絶対値が大きいフミン質などの自然由来有機物が流入し、中流から下流にかけては人為活動や社会活動に由来する荷電密度の絶対値が小さい有機物の流入が増加することが明らかにされた。

長良川本川と支川の各地点から河川水、河床堆積物（底泥）を採取し、水相浮遊微生物と固相生息微生物による E_2 の分解挙動を好気と嫌気の両条件下における回分式生分解試験を通して検討した。長良川水系の E_2 の分解速度は、固相生息微生物に比べて水相浮遊微生物の方が速く、かつ嫌気条件下に比べて好気条件下の方で約 2~3 倍大きいことが示された。

A. 研究目的

河川における自然由来と人為活動由来の有機物の挙動解明のケーススタディとして、長良川流域における自然由来有機物（NOM）の流入特性を明らかにし、また、人為由来の女性ホルモン（エストロゲン）の生物分解特性を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

長良川流域の本川・支川から採水し、コロイド滴定法を用いて水中有機コロイドの荷電量（負荷電）を測定した。また、懸濁物質（SS）、溶存有機炭素量（DOC）を測定して、懸濁物質の荷電密度と溶存有機コロイドの荷電密度を求めた。流下にとまなう高分子有機物のコロイド荷電特性の変化に基づいて有機物の流入特性を評価した。

長良川本川と支川から河川水と河床堆積物（底泥）を採取し、水相浮遊微生物と固相生息微生物を用いた回分式生分解試験を行い、好気条件および嫌気条件における 17 β -エストラジオール（ E_2 ）の分解挙動について検討した。また、 E_2 の分解に伴う E_1 の生成挙動を追跡し、好気条件下と嫌気条件下における E_2 の分解経路の違いや、自然水系の E_2 と E_1 の残存性の比較評価した。さらに、実測データを既存の生分解モデルにより解析し、長良川水系における水相浮遊微生物と固相生息微生物による E_2 の分解速度の比較検討を行った。

（倫理面への配慮）特になし。

C. 研究結果

長良川水系における溶存態有機物に起因する荷電量は懸濁態物質に起因する荷電量より大きいことが明らかにされた。上流域では荷電密度の絶対値が大きいフミン質のような自然由来の有機物が多く流入

し、中流から下流にかけては人為活動や社会活動に由来する荷電密度の絶対値が小さい有機物の流入が増加することが明らかにされた。

長良川水系において E_2 を分解する微生物が嫌気、好気の両条件下に存在することが示された。 E_2 濃度が低下するにつれて E_1 濃度が上昇し、その後 E_1 濃度が低下していることから、 E_2 は脱水素反応により E_1 に変換されたのちに系内から取り除かれたことが確認された。さらに、 E_2 から E_1 への形成および E_2 の消失は、嫌気条件下に比べて好気条件の方が早いことが確認された。 E_2 濃度の分解速度は SS 濃度または VSS 濃度との相関は認められなかった。しかし、好気条件下における E_2 を分解する微生物の密度または微生物の活性は、嫌気条件下における E_2 を分解する微生物の密度または微生物の活性よりも高いことが示唆された。

D. 考察

長良川の上流域面積の約 95% 以上は森林に占められており、かつ、人為活動・社会活動は限られているので、上流域の水中有機物のほとんどは自然由来のものと考えられる。フミン質のような自然由来有機物は負荷電を帯びており、荷電密度の絶対値が大きい。これに対して、中流から下流にかけては、流域に占める森林の割合が減少し、代わりに市街地や農作地などの割合が増加しており、人為活動や社会活動に由来する有機物が増加する。長良川の流下過程で有機物荷電密度の絶対値が低下していく挙動と合わせて考えると、上流から下流への流下過程で支川から流入する溶存態有機態質の多くは負荷電であるが、フミン質に比べて荷電密度の絶対値が小さい。

長良川水系における水相浮遊微生物と固相生息微生物の嫌気、好気の両条件下での E_2 濃度の除去速度は下流に行くほど大きくなった。長良川水系の E_2

の分解速度は、固相生息微生物に比べて水相浮遊微生物の方が速く、かつ嫌気条件下に比べて好気条件下の方で約2~3倍大きいことが示された。

E. 結論

上流域面積の約95%以上が森林に占められている長良川水系では、上流域からフミン質などの自然由来有機物が多く流入し、中流から下流にかけては人為活動や社会活動に由来する有機物の流入が増加する。長良川水系における17 β -エストラジオールの分解速度は固相生息微生物に比べて水相浮遊微生物の方が大きく、かつ嫌気条件下に比べて好気条件下の方が大きいことが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Storm impacts upon the composition of organic matrices in Nagara River—a study based on molecular weight and activated carbon adsorbability (Fusheng Li, Akira Yuasa, Hajime Chiharada, Yoshihiko Matsui), *Water Research*, Vol. 37, No. 16, 4029-4039 (2003).

Polydisperse adsorbability composition of several natural and synthetic organic matrices (Fusheng Li, Akira Yuasa, Hajime

Chiharada, Yoshihiko Matsui), *Jour. of Colloid & Interface Science*, Vol. 265, No. 2, 265-275 (2003)

Aerobic batch degradation of 17 β estradiol (E2) by activated sludge: effects of spiking E2 concentrations, MLVSS and temperatures (Fusheng Li, Akira Yuasa, Aya Obara and Alexander P. Mathews), *Water Research*, Vol.39, pp.2065-2075 (2005).

2. 学会発表

小原彩, 李富生, 湯浅晶: 生物活性炭による17 β -エストラジオールの分解特性, 土木学会第58回年次学術講演会講演概要集□, 2003.

鄭恩貞, 湯浅晶, 李富生, 松井佳彦: フミン質共存下におけるエストロゲンの競合吸着容量特性, 第39回日本水環境学会年会講演集, p.373, (2005)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
（分担）研究報告

超微粉化活性炭と凝集剤を添加する MF 膜処理
岐阜大学 松井佳彦 岐阜大学教授

研究要旨 吸着と凝集前処理を伴うMF膜処理における自然由来有機物(NOM)とウイルスの除去性について検討した。吸着剤として通常の粉末活性炭より遥かに微粒度の粒径 $1\mu\text{m}$ 以下の超微粉化活性炭を前処理に用いることによって、添加濃度と接触時間の大幅な削減が可能であることを示した。これは、超微粒度化により吸着速度の増加のみならず活性炭自体の吸着容量をも増加した効果であることを見出した。また、超微粉化活性炭を使用することによる顕著な膜間差圧の上昇が起こらないことも示された。ウイルス除去に関しては、凝集前処理を行うことによって $6\log$ 以上の十分な除去率が得られた。これは、膜ファウリングによる膜分離性の向上と膜面に堆積したケーキ層によりとらわれるのみならず、ウイルスのフロックへの不可逆吸着(不活化)が大きく寄与していることがわかった。

A. 研究目的

MF膜処理法は、施設がコンパクトに設置できることや維持管理が容易なため普及が進んでいるが、MF膜ろ過のみでは、孔径 $0.1\mu\text{m}$ 以下のウイルスや溶解性の有機物質などを除去することができない。凝集処理を前処理として行うことで、さらに小さい粒子径の粒子や、溶存性の物質まである程度除去することができるものの、凝集処理のみでは、低分子有機物や色度、臭気成分の除去は困難である。そこで、溶存性物質の除去率を高めるために凝集処理や活性炭処理を前処理とした複合MF膜処理が提案されている。ところが、凝集により微粒子を膜孔径以上の大きさにするために要する時間は極めて短い反面、活性炭吸着に要する時間が長いため、MF膜処理の利点である設置面積の省スペース性と相容れない。そこで本研究では、粒径 $1\mu\text{m}$ 以下の超微粉化活性炭により吸着速度を飛躍的に増加させ、高速度運転が可能な吸着・MF膜複合処理法を検討した。また、凝集剤を添加するMF膜処理について、異なる条件下におけるウイルス除去性能の比較・検討を行い、ウイルスの効果的な除去条件についても検討した。

B. 研究方法

活性炭：市販の粉末活性炭（二村化学太閤 W、中央粒径 $33\mu\text{m}$ ）と、それをさらに粉砕した超微粉化活性炭（ $0.5, 0.8, 1.0\mu\text{m}$ ）を使用した。

試料水：純物質である分子量 4600 のポリスチレンスルホン酸 (PSS) を含む PSS 溶液と、NOM を含む試料水として水道水源の河川水を使用した。NOM の濃度は 260nm の紫外外部吸光度 (E260) と全有機炭素 (TOC) として測定した。

回分式吸着実験：PSS 溶液に活性炭を添加後、2~3 週間攪拌し、活性炭吸着平衡時の液相濃度を測定し、平衡吸着量を求めた。

活性炭添加MF膜実験：7日間行ったパイロットプラントの実験では、試料水をポンプで送水しつつ、凝集剤をインライン添加後活性炭を添加して1分間接触させMF膜（公称孔径 $0.1\mu\text{m}$ セラミック膜）に通水した。また、逆圧洗浄間隔の120分間に、ろ過水のサンプリングを行って有機物濃度の測定も行った。一方、ラボスケールの実験で、パイロットプラントと同様の実験を行い、活性炭接触時間を2.4~30秒として、接触時間が1分以下の高速度処理が可能であるかを調べた。

凝集 MF 膜実験： $10^6\sim 10^7$ PFU/mL のウイルス ($Q\beta$) を加えた豊川河川水を原水とし、定流量 ($50\text{mL}/\text{min}$) にてポンプで導入した。ここに、凝集剤 (PAC:ポリ塩化アルミニウム $0.54, 1.08,$

1.62mg/L as Al) を連続的に添加し (1mL/min), スタティックミキサー (凝集時間 1.1, 2.4, 60s) によって攪拌を行った。これをセラミック MF 膜 (膜孔径 0.1 μm) を用いてデッドエンド方式でろ過した。サンプル採取はろ過開始 15 分後に行い、以降は 1 時間後から 6 時間後まで 1 時間毎に行って、その時の原水と処理水のウイルス濃度をブラック形成法によって測定した。

C. 研究結果と考察 (NOM の除去性)

活性炭を超微粉化することにより、メソ孔の表面積が増加し、さらにメソ孔に吸着するような高分子物質の吸着量も増加することが実験的に示された。次に、パイロットプラントにおける連続式 MF 膜処理実験で超微粉化活性炭の前処理効果を調べた。活性炭接触 1 分の高速運転を行った結果、通常活性炭を添加した場合と活性炭無添加の場合では有機物除去率がほとんど変わらなかったが、超微粉化活性炭では高い除去率が達成された。また、活性炭の超微粉化に伴い膜間差圧の上昇が危惧されたが、活性炭無添加の場合と比べても顕著な増加は観察されなかった。以上のように、超微粉化活性炭が MF 膜処理の前処理として効果が高いことが示された。最後に、ラボスケールの実験により、超微粉化による活性炭添加濃度の削減効果と接触時間の短縮効果について検討した。活性炭接触時間 1 分と 2.4 秒のシステムが同一の処理性を示し、さらに通常の粒度の粉末活性炭に比べて超微粉化活性炭は添加濃度が 1/4 で同一の処理性を示した。

D. 研究結果と考察 (ウイルスの除去性)

PAC 添加濃度と凝集フロック形成時間がウイルス除去に与える影響について検討した。その結果、凝集時間を数秒まで短縮しても十分なフロック形成を行った場合と同一のウイルス除去性が

得られた。ウイルス除去には凝集剤の添加が不可欠であり、凝集 MF 膜処理においては長い凝集時間を確保するよりも PAC 添加濃度を上げることがウイルス除去により効果的であると考えられた。

さらに、ウイルス除去のメカニズムについて調べるために、感染性のあるウイルス濃度と不活化されたウイルス濃度をブラック形成法と PCR 法を組み合わせるにより定量し、凝集 MF 膜処理 6 時間終了後の MF 膜エレメント内におけるウイルスの物質収支をとることを試みた。膜モジュール内から回収されたウイルスは遺伝子レベルで 13% で、感染性を有する状態で回収されたウイルスは、全流入量の $1/10^6$ であった。このことと他の研究結果とあわせて考察したところ膜内ではウイルスは凝集によりほとんどが失活していることが示唆された。ウイルスの除去率は 6log 以上で、そのほとんどは、フロックへの吸着、特に不可逆的吸着による失活であることが分かった。また、既存の研究により MF 膜処理のみではほとんどウイルスを除去することができず、このような作用はいずれも凝集処理を導入することによって得られる効果であると判断された。

E. 結論

活性炭・凝集剤添加 MF 膜処理: 粒径 $1\mu\text{m}$ 以下の超微粉化活性炭を MF 膜の前処理に用いることによって、新たに活性炭接触池等を付加することなく活性炭添加量も削減可能なことが分かった。凝集剤添加を添加することにより MF 膜処理においても十分なウイルス除去が達成され、これは凝集フロックへのウイルスの非可逆的に吸着し膜内のウイルスが失活しているこのも大きく関与していることが分かった。

F. 健康危機情報

なし

メンブレンバイオリアクターによる微量汚染化学物質の除去に関する研究

（主任又は分担）研究者 渡辺 義公 北海道大学大学院工学研究科 教授

研究要旨：21世紀リサイクル社会に対応するための統合的水管理を目指した新しい水代謝システムのための超高度下水処理法について提案し、微量汚染化学物質の除去率が飛躍的に高まることを明らかにした。

A. 研究目的

本研究では21世紀リサイクル社会に対応するための統合的水管理を目指した新しい水代謝システムのための超高度下水処理法としての Membrane Bioreactor (MBR) の環境ホルモンと医療品由来有機物の除去能力について検討した。

B. 研究方法

札幌市創成川下水処理場に、前凝集沈殿と組み合わせたハイブリッド MBR パイロットプラントを設置し実験を行った。同処理場の最初沈殿池流出水を噴流攪拌固液分離装置で凝集沈殿処理した水を MBR の原水とした。MBR は回転平膜装置（ポリスルホン UF 膜：膜分画分子量 75 万）、浸漬型中空糸膜装置（ポリエチレン MF 膜：膜公称孔径 0.2 μm ）及び浸漬型平膜装置（PVDF 平膜装置：膜公称孔径 0.1 μm ）の 3 種類を同時に運転した。MBR の流入水と流出水の水質として、TOC, E260, エストロゲン様物質、医療品由来有機物（抗炎症剤などの 10 種類）を測定した。エストロゲン様物質と

医療品由来有機物の測定はそれぞれ ELISA 法と GC/MS 法で行った。

C. 研究結果と考察

(1) エストロゲン様物質

E2 は創成川下水処理場の活性汚泥法では除去率が 60% 程度であるが、ハイブリッド MBR では約 90% となった。MBR 流入水の E2 とエストロゲンは溶解性としてそれぞれ約 90%、99% 存在した。MBR によるエストロゲン様物質の除去機構は活性汚泥による吸着・生物分解と膜による分離・吸着である。女性ホルモン様物質である E2 と E3 の分子量（E2：272、E3：288）から考えて膜による分離は無い。膜による吸着についても、フミン質や他の有機物質のような共存物質がエストロゲン様物質より遥かに高濃度で存在しそれらが膜に吸着し、膜の吸着要領は短時間で飽和に達すると考えられることから無視できる。よって、MBR によるエストロゲン様物質の除去は活性汚泥による吸着・生物分解が主な除去機構と考えられる。MBR は活性汚泥法よりも MLSS 濃度が 5-10 倍高い。特に、ハイブリッド MBR では MLSS 濃度が高い