

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：13904

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21331

研究課題名（和文）超音波抽出法による流域土壌と河川懸濁物質中の生物利用可能性リンの定量的解析

研究課題名（英文）Quantitative analysis of bioavailable phosphorus in watershed soil and river suspended sediment by ultrasonic extraction

研究代表者

NGUYEN MINHNGOC (Nguyen, Minh Ngoc)

豊橋技術科学大学・工学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：60909240

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：富栄養化発生の主な要因には農業活動からの生物利用可能性リン(BAP)の排出がある。BAP定量は主にNaOH抽出手法が用いられている。この手法は河川水を懸濁態と溶存態を分離し、17時間振とう法で懸濁態BAPを抽出する。抽出された懸濁態BAPと溶存態BAPの合計で算定している。労力と時間がかかることから広く用いられていない。本研究では、超音波洗浄機とNaOHを用いて、河川水中の懸濁態と溶存態を分離せず1分間を3回繰り返すことでBAPを抽出できる手法を開発した。遠心分離法で得られた懸濁態BAPとろ過法で得られた溶存態BAPの合計と本研究提案手法のBAPを比較した結果は同等であることを立証できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、湖沼の富栄養化は全リンを用いて評価されている。しかし、全リンはすべて生物利用可能態リンではない。全リンの中には複雑な化学構造を持っているリンがあり、藻類はこれらを吸収できず、富栄養化に繋がらない。従って、生物利用可能態リン（以降BAP）で評価する必要がある。

超音波洗浄機を用いて17数時間がかかる振とう抽出法を3分間で抽出できるようになった。なお、BAP定量手順の全体は2時間になった。計測設備をうまく組み合わせれば8時間で64サンプルを測定できる。すなわち本研究の提案手法で、農地及び市街地の面源から流入されている河川水のBAP調査は効果的に行われることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Bioavailable phosphorus (BAP) from agricultural discharge has been reported as a major cause of eutrophication. BAP in water environment is generally measured by the NaOH extraction method. In this method, a water sample is separated into particulate and dissolved phases. Then the particulate BAP is extracted by shaking for 17 hours. The BAP concentration in water environment is the sum of the extracted particulate BAP and dissolved BAP. To avoid substantial time and effort required for such separation and extraction, I have developed an alternative method to effectively measure BAP by repeating 1-minute extraction 3 times using ultrasonic washing machine and NaOH. The statistical results proved no significant difference between the BAP concentration in water samples without phase separation and the sum of particulate BAP and dissolved BAP.

研究分野：水環境工学

キーワード：生物利用可能性リン 超音波抽出 河川水中懸濁物質 農地流出負荷 富栄養化

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

富栄養化現象は、社会の発展とともに進行し、河川や閉鎖性水域の汚染になり、赤潮や貧酸素水塊・青潮が発生し、環境保全上の問題とされる。発生メカニズムとしては、栄養塩の過剰による植物プランクトンが異常的に増殖することで、水面上に光を遮断する層ができ、底層では貧酸素状態となり、底棲生物や魚介類などが生息できない状態になる。この貧酸素水塊が岸で湧昇した時に青潮が発生し、貝類は大量にへい死し、生態系バランスが崩れてしまう。世界各地及び日本は90年代から富栄養化汚染対策を目指した環境中の総量規制が導入されている。更に、工場等の点源からの排出の管理も行われるようになってきている。しかし、富栄養化発生の原因である面源からの栄養塩流出については、有効な管理手法は確立できていない。

面源では農業の施肥によるリンの最大排出量に注目され、全リン(Total Phosphorus 以下 TP とよぶ)の水環境基準や排水基準が設定されている。しかし、TPには生物が利用不可能な形態がある。様々な成分から構成されているため、富栄養化現象への影響度は正しく評価できていない。そのため、富栄養化を制御するには、藻類増殖に關する生物利用可能性リン(BAP)を定量することが必要と考えている。

2. 研究の目的

BAP 定量として現在一般的な手法は、藻類増殖能力試験又は振とう抽出法を用いたリン酸濃度の分析方法である。藻類増殖能力試験は数十日または振とう抽出の処理作業は十数時間を要し、同時に多数の試料が測定できないことが問題点である。そこで本研究は、多数の試料を同時にセットできる超音波洗浄機を用いて BAP を速く測定する手法の開発を目的とする。更に、開発した測定手法を用いて、流域から流出するリンの特性を解明する。

3. 研究の方法

本研究では、愛知県豊橋市の梅田川(図1)を中心にサンプルを採取し、実験を行った。梅田川の流域には農地が多く、リンの含有量が多い肥料は多量に使用されている。このため、降雨時にリンが河川へ多く流れ込むと推測される。

BAP の定量作業は、「サンプル濃縮」「超音波抽出」「濃度分析」の3ステップである。リンは降雨量により流域から流出水中の懸濁物質と共に河川へ流入し、負荷量が大きくなる。そのため、BAP 分析には25mg 以上の懸濁物質の濃縮を処理してからリンの抽出、濃度分析を行う必要がある。現在、一般的な懸濁物質の濃縮方法は、連続遠心分離法とろ過法がある。連続遠心分離法は、サンプルの懸濁物質濃度により、ローターのキャパシティや用意したサンプルが無くなるまで継続的に処理ができるためには、1回の処理で取り扱うサンプル量が制約される。ろ過の方は、サンプルの懸濁物質濃度によらず、素早く少量の懸濁態を分離可能であるが、コロイドのような薄い懸濁物質があると、真空ポンプを使って残留水分が除去するとしても目詰まりしてしまう。サンプルの形質に適した方法を検討するために、連続遠心分離法(15,000rpm, 150mL/min)とろ過法(GF/F)のそれぞれで分離した懸濁態リン及び溶存態リン(Dissolved Phosphorus 以下 DP とよぶ)を比較した。又、現在の濃縮をより短縮するように、懸濁態と溶存態を分離せずに未処理河川水中の BAP の測定手順を検討し、得られた懸濁態リンと溶存態リンの合計で算定している全 BAP (TBAP) と有意差の検定を行った。遠心分離した懸濁物質並びにろ紙は PBAP の測定、遠心分離排水並びにろ過水は溶存態 BAP (DBAP) の測定、未処理の河川水は TBAP の測定の試料とした。試料に NaOH の溶媒を加え、超音波洗浄機により1分間抽出⁽¹⁾を行い、アングル遠心分離(2,000rpm, 20min)後の上澄みを抽出液として回収し、pH を調整してフローインジェクション分析装置でリン酸濃度を測定した。未処理の河川水と懸濁物質のサンプルは、1回では全量が抽出されないため、NaOH を添加した超音波抽出を2回繰り返した。NaOH の濃度と添加量は、抽出溶媒の濃度を0.1M にするように調整した。

4. 研究成果

(1) 多数の試料を同時にセットできる超音波洗浄機を用いて BAP の測定する手法

濃縮方法の検討には、7つの降水の前後に採取した河川水のサンプルを用いて、サンプルの形質(表1)に対して適した方法を確認した(図2)。



図1 梅田川における土地利用状況およびサンプル採取地点

表1 サンプルの形質

降水量(mm) ⁽²⁾	14.0	83.5	2.0	23.5	106.5	106.5	106.5
河川の水位(m) ⁽³⁾	1.43	2.53	0.99	1.22	3.02	1.71	1.39
懸濁物質濃度(mg/L)	71.9	131.7	12.3	33.8	322.8	90.1	39.1
	: 2021年5月27日15時、	: 2021年7月2日9時、	: 2022年5月12日13時、	: 2022年5月13日9時、	: 2022年5月27日6時、	10時、	15時

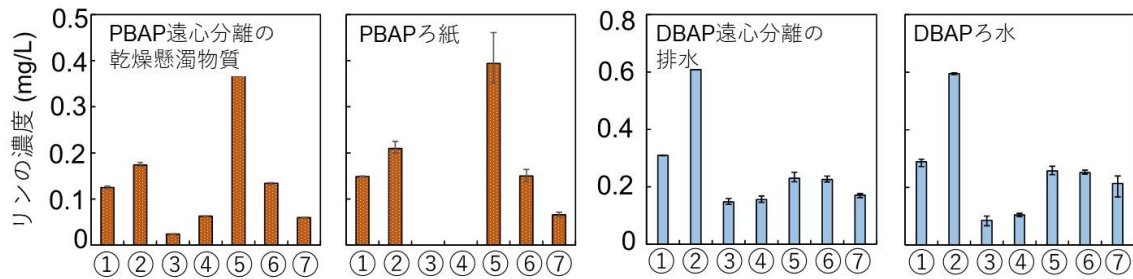


図2 各濃縮方法に対して抽出したリンの濃度

遠心分離法またはろ過法のどちら方法でも PBAP 濃度と DBAP 濃度はほぼ同じ結果だった(図2)。しかし、サンプルの懸濁物質濃度が33.77mg/L程度以下の際には、ろ過での PBAP は分析範囲外であったため、測定できなかった(図2-サンプル ③, ④)。この結果により、遠心分離法での PBAP とろ過法での DBAP の合計結果を未処理の TBAP を比較し(図3)、懸濁態と溶存態を分離せずに未処理河川水中の BAP の測定手順を検討した。PBAP と DBAP の合計対 TBAP の t-検定における p 値は5%以上だったので、有意差があると言えない。懸濁物質の濃度が12.33mg/Lから322.83mg/Lまでの間にある河川水には、懸濁態と溶存態を分離せずに未処理の河川水中の BAP を測定できると考えられる。これは現在の環境基準の全リンの分析と同様な結果である。超音波洗浄機を用いて1分間抽出で数十時間がかかった BAP 定量方法は2時間になった。計測設備をうまく組み合わせれば8時間で最大64サンプルを測定できる見込む。本研究の提案手法により、多数の河川水の BAP 調査が効果的に行われることが期待される。

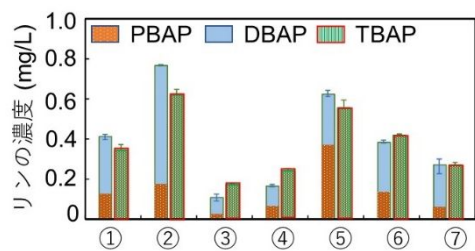


図3 連続遠心分離法での PBAP と濾過法での DBAP の合計結果と未処理の TBAP の比較

(2) 梅田川流域から流出するリンの特性

本研究で83.5mm以下の降雨時に、梅田川の BAP の構成は溶存態 DBAP が大きな割合であった(図3-サンプル ②以外)。106.5mm以上の豪雨時に流量の増加と共に懸濁物質の濃度が非常に高くなり、懸濁態 PBAP の割合が大きくなった(図3-サンプル ⑤)。予測の通りに、PBAP は降雨により懸濁物質と一緒に河川に流出される。

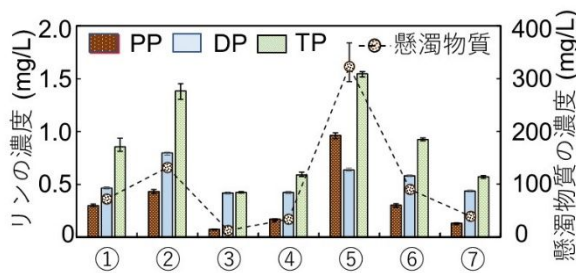


図4 全リンにおける各形態リンの濃度

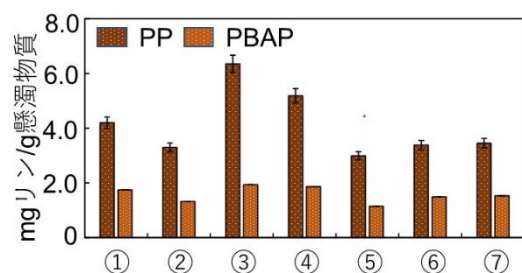


図5 懸濁物質中の懸濁態リンの含有量

降雨量と水位がピーク時は河川水中の懸濁物質及び PP の濃度が最も高くなることが分かった(図4)。環境省による湖沼の TP が0.1mg/Lの基準を定めているが、梅田川のサンプルの TP 濃度は全て既存基準より高い値となった(図4)。一方で、河川水中の懸濁物質濃度が低下すると懸濁物質中に含有している PP と PBAP が増加する傾向があった(図5)。以上のことから、降雨量が多ければ多いほど、農地から懸濁物質と共に懸濁態リンが多く流出され、懸濁物質及び PP の濃度、さらに PP/TP と PBAP/TBAP の割合が増加することが分かった。

引用文献

(1) Ting Ka Ling, Kuriko Yokota, Makoto Saga, Takanobu Inoue; Extraction of bioavailable

phosphorus in soils and sediments using an ultrasonic washing machine. Water Sci Technol
83 (4): 762–770, 2021. doi: <https://doi.org/10.2166/wst.2021.014>

(2) 気象庁, 豊橋市のデータ

(3) 愛知県 川の防災情報, 梅田川, 浜道観測局

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Nguyen Minh Ngoc, Mohd Hidayat Bin Ruslan, Nguyen Tan Phong, 横田久里子, 井上隆信
2. 発表標題 超音波抽出法による河川懸濁物質中の生物利用可能性リンの定量
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 Nguyen Minh Ngoc, Nguyen Tan Phong, 横田久里子, 井上隆信
2. 発表標題 超音波洗浄機を用いた河川水中生物利用可能性リンの定量方法の開発
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 N. Minh Ngoc, N. Tan Phong, K. Hosoi, K. Yokota, T. Inoue
2. 発表標題 Ultrasonic Extraction - A simultaneous measurement of bioavailable phosphorus in river water
3. 学会等名 Symposium on Water Sustainability and Green technologies 2022
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
---------------------------	-----------------------	----

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