

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：82602

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01470

研究課題名（和文）水道における藻類由来消毒副生成物の網羅的評価と対策に関する研究

研究課題名（英文）Study on comprehensive evaluation and control of algal-derived disinfection byproducts in water supply systems

研究代表者

小坂 浩司（Kosaka, Koji）

国立保健医療科学院・その他部局等・上席主任研究官

研究者番号：60370946

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、5分類23種（NIES株17、原水からの単離株6）の藻類について藻類由来有機物の消毒副生成物生成能（トリハロメタン、ハロ酢酸、ハロアセトニトリル、ハロアルデヒド）を評価し、分類によって違いがあることを示した。ラフィド藻類（NIES-1380）のトリクロロ酢酸（TCAA）前駆物質の多くは高分子量画分に存在していること、TCAA前駆物質はフェノール配糖体であることを推定した。同株に由来するTCAA前駆物質は、凝集沈殿処理が最も低減効果が高いこと、粉末活性炭のみの処理性は低いことが前塩素処理と組み合わせることで処理性が向上すること、オゾン処理も有効な処理法であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

藻類は、消毒副生成物の前駆物質の一種であることが知られているが、藻類の種類、消毒副生成物の種類は多種にわたる。本研究の成果は、水源に存在する藻類のうち、どの藻類が消毒副生成物前駆物質として重要であるか、監視、対処すべきであるか明らかになるため、水質管理上非常に有用である。また、藻類由来有機物について、精製し、各種機器分析により消毒副生成物前駆物質の特性解析を行ったが、一連の手順は、他の天然有機物由来の消毒副生成物前駆物質の評価、藻類由来有機物の他の研究分野での評価等、幅広く応用可能である。

研究成果の概要（英文）：In this study, formation potentials of disinfection byproducts (i.e., trihalomethane, haloacetic acid, haloacetonitrile, and haloaldehyde) of algal organic matter were evaluated for 23 strains in five algae groups (17 NIES strains and 6 isolated strains from raw water). The formation potentials were different among the algae groups. It was estimated that the trichloroacetic acid (TCAA) precursors of Raphidophyceae (NIES-1380) were mostly present in the high molecular weight fraction and that the TCAA precursors were phenolic glycosides. It was shown that coagulation-precipitation process was the most effective process for removal of TCAA precursors from this strain, that powdered activated carbon alone was low removal process, but the removability was improved by the combination with prechlorination, and that ozonation was also an effective removal process.

研究分野：水道工学

キーワード：消毒副生成物 藻類由来有機物 ラフィド藻類 塩素処理 リスク管理

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気候変動に関する政府間パネル第 5 次報告書で報告されているように、気候変動による影響は疑いが無い。水道水源であるダム・貯水池での藻類の異常増殖、それにとまなう水質悪化は影響が大きいと考えられている。水道水質基準体系において、消毒副生成物は主要な物質群の一つであり、藻類由来有機物濃度の増加による塩素処理での消毒副生成物濃度の増加が懸念されている。

近年、多種多様に存在する藻類の中でラフィド藻類が水源で大量に発生すると、浄水場での塩素処理によって水道水中のトリクロロ酢酸 (TCAA) 濃度が上昇し、水質基準超過が懸念され、水道事業体ではその対策に苦慮している。水道水源に存在する藻類の種類は多く、種類によって生成する消毒副生成物やその濃度は異なるが、現状、個別の藻類の消毒副生成物の生成能は、一部の藻類から一部の消毒副生成物の報告のみである。また、藻類由来有機物は、ペプチドや糖類等の高分子やその代謝物の混合体で、その中から消毒副生成物前駆物質を特定することとなるが、これまで特定された事例は無い。消毒副生成物の低減策を構築する上で、前駆物質の特定は非常に重要である。

2. 研究の目的

本研究では、以下の 3 つを目的とする。

(1) 多種の藻類に対する消毒副生成物の生成能の網羅的評価

水源に存在する可能性のある多種の藻類の藻類由来有機物について、水質基準体系に含まれる多種の塩素処理消毒副生成物の生成能を網羅的に評価する。

(2) 藻類由来有機物中の消毒副生成物前駆物質の特定解析

消毒副生成物生成能が高い藻類の藻類由来有機物について、種々の分析機器により前駆物質の特性解析を行う。

(3) 藻類由来の消毒副生成物前駆物質の浄水処理性

消毒副生成物生成能が高い藻類の藻類由来有機物の浄水処理による処理性について評価する。

3. 研究の方法

(1) 多種の藻類に対する消毒副生成物の生成能の網羅的評価

対象とした藻類を表 1 に示す。17 種の藻類株 (藍藻類、緑藻類、珪藻類、ユーグレナ藻類、ラフィド藻類) を国立環境研究所より入手し (NIES 株: NIESxxxx (x: 数字))、6 種の藻類株を水道原水から単離した (単離株: T1~T6)。培養液中の有機物濃度を可能な限り低くするため、生化学用緩衝剤を用いない培養液で培養した。培養液に超純水 (Milli-Q IQ-7003; Merk) を用いたが、一部、琵琶湖水を用いた場合と比較した。培養液の藻類の増殖が定常期に達した後、超音波あるいは凍結融解 + 超音波 (凍結融解) 法により細胞を破壊し、細胞中の有機物を抽出した。その後、0.45 μm のガラス繊維ろ紙 (GDx; Cytiva) でろ過した溶液を保存溶液として冷蔵保存し実験に用いた。

表 1 対象藻類株

藻類種 (数)	株
藍藻類 (11)	NIES87 (<i>Microcystis aeruginosa</i>)、NIES1641 (<i>Dolichospermum affine</i>)、 NIES2604 (<i>Microcystis aeruginosa</i>)、NIES3738 (<i>Pseudanabaen</i> sp.)、 NIES4050 (<i>Aphanizomenon</i> sp.)、T1 (<i>Aphanizomenon gracile</i> (霞ヶ浦))、 T2 (<i>Dolichospermum spiroides</i> (琵琶湖))、 T3 (<i>Pseudanabaena foetida</i> (霞ヶ浦))、T4 (<i>Pseudanabaena yagii</i>)、 T5 (<i>Pseudanabaena limnetica</i>)、T6 (<i>Pseudanabaena cinerea</i>)
緑藻類 (5)	NIES92 (<i>Tetrademus</i> sp.)、NIES3953 (<i>Scenedesmus</i> sp.)、 NIES4215 (<i>Monoraphidium</i> sp.)、NIES4266 (<i>Coelastrum</i> sp.)、 NIES4388 (<i>Aphanizomenon gracile</i>)
珪藻類 (3)	NIES333 (<i>Aulacoseira granulata</i>)、NIES3858 (<i>Nitzschia fruticosa</i> Hustedt)、 NIES3951 (<i>Aulacoseira granulata</i>)
ユーグレナ藻類 (1)	NIES3944 (<i>Euglena</i> sp.)
ラフィド藻類 (3)	NIES1380 (<i>Gonyostomum semen</i> (<i>G. semen</i>))、NIES1808 (<i>Gonyostomum latum</i>)、 NIES1809 (<i>Merotricha bacillata</i> Mereschowsky)

6 種の塩素化消毒副生成物をトリハロメタン (クロロホルム (CF))、ハロ酢酸 (HAA) (モノクロロ酢酸 (MCAA)、ジクロロ酢酸 (DCAA)、TCAA)、ハロアセトニトリル (ジクロロアセトニトリル (DCAN))、ハロアルデヒド (抱水クロラール (CH)) とした。これは、臭素化消毒副生成物の測定も行ったが、定量下限値未満 (あるいはほとんどが塩素化消毒副生成物) であったためである。消毒副生成物生成能試験の条件は、藻類由来有機物濃度が 3 mg C/L、塩素処理時間が 24 時間、24 時間後の遊離塩素が 1~2 mg/L、pH が 7 (2 mM リン酸緩衝液)、水温が 20 °C に設定した。

ただし、24 時間後の遊離塩素は 1 mg/L 未満の場合もあった（最小 0.7 mg/L）。残留塩素はアスコルビン酸ナトリウムにより消去した。CF 測定用の試料は、塩酸により pH を約 2 に、DCAN と CH 用の試料は、硫酸により pH を 3.5~5 程度に調整した。

CF は PT-GC/MS により、HAA は LC-MS/MS により、DCAN と CH は固相抽出 - GC/MS により定量した。定量下限値は、CF、MCAA、DCAA、TCAA は 1 µg/L、DCAN、CH は 0.2 µg/L であった。

(2) 藻類由来有機物中の消毒副生成物前駆物質の特定解析

ラフィド藻類由来の有機物を対象とした (*G. semen*; NIES1380)。*G. semen* の培養条件は、培地は琵琶湖水に AF-6 培地と同濃度の栄養塩を加えたもの、温度は 20 °C、照度は 2,000~3,000 lux、明暗周期は 16:8 時間、培養期間は 4~5 週間とした。HAA 生成能が 2,000 µg/L 以上の培養液を回収し、15 分間の超音波処理により細胞を破碎し、ろ過（孔径 0.2、0.1 µm 親水性ポリテトラフルオロエチレン (PTFE) メンブレンフィルターに連続して通過）により懸濁物質を除去した。続いて、3 kDa 限外ろ過膜 (Merck) を用いて高分子画分を抽出し、逆相 - 強陽イオン交換固相抽出カートリッジ (Oasis MCX; Waters) に通水させ夾雑物を除去した後、遠心ろ過フィルター (Amicon Ultra 15; Merck) により初期濃度の 2,000 倍まで濃縮を行った。その後、HILIC カラム (Inertsil WP300Diol; GL サイエンス) を用いた分取液体クロマトグラフィー分析を実施し、回収した画分を凍結乾燥した。この粉末試料 (約 2 mg) に D₂O を加えたのち ¹H および ¹³C-NMR 測定 (ECZ800R; 日本電子) に供した。また、NMR 測定後の試料を窒素吹き付けにより再び乾固させ KBr に対して重量比 0.5% 程度となるように混合し、フーリエ変換赤外分光光度計 (IRAffinity-1; 島津製作所) により赤外吸収スペクトルを取得した。

(3) 藻類由来の消毒副生成物前駆物質の浄水処理性

(2) と同様に、ラフィド藻類由来の有機物を対象とした。(2) で示した固相抽出の通過液を適宜希釈し処理実験に使用した。凝集沈殿処理においては、HAA 前駆物質抽出液を、溶存有機物 (DOC) 濃度が 0.1、1.0 mg C/L 増加するよう琵琶湖水 (2022 年 10 月に採取) に添加し使用した (試料濃度 0.1 mg C/L、塩素注入率が 3 mg/L、反応時間が 24 時間、pH が 7、水温が 20 °C での DCAA 生成能は 14 µg/L、TCAA 生成能は 51 µg/L)。その他の処理においては、超純水で TCAA 前駆物質抽出液を DOC 濃度が 0.1、1.0 mg C/L になるよう希釈し使用した。

凝集沈殿処理は、凝集剤としてポリ塩化アルミニウム (PAC; 多木化学) を 3.0、6.0、12 mg Al₂O₃/L となるように添加し、急速攪拌 (150 rpm、5 分) と緩速攪拌 (40 rpm、30 分) を連続的に行い、30 分間静置してフロックを沈澱させた。粉末活性炭処理は、木質系エバダイヤ 5LPD (以後 5LPD と表記; 水 ing)、木質系 Norit SA Super (以後 Norit と表記; CABOT) を処理実験に用いた。接触条件は、pH が 7 (りん酸緩衝液、0.2 mM)、粉末活性炭注入率が 0、5、10、15、30、100 mg/L、温度が 25 °C、接触時間が 1 時間とした。接触中は暗所にて攪拌子をスターラーで回転させ試料を攪拌した。接触後、試料をろ過 (0.2 µm、親水性 PTFE) した。また、塩素注入率が 0.5、1、2、3 mg/L となるように調製し 1 時間静置し前塩素処理を行ったのち粉末活性炭処理を行った。この際の粉末活性炭の注入率は 15 mg/L (その他条件は上記と同様) とし、ラフィド藻類由来有機物の濃度は 0.1 mg C/L とした。オゾン処理は、環境水試料を pH 7 に調製後 (りん酸緩衝液、5 mM)、オゾン注入率を 0.5、1.0、2.0 mg/L で処理を行った。

4. 研究成果

(1) 多種の藻類に対する消毒副生成物の生成能の網羅的評価

3 種の藍藻類 (NIES87、NIES2604、NIES3738)、2 種の緑藻類 (NIES92、NIES3953) について、藻類の細胞内有機物の抽出方法による消毒副生成物生成能の違いを検討した。消毒副生成物の総濃度は、5 種の藻類株のいずれも凍結融解法による方が高く、NIES3738 株と NIES3953 株で顕著であったため、以降、藻類由来有機物の抽出は、凍結融解法で行うこととした (図省略)。

図 1 に、17 種の藻類の生成能を示す。6 種の消毒副生成物の総濃度は約 3~210 µg/L の範囲にあり、TOC あたりの消毒副生成物生成能に大きな違いが認められた。藻類の各グループ内で総濃度に違いが認められたが、平均値で見ると、ラフィド藻類、緑藻類、藍藻類、ユーグレナ藻類、珪藻類の順に高かった。

図 2 に、消毒副生成物生成能の内訳 (モル濃度) を示す。CF、MCAA、DCAA、TCAA、DCAN、CH の割合は、それぞれ 9~31%、0~7%、12~38%、7~34%、10~36%、8~35% であった (総濃度が約 3 µg/L で CF と TCAA のみ検出された NIES3951 を除く)。原水中の消毒副生成物生成能は、トリハ

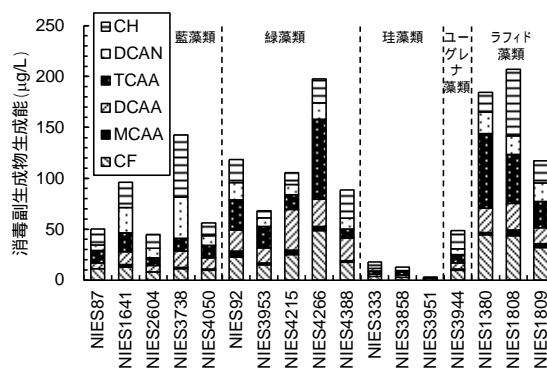


図 1 藻類種の違いによる消毒副生成物生成能の比較

ロメタンの割合が高いことが報告されている¹⁾。藻類由来有機物は、原水全体に比べると、CF 以外の前駆物質を多く含んでいることがわかった。また、藻類由来有機物の場合、DCAN 生成能の割合が比較的高い場合があった。これは藻類由来有機物は窒素を含むものもあるため、含窒素消毒副生成物である DCAN 生成能が高かったと推測された。

藍藻類について 5 種の NIES 株と 6 種の単離株で消毒副生成物生成能を比較した。消毒副生成物生成能の総濃度は、NIES 株では 50~140 µg/L、単離株は 1 種を除き 56~100 µg/L と大きな違いは認められなかった。しかし、1 種の単離株は 430 µg/L と生成能が高かった。ラフィド藻類 (NIES1380)

について、培養液に精製水と琵琶湖水を用いた場合で比較した。消毒副生成物生成能の総濃度は、超純水では 280 µg/L、琵琶湖水では 820 µg/L で、琵琶湖水の方が数倍高いことがわかった。

(2) 藻類由来有機物中の消毒副生成物前駆物質の特定解析

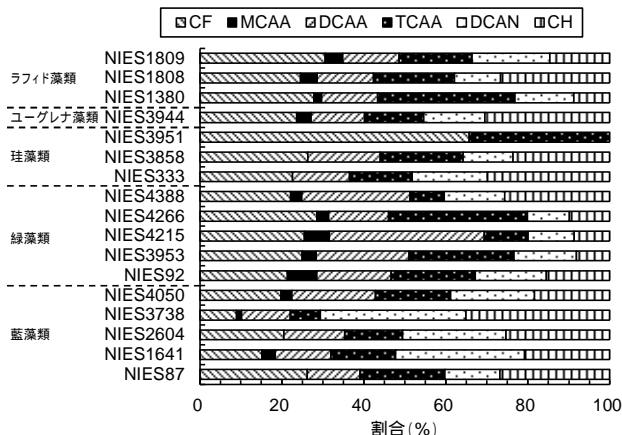


図2 藻類の消毒副生成物生成能(モル濃度)における消毒副生成物の内訳

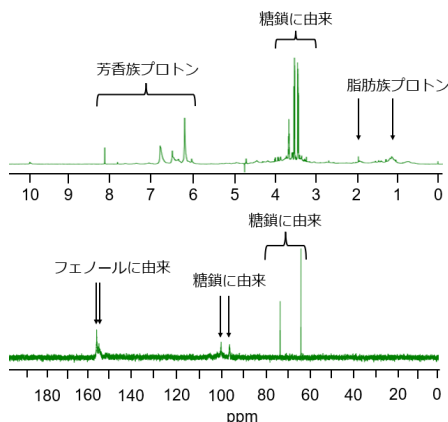


図3 TCAA 前駆物質の(上)¹H、(下)¹³C-NMR スペクトル

図3(上)にラフィド藻類(NIES1380)由来の TCAA 前駆物質の ¹H-NMR スペクトルを示す。1.2、1.9 ppm に見られるシグナルは、脂肪族プロトンに由来する²⁾。3.1~4.1 ppm にかけて連続して見られるシグナルは糖の NMR スペクトルと類似し、糖鎖の存在可能性が示された²⁾。また、6.1、6.4、6.7、8.1 ppm に見られる 4 本のシグナルは芳香族プロトンに由来すると考えられた²⁾。図3(下)に ¹³C-NMR スペクトルを示す。62、72 ppm に見られるシグナルはそれぞれ C-CH₂-O、C₂-CH-O 由来と考えられた。DEPT135 スペクトルのピークの位相方向からもそれぞれ CH₂、CH 基の存在が示唆された。これらの構造は糖の構成要素であり、¹H-NMR の結果と矛盾はなかった。また、4 級炭素由来の 155、156 ppm のピークはフェノール性ヒドロキシル基が結合した炭素に由来すると考えられた²⁾。一方で、一般的に 110~150 ppm にシグナルを持つ芳香環由来の 3 級炭素は観測されなかった。これは HAA 前駆物質の芳香環がすべて置換されている、もしくは、試料量の不足でシグナルが十分に得られなかった可能性が考えられた。

図4に赤外吸収スペクトルを示す。3,400 cm⁻¹周辺に見られる大きなシグナルは、-OH 基に由来する²⁾。また、1,440 cm⁻¹、1,616 cm⁻¹周辺に見られるシグナルは、芳香族に由来すると考えられた。また、これらの結果は NMR の結果と矛盾せず、フェノールと糖鎖の存在を支持した。

(3) 藻類由来の消毒副生成物前駆物質の浄水処理性

凝集沈澱処理では、ラフィド藻類前駆物質濃度が 0.1 mg C/L の場合、TCAA 生成能は PAC 注入率 3.0 mg Al₂O₃/L で 17 µg/L となった。琵琶湖淀川水系の浄水処理での通常の PAC 注入率は 3.0 mg Al₂O₃/L 程度でありその範囲で十分な効果が認められた(表2)。しかし、前駆物質濃度が 1.0 mg C/L では、PAC 注入率 3.0 mg/L では凝集阻害が確認され濁度および HAA 生成能は処理後も高い値であったが、PAC 添加量を増加させると前駆物質は 95%以上除去可能であることがわかった。

粉末活性炭処理では、Norit 製の場合、粉末活性炭注入率の上昇にともない HAA 生成能の減少が確認された(図5)。浄水処理で通常添加される注入率は 10~30 mg/L 程度であり、その際の処理率は前駆物質濃度によらず 15~30%程度と非常に低く、粉末活性炭による HAA 前駆物質の処理性能は限定的と推察された。しかし、前塩素処理後に粉末活性炭処理を行った場合、TCAA 生

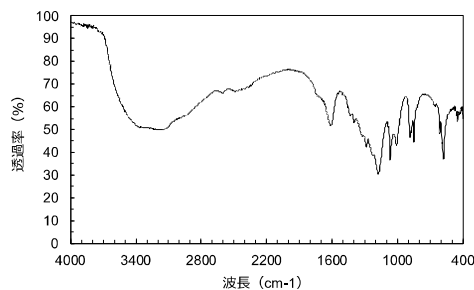


図4 TCAA 前駆物質の赤外吸収スペクトル

成能は大きく減少した(図6)。TCAA生成能の減少率の最大値は、5LPDでは61%(塩素注入率: 1.0 mg/L)、Noritでは82%(塩素注入率: 0.5 mg/L)であった。前塩素処理による前駆物質の分子サイズの減少や塩素化による疎水性度の増加により粉末活性炭への吸着量が増加したと考えられた。

オゾン処理では、ラフィド藻類前駆物質濃度が0.1 mg C/Lの場合、TCAA生成能はオゾン注入率が0.5 mg/Lで16 µg/Lまで減少した(図7)。オゾン注入率の増加にしたがってTCAA生成能は減少し、オゾン注入率が1 mg/Lで3 µg/Lとなり、それ以上のオゾン注入率では減少は見られなかった。オゾン注入率が0.5 mg/L程度であってもHAA前駆物質に対して十分に有効であることが示された。しかし、前駆物質濃度が1.0 mg C/Lの場合は、2.0 mg/Lのオゾン注入率であってもTCAA生成能は350 µg/Lであり、高濃度の場合には対応できないことが明らかになった。

表2 凝集沈澱処理前後のpH、濁度、HAA生成能(ラフィド藻類 左: 1.0 mg C/L、右: 0.1 mg C/L)

PAC (mg*/L)	pH	濁度 (度)	DCAAFP (µg/L)	TCAAFF (µg/L)	PAC (mg*/L)	pH	濁度 (度)	DCAAFP (µg/L)	TCAAFF (µg/L)
処理前	7.6	8.5	79	510	処理前	7.1	4.0	12.4	50
3.0	7.2	4.6	18	77	3.0	7.0	0.87	**	17
6.0	6.6	3.7	11	21	6.0	7.0	0.24	**	16
12	6.6	0.35	8.5	8.2	12	7.1	0.17	**	9.7

*PACはAl₂O₃の重量に換算した値 **定量下限値以下、表中生成能: FP

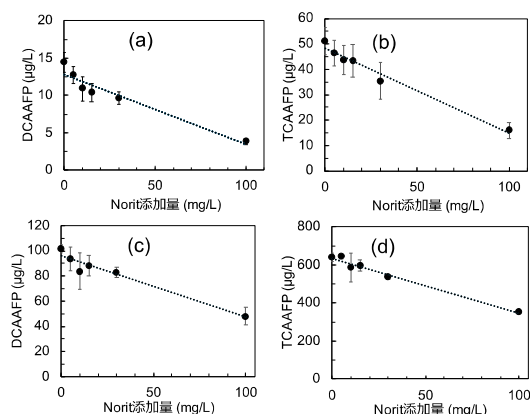


図5 粉末活性炭処理後の(a)DCAA生成能(ラフィド藻類0.1 mg C/L)、(b)TCAA生成能(ラフィド藻類0.1 mg C/L)、(c)DCAA生成能(ラフィド藻類1.0 mg C/L)、(d)TCAA生成能(ラフィド藻類1.0 mg C/L)(n=3、エラーバーは標準偏差、図中生成能: FP、5LPDは注入率100 mg/Lにおいて減少が見られなかったため実験を行わなかった)

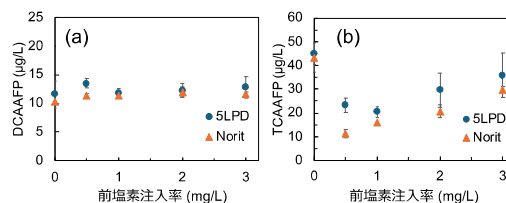


図6 前塩素処理と粉末活性炭処理の組み合わせ処理後の(a)DCAA生成能(ラフィド藻類0.1 mg C/L)、(b)TCAA生成能(ラフィド藻類0.1 mg C/L)(n=3、エラーバーは標準偏差、図中生成能: FP)

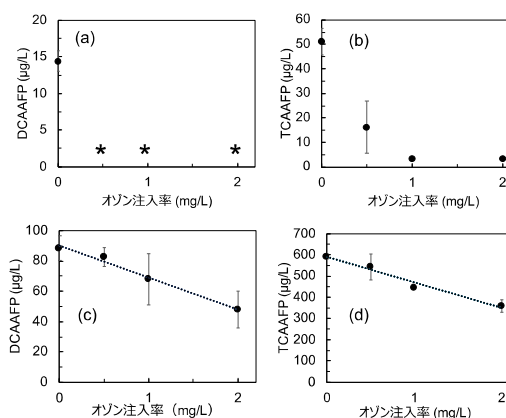


図7 オゾン処理前後の(a)DCAA生成能(ラフィド藻類0.1 mg C/L)、(b)TCAA生成能(ラフィド藻類0.1 mg C/L)、(c)DCAA生成能(ラフィド藻類1.0 mg C/L)、(d)TCAA生成能(ラフィド藻類1.0 mg C/L)(n=3、エラーバーは標準偏差、図中生成能: FP)

< 引用文献 >

- 1) 小坂浩司, 吉田伸江, 小島邦恵, 東城まゆみ, 越後信哉, 増田貴則. 全国の浄水場における水道水中の多種の消毒副生成物の実態調査と関連性評価. 令和4年度全国会議(水道研究発表会)講演集, 2022, 646-647.
- 2) 岩澤伸治, 豊田真司, 村田滋(訳). 有機化合物のスペクトルによる同定法(第8版). 東京化学同人, 2016.

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 Tada Y., Kosaka K., Echigo S., Itoh S	4. 巻 879
2. 論文標題 High formation of trichloroacetic acid from high molecular weight and ultra-hydrophilic components in freshwater raphidophytes upon chlorination	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science of the Total Environment	6. 最初と最後の頁 163000
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.scitotenv.2023.163000	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小坂浩司, 浅田安廣, 吉田伸江, 小島邦恵, 東城まゆみ, 多田悠人, 越後信哉, 増田貴則
2. 発表標題 藻類由来有機物の消毒副生成物生成能の評価
3. 学会等名 第57回日本水環境学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 多田悠人, 辻坂勇希, 中西智宏, 越後信哉, 伊藤禎彦, 浅田安廣, 小坂浩司
2. 発表標題 ラフィド藻に由来する八口酢酸前駆物質の浄水処理単位操作による処理性の評価
3. 学会等名 京都大学環境衛生工学研究会第44回シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 多田悠人, 堀克成, 小坂浩司, 越後信哉, 伊藤禎彦
2. 発表標題 塩素処理におけるラフィド藻Gonyostomum semenに由来する八口酢酸前駆物質の官能基分析
3. 学会等名 第56回日本水環境学会年会
4. 発表年 2022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	越後 信哉 (Echigo Shinya) (70359777)	京都大学・地球環境学堂・教授 (14301)	
研究分担者	浅田 安廣 (Asada Yasuhiro) (60610524)	京都大学・工学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	多田 悠人 (Tada Yuto) (70943611)	京都大学・地球環境学堂・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
---------	---------