

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：32641

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02288

研究課題名（和文）固体EEM分析による膜ファウリング物質のIn-situ定量法の開発

研究課題名（英文）In-situ quantification of membrane foulants by Solid phase fluorescence excitation emission matrix

研究代表者

山村 寛 (Yamamura, Hiroshi)

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：40515334

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：全試料のK-M関数と蛍光強度を参照した結果、K-M関数が大きく励起光を吸収しやすい色の試料ほど蛍光強度が減少する傾向にあることが確認された。さらに、K-M関数と蛍光強度の関係は累乗近似式による曲線当てはめが可能であったことから、K-M関数に基づき蛍光強度の減少を予測する数式が構築可能と推測される。

TPI-NOMおよびHPO-NOMのゲル化により、SPF-EEMピーク位置の移動が誘起されることが明らかとなった。これにより、NOMのゲル化とSPF-EEMを同時に測定することで、NOMのゲル化とピーク位置の移動を結びつけることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

着色によるSPF-EEMのクエンチング効果を定量的に評価し、スペクトルを定量的に解析できるようになれば、ファウリング物質の量に応じて薬品使用量を最低限にし、膜寿命の長寿命化ならびに洗浄排水量の大幅な削減も可能になる。

さらに、ゲル化のタイミングが明らかになることで、膜洗浄nタイミングを的確に捉えることが可能になる。

研究成果の概要（英文）：The results of referencing the K-M function and fluorescence intensity of all samples confirmed that the fluorescence intensity tended to decrease for samples with larger K-M functions and colors that easily absorbed excitation light. Furthermore, since the relationship between the K-M function and fluorescence intensity could be fitted to the curve by a power-of-fit approximation, it is assumed that a mathematical formula can be constructed to predict the decrease in fluorescence intensity based on the K-M function.

The gelation of TPI-NOM and HPO-NOM induced a shift in the SPF-EEM peak position. This allowed us to link the gelation of NOM with the migration of the peak position by simultaneously measuring the gelation of NOM and SPF-EEM.

研究分野：環境工学

キーワード：膜ろ過 固体蛍光分光測定 クエンチング 膜ファウリング 蛍光スペクトル測定 In-situ測定 ゲル化

## 1. 研究開始当初の背景

用排水処理への膜ろ過の適用が急速に拡大しつつある一方で、膜細孔の目詰まり(膜ファウリングと以後表記する)が未だに効率的な運転の妨げとなっている。膜ファウリングの抑制にはファウリング原因物質の情報を得た上で、前処理や運転条件を適切に設定することが重要となる。一方で、膜ろ過中に非破壊かつ In-situ で膜ファウリング物質の情報を得ることが極めて難しいことから、現状では長期間のパイロット試験により試行錯誤的に最適な前処理や運転条件が決定されている。

ファウリング成分の分析には、高感度かつ高解像な分析技術が必要となるため、これまでは閉塞した膜を化学薬品に浸漬することで抽出した閉塞成分を NMR などの高度な分析機器を用いて測定したり、前処理で目的成分を染色もしくはラベリングしたものを観察する“Ex-situ”的な手法が用いられてきた。よって、未だに膜ファウリングの構成成分を In-situ で定性・定量する手法がほとんど存在しないのが現状である。

3次元励起蛍光分析(EEM)は、特別な前処理を必要とせず、高感度に溶液中に含まれる有機物(NOM: Natural Organic Matter)の特性と存在割合を分析出来る手法である。これまで、環境水や薬品抽出したファウリング成分の有機物構成を明らかにするために用いられてきた。近年我々は、膜に直接励起光を照射し、膜から発する蛍光を検出することで膜面のファウリング物質を非破壊で測定する「固体-3次元励起蛍光分光分析法(以後 SPF-EEM と表記する)を開発し、世界で初めての過を中断することなく、In-situ で膜ファウリング成分を”定性的に”追跡することに成功している(Yamamura et al., 2019)。

SPF-EEM をファウリング制御に応用するにあたって、我々は NOM のスペクトルデータベースを構築した。これまで、7種類の特性の異なる水源から親・疎水性有機物をそれぞれ回収し、SPF-EEM スペクトル等を取得した他、含水率が SPF-EEM スペクトルに及ぼす影響を報告してきた(Ding et al., 2019)。加えて、膜ろ過運転の比較的初期段階において、比較的含水率の高いゲル状の親水性有機物が膜面に堆積する様子を、世界に先駆けて可視化することに成功している(Yamamura et al., 2019)。一方、疎水性有機物の高い消光(クエンチング)作用も明らかになっており(Nakaya et al., 2018)、親水性有機物に疎水性有機物が 30%混合することで、すべてのピークが消滅することを既に確認している。疎水性有機物による SPF-EEM のクエンチング効果を定量的に評価し、スペクトルを定量的に解析できるようになれば、ファウリング物質の量に応じて薬品使用量を最低限にし、膜寿命の長寿命化ならびに洗浄排水量の大幅な削減も可能になる。

## 2. 研究の目的

本研究では、蛍光性有機物の粉末を様々なパターンで着色し、それぞれの蛍光強度を測定することで、色度に起因するクエンチングについて整理した。さらに、水晶振動子マイクロバランス法(QCM-A)によって NOM 溶液がゲル化する様子を観察するとともに SPF-EEM を測定することで、ピーク位置の移動とゲル層形成の関連性を検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 固体試料の色が蛍光強度に及ぼす影響の検討

蛍光性有機物にウシ血清アルブミン(BSA)粉末、希釈にホウ酸粉末を、それぞれメノウ鉢で粉砕し、目開き 63  $\mu\text{m}$  の篩いを通したものを使用した。それぞれ異なる色相の粉末顔料[赤(RD),

青(BL), 緑(GN), 紫(PL), 茶(BN), 黒(BK)]とホウ酸粉末を BSA 粉末に適量混合することで, BSA 粉末を任意の色度に調整した。なお, 使用した粉末顔料は, 粒径 63  $\mu\text{m}$  以下かつ SPF-EEM において特定のピークを示さないこと(非蛍光性)を確認している。

粉末の SPF-EEM 測定は, 蛍光分光光度計(F-7100; 日立)に固体試料測定用アタッチメントを装着した装置を用いて実施した。直径 12 mm の円形穴に粉末試料を挿入し, 石英ガラス窓で封入した試料セルに, 30°の角度から励起光を照射し, 60°の角度の蛍光を検出した。装置は, ホトマル電圧 400 V, スキャンスピード 30,000 nm/min, 励起光および蛍光のスリット幅 5 nm, 励起波長間隔を 5 nm, 取得蛍光波長間隔を 1 nm に設定した。

固体試料の拡散反射率は, 紫外-可視分光光度計(日立; U3900)に積分球アタッチメントを装着した装置を用いて測定した。粉末試料を幅 1 mm, 奥行き 19 mm, 高さ 19 mm の板状石英セルに封入し, 測定を実施した。装置は, スキャンスピード 300 nm/min, スリット幅 2 nm, 測定波長範囲 780-250 nm, サンプリング間隔 0.5 nm に設定した。標準白板として, 酸化アルミニウム( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )で形成された平板を使用した。

SPF-EEM 測定において, 試料の蛍光波長と吸光波長が一致した場合, 蛍光が試料内部で吸収される「再吸収」が発生し, 蛍光強度の低下やピーク位置の移動が誘発される。固体試料における吸光の大きさは, Kubelka-Munk 理論によって式 1 で示す K-M 関数として表現される。

$$\frac{[1-R_\lambda]^2}{2R_\lambda} = F(R_\lambda) \quad (\text{式 1})$$

ここで,  $R_\lambda$  は波長  $\lambda$  における試料の拡散反射率,  $F(R_\lambda)$  は K-M 関数である。さらに K-M 関数から導出される K-M 補正式(式 2 および式 3)により, 着色した BSA 粉末における再吸収の影響を理論的に補正した。

$$\frac{1}{\gamma(\lambda, \lambda_0)} = \left(1 + \sqrt{\frac{F(R_\lambda)}{F(R_\lambda)+2}}\right) \times \left(1 + \sqrt{\frac{F(R_\lambda)\{F(R_\lambda)+2\}}{F(R_{\lambda_0})\{F(R_{\lambda_0})+2\}}}\right) \quad (\text{式 2})$$

$$F.I._{cor} = \frac{F.I._{obs}}{\gamma(\lambda, \lambda_0)} \quad (\text{式 3})$$

ここで,  $\gamma(\lambda, \lambda_0)$  は励起波長  $\lambda_0$  および蛍光波長  $\lambda$  における蛍光強度の補正係数の逆数,  $F.I._{cor}$  は補正後の蛍光強度,  $F.I._{obs}$  は蛍光強度の測定値を示す。

## (2) QCM-A と SPF-EEM による NOM ゲル化の観察

江戸川表流水を, 孔径 0.5  $\mu\text{m}$  のカートリッジフィルターを用いてろ過することで懸濁物を除去した後に, 逆浸透膜により有機物を濃縮した。さらに電気透析により脱塩を行った上で, XAD 樹脂分画によって疎水性(HPO)および両親媒性(TPI)に有機物溶液を分画した。分画した有機物溶液をそれぞれ凍結乾燥することで, HPO-NOM および TPI-NOM を粉末化した。作成した TPI-NOM および HPO-NOM の粉末を, それぞれ 166 g/L, 333 g/L の濃度で超純水に溶解することで, ゲル化の観察に用いる高濃度の NOM 溶液を用意した。

蛍光分光光度計(F-7100; 日立)に光ファイバーを接続し, SPF-EEM 測定時に適宜光ファイバー先端部を QCM センサーセルの試料添加部に対向する形で設置することで, QCM との同時測定を行った。このとき, 光ファイバー先端部を含め QCM センサーセルを暗幕で覆うことで, 自然光の影響を遮断した。

装置は, ホトマル電圧を 700 V, スキャンスピードを 30,000 nm/min, 励起光および蛍光のスリット幅を 5 nm, 励起波長間隔を 5 nm, 取得蛍光波長間隔を 1 nm に設定した。TPI-NOM と HPO-NOM の SPF-EEM 測定は別日に実施したため, 分光光度計由来の蛍光強度日差変動を

100 µg/L 硫酸キニーネ溶液を用いて標準化した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 固体試料の色が蛍光強度に及ぼす影響の検討

###### 着色による BSA 粉末の蛍光強度変化

BSA 粉末を各色相で低彩度に着色した結果、すべての色で蛍光強度が大幅に減少した(図-1)。彩度の違いによる蛍光強度の変化について、無着色の蛍光強度を 100%とすると、青色では低彩度で 26%、中彩度で 2.5%、高彩度で 0.96%と高彩度になるにつれて減少した。これは他の色相でも同様であった。色相および彩度の変化は吸光スペクトルの変化を意味しており、吸光スペクトルの変化によって吸光波長が蛍光波長と一致したことで、再吸収によるクエンチングが顕著になったと推測する。

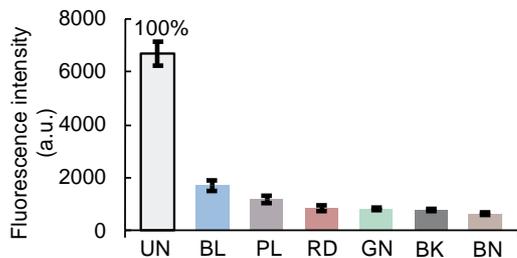


図-1 低彩度の BSA 粉末の蛍光強度(UN は無着色を示す)。

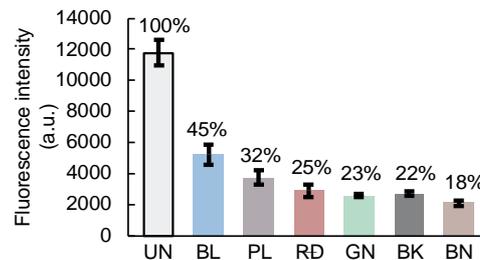


図-2 K-M 補正後の着色 BSA 粉末の蛍光強度。グラフ上の数。

###### 着色による蛍光強度変化の K-M 補正

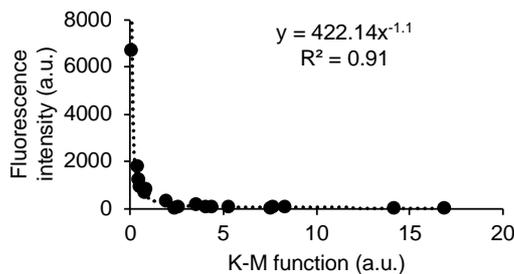


図-3 K-M 関数と蛍光強度の関係を示すグラフ。

着色 BSA 粉末の蛍光強度に K-M 補正を適用した結果、全ての試料で蛍光強度が増大したが、着色した BSA 粉末の蛍光強度はいずれも無着色のものより小さく、クエンチングを完全に補正するには至らなかった(図-2)。

K-M 補正は、再吸収による影響を対象としていることを鑑みると、動的クエンチング、静的クエンチング、1次内部フィルター効果といった再吸収以外の原因もクエンチングに

寄与していることが推測される。このうち、色に起因するクエンチング要因としては、励起光が試料に吸収にされることで蛍光分子に到達する光量が減少し発生する、1次内部フィルター効果(IFE)が挙げられる。液体試料の場合、励起光の吸光作用が高い条件ほど1次IFEが顕著になることが明らかになっている。1次IFEのクエンチングへの関与を確認するには、励起光の吸収の大きさにより、蛍光強度がどのように変化していくかを調査する必要がある。

###### 励起光の吸収が蛍光強度に及ぼす影響

励起光の吸収による蛍光強度への影響を調査するために全 BSA 粉末試料を対象に、励起光の吸収しやすさを示す K-M 関数(λ=280 nm)と、蛍光強度(Ex=280 nm, Em=330 nm)の関係を検討した。その結果、K-M 関数、すなわち励起光の吸収が大きくなると蛍光強度は著しく減少する傾向にあることが示された(図-3)。すなわち、励起光を吸収しやすい色の試料ほど蛍光強度が減少する傾向にあり、クエンチングの要因としては、1次IFEが発生したと推測される。

さらに、K-M 関数と蛍光強度の関係について曲線当てはめをすると、累乗近似の式で決定係

数が 0.91 と高い値を示し、K-M 関数の値から蛍光強度の減少を、数式によって予測可能であることが示唆された。SPF-EEM のスペクトル強度に基づく定量分析を行うには、励起光の吸収による影響を補正するために、K-M 関数の値から蛍光強度の減少を予測する数式の構築が求められる。

## (2) QCM-A と SPF-EEM による NOM ゲル化の観察

### TPI-NOM 溶液ゲル化の QCM-A と SPF-EEM 測定結果

TPI-NOM 溶液の自然乾燥によるゲル化を QCM-A により観察することに成功した(図-4 a)。溶液を滴下してから125分の間は、吸着物の固さを示す $G'$ は0付近にとどまっておき、液体の状態である安定していることを示した。さらに180分経過までは、 $G'$ および $G''$ の値がゆるやかに増加しており、粘性が徐々に増加したことがわかる。190分が経過すると、 $G'$ が急増し始め、230分の時点で $G''$ を上回り、TPI-NOM がゲル化したことが確認された。

SPF-EEM については、TPI-NOM 溶液滴下直後から180分経過までピーク位置に変化はなかった。一方で、230分が経過し、ゲル化が発生すると、SPF-EEM のピーク位置が長波長側に移動した(図4 b,c)。ゲル化が確認されるとともにピーク位置の移動が発生したことから、TPI-NOM のゲル化はピーク位置の移動を誘起することが示唆された。

### HPO-NOM 溶液ゲル化の QCM-A と SPF-EEM 測定結果

TPI-NOM と同様に、HPO-NOM 溶液の自然乾燥によるゲル化を観察した(図5 a)。滴下から100分までは、 $G'$ は0付近にとどまっていた。125分が経過すると  $G'$ および  $G''$ が急増し始め、150分が経過すると  $G'$ が  $G''$ を上回りゲル化が確認された。

同時に測定した SPF-EEM について、滴下直後から100分が経過した時点では、 $E_x=325-450$  nm、 $E_m=425-550$  nm 付近にブロードなピークが見られた(図-5 b)。一方で、150分が経過しゲル化が発生すると、短波長側の蛍光強度が減少し、ブロードなピークが長波長側に移動した(図-5 c)。HPO-NOM が示すブロードなピークは、ゲル化が発生すると短波長側の蛍光強度が減少し、長波長側に移動することが示された。ゲル化により長波長側にピークが移動する点では TPI-NOM と同様だが、HPO-NOM のゲル層は特徴的な、ブロードなピークを示すため TPI-NOM のゲル層と判別可能であると推測される。

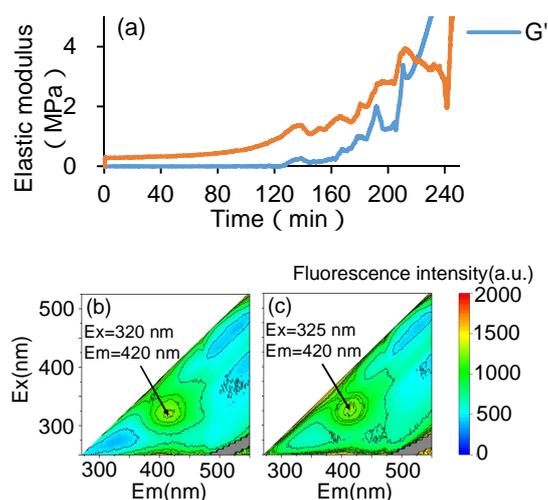


図-4 (a)TPI-NOM の弾性率経時変化。TPI-NOM の SPF-EEM (b)180 分、(c)230 分経過後

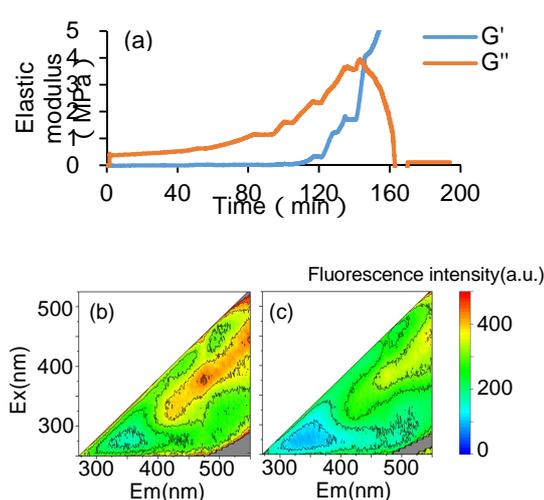


図-5 (a)HPO-NOM の弾性率経時変化。HPO-NOM の SPF-EEM (b)100 分、(c)135 分経過後

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ding Qing, Ochiai Kosuke, Yamamura Hiroshi	4. 巻 611
2. 論文標題 In situ and online monitoring of the chemical cleaning efficiency by solid-phase fluorescence excitation?emission matrix spectroscopy (SPF-EEM)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Membrane Science	6. 最初と最後の頁 118296 ~ 118296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.memsci.2020.118296	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamamura Hiroshi, Putri Eryanti Utami, Kawakami Takashi, Suzuki Akihiro, Ariesyady Herto Dwi, Ishii Takaaki	4. 巻 237
2. 論文標題 Dosage optimization of polyaluminum chloride by the application of convolutional neural network to the floc images captured in jar tests	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Separation and Purification Technology	6. 最初と最後の頁 116467 ~ 116467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.seppur.2019.116467	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山村寛	4. 巻 11・12
2. 論文標題 膜処理技術の最新動向	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 環境浄化技術	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山村 寛	4. 巻 43
2. 論文標題 コロナ禍による水循環への影響	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 421-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山村 寛	4. 巻 44
2. 論文標題 下水を利用して培養した微細藻類による漁業飼料生産技術の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 再生と利用	6. 最初と最後の頁 51-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山村 寛	4. 巻 43
2. 論文標題 下水を利用して培養した微細藻類による漁業飼料生産技術の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 121-123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山村 寛	4. 巻 44
2. 論文標題 膜とAIのスマートな関係 : 膜が夢見るグランドメニューへの登録 (特集 膜技術が変革する都市水システム)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 水環境学会誌	6. 最初と最後の頁 38-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakaya Yuki, Tomita Ayaka, Ochiai Kosuke, Yamamura Hiroshi	4. 巻 285
2. 論文標題 Quantification of organic fluorophores in absorbing media by solid-phase fluorescence excitation?emission matrix (SPF-EEM) spectroscopy of modeled mixtures containing bovine serum albumin (BSA) and colorants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy	6. 最初と最後の頁 121885 ~ 121885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.saa.2022.121885	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hara-Yamamura Hiroe, Inoue Koki, Matsumoto Tomoaki, Honda Ryo, Ninomiya Kazuaki, Yamamura Hiroshi	4. 巻 446
2. 論文標題 Rejection of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) by severely chlorine damaged RO membranes with different salt rejection ratios	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 137398 ~ 137398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cej.2022.137398	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamura Hiroshi, Matsumoto Takaki, Goto Keisuke, Ding Qing, Kuroiwa Miho, Harayama Shigeaki	4. 巻 17
2. 論文標題 Application of 1.0- $\mu$ m macroporous hollow fiber membrane for prevention of membrane fouling and enhancement of permeate flux in algae harvesting	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioresource Technology Reports	6. 最初と最後の頁 100895 ~ 100895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biiteb.2021.100895	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 富田彩花, 山村寛, 落合洗介, 中屋佑紀, 長尾誠也
2. 発表標題 固体試料の蛍光分析におけるクエンチング補正手法の開発
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 山村寛
2. 発表標題 人口減少社会に向けたスマートな上下水道インフラ
3. 学会等名 日本技術士会 (招待講演)
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山村 寛	4. 発行年 2020年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 320
3. 書名 水処理用分離膜の開発最前線	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	中屋 佑紀  (Nakaya Yuki)  (60868735)	北海道大学・工学研究院・助教   (10101)	
研究 分担者	丁 青  (Ding Qing)  (70837476)	中央大学・研究開発機構・機構助教   (32641)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------