

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：32641

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04941

研究課題名（和文）NOMの固体EEMデータベース構築とIn-situファウリング観察技術の開発

研究課題名（英文）In-situ monitoring of NOM fouling caused in porous membrane with the use of solid-state excitation emission matrix analysis

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） 18,800,000円

研究成果の概要（和文）：励起蛍光分光分析（EEM）は、有機物に励起光を照射した際に発する蛍光を検出することで、有機物の種類を判別する手法である。本研究では、EEMを膜ファウリング物質の分析に適用することを目的として、（1）様々な水域から回収した試料に対し、固体EEM分析のピーク位置についてのデータベースを構築すると共に、（2）固体EEMを用いて膜ファウリングの連続モニタリング試験を実施した。同じ物質であるにもかかわらず、液体試料と固体試料でピーク位置が異なることが明らかになった。固体EEMにより、不可逆的な膜ファウリングの進行に関係する有機物特性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、簡易かつ高感度に膜ファウリング（目詰まり）物質が定性できるようになった。これにより、これまで試行錯誤的に実施されてきた膜ろ過運転の最適化や薬品洗浄条件の選定などを実施できるようになるため、大幅に膜ろ過にかかる導入コストの低減に繋がるものと期待される。

また、本研究により構築したNOM（天然有機物）の固体EEMスペクトルデータベースにより、NOMの特性を簡単かつ非破壊で分析できるようになる。それにより、土壌の性質が簡単に分析できるようになる。

研究成果の概要（英文）：Excitation emission matrix (EEM) is a method for discriminating the type of organic matter by detecting fluorescences emitted when an organic substance is irradiated with excitation light.

In this study, with the aim of applying EEM to the analysis of membrane foulant, (1) a database for peak positions of solid EEM analysis was constructed for samples recovered from various waters, and (2) a continuous monitoring test of membrane fouling was carried out using solid EEM. Despite being the same material, it was revealed that the peak positions were different in the liquid and solid samples.

Solid-state EEM revealed organic matter properties related to the progress of irreversible membrane fouling.

研究分野：用排水処理

キーワード：膜ろ過 励起蛍光分光分析 固体測定 In-situ分析 膜ファウリング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 膜を用いた浄水処理の背景

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当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“中身”については、より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核磁気共鳴装置(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 で特定する手法が存在しないのが現状である(図-1)。以上の背景を鑑みて、本研究では膜ファウリングの構成成分をその場で(In-situ)かつ連続的に(On-line)分析する手法を世界で初めて開発する。

### (2) 3次元励起蛍光分光法による固体表面解析

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の特性と存在割合を分析出来る。これまでは、膜供給水や閉塞膜から化学薬品により抽出した成分について、液中に含まれる有機物を解明するために用いられてきたが、我々は膜閉塞物質の特性を解析する中で、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)を発想するに至る。SPF-EEM 装置の概観を次頁の図-2 に示す。様々な観測条件で膜表面のファウリング物質を SPF-EEM 測定した結果、従来の分光蛍光光度計の光電子増幅管(ホトマル電圧 400V)を2倍以上の感度を持つもの(ホトマル電圧 950V)に改造することで、膜面に蓄積した微量な有機物の3次元励起蛍光スペクトルを得ることに成功し、世界で初めて In-situ で膜ファウリング成分特性を解析しうる手法の開発に至る。

## 2. 研究の目的

本研究では、SPF-EEM を NOM 特性の In-situ 観察ツールとして完成させ、不可逆的膜ファウリングのモニタリングツールとして確立するまでを研究の範囲とする。具体的には以下の順で研究をすすめる。

- (課題1) 固体 NOM 試料について、SPF-EEM スペクトルのデータベースを構築する
- (課題2) SPF-EEM により膜ファウリング物質を連続的にモニタリングする

## 3. 研究の方法

### (課題1) NOM の回収・分析

2017年7月23日、東京都葛飾区金町浄水場第2取水塔付近にて江戸川表流水を800L採水し、実験室に持ち帰り、ただちに高速大容量冷却遠心機(KUBOTA、model 7000)に連続ロータ遠心機にて懸濁成分を除去した。連続遠心分離後の試料は、孔径0.5 $\mu\text{m}$ のカートリッジフィルターを用いることで、試料中に残存する懸濁成分を除去した。懸濁成分を除去後、RO膜により試料中の有機物を20倍(65.5mg-C/L)まで濃縮した。電気透析装置を用いて濃縮試料を脱塩した試料を、XAD樹脂により疎水性(HPO)、両親媒性(TPI)、親水性(HPI)の各成分に分画した。XADにより分画したそれぞれの有機物画分はHClおよびNaOHを用いて中和すると共に、試料の一部は有機物濃度を約10mg-C/Lに調製して孔径0.45 $\mu\text{m}$ の親水性PTFE膜でろ過した後、下記に示すような各種分析に供した。分画試料および懸濁性成分を除去したサンプルについては、-80 $^{\circ}\text{C}$ に冷凍した後、凍結乾燥した後メノウ鉢内ですりつぶして粉末化した。作成した粉末試料は、デシケーター内で保管した。

液体の3次元励起蛍光スペクトル(FPF-EEM)は、キュベットホルダーを装着した分光蛍光光度計(F7100、日立ハイテクサイエンス製)を用いて測定した。励起/蛍光のスリット幅10nm、スキャンスピード12,000nm/min、ホトマル電圧400Vの条件で、励起波長220nm~550nm、蛍光波長220nm~550nmの範囲におけるスペクトルを測定した。

固体の3次元励起蛍光スペクトル(SPF-EEM)は、上記の蛍光分光光度計に平板セルを装着したものをを用いた。平板セルは、励起波長に対し45度に傾斜しており、励起反射光及び発光蛍光が入射光から90度の方向に放出し、検出器に入射するように設計されている。光源はキセノンランプ(ホトマル電圧400V)を使用した。測定前に1cmセルに注入した硫酸キニーネを測定し、測定毎のランプ強度の変化を補正した。測定にあたっては、スキャンスピード12,000nm/minで、励起波長220-550nm、蛍光波長220-550nmの範囲において5nm波長毎にスキャンした。励起・蛍光バンド幅を2.5nm及び10.0nmに調整して測定を行った。

### (課題2) ファウリング物質の連続モニタリング試験

採水した下水二次処理水を用いて、孔径0.1 $\mu\text{m}$ のPVDF製MF中空糸膜で13時間の定流量吸引ろ過試験を行った。フラックスは1m/dayに設定し、30分ろ過毎に2分間の逆圧洗浄を実施した。各ろ過サイクル中、運転開始直後、15分経過後、ろ過終了時に、それぞれ直径

6mm の光ファイバーを接続した蛍光分光光度計を用いて、膜面に蓄積した成分の SPF-EEM スペクトルを得た。得られたスペクトルは多変量解析 (PARAFAC) により 3 成分に分離し、NOM 画分の固体蛍光特性と比較した。

#### 4. 研究成果

##### (課題 1) SPF-EEM のデータベース作成

**LPF-EEM と SPF-EEM スペクトルの差異**：Water E の原水及び分画した HPI、HPO 及び TPI 画分の LPF-EEM 及び SPF-EEM スペクトルを図 1 に示す。図 1 より、同じ有機物にも関わらず、SPF-EEM は LPF-EEM と全く異なるスペクトル形状およびピーク位置を有することが分かった。HPO 画分の SPF-EEM では、ほとんど明確なピークが観察できなかった (図 1 (g))。この結果は、HPO 画分中含まれるフミン酸は液体中では強い蛍光特性を示す一方で、粉末になると蛍光特性が消滅することを明確に示すものである。このように、凝集によって蛍光特性を失う有機物は ACQ (aggregation caused quenching) と呼ばれている。特に水溶液中で  $\pi$ - $\pi$  結合を有するような有機物において ACQ が発生しやすいことが明らかになっている。HPO 画分にはベンゼン環を有する有機物を多く含むことから、 $\pi$ - $\pi$  結合を多数有していたと考えられる。凍結乾燥により粉末になることで分子運動の自由度がなくなり、蛍光特性を失ったものと推測する。

また、HPI 画分と TPI 画分の SPF-EEM を LPF-EEM と比較すると、フミン酸に起因するピークが消滅した一方、高波長側にピークが発生したことが分かった (図 1 (b) と (f)、(d) と (h))。AIE (aggregation induced emission) 物質が HPI 画分と TPI 画分中に存在していたものと推測される。AIE は凝集状態のみ蛍光特性を有する物質を指し、AIE 特性を有する化学物質はこれまでも多数報告されている<sup>2)</sup>が、NOM での確認は本研究が初となる。AIE 特性を持つ分子は、励起光によって与えられたエネルギーが水溶液中の分子の回転に使われるため、蛍光を発することが出来ない一方で、凝集した場合、分子の回転が抑制され、励起光によって分子が励起し、蛍光を発するようになる。

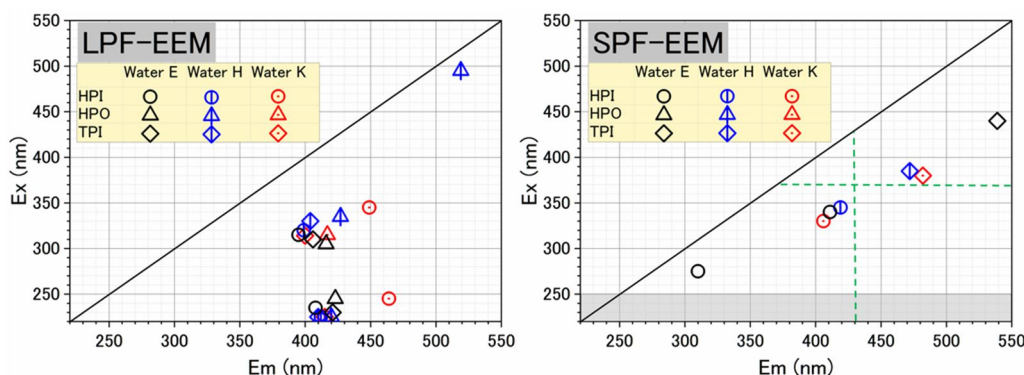


図 1 Water E 中の各 NOM 画分の LPF-EEM と SPF-EEM スペクトル

**NOM 画分の SPF-EEM 特性**：図 2 に、3 種類の原水から分画した HPI、HPO および TPI 画分の LPF-EEM および SPF-EEM のピーク位置 (Em/Ex) を示す。それぞれ NOM 画分の LPF-EEM ピークが重なっている一方、原水に関わらず各種類の NOM 画分の SPF-EEM ピークが分かれているため、SPF-EEM ピーク位置から NOM 成分を推定できることが分かった。図 2 に示すように、本研究では、HPO 画分の SPF-EEM ピークが検出されないこと、HPI 画分の SPF-EEM ピークは  $Em < 430 \text{ nm}$  &  $Ex < 370 \text{ nm}$  の範囲にあること、TPI 画分の SPF-EEM ピークは  $Em > 430 \text{ nm}$  &  $Ex > 370 \text{ nm}$  の範囲にあることは初めて明らかにした。

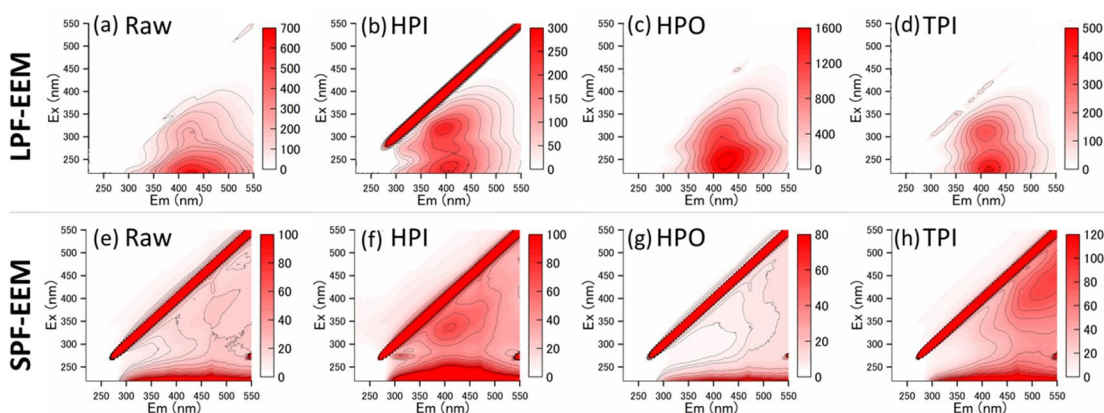


図 2 3 種類原水中の各 NOM 画分の LPF-EEM と SPF-EEM スペクトルのピークの位置

液体から固体になると、HPO 画分は ACQ が発生するため蛍光が消滅した一方、HPI と TPI 画分は ACQ と AIE 両方が発生し、EEM ピークが移動した。また、3 種類の原水を検証した結果、

HPI、HPO、TPI 画分の SPF-EEM 特性は類似していたため、NOM の SPF-EEM のデータベースとして利用できるものと考えられる。

### (課題 2) 膜ファウリング物質の連続的モニタリング

**NOM 画分の固体蛍光特性** HPI、TPI 及び HPO 画分の LPF-EEM 及び SPF-EEM スペクトルのピーク位置 ( $E_m/E_x$ ) を図 3 に示す。同じ有機物画分にも関わらず、固体と液体でピーク位置が全く異なっていた。図 3 中、HPO 画分は、LPF-EEM 中にフミン酸領域にピークが観察されたが、SPF-EEM ではフミン酸領域には明確なピークが見当たらなかった。この結果は、HPO 画分中に含まれるフミン酸は、液体から粉末に変化することでクエンチング作用が発生することを明示するものである。TPI 画分は、液体から粉末に変化した際に、フミン質に起因するピーク ( $E_m/E_x=413/225$ ) の消失および長波長側へピークシフト ( $404/330 \rightarrow 472/385$ ) が観察された。HPI では画分は、粉末化によって消失するピークはなかったものの、長波長側へのピークシフト ( $399/320 \rightarrow 419/345$ ) が観察された。

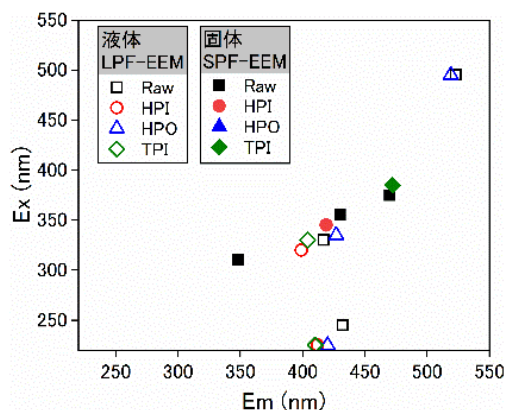


図 3: 各 NOM 画分の LPF-EEM 及び SPF-EEM スペクトルのピークの位置

**SPF-EEM による膜ファウリング物質の In-situ・連続観察** 膜表面を対象とした SPF-EEM 測定では、ろ過継続時間にかかわらず、図 4 で示す 3 箇所にピークが現れた (図 4)。これらのピークは、ろ過継続に伴って蛍光強度が徐々に増加したことから、膜ファウリングに寄与していたことが推測できる。図 5 に 3 つのピークの蛍光強度と膜間差圧 (TMP) の経時変化を比較した結果を示す。ろ過開始後 4h までピーク 2 とピーク 3 の強度が急激に増加し、4h 以降はピーク強度の増加が緩やかになった。おそらく、運転開始後 4h でファウリングメカニズムが変化したものと推測する。30 分毎に実施した逆洗浄によって、ピーク 1 のみ強度が減少した。この結果は、ピーク 1 は物理洗浄で解消可能な可逆的膜ファウリングに寄与していた一方で、ピーク 2 およびピーク 3 は不可逆的膜ファウリングに寄与していたことを示すものである。

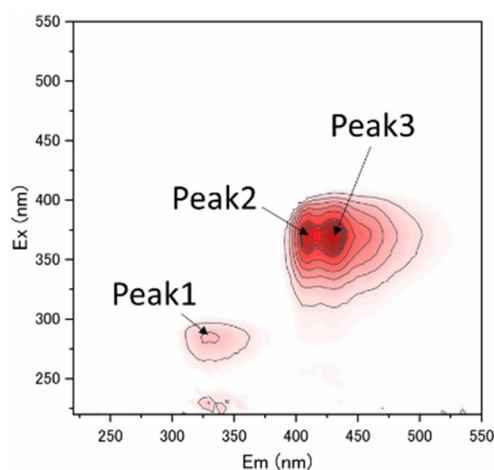


図 4 膜ろ過際に膜表面の SPF-EEM スペクトルのピークの位置

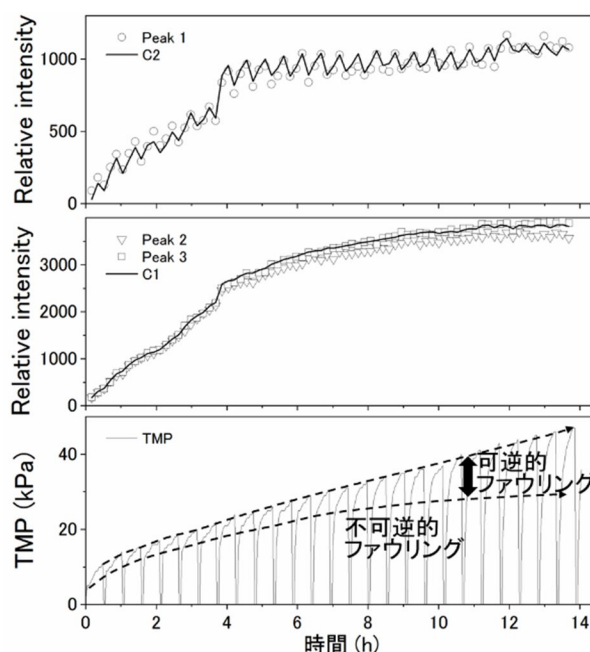


図 5 膜ろ過 TMP 及び観察した膜表面の 3 つのピークの強度及び PARAFAC 解析した C1 と C2 の  $F_{max}$  値の経時変化



さらに PARAFAC 解析により、膜表面の SPF-EEM スペクトルを分離した結果、C1～C3 の 3 成分に分離された (図 6)。C1 はピーク 2 とピーク 3 に該当し、タンパク質結晶に起因するものであると推測する。C2 はピーク 1 に該当し、生物由来のタンパク質に起因するものであると推測する。C1～C3 を各 NOM 画分の蛍光特性 (図 3) と比較したところ、C1 は固体 HPI 画分のピーク位置と一致し、C2 は液体 HPI、TPI と一致した。これは、不可逆的膜ファウリングは、HPI 画分が膜表面で固化することで進行することを示すものである。液体状のタンパク質は、膜表面に蓄積するものの、物理洗浄によって効果的に剥離することが明らかになった。これまでに、膜表面で親水性高分子成分がゲル化することで膜ファウリング進行が加速する現象が広く知られている。SPF-EEM により、HPI 画分がゲル化する様子を高感度に検出できる可能性が示された。

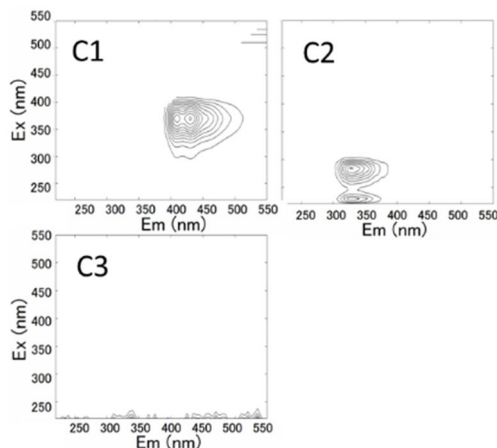


図 6 PARAFAC 解析によって分離した成分

**薬品洗浄効果の SPF-EEM 観察** NaOH、HCl および NaClO の 3 種類を異なる順番で用いた際の薬品洗浄の効果を比較する。洗浄パターン 1 として、NaOH、HCl および NaClO の順で薬品浸漬を行なった洗浄後の SPF-EEM 測定結果を図 7 に示す。図 7 では、依然としてピーク 2 が検出されており、薬品洗浄後も膜上に固体タンパク質が残存していることを示している。また、透水回復率は 88% であり、残りの 12% に、SPF-EEM で検出された固体タンパク質が寄与していると考えられる。次に、洗浄パターン 2 として NaClO、HCl および NaOH の順で行なった薬品洗浄の後の膜について SPF-EEM 測定結果を図 8 に示す。図 8 より、パターン 2 では、洗浄後にピーク 2 は検出されておらず、固体タンパク質が除去されたことが分かる。また、透水回復率は 97% であった。SPF-EEM の測定結果および透水回復率から、パターン 2 の薬品洗浄はパターン 1 よりも今回発生した膜ファウリングの解消に効果的であったことが示された。ただし、SPF-EEM によって検出可能なファウリング物質は蛍光特性を持つもののみである。今回、パターン 2 の薬品洗浄により回復できなかった 3% の透水性には、多糖類や炭水化物、無機物等の蛍光特性を持たないファウリング物質が寄与していると考えられる。

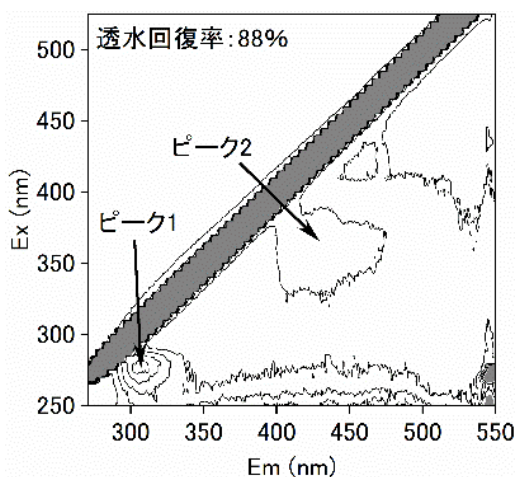


図 7 パターン 1 の洗浄後の膜の SPF-EEM 測定結果

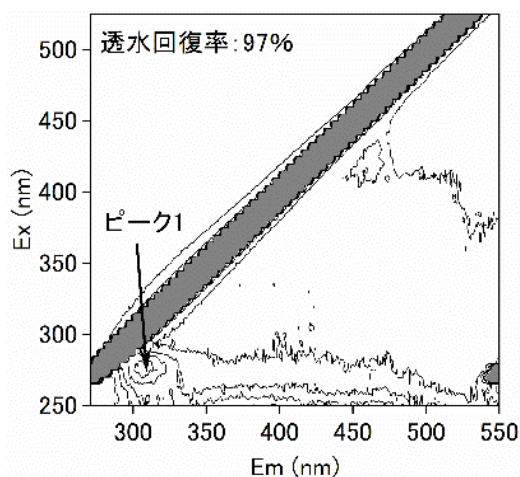


図 8 パターン 2 の洗浄後の膜の SPF-EEM 測定結果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamamura Hiroshi, Ding Qing, Watanabe Yoshimasa	4. 巻 164
2. 論文標題 Solid-phase fluorescence excitation emission matrix for in-situ monitoring of membrane fouling during microfiltration using a polyvinylidene fluoride hollow fiber membrane	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Water Research	6. 最初と最後の頁 114928 ~ 114928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.watres.2019.114928	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 Hafuka Akira, Nagasato Takahiro, Yamamura Hiroshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Application of Graphene Oxide for Adsorption Removal of Geosmin and 2-Methylisoborneol in the Presence of Natural Organic Matter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 1907 ~ 1907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph16111907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hafuka Akira, Mashiko Riho, Odashima Ryuto, Yamamura Hiroshi, Satoh Hisashi, Watanabe Yoshimasa	4. 巻 272
2. 論文標題 Digestion performance and contributions of organic and inorganic fouling in an anaerobic membrane bioreactor treating waste activated sludge	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioresource Technology	6. 最初と最後の頁 63 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biortech.2018.09.147	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 Ding Qing, Yamamura Hiroshi, Yonekawa Hitoshi, Aoki Nobuhiro, Murata Naoki, Hafuka Akira, Watanabe Yoshimasa	4. 巻 133
2. 論文標題 Differences in behaviour of three biopolymer constituents in coagulation with polyaluminium chloride: Implications for the optimisation of a coagulation?membrane filtration process	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Water Research	6. 最初と最後の頁 255 ~ 263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.034">https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.034</a>	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9件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 丁青、山村寛
2. 発表標題 水中天然有機物の固体・液体3次元励起蛍光スペクトルの差異
3. 学会等名 第94回 水道研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 落合洗介、山村寛
2. 発表標題 In-situ固体三次元励起蛍光分光法を利用した薬品洗浄による膜ファウリング解消効果の可視化
3. 学会等名 第94回 水道研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuta Yamamoto, Hiroshi Yamamura
2. 発表標題 Optimization of Inline-EEM analysis for validated PARAFAC decomposition of NOM
3. 学会等名 IWA specialist conference on Natural Organic Matter in Water 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ding Qing, Hiroshi Yamamura
2. 発表標題 Comparison Of Three-dimensional Fluorescence Excitation-emission Matrix Spectroscopy Determined For Aquatic NOMs In Solid-phase And Liquid-phase
3. 学会等名 IWA specialist conference on Natural Organic Matter in Water 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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 中央大学技術士会 講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Ochiai, Q. Ding, H. Yamamura, Y.
2. 発表標題 Characterization and chemical cleaning of irreversible membrane fouling by in-situ SPF-EEM
3. 学会等名 9th International Water Association (IWA) Membrane Technology Conference & Exhibition for Water and Wastewater Treatment and Reuse (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丁青, 山村寛, 渡辺義公
2. 発表標題 In situ固体3次元励起蛍光スペクトル分析法による膜ファウリング原因物質・メカニズムの推定
3. 学会等名 全国会議(水道研究発表会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 潘鵬, 山村寛, 貝谷吉英
2. 発表標題 固体3D EEMによる中空糸膜に蓄積した膜ファウリング物質の非破壊連続観察
3. 学会等名 水道研究発表会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 山村寛, PAN Peng, 渡辺義公
2. 発表標題 固体3次元励起スペクトル分析による非破壊膜ファウリング解析
3. 学会等名 日本水環境学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----