

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：82405

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K04419

研究課題名（和文）短波長領域に絞った蛍光分析で検出されるピーク群を利用した汚濁起源推定手法の開発

研究課題名（英文）Development of tracking method for water pollution sources using fluorescence analysis focused on shorter wavelength region

研究代表者

池田 和弘（Ikeda, Kazuhiro）

埼玉県環境科学国際センター・水環境担当・専門研究員

研究者番号：60422987

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：三次元励起蛍光スペクトル法は、迅速かつ簡便な水質分析手法であり、河川親水空間や水道水源への生活排水の流入や水質悪化を検知する新しい水質モニタリングへの適用が期待されている。本研究は、短波長領域に検出される複数の蛍光成分を利用し、河川に流入する汚濁の起源を推定する手法の構築を目指すものである。本研究により、自然負荷、下水処理水などの排水の負荷、単独処理浄化槽排水などの負荷のよい指標となる蛍光成分が決定され、それらを利用した起源推定手法の有効性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、短波長領域に絞った高分解能の蛍光分析により、既存の報告でチロシン様物質ピークが検出されていた領域に新たに3つの蛍光成分を分離検出することができた。これらを含むいくつかの蛍光成分を各負荷源の指標とすることで、河川に流入する負荷のうち、下水処理水など処理済みの排水による負荷と単独処理浄化槽排水など未処理の生活雑排水を含む負荷を、蛍光分析により分離検出することが可能となった。この成果により、水源や河川親水空間への悪影響の程度が異なるこれらの負荷の流入を分離して検知できるようになり、リスクの監視およびリスク低減のための流域管理をより迅速、効果的に実施できるようになると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Fluorescence excitation-emission matrix spectroscopy has been expected to be used for detecting the inputs of organic contaminations into the river rapidly and tracking their sources effectively. The objective of this study is developing the source tracking method using fluorescence indicators detected in the short-wavelength region with fluorescence analysis coupled with parallel factor analysis. In this research, we found effective fluorescence components as indicators sufficiently discriminating the sources, such as natural load, treated wastewater, untreated domestic wastewater and algal growth. We also successfully demonstrated the usefulness of the source tracking method.

研究分野：水質化学

キーワード：蛍光分析 起源推定 EEM PARAFAC 水質モニタリング 有機汚濁 藻類 短波長

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

三次元励起蛍光スペクトル法は、迅速かつ簡便な水質分析手法であり、重要有機物に由来するいくつかの蛍光成分の定量的評価を可能とする。検出される成分は起源に深く関連するため、河川水の分析を行うことで、汚濁の流入検知や汚濁原因の判別が期待できる。この手法は採水からデータ解析までの自動化も可能であるため、河川親水空間や水道水源への生活排水の流入や水質悪化を検知する新しい水質モニタリングへの適用が期待できる。

既存の報告では生活排水を中心とする汚濁の流入監視においては、短波長領域に検出されるいわゆるトリプトファン様ピークの利用が最も期待できるとされており、実用化もされつつある。しかしながら、数年にわたり取得した 2000 以上の試料の蛍光データと水質データを比較したところ、生活排水の流入が少なく BOD の低い地点でもトリプトファン様ピークが極めて強く検出される水域があることが確認された。

また、トリプトファン様ピークは、未処理生活雑排水と下水処理水の両方に含まれるため、このピークの監視だけでは 2 つの負荷を区別することはできない。両者の汚濁特性（有機汚濁性、透明度、衛生学的リスク、化学物質によるリスク）は大きく異なるため、親水空間の快適さや飲料水の安全を確保するためには、各々の河川への混入率を分けて把握する必要がある。さらに、藻類の増殖によってもトリプトファン様ピークは増加するため、トリプトファン様ピークの検出から内部生産の影響による負荷が生活排水による負荷かを判断することもできない。以上より、トリプトファン様ピークのみによる水質監視は、不十分であると言わざるを得ない。

一方、短波長領域に検出される蛍光成分を詳細に解析すると、未処理生活雑排水と下水処理水ではピーク形状が異なる傾向にあることが分かり、より高分解能で蛍光分析を行い、ピークを分離できれば、それぞれの指標となる蛍光成分を見出すことができると考えられた。また、短波長領域に絞った高分解能の蛍光分析と PARAFAC 解析を行った結果、従来の研究よりも多くの蛍光成分を分離・定量することができることを確認した。そこで本研究では、短波長領域に検出される蛍光成分のデータを負荷源ごとに取得し、環境中での挙動を把握することで、負荷の指標となる蛍光成分を決定し、蛍光分析により汚濁を検知し起源を推定する手法を開発することを目指すこととした。

2. 研究の目的

本研究の最終目標は、蛍光分析により、河川への汚濁の流入を検知し、その起源を推定する手法を開発することである。特に、下水処理水や合併処理浄化槽排水のような処理済みの排水（以下、処理系排水）と単独処理浄化槽排水のような未処理の生活雑排水を含む排水（以下、未処理系排水）による負荷を分離検出することを主目的とする。そこで以下の目標を設定した。

様々な環境水や排水を対象に、短波長領域に絞った高分解能の蛍光分析を実施する。蛍光データを PARAFAC 解析することで、既存の研究よりも多くの蛍光成分を分離・定量する。

負荷源ごとに蛍光成分データを整理し、負荷源の指標となる成分を決定する。

各蛍光成分の特性、起源を統計解析や水質との比較などにより把握する。

各蛍光成分の実環境中での挙動、残存性を把握する。

負荷源の指標となる蛍光成分を利用し、河川への各負荷の混入率を推測する手法を構築する。

3. 研究の方法

(1) 試料：蛍光データは、河川、水路、下水処理場、藻類培養液などの試料をろ過のみの前処理で分析することで取得した。河川水については、埼玉県内の常時監視地点 38 地点で毎月採水した試料を含む 1988 試料を分析した。また、合併処理浄化槽の多い地域の水路 3 か所、単独処理浄化槽の多い地域の水路 5 か所、下水処理場 16 か所の試料も分析した。多くの地点で複数回の採水を行った。研究期間内で取得した蛍光データは合計で 2572 個であった。

(2) 蛍光分析：蛍光データは、蛍光分光光度計（FP8500, JASCO）を使用して取得した。測定波長範囲は短波長領域に絞り、励起波長 200-350 nm、蛍光波長 280-400 nm とした。波長間隔は励起側で 2 nm、蛍光側で 1 nm とした。スペクトル補正、内部遮蔽効果の補正およびブランク補正を実施し、得た蛍光データについて Murphy¹⁾らの方法に従って PARAFAC 解析を行い、蛍光成分の分離定量を行った。なお、短波長領域では、共存する硝酸や塩化物イオンなどの影響で吸光度が極めて高いことがあり内部遮蔽効果の補正が困難なことがある。また、感度自体が低いため、信頼性の高いデータを取るには十分な検討が必要であった。本研究では、励起波長 220nm 以上のデータのみ解析に使用すること、および 220nm の吸光度が 0.7 以下となるように試料を希釈してから蛍光分析することでこれに対応した。

(3) 藻類培養実験：藻類から溶出される蛍光成分の特徴を把握するため、実河川水を三角フラスコに加え、12 時間の明暗、光合成有効光量子束密度 1000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の条件で振盪撹拌することで藻類を増殖させた。試料の POC を適宜モニタリングすることで対数増殖期の終了時まで培

養した。採取したろ過試料を蛍光分析に供することで、溶出される蛍光成分に関する情報を得た。

(4) 蛍光成分の特性解析：河川における蛍光成分の分布特性を把握するために、主成分分析や相関解析など統計解析を実施した(エクセル統計, BellCurve)。蛍光成分の物理化学的性質を評価するために、攪拌型膜分画装置(Merck Millipore)による分子量分画および疎水性樹脂(Mega Bond Elut Plexa 500mg, Agilent Technologies)への吸着実験を行った。蛍光成分の疎水性は、750mL 通水した時の溶出水中の蛍光強度と原水の蛍光強度の比から算出した。

4. 研究成果

(1) 短波長領域において分離定量された蛍光成分

PARAFAC 解析の結果、短波長領域には Comp1~6 の 6 個の蛍光成分(図1)を分離検出することができた。各成分のピーク波長(nm)を励起波長/蛍光波長の形で示すと、Comp1 : <220 (305)/>400、Comp2 : 224 (280)/325、Comp3 : 230 (290)/345、Comp4 : <220 (276)/295、Comp5 : 242 (298)/360、Comp6 : 246/295であった。文献²⁾との比較から、Comp1 は腐植物質、Comp3 はトリプトファン様物質、Comp5 は微生物起源とされるピーク N に対応すると考えられた。一方、Comp2、Comp4 および Comp6 は、これまでチロシン様物質という蛍光成分が検出される領域近くに存在しており、本研究の高分解能分析により新たに分離検出された蛍光成分と考えられた。

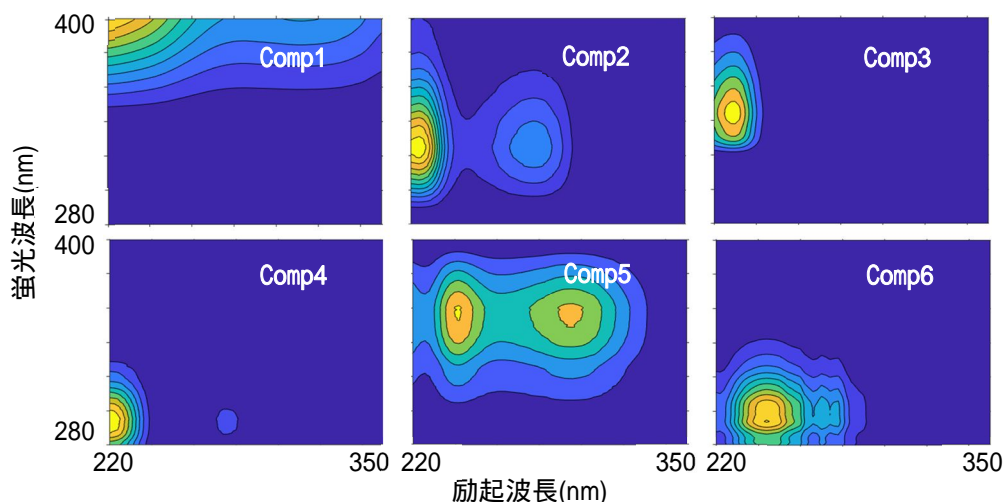


図1 分離定量された蛍光成分

(2) 負荷源ごとの蛍光成分の特徴

負荷源ごとに平均してまとめた各蛍光成分強度の割合を図2に示す。なお、清澄河川のデータについては、年間平均 BOD が 0.7mg/L を下回る河川のデータから算出した。比較すると、下水道では Comp2 が特に多く、単独処理浄化槽の多い水路水では Comp2 と Comp4 が多かった。一方、下水処理水と合併処理浄化槽の多い水路水のデータは極めて類似しており、下水道や単独処理浄化槽の多い水路水と比べて Comp2 が減り、Comp1 と Comp3 と Comp5 が増えることが分かった。一方、清澄河川では Comp1 が特に多かった。総合的に考えると、未処理系排水の指標としては Comp2 と Comp4、処理系排水の指標としては Comp3、自然負荷の指標としては Comp1 が河川への負荷流入を検知する良い指標となることが示唆された。

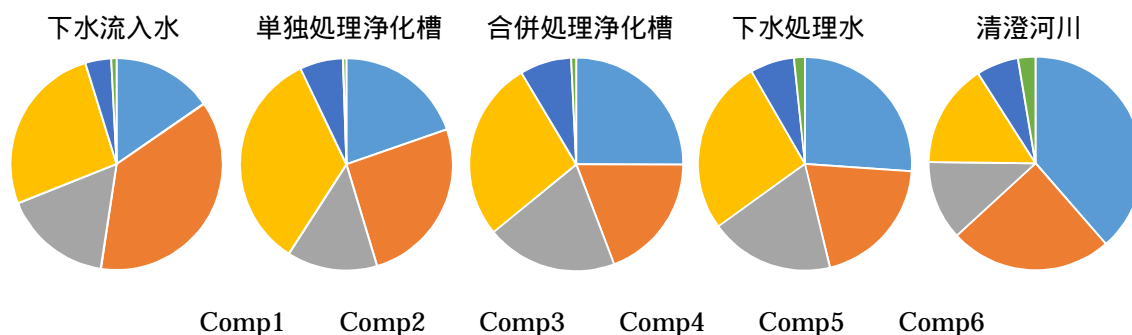


図2 負荷源ごとの蛍光成分の比率

(3) 河川の蛍光成分の分布

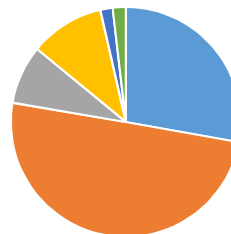
河川水の蛍光データを主成分分析したところ、Comp3 は第 2 主成分に対し、Comp2 や Comp4 と反対の象限に位置していた。また、Comp2 と Comp4 の間の相関係数は 0.83 であったに対し、Comp3 と Comp2 の間は 0.51、Comp3 と Comp4 の間は 0.47 であった。すなわち、Comp2 と Comp4 は河川において、同じように分布しており、Comp3 は異なっていることが分かった。これは、河川によって、処理系排水と未処理系排水の混入の比率が異なること、および処理系排水に Comp3、未処理系排水に Comp2 や Comp4 が多く含まれるという先の結果を反映したものと考えられた。また BOD と最も相関の高い成分は Comp2 (R=0.55) であり、次いで Comp4 (R=0.42) であった。これも、河川の BOD に主に寄与しているのが、未処理系排水であることを反映した結果と考えられた。

(4) 蛍光成分の物理化学的特徴

河川水 3 地点を対象に pH2、7、10 における疎水性樹脂への吸着性を測定し、各蛍光成分の疎水性を評価した。いずれの成分も pH2 で最も疎水性が強かった。成分間で比較すると、疎水性の強い順に、Comp3 > Comp4 > Comp5 > Comp2 > Comp1 となり、腐植物質由来の蛍光成分 Comp1 が最も弱い結果となった。なお、疎水性の強い Comp4 のピーク波長は、LAS のものに類似している。そこで、河川中の LAS 濃度から LAS 由来の蛍光強度を算出し、Comp4 の蛍光強度と比較したところ、LAS は Comp4 の蛍光の 18%を占めるにすぎず、Comp4 が LAS 由来とまでは言えないことが分かった。分子量特性については、平均分子量をみると大きい順に、Comp1 = Comp4 > Comp2 > Comp3 となった。

(5) 藻類から溶出する蛍光成分の特徴

異なる採取地点および月を含む 24 試料を室内培養した結果、クロロフィル a は平均で 330 μ/L 増加した。その間に増加した各蛍光成分の比率(平均値)を図 3 に示す。藻類由来の蛍光成分は Comp2 が多く、次いで Comp1 が多かった。未処理系排水が Comp2 と共に Comp4 も多いことを考慮すると、河川で Comp2 の蛍光強度が極まって高い場合は内部生産由来の汚濁、Comp4 も同時に高い場合は未処理系の汚濁と判断できることが示唆された。一方で、平均クロロフィル a 濃度が 27.8 μg/L の実河川における長期調査では、河川水中の実測のクロロフィル a と最も相関の高い成分は Comp3 (R=0.75) であった。藻類の種類や増殖の時期などにより溶出する蛍光成分が異なることが示唆され、内部生産負荷の指標を決定するにはさらなる調査が必要であると考えられた。



Comp1 Comp2 Comp3
Comp4 Comp5 Comp6

図 3 藻類由来の蛍光成分の比率

(6) 蛍光成分の残存性

硝化脱窒型嫌気好気活性汚泥法の下水処理場の各工程における蛍光成分の消長を図 4 に示す。Comp1 や Comp5 は、初沈、ばっ気槽、塩素消毒でほとんど強度に変化がなかった。一方、Comp2、Comp3、Comp4 については減少が確認された。特にばっ気槽において減少がみられ、Comp3 は 30%、Comp2 と Comp4 はそれぞれ 53%および 60%程度減少していた。Comp2 と Comp4 は水環境中でも比較的分解されやすい可能性が示唆された。一方、下水処理水以外の主要な流入のない河川において、放流水中の蛍光成分の流下過程での消長を晴天時調査した結果、蛍光成分の半減期は順に、Comp1(-) > Comp3(30h) > Comp2(20h) > Comp4(13h)と算出された。

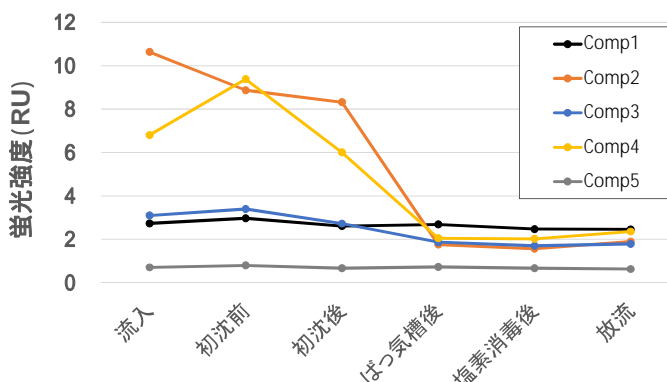


図 4 下水処理場における各蛍光成分の消長

(7) 河川への各負荷の混入量の推測

非負値行列因子分解により河川各地点の蛍光成分データを解析したところ、因子数を3とした時、第1因子はC_{opm1}、第2因子はC_{opm2}とC_{opm4}、第3因子はC_{opm3}の比率が高く、それぞれ、自然負荷、未処理系排水、処理系排水に対応するものとなった(表1)。因子負荷より各地点の負荷混入率を推定し、行政データ³⁾を利用し算出した水量ベースでの各負荷の混入率(図5)と比較することで、負荷混入率推定手法の有効性を評価した。非負値行列因子分解を用いた負荷混入率推定手法で、自然負荷の多い上位5地点は、行政データから算出した結果でも自流が97%以上占める地点であった。また、未処理系排水が最も多い地点29(図5中)および処理系排水が多い地点30(図5中)は、それぞれ行政データから算出した結果でも最も多い地点であった。以上より、蛍光成分を利用した負荷源推定手法の有効性を一定程度示すことができた。

表1 非負値行列因子分解による各因子中の蛍光成分の割合

	Comp1	Comp 2	Comp 3	Comp 4	Comp 5
第1因子	0.61	0.30	0.00	0.00	0.09
第2因子	0.02	0.28	0.00	0.68	0.02
第3因子	0.11	0.00	0.83	0.00	0.07

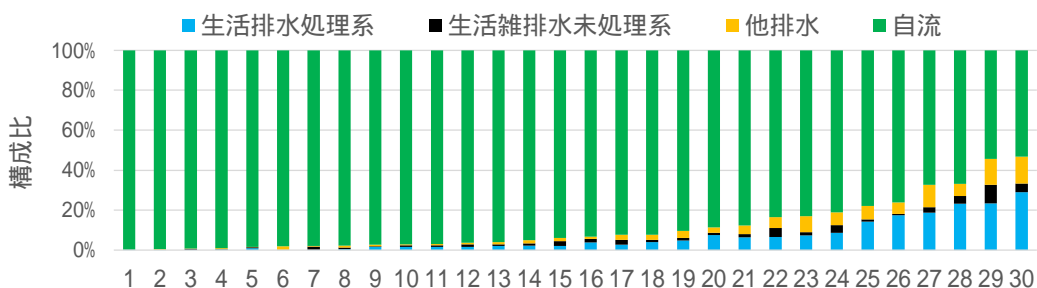


図5 行政データを利用し算出した河川各地点における各負荷の混入率

一方、C₃とC₄の蛍光強度を用いてプロット図(図6)を作成したところ、ある地点Aのみ特異な位置にプロットが集中した。詳細な調査の結果、この河川に流入する工場Xの排水の蛍光成分も同じ特徴を持つことが分かった。このことから、蛍光成分を使うことで、ある種の工場排水の追跡も可能であることが示唆された。

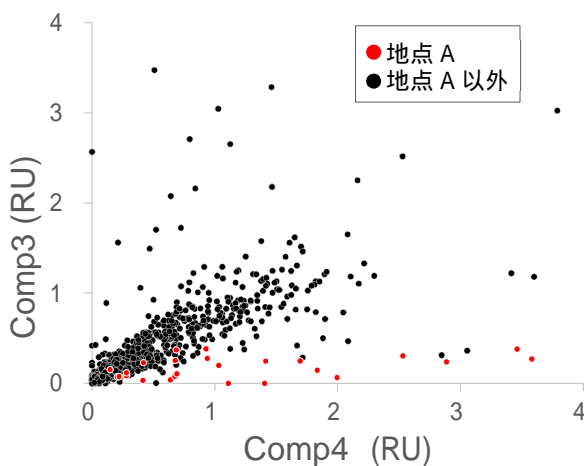


図6 河川各地点の蛍光成分 Comp3 と Comp4 の強度に関するプロット図

参考文献

- 1) Murphy, K. R., Stedmon, C. A., Graeber, D., Bro, R.: Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC, Anal Methods, Vol.5, pp.6557-6566, 2013.
- 2) 眞家永光:近年の腐植物質分析法の展開 1 .三次元蛍光分析,日本土壤肥科学雑誌,Vol.80, pp.419-426, 2009.
- 3) 埼玉県環境部水環境課:埼玉県環境情報システム 平成29年度河川汚濁負荷量算定プログラム, 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 池田和弘、柿本貴志	4. 巻 74
2. 論文標題 河川水質モニタリングへのEEM-PARAFAC法の適用に関する基礎的検討：BODの推測	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 土木学会論文集G（環境）	6. 最初と最後の頁 111_265 ~ 111_274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2208/jscej.74.111_265	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8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池田和弘
2. 発表標題 河川水の三次元励起蛍光スペクトルにおける直鎖アルキルベンゼンスルホン酸の寄与について
3. 学会等名 第58回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池田和弘、竹峰秀祐、渡邊圭司
2. 発表標題 EEMs法で検出されるチロシン様物質ピークに対するLASの寄与について
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池田和弘、竹峰秀祐、日下部武敏
2. 発表標題 短波長領域に検出される蛍光成分の河川および負荷源中強度の比較および特性解析
3. 学会等名 第57回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田和弘、柿本貴志、日下部武敏
2. 発表標題 河川水分析で短波長領域に検出される蛍光成分のBOD負荷源に関する指標性について
3. 学会等名 第56回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田和弘、渡邊圭司、日下部武敏
2. 発表標題 河川水および下水処理水中蛍光成分の固相抽出カラムへの吸着特性
3. 学会等名 第54回日本水環境学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池田和弘、柿本貴志
2. 発表標題 蛍光分析による河川水質モニタリングに関するPARAFAC解析の必要性の検討
3. 学会等名 第30回環境システム制御学会 (EICA) 研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田和弘、柿本貴志
2. 発表標題 河川水質モニタリングへのEEM-PARAFAC法の適用に関する基礎的検討：BODの推測
3. 学会等名 第55回環境工学研究フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田和弘、日下部武敏、渡邊圭司、柿本貴志、見島伊織
2. 発表標題 河川水と下水処理水で短波長領域に検出される蛍光成分の分子量特性
3. 学会等名 第53回日本水環境学会
4. 発表年 2019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
研究分担者	日下部 武敏 (Kusakabe Taketoshi) (40462585)	京都大学・工学研究科・助教 (14301)	

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
---------	---------