

膜ろ過による下水2次処理水中微量汚染物質の除去：
ろ過膜及び微量汚染物質特性の影響

課題番号：15360286

平成15年度～平成17年度科学研究費補助金

(基盤研究(B))

研究成果報告書



平成18年5月

研究代表者 清水芳久

京都大学大学院工学研究科 助教授

は し が き

先進国・発展途上国を問わず、人口の増大およびそれに伴う都市の拡大等に伴って水需要が増大し、これに対応できる水資源は量的にも質的にも枯渇しつつある。今後一層深刻となるこの問題に対処するために、下水2次処理水を直接的または間接的に再利用することを目的に膜ろ過処理システムの研究が進められている。

水環境中には、人類の存続を脅かす内分泌攪乱性・発癌性等を始めとする毒性を有する人工・自然由来の多くの微量汚染物質が未処理のまま存在し、微量汚染物質と結合することによってその動態および毒性に影響を及ぼすフミン質等の高分子溶存有機物(DOM)も存在することがわかっている。しかしながら、最新の研究においては、微量汚染物質の測定が困難であること等の理由から、これらの物質の膜ろ過処理について考究しているものは見当たらない。

本研究は、各研究機関の研究成果・設備を最大限に利用して、微量汚染物質の膜ろ過処理による除去についての基礎的・実践的研究を体系的に実施し、必要不可欠な情報を提供することを目的としたものである。

膜ろ過処理は、クリプトスポリジウム等の病原性微生物や種々の汚染物質を物理的に除去することが可能であり、他の生物化学的処理と比較して新たな汚染物質を副次的に産出しない有望な水処理技術として注目されて久しい。しかしながら、国内外における膜ろ過処理に関するこれまでの研究は、汚染指標や汚染物質の除去率のみを対象として実施されて来ており、新たな処理対象水あるいは処理対象物質(特に微量汚染物質)が生じた場合に、即座にその除去特性を推定し対処するために十分な基礎的知識が蓄積されているとは言い難い。

一方、水環境中に存在するフミン質を始めとする溶存有機系高分子(DOM)は、無機・有機微量汚染物質の動態を左右し、これらの物質が人間を含めた生物に与える毒性にも影響を及ぼすことがわかって来ている。本申請の研究代表者が所属する京都大学工学研究科附属流域圏総合環境質研究センターでは、微量汚染物質は高い収着能を有するDOMと結合する傾向が強いこと、水環境中の動態に影響を及ぼす微量汚染物質の物理化学的特性はDOMに結合されることによりDOMのそれと類似したものとなること、微量汚染物質の細胞膜透過性やDNA損傷性はDOMの共存により低下すること、微量汚染物質やDOMは下水2次処理では容易に分解されないこと、等を明らかにしてきている。また、DOMは膜ろ過処理を行う場合には、膜の目詰まり(Fouling)の原因物質としても知られている。

このような既存研究状況を踏まえて、本研究では以下の様な目的を設定して研究を実施した。

① 膜ろ過処理による微量汚染物質の除去特性の解明

- ② 膜ろ過処理による DOM の除去特性の解明
- ③ 微量汚染物質と DOM との相互作用の解明
- ④ DOM 共存下における膜ろ過処理による微量汚染物質の除去特性の解明
- ⑤ 膜ろ過処理における物理化学的除去モデルの構築

この報告書では、本研究で得られた成果を次の様に3つの内容に分類して報告する。

- I. 膜ろ過処理による水環境中溶存有機物質 DOM の抽出・濃縮方法の開発
- II. 膜ろ過処理による微量有機汚染物質除去特性の解明
- III. 膜ろ過処理におけるファウリング原因物質の解明

研究組織

- 研究代表者 : 清水芳久 (京都大学大学院工学研究科 助教授)
- 研究分担者 : 松井三郎 (京都大学地球環境学大学院地球環境学堂 教授)
- 研究分担者 : 山田春美 (京都大学大学院工学研究科 助教授)
- 研究分担者 : 松田知成 (京都大学地球環境学大学院地球環境学堂 教授)
- 研究分担者 : 越後信哉 (京都大学大学院工学研究科 講師)

交付決定額 (配分類)

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 15 年度	7,700,000	0	7,700,000
平成 16 年度	4,800,000	0	4,800,000
平成 17 年度	2,800,000	0	2,800,000
総 計	15,300,000	0	15,300,000

研究発表

(1) 学会誌等

- ・ 池嶋規人、尾崎博明、松井三郎、清水芳久：低圧逆浸透膜の内分泌攪乱物質分離に及ぼす共存物質の影響、環境工学研究論文集、第 42 巻、225-229、2005.
- ・ 池田和弘、清水芳久、日下部武敏、松井三郎：天然有機物質の質量分析条件の検討とその適用、環境システム計測制御学会誌、第 10 巻 2 号、66-72、2005.
- ・ 山本裕史、H. M. Liljestrang、清水芳久：内分泌攪乱化学物質の NOM への収着、環境システム計測制御学会誌、第 10 巻 2 号、73-78、2005.

(2) 口頭発表等

- ・ 池嶋規人、尾崎博明、松井三郎、清水芳久：低圧逆浸透膜の内分泌攪乱物質分離に及ぼす共存物質の影響、土木学会環境工学フォーラム、2005年10月。

(3) 受賞

- ・ 環境システム計測制御学会 2006年論文賞：池田和弘、清水芳久、日下部武敏、松井三郎：天然有機物質の質量分析条件の検討とその適用、環境システム計測制御学会誌、第10巻2号、66-72、2005。
- ・ 環境システム計測制御学会 2006年論文賞：山本裕史、H. M. Liljestrand、清水芳久：内分泌攪乱化学物質のNOMへの収着、環境システム計測制御学会誌、第10巻2号、73-78、2005。

I. 膜ろ過処理による水環境中溶存有機物質 DOM の抽出・濃縮方法
の開発

第1章 膜ろ過装置を用いた水環境中溶存有機物質の分画および濃縮

本研究では、膜装置システムによる溶存有機物質 (Dissolved Organic Matter, DOM) の分画・濃縮方法は、池田ら^{1), 2)}により構築されたものを使用した。本章では、この方法を水環境中溶存有機物質 DOM に適用した結果について記述する。

1-1 採水場所と採水方法

本研究では、まず溶存有機炭素 (Dissolved Organic Carbon, DOC) 濃度の低い琵琶湖の南湖水 DOM を分子量分画すること、特性解析 (特に、固体 NMR による解析) を行うためには各画分ごとに数百 mg 以上の濃縮固体試料が必要なこと等の理由から、必然的に処理水量が多くなることが予想された。そこで、前回の冬の琵琶湖南湖水の分画・濃縮結果³⁾を参考に目標処理水量を 1,000 L 程度に設定した。このために、後述する一連の分画・濃縮操作において 1 回あたりの処理水量を 340 L に設定し、合計 3 回の分画・濃縮操作を行った。しかし、このような多量の湖水を採水器などの小容量の容器を用いて行くと、それだけで莫大な労力と時間を浪費することになる。したがって、本研究では、京都大学大学院工学研究科附属環境質制御研究センターの敷地内に設置されている採水ポンプ設備を利用して琵琶湖南湖水の採取を行うことにした。採水地点の概略位置を図 1-1 に示す。



図 1-1 琵琶湖南湖水の採水地点

{大津市なぎさ公園の東沖合 50 m (水深約 2 m) 付近}

1-2 膜ろ過装置システムおよび分画・濃縮操作の概要

本研究で使用した、環境水中から溶存有機物質 (DOM) を分画・濃縮するための膜装置およびその操作条件等についてその概要を以下に記す。本研究では、DOM を研究対象としているため、分画・濃縮に使用した装置および器具等は可能な限り、ガラス製、ステンレス製あるいはテフロン製のものを用いた。表 1-1 に本研究で使用した膜装置の仕様をまとめて示す。

表 1-1 本研究で使用した膜装置の仕様

膜装置*	膜材質	膜支持体
SS 膜	ポリビニリデンクロライド	アクリル製平板型カセット
1K 膜	再生セルロース	ポリプロン製円筒型カセット
RO 膜	ポリアミド系	ステンレス製円筒型カセット

*SS 膜:0.22 μm 精密ろ過膜装置

1K 膜:分画分子量 1,000 Da 限外ろ過膜装置

RO 膜:NaCl 95%排除逆浸透膜装置

1-2-1 琵琶湖南湖水の採水および前処理

琵琶湖南湖水の場合、湖水を前処理せずに、表 1-1 に示した SS 膜装置により SS 除去操作を行うと少量の試料で膜が目詰まりしてしまうことが予想された。そこで、本研究では以下に示す前処理を行った。

採水ポンプにより環境質制御研究センター敷地内までポンプ輸送した湖水をステンレスバケツで直接採取し、すぐにステンレス製ふるい（飯田工業、目の開き 20 μm 、JIS Z8801）に通した。この際、原水のデータとして、ろ過前の pH、電気伝導度（Electric Conductivity, EC）、濁度（Turbidity）、溶存酸素（DO）および水温を水質チェッカ（堀場製作所、U-10 形）により計測した（図 1-2）。電気伝導度は増加傾向にあるが、それ以外の項目に関してはほとんど変化は見られなかった。したがって、採水中の水質は安定しているものと判断した。また、採水ポンプは採水を開始する 1 時間以上前に始動させておいた。これは配管中に残留していると思われる底質あるいは SS などを除去するためであり、濁度等の測定により 1 時間程度で安定することを予め確認しておいた。

次に、ふるいのろ液をガラス繊維ろ紙（Whatman 社、GF/B、孔径 1.0 μm 、 ϕ 150 mm）を用いて吸引ろ過を行い、そのろ液を 40 L ステンレスタンクに移入した。なお、ガラス繊維ろ紙は保湿剤等の有機物が試料水中に混入するのを避けるため、予め 450 $^{\circ}\text{C}$ で 6 時間熱処理し、湖水約 1 L で共洗いしたものを使用した。ステンレスタンクは洗剤で洗浄した後、引き続きアセトン、Milli-Q 水（ADVANTEC 社、cpw-200 AQUARIUS 超純水製造装置、18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上）により洗浄を行った。タンクが比較的大容量であるためにアセトンが残留していることが懸念されたため、さらに約 80 $^{\circ}\text{C}$ の Milli-Q 水ですすぎを行った。以上の採水および前処理操作は、全て室温で行った。前処理を施した試料水は、微生物等の繁殖や DOM の変性を抑えるため、前処理後すぐに 4 $^{\circ}\text{C}$ の恒温室に移し保管した。なお、以降の操作も同様の理由から恒温室で行った。

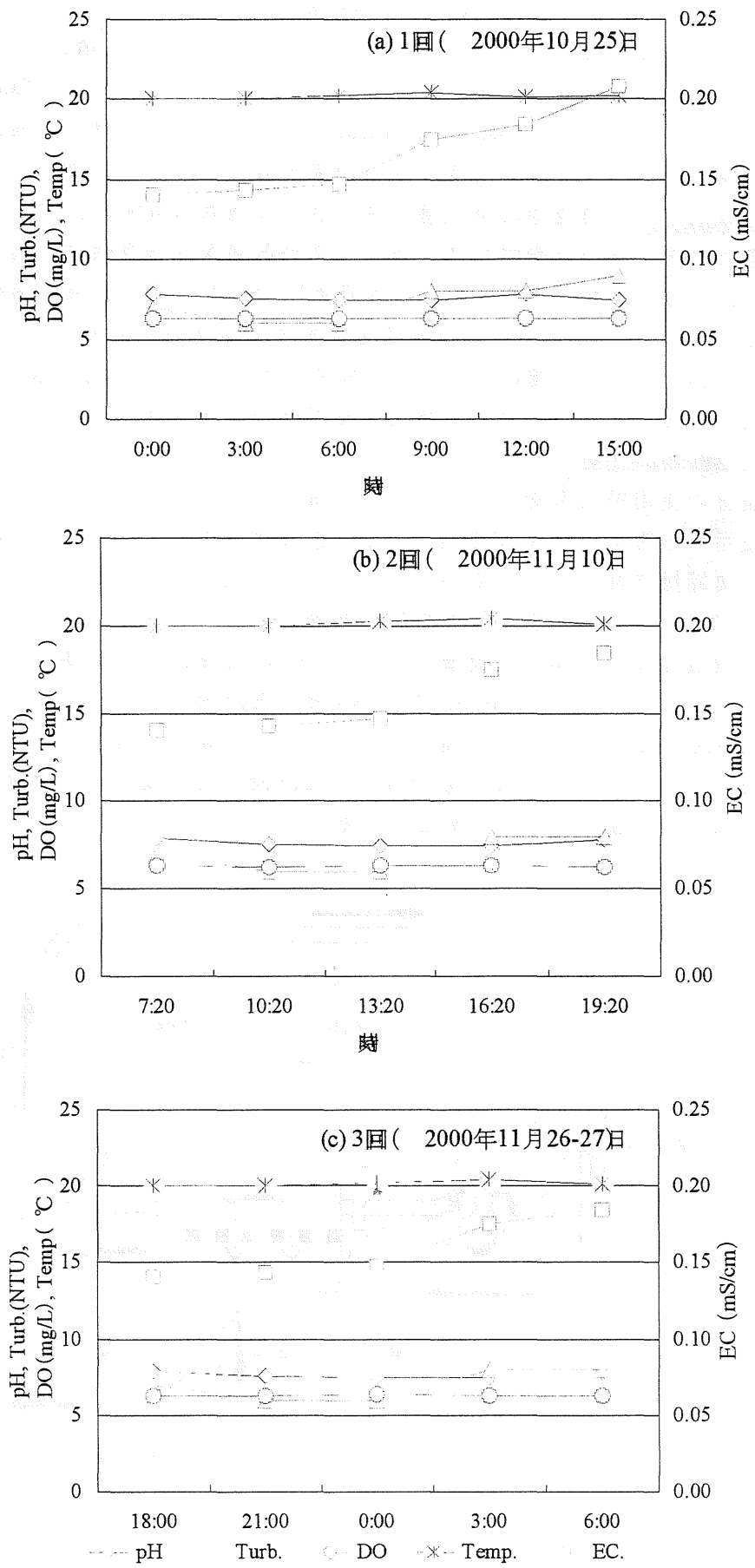


図 1-2 試料原水の水質データ

1-2-2 0.22 μm 精密ろ過膜装置による SS 除去

まず、本研究で用いたタンジェンシャルフロー式 0.22 μm 精密ろ過膜装置（以下、SS 膜とする）の概略を図 1-3 に示す。タンジェンシャルフローろ過（Tangential Flow Filtration, TFF）は、十字ろ過（Cross Flow Filtration）ともいわれ、原液が膜面と平行に流れることにより膜表面の汚れを取り除き、洗浄効果を有することが特徴である（図 1-4）。さらに、この方式は定常な膜透過流束を得やすいという利点も有する。池田ら^{1), 2)}は、膜装置の最適操作条件を、ろ過膜やポンプ、チューブから混入する有機性不純物が最少量となる条件として、回分式実験により求めた。本研究においてもその結果を踏襲しつつ、Millipore 社の TFF ユーザーハンドブックの推奨値を参考に操作条件を表 1-2 のように設定した。また本研究における処理水量は、ステンレスタンク（40 L）の容量と数、操作性等を考慮して、この次の段階である陽イオン交換操作終了後の処理水量が、340 L（34 L \times 10 個）となるように設定した。

膜装置の使用前（保管中）に膜から有機物が溶出することが考えられることから、膜装置を使用する直前には 45 $^{\circ}\text{C}$ 前後の Milli-Q 水で洗浄（フラッシング操作）を行った。また、分画・濃縮操作終了後も速やかにフラッシング操作を行った。これは、膜システム中に残留した DOM が膜へ吸着するのを防ぐためである。さらに、フラッシング操作では除去できない膜表面および膜中に吸着している DOM を除去する必要がある。そこで、膜を使用前の状態に戻すために Millipore 社が SS 膜の洗浄剤として推奨している NaClO 水溶液（活性塩素 400 ppm 以上）で洗浄操作（クリーニング操作）を行い、洗浄剤を取り除くために引き続きフラッシング操作を行った。洗浄操作終了後、微生物等の繁殖を防ぐために膜装置は次の使用まで 4 $^{\circ}\text{C}$ の恒温槽で保管した。

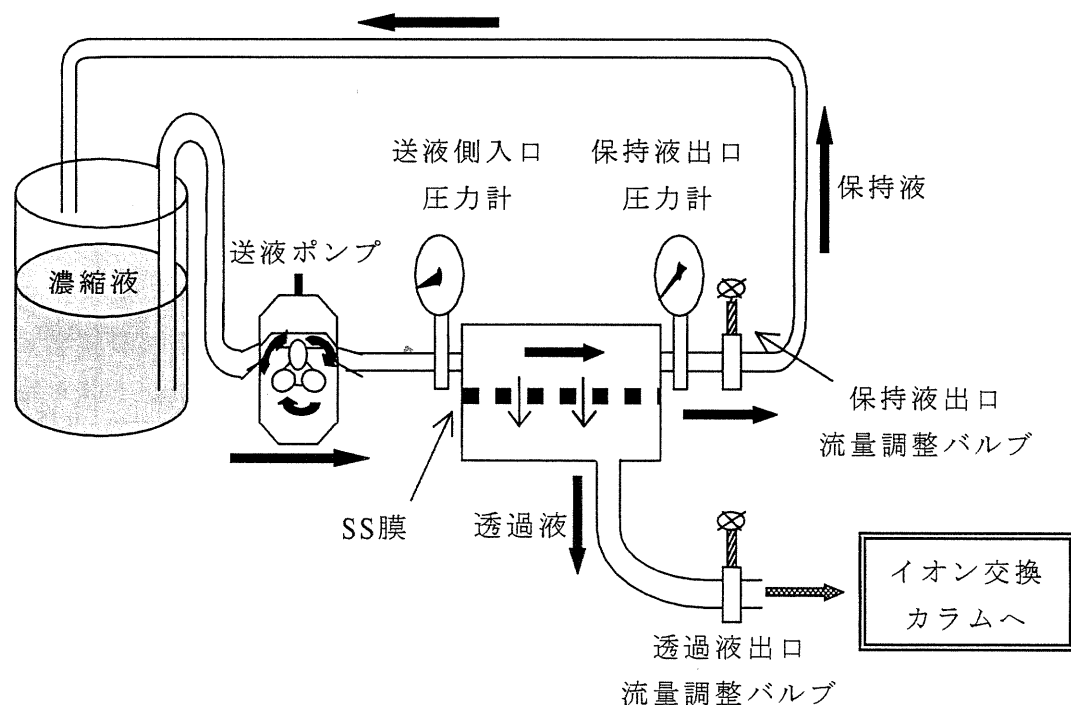


図 1-3 タンジェンシャルフロー式 0.22 μm 精密ろ過膜の概略図

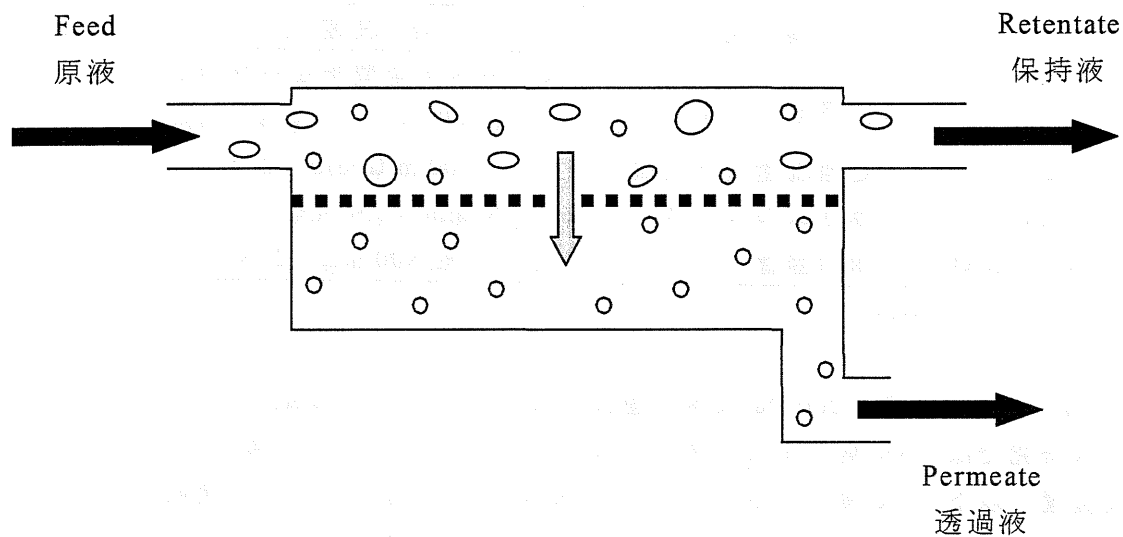


図1-4 タンジェンシャルフローろ過方式の模式図
(Tangential-Flow Filtration, TFF)

表 1-2 SS 膜の操作条件

操作因子	設定値
入口圧力 P_{in} (psi)	8
出口圧力 P_{out} (psi)	5
保持液流速 (L/min)	6 以上
透過液流速 (mL/min)	500-600

1-2-3 陽イオン交換

琵琶湖水中には Na^+ をはじめとする多種多様な陽イオンが存在している。本研究において、最終の膜装置として使用する逆浸透膜装置では $NaCl$ が 95% 排除（濃縮）されるものを使用することから、湖水をそのまま濃縮すれば、逆浸透膜装置の最終的な濃縮液はかなり高い塩濃度になることが予想される。一般に、pH やイオン強度の変化にともない DOM の形態や凝集性が変わること⁴⁾、および陽イオンと膜表面との相互作用により膜分離特性が変化すること⁵⁾が知られている。そこで、本研究では SS 膜透過液を陽イオン交換樹脂（Dowex 社、50WX8、Mesh Size:50-100、H-form）を用いて表 1-3 に示す操作条件で陽イオン交換操作を実施した。陽イオン交換樹脂は、1 N NaOH と 1 N HCl をベッドボリュームの 3 倍量ずつ交互に 3 回流下させることによりコンディショニングを行ったものを使用した。ただし、各コンディショニング溶液を流した後は、pH 試験紙で pH が 7 付近になるのを確認するまで Milli-Q 水を流し続けた。

表 1-3 陽イオン交換の操作条件

操作因子	設定
送液ポンプ	スピード可変型チューブポンプ (ペリスタックポンプ)
処理流速 (下向流)	100 mL/min × 2 本
カラムの大きさ	500 mm × φ50 mm × 2 本
樹脂容量	約 800 mL × 2 本

1-2-4 分画分子量 1,000 Da 限外ろ過膜装置による分画・濃縮

本研究では、SS 膜と同様にタンジェンシャルフロー式の分画分子量 1,000 Da 限外ろ過膜装置 (以下、1K 膜とする) により、DOM の分子量分画および濃縮操作を行った。この 1,000 Da という数値は、環境水中に存在するフミン酸およびフルボ酸の分子量が約 30,000 ~ 1,000 Da の範囲にあるとの報告に基づいて設定したものである⁶⁾。ここでフミン酸およびフルボ酸とは、本研究の最終目標であるフミン質のサブグループで、水への溶解性により表 1-4 のように分類されているものを指す。

表 1-4 フミン質 (Humic Substance) の分類

名称	定義
フミン酸 (humic acid)	pH2 (あるいは 1) で沈殿する画分
フルボ酸 (fulvic acid)	pH2 (あるいは 1) でも沈殿しない画分
ヒューミン (humic)	全ての pH で水に不溶な画分

本研究で用いた 1K 膜の概略図および操作条件をそれぞれ図 1-5 および表 1-5 に示す。1K 膜では、最終的な濃縮液が約 2 L になるまで濃縮操作を続けた。濃縮倍率が変わると膜分離される成分の組成や性質が変わる⁷⁾という報告があることから、各回毎の濃縮操作においてできる限り濃縮倍率が一定となるようにした。1K 膜装置の濃縮液 (以下、1K Ret. とする) 回収後、膜表面上に物理的に吸着した成分を回収するために、1 L の Milli-Q 水で膜表面の洗浄を行った (以下、1K Ret. 水とする)。この洗浄水を回収した後、膜に化学的に吸着した成分を 0.1 N NaOH (2 L) で膜表面を 1 時間洗浄することにより脱着させた (以下、1K NaOH とする)。さらに、1 L の Milli-Q 水で膜の洗浄操作を施した (以下、1K NaOH 水とする)。以上より、1K 膜装置からは、4 つの画分が採れることになる (表 1-6)。ただし、NaOH を用いて処理を行った画分については処理後、NaOH によって DOM が加水分解するおそれがあるために、直ちに陽イオン交換樹脂により陽イオン交換操作を行った。本研究では一連の操作を合計 3 回行ったので、何回目の分画・濃縮操作のときの試料かを明確にするときには、必要に応じて画分名のあとに (nth) を付記することにする。例えば、

2回目の1K膜濃縮液の場合、1K Ret. (2nd) と表記する。ここで、NaOHやMilli-Q水による膜吸着成分の脱着操作は、DOMの回収率を高めるために行ったものである。前回の結果³⁾と比べて、本研究ではNaOH抽出成分の回収した全DOMに占める割合が減少した。これは、Milli-Q水により脱着する膜に物理的に吸着している成分の回収率が増加したことによるものであった。

SS膜と同様に、保管中に有機物が溶出していることが考えられることから、膜装置を使用する直前に45℃前後のMilli-Q水でフラッシング操作を行った。また、処理操作終了後速やかにフラッシング操作を行った。これは、膜システム中に残留したDOMが膜へ吸着するのを防ぐためである。さらに、膜表面および膜中に残っているDOMを除去し、膜を使用前の状態に戻すためにMillipore社が推奨している0.1N NaOHでクリーニング操作を行い、洗浄剤を取り除くために引き続いてフラッシング操作を行った。洗浄操作終了後、微生物等の繁殖を防ぐため4℃の恒温室で保管した。

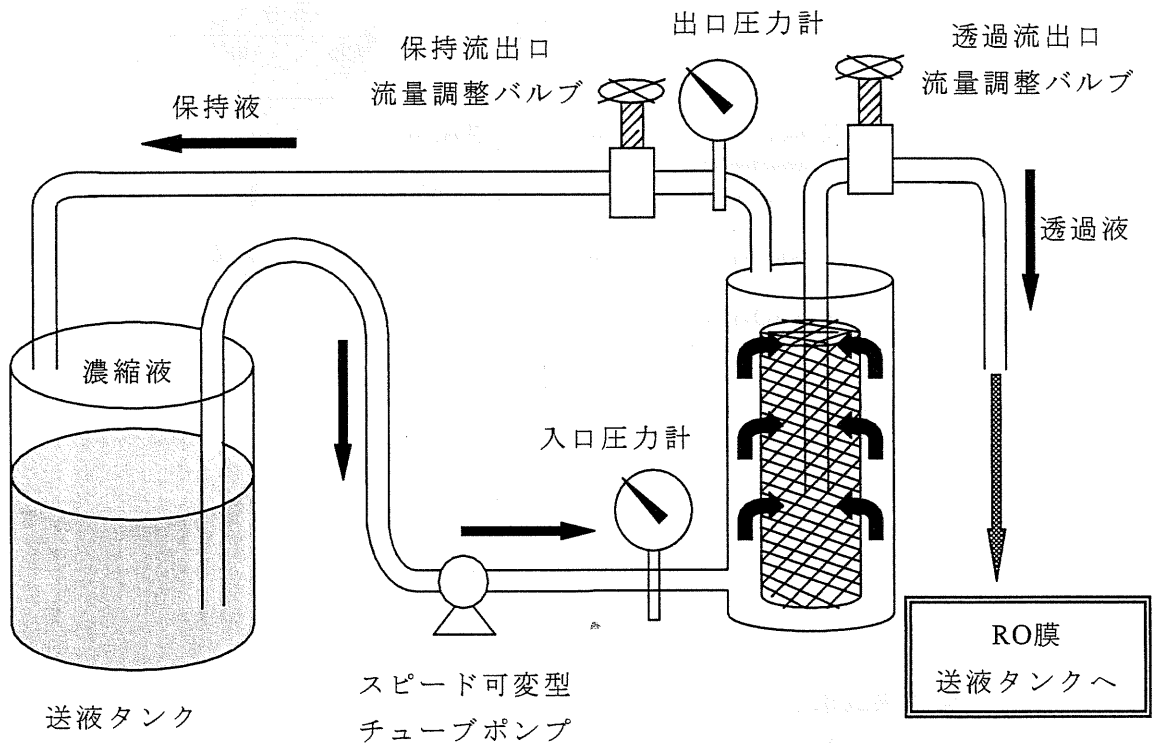


図 1-5 タンジェンシャルフロー式分子量分画 1,000 Da 限外ろ過膜装置の概略図

表 1-5 1K 膜の操作条件

操作因子	設定値
入口圧力 P_{in} (psi)	45
出口圧力 P_{out} (psi)	35
保持液流速 (L/min)	4
透過液流速 (mL/min)	80

表1-6 1K膜から得られる画分

画分名	内容
1K Ret.	1K膜による濃縮液
1K Ret.水	1K膜表面に物理的に吸着する成分
1K NaOH	1K膜表面に化学的に吸着する成分
1K NaOH水	1K NaOH回収後に膜中に残留する成分

1-2-5 逆浸透膜装置による分画・濃縮

本研究で用いた NaCl 95% 排除逆浸透膜装置（以下、RO 膜とする）の概略図および操作条件をそれぞれ図 1-6 および表 1-7 に示す。この RO 膜は、NaCl、MgSO₄、グルコースおよびスクロースの 1,000 mg/L 水溶液の溶質を 90% 以上保持する（即ち、透過させない）機能を持ち、有機物についての分画分子量は 100 Da に相当する。分子量が 100 Da 付近の代表的な有機化合物を表 1-8 にまとめた。おそらく、これらの分子よりも分子量が小さくかつフミン質の性質を持ち合わせている化合物は考え難いので、本研究の最終目標と照らし合わせて、分画分子量 100 Da という値は妥当であると考えた。

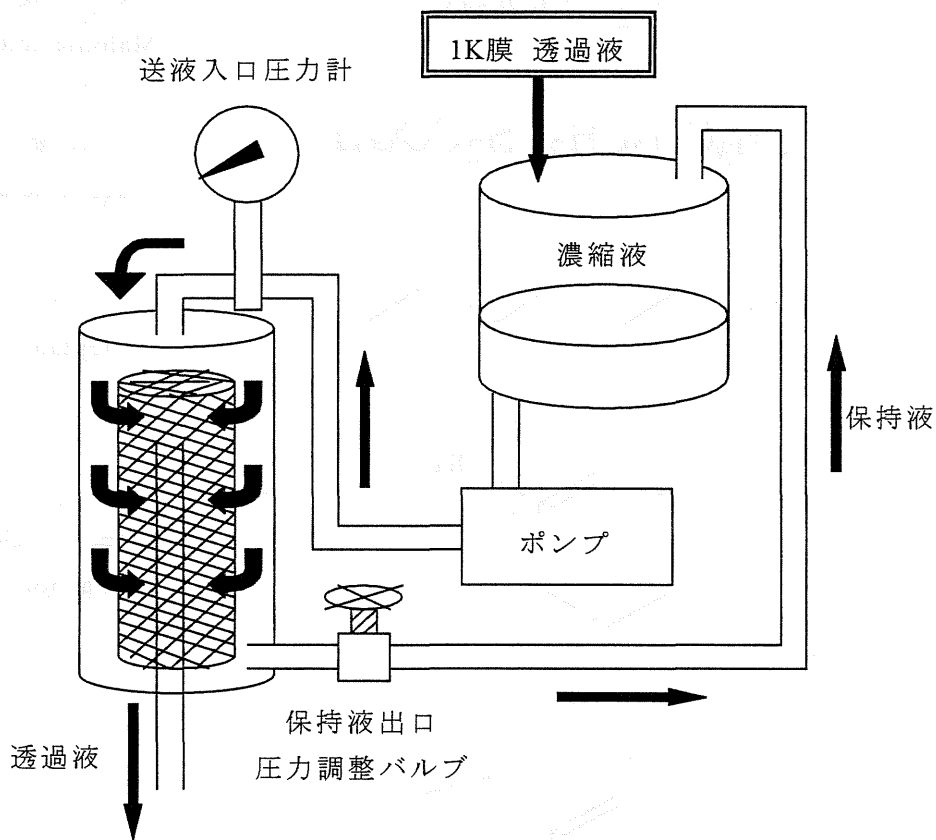


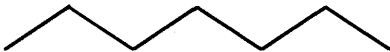
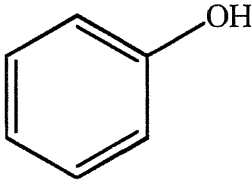
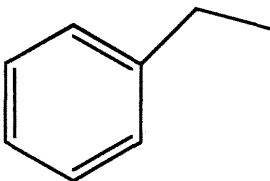
図 1-6 タンジェンシャルフロー式 NaCl 95%排除逆浸透膜装置の概略図

表 1-7 RO 膜の操作条件

操作因子	設定値
ポンプ周波数 (Hz)	19
入口圧力 P_{in} (psi)	393 (= 27 bar)
保持液流速 (L/min)	4 [☆]
透過液流速 (mL/min)	100

☆ Milli-Q 水通水時

表 1-8 分子量 100 Da 付近の有機化合物

構造式	化合物名	分子量
$\text{CH}_2(\text{COOH})_2$	マロン酸 Malonic acid	104
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$	吉草酸 Valeric acid	102.1
	ヘプタン Heptane	100.1
	フェノール Phenol	94.04
	エチルベンゼン Ethyl benzene	106.1

RO膜では、最終的な濃縮液 (RO Ret.) を 1 L に設定した。濃縮液回収後、1K膜の場合と同様に Milli-Q 水 1 L で膜表面に物理的に吸着している成分を回収した (RO Ret.水)。引き続き、膜表面に化学的に吸着している成分を pH11 の NaOH 水溶液 1 L で 1 時間処理することにより脱着させて回収した (RO NaOH)。さらに、1 L の Milli-Q 水で膜の洗浄操作を施した (RO NaOH 水)。以上、RO 膜からは、1K 膜と同様に 4 つの画分が採れることになる (表 1-9)。また、NaOH で処理を行った画分に関しては、処理後直ちに陽イオン交換操作を行った。ここで、1K 膜と同様に前回の結果と比較すると、本研究における NaOH 抽出成分の回収率が減少し、Milli-Q 水により脱着する成分の回収率が増加したことが分かった。

表 1-9 RO 膜から得られる画分

画分	内容
RO Ret.	RO 膜による濃縮液
RO Ret.水	RO 膜表面に物理的に吸着する成分
RO NaOH	RO 膜表面に化学的に吸着する成分
RO NaOH 水	RO NaOH 回収後に膜中に残留する成分

最後に、RO膜においても保管中に膜から有機物が溶出することが考えられることから、膜装置を使用する直前には 45℃前後の Milli-Q 水で洗浄（フラッシング操作）を行った。SS 膜および 1K 膜と同様に、処理操作終了後すみやかにフラッシング操作を行った。さらに、膜表面および膜中に残っている DOM を除去し、使用前の状態に戻すために Millipore 社が RO 膜の洗浄剤として推奨している NaOH (pH10~11) と HCl (pH3~4) でクリーニング操作を行った。ただし、NaOH 洗浄と HCl 洗浄の間とクリーニング操作終了後にフラッシング操作を行った。全ての洗浄操作終了後、微生物等の繁殖を防ぐため 4℃の恒温室で保管した。

1-2-6 凍結乾燥

本研究では、次章以降で述べるように膜装置により分画・濃縮された琵琶湖 DOM の元素分析や FT-IR、固体 NMR などによる分析を行う。これらの分析には固体試料が必要であり、分画・濃縮した DOM を固体あるいは粉末状態にしなければならない。本研究では、変性・失活しやすい生物活性生体高分子や微生物の乾燥に繁用される凍結乾燥法を DOM の乾燥方法として選択した。凍結乾燥法とは、凍結させた溶液試料を減圧下に置くことで、その試料の氷点以下の温度において固体から水分を除去（昇華作用を利用）する方法である。乾燥中の試料温度が低温に保たれるため、熱に不安定な試料に適用されることが多い。したがって、フミン質や DOM の乾燥方法としても広く使われているが、タンパク質によっては変性するものがあるなど注意が必要である⁸⁾。各膜装置で回収した濃縮液を容量 1 L のナス型フラスコに数百 mL ずつ入れ、予備凍結装置（東京理科器械、cool ace FDU-540）で凍結させた後、凍結乾燥機（東京理科器械、Freeze dryer FDU-830）により減圧・乾燥して固体（粉末）試料を得た。

1-2-7 琵琶湖溶存有機物質の分画・濃縮システムのまとめ

本研究で用いた琵琶湖 DOM の分画・濃縮システムの全体の流れを図 1-7 にまとめた。
 図 1-7 には、各膜装置において得られる画分名についても付記した。

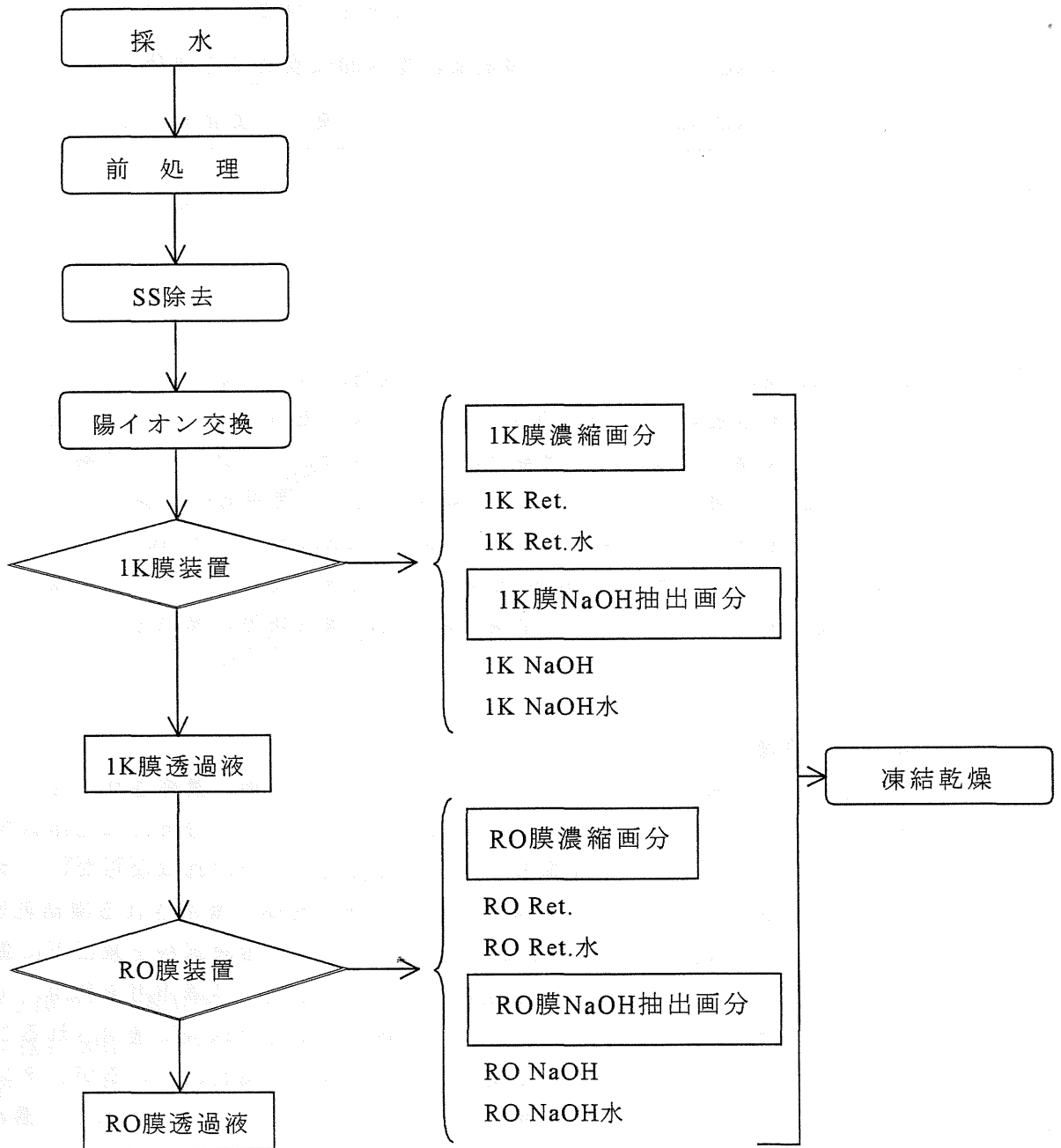


図1-7 膜装置システムによる分画・濃縮操作の流れ

1-3 琵琶湖南湖水 DOM の分子量分画・濃縮結果

前述の膜装置システムを用いた琵琶湖南湖水の分画・濃縮結果を示す。なお、本章では分析項目として質量分析と DOC の物質収支を採用した。

1-3-1 琵琶湖溶存有機物質の質量分析

本研究で用いた膜装置の有効性を検証するためには、膜装置により DOM が分子量に応じて分画されているかどうかを確認することが必要である。そのため本研究では、DOM の質量分析を行った。

1-3-1-1 質量分析法の概要

質量分析計では、試料をイオン化室においてイオン化させた後、静電場により加速しイオンを磁場に導入する。この際、磁場中のイオンは円運動を行う。その半径が m/z に依存することを利用して質量差に基づく分離・検出を行うのが質量分析法である。本研究では、DOM の質量分析にエレクトロスプレーイオン化法四重極質量分析計 (Thermoquest 社、TSQ7000) を用いた。この質量分析計は、イオン化法としてエレクトロスプレー法を、質量分析計に操作性の良い四重極質量分析計を採用している。この質量分析計の特徴は優れたイオン化法であり、イオン化の際に測定対象物質のフラグメントを生じさせにくいイオン化法として知られている⁹⁾。このイオン化法では、揮発しやすい溶媒と塩を添加した試料水溶液をイオン化部に導入し、試料溶液を霧状にして小さな液滴にする。イオン化部は高電圧に印加されており、液滴は塩や水素イオン、水酸化物イオンなどで帯電し、個々の液滴では正負どちらかの電荷が卓越する。ここで測定対象物質はこれらのイオンと結合して電荷をもつようになる。一方、四重極質量分析計では、電圧をかけた4つの棒状電極(四重極)を用いる。この四重極に直流電圧とラジオ周波電圧の両方をかけてイオンに複雑な振動をさせる。この振動が m/z に依存することからイオンの分離・検出を行う¹⁰⁾。

1-3-1-2 試料調製

(1) 酢酸アンモニウム緩衝液

6 mM の酢酸アンモニウム水溶液をアンモニア水 (25%) により pH 調整を行った。その結果、緩衝液の pH は 9.1 であった。

(2) 琵琶湖溶存有機物質溶液

凍結乾燥した DOM 約 70 mg に酢酸アンモニウム緩衝液 100 mL を添加し、超音波洗浄器 (VWLCO 社、Vs-N300L) に 30 分間かけた後、一昼夜静置した。この溶液中には DOM の溶け残りとコロイド状のものが分散しているのが確認された。そこで、ポリカーボネート製精密ろ過膜 (Millipore 社、ISOPORE MEMBRANE FILTER、孔径 1.2 μm) を用いてこれらをろ過分離し、ろ液を質量分析試料とした。同時に、緩衝液のみをろ過したブランク試料も調製した。

(3) 質量分析試料

上記(2)の DOM 溶液に同体積のメタノールを添加し、質量分析に供した。以上、試料調製には和光純薬工業の特級以上の試薬と Milli-Q 水を使用した。

1-3-1-3 分析条件

池田¹⁾は、質量スペクトル(分子量分布)、トータルイオン強度および平均分子量を指標として用い、これらが最適となるように質量分析条件を決定した。本研究においても、同様にして質量分析条件を決定した(表 1-10)。1-3-1-2 で調製した試料をシリンジポンプ(HARVERD APARATUS22)により 5 $\mu\text{m}/\text{min}$ の流速で連続的に導入した。測定は、正のイオンを分離・検出するポジティブイオンモードで行った。測定範囲は、 m/z が 100~2,000 Da で、5 秒間に 1 回走査し 30 回の積算により質量スペクトルを得た。なお、本研究で使用したエレクトロスプレーイオン化法四重極質量分析計では m/z 値で 4,000 Da まで測定可能であるが、その全範囲を含む測定では分解能の低下を免れないことから、本研究ではその測定範囲を 2,000 Da までとした。

表1-10 質量分析条件

操作因子	設定
測定モード	ポジティブイオンモード
測定範囲 (m/z)	100-2,000
試料導入流速 ($\mu\text{m}/\text{min}$)	5
積算回数 (回)	30

1-3-1-4 琵琶湖溶存有機物質の質量分析結果と考察

各膜装置において得られた 2 つの画分 {1K Ret. (1st) および RO Ret. (1st~3rd 混合試料)} の質量分析結果を図 1-8 に示す。 m/z が 100~2,000 Da の測定範囲で数平均分子量を算出した結果、1K Ret. (1st) および RO Ret. の数平均分子量は、それぞれ 997 Da および 889 Da となった。これらの値から、膜装置により DOM が完全に分子量分画されたとは言うことはできないが、数平均分子量にして 100 Da 以上の差があることが分かる。本研究において DOM の分子量分画を行ったのは、DOM をより高分子量の画分とより低分子量の画分に分け、それぞれの画分中の DOM の特性がどれくらい違うのか、あるいは同じかを解明するためである。したがって、分子量 1,000 Da において完全に分画されている必要はなく、この結果は、本研究の目的に合致しているものであると言える。図 1-8 の 2 つの質量スペクトルから明らかなように {特に 1K Ret. (1st) の場合}、 m/z が 2,000 Da よりも大きな範囲においてもスペクトルが連続的に分布していることが示唆される。したがって、 m/z の測定範囲を拡大することによって、1K Ret. (1st) の数平均分子量が上昇(両画分の数平

均分子量の差が拡大)し、本研究で実施した膜分離の有効性がより確実なものになると考えられる。

質量スペクトルの縦軸は、検出したシグナルの中で強度が最も強いイオンの強度を 100 として、相対的なイオン強度で表示される。ここでは、2 つの画分の分子量分布を直接比較するために、図 1-8 の質量スペクトルの縦軸を検出されたイオン強度そのものに変換して両者のスペクトルの比較を行った(図 1-9)。図 1-9 より、両画分ともに m/z が 100~2,000 Da の測定範囲に広く分布することが分かる。それぞれのスペクトルを見ると、分布の仕方に違いがあるのが分かる。測定範囲全般にわたり 1K Ret. (1st) のイオン強度は高いことが分かる。また、RO Ret. (図 1-9; 赤色のスペクトル) では、低分子領域 (<1,000 Da) において、ある周期(約 120 Da 間隔)をもった断続的なシグナルが存在している。これは、低分子量領域の DOM の高次構造が無秩序なものではなく、ある構造単位をもった高分子からなっていることを示唆するものである。一方、1K Ret. (1st) (図 1-9; 青色のスペクトル) では、RO Ret.に見られた周期的なシグナルはなく、比較的一様な分布をしていることが分かる。

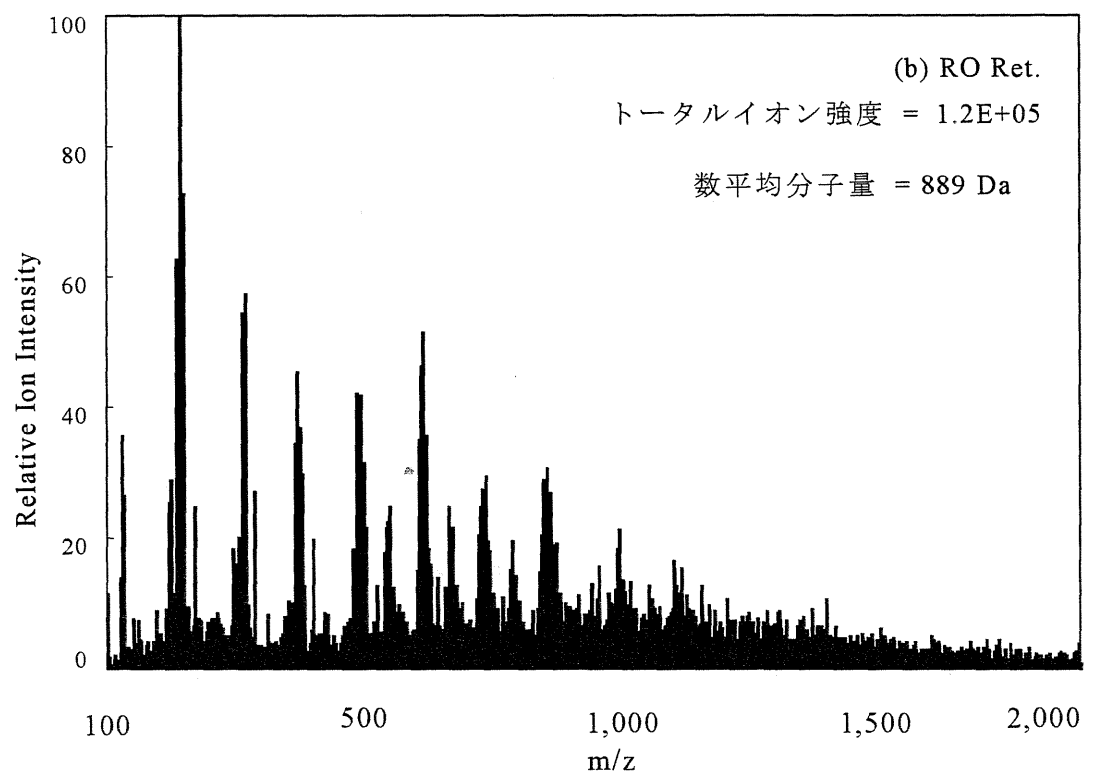
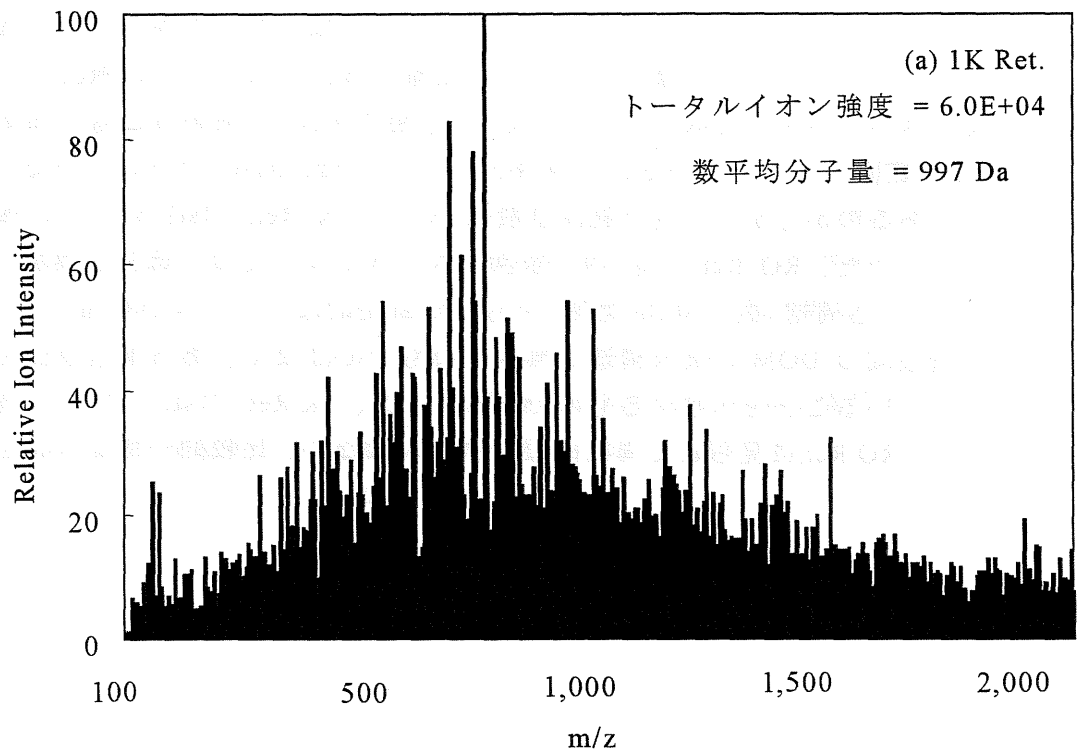


図 1-8 各膜装置濃縮画分の質量スペクトル

1-3-2 膜装置を用いた分画・濃縮操作における溶存有機炭素の物質収支

前述の膜装置により分画・濃縮した琵琶湖 DOM の各画分の DOC を全有機体炭素計（島津製作所、TOC-5000A）によって分析し、物質収支および回収率を評価した結果を示す。ただし、サンプリング操作に一部不備があったため、2 回目の分画・濃縮結果については省略する。

1-3-2-1 1K 膜装置における物質収支

1K Ret. と 1K Ret. 水の画分を足し合わせたものを 1K 膜濃縮画分、1K NaOH と 1K NaOH 水の画分を足し合わせたものを 1K 膜 NaOH 抽出画分とする（表 1-11）。1 回目および 3 回目の操作における各画分中の溶存有機炭素量を表 1-12 および表 1-13 に示す。

表 1-11 物質収支をとる際の画分名

膜分離画分	物質収支画分
1K Ret. 1K Ret. 水	1K 膜濃縮画分
1K NaOH 1K NaOH 水	1K 膜 NaOH 抽出画分

表 1-12 1K 膜装置の各画分中の溶存有機炭素量（1 回目）

画分	DOC (mgC)
脱 SS・陽イオン交換後	612±45
1K 膜濃縮画分	275±28
1K 膜 NaOH 抽出画分	15±4
1K 膜透過液	461±45

(平均値±標準偏差)

表 1-13 1K 膜装置の各画分中の溶存有機炭素量（3 回目）

画分	DOC (mgC)
脱 SS・陽イオン交換後	651±88
1K 膜濃縮画分	171±47
1K 膜 NaOH 抽出画分	14±4
1K 膜透過液	497±88

(平均値±標準偏差)

各回ごとに 1K 膜装置の物質収支をとると、1 回目の回収率が 122%、3 回目が 105%であった。ここで物質収支をとる際の回収率は、膜装置に入ってくる DOC 量に対する膜装置により濃縮された成分の DOC 総量と膜を透過した DOC 量の和の比であると定義した。回収率は上述のように 2 回とも 100%を超えた。これは、DOC の測定や各画分の体積計量時の誤差などが影響しているのかもしれないが、直接的な原因は不明である。もし、今後も常に 100%を超えるのであれば、それら以外の本質的なところに原因があるのかも知れない。たとえば、膜装置から有機性不純物が溶出していることなどが考えられる。ただし、池田ら^{1), 2)}は、膜から溶出する成分がほとんどないことを確認している。

1-3-2-2 RO 膜装置における物質収支

まず、RO Ret.と RO Ret.水の画分を足し合わせたものを RO 膜濃縮画分、RO NaOH と RO NaOH 水の画分を足し合わせたものを RO 膜 NaOH 抽出画分とする (表 1-14)。1 回目および 3 回目の操作における各画分中の溶存有機炭素量を表 1-15 および表 1-16 に示す。

表 1-14 物質収支をとる際の画分名

膜分離画分	物質収支画分
RO Ret.	RO膜濃縮画分
RO Ret.水	
RO NaOH	RO膜NaOH抽出画分
RO NaOH水	

表 1-15 RO 膜装置の各画分中の溶存有機炭素量 (1 回目)

画分	DOC (mgC)
1K 膜透過液	461±45
RO 膜濃縮画分	314±25
RO 膜 NaOH 抽出画分	16±3
RO 膜透過液	186±45

(平均値±標準偏差)

表 1-16 RO 膜装置の各画分中の溶存有機炭素量 (3 回目)

画分	DOC (mgC)
1K 膜透過液	497±88
RO 膜濃縮画分	249±26
RO 膜 NaOH 抽出画分	36±5
RO 膜透過液	309±87

(平均値±標準偏差)

各回ごとに RO 膜装置の物質収支をとると、1 回目の回収率が 112%、3 回目が 120%で

あった。RO膜装置においても2回とも回収率が100%を超えた。これに関する原因についてはRO膜装置においてもさらなる検討が必要である。

1-3-2-3 膜装置システム全体における物質収支

本研究で用いた膜装置システム全体の物質収支を表1-12～表1-13および表1-15～表1-16から求めた。その結果、1回目の回収率が132%で3回目が120%であった。1K膜およびRO膜装置の結果から予想されたように、両膜装置ともに100%を超える結果が得られた。

1-3-3 DOC分布の比較

ここでは、今回と前回の分画・濃縮の結果、明らかになったDOC分布の比較を行う。前回の結果を図1-10に、今回の結果を図1-11に示す。ただし、今回の2つの試料の回収率が100%を超えたため、ここでは膜により回収されたDOMとRO膜を透過した成分のみを考慮した。前回の分画分子量は、30,000 Da、1,000 Daおよび100 Daであったため、ここでは、30,000 Daと1,000 Daの画分をあわせて一つの画分として扱った。

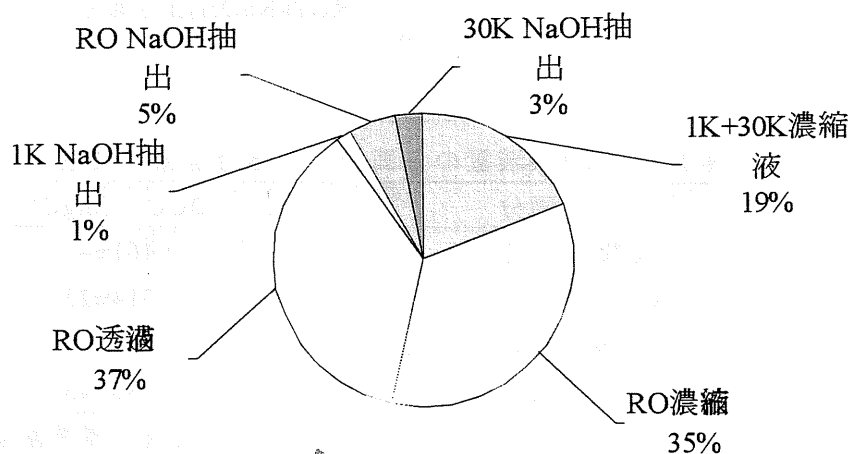


図 1-10 前回琵琶湖南湖水中のDOC分布 (1月19日採水)

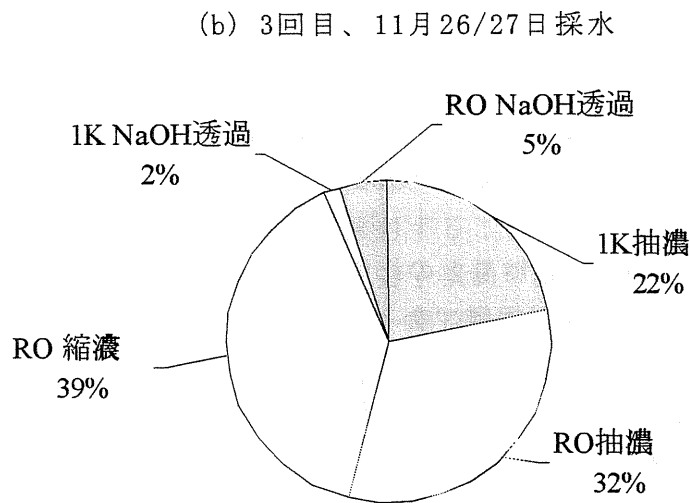
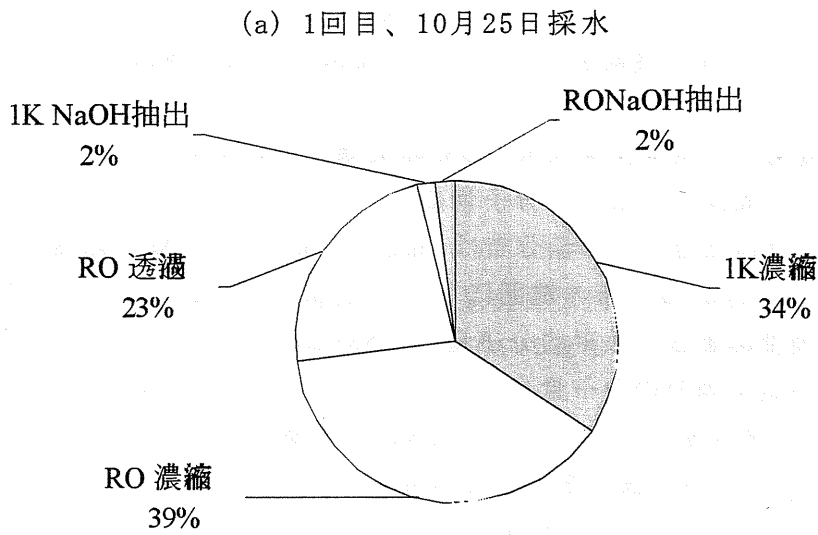


図1-11 度琵琶湖南湖水中のDOC分布 (1回目および3回目)

図 1-10 と図 1-11 から、今回 2 回分と前回の各成分の分布はほぼ等しいことが分かる。また、今回 1 回目の 1K 膜濃縮画分の割合が高く、RO 透過液の割合が低いことが分かる。しかし、これら 3 つのケースについて、全体的な分布に大きな相違があるか否かについては、採水当日の気象条件等を考慮して判断を下す必要がある。今後は、これらの気象データの収集も併せて、季節変動等も考慮した採水を実施する必要があると考えられる。

1-4 まとめと今後の課題

本章では、膜孔径の異なる2つの膜装置を直列に組み合わせて琵琶湖南湖水中の溶存有機物質の分子量分画・濃縮を行った。その結果と今後の課題を以下に列挙する。

(1) 分画・濃縮した琵琶湖南湖水 DOM の質量分析について

- ・ 1K 膜濃縮画分の数平均分子量は、997 Da であった。
- ・ 1K 膜濃縮画分の分子量分布は、 m/z が 100~2,000 Da の範囲で一様に分布しており、 m/z が 2,000 Da 以上の範囲にも広く分布していることが示唆された。
- ・ RO 膜濃縮画分の数平均分子量は、889 Da であった。
- ・ RO 膜濃縮画分の分子量分布は、 m/z が 100~1,000 Da の範囲では周期性をもったシグナル群が検出された。これは RO 膜濃縮画分中の成分に、ある構造単位をもつ繰り返し構造が存在することを示唆するものであった。
- ・ 2つの膜装置による分子量分画は、本研究の目的を達するために有効な方法であることが分かった。これは、質量分析から DOM の高分子領域と低分子領域の画分で化学構造に関して違いがあることが示唆されたことによる。

(2) 琵琶湖南湖水 DOM の分画・濃縮における物質収支について

- ・ 1K 膜および RO 膜装置ともに回収率が 100%を超えた。
- ・ Milli-Q 水を用いて膜に物理的に結合した成分の回収は、膜装置の回収率を増加させた。
- ・ 前回の分画・濃縮結果との比較を行ったが、各成分の分布に有意な差があるか否かについては判断が困難であった。

(3) 今後の課題

- ・ より明確に分子量分画できるシステム・手法を確立する。
- ・ 分画・濃縮操作において回収率が 100%を超えた原因を究明し、システムの改良につなげる。
- ・ 高分子量領域 (>2,000 Da) における分子量分布あるいは数平均分子量の評価手法を確立する。
- ・ 本研究では秋から冬にかけて採水を行った結果、試料水間に大きな相違は認められなかったが、春や夏といった異なる季節の試料を解析することにより、DOC 分布の季節変動の有無を検証する。

第2章 水環境中溶存有機物質の構造特性

本研究では、前章で述べた方法により分子量分画した琵琶湖南湖水 DOM の構造特性を明らかにすることを目的に、フーリエ変換赤外吸光分光法、プロトン-核磁気共鳴分光法および炭素 13-核磁気共鳴分光法の適用を試みた。本章では、これらの手法について概略を述べるとともに、その適用結果について述べる。

2-1 フーリエ変換赤外吸光分光法 (FT-IR)

ここでは、フミン質あるいは DOM の官能基分析に使用される FT-IR についてその測定原理を述べる。また、これを琵琶湖南湖水 DOM に適用した結果を示す。

2-1-1 FT-IR の測定原理¹⁰⁾

分光法とは、簡単に言うと電磁波と分子の相互作用を調べることにより、分子の構造に関する何らかの情報を得る手法のことである。一般に分子のエネルギー (E) は、並進エネルギー (E_{tr})、回転エネルギー (E_{rot})、振動エネルギー (E_{vib}) および電子エネルギー (E_{ele}) の総和に等しい¹¹⁾。

$$E = E_{tr} + E_{rot} + E_{vib} + E_{ele} \quad (2.1)$$

赤外吸光分光法 (IR) は、ある領域の電磁波を吸収することにより、有機分子の振動エネルギー準位間の遷移が起こることを利用したものである。通常、有機分子の振動エネルギー準位の励起にともなって吸収される電磁波は、約 $10,000 \sim 100 \text{ cm}^{-1}$ の範囲で赤外領域に分類される。つまり、有機分子に赤外線を照射することにより、分子の振動特性に関する情報を得ることができる訳である。この他、分子振動の励起は、加熱、反応、電子励起などにともなって起こる。分子振動のエネルギー準位は量子化されているが、一つの振動エネルギー状態の変化にともなって、多数の分子回転のエネルギー状態に変化が起こるので、振動スペクトルは線状というよりはむしろ帯状になって現れる。有機化学の分野では、赤外領域 (約 $10,000 \sim 100 \text{ cm}^{-1}$) のなかでも特に $4,000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ の領域に関心もたれている。最近では、近赤外領域 ($14,290 \sim 4,000 \text{ cm}^{-1}$) や遠赤外領域 ($700 \sim 200 \text{ cm}^{-1}$) における研究も盛んに行われている。振動エネルギー準位間の励起にともない吸収される電磁波の振動数 (あるいは波長) は、原子の相対質量、化学結合の力の定数および原子間の幾何学的配置に依存する。したがって、赤外スペクトルを解釈することにより、分子中にどのような振動運動をしている原子団が存在しているかが分かり、それによりどんな官能基が存在しているかが分かる (定性分析)。IR 測定では、各吸収帯 (官能基) ごとに Lambert-Beer 則が成り立ち、赤外吸収帯の強度を透過率 (%T) または吸光度 (A) で表される。(定量分析)。

分子振動には、伸縮と変角という2種類の振動モードがある。伸縮振動は原子間の距離が増減する振動で、変角振動は結合角の周期的な変動によるものである。分子が大きくなるにつれて原子間の結合が増えることになり、その数だけ吸収帯が存在することになる。そのため、比較的簡単な有機分子でも非常に複雑なスペクトルを示す。赤外スペクトルの解釈では、このスペクトルの複雑さを利用して物質の同定を行う。ただし、IR では厳密には、分子振動のうち分子の双極子モーメントを変化させる振動しか観測できない。これを

補うものとしてラマン分光法がある。赤外活性振動はラマン不活性振動であり、その逆も成り立つ（交互禁制律）。つまり、赤外吸光分光法とラマン分光法を組み合わせることにより、全ての分子振動を網羅することが可能となる。ただし通常の官能基分析では、赤外吸光分光法だけで充分である。しかし、有機物の構造解析には IR 単独で使うことは稀で、質量分析法、核磁気共鳴分光法、および可視-紫外吸光分光法のデータと組み合わせて使われることが多い。

一昔前までは、分散型 IR が広く使われていたが、最近では FT-IR が急速に普及している。FT-IR が分散型 IR と比べて有利な点を以下に示す。

- ・ 明るい分光計
- ・ 短時間で測定可能
- ・ 波数軸（横軸）が高精度
- ・ 高分解能
- ・ コンピュータによるデータ処理が可能

このような利点を有する FT-IR を、フミン質や DOM のような混合物系に適用した多くの例が報告されている^{12), 13)}。しかし、FT-IR で得られる情報は NMR などと比べて少ない。フミン質や DOM の構造解析における FT-IR の利点は、必要な試料量が少ないこと、溶液状態での測定が可能であること、および短時間測定が可能であること等である。

本研究では、2通りの方法で IR 測定を行った。一つは固体試料に対して適用される KBr 錠剤法であり、もう一つは固体試料をクロロホルムで抽出したものをアルカリ塩板上に滴下して薄膜を形成させて測定を行う方法（以下、クロロホルム液膜法と呼ぶ）である。

2-1-2 KBr 錠剤法による琵琶湖南湖水 DOM の赤外吸光分析

KBr 錠剤法では、KBr が赤外線に対して透明であるため、試料と KBr を混合させて加圧・成形することにより錠剤（ペレット）を作製し、それを IR 測定に供する。フミン質や DOM の IR 分析においては、この KBr 錠剤法が最もよく利用されている。しかし、ある特定の条件下では酸性官能基の脱炭酸（decarboxylation）反応を触媒することが報告されている¹²⁾。なお、本研究の KBr 錠剤法による琵琶湖南湖水 DOM の分析は、ユニチカ(株)分析センターに依頼し、赤外分光光度計（Perkin Elmer 社、System-2000 フーリエ変換赤外分光光度計）により測定したものである。その分析条件を表 2-1 に示す。

表 2-1 KBr 錠剤法（φ5 mm）における分析条件

項目	設定値
測定範囲	4,000~400 cm ⁻¹
分解能	4 cm ⁻¹
検出器	TGS
データ処理	64 回加算平均処理

KBr 錠剤法により分析を行った試料は、分画・濃縮した琵琶湖南湖水 DOM (7月15日採水) と以下の方法で精製・分画した市販のフミン酸ナトリウム (Aldrich 社、Lot No. PG01828JZ、以下 Aldrich フミン酸とする) である。Aldrich フミン酸は、泥炭由来とされており、琵琶湖南湖水 DOM とは特性が異なることが予想されたため、比較対照として採用した。琵琶湖南湖水 DOM は、第1章で記述した方法で前処理、SS 除去操作および陽イオン交換樹脂により陽イオン交換操作をした後、RO 膜により濃縮したものを凍結乾燥して分析試料とした。一方、市販のフミン酸ナトリウムは、SS を除去後、陽イオン交換操作により精製したものを分画分子量 30,000 Da 限外ろ過膜装置 (以下、30K 膜とする) 濃縮液として得た高分子量領域の画分を凍結乾燥したものである。琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の赤外スペクトルをそれぞれ図 2-1 および図 2-2 に示す。図 2-1 および図 2-2 において、赤外スペクトルは透過率 (%T) の最大値が 1.0 となるように表示している。スペクトル中の主要な FT-IR 吸収帯の位置および帰属を表 2-2 にまとめて示す。また、両スペクトルを直接比較しやすいようにそれらを重ね合わせたものを図 2-3 に示す。

FT-IR と可視-紫外吸光分光法 (UV-VIS) は、試料に照射する電磁波がそれぞれ赤外領域と可視-紫外領域だという違いだけで、原理的には同じ測定方法である。したがって、赤外スペクトルの比較を行うときには、UV-VIS と同様に測定条件、(例えば、試料濃度を揃えて)、あるいは単位有機炭素重量当りの吸光度 (A) あるいは透過率 (%T) に換算して比較すべきである。また、特定の官能基について定量的な測定をしたいときには、内部標準物質を添加して Lambert-Beer 則を適用することによりその目的を達成することができる。さらに、内部標準物質の添加により、分光計や試料調製にともなう変動を最低限度に抑えることができる。IR 測定の内部標準物質としてチオシアン酸カリウム (Potassium thiocyanate, KSCN) 等が使われている。KSCN は、フミン質がほとんど赤外吸光を示さない $2,050\text{ cm}^{-1}$ に強い吸収帯をもち、水にも 50% dimethyl sulfoxide (DMSO) にも溶ける性質をもっている¹²⁾。しかし、本研究では試料濃度を揃えた分析あるいは内部標準物質添加による定量分析の実施には至っていない。したがって、定性的ではあるがスペクトル形状の違いから琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の間にある構造特性の違いを見出すことを試みた。

図 2-3 において、スペクトル全体を比較すると、低波数領域において琵琶湖南湖水 DOM の方が鋭い吸収帯を示している。これは、構造の分布が比較的単分散であることを示唆するものである。これは、分画分子量が 30,000 Da であることから、多糖やタンパク質などの高分子の寄与が大きいのではないかと考えられる。 $1,500\text{ cm}^{-1}$ 以下の領域に強い吸収帯がいくつか確認できるが、この領域は指紋領域と呼ばれ事実上の解析は不可能である。一方、Aldrich フミン酸はスペクトル全体がブロードであることから、琵琶湖南湖水 DOM と比べてより多分散な混合物であることが予想される。

琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の両方のスペクトルにおいて、 $3,400\text{ cm}^{-1}$ 付近に強い吸収帯がある (図 2-3)。これは、OH 伸縮振動に対応する吸収帯 (表 2-2 参照) である。しかし、フミン質や DOM のスペクトルでは、吸着水分子による寄与が大きいと言われていいる。この領域における水の影響を確認するために、OH 基を別の官能基に変換させて、この領域の吸収強度がどのように変化するかをみるが行われる。この場合、メチル化させることが多い。次に、カルボキシル基 (COOH) について診ていく。カルボキシル基

に由来する代表的な吸収帯は、 $2,600\text{ cm}^{-1}$ (水素結合したカルボキシル基の OH 伸縮)、 $1,720\text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$ 伸縮) および $1,630\text{ cm}^{-1}$ (COO^- 逆対称伸縮) 付近に現れる。両方のスペクトルにおいてこれらの位置に吸収帯を確認することができる (図 2-3)。琵琶湖南湖水 DOM と比べて Aldrich フミン酸の方が、これらの吸収強度が相対的に強いように見受けられることから、Aldrich フミン酸のカルボキシル基含有率が琵琶湖南湖水 DOM と比べて高いことが示唆される。また、カルボキシル基に関しても化学修飾により、その存在を正確に確認することができる。この場合、メチルエステル化することが多い。

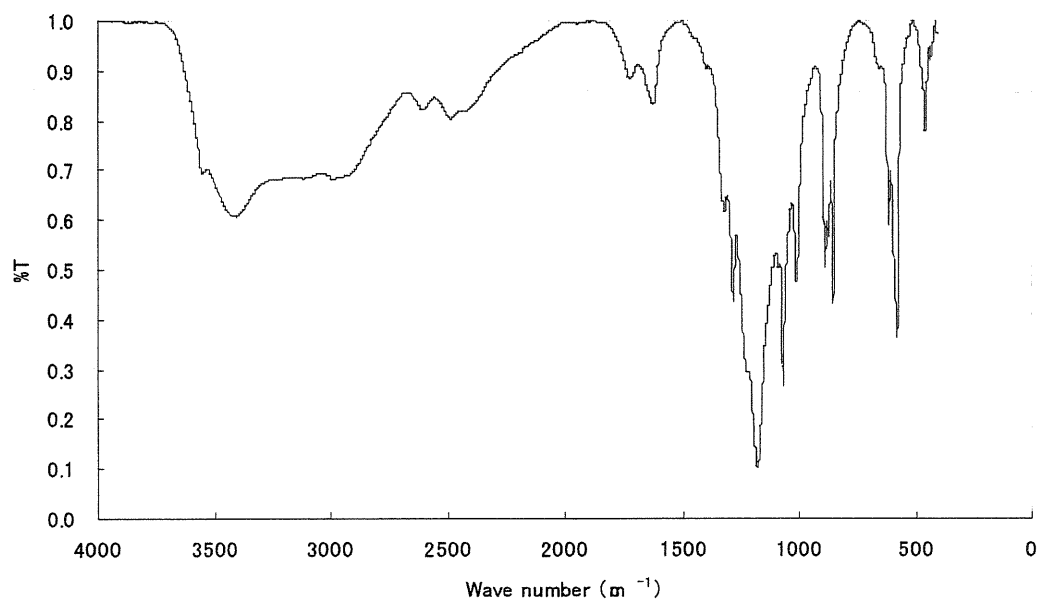


図 2-1 琵琶湖南湖水 DOM の赤外スペクトル (KBr 錠剤法)

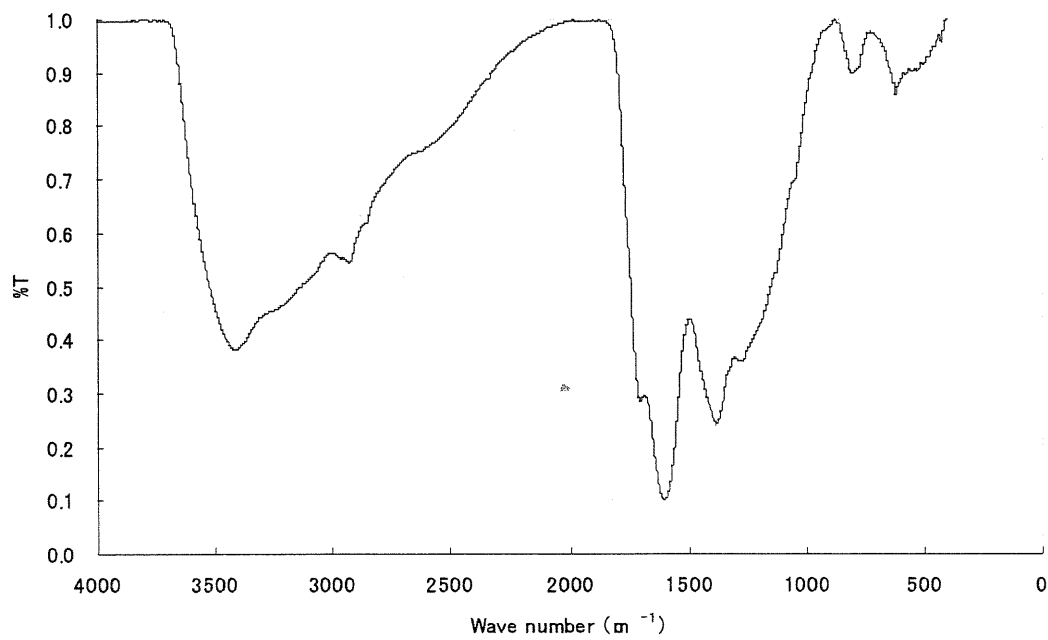


図 2-2 Aldrich フミン酸の赤外スペクトル (KBr 錠剤法)

KBr 錠剤法による FT-IR 分析を行った結果、当初の予想通り複雑な赤外スペクトルを得た。全ての吸収帯を帰属することは不可能であったが、琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸のスペクトルを比較することにより、両試料の構造特性が本質的に異なることが示唆された。NMR などに比べて得られる情報量が少ないと言われる FT-IR だが、前述の理由に加え、DOM の構造特性を簡単に定性分析できることから、フミン質や DOM の構造解析に有力なツールであると言える。

2-1-3 クロロホルム液膜法による琵琶湖南湖水 DOM の赤外吸光分析

クロロホルム液膜法は、固体試料にクロロホルムを適量加えて抽出した成分を、NaCl 結晶板上に滴下してはさみ、試料溶液の薄膜を作成して測定する方法である。この方法による測定は、人間・環境学研究科文化・地域環境学専攻環境保全発展論講座修士課程 2 年次の神山直樹氏に依頼した（島津製作所、FTIR-8600PC を使用）。その測定条件を表 2-3 に示す。

表 2-3 クロロホルム液膜法における分析条件

項目	条件
測定範囲	4,000~600 cm^{-1}
分解能	4 cm^{-1}
積算回数	16 回

本方法の測定試料は、前処理、SS 除去および陽イオン交換操作をした後、RO 膜により分画・濃縮した画分（琵琶湖南湖水 DOM、図 2-4）、前処理、SS 除去および陽イオン交換操作をした後、1K 膜により分画・濃縮した画分（1K 膜濃縮画分、図 2-5）、およびこれに引き続いて RO 膜により分画・濃縮した画分（RO 膜濃縮画分、図 2-6）である。

クロロホルム液膜法は、有機合成の分野で行われる簡便な IR 測定方法である。DOM の構造特性を解明するために、固体試料からクロロホルムで抽出可能な成分のみについて分析するのは相応しくないかも知れない。しかし、次に述べる溶液 NMR では重クロロホルムと重水が最もよく使用される溶媒であることから、溶液 NMR と組み合わせることにより構造特性に関する有用な情報を得ることができると考えられる。本研究では、重クロロホルム溶媒を用いた NMR 測定は実施していないが、クロロホルム液膜法による FT-IR 分析により構造特性の違いを見出すことができることを期待して分析を実施した。

図 2-4~図 2-6 より、前述の KBr 錠剤法に比べてクロロホルム液膜法により得た赤外スペクトルの方がさらに複雑であることが分かる。約 3,800、1,700 および 1,500 cm^{-1} 付近には、非常に多数の吸収帯が存在することが分かる。これだけ複雑なスペクトルでは、帰属は不可能である。この理由としてまず考えられるのは、試料の乾燥状態が十分なものでは

なかったことである。固体試料からクロロホルムを用いて抽出する際に、固体試料の水分が十分に除去されていないとクロロホルム中で DOM が不安定な状態にあり、完全に溶解していない可能性がある。次に考えられる理由は、分光計が不安定であった可能性である。これに関しては確認する術がなく、不明である。しかし、有機合成の分野では、目的の吸収帯の位置さえ確認できれば良いという認識が普通なので、本研究で必要としているような精度の測定は本来無理なのかもしれない。全てのスペクトルにおいてほぼ同じ領域に吸収帯が存在することから、クロロホルムに溶けやすい成分のみを選択的に抽出して分析した可能性が非常に高い。

以上をまとめると、固体試料中の全成分をクロロホルムで抽出できている可能性は低いと考えられ、クロロホルム液膜法では各画分全体の構造特性を把握することはできないと考えられた。また、有機溶媒による抽出を行う場合は、十分な乾燥状態を維持することが必要であることが示唆された。しかし、フミン質や DOM の NMR 分析では、高濃度の試料を得られることから DMSO- d_6 を溶媒として用いる事例も多い¹⁴⁾。したがって、今回使用したクロロホルム以外の有機溶媒で抽出を行い、NMR と組み合わせることにより構造特性をより明確に把握できる可能性がある。

2-2 プロトン核磁気共鳴分光法 ($^1\text{H-NMR}$)

ここでは、まず NMR の一般的な原理を概説する。次に、琵琶湖南湖水 DOM などに $^1\text{H-NMR}$ を適用した結果を示す。

2-2-1 NMR の測定原理 ^{10), 15), 16), 17)}

全ての原子核は、スピン量子数 I ($I=0$ or $I \neq 0$) によって以下のように特徴付けられる。

$I=0$: 自転運動 (スピン) をしていない (NMR で分析不可能)。

$I \neq 0$: 角運動量 p をもつ (NMR で分析可能)。

原子核には自転軸があり、核スピンをしている。この核スピンはスピン角運動量 p をもち、この核スピン角運動量は磁気量子数 m により以下のように量子化されている。

$$p = \frac{mh}{2\pi} = \frac{Ih}{2\pi}, \frac{(I-1)h}{2\pi}, \dots \quad (2.2)$$

$$(m = I, I-1, I-2, \dots, 0, \dots, -I)$$

正電荷をもちスピンしている原子核は、核磁気モーメント μ をもつ、一種の磁石とみなすことができる (図 2-7)。このときの磁気モーメント μ は、角運動量 p と比例定数 γ によって次式で関係づけられる。

$$\mu = \gamma p \quad (2.3)$$

式 (2.3) において、 γ は磁気回転比で核に固有の値である。

次に磁場 B_0 と原子核の相互作用を考える。

磁場と磁気モーメントの相互作用によって、

磁気量子数 m に関する縮重が解けて、核スピンのエネルギー準位が分裂する現象を Zeeman 効果という (図 2-8)。分裂後のエネルギー準位数は、スピン量子数 I により規定され、 $2I+1$ で与えられる。NMR では、核スピンの縮重した準位を磁場により分裂させ、分裂した準位間の遷移に相当する電磁波の吸収特性を調べることにより、核スピンに関する情報を得る。

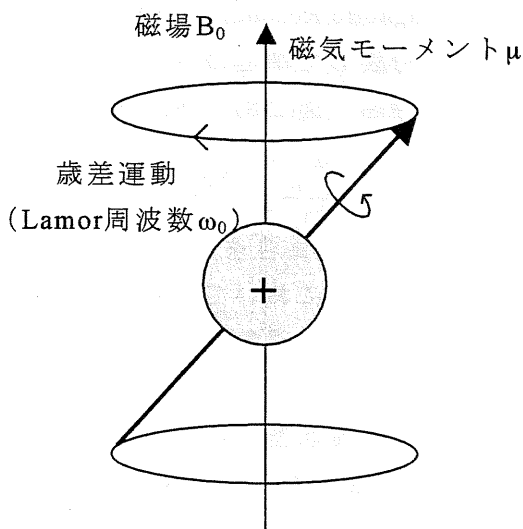


図 2-7 磁気モーメントの歳差運動

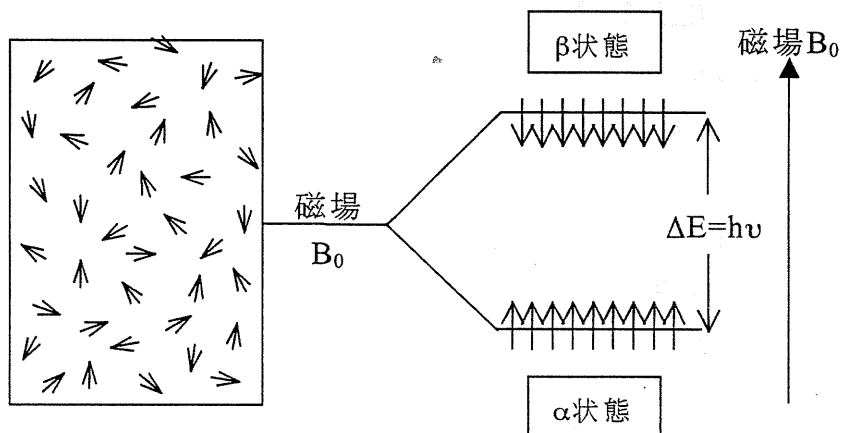


図 2-8 磁場と核スピンの相互作用 (Zeeman 分裂)

磁場 B_0 は、磁気モーメント μ にトルクをかけ、核の自転軸は歳差運動をはじめめる (図 2-7)。この歳差運動の角速度を ω 、周波数を ν とすると次式が成り立つ。

$$\begin{aligned}\omega &= -\gamma B_0 \\ \nu &= -\frac{\gamma B_0}{2\pi}\end{aligned}\tag{2.4}$$

また、分裂後のエネルギー準位間の差は、次式により表される (図 2-8)。

$$\Delta E \approx h\nu \approx \frac{\gamma h B_0}{2\pi}\tag{2.5}$$

式 (2.5) において、 h はプランク定数である。したがって、エネルギー量子 ($h\nu$) を吸収することによりエネルギー準位間の遷移が起こる。この現象を核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) といい、そのときの共鳴周波数を Larmor 周波数 ω_0 と呼ぶ。

分裂した準位のうち、安定なエネルギー状態を α 状態、不安定なエネルギー状態を β 状態と呼ぶ (図 2-8)。熱平衡状態では、核スピンは次の Boltzmann 分布に従う。

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} \approx \exp\left(\frac{\Delta E}{kT}\right)\tag{2.6}$$

式 (2.6) において、 N_α は α 状態にある核スピンの数で、 N_β は β 状態にある核スピンの数である。核磁気共鳴現象では、 $|N_\alpha - N_\beta|$ が比較的小さいために、IR や UV-VIS など他の分光法と比べてその感度は低い。

熱平衡状態では、 N_α が N_β よりも大きいことを考慮して全体としての磁化を考え、全磁化 M_0 で表すことができる (図 2-9)。

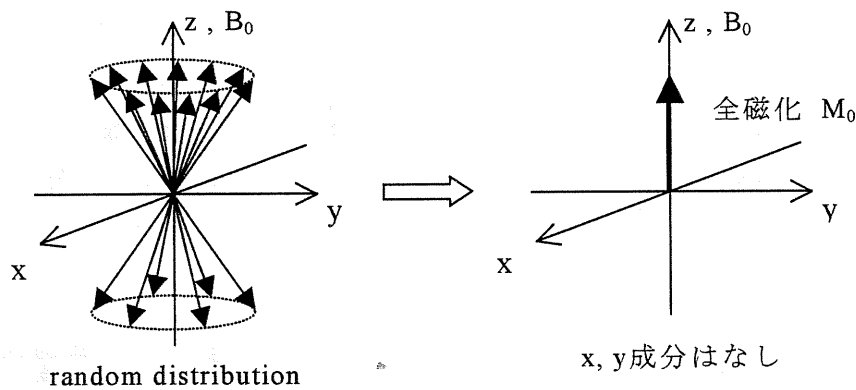


図 2-9 熱平衡状態の磁気モーメントと全磁化

核磁気共鳴分光法では、 x 軸方向にパルス磁場 M_1 をかける。すると、 z 軸方向を向いていた全磁化が、 x 軸を軸として次式で表されるパルス角 γ だけ回転する。

$$\alpha = \frac{360\beta B_1 t}{2\Delta}\tag{2.7}$$

一般に、NMR 装置の検出器は y 軸方向の磁化を検出するように設計されている。したがって、全磁化のパルス角が 90° になるようにパルスをかけて y 軸方向に傾けると、検出器は最大の磁化を検出することになる。そのときのパルスを 90° パルスと呼ぶ。次に、パルス

磁場を切ると、磁化は再び熱平衡状態に戻る。この過程を緩和過程と呼ぶ。このとき、検出器では過渡的に減衰する正弦曲線を検出することになる。この曲線を自由誘導減衰 (Free Induction Decay, FID) と呼ぶ。この FID をフーリエ変換することにより NMR スペクトルを得ることができる。NMR スペクトルは、横軸に化学シフト (ppm) をとり、縦軸を強度軸として表示される。化学シフトはその核の磁気的環境を反映したもので、その観測核種がどのような結合をしているかについての情報を与えるものである。また、NMR スペクトルのシグナル面積は、ある化学シフトをもつ核が分子中に存在する量に比例する。したがって、スペクトル中のシグナル面積比を調べることにより、それぞれの存在比を知ることができる。

全磁化が熱平衡状態へ緩和する過程の時定数を緩和時間と言ひ、z 軸方向の緩和時間 (縦緩和あるいはスピン-格子緩和時間、 T_1) と x-y 平面における緩和時間 (横緩和あるいはスピン-スピン緩和時間、 T_2) の 2 つがある。励起した核スピンの寿命は、数秒～数分もあり、電子の場合 (ピコ秒のオーダー) と比べて非常に長い。スピンの緩和がほぼ完全に緩和するためには $5T_1$ 以上待つ必要がある。このように緩和時間が長いために、NMR 測定は他の分光法と比べて非常に長い分析時間を要する分光法であると言える。しかし、最近のマルチパルス NMR では、長い緩和時間を逆に利用して、励起したスピン系を自由に操作することにより、欲しい情報を入手することが可能となった。

2-2-2 装置の仕様

本研究において、 ^1H -NMR による DOM などの分析に使用した分光計を以下に記す。

Brucker ARX-500 (日本ブルカー社)、観測周波数: 125.77 MHz (^{13}C)

2-2-3 ^1H -NMR 測定試料の調製

本研究では、DOM の水溶解度が低いことを考慮して、それを上昇させるために、重水に重水酸化ナトリウムを添加して測定試料の調製を行った。その手順を以下に記す。

測定に使用するサンプル管 ($\phi 5$ mm) の洗浄には、クロム酸混酸、アセトンおよび Milli-Q 水による洗浄の後、ジクロロメタン (DCM) による洗浄を行った。洗浄後、サンプル管をデシケーター内で減圧乾燥させた。また、サンプル管のキャップ (ポリエチレン製) は、アセトンおよび Milli-Q 水による洗浄をした後、同様に減圧乾燥した。

フミン質や DOM の ^1H -NMR 測定では、水の存在により δ 4.8 ppm 付近のシグナルが妨害される。したがって、 ^1H -NMR 試料は十分に乾燥させておかなければならない。そこで、本研究では NMR 測定に供する固体試料を 24 時間以上デシケーター中で減圧乾燥を行った。

試料溶媒には、 $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ 系を用いた。乾燥させた 10 mL のガラス製遠沈管に 10 mL の D_2O を入れ、さらに NaOD の 40% 重水溶液を 0.2 mL 添加した。なお、この溶液の規定度は、約 0.3 N である。

調製した溶媒に、過剰量 (数百 mg) の固体試料および内部標準物質として痕跡量の TSP- d_4 {Sodium 3-(Trimethylsilyl)-propionate-2,2,3,3- d_4 } を入れて攪拌した後、一昼夜静置した。その後、遠心分離機 (久保田製、KN-70) により懸濁物質を沈殿させ、その上澄み液を測定試料とした。サンプル管に試料を封入後、キャップを占めて測定直前まで遮光し、シールテープにより密閉した。

2-2-4 測定結果とシグナルの帰属

本研究では、以下の3つの試料について表 2-4 に示す条件で $^1\text{H-NMR}$ 測定を行った。

- (1) 琵琶湖南湖水 (7月15日採水) を前処理、SS 除去および陽イオン交換後、RO 膜のみにより分画・濃縮した試料 (琵琶湖南湖水 DOM)
- (2) 琵琶湖南湖水 (10月25日採水、第2章の1回目) を前処理、SS 除去および陽イオン交換後、1K 膜により分画・濃縮した試料 (1K 膜濃縮画分)
- (3) 琵琶湖南湖水を前処理、SS 除去および陽イオン交換後、1K 膜を透過した成分を RO 膜により分画・濃縮した試料 (第2章の3回分の混合試料、RO 膜濃縮画分)

それぞれの試料の $^1\text{H-NMR}$ 測定結果を図 2-10、図 2-11 および図 2-12 に示す。なお、図中の*印は、内部標準物質 TSP- d_4 によるシグナルである。また、化学シフト δ は TSP- d_4 のシグナルを 0 ppm とし、それを基準とした。また、シグナルの帰属は R.L.Malcolm¹⁵⁾ を参考にした (表 2-5)。以下にそれぞれの試料の $^1\text{H-NMR}$ から得られた結果をまとめる。

表 2-4 $^1\text{H-NMR}$ の測定条件

操作因子	設定
Acquisition time	2.2 sec
パルス遅延時間	10 sec
温度	300 K

表 2-5 $^1\text{H-NMR}$ シグナルの化学シフトおよび帰属

化学シフト δ (ppm)	帰属
0.8-1.0	Terminal methyl groups of Methylene chains
0.8-1.4	Protons on methyl groups on highly branched aliphatic structures
1.4-1.8	Protons on aliphatic carbons which are two or more carbons
1.7-3.3	{ Protons attached to aliphatic carbons (methyl and methylene groups) which are attached to electronegative groups (<i>e.g.</i> , carboxyl group or an aromatic ring)
3.3-5.0	{ Protons on carbons attached to O or N heteroatoms (primarily O in humic substances), <i>e.g.</i> , the HCO of saccharides, methoxyl groups, amine and traces of water
6.5-8.1	Unhindered aromatic protons
8.1-9.0	{ Sterically hindered aromatic protons, nitrogen heteroaromatics and formate

(1) 琵琶湖南湖水 DOM (7月15日採水) (図 2-10)

δ 5.99、5.88、5.78、3.35、3.27、2.86、2.83、2.64、1.52、1.12、1.00、0.47 および 0.31 ppm の化学シフトにおいて顕著なシグナルが検出された。水のシグナル (HOD) により、 δ 6~4 ppm の領域が妨害されているのが分かる。 δ 3.0~0.7 ppm の領域に集中しているシグナルは、脂肪族水素に帰属される。この領域のシグナルは、スペクトル中の主なシグナルであることから、この試料が脂肪族性に富む構造特性をもっていることが示唆される。

(2) 1K 膜濃縮画分 (10月25日採水) (図 2-11)

δ 8.48、3.96、3.77、3.73、2.07、1.26、および 0.95 ppm の化学シフトにおいて顕著なシグナルが検出された。水のシグナル (HOD) により、 δ 4.9~4.7 ppm の領域が妨害されているのが分かる。この試料で最も強いシグナルは、 δ 4.10~3.35 ppm にあり、これらは、ヘテロ原子、すなわち酸素や窒素などに結合した炭素に結合した水素に帰属される。つまり、炭化水素 (多糖)、メトキシル基あるいはアミン類の水素として帰属される。この他の主なシグナルとしては、 δ 2.07 ppm (メチル基、メチレン基、あるいはカルボキシル基もしくはベンゼン環の α 位水素)、および 1.26 ppm (分岐した脂肪鎖のメチル基)、0.95 ppm (末端メチル基) が挙げられる。

(3) RO 膜濃縮画分 (3回の混合試料) (図 2-12)

δ 8.46、7.39、3.75、3.36、1.92 および 1.21 ppm の化学シフトにおいて顕著なシグナルが検出された。水のシグナル (HOD) により、 δ 5.2~4.4 ppm の領域が妨害されているのが分かる。このスペクトル中で最も強いシグナルは、 δ 1.21 ppm にあり、これは分岐した脂肪鎖のメチル基に帰属される。 δ 2.40~1.80 ppm の領域は、メチル基かメチレン基といった脂肪族水素、あるいはカルボキシル基もしくはベンゼン環の α 位水素である。以上、脂肪族水素の領域に主なシグナルが集中していることから、この試料が脂肪族性に富む構造特性を有していることが示唆される。

以上より、3つの琵琶湖南湖水 DOM 試料について $^1\text{H-NMR}$ を実施した結果から得られた構造的特徴を列挙すると以下のようなになる。

- ・ 1K 膜濃縮画分は、炭化水素 (多糖)、メトキシル基あるいはアミン類に富む構造特徴を有している。
- ・ RO 膜濃縮画分は、脂肪族性に富む構造特徴を有している。
- ・ 全ての試料において芳香族水素に帰属するシグナルは検出されなかった。

2-3 炭素-13 核磁気共鳴分光法 ($^{13}\text{C-NMR}$)

ここでは、はじめに固体 NMR の測定原理について簡単に述べる。次に、琵琶湖南湖水 DOM などに CPMAS $^{13}\text{C-NMR}$ を適用した結果を示す。

2-3-1 測定原理

近年まで、主に 3 つの理由のために固体 NMR 測定を実施することが困難であった。その理由を以下に示す¹⁸⁾。

- ・ 固体 NMR の共鳴線幅が、異方性双極子-双極子相互作用 (DD) および核四極子場勾配相互作用 (QF) により広がる。
- ・ 化学シフトの異方性により化学シフトが広がる。
- ・ 固体のスピン-格子緩和時間 (T_1) が非常に長い。

これら 3 つの問題は、固体 NMR を高分解能測定する上で大きく立ちはだかる問題であった。しかし、これらの問題は高出力デカップリング、マジック角回転 (Magic Angle Spinning, MAS) および交差分極 (Cross Polarization, CP) により解決された。高出力デカップリングは、プロトンの核スピンを一定の速さで回転させることにより、異種核相互作用をゼロにする。また MAS は、同種核双極子相互作用、化学シフトの異方性 (Chemical Shift Anisotropy, CSA) 効果および核四極子場勾配相互作用 (QF) による線幅の広がりを小さくする。これらの相互作用は $3\cos^2\theta-1$ の大きさに依存するが、 θ が $54^\circ 44'$ (マジック角) のときにゼロとなる。つまり試料の回転軸を外部磁場に対して $54^\circ 44'$ 傾けると、これらの相互作用が全てゼロになる。最後に、CP は ^{13}C と ^1H を熱接触させて ^{13}C スピン系のエネルギーを ^1H スピン系に移動 (交差分極) させることで、その結果より短い間隔でパルスをかけることが可能となる。なお、以上の方法を組み合わせた NMR 測定方法を CPMAS ^{13}C -NMR と呼ぶ。

2-3-2 装置の仕様

本研究において、 ^{13}C -NMR による琵琶湖南湖水 DOM などの分析に使用した NMR 装置を以下に記す。

Chemagnetics CHX-300 (Chemagnetics)、観測周波数 : 74.66 MHz (^{13}C)

2-3-3 測定結果とシグナルの帰属

本研究では、以下の 3 つの試料について CPMAS ^{13}C -NMR 測定を行った。その測定条件を表 2-6 に示す。

- (1) 琵琶湖南湖水 (10 月 25 日採水) を前処理、SS 除去および陽イオン交換後、1K 膜による分画・濃縮した試料 (1K 膜濃縮画分)
- (2) 琵琶湖南湖水を前処理、SS 除去および陽イオン交換後、1K 膜を透過した成分を RO 膜により分画・濃縮した試料 (第 2 章の 3 回の混合試料、RO 膜濃縮画分)
- (3) Aldrich フミン酸 : 前処理、SS 除去および陽イオン交換後、RO 膜により分画・濃縮した試料

各試料の CPMAS ^{13}C -NMR の測定結果を図 2-13、図 2-14 および図 2-15 に示す。なお、シグナルの帰属は R.L.Malcolm¹⁵⁾を参考にした (表 2-7)。以下にそれぞれの試料の CPMAS ^{13}C -NMR から得られた結果をまとめる。

表 2-6 CPMAS ^{13}C -NMR の測定条件

操作因子	設定
Contact time	1.0 msec.
Acquisition time	34.1 msec
パルス遅延時間	5.0 sec
回転速度	4.5 kHz

(1) 1K 膜濃縮画分 (10 月 25 日採水) (図 2-13)

δ 173.4、130.4、102.1、72.2、12.4 および 18.0 ppm の化学シフトにおいて顕著なシグナルが検出された。このスペクトルの中で最も強いシグナルは、 δ 72.2 ppm である。これは、CH(OH)の炭素、多糖の環炭素あるいはエーテル結合した脂肪族炭素に帰属される。前述の ^1H -NMR スペクトルと δ 102.1 ppm にアノマー炭素のシグナルが見られることから、 δ 72.2 ppm のシグナルを多糖類に由来するものと判断した。その他には、 δ 173.4 ppm がカルボキシル基炭素のシグナル、また、 δ 18.0 ppm にメチル基あるいはメチレン基炭素のシグナルが認められる。

(2) RO 膜濃縮画分 (3 回の混合試料) (図 2-14)

δ 170、138、78 および 27 ppm の化学シフトにおいて顕著なシグナルが検出された。この試料においても δ 78 ppm 付近に多糖のシグナルが観られる。1K 膜濃縮画分と比較すると、脂肪族炭素領域 (27 ppm 付近) に強いシグナルが確認できる。その他、 δ 170 ppm にカルボニル炭素、138 ppm に芳香族炭素のシグナルが認められる。

(3) Aldrich フミン酸 (図 2-15)

δ 175.3、121.5、66.3 および 26.2 ppm の化学シフトにおいて顕著なシグナルが検出された。 δ 26.2 ppm にある脂肪族炭素の強いシグナルは、この試料の支配的構造が脂肪鎖であることを示唆している。その他には、微小なシグナルしか存在していない。

以上、本研究において CPMAS ^{13}C -NMR により測定した 3 つの試料について得られた結果を列挙する。

- ・ ^1H -NMR スペクトルの結果と合わせて考えると、1K 膜濃縮画分の主要構成成分は、多糖類である。
- ・ RO 膜濃縮画分では、多糖類と脂肪族炭素の割合が高い。
- ・ Aldrich フミン酸は、主として脂肪族である。

2-4 まとめと今後の課題

本章では、第1章で述べた方法により分子量分画・濃縮した琵琶湖南湖水 DOM の構造特性を明らかにすることを目的として、FT-IR、 $^1\text{H-NMR}$ および CPMAS $^{13}\text{C-NMR}$ の適用を試みた。以下に本章の成果をまとめ、今後の課題について述べる。

(1) FT-IR による琵琶湖南湖水 DOM の分析結果について

- ・ 琵琶湖南湖水 DOM の低波数領域におけるスペクトルのピークが Aldrich フミン酸のそれと比べて鋭いことから、前者の構成成分の分布が比較的単分散であることが示唆された。
- ・ Aldrich フミン酸のカルボキシル基含有率が琵琶湖南湖水 DOM のそれと比べて高いことが示唆された。
- ・ クロロホルム液膜法による赤外吸光分析は、琵琶湖南湖水 DOM の構造特性を把握するには相応しくないことが分かった。
- ・ FT-IR (KBr 錠剤法) が、フミン質や DOM の構造特性を解明する簡便で有力な手段であることが分かった。

(2) NMR による琵琶湖南湖水 DOM の分析結果について

- ・ 1K 膜濃縮画分の主要構成成分は、多糖類であることが分かった。
- ・ RO 膜濃縮画分は、脂肪族性が高いことが示唆された。
- ・ Aldrich フミン酸は、脂肪族炭素の割合が多いことが示唆された。

(3) 今後の課題

- ・ FT-IR (KBr 錠剤法) による、フミン質や DOM の定性・定量分析方法を確立して、適用を試みる。特に、ヘテロ原子を含む官能基の分析・帰属を試みる。
- ・ $^1\text{H-NMR}$ では、WATR 条件で測定を行い、水の HOD シグナルを除去したスペクトルを得る必要がある。
- ・ 固体 NMR では、CP/T₁-TOSS & DPMAS $^{13}\text{C-NMR}$ というマルチパルス NMR の適用により、サイドバンド (SSB) を定量的に抑制し、さらにカルボキシル基や芳香環炭素などのシグナルを定量的に評価する。
- ・ 本研究では、各試料の水溶解度が低いことから溶液 $^{13}\text{C-NMR}$ の測定を行うことができなかった。この溶液 $^{13}\text{C-NMR}$ の実施は、以下に挙げる理由から DOM やフミン質の構造解析に必要不可欠であることが言える。そのためにも、今後は DMSO-*d*₆ などの有機溶媒を使用することにより、溶解度の問題を解決する必要がある。
 - ◆ 固体 $^{13}\text{C-NMR}$ に比べて、より定量的な議論が可能である。
 - ◆ DEPT および QUAT 法の適用により、各シグナルの炭素が何級炭素であるかを判断することが可能である。すなわち、DEPT 法により 1~3 級の炭素を、QUAT 法により 4 級炭素を識別することが可能となる。

第3章 水環境中溶存有機物質の特性解析

前章では、第1章で述べた方法で琵琶湖南湖水から分画・濃縮したDOMの構造特性の解析を行い、画分が異なると化学構造に違いがあることが示唆された。本章では、前章の結果を踏まえつつ、琵琶湖南湖水DOMの様々な特性について解析を行った。その結果を示す。

3-1 元素分析

フミン質やDOMは多種多様な化合物の混合物であるが、その平均的な元素組成はそれらを全体としての特性や性質を代表する最も基本的な指標として有効であることが知られてい¹⁹⁾。そこで、本研究においても琵琶湖南湖水DOMの元素分析を行った。

京都大学薬学部微量有機元素分析センターに依頼してCHNコーダー(ヤナコ分析工業、MT-3型あるいはMT-5型)で元素分析(C, H, NおよびS)を行った。表3-1にその結果を示す。

表 3-1 琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の元素組成

画分	C wt%	H wt%	N wt%	S wt%	Ash wt%	Other wt%
1K 膜濃縮画分	28.20	4.86	1.90	-	7.70	57.33
RO 膜濃縮画分	3.12	2.32	0.19	21.79	33.12	39.47
琵琶湖南湖水 DOM	5.04	3.38	0.33	18.39	-	72.87
Aldrich フミン酸	51.81	3.56	0.93	-	6.05	37.66

表3-1において、1K膜濃縮画分は第1章の1回目～3回目の平均値、RO膜濃縮画分は3回分の混合試料、琵琶湖南湖水DOMは9月12日に採水した試料、そしてAldrichフミン酸は前述した方法(第2章)により精製したものである。

一般に、フミン質やDOMの主要な構成元素は炭素で、全体の40～50wt%近くを占めることが知られている。しかし、表3-1においてRO膜濃縮画分と琵琶湖南湖水DOMの炭素含有率が極端に低く、1K膜濃縮画分についても若干低めの値となった。そこで、この原因を探るために、琵琶湖南湖水DOMの組成に関するさらなる分析を行った。元素分析の結果を受けて、はじめに懸念したのが水分と灰分の含有率である。しかし、元素分析に依頼する直前までデシケーター内で減圧乾燥していたことから、乾燥に関してはできる限りの対策を施したと判断した。そこで本研究では、灰分についてさらなる測定を行った。これは、採水時にポンプ設備を使用しているため、灰分の混入が懸念されたからである。灰分の測定は、600℃、1時間の熱処理前後の重量変化から求めた。その結果、1K膜濃縮画分の灰分含有量は7.70%、RO膜濃縮画分は33.12%、Aldrichフミン酸は6.05%であった(表3-1)。

さらに凍結乾燥した琵琶湖南湖水DOMの固体試料を量り取ってMilli-Q水に溶かし、その溶液のTOC測定を行うことにより、元素分析の炭素含有率(Cwt%)を検証した。その結果を表3-2に示す。その結果、元素分析の結果とほぼ一致したことから、元素分析の結

果は信頼しうる値であると判断を下した。

元素組成の残りの部分を調べるために、イオンクロマトグラフ法{Dionex社、QIC(陽イオン分析)およびDX-500(陰イオン分析)、表3-3}および高周波誘導結合プラズマ-質量分析法{(Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy, ICP-MS、HEWRETT PACKARD社、ICP質量分析装置HP4500)、表3-4}による測定を行った。

表 3-2 琵琶湖南湖水 DOM の TOC 分析による炭素含有率の検証

画分	DOM (mg)	溶液中 TOC (mg)	TOC の割合 (%)	C wt% (元素分析)
1K 膜濃縮画分	23.9	5.82	24.35	28.20
RO 膜濃縮画分	66.2	2.22	3.35	3.12

表 3-3 琵琶湖南湖水 DOM の
イオンクロマトグラフ法による分析結果

画分	Na ⁺ (ppm)	Cl ⁻ (ppm)	SO ₄ ²⁻ (ppm)
1K 膜濃縮画分	10.9	5.5	77.0
RO 膜濃縮画分	457.2	496.0	4.1

表 3-4 琵琶湖南湖水 DOM の
ICP-MS による主な元素の分析結果

画分	Na (ppm)	Si (ppm)	K (ppm)
1K 膜濃縮画分	1.4	5.3	9.0
RO 膜濃縮画分	57.2	350.4	8.2

イオンクロマトグラフ法において、陽イオンとしては Na⁺イオンのみを検出し、陰イオンについては Cl⁻イオンと SO₄²⁻イオンを検出した。Na⁺イオンは NaCl を、陰イオンはそれぞれのナトリウム塩を用いて外部標準法によりその濃度を求めた。表 3-3 より、この結果では負電荷が過剰に存在して電気的中性にならず、他の陽イオンの存在が示唆される。さらに、ICP-MS による測定では、Na⁺に関してイオンクロマトグラフ法で得た値と比べて一桁低い値を得た。現段階でこれらの測定結果を完全に説明することはできていないが、元素組成の問題を今後の最も基本的かつ最大の検討課題として取り組む必要がある。

3-2 紫外外部吸光特性

一般に DOM やフミン質の可視-紫外吸光スペクトルは、長波長側から短波長側にかけて

指数関数的に増大することが知られている²⁰⁾。つまり、DOM やフミン質の可視-紫外部吸光特性の特徴は、特定の官能基に由来する顕著な吸収帯が見られないことである。DOM やフミン質の場合、吸収スペクトルの縦軸を対数変換するとスペクトルを直線に近似できることから、その直線の傾き ($\Delta \log K = \log A_{400} - \log A_{600}$ 、 A_{400} および A_{600} はそれぞれ 400 nm および 600 nm における吸光度) は特性値として用いられる。また、単位有機炭素重量当りの紫外部吸光度 (Specific Ultra Violet Absorbance, SUVA) も芳香族炭素量²¹⁾や消毒副生成物の生成能²²⁾の指標として採用されている。本研究では、SUVA が PAHs の収着能と正の相関があるという結果³⁾を踏まえ、琵琶湖南湖水 DOM の紫外部吸光特性の指標として SUVA を採用して実験により求めたので、その結果を示す。

3-2-1 試料調製

本研究では、イオン強度が 100 mM 程度となるように炭酸緩衝液を利用して試料を調製した。まず、 NaHCO_3 8.4 g と 1.2 N HCl 16 mL を Milli-Q 水で 1 L にメスアップして炭酸緩衝液を調製した。その結果、pH7.8、イオン強度 105.7 mM の炭酸緩衝液を調製することができた。ここで、イオン強度の値は Marion ら²³⁾により提案された、多種のイオンを含む水試料におけるイオン強度と電気伝導度の関係式を用いて算出した。本研究では、この緩衝液を用いて測定試料の調製を行った。測定試料は、1K 膜濃縮画分 (1st)、RO 膜濃縮画分 (1st) および Aldrich フミン酸の 3 つの試料である。各試料濃度を数段階に希釈して測定試料とした。

3-2-2 測定結果

本研究では、紫外部吸光度を 254 nm における吸光度として SUVA を算出した。その結果を表 3-5 に示す。なお、測定に使用した装置は、紫外可視分光光度計 (島津製作所、UV-2500PC) および全有機体炭素計 (同、TOC-5000A) であり、石英セル (10×10×45 mm) を用いて測定を行った。

表 3-5 琵琶湖南湖水 DOM と
*Aldrich フミン酸の SUVA

画分	SUVA { (mgC/L) ⁻¹ cm ⁻¹ }
1K 膜濃縮画分	0.008
RO 膜濃縮画分	0.019
Aldrich フミン酸	0.065

前回の結果³⁾と同様に、SUVA 値はより高分子量の画分である 1K 膜濃縮画分の方が低い結果となった。SUVA 値は芳香族炭素量の指標となることから、1K 膜濃縮画分と比べて RO 膜濃縮画分が芳香族性に富む構造特性を有していることが示唆される。また Aldrich フ

ミン酸は、これら琵琶湖 DOM の 2 つの画分と比較して SUVA 値が大きいことから、琵琶湖 DOM よりも芳香族性に富むことが示唆される。ここで、DOM やフミン質の芳香族性の定量的な解析に関しては、 ^{13}C -NMR による解析が一般的である²⁴⁾。本研究ではその段階には達していないが、今後 NMR による解析は必要であると言える。

3-3 蛍光分析

フミン質や DOM が蛍光を発することは昔から知られていた。しかし、3次元励起-蛍光スペクトル (Excitation-Emission Matrices, EEMs) は、いずれもブロードな山型を示すだけで、それがどのような化学構造に由来するかを特定することは困難であった。しかしながら、研究事例が増えるにつれて、サンプル間のわずかなスペクトルの相違を見分けることが可能となってきた。そこで、本研究においても分画・濃縮した琵琶湖南湖 DOM の 3次元蛍光分析を行うことにした。さらに、蛍光特性と試料濃度との関係についても調べたので、その結果を記す。

3-3-1 3次元励起-蛍光分光法 (EEMs)^{25), 26)}

3-3-1-1 試料調製

本研究では、イオン強度が 50 mM 程度となるように炭酸緩衝液を調製した。まず、 NaHCO_3 4.2 g を 1 L の Milli-Q 水に溶かした炭酸緩衝液 (50 mM) を 0.12 N HCl を用いて pH が 7 付近となるように調整した。その結果、pH 7.7、イオン強度 55.5 mM の炭酸緩衝液を調製することができた。この炭酸緩衝液を用いて、蛍光測定試料を調製した。各試料の TOC 濃度は、1K 膜濃縮画分の試料が 15.7 mgC/L、RO 膜濃縮画分の試料が 21.6 mgC/L であった。Aldrich フミン酸の蛍光測定試料は、前述の方法により精製した Aldrich フミン酸約 20 mg を Milli-Q 水で 100 mL にメスアップして測定試料とした。このとき、コロイド状のものが分散しているのが確認されたので、その上澄み液を蛍光測定に供した。

本来、蛍光測定試料の調製には無蛍光試薬あるいは溶媒を使用しなければならない。本研究では、測定したスペクトルに後述するブランク補正を施すことから、和光純薬工業の試薬特級以上の試薬と Milli-Q 水を使用した。

3-3-1-2 測定結果

分画・濃縮した琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸のそれぞれの EEMs を図 3-1~図 3-3 に、その測定条件を表 3-6 に示す。また、各試料の蛍光ピーク位置を表 3-7 にまとめる。なお、本研究で使用した分光蛍光光度計 (日立製作所、F-4500 型) は、取扱説明書の手順に従い分光器の励起側をローダミン B 溶液によりスペクトル補正したものであり、石英セル (10×10×45 mm) を用いて測定を行った。

スペクトル中にある励起光と同じ波長位置に現れる盲蛍光と呼ばれる成分は、溶媒分子によって Rayleigh 散乱された一次散乱光や試料中の懸濁物質や気泡によって反射された光によるものである。散乱光強度が強いと、励起光の 2 倍の波長位置に二次散乱光が現れる (図 3-3 参照)。さらに、励起光よりも長波長側に溶媒分子による Raman 散乱光が出現する²⁷⁾。これらの盲蛍光成分は、スペクトル間の比較を困難にする。これらの盲蛍光成分を

除去するために、本研究では琵琶湖南湖水 DOM の EEMs に対して、炭酸緩衝液のみの 3 次元蛍光スペクトルを用いてブランク補正を行った。しかし、図 3-1 および図 3-2 において盲蛍光成分が完全に除去されていないことが確認できる。これは、ブランク測定時に、試料がセル壁に付着して残留している可能性を示唆するものである。容器に付着した DOM は取り除きにくいことから、今後の課題として取り組む必要がある。

表 3-6 EEMs 測定条件

操作因子	設定値
スリット幅 (nm)	5 (励起側、蛍光側とも)
励起波長 (nm)	200-500
蛍光波長 (nm)	300-600
サンプリング間隔 (nm)	5 (励起側、蛍光側とも)
走査速度 (nm/min)	2,400
ホトマル電圧 (V)	400

表 3-7 琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の蛍光ピーク位置

画分	励起波長 (nm)	蛍光波長 (nm)
1K 膜濃縮画分	305	384
RO 膜濃縮画分 (Peak 1)	325	430
RO 膜濃縮画分 (Peak 2)	255	431
Aldrich フミン酸 (Peak 1)	325	480
Aldrich フミン酸 (Peak 2)	450	530

図 3-1 から 1K 膜濃縮画分の EEMs には 1つの蛍光ピークが、図 3-2 から RO 膜濃縮画分の EEMs には 2つの蛍光ピークが存在することが分かる。図 3-1 と図 3-2 の比較から、1K 膜濃縮画分と RO 膜濃縮画分の EEMs は異なったスペクトル形状をしていることから、2つの画分はそれぞれ異なる蛍光特性を有する成分から構成されていることが示唆される。また、起源が異なると、蛍光ピーク位置が異なることが知られており、水系由来のフミン質は青色（短波長）側に、土壌由来のものは赤色（長波長）側に蛍光ピークが現れる²⁸⁾。そこで、琵琶湖南湖水 DOM と泥炭由来とされる Aldrich フミン酸の EEMs を比較すると、琵琶湖南湖水 DOM の蛍光ピーク位置がより短波長側に、Aldrich フミン酸がより長波長側にあることから、起源が異なることが示唆される。したがって、琵琶湖南湖水 DOM が水系由来で、Aldrich フミン酸が土壌由来のフミン質と似た蛍光特性を有することも同時に示唆される。

3-3-2 蛍光特性の濃度依存

蛍光ピーク位置が DOM 濃度変化にともなって変化するかどうかを調べるために、DOM 濃度を数段階に希釈して、一連の蛍光測定を行った。その結果、DOM 濃度の増加にともなって、励起波長は一定であったのに対し、蛍光波長が僅かではあるが短くなる傾向があることが分かった（図 3-4）。

また、フミン質や DOM の濃度が高くなると、濃度と蛍光強度の比例関係が成り立たなくなる濃度消光という現象が報告されている²⁶⁾。しかし、今回測定を行った濃度範囲では、顕著な濃度消光を確認することはできなかった。

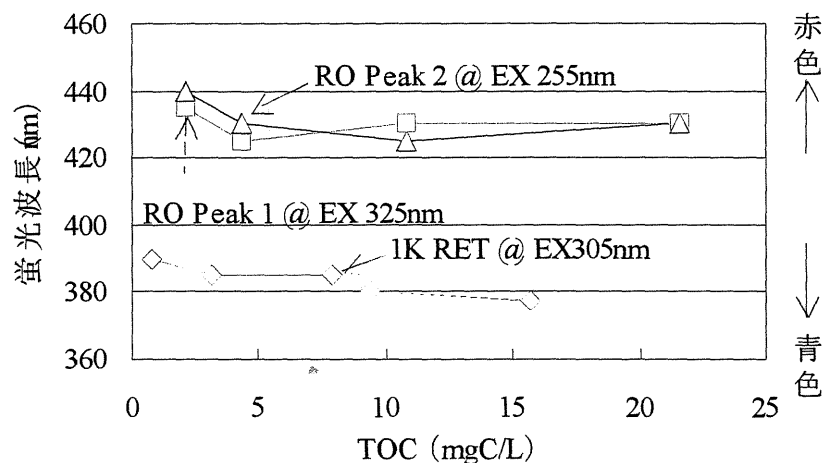


図 3-4 ピーク位置の DOM 濃度依存性

3-4 糖質分析

第 2 章の NMR 測定の結果より、琵琶湖南湖水 DOM の 1K 膜濃縮画分には糖質（多糖類）が多く存在することが示唆された。ここで本研究では、琵琶湖南湖水 DOM 中の糖質について定性・定量分析を行った。

3-4-1 定性分析

まず、1K 膜濃縮画分、RO 膜濃縮画分の混合試料、琵琶湖南湖水 DOM および Aldrich フミン酸それぞれの固体試料約 50 mg を 0.3 mL の 72 wt% H_2SO_4 0.3 mL と混合し、2 時間攪拌した。その後、蒸留水 8.3 mL を加えてオートクレーブ（120°C、1 時間）にかけて加水分解させた。この試料を HPAEC（High Performance Anion Exchange Chromatography、Dionex 社、DX-500）により定性分析を行った。その結果、中性糖としてアラビノース、ラムノース、ガラクトース、グルコース、キシロースおよびマンノースの 6 種を検出した。

3-4-2 定量分析

1K 膜濃縮画分の固体試料 5 mg を 72 wt% H_2SO_4 0.3 mL と混合し、2 時間攪拌した。その後、蒸留水 8.3 mL を加えオートクレーブ（120°C、1 時間）にかけて加水分解させた。この試料を 10 mL にメスアップした。また、RO 膜濃縮画分の混合試料、琵琶湖南湖水 DOM および Aldrich フミン酸それぞれの固体試料約 50 mg を 72 wt% H_2SO_4 0.15 mL と混合し、2 時間攪拌した。その後、蒸留水 4.15 mL を加え、オートクレーブ（120°C、1 時間）にかけて加水分解させた。この試料を 5 mL にメスアップした。これらの溶液 0.5 mL と発色試薬（5% フェノール 0.5 mL および濃硫酸 2.5 mL）を混合して測定試料とした。

定性分析で明らかとなった糖質の組成と同じ組成の 100 mg/L 溶液を調製した。これを 0、10、20、30 および 40 $\mu\text{g}/0.5 \text{ mL}$ となるように蒸留水で希釈して検量線作成用の試料とした。これらの 490 nm における紫外部吸光度の測定（島津製作所、UV-VIS Spectrophotometer UV-1200）により糖質濃度を求めた。得られた分析結果を表 3-8 に示す。

表 3-8 琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の糖質含有率

画分	糖質含有率 (wt%)
1K 膜濃縮画分	23.1
RO 膜濃縮画分	0.09
琵琶湖南湖水 DOM	0.03
Aldrich フミン酸	0.15

表 3-8 より、1K 膜濃縮画分は他の画分と比べて糖質に富むことが分かる。また、残りの 3 つの画分はほとんど糖質を含まない。これらの結果は、第 2 章で述べた NMR の分析結果と一致するものであった。

3-5 まとめと今後の課題

本章では、前章の結果を踏まえて分画・濃縮した水環境中 DOM の特性解析を行った。本章で分かったことを以下にまとめると共に、今後の課題を示す。

(1) 水環境中 DOM の元素分析について

- RO 膜濃縮画分の元素分析を行った結果、炭素含有量が 3.12% と非常に低く、灰分含有

量が 33.12%と今回の測定した試料の中で最も高いことが分かった。

- ・ 1K 膜濃縮画分の元素分析の結果、炭素含有量が 28.20%と低く、灰分含有量が 7.70%と低いことが分かった。

(2) 水環境中 DOM の紫外部吸光特性について

- ・ SUVA の値は、1K 膜濃縮画分と比べて RO 膜濃縮画分の方が大きく、芳香族性に富むことが示唆された。
- ・ Aldrich フミン酸は、琵琶湖南湖水 DOM の 2 つの画分と比べて SUVA 値が大きく、芳香族性に富むことが分かった。

(3) 水環境中 DOM の蛍光分析について

- ・ EEMs の比較により、1K 膜濃縮画分と RO 膜濃縮画分が本質的に異なる蛍光成分で構成されていることが示唆された。
- ・ 琵琶湖南湖水 DOM と Aldrich フミン酸の EEMs から、この 2 つの試料は起源が異なることが示唆された。
- ・ 測定試料中の DOM 濃度の増加にともなって、蛍光波長が短波長側にシフトすることが分かった。

(4) 水環境中 DOM の糖質分析について

- ・ 琵琶湖南湖水 DOM は中性糖としてアラビノース、ラムノース、ガラクトース、グルコース、キシロースおよびマンノースを含むことが定性的に分かった。
- ・ 1K 膜濃縮画分は、糖質に富むことが分かった。
- ・ 糖質分析の結果は、NMR 測定の結果と一致した。

(5) 今後の課題

- ・ フミン質や DOM の元素分析は本来難しいとされている。より正確な分析を行うために必要な知識と技術を身に付ける。
- ・ 本研究では、無機成分の分析を念頭に置いていなかったため、今後は、無機分析を念頭に置いた研究計画を立てる必要がある。
- ・ 本研究では糖質分析を行ったが、RO 膜濃縮画分は脂肪鎖に富む構造特性をもつことから、脂肪鎖に関する解析を実施する必要がある。
- ・ PAHs をはじめとした微量有機汚染物質の DOM への収着特性と SUVA 値の関係をより詳細に把握する。

第4章 結論

本研究は、環境水中のフミン質あるいは DOM が微量汚染物質と様々な相互作用をしていることを踏まえ、本研究の最終目標を琵琶湖フミン質が微量汚染物質の挙動・運命に与える影響を把握することに設定した。本研究は、その前段として琵琶湖 DOM を研究対象として選び、数種の解析手法を適用してその有効性を検証することおよび膜装置システムにより分画・濃縮した琵琶湖 DOM の化学構造や物理化学的特性が DOM の分子量とどのような関係にあるかを明らかにすることをその目的とした。本研究では、琵琶湖 DOM の構造特性を明らかにするために FT-IR、¹H-NMR および CPMAS ¹³C-NMR の適用を試みた。また、琵琶湖 DOM の特性を明らかにするために、元素分析、紫外吸光分析、蛍光分析および糖質分析を実施した。本研究で行った琵琶湖南湖水 DOM の解析を通して得た知見をまとめ、最後に今後の課題を記す。

(1) 膜孔径の異なる2つの膜装置を直列に組み合わせたシステムを用いて水環境中 DOM の分子量分画・濃縮を行った。質量分析により、1K 膜濃縮画分と RO 膜濃縮画分の分子量差は数平均分子量で 100 Da 以上であることが分かった。さらに、1K 膜濃縮画分の質量スペクトルにおいて、 m/z が 2,000 Da 以上の範囲にも広く分子量分布していることが示唆されたことを考慮して、この分子量差はさらに広がることが言えた。したがって、分画・濃縮に用いた膜装置システムは、本研究の目的を達するためには有効な分画方法であることが分かった。

(2) RO 膜濃縮画分について

- ・ 質量分析により、数平均分子量が 889 Da で、低分子領域 (<1,000 Da) において約 120 Da 間隔の周期的な繰り返し構造をもつことが示唆された。
- ・ RO 膜濃縮画分は、全 DOC 中の 39% (1 回目) および 32% (3 回目) を占めた。
- ・ NMR により、脂肪族性に富むことが示唆された。
- ・ 元素組成を解析した結果、炭素含有率が 3.12% と低く、糖質をほとんど含まないことが明らかとなった。
- ・ SUVA 値は、1K 膜濃縮画分と比べて高く、芳香族性に富むことが示唆された。
- ・ 3次元蛍光分析により、主に2つの蛍光ピークを有することが分かった。

(3) 1K 膜濃縮画分について

- ・ 質量分析により、数平均分子量が 997 Da で、 m/z が 2,000 Da 以上の領域にも広く分子量分布することが示唆された。
- ・ 1K 膜濃縮画分は、全 DOC 中の 34% (1 回目) および 22% (3 回目) を占めた。
- ・ NMR により、主要構成成分が多糖類であることが示唆された。
- ・ 元素組成を解析した結果、炭素含有率が 28.20% で、糖質含有率が 23.1% と高いことが分かった。なお、この結果は NMR の結果と一致するものであった。
- ・ SUVA 値は、RO 膜濃縮画分と比べて低いことが分かった。
- ・ 3次元蛍光分析により、主に1つの蛍光ピークを有することが分かった。

(4) Aldrich フミン酸について

- ・ FT-IR により、琵琶湖南湖水 DOM と比べてカルボキシル基含有率が高いことが示唆された。
- ・ CPMAS ^{13}C -NMR により、脂肪族炭素が支配的であることが示唆された。
- ・ 元素組成の解析の結果、炭素含有率が 51.81%と予想される範囲内の値を得た。
- ・ SUVA 値は、琵琶湖南湖水 DOM のそれと比較して大きく、芳香族性に富むことが示唆された。
- ・ 3次元蛍光分析により、主に2つの蛍光ピークを有することが分かった。さらに、蛍光ピーク位置が琵琶湖南湖水 DOM と比べて長波長側にあることから、両画分の起源が異なることが示唆された。
- ・ 糖質分析により、糖質をほとんど含まないことが分かった。

(5) その他、解析を通して分かったこと

- ・ FT-IR は、DOM やフミン質といった混合系の試料の官能基分析に対して、非常に簡便で有力な手法であることが分かった。
- ・ NMR (特に、 ^{13}C -NMR) は、各種パルスシーケンスを活用することにより、DOM やフミン質の定量的な構造解析において、主力となることが分かった。
- ・ 3次元蛍光分析により、DOM 濃度が増すにつれて、蛍光ピーク位置の蛍光波長が短波長側にシフトすることが分かった。
- ・ 画分が異なると化学構造や物理化学的特性が異なることが分かった。

(6) 今後の課題

- ・ DOM やフミン質の最も基本的な指標となる元素組成を正確に把握する。
- ・ 本研究で用いた解析手法にさらなる検討を加え、より定量的な解析手法の確立が必要となる。
- ・ 本研究で明らかとなった琵琶湖南湖水 DOM の化学構造と物理化学的特性がどのような関係にあるかを解明するために、さらなる検討が必要である。
- ・ 本研究で求めた琵琶湖南湖水 DOM の特性値(指標)を有機的に統合・発展させることにより、琵琶湖フミン質が環境水中で微量汚染物質の挙動・運命にどのように影響を与えているかを把握する。

以上、本研究で得た知見と今後の課題を述べた。様々な問題が山積しているが、本研究で得たこれらの知見は琵琶湖フミン質や DOM の解析を行う上で、最も基礎的な情報になることは間違いないと確信している。本研究により、フミン質や DOM が環境水中で、あるいは水利用の際に与えている様々な影響を解明あるいは把握するための礎となれば幸いである。

参考文献

- 1) 池田和弘: 水中フミン質の膜分離装置による分画濃縮方法の確立と質量分析計による特性解析, 京都大学大学院工学研究科環境地球工学専攻修士論文, 1999.
- 2) 有村良一: 膜分離装置を用いた溶存有機物の分画濃縮システムの開発, 京都大学工学部衛生工学科卒業論文, 1999.
- 3) 水野秀明: 琵琶湖溶存有機物質(NOM)の分子量分布とピレン収着からみた特性解析, 京都大学工学部衛生工学科卒業論文, 2000.
- 4) Etelka Tombacz: Colloidal Properties of Humic Acids and Spontaneous Changes of Their Colloidal State under Variable Solution Conditions, *Soil Science*, Vol.164, No.11, 814-824, 1999.
- 5) Personal Communication with R. Minear
- 6) F.J.Stevenson: Organic Matter Reaction Involving Herbicides in Soil, *J. Environmental Quality*, Vol.1, 333-343, 1972.
- 7) C.J.Tadanier, D.F.Berry, and W.R.Knocke: Dissolved Organic Matter Apparent Molecular Weight Distribution and Number-Average Apparent Molecular Weight by Batch Ultrafiltration, *ES&T*, Vol.34, 2348-2353, 2000.
- 8) 日本分析化学会編: 分析化学データブック(改訂4版), 丸善, 1994.
- 9) 平岡賢三: イオン化法: その特徴と将来展望, 第24回BNSコンファレンス公演要旨集, 25-36, 1997.
- 10) 荒木峻, 益子洋一郎, 山本修訳: 有機化合物のスペクトルによる同定法(第5版), 東京化学同人, 1992.
- 11) 大野公一: 量子物理化学, 東京大学出版会, 1989.
- 12) W.M.Davis, C.L.Erickson, C.T.Johnston, J.J.Delfino, and J.E.Porter: Quantitative Fourier Transform Infrared Spectroscopic Investigation of Humic Substance Functional Group Composition, *Chemosphere*, Vol.38, No.12, 2913-2928, 1999.
- 13) Y.Zegouagh *et al.*: Refractory Organic Matter in Sediments from the North-west African Upwelling System: Abundance, Chemical Structure and Origin, *Organic Geochemistry*, Vol.30, 101-117, 1999.
- 14) U. S. Geological Survey: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Interactions, Properties, and Proposed Structures (Open-Files Report 87-557), Denver, Colorado, 1989.
- 15) R.L.Malcolm: *Analytica Chimica Acta*, Vol.232, 19-30, 1991.
- 16) 山崎昶 訳: 化学・生化学・薬学・医学のためのやさしい最新のNMR入門, 培風館, 1988.
- 17) Timothy D.W.Claridge: High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, Pergamon, 1999.
- 18) 通元夫, 廣田洋 監訳: 最新NMR-基礎理論から2次元NMRまで, シュプリンガー・フェアラーク東京, 1988.
- 19) D.O.Hessen and L.J.Tranvik: Aquatic Humic Substances; Ecology and Biochemistry, Ecology Study 133, Springer, 1998.
- 20) 米林甲陽: フミン物質の分離とそのキャラクタリゼーション, 水環境学会誌, Vol. 18, No. 4, 257-260, 1995.

- 21) U.P.Chin, G.R.Aiken, and K.M.Danielsen: Binding of Pyrene to Aquatic and Commercial Humic Substances: The Role of Molecular Weight and Aromaticity, *ES&T*, Vol. 31, 1630-1635, 1997.
- 22) M.L.Pomes *et al.*: DBP Formation Potential of Aquatic Humic Substances, *Journal AWWA*, Vol.93, Issue 3, 103-115, March 1993.
- 23) I.V.Perminova, N.Y.Grechishcheva, and V.S.Petrosyan: Relationship between Structure and Binding Affinity of Humic Substances for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Relevance of Molecular Descriptors, *ES&T*, Vol. 33, 3781-3787, 1999.
- 24) E.M.Perdue: Analytical Constraints on the Structural Features of Humic Substances, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 48, 1435-1442, 1984.
- 25) P.G.Coble: Characterization of Marine and Terrestrial DOM in Seawater Using Excitation-emission Matrix Spectroscopy, *Marine Chemistry*, Vol.51, 325-346, 1996.
- 26) 長尾誠也, 鈴木康弘, 中口譲, 妹尾宗明, 平木敬三: 三次元分光蛍光光度計による天然水腐植物質の蛍光特性の直接測定法, *分析化学*, Vol. 46, No. 5, 335-342, 1997.
- 27) 木下一彦, 御橋廣真編: 日本分光学会測定法シリーズ 3 蛍光測定-生物学への応用, 学会出版センター, 1983.
- 28) J.J.Mobed, S.L.Hemmingsen, J.L.Autry, and L.B.McGown: Fluorescence Characterization of IHSS Humic Substances: Total Luminescence Spectra with Absorbance Correction, *ES&T*, Vol. 30, No. 10, 3061-3065, 1996.

al
l,
A,
nd
of
s,
ng
然
目,
of
T,

II. 膜ろ過処理による微量有機汚染物質除去特性の解明

第1章 序論

1. 研究の背景

アオコとはシアノバクテリア（別名ラン(藍)藻）が湖沼・河川等の水面に集積して青い粉を散らせたようになる状態をいう。ほとんどのシアノバクテリアは有毒と考えられており、淡水だけでなく汽水や海水からも検出される。また、シアノバクテリアはアオコを発生させるだけでなく、水中に漂っていたり、浅い湖や海の底にマット状に張り付いたりして生息している。

1980年代の後半にシアノバクテリアの毒素の構造が始めて発表されてから有毒シアノバクテリアが私たちの周りにたくさんいることが明らかになってきた。特に飲料水源となっている湖沼に発生したシアノバクテリアの毒素（シアノトキシンと呼ばれる）によって、急性中毒による死亡事故や、肝臓ガン等の被害が世界各地で報告されている。

これまで原因が分からず、その地域特有の風土病と考えられてきた病気の中のいくつかは、このシアノバクテリアの毒素に起因するらしいことが明らかになってきている。特に、人口の増加に伴って、淡水湖沼に大量の生活廃水や産業排水が流れ込むようになり、湖沼が富栄養化状態になってから有毒シアノバクテリアが大発生するようになった。シアノバクテリアによる疾病が明らかになったのはその生態や毒素の物理化学的性質や毒性が明らかになってからであり、1985年以降のことである。シアノバクテリアによる疾病や事故例のほとんどは外国で起きたものであり、日本においては人間に及ぼす具体的な悪影響の事例は報告されていない。しかしながら、日本も例外ではなく国内のほとんどの湖沼でシアノバクテリアの毒素が検出されている。日本国内での大きな事故の記録がないのは、本当にシアノバクテリアによる疾病がなかったのか、あるいはシアノバクテリア以外の原因とされたために表面上は存在しないのかは定かではない。世界的にみるとシアノバクテリアによる被害は増加の傾向にあり、有毒なシアノバクテリアはひたひたと私たちの周りに忍び寄ってきているのである。

21世紀は水不足の世紀になるといわれている。水の量はもちろんのこと、資源として価値を持たせるためにはそれに相当する水の質が求められる。最

も重要なことは、資源としての水を汚染しないようにすることであるのは言うまでもない。しかしシアノバクテリアの発生に見られるように、一旦環境が破壊された場合には、制御の難しいシアノバクテリアの増殖や毒素をいかに人為的に制御するかが重要となり、水資源確保のために解決しなければならない大きな問題となる。シアノバクテリアの増殖を阻止できなかった場合、何らかの方法で水を処理してその毒素が飲料水に混入しないようにしなければならない。シアノトキシンは通常細胞内に存在するので、薬剤を加えて細胞を凝集沈殿処理することによってかなりの毒素を除くことができる。しかし、細胞の外に放出されてしまった毒素は通常の凝集沈殿処理では除けない。

現在、シアノトキシン等の溶存有機汚染物質を処理するために実用化されている技術として、活性炭ろ過、塩素処理、オゾン処理、逆浸透膜処理等がある。また実験的に紫外線照射なども行われている。これらの物理化学的処理方法のなかで逆浸透膜処理は、膜で2相の境界を仕切り、駆動力である圧力差を調整して様々な物質の透過を制御する技術であり、他の処理方法と比較して簡素で、薬品添加を伴わないため人の健康に有害な処理副生成物の発生の心配がないという利点がある。

1.2 膜透過法

1.2.1 膜透過法について

膜処理は非常に古くから存在していた技術であるが、本格的に利用されはじめたのは最近になってからで、近年その応用分野は急速に拡大している。現時点では、主として溶液系、特に水溶液に対して用いられ、溶質と溶媒の分離、すなわち濃縮や溶質の相互分離に役立っている。

膜によって物質を分離（または濃縮）する場合、膜は選択性を持つ隔壁にすぎず、分離の駆動力(エネルギー)は外部から与えられる。この駆動力には、力学的、電氣的、物理的等の各種の形態のものが用いられる。力学的エネルギーでは圧力（またはまれには遠心力）を用いるろ過法が、電氣的な方法には荷電粒子の電場における移動を利用する電気泳動法と電気透析法が、そして物理的な方法では濃度差による拡散を利用する等が存在する（図 1.1）。

溶液系のおもな膜透過法	機構	駆動力 (エネルギー)
ろ過法	逆浸透	小分子阻止
	限外ろ過	大分子阻止
電気移動法	電気透析	小分子透過
	電気泳動	大分子移動
透析法	小分子透過	濃度差

図1.1 主な膜透過法と駆動力 (エネルギー)

新しいろ過膜の開発とその応用研究は、1950年代の中頃から米国において海水の脱塩研究の奨励が大きな推進力となり非常な熱意で始められた。それらのなかで1960年代に誕生し、発展してきた逆浸透 (RO: Reverse Osmosis) 法は、同様に圧力を分離の駆動力とする限外ろ過 (UF: Ultrafiltration) 法とともに、非常に広い分野、例えば、地下水の飲料水化、超純水や純水および無菌水の製造、工場やビルの廃水処理、食品や医薬工業等の各種プロセスの生成物の分離・濃縮・精製、で利用されている。

逆浸透法は無機塩類程度の小分子溶質と溶媒分子との分離を目的とするものであり、限外ろ過法は比較的大きな溶質分子を小分子溶質または溶媒分子からふるいわけする操作である。したがって両者には本質的な大きな差はなく、習慣的に大きく逆浸透法と限外ろ過とに分類されているが、両者の境界は明瞭なものではない。逆浸透法では溶質が小分子であるために浸透圧が高く、これに打ち勝って溶媒を通過させるための高圧を必要とする。これに対して限外ろ過法を利用して高分子溶質を分離する場合には、濃厚な溶液でも浸透圧が低いので比較的低い圧力でろ過が進行することになる。このため両法では使用する膜の性質の差だけでなく、装置や操作上にも種々の違いがあるので、別の名称がつけられている。

逆浸透法、限外ろ過法いずれについても重要であるのは、膜の材質とその構造、溶媒の透過速度、溶質分子の透過選択性 (分子分画性)、耐圧強度および耐久性である。これら諸因子のうち、透過速度と強度とは膜の厚さに関係して互いに相反する性質であるが、異方性膜の開発によって、飛躍的に改良された。異方性膜は、ち密で著しく細かい通過孔を有する表層と、きわめて

粗で厚い層からなる深層によって構成されている。主に透過の選択性を有するのは膜表面部の薄い層で、これは活性層、スキン層、緻密層等とよばれており、深部の厚い層は膜の形を保つのに役立っているが透過にはほとんど寄与しない部分で、多孔層、スポンジ層、支持層等の名称で呼ばれている（図1.2）。

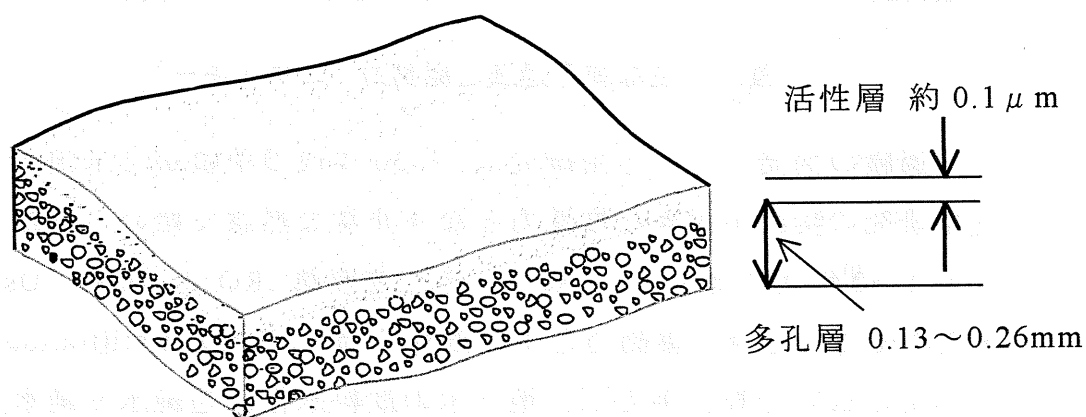


図 1.2 膜透過法により利用される異方性膜の構造

膜の溶質分子に対する透過の制限が孔によるものとする、塩類の透過を制限する孔はきわめて細かいものでなければならないから、均質膜の場合には相対的に著しく細長い形となり、溶媒がその孔を通過するための抵抗はきわめて大きなものになる。これに対して異方性膜は、透過を制限する表面層を著しく薄いものとし、孔の長さを短くすることによって、溶媒の透過を容易にしたものである。また、異方性膜では通過孔が短いので、操作中に通過物が孔に詰まったり吸着されて溶媒の透過を妨害する原因の発生もはるかに少なくなる。したがって異方性膜では、ある程度の強度を保ちながら大きな透過流束を得られる。

1.2.2 逆浸透法

用途の拡大につれて、様々なタイプの逆浸透膜が開発されている。本来、膜透過法がその他の物質の分離法である蒸発、蒸留、抽出、沈殿、吸着、イオン交換、クロマトグラフィー、遠心分離等の方法と比べ、自動化の可能な

省エネルギー的技術として登場したことから、現在では当然の方向として、より低い圧力で使用できる低圧逆浸透膜の開発が進んでいる。

異方性の低圧逆浸透膜による溶質阻止能力は、膜の物理的構造と、溶質や溶液の物理化学特徴によっている。阻止に影響を及ぼす溶質の特性には、イオンの荷電性、分子の大きさ、水素結合があるとされている¹⁾。これは、イオンの荷電性、溶質の分子の大きさがそれぞれ大きくなれば溶質阻止率が上昇し、水素結合が強ければ溶質透過量が多くなる、ということによる。また、阻止に影響を及ぼす操作条件としては、溶質の濃度、温度、pH、及び操作圧力が挙げられている。

金²⁾は NTR-729HF を用いて、Li³⁾は ES20 を用いて低圧逆浸透膜の分離特性について研究を行い、低圧逆浸透膜の溶質阻止性能は特に溶質の分子量および解離乗数 (pKa)、溶液の pH による影響が大きいとの結論を得ている。無機物及び非解離性の有機物の阻止率は pH 依存性を示しており、どちらの結果でも pH5 付近でその阻止率が最低となっている。これは、溶液の pH によって膜表面の荷電性が変化し、pH が 5 以下では膜が正に帯電し、5 以上では負に帯電するために、膜と溶質とに電気化学的作用が働くことで、その透過に影響を与えるためであるとされている。また、解離性の有機物の場合は、溶液の pH が解離定数より大きくなれば、その阻止率が上昇または下降する、という結果が得られているが、これは溶液の pH が解離定数を越えることで溶質のほとんどが解離をするために、電気化学的作用が働くためであるとされている。

膜の帯電性が溶質阻止に関わっていることについては以前から示唆されている。池島⁴⁾は、いくつかの低圧逆浸透膜の ζ-電位を測定し、これらの膜を利用して環境ホルモン（外因性内分泌攪乱物質）であるビスフェノール A と 17β-エストラジオールの除去特性を測定している。この結果、膜の ζ-電位が膜分離効率に影響を与える一つの要因であるとしている。

2. 研究の目的および概要

本研究では、世界各地の湖沼で問題となっているシアノバクテリアの毒素（ラン藻毒素、シアノトキシン）の一つで被害発生件数が最も多く、毒性も最

も強いマイクロシスチンLRの低圧逆浸透膜による分離実験を行い、膜の種類、溶液のpH、およびNOM（Natural Organic Matter、溶存性有機炭素化合物）が膜分離に及ぼす影響について基礎的な検討を行う。また、そのために必要なマイクロシスチンLRの分析方法についても検討を加える。

本研究の具体的な目的を以下に列挙する。

1. マイクロシスチンLRの分析方法として、既存の方法を比較し、低圧浸透膜による分離実験のために最適な方法を選択すること。
2. マイクロシスチンLRを低圧逆浸透膜により処理し、この際の膜の種類（特に ζ -電位）、溶液の性質（特にpH）、およびNOMが与える影響を把握すること。

本研究では上記（1）および（2）の研究目的に対し実験・考察した結果をそれぞれ第2章および第3章に詳述する。そして第4章では、これらの結果をまとめて今後の課題とともに記す。

低圧逆浸透膜を種々雑多に存在する有機微量汚染物質の除去のために有効利用するためには、これまでに実施されてきたような、特定の対象水を利用したケーススタディーの域を越え、様々な条件における低圧逆浸透膜法の有効性を普遍的に論じることが必要となる。マイクロシスチンLRを対象とした本研究における微量物質分析法の選択および低圧逆浸透膜処理に及ぼす膜および溶質の特性に関する検討がこの普遍的議論の一助となるものと考える。

第2章 分析方法の選択

本章ではまず実験に利用したマイクロシスチンの構造・特徴について記述する。次に、既存の分析方法の中からこのマイクロシスチンを膜透過法により分離除去するための実験に最適な方法を検討・選択した結果について述べる。

2.1 ミクロシスチン

ラン藻類の生産する毒素は、大きく分けて神経毒と肝臓毒の2種類に分類される。それらの毒素のうちで、日本において主に問題となっているのは、マイクロシスチンと呼ばれる肝臓毒素である。マイクロシスチンの化学構造は、7個のアミノ酸からなる環状のペプチドで、アミノ酸の種類の違いなどによって多くの同族体や誘導体が存在しており、現在までに60種類以上のマイクロシスチンが報告されている¹⁾。これらの中でその毒性が最も大きいマイクロシスチンLR(図2.1)の急性毒性は、マウスで32.5~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であるといわれている¹⁾。その標的となる器官は主に肝臓であり⁶⁾、マイクロシスチンをマウスからラットに投与すると、その多くは肝臓に取り込まれ、肝不全が引き起こされて死亡する。また、マイクロシスチンは発ガンにも関与するとされており、藤木ら¹⁾は、マイクロシスチンに発ガンのプロモーター作用があることを報告している。中国では、肝臓ガンの発生率が他の地域に比べ高い地域が存在しているが、その原因の一部としてラン藻毒のマイクロシスチンが指摘され、調査が行われている¹⁾。したがって、アオコの発生している水域を飲料水の水源とする地域においては、マイクロシスチンの急性毒性とともに、発ガンへの関与を考慮した慢性的な影響についても注意を払う必要がある。

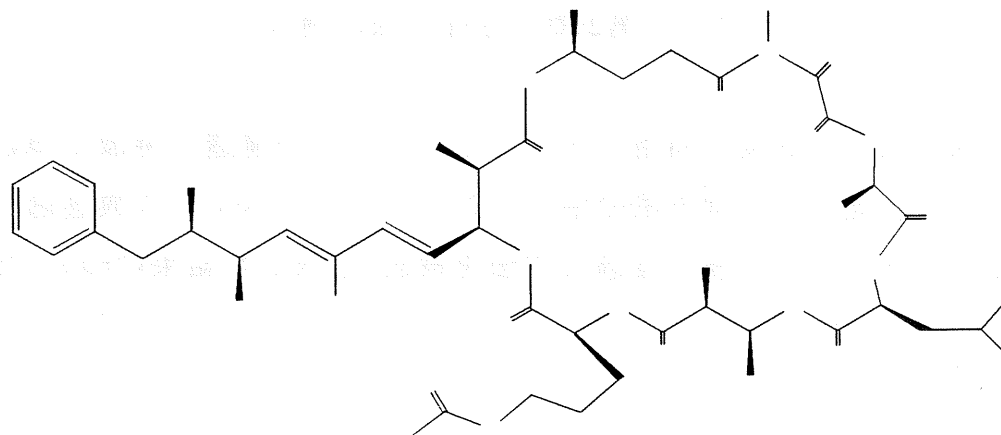


図 2.1 ミクロシスチン LR の化学構造

2.2 ミクロシスチン LR の分析方法

本研究において分析の対象となるサンプルの溶媒は水である。将来において膜透過法によってその処理効果および特性を検討していかなければならない有機微量汚染物質は非常に多数存在するが、それらの研究の際のサンプルは本研究の場合と同様にいずれも水試料である。したがって、本研究では、ミクロシスチン LR の分析方法を選択する際に、まず溶媒抽出等の前処理操作を必要としない方法を選び、それらについて比較検討することとした。その結果、既存の水試料のミクロシスチン LR の分析方法として、ELISA 法、HPLC/UV 法、HPLC/MS 法の 3 つの方法が挙げられた。

2.2.1 ELISA 法

近年、ミクロシスチン LR に対するモノクローナル抗体が作成され、ミクロシスチン LR を高感度かつ特異的に測定することのできる酵素免疫測定法 (ELISA 法、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) を開発された。なおこの抗体は、ミクロシスチン LR を抗原として作成されたものであるが、他のタイプのミクロシスチンとも反応性を示す。

市販されているミクロシスチン ELISA キットでは、多孔プレート底面にあらかじめミクロシスチン-牛血清アルブミン複合体が固相化されている。ここにミクロシスチンを含む試料水と抗ミクロシスチンモノクローナル抗体

(一次抗体)を加えると、加えた抗体は液相・固相のマイクロシスチンと競合的に反応する。その結果、試料水中にマイクロシスチンが多く含まれれば、濃度依存的に一次抗体の固相への結合を阻害することになる。分析操作では、この後、固相に結合しなかった余剰のマイクロシスチンと一次抗体を洗い流した後、固相に結合した一次抗体に対して特異的な二次抗体を結合させる。この二次抗体には、西洋わさびペルオキシターゼで標識されたものが用いられている。次に、非結合の二次抗体を洗い流した後、固相に残っている二次抗体量を測定するために二次抗体により発色する基質を用いて酵素反応を行わせる。このようにして測定された発色の強弱は試料水に含まれるマイクロシスチン量を反映しており(マイクロシスチン量が多い→一次抗体、二次抗体の量が少ない→発色が弱い)、既知濃度の標準品から得られる発色から得られた検量線と比較することで、マイクロシスチンの濃度が定量できることになる。ELISA 分析におけるマイクロシスチン LR の検量線を図 2.2 に示す⁷⁾。

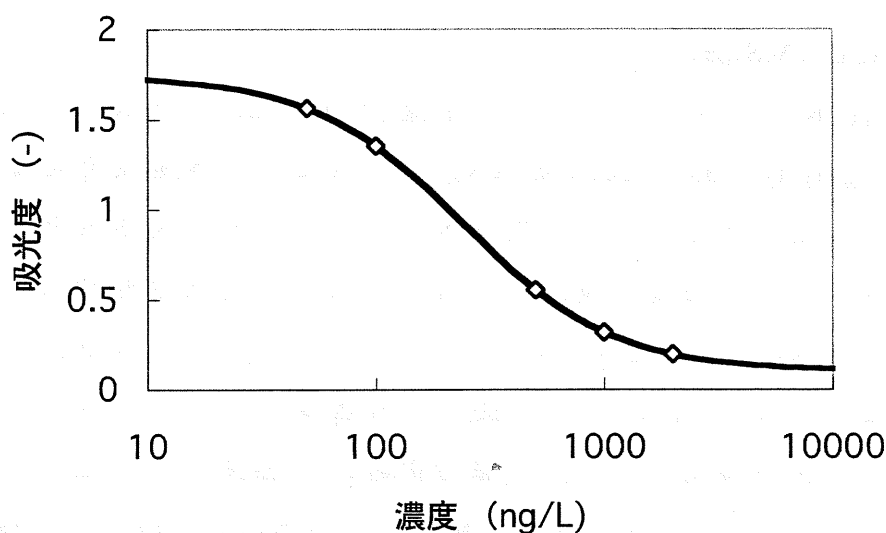


図 2.2 ELISA 分析におけるマイクロシスチン LR の検量線

この方法の長所は検出限界が 100~500 ng/L と非常に高感度であること、多孔マイクロプレートを使用することから、一度に多数の試料の定量が可能であること等が挙げられる。短所はマイクロシスチン LR と似た構造を持つ物質が抗体に結合するときも同様の反応が起こるため対象物質の正確な濃度が測

定できなくなること、および操作が煩雑で熟練を擁すること等が挙げられる。

2.2.2 HPLC/UV 法

現在、最もよく使われている方法である。高速液体クロマトグラフ装置 (HPLC、High Performance Liquid Chromatography) でマイクロシスチン LR と共雑物質を分離して紫外線吸光光度 (UV、Ultraviolet Absorbance) 検出器でマイクロシスチン LR の濃度を検出するという方法である。

カラムは C18 の逆相カラム、移動相は MeOH : 0.05M リン酸緩衝液 (pH3) = 58 : 48 (v/v) を用い、流量 1.0 mL/min、検出波長は 238 nm とするのが条件として一般的になっている。

この際の検出限界は 1 mg/L 程度である。検出器としては、一般に有機物質の分析の場合、蛍光度を利用する方が感度が高いとされるが、図 2.1 に示したように、マイクロシスチン LR の化学構造は共役二重結合をほとんど含んでおらず、蛍光度による検出は困難である。

2.2.3 HPLC/MS 法

高速液体クロマトグラフ / 質量分析計法 (High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry) は、HPLC の溶離液を噴霧し、種々の方法により大気圧下でイオンを生成させ、イオンと溶媒蒸気を分離して質量分析計に導入し目的物質を検出する装置である。質量分析計は、導入された試料中の物質群をイオン源においてイオン化し、それを質量分析部でイオンの質量 (M) / イオン価数 (Z) に従って分離検出し、マススペクトルとして表すことができる装置である。質量分析計が高感度かつ同定能力に優れている検出器であるため、検出器が吸光度計などの通常の HPLC と比較し、HPLC/MS 法は有機微量物質の定量に極めて有効な装置と言える。特に測定対象物質に特徴的なイオンのみを検出し、そのクロマトグラムを得る方法である SIM (Single Ion Monitoring) を用いることで、非常に高い感度を得ることが出来る。

マイクロシスチンの定量に関しても、HPLC/MS 法による分析は上水試験法の公定法となっている。マイクロシスチン LR の HPLC/MS 法による分析の結果、

数 $\mu\text{g/L}$ から数十 $\mu\text{g/L}$ という低い濃度範囲でクロマトグラムのピーク面積と濃度に良好な直線性が得られたという報告がある⁸⁾。

本研究における膜透過実験では、マイクロシスチン LR の初期濃度を実際の環境中濃度を考慮して $100 \mu\text{g/L}$ としており、測定の再現性と簡便性を確保するために試料の濃縮操作を行わないことから、数 $\mu\text{g/L}$ の濃度まで定量できることが要求される。このことから本研究においてはマイクロシスチン LR の定量には HPLC/MS 法が適していると考えられる。

2.3 本研究で選択した分析方法

実際の水試料中には、マイクロシスチン LR のみが溶質として存在することではなく、他の種々雑多な共存物質が溶解している。ELISA 法の場合、この共存物質のいずれかが、分析の際の競合物質となる可能性を否定することはできない。したがって、マイクロシスチン LR の分析には、マイクロシスチン LR を分離することが可能な HPLC の利用を避けることはできない。

また、マイクロシスチン LR に対する WHO のガイドライン値が $100 \mu\text{g/L}$ であり、日本の湖沼で検出される濃度がこれ以下の範囲であることを考慮すると、HPLC を利用した 2 つの方法のうち、HPLC/MS が適していることになる。以上の考察により、本研究では HPLC/MS をマイクロシスチン LR の分析方法として選択することとした。

2.4 HPLC/MS 法によるマイクロシスチン LR の分析方法の確立

本研究で用いた質量分析装置は Thermoquest 社の TSQ7000 であり、イオン化法として ESI 法をもつ。高速液体クロマトグラフは、カラムとして Magic C18、 $5 \mu\text{m}$ 、 200\AA 、 $1.0 \times 150 \text{ mm}$ が備わっている) を用いた。

2.4.1 ESI 法

HPLC/MS 法のイオン化には種々のイオン化法があるが、今回の分析には最もソフトなイオン化方法であるエレクトロスプレーイオン化 (Electrospray Ionization, ESI) 法を用いた。その原理を図 2.3 に示す。ESI 法では、まず揮発されやすい溶媒と塩を添加した試料水溶液をイオン化部に導入する。試料

溶液はそこで霧状に噴霧されて、小さな液滴になる。イオン化部では高電圧に印加されており、液滴は塩や水素イオンおよび水酸化イオンなどで高度に荷電する。液滴は正負どちらかの電荷が卓越し、ここで測定対象物質はそれらイオンと結合し電荷を持つ。イオン源にはシースガスと呼ばれる窒素ガスが導入されており、また、イオン源（ヒーテッドキャピラリー）は高温となっている。これらによって荷電した液滴は揮発して小さくなり、ついにはイオン密度が上昇し、クーロン力によってイオンははじかれ気化する。気化したイオンはチューブレンズによって効率よく質量分析部に導入される。

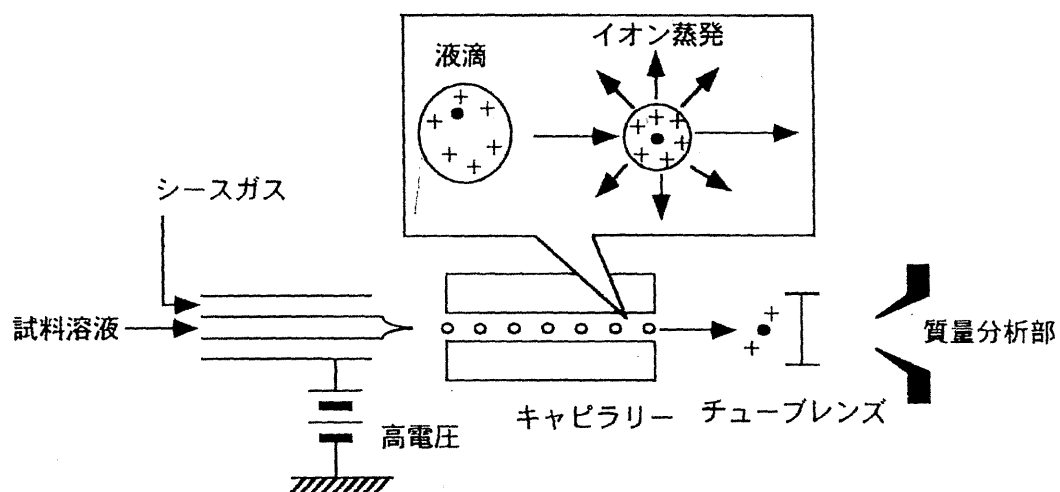


図 2.3 エレクトロスプレーイオン化法の原理

2.4.2 ミクロシスチン LR の分析条件

ミクロシスチン LR の高感度分析のため、まず質量分析計の分析条件の最適化を行った。あらかじめ MRFA-Myoglobin 混液でキャリブレーションを行った質量分析計に、高濃度のミクロシスチン LR を HPLC のカラムを通さず注入し、ポジティブイオンモードで 2 秒に 1 回スペクトルを得ることで、その分子イオンのピークを確認した (図 2.4)。ついで、製造業者のマニュアルに従って、そのイオンの M/Z の感度が最大となるようにチューニングを行った。この結果、分析条件は、シースガス圧：70 psi、オーキシラリーガス圧：5 unit、スプレー電圧：4.5 kV、ヒーテッドキャピラリー温度：175℃、試

料注入流速：20 μ L/min、試料溶媒：0.5%TFA/メタノール=1/1 (V/V) となった。ついで、HPLC を質量分析計に接続し、マイクロシスチン LR の水溶液を 5 μ L うち込み、0.5%TFA/メタノール=1/1 (V/V) 溶液を展開液としたイソクラテック (20 μ L/min) での分析を SIM で行い、カラムでの保持と分離を確認した (図 2.5)。この結果、1 μ g/L~1 mg/L のマイクロシスチン LR 濃度に対し、いずれも約 8 分にシャープなピークが見られ、そのピーク面積と濃度に線形関係を確認できた (図 2.6)。これらのことから、上記の分析条件を最適なものとし使用した。

本研究で選択した HPLC/MS は、イオン化に ESI 法を利用することにより、他の水試料中の有機微量汚染物質の分析にも適した方法であるといえる。このことは、今後の有機微量汚染物質の膜透過法による研究を進行させるために有効な方法であると考えられる。

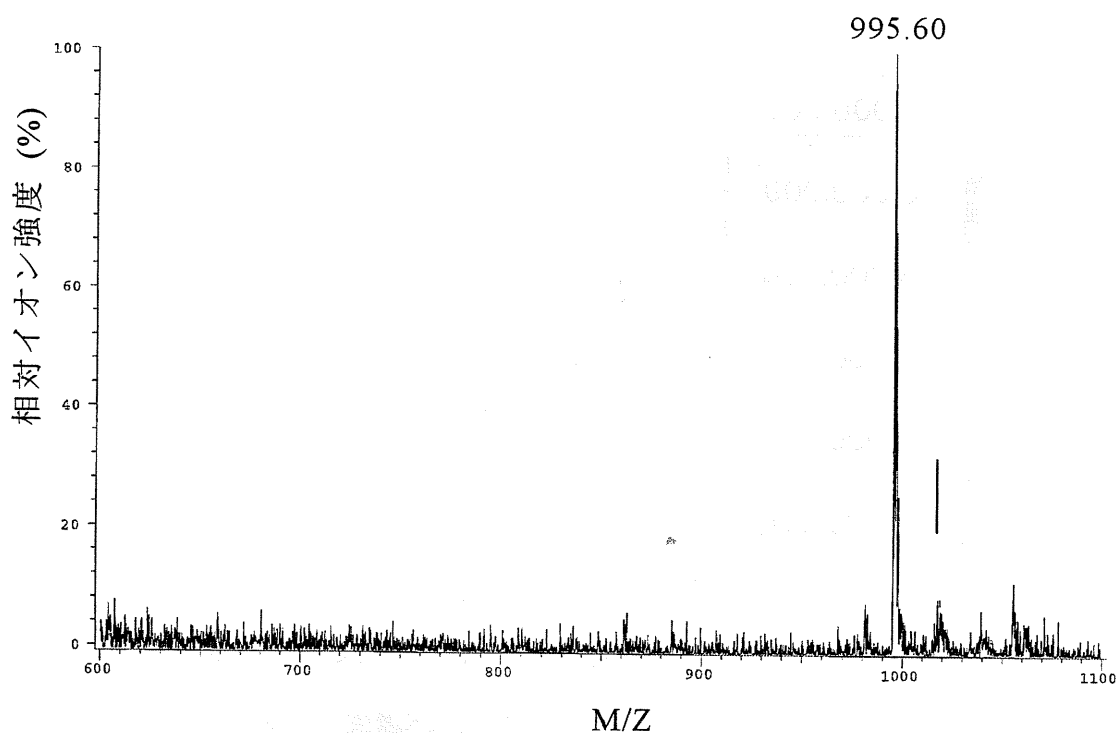


図 2.4 ミクロシスチン LR マススペクトラム

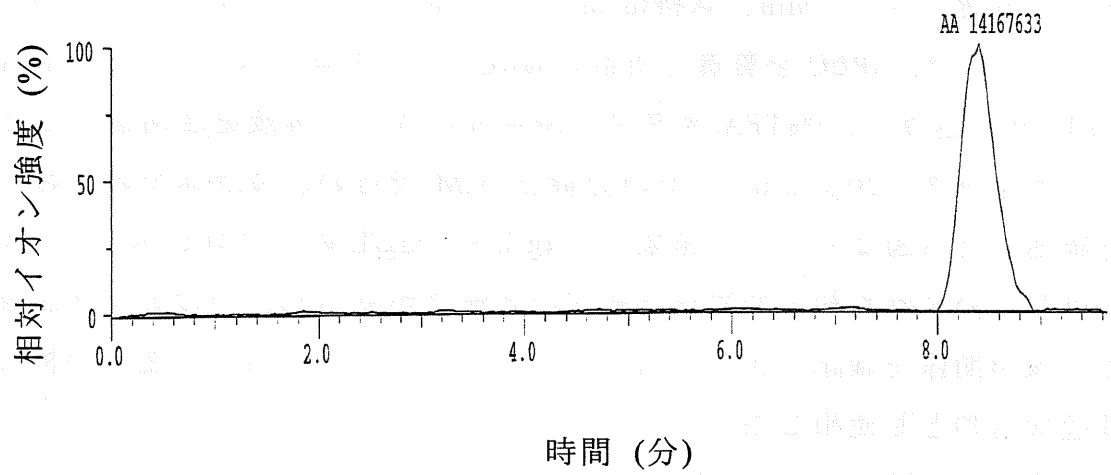


図 2.5 HPLC/MS 法によるマイクロシスチン LR の SIM クロマトグラム

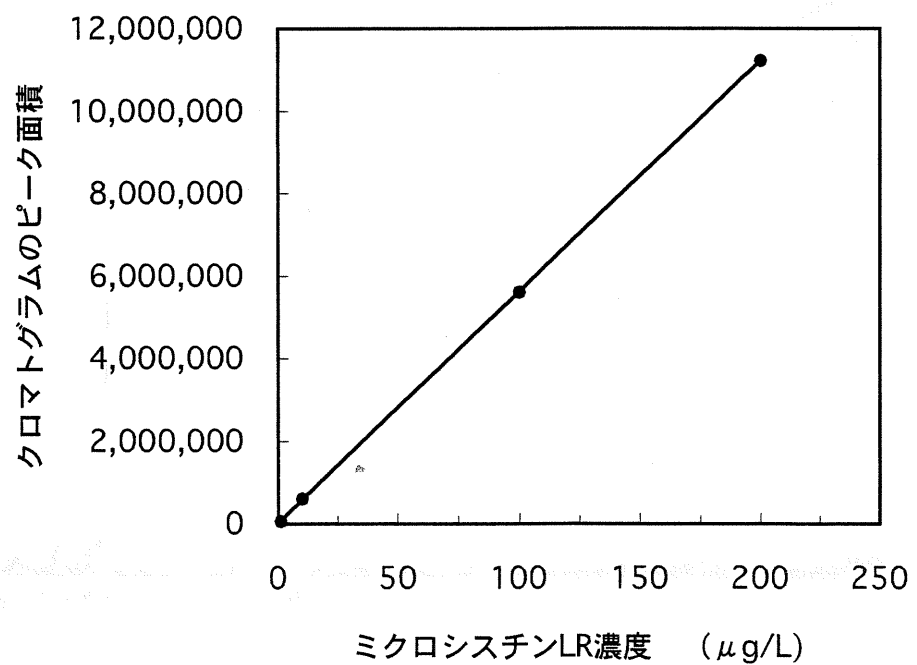


図 2.6 HPLC/MS 法によるマイクロシスチン LR の検量線

第3章 逆浸透膜による微量有機汚染物質の除去特性

3.1 概要

本章では、逆浸透法によるマイクロシスチン LR の除去特性を把握するために使用した逆浸透膜の性状、平膜型実験装置および実験方法について述べる。そして実験結果を基に、膜の種類による除去特性を比較し、溶液の pH および NOM 共存の影響を考察する。

3.2 実験方法

3.2.1 逆浸透 (RO) 膜

本研究では、RO 膜に属する UTC20、UTC60、UTC70U、DKL3500 および DKL4000 の 5 種類の平膜 (いずれも異方性膜) とそれらの支持膜となっているポリスルホン多孔膜の計 6 種類の膜 (いずれも東レ (株) 製) を使用した。5 種の RO 膜の性能を表 3.1 に示す。

表 3.1 本研究に使用した RO 膜の性能

RO 膜	操作可能 圧力範囲 (MPa) ^{a)}	標準使用 圧力 (MPa)	標準物質排除率 (%) ^{b)}			
			NaCl 500 mg/L	MgSO ₄ 500 mg/L	ショ糖 1,000 mg/L	グルコース 1,000 mg/L
UTC20	≦1.0	0.5	—	99.0 (0.75 MPa) ^{c)}	—	—
UTC60	≦1.0	0.5	55.0 (0.35 MPa) ^{c)}	—	99.7 (0.75MPa) ^{c)}	—
UTC70U	≦1.0	0.75	99.5 (0.75 MPa) ^{c)}	—	—	99.9 (0.75 MPa) ^{c)}
DKL3500	≦1.0	0.3-0.5	97.0 (0.3 MPa) ^{c)}	97.5 (0.3 MPa) ^{c)}	—	94.5 (0.3 MPa) ^{c)}
DKL4000	≦1.0	0.3-0.5	85.0 (0.3 MPa) ^{c)}	98.0 (0.3 MPa) ^{c)}	—	92.0 (0.3 MPa) ^{c)}

さらに、電気電位法により測定された ζ -電位を基にして求められた、これ
a) 耐圧性は 2.0 Mpa まで可能 b) pH 6.5 c) 実験時における圧力

ら5種のRO膜の等電位長を表3.2に示す。東レ(株)によれば、「アニオン性の強い順は、DKL4000>DKL3500>UTC60>UTC70U>UT20と想定している」とのことであった。この製造元の見解と表3.2の等電位長の測定結果は、厳密には一致していないが、少なくともDKL4000が最もアニオン性が強く、UTC20はカチオン性であると考えられる。

膜は6種ともA4サイズで、5種のRO膜は密封容器中の純水に浸して冷蔵保存(4℃)してあり、実験前に後述する平膜型膜ろ過装置の有効膜面積の大きさに合うように円形に整形して使用した。支持膜の場合、有機溶媒に浸して保存されているため、実験の直前に90℃の純水で2分間洗浄し、その後整形して用いた。

表 3.2 本研究に使用したRO膜の等電位点

RO 膜	等電位点
UTC20	6.16
UTC60	2.58
UTC70U	3.56
DKL3500K	3.61
DKL4000K	3.67

3.2.2 膜ろ過装置

今回、実験には逆浸透(RO)処理(または限外ろ過(UF)処理)装置である新型レモリーノ(ミリポア製)を用いた。その概要を図3.1に、また、膜ろ過装置セル本体の断面を図3.2にそれぞれ示す。

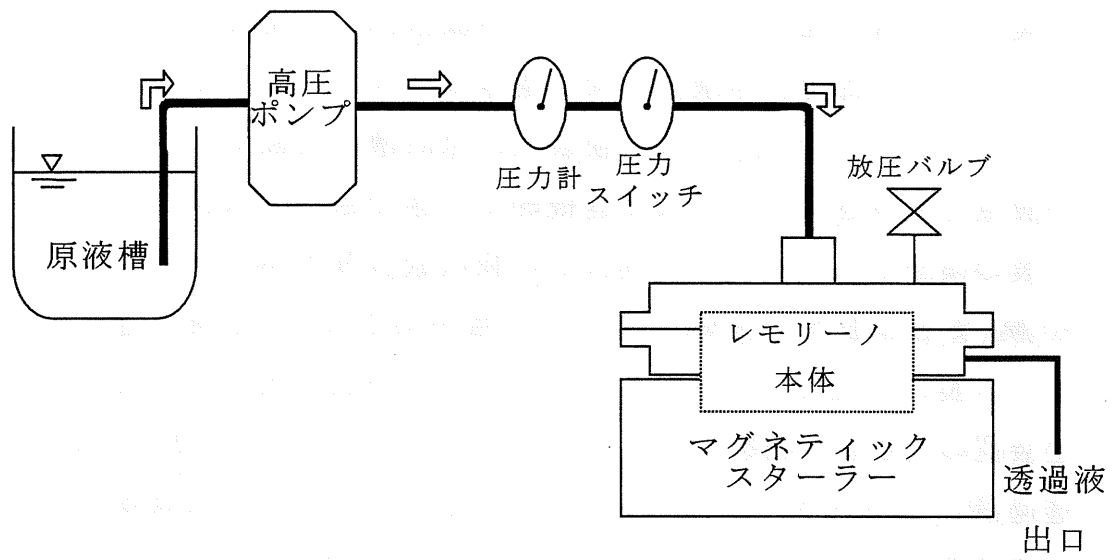


図 3.1 膜ろ過装置の概観

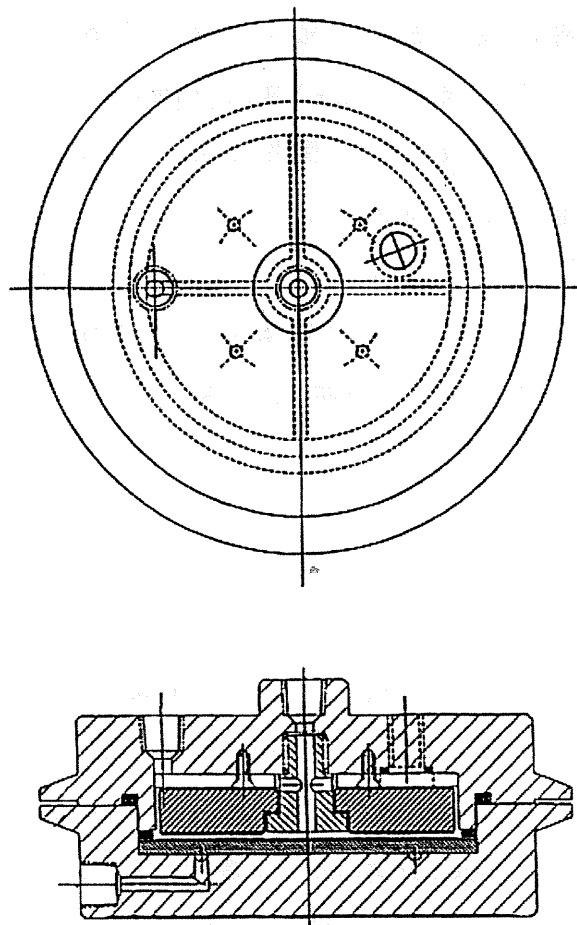


図 3.2 レモリーノ本体内部

膜ろ過装置は図 3.1 に示すように原液槽部分、高圧ポンプとラインによるネットワーク部分、平膜用の膜ろ過装置セルの 3 つの部分から構成されている。デッドエンドろ過方式の膜装置に原液槽を接続することにより、セル内の液量を減少させることなく連続的にろ過できる。原液はダブルプランジャー製の高圧ポンプによって連続的に膜ろ過装置本体セル内部に送りこまれ、RO 膜(または限外ろ過膜)によって分離がおこなわれ、膜を透過した液はステンレス製の多孔質の支持プレートを通して透過液出口より流出する。本膜ろ過装置の特徴は、時間の経過と共にセル内に原液中の溶質の濃縮がおこるが、透過液として系外へ出た分を原水で補給するため回分式装置に比べてセル内の濃度変化は緩やかで、極端な濃度の上昇なしに実験を行うことができる点である。

逆浸透(または限外ろ過等)処理する際に、濃度分極またはゲル層の生成によって透過流束の低下や、対象物質の失活等が問題となるが、この装置では、装置本体セル内部に装着された攪拌子がマグネティックスターラーにより回転することによって、膜面付近の濃度分極がおさえられている。また、攪拌により同時にセル内の液全体の濃度を均一に保持することができる。

この膜ろ過装置では、高圧ポンプのダイヤルを調整することにより送液流量を変化させることによって加圧の大きさを調整することができる(最大送液流量 50 mL/min)。また、この装置における有効膜面積は約 45 cm²、セルの容積は 16 mL である。なお、本研究では、各 RO 膜に対して送液流量を一定として、圧力を測定することとした。

3.2.3 試料溶液

今回の膜除去の対象物質であるミクロシスチン LR はラン藻毒のうちで最も被害報告が多く、また毒性の強さは青酸カリ(KCN)よりはるかに強力とされる物質である。原液中のミクロシスチン LR の初期濃度は、濃縮していない状態で 90%、99%除去されたと予想したときの処理水中の濃度が分析可能な範囲であることや、実際の環境中での濃度などを考慮して 100 μg/L とするようにした。ミクロシスチン LR(和光純薬(株)製)の粉末を超純水中に溶解させ 100 μg/L としたものを実験ごとに 500 mL 用意し、1 L ビーカーに入れたも

のを実験の前日から 23°C の恒温室内で一晩スターラー攪拌した。これは、試料溶液に緩衝能をもたせる目的で大気中の二酸化炭素と平衡状態にさせたためである。さらに実験の直前に 0.05 M の NaOH 溶液または 0.01 M の HCl 溶液を用いて所定の pH に調整したものを実験の初期試料溶液とした。試料溶液 pH の影響を測定するための実験では、pH5、7 および 9 について実験を行った。なお、本研究で使用した超純水は ADVANTEC 社 cpw-200 超純水製造装置によって製造した Mill-Q 水である。

また、共存物質として NOM を用いる実験では、自然環境水中の NOM 濃度を考慮してその濃度が DOC で 2 mg/L となるよう試料溶液に添加した。添加はもとのマイクロシスチン LR 溶液を一晩スターラーで攪拌した後に行い、さらにその後 2 時間ほどその NOM 添加試料溶液をスターラー攪拌し、pH 調整した後に実験に用いた。なお、NOM として本研究では国際的に多数の研究で使用されているデファクトスタンダードである Suwannee 河 NOM を使用することとした。NOM 溶液はアメリカ合衆国 IHSS より購入した。表 3.3 に本研究で使用した Suwannee 河 NOM の各元素の存在比を示す。

表 3.3 Suwannee 河 NOM の組成 (wt%)

C	H	O	N	S	P	Ash	Total
48.8	3.9	39.7	1.02	0.606	0.02	7.0	101.0

3.2.4 実験の操作手順

膜ろ過実験の操作手順を図 3.3 に示す。本実験では、常に新膜を使用した。新膜を用いる場合、ろ過開始後に支持層の圧密化がおこるため、開始直後に透過フラックスが急激に低下し、その後徐々に安定してくることが報告されている。そのため、実験の初期における膜の状態の変化が本実験に与える影響を考慮した膜の安定化、および膜の洗浄のために前処理として超純水の透過を 2 時間おこなった。

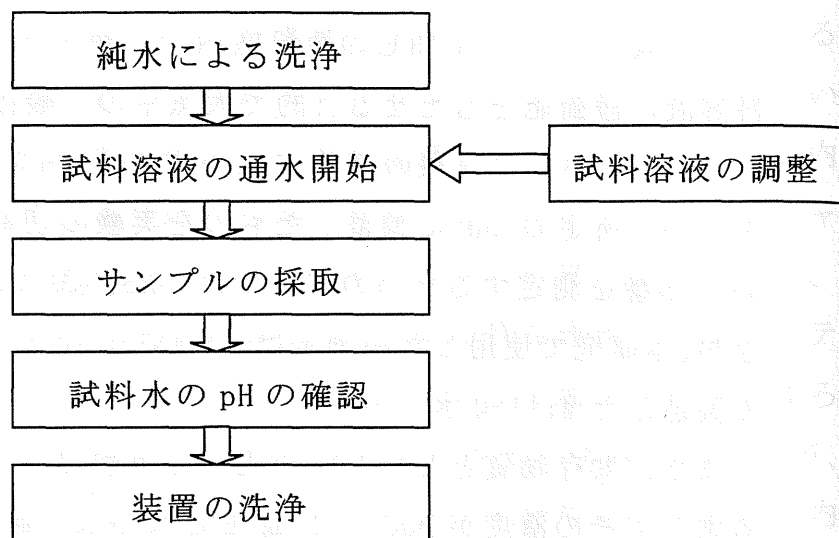


図 3.3 膜ろ過実験の操作手順

膜の奨励フラックスが $1.0 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$ 付近であることと操作圧力範囲の目安が $0.3\text{--}1.0 \text{ MPa}$ であることから、全ての実験でポンプの操作流量(膜の透過流量)は $3 \text{ mL}/\text{min}$ と設定した。また、前処理での操作流量は $5 \text{ mL}/\text{min}$ とした。

原液(試料溶液または超純水)槽としての容器はガラス製ビーカーを用いたが、試料溶液の pH を 9 に調整した実験の場合、実験中の試料溶液の pH 低下が著しいためこの実験の場合には試料溶液の容器に細口ビンを使用した。

前処理の後、セル内に残った膜上部の水は除去したが、装置内や膜自身の内部には水が残存し、サンプル濃度に影響を与えることが懸念された。前処理の後、セル内に残った膜上の水を除去した後、送入する溶液を超純水から試料溶液に変えて膜処理実験を開始した。なお、超純水による前処理後、セル内および膜内の水は完全には除去できなかったが、最初のサンプル時間までに処理した水量($60 \times 3 = 180 \text{ mL}$)に対しては無視できると判断し、本実験の解析においてその影響は考慮しなかった。サンプルは 0 分時の原液、60 分、90 分、120 分、150 分後のそれぞれの透過液、および終了時の(150 分後の)セル内の膜面上部に残った濃縮液の 6 つについてそれぞれ 2 mL 程度採水した。

採水終了後、試料溶液の pH を確認した。なお、膜ろ過実験は全て 23°C の恒温室内で実施した。

3.3 実験結果および考察

ここでは膜ろ過実験の結果を、まず膜特性による分離能の違いについて考察する。そして次に、溶液の性質（pH および NOM 共存の有無）による分離能の違いについて考察する。

3.3.1 各膜による分離能の比較

マイクロシスチン LR の分離能を 6 種類の膜（5 種類の膜および支持膜）について比較した。原液中の pH は常に 7.0 としたが、実験終了後の pH は 6.3～6.7 の間であった。

はじめに、分離実験中の RO 膜 5 種の操作圧力の経時変化を図 3.4 に示す。本実験は、送液流量を一定（3 mL/min）にして行ったため、操作圧力は各膜によって異なり、0.2～0.7 Mpa 程度の範囲であった。この範囲ではいずれも表 3.1 に示した各膜の操作可能圧力範囲にあった。操作圧力は DKL4000 以外の RO 膜では時間の経過とともに若干の低下は観られるものの実験中にわたって定常であったとみなせる。また、支持膜の場合、ろ過前後における操作圧力変化は認められなかった。

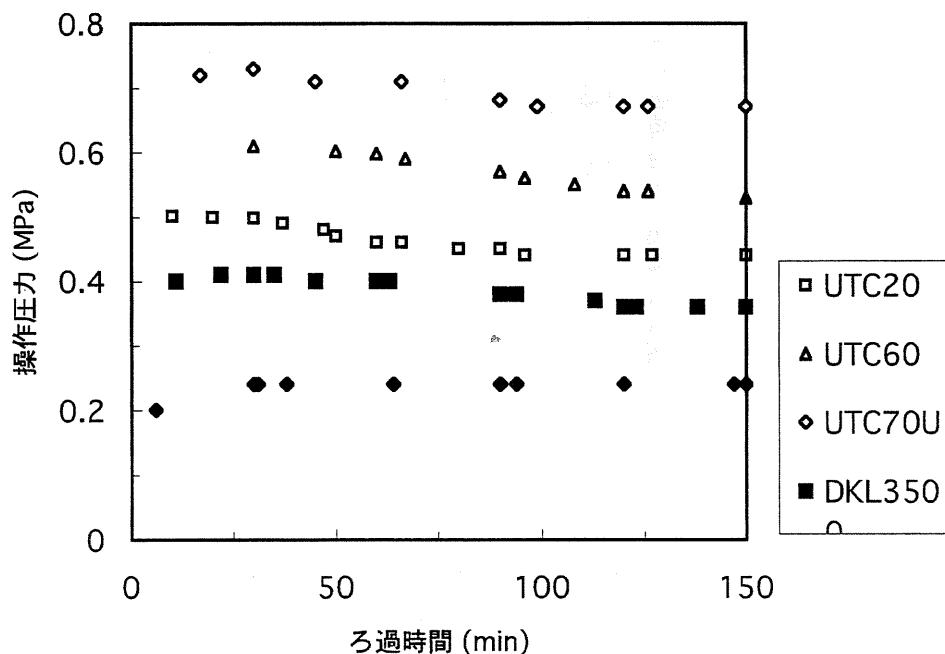


図 3.4 RO 膜ろ過処理中の操作圧力の経時変化
(送液流量 3 mL/min、原液の初期 pH7)

次に、RO 膜および支持膜について、原液中のマイクロシスチン LR 濃度に対する透過液中濃度の比率（透過/原液濃度）の経時変化を図 3.5、図 3.6 にそれぞれ示す。

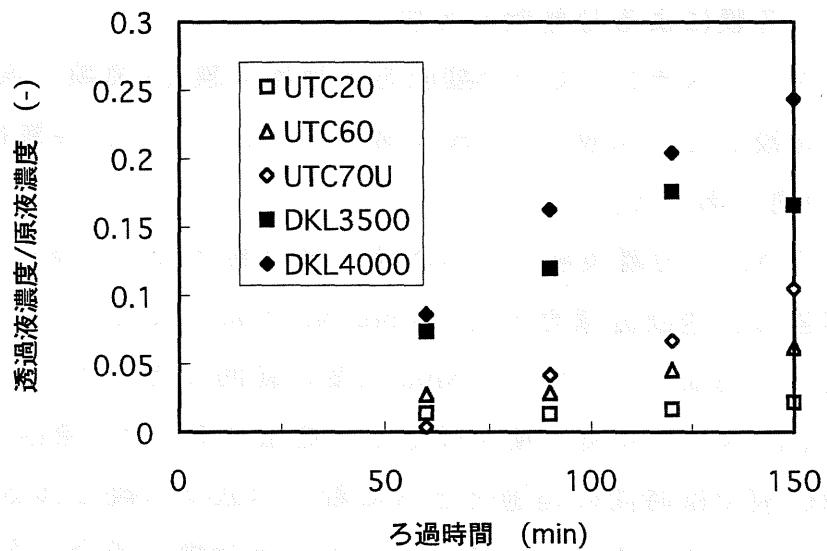


図 3.5 RO 膜処理中の原液中のマイクロシスチン LR 濃度に対する経時変化

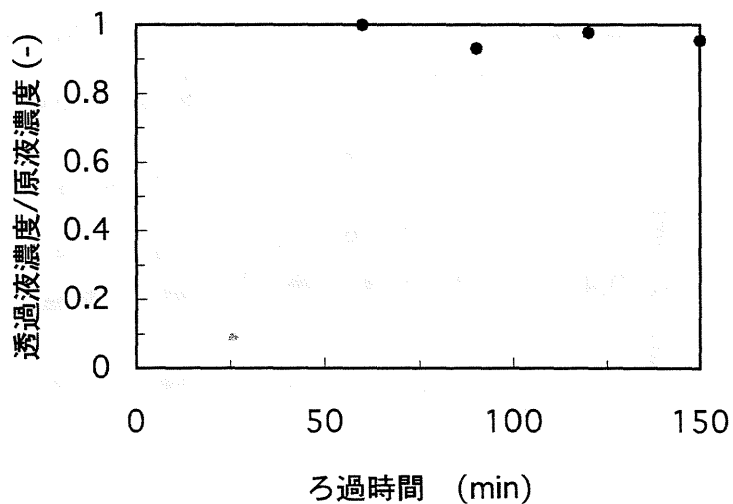


図 3.6 支持膜処理中の原液中のマイクロシスチン LR 濃度に対する透過液濃度の比の経時変化

DKL3500 および UTC20 以外の RO 膜の場合、マイクロシスチン LR の透過液

濃度と原液濃度の比は時間とともにほぼ線形的に増加した。UTC20、支持膜の場合、その比の経時変化はあまりみられなかった。

一般に、膜による被処理水中の溶質の阻止率は次の式で表される、

$$R = (1 - C_p / C) \times 100 \quad \text{式 (3.1)}$$

式 (3.1) において、 R は溶質の阻止率(%), C_p は透過液中の溶質濃度($\mu\text{ g/L}$), C はセル内膜上部の溶質濃度($\mu\text{ g/L}$)である。本実験で用いた膜ろ過装置は、透過液量の増加に伴って膜上部の液量が減少する完全な回分式タイプではなく、透過水量分が原水で補充される半回分式タイプであるためセル内の液量は変化せず溶質濃度だけが濃縮によって高くなる。ところで、この装置の場合、そのシステム上、濃縮液を経時的に採水することが不可能であったため、実際の膜面上の(濃縮液中の)濃度の経時変化を知ることができなかった。そこで、膜による溶質の阻止機構は、膜への溶質の収着と膜の細孔による溶質排除の組み合わせであるが、膜によって阻止されたマイクロシスチンLRはすべてセル内膜面上の液中にあるものとして、あるろ過時間までのマイクロシスチンLRの供給量とその時間までの透過液中のLR濃度の経時変化からある時間におけるセル内膜面上のマイクロシスチンLR濃度を算出し、その濃度をそのろ過時間におけるセル内膜上部の見かけのマイクロシスチンLR濃度とみなした。

(見かけのセル内膜上部濃度)

$$\square \frac{(\text{時間内にセル内に流入された} \square \square \text{全量}) - (\text{時間内に透過した} \square \square \text{全量})}{(\text{セル内容積})}$$

MC · · · ミクロシスチン LR

式 (3.2)

このようにして求めた見かけのセル内膜上部のマイクロシスチンLR濃度から得られた阻止率を、RO膜処理における見かけのマイクロシスチンLRの阻止

率として膜の阻止性能を評価することとした。見かけのセル内膜上部のマイクロシチン濃度とその見かけの阻止率の関係を図 3.7 に示す。

RO 膜 5 種はそれぞれ差はあるがいずれも 99% 以上と高い阻止率を示した。UTC70 では見かけ上のセル内膜上部濃度の上昇とともに阻止率が漸減する傾向も見られるがいずれの膜も見かけのセル内膜上部濃度が 3 倍程度になるまでの濃度範囲ではマイクロシチン LR の阻止率は安定して良好な状態を保っているといえる。

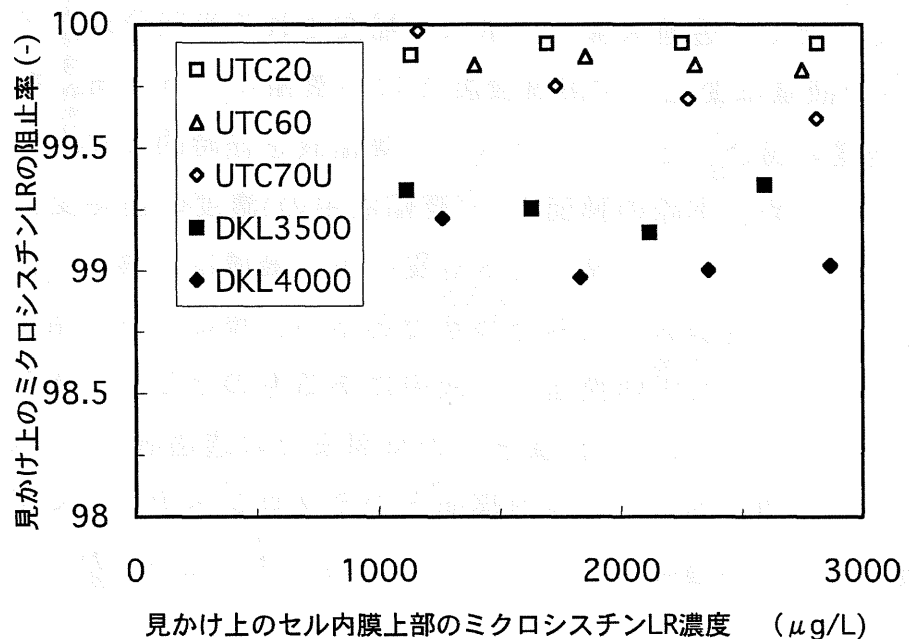


図 3.7 RO 膜処理における見かけ上のセル内膜上部のマイクロシチン LR 濃度と見かけの阻止率との関係

RO 膜処理におけるろ過時間 150 分後のセル内膜上部の実際のマイクロシチン LR 濃度と見かけの濃度の比較を図 3.8 に示す。

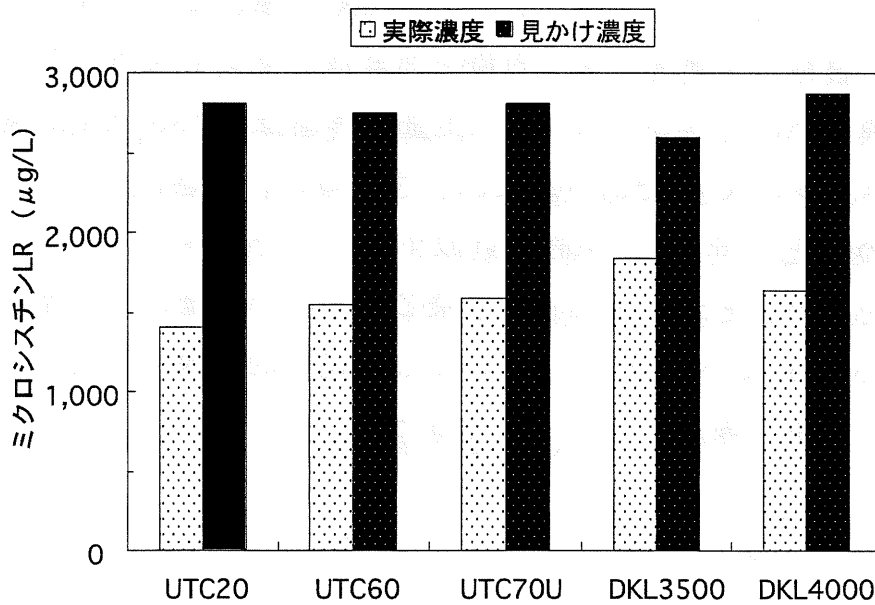


図 3.8 実際のセル内膜上部濃度と見かけのセル内膜上部濃度
(ろ過時間：150 分) の比較

いずれの膜でも実際のセル内膜上部濃度と見かけのそれには相違が認められ、実際のセル内膜上部に存在するマイクロシスチン LR の濃度は膜へのマイクロシスチン LR の収着を無視した見かけの濃度よりも小さいことが分かる。そこで、ろ過時間 150 分までのマイクロシスチン LR の膜への収着量を次の式から求めた。

(膜への収着量) =

$$(\text{セルへの全供給量}) - \{(\text{セル内膜上部の残存量}) + (\text{透過量})\}$$

式 (3.3)

式 (3.3) において、セルへの全供給量はろ過時間 150 分間までに原液槽からのセルへ供給されたマイクロシスチン LR の量、セル内膜上部の残存量は 150 分後の濃縮液中濃度にセル内膜上部容積を乗じて求めたその時点におけるセル内膜上部のマイクロシスチン LR 量、透過量は 150 分間に膜を透過したマイクロシスチン LR 量である。なお、透過量は、透過液中のマイクロシスチン LR 濃度の変化 (図 3.5) を直線近似することで、各ろ過時間における透過液中濃度を求め、それに透過液量を乗じたものの総量として算出した (ただし、DXL3500 および UTC20 については、経時的に線形変化したわけではなかったが、解析上線形とみなして行った)。

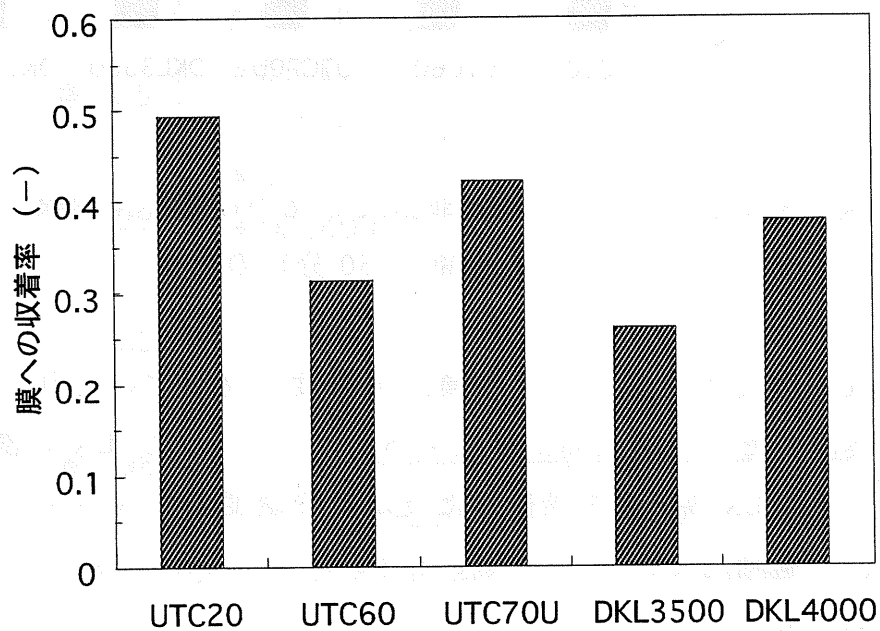


図 3.9 ミクロシスチン LR の膜への収着率 (ろ過時間 150 分)

図 3.9 にろ過時間 150 分におけるマイクロシスチン LR のセルへの全供給量に対する各 RTO 膜への収着率を示す。損失量分のマイクロシスチンは膜中に存在すると考えられる。マイクロシスチン LR の膜への収着率は、各膜によって異なり (約 0.25~0.5)、UTC20、UTC70、DKL4000、UTC60、そして DKL3500 の順に高かった。UTC20 は表 3.2 に示されるように最もカチオン性の高い膜である。またマイクロシスチン LR は pH2~pH10 の範囲では負に帯電しているといわれている。これらの点を考慮すると UTC20 の場合膜とマイクロシスチン

LR との間に電氣的引力が最も大きく働き、その結果として膜への収着量が他の膜より多くなったと考えられる。

本実験の場合、装置の都合上、サンプルとしてセル内のもマイクロシスチン LR の濃度が測定可能となるのは、実験終了時のみである。よって、150 分後（実験終了時）の RO 膜 5 種の実際のセル内膜上部濃度に対する阻止率を式 (3.1) に従って求めた結果をそれぞれの膜の操作圧力とともに図 3.10 に示す。ただし操作圧力の大きさはろ過時間 150 分における値である。

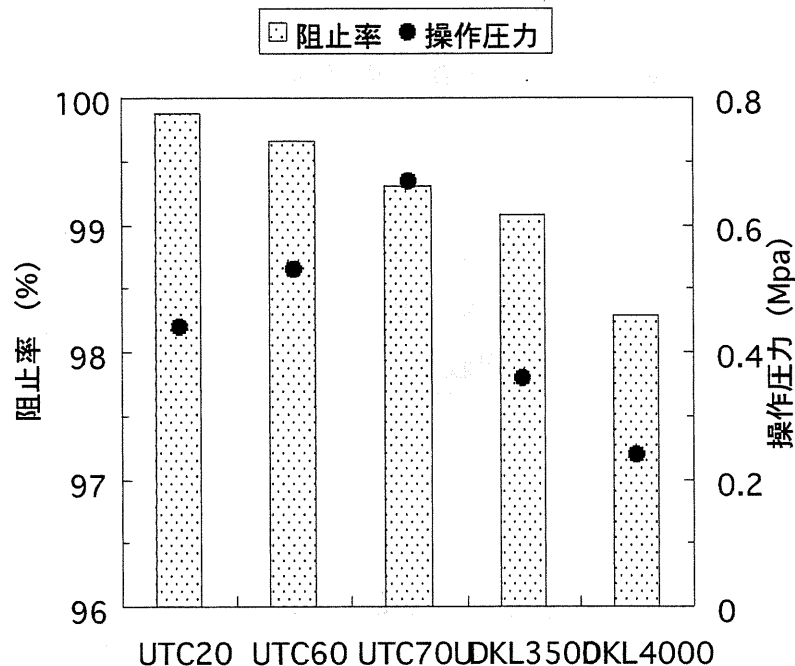


図 3.10 5 種の RO 膜におけるマイクロシスチン LR 阻止率と操作圧力
(ろ過時間 150 分)

UTC70U、UTC60、UTC20 および DKL3500 は 99%以上の阻止率があり、また DKL4000 は 98%と他と比べてやや低い値となったものの、いずれの膜もマイクロシスチン LR の阻止率は非常に高い結果であった。

圧力と溶質阻止率の関係は、比較的阻止率の低い DXL シリーズの膜（表 2.1 参照）である DKL3500 と DKL4000 の 2 膜についてみると、加圧力の高い DKL3500 の方がマイクロシスチン LR に対して高阻止率を示し、本来の膜の

性質にあった傾向を示した。一方、溶質阻止率が高い UTC シリーズの膜（表 2.1 参照）である UTC70U、UTC60 および UTC20 の 3 膜の場合は操作圧力の大きさと、マイクロシスチン LR 阻止率の大きさの関係は逆転しており、低圧であった UTC20 が最も高い阻止率をした。

最後に、支持膜について RO 膜の場合と同様に、ろ過時間 150 分におけるマイクロシスチン LR のセルへの全供給量、セル内膜上部の残存量、膜への収着量、および透過量をまとめて表 3.4 に示す。

表 3.4 支持膜におけるろ過 150 分後のマイクロシスチン LR の物質収支

	マイクロシスチン量(μg)
流入全量	45.97
透過全量	44.01
回収量	2.99

表 3.4 において、物質収支が $1 \mu\text{g}$ 合わないが、これは計算値であるため計算上の誤差の範囲だといえる。表 3.4 からわかるように支持膜ではマイクロシスチン LR は膜による収着も細孔による排除もされずにほぼ全量が膜を通過していることがわかる。

3.3.2 水質の違いのマイクロシスチン LR 分離能への影響

水質の違いがマイクロシスチン LR の分離に与える影響を、pH の相違と NOM 共存の有無から検討した。pH の影響を見る場合には、前節で使用した 5 種の RO 膜の中から、等電点が最も低い UTC60(等電位点を示す pH、 $\text{pH}_{\text{ZPC}}=2.58$)、最も高い UTC20($\text{pH}_{\text{ZPC}}=6.16$)の 2 膜を、NOM 共存の影響を見る場合には、前節の実験で最も低いマイクロシスチン LR 阻止率を示した DKL4000 および高阻止率を示した UTC60 と UTC20 をそれぞれ用いて実験を行った。図 3.11 に原

液の初期 pH (5、7、および 9) とマイクロシスチン LR の阻止率との関係を示す。ただし、ここで阻止率はろ過 150 分後におけるセル中膜上部のマイクロシスチン LR 濃度 (濃縮液) とそのときの透過液中の濃度とから求めたものである。なお、原液 pH は、実験中において ± 0.2 の範囲にあり、初期の pH7.0 の場合には 6.3~6.7 に低下していた。

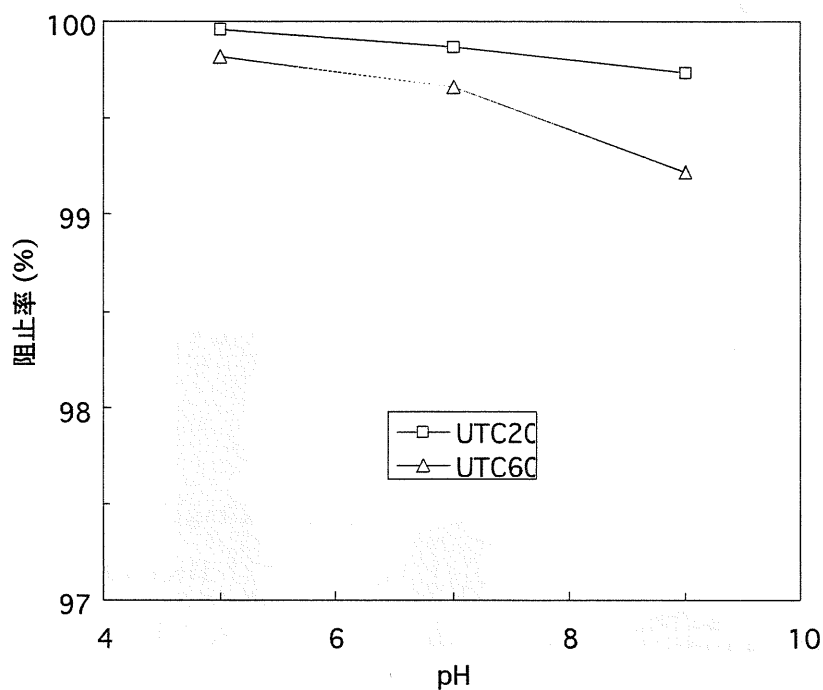


図 3.11 原液の初期 pH とマイクロシスチン LR 阻止率との関係
(ろ過時間 150 分)

マイクロシスチン LR の阻止率は pH の上昇とともに低下する傾向にあった。これは膜の ζ -電位が試料溶液の pH の上昇とともにアニオン性に傾くため、負に帯電しているマイクロシスチン LR との電気的反発力が大きくなり、その結果、マイクロシスチン LR の膜への収着量が少なくなったためと考えられる (図 3.12)。なお、図 3.11 においては、膜への収着率は図 3.9 と同様の手順によって求めている。

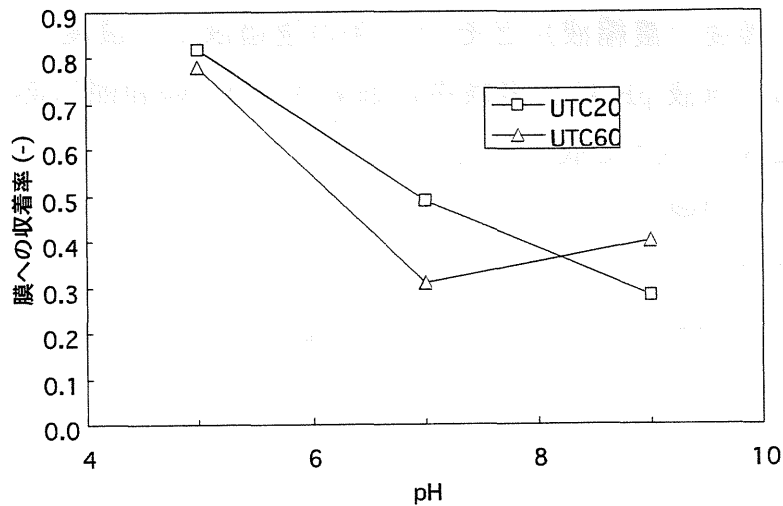


図 3.12 原液の初期 pH とマイクロシスチン LR の膜への収着率との関係
(ろ過時間 150 分)

NOM の共存影響は、原液中の NOM 濃度 2 mgC/L、原液初期 pH7.0 の条件で検討した。図 3.13 に UTC20、UTC60 および DKL4000 のそれぞれの膜によるろ過時間分における NOM の阻止率をまた図 3.14 にそのときの NOM の膜への収着率（解析手法は、これまでのマイクロシスチン LR に対するそれと同様）を示す。なお、NOM の阻止率は、NOM の濃度を分析簡略化のため紫外部 254 nm における吸光度の値から求めているため、NOM の全成分のうち、254 nm に吸収を持つ成分に対する評価である。

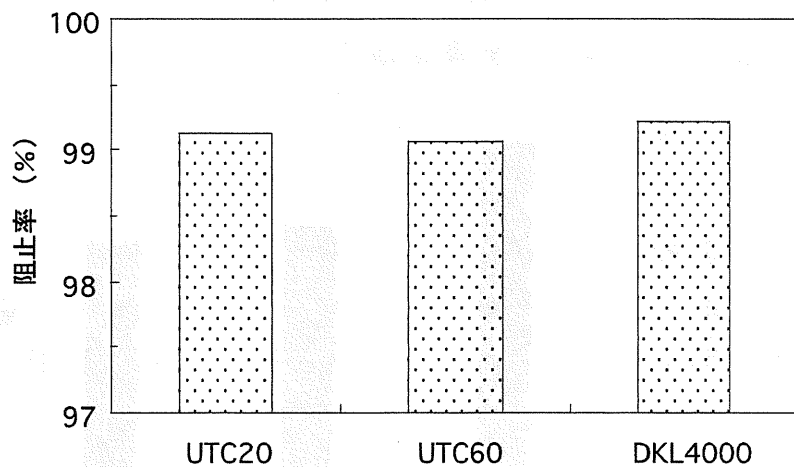


図 3.13 各 RO 膜に対する NOM の阻止率 (ろ過時間 150 分)

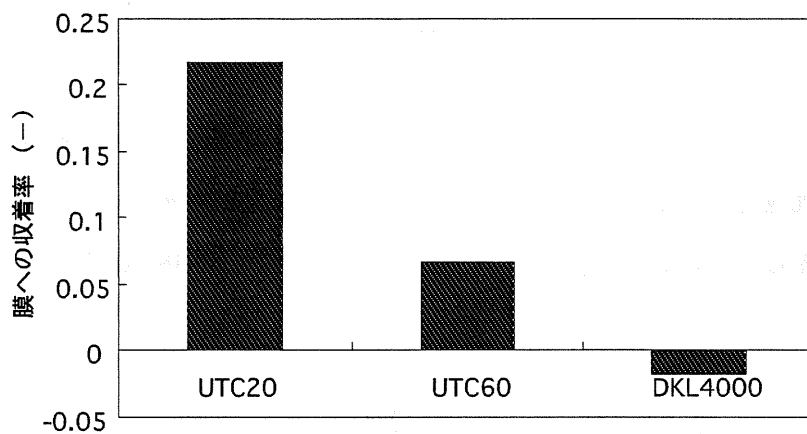


図 3.14 各 RO 膜に対する NOM の膜への収着率

UTC20、UTC60 の場合、マイクロシスチン LR の阻止率は NOM のそれより高かったが、一方、DKL4000 の場合、NOM の阻止率のほうがマイクロシスチン LR の阻止率より高かった。また、DKL4000 では NOM の膜への収着はなかったことがわかる。UTC20、UTC60 についても図 3.9 に示したマイクロシスチン LR の膜への収着率と比べてその値は低いことから、NOM の膜への収着率はマイクロシスチン LR のそれより低いことがわかる。これらの結果は、マイクロシスチン LR と NOM が異なった機構で阻止されていることによると考えられる。

UTC20、UTC60 および DKL4000 の各膜について、NOM 共存によるマイクロシスチン LR の阻止率への影響を図 3.15 に示す。

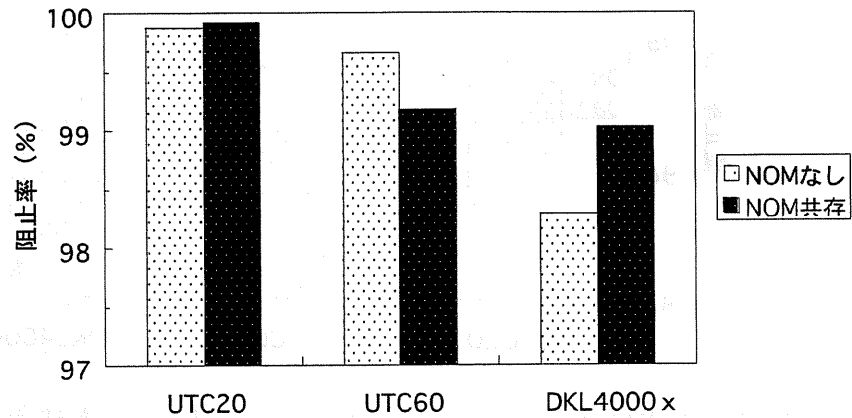


図 3.15 各 RO 膜の NOM 共存によるマイクロシスチン LR 阻止率への影響 (ろ過時間 150 分)

NOM 共存によるマイクロシスチン LR の阻止率への影響は UTC20 ではほとんど観られず、UTC60 では阻止率が低下し、DKL4000 では上昇していた。次に NOM 共存によるマイクロシスチン LR の膜への収着率への影響を図 3.16 に示す。

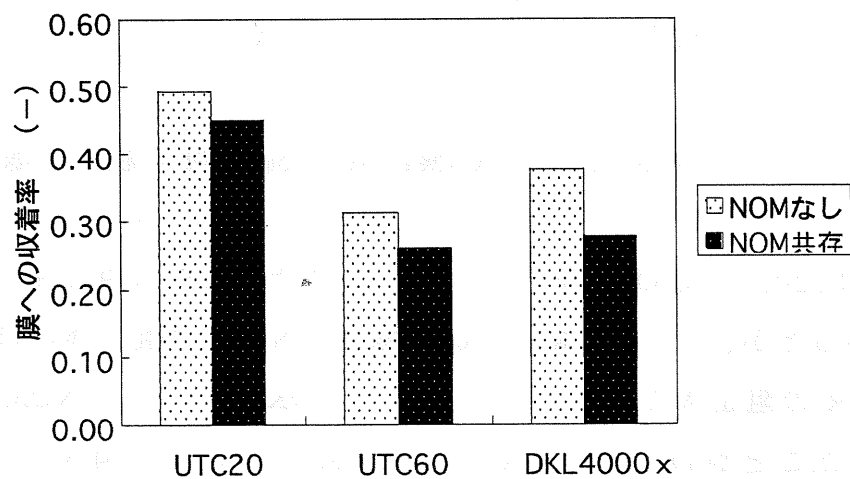


図 3.16 各 RO 膜の NOM 共存によるマイクロシスチン LR の膜への収着率への影響 (ろ過時間 150 分)

いずれの膜でも NOM の共存によりマイクロシスチン LR の膜への収着率が低下していることが分かる。このことから、UTC60 においては、マイクロシスチン LR の阻止率が NOM 共存によって低下し、一方、DKL4000 では上昇したのは、マイクロシスチン LR が NOM に収着されたことに起因するものである。したがって NOM に収着されたマイクロシスチン LR は、遊離のマイクロシスチン LR とは膜に対する挙動が違ったものとなり、NOM 共存下では、これら両者の膜に対する挙動を同時に考慮する必要があると考えられる。この結果は、実際の環境水を対象としてマイクロシスチン LR を膜分離除去する際に重要であると考えられ更なる詳細な研究が必要とされる領域である。

3.4 まとめ

本章で得られた知見を以下に記す。

1. マイクロシスチン LR の阻止率が最も高かったのは UTC20 で、最も低いのは DKL4000X であった。
2. マイクロシスチン LR は 5 種の RO 膜いずれに対しても収着性を示した。pH7 では UTC20 に最も収着し、これはマイクロシスチン LR が pH2~pH10 では負に帯電していることと、UTC20 は使用した膜の中で最もカチオン性が強いことから、マイクロシスチン LR と膜との間に働く電氣的引力が大きかったためであると考えられる。
3. 試料水の pH はマイクロシスチン LR の阻止率に影響を与え、pH の上昇と共にその阻止率は低下した。これは、pH の上昇と共に UTC20 および UTC60 のいずれもアニオン性が大きくなる傾向にあり、負に帯電しているマイクロシスチン LR との電氣的反発力が高まったため収着量が減少したことに起因するものと考えられた。
4. NOM 共存下ではマイクロシスチン LR は NOM に収着され、この結果膜に対する挙動が変化するマイクロシスチン LR が存在することにより阻止率に相違が生じることになることが分かった。

これらの結果より、マイクロシスチン LR 等の有機微量汚染物質を RO 膜により分離除去をする際には、RO 膜の特性（本研究では一電位および等電

位点) および溶液の性質(本研究では pH および NOM の有無) が大きな影響を有することが示唆された。また、その除去特性としては分子ふるい効果による物理的なもののみならず、膜への収着という機構も重要であることがわかった。

第4章 結論

4.1 結論

本研究ではラン毒素マイクロシスチン LR を対象として、マイクロシスチン LR が含まれる水試料水の分析方法を選択し、マイクロシスチン LR の逆浸透膜による分離除去特性を把握することを目的として実験を行い、以下の結論を得た。

- (1) 既存のマイクロシスチン LR の分析方法を比較検討した結果、選択性および分析感度の観点から水試料の場合には HPLC/MS 法を最適な方法として選択した。また HPLC/MS 法によるマイクロシスチン LR 分析方法では一～数百 $\mu\text{g/L}$ の範囲で良好な検量線が得られた。
- (2) 膜ろ過実験に使用した 5 種の RO 膜のうち、マイクロシスチン LR の阻止率が最も高かったのは等電位点が最も高い UTC20 で、最も低かったのはこの値が最も低い DKL4000X であった。
- (3) マイクロシスチン LR は 5 種の RO 膜いずれに対しても有意な収着性を示した。pH7 では UTC20 に最も収着した。これはマイクロシスチン LR が pH2～pH10 の範囲では負に帯電していることと、UTC20 は使用した膜の中で最もカチオン性が強いことから、マイクロシスチン LR と膜との間に働く電氣的引力が大きかったためであると考えられた。
- (4) 試料水の pH はマイクロシスチン LR の阻止率に影響を与え、pH の上昇と共にその阻止率は低下した。これは、pH の上昇と共に UTC20 および UTC60 のいずれもアニオン性が強くなる傾向にあり、負に帯電しているマイクロシスチン LR との電氣的反発力が高まったため収着量が減少したことに起因するものであると考えられた。
- (5) NOM 共存下ではマイクロシスチン LR は NOM に収着され、この結果膜に対する挙動が変化することによって阻止率に相違が生じることになることが示唆された。

4.2 今後の課題

本研究の結果、更なる検討が必要と考えられる事項を今後の課題として以下に

記す。

- (1) 本研究で用いた装置ではセル内膜上部に濃縮される溶質濃度の経時変化が測定困難である。この経時変化を測定することにより膜による阻止率および収着率の濃度依存性を評価することが可能となると考えられる。
- (2) NOM 共存が膜分離に与える影響をさらに詳細に把握するために、マイクロシスチン LR の NOM 収着実験を行う必要がある。
- (3) マイクロシスチン LR と部分的に構造の異なるマイクロシスチン RR やマイクロシスチン YR についても同様の実験を行うことで、除去対象物質の化学構造が膜分離に与える影響について評価する必要がある。

参考文献

- 1) Visvabathan, C : *Training Course on Desalination*, 1992.
- 2) 金時浚 : 低圧逆浸透法の溶質分離特性と多成分系廃水処理への適用に関する研究, 京都大学工学博士学位論文, 1999.
- 3) Huafang Li : *Rejection of Organic Compounds by Ultra Low Pressure Reverse Osmosis (ULPRO) Membrane*, A.I.T, 1999.
- 4) 池嶋規人 : 低圧逆浸透法によるビスフェノール A と 17- β エストラジオールの分離特性, 京都大学工学部地球工学科卒業論文, 2001.
- 5) 彼谷邦光 : 飲料水に忍びよる有毒シアノバクテリア, 裳華房, 2001.
- 6) 山下尚之, 松井三郎, 清水芳久, 松田知成 : 琵琶湖疎水におけるラン藻類とその含有毒素ミクロシスチンの挙動, 土木学会論文集, No.685/VII-20, pp.69-77, 2001.8.
- 8) 梅谷友康, 森實圭二 : 高速液体クロマトグラフ—質量分析計を用いたミクロシスチン定量方法の開発, Vol.65, No.7, pp.25-34, 1996.

Ⅲ. 膜ろ過処理におけるファウリング原因物質の解明

第1章 序論

1.1 はじめに

古くから「いのちのみなもと」などといわれ地球上の生命体にとっては、欠くことのできない「水」であるが、現在、水環境中に存在する微量有機汚染物質による様々な被害が報告され、飲料水に対する人々の不安は高まるばかりである。

日本の水道は、凝集・沈殿・急速砂ろ過を基本とするろ過システムと塩素による消毒を基盤として水道水質の安全性を確保してきた。しかし、水の安全性確保のために採り入れられた塩素処理によりトリハロメタン等の有害な消毒副生成物の生成、また一方でクリプトスポリジウムなどの塩素耐性原虫類の出現による健康被害が現在問題となっている。

近年、新たな水処理技術として導入され始めているのが、膜処理技術である。膜処理技術は、圧力差を分離の駆動力とする方法であり、除去対象物質により、精密ろ過(microfiltration: MF)膜、限外ろ過(ultrafiltration: UF)膜、ナノろ過(nanofiltration: NF)膜、および逆浸透(reverse osmosis: RO)膜の4種類が使い分けられている。MF膜やUF膜は、重力沈降を補助する程度の圧力でろ過できる。一方、逆浸透膜上には孔と呼べないほどの微細な孔しか存在せず、液体が膜を透過するには浸透圧以上の圧力が必要となる。またNF膜はUF膜と逆浸透膜の中間の性質を持つといわれ公称孔径はないまでも分画分子量をもつ。これらの技術は、従来水処理法に比べ、省スペースで行えること、運転や維持管理が容易であること、消毒副生成物生成の心配がないことなどが利点としてあげられる。

日本では、1993年度からMF膜およびUF膜による浄水の膜処理技術が導入され、2005年3月現在、膜処理施設は建設予定を含め全国で442カ所、計画施設能力で約362,000 m³/日となっている¹⁾。

しかし、MF膜やUF膜における処理はクリプトスポリジウムや大腸菌、細菌類の除去および濁質の除去が目的であり、それぞれ単独での使用では臭気物質、微量有機汚染物質、無機イオン、硝酸性窒素などの処理は困難である。そこで、より高度な技術として水処理分野への導入が期待されているのが、

NF 膜や逆浸透膜を用いた膜処理技術である。NF 膜を用いることで、トリハロメタンの前駆物質や農薬、フルボ酸などの低分子物質までを除去することが可能となる。さらに逆浸透膜を用いると、これらの低分子物質に加えてイオン性物質までを除去することが可能となる。

現在、水処理を対象とした逆浸透膜開発は、海水の淡水化を目的とした高圧化と超純水製造を目的とした低圧化の両極端で進められている。日本においては、海水を対象とするよりも河川水や地下水といった水質レベルの原水を対象とし、有害物質を除去することを目的とした低圧逆浸透膜処理に注目が集まっている。低圧逆浸透膜処理で用いられる膜は、表面に目に見えないほど微細な孔が存在する極めて薄い機能層とその強度を補強するための目が粗く厚い支持層からできている。なお、物質の選択透過性は機能層により決まるといわれる。

膜素材としては合成高分子系のものと酢酸セルロース系のものがある。合成高分子系膜は主に、分離機能層がポリアミド系高分子化合物、支持層がポリスルホン系高分子化合物でできている。また、酢酸セルロース膜は非対称膜であり、同一素材の緻密層と多孔質支持層からできている。

市販の低圧逆浸透膜には阻止率が設定されているが、阻止率 100%のものは存在しない。つまり膜面において除去対象物質をかなり高い割合で阻止可能ではあるが、一部は少なからず透過する。操作条件としては、溶質濃度、温度、pH、イオン強度および操作圧力が透過や阻止に影響を与えている。

低圧逆浸透膜の分離機能層上では、膜構成物質の熱運動によって生じるすきまを溶液が通ることにより透過が起こる。溶液中の溶質の低圧逆浸透膜透過現象は、溶質の濃度差、浸透圧差による分子拡散現象、体積流束に随伴し微細孔や欠陥細孔を透過する移流現象、および保持液側で膜に吸着した分子が担体輸送され透過液側で脱着する吸脱着反応などによって説明されている。一方、低圧逆浸透膜における溶質の阻止は、主に分子ふるいおよび静電的相互作用により説明される。分子量や立体配置が膜の孔径より大きい分子は基本的に孔を通れず阻止される。また、膜が帯電している場合、溶質が膜表面電荷と同じ電荷を持って存在すれば、静電的反発力によりはじかれ、阻止される。その他、膜の荷電特性や疎水性、溶質の極性²⁾や $\log K_{ow}$ (K_{ow} : オク

タノール/水分配係数)³⁾も阻止に影響を与えるといわれる。

水処理技術として低圧逆浸透膜を用いる際には運転時間の増加に伴って膜表面および膜内部で目詰まりが起こり、透過流束が減少する現象であるファウリングが問題となるが、現在その原因究明のために様々な研究がなされている。その結果、Natural Organic Matter (NOM)が主な原因であるといわれるようになってきている。ファウリングは、膜表面や内部に無機物や有機物が堆積することによる膜細孔や膜内流路の閉塞、濃度分極による浸透圧の増大および膜表面や膜細孔と NOM 内の芳香族成分との間の疎水性相互作用などが原因と考えられている。現在、膜ファウリングは、流束の低下率や洗浄後の透過流束の回復率、ろ過抵抗、透過能、膜表面の荒さ、接触角による溶質と膜の相互作用、膜からの溶質抽出などによって評価されている。

溶質は、溶媒の流れに伴い膜表面を移動するが、溶質の多くは膜表面で阻止されてしまうため、溶質が膜近傍で濃縮を受ける。この現象を濃度分極といい、濃度分極により浸透圧が増大し、その結果膜透過流束が減少する。MF 膜や UF 膜での処理の場合は逆洗による洗浄が可能のため、透過流束は逆洗後回復もしくはより良くなるが、NF 膜処理や低圧逆浸透膜処理の場合、一度ファウリングが起こってしまうと、洗浄を行っても使用前の状態に回復させることは困難である。これは電力等の操作費用や洗浄用薬剤等の維持費用の増加につながるだけでなく、膜自身の寿命も短くする。

ファウリングに影響を与えるといわれる NOM とは、水環境中に存在する自然由来の有機物の総称である。起源としては陸生植物由来のもの、土壌中の有機物由来のもの、藻類由来のもの、微生物由来のものなど様々であり、地域特性、季節変動によっても組成や物性が変化するので、普遍的な評価を行うことや、特定の分子構造を把握することが難しいため、現状では、NOM に関する十分な理解がなされていない。

NOM の特性などをより詳細に研究するための方法として、一般的にサイズや化学特性による分画作業が実施される。図 1.1 に標準的な分画を示す⁴⁾。また、表 1.1 に各分画に含まれる化合物を例示する⁵⁾。

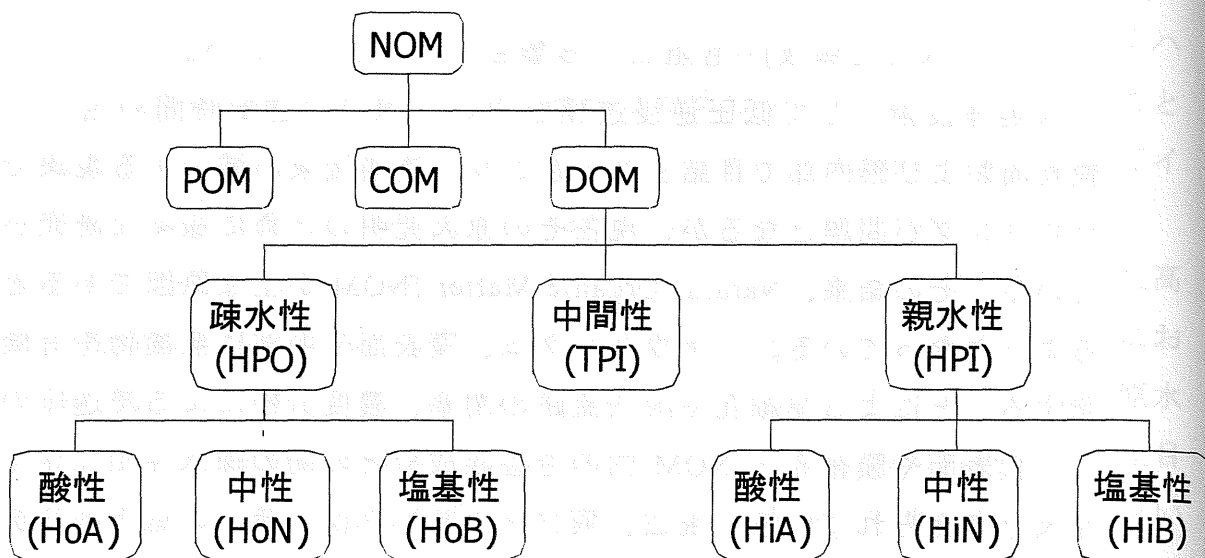


図 1.1: Natural Organic Matter (NOM) の分画方法

表 1.1: 各分画に含まれる化合物

Fraction	Solute Compound Classes
疎水性-酸	フミン質(フミン酸、フルボ酸)
疎水性-中性	芳香族アミン
疎水性-塩基	炭化水素、カルボニル化合物
親水性-酸	糖酸、脂肪酸、ヒドロキシル酸
親水性-中性	蛋白質、アミノ糖
親水性-塩基	少糖類、多糖類

NOMはまず、孔径 1.0 μm のガラス繊維ろ紙を通過できない懸濁態有機物 (Particulate Organic Matter: POM)、孔径 1.0 μm のガラス繊維ろ紙は通過できるが孔径 0.45 μm のガラス繊維ろ紙は通過できないコロイド状有機物 (Colloidal Organic Matter: COM)および孔径 0.45 μm のガラス繊維ろ紙を通過できる溶存有機物(Dissolved Organic Matter: DOM)に分画される。さらに DOM は XAD-8/4 樹脂を用いて有機物を疎水性成分(Hydrophobic Organic Matter: HPO)、親水性成分(Hydrophilic Organic Matter: HPI)、親水性と疎水性の中間の性質を持つ成分(Transphilic Organic Matter: TPI)に分画される。この分画法においてはいわゆる HPO がフミン質にあたる。このフミン質はさらに pH2 以下で沈殿する分子量数千のフミン酸と pH2 以下でも溶解する分子量数百のフルボ酸に分画される。

水環境中のフミン質に関しては、金属や有機化合物との相互作用、酸中和

作用、生態系への影響に関する報告が数多く存在する。近年、フミン質だけでなく非フミン質をも含む NOM に関するそれらの報告も増えてきた。ファウリング原因物質としても同様に疎水性であるフミン質が主な原因であると言われてきたが、現在はアミノ糖などの親水性成分を含む非フミン質もファウリングを起こす原因となる⁶⁾ことが明らかになってきている。

このように、NOM は膜処理ファウリングの主な原因物質であるといわれるにもかかわらず、未だ NOM の構造や特性が十分にわかっていないためファウリング問題の解決は困難を極めている。そのため NOM を構成すると考えられる成分を数種想定し、想定した成分から膜ファウリングを起こしうる成分を特定できれば、NOM によるファウリング発生が NOM の持つ官能基に原因があるのか、構成単位と想定される物質の物性に原因があるのか、何らかの性質をもつ単体どうしの共存が原因であるのか、単体としてではなく混合物として存在することが原因であるのかといった説明が可能となるため、NOM によるファウリングメカニズムのより細部への理解が可能となると考えられる。そのような議論に持ち込むことができれば、対象水を前処理してファウリング原因物質を除去しておく、あるいは操作条件を変更するといった方法によりファウリングを抑制することが可能となる。また、ファウリング原因物質とその分子構造の特定により、よりよい低圧逆浸透膜の開発にもつながると考えられる。

1.2 本研究の目的

以上の内容を踏まえて、本研究では、膜処理ファウリング原因物質特定に向けた基礎的データの蓄積を行った。以下に本研究の具体的な目的を列挙する。

1. NOM 構成成分を想定し、それぞれについて特定の化学物質をファウリング原因候補物質として選択すること。
2. ファウリング原因候補物質の低圧逆浸透膜への付きやすさ、阻止されやすさ、透過能の低下に及ぼす影響を実験的に検討することを通じて、ファウリングにつながる化学物質を把握すること。
3. 実際の水環境中 NOM を低圧逆浸透膜処理し、種々雑多な有機物が混在す

る系においてより多く膜に残ると考えられる成分を同定し、上記の目的
2.で想定した成分との対応を確認すること。

1.3 本研究の構成

第2章では、本研究で使用した低圧逆浸透膜処理装置、選定した対象化学物質の特徴、および低圧逆浸透膜処理実験方法について記述する。第3章では対象化学物質によるファウリングの評価を行い、その結果と考察について記述する。第4章では、NOMによるファウリングの評価を行い、その結果と考察について記述する。そして、第5章において本研究から得られた結論と今後研究を進める上で必要と考えられる課題について言及する。

第2章 低圧逆浸透膜処理におけるファウリング評価方法

本章では、まず実験に使用した低圧逆浸透膜処理装置および低圧逆浸透膜の性能について記述する。次に、ファウリングを検討するために選定した対象化学物質の特徴について述べる。さらに実験の方法および本研究で使用した分析装置等についても記述する。

2.1 低圧逆浸透膜処理装置

ファウリング実験を行うために使用した低圧逆浸透膜処理装置の概要を図 2.1 に、また図 2.1 の膜モジュールとして使用した平膜型テストセル C-10T(日東電工製)の外観を図 2.2 に示す。

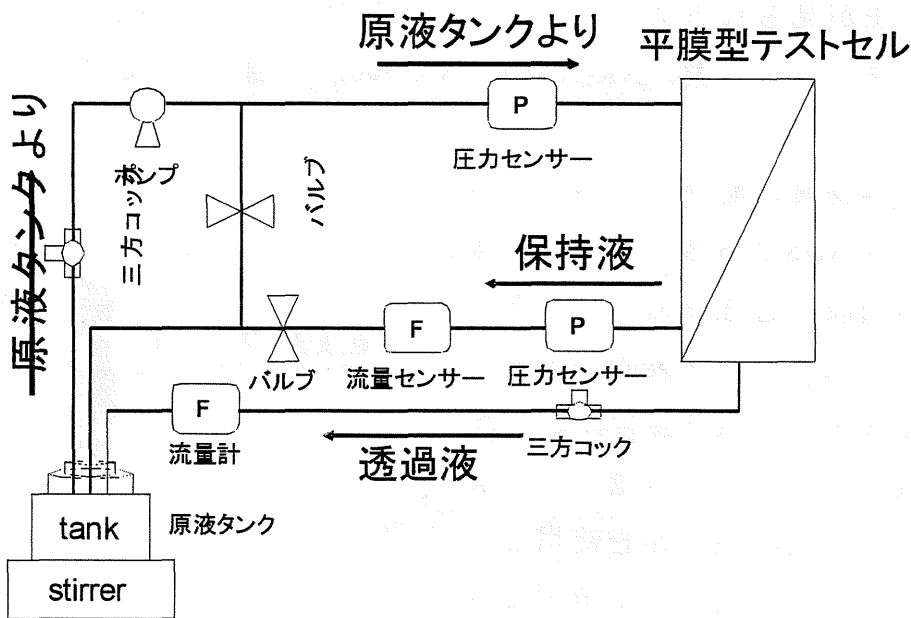


図 2.1: ファウリング実験を行うために使用した実験装置の概要

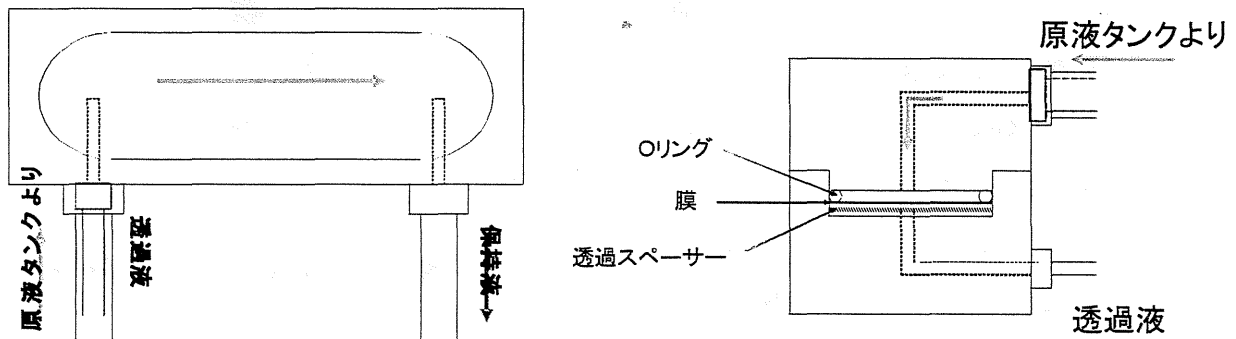


図 2.2: 平膜型テストセル C-10T の外観

低圧逆浸透膜処理装置は図 2.1 に示すように、原液タンク、高圧定流量ポンプと配管によるネットワーク部分、平膜型テストセルの3つの部分から構成される。図 2.2 に示すように平膜型テストセル C-10T は、膜表面に平行に溶液を流すことにより膜表面付近で濃度分極がおこりにくいクロスフロー方式を採用している。透過液は膜を通り抜けスペーサーの隙間をぬって排出される。なお、セルの有効膜面積は 60 cm^2 である。

ポンプは揚水時に対象物質にせん断力が働かないようプランジャー式ポンプ(富士ポンプ製、SH10M-10 型)を使用した。また、膜前後の圧力および循環流量を測定するため圧力センサー(キーエンス製、FD-P05、FD-V70)2 台と流量センサー(キーエンス製、AP-13S、AP-V80)を図 2.1 のように配置し、膜間差圧が見られるようにした。それらのデータは連続的にデータ収集システム(キーエンス製、NR-HA08、NR-500)を通して PC に取り込めるようにした。

化学物質の配管への移行を最小限とするため、配管等の接液部には、ステンレス SUS-316 製、テフロン製、一部シリコン製のものをを用いた。また原液と透過液を適宜サンプリングできるようにテフロン製の三方コックを1カ所ずつ取り付けた。また、原液タンクには、容量 2 L の硼珪酸ガラス製試薬ビンを使用し、原液タンクには図 2.3 に示すような各ラインを通す穴の開いた口径 GL45 サイズのキャップで蓋をし、実験が閉鎖系で行えるよう工夫した。原液タンクは化学物質の光分解を防ぐためアルミホイルで遮光し、水浴させることで温度の変化を抑えた。なお、実験中は原液タンク内の濃度が均一にかつ温度変化が抑制されるようスターラーで攪拌した。

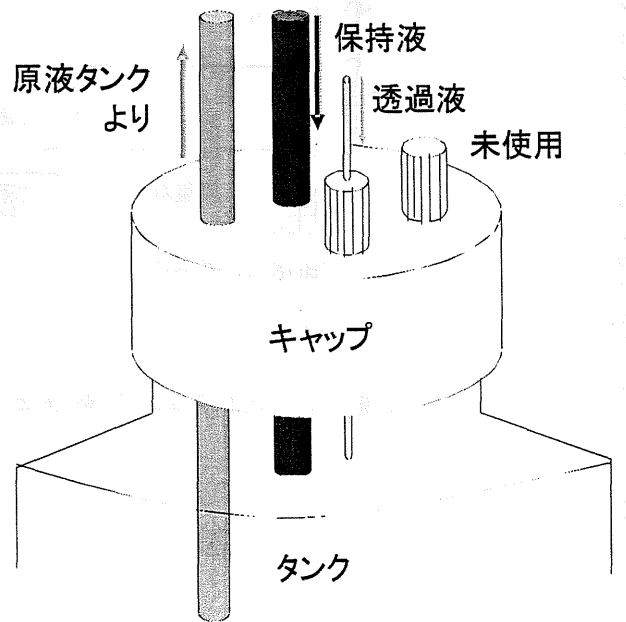


図 2.3: 原液タンク上部の構造

本研究では必要最小限の原液容積で実際の評価を再現できるよう、保持液、

透過液の両方を原液タンクに戻し、25°Cの全循環モードで実験を行った。

2.2 低圧逆浸透膜

本研究では低圧逆浸透膜として SUL-G10{東レ(株)製}を使用した。SUL-G10 は、架橋ポリアミド製の低圧逆浸透膜である。給水圧力 0.75 MPa で塩阻止率 99.5%、濃縮水量 20 L/min に対し透過水量 6.5 m³/day の性能を持つ。SUL-G10 の性能および操作条件を、表 2.1 および表 2.2 に示す。なお、

表 2.1: 本研究で使用した低圧逆浸透(LPRO)膜 SUL-G10 の性能
電気電位法により測定された SUL-G10 の等電位点は 2.6 であった¹⁾。

阻止物質名	原液pH	阻止率 (%)
NaCl	6.5	99.6
MgSO ₄	6.5	99.9
グルコース	6.5	99.9
クエン酸	2.8	99.9
酢酸	3.2	47.0
エチレンジアミン	10.6	84.0
尿素	6.5	49.0
ホルムアルデヒド	6.5	29.0

表 2.2: 本研究で使用

した低圧逆浸透

(LPRO)膜 SUL-G10 の操作条件

操作条件	標準運転範囲
圧力	< 1.0 MPa
原液温度	< 35 °C
原液pH(洗浄時)	3~9
原液pH(運転時)	2~11
濃縮水量/透過水量	> 6

膜は A4 サイズで、500~1,000ppm の重亜硫酸ナトリウムを含んだ超純水中に保存されている。実験前に保存液の除去を目的として超純水中で浸漬洗浄した後、ポリエチレン製の袋に入れ、透過スパーサーと洗浄後のピンセットで型をとり、その後アセトンと超純水で洗浄したはさみを用いて整形した。整形した膜は超純水中に保存し、一週間以内に使用した。

なお、本研究で使用した超純水は ADVANTEC 社 cpw-200 超純水製造装置により製造した Mill-Q 水(≥ 18 MΩ/cm)である。

2.3 対象化学物質の選定

ファウリング評価実験を行うにあたり、まず NOM の前駆物質を数種想定し、更にそれらの構成単位と考えられる構造が比較的簡単な化学物質を選定することとした。また、これらの化学物質とともに実際の NOM も採用した。ここでは本研究で実施した化学物質の選定経緯と、使用した NOM について述べる。

2.3.1 対象化学物質の選定

対象化学物質を選定するにあたり、以下の3点に注目した。

- (1) 水中に存在する NOM 構成単位の候補として考えられる物質
- (2) ファウリングを起こすと考えられている化合物の構成単位である物質
- (3) その単体の持つ官能基がファウリングに影響を与える可能性があるとの情報が存在する物質

まず、低圧逆浸透膜処理において、ファウリングの可能性があると考えられているのは NOM の中でも COM (Colloidal Organic Matter) と DOM (Dissolved Organic Matter) の部分である。COM の前駆物質としては多糖類、アミノ糖、タンパク質(ペプチド)が考えられる。また、DOM の前駆物質としては縮合タンニン、テルペノイド、続いてリグニンやタンパク質があげられる²⁾。タンニン、テルペノイドおよびリグニンは主に陸生高等植物中の葉や幹に由来し、ペプチドグリカン、多糖類、アミノ糖、テルペノイドおよびタンパク質は主に微生物細胞壁のような生物組織に由来するといわれる。そこで水中に存在する COM および DOM の由来として陸生植物由来のものと藻類やプランクトンによる排出物や老廃物由来のものに特に注目した。

まず、陸生植物由来の成分²⁾として表 2.2 に示す3種類をあげた。縮合タンニンには主として *m*-phenol が含まれる³⁾との報告があるため resorcinol をまず縮合タンニン由来物質の候補として選定した。続いて、UF 膜ファウリングに関する報告ではあるが、フミン質中に存在するフェノールおよびカルボキシル基が膜に吸着するとの報告がある⁴⁾こと、水環境中に存在する芳香族

酸は、リグニンやその他の植物細胞組織からの分解生成物であるといわれる³⁾ことをふまえ、芳香族酸の trimesic acid を選定した。また、フェノール性水酸基およびカルボキシル基をもつ vanillic acid はリグニンに由来するとの報告もある⁵⁾ことから、vanillic acid を選定した。

続いて、藻類やプランクトン由来の成分²⁾として表 2.4 に示す 2 種類をあげた。まずアミノ酸はタンパク質の構成単位であり陸生植物、土壤有機物、藻類、水生植物、堆積物など、様々なものに由来する。湖水においては富栄養化時に溶存アミノ酸が増加することから、アミノ酸は藻類の生産力によって存在量が大きな影響を受ける成分であるとも考えられる。また、タンパク質中に存在するペプチドは COM を構成するものであり、COM は膜表面でゲル層を形成しファウリングを起こす原因となると考えられている。そこで COM によるファウリングを追う基礎的検討を目的として、アミノ酸残基による影響を考察するため、本研究では中性分岐鎖アミノ酸である *L*-leucine を選定した。最後に本研究では、単糖である *L*-fucose を選定した。これは、多糖類の一部もペプチドを持つ物質同様コロイド状で存在するが、単糖である *L*-fucose は褐藻に含まれる吸湿性の強い粘性多糖フコイダンの主な構成成分であることによる。よって *L*-leucine 同様に COM ファウリングの基礎的検討を目的として *L*-fucose を選定した。

表 2.3: 選定した対象化合物質(1)

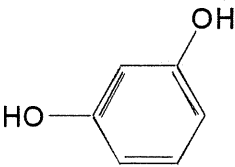
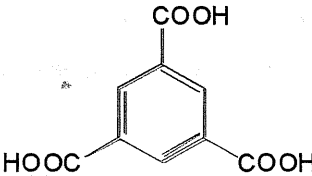
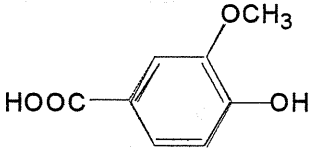
由来 名称	陸生植物		
	resorcinol	trimesic acid	vanillic acid
構造式			
分子量	110.11	210.14	168.15
水溶解度 (mg/L)	7.17×10^{-5}	2.63×10^{-4}	1,500
$\log K_{ow}$	0.8	1.64	1.43
pK_a	9.32	3.12	4.51
ヘンリー定数 (atm·m ³ /mol)	9.88×10^{-11}	4.39×10^{-17}	6.67×10^{-13}

表 2.4: 選定した対象化学物質 (2)

由来	藻類・プランクトン	
名称	L-Leucine	L-Fucose
構造式	$\begin{array}{c} \text{COOH} \quad \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$	
分子量	131.18	168.4
水溶解度 (mg/L)	2.15×10^4	-
$\log K_{ow}$	0.8	-
pK_a	2.35, 9.60	-
ヘンリー定数 (atm, m ³ /mol)	3.49×10^{-9}	-

2.3.2 NOM の選定

(1) 琵琶湖 NOM (LBNOM)

実際の水試料によるファウリング状況を検討するため、本研究では琵琶湖南湖の水を試料に選んだ。採水位置は大津市なぎさ公園の東沖合い 50 m、水深約 2 m の琵琶湖の出口に近いところにある。なお、琵琶湖には約 120 本の一級河川が琵琶湖に直接流入している。一方、流出河川は瀬田川と琵琶湖疏水のみであるがその水は京阪神の約 1,400 万人の人々の飲料水などに利用されている⁶⁾。

(2) Suwannee River NOM (SRNOM)

高濃度の NOM を処理することにより、膜をファウリングさせ、そのとき膜に残った成分から、膜に残りやすい成分について検討することを目的として 20 mgC/L の Suwannee River NOM を調整して低圧逆浸透膜処理を行った。

Suwannee River NOM は、国際腐植物質学会 (International Humic Substances Society: IHSS) から頒布されている参照物質である。IHSS により、公表され

ている NOM の抽出法⁷⁾によると、NOM の抽出は原水を 1.0 μm と 0.4 μm のポリプロピレンフィルターでろ過し、イオン交換をして陽イオンを除き、低圧逆浸透膜で濃縮し、さらに、膜に吸着したと考えられるフミン酸に関しても 0.01 N の NaOH で定期的に回収した後、イオン交換して陽イオンを除き、それらの両方を凍結乾燥させることにより作成したとある。

Suwannee River 原水の pH が 3.93 であること、またピート由来の成分を多く含む水であることから、日本での水環境中における NOM とは組成などが異なると考えられる。しかし、膜に付きやすい成分についての基礎的検討を行うためには意義があると考えられる。なお、本研究ではフミン質以外の成分に関しても検討を行えるよう、NOM をすべて溶かしたものを試料として用いた。表 2.5 に Suwannee River NOM の元素組成を示す⁷⁾。

表 2.5: Suwannee River NOM の元素組成

元素	C	H	O	N	S	P	Ash	Total
重量 wt%	48.8	3.9	39.7	1.02	0.606	0.02	7.0	101.1

2.4 ファウリング評価方法

本研究で実施したファウリングを評価するための方法を図 2.4 に示す。まず、水処理において問題となるのは、処理水が出なく(得られなく)なることである。第 1 章 1.1 で示したようにファウリングの評価方法は様々であるが、本研究では透過流束の低下からファウリングを評価することとした。この方法には二通りある。本研究では保持液、透過液を原液タンクに戻す全循環方式で実験を行った。この場合透過流束はいずれ一定値となる。一つ目は、その一定となった透過流束(C)が初期透過流束(C₀)に比べてどれだけ減少したか(C/C₀)で評価する方法、もう一つは透過流束が一定となるまで経時的に変化を追う方法である。

本研究では、低圧逆浸透膜におけるファウリング現象の基礎的研究として、対象化学物質および選定した NOM が単独で透過流束を経時的に低下させるものであるかどうかを観察することとした。そして 24 時間以内に透過流束の低下が観られた物質をファウリングにつながる現象を引き起こす物質と考え、ファウリング原因物質の候補としてあげることとした。しかし、流束の

低下を引き起こさなくとも、膜に吸着し、原液濃度を減少させる物質が存在する可能性がある。この物質は、長時間膜処理することでファウリングの原因の原因になるもしくはファウリングを助長する物質である可能性がある。よって、膜に吸着する物質をファウリングに関与する可能性のある物質と位置づけ予備候補物質とした。

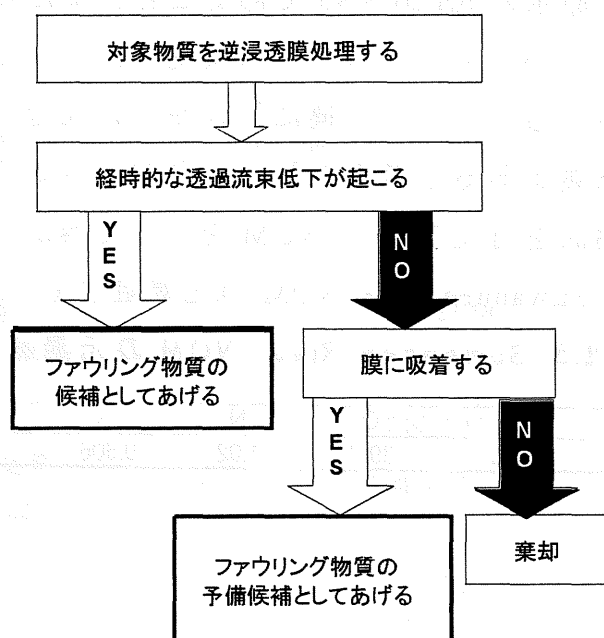


図 2.4:本研究で採用したファウリングを評価するための方法

2.5 低圧逆浸透膜処理実験操作の手順、使用試薬および分析装置

第 3 章および第 4 章で詳述する実験操作の概要のフローチャートを図 2.5 に示す。なお、サンプルの濃度測定は、2.3.1 で選定した各対象化学物質に関しては LC/MS/MS(液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置)を使用し、2.3.2 で述べた NOM に関しては全有機体炭素計および吸光光度計を用いて測定した。なお、本実験で用いた試薬および装置についてまとめたものをそれぞれ表 2.6、表 2.7 に示す。

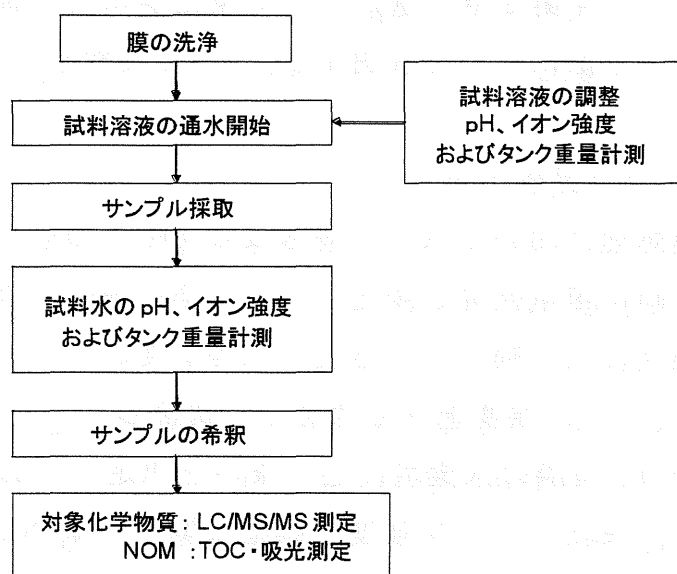


図 2.5：低圧逆浸透膜処理実験操作のフローチャート

表 2.6：本研究で用いた試薬

試薬	詳細
trimesic acid	Wako,和光特級 $\geq 98\%$
vanillic acid	Aldrich, $\geq 97\%$
resorcinol	Wako,和光特級 $\geq 99\%$
L-leucine	Wako,和光特級 $\geq 99\%$
L-fucose	SIGMA, $\geq 99\%$
methanol	Wako,LC/MS用
acetonitrile	Wako,LC/MS用
formic acid	Wako,LC/MS用
20% ammonia	多摩化学工業株式会社,高純度分析グレード
acetone	Wako,和光特級 $\geq 99.5\%$
sodium hydrate	Wako,和光特級 $\geq 96\%$
hydrochloric acid	Wako,和光特級, 35.0~37.0%

表 2.7：本研究で用いた分析装置

分析装置	詳細
pHメーター	RADIOMETER COPENFAGEN
電気伝導度計	CM-5S, TOA
紫外吸光光度計	UV-2500PC, SHIMADZU
蛍光分光光度計	F-4500, HITACHI
全有機炭素計	TOC-V _{CPH} /5000A, SHIMADZU
高速液体クロマトグラフ	Alliance 2695, Waters
質量分析計	Quattro micro TM API

第3章 対象化学物質によるファウリングの評価

本章では、まず第2章で選定した対象化学物質の調整方法と膜処理実験の詳細及び分析方法について説明する。そして実験結果に基づいて考察を行う。

3.1 試料溶液の調整方法

逆浸透膜処理においては、試料溶液の pH の相違により化学物質の物理化学的特性や膜の荷電性等が変化し、阻止率や膜への吸着量に影響が出る。またイオン強度により膜にかかる浸透圧等が変わってくる。したがって、試料溶液の pH とイオン強度を十分考慮して調整した上で実験を行うべきである。

本研究では、実際の水環境に近い条件を想定し、pH を 7.0 ± 0.5 に調整することとした。また、イオン強度の調整に関しては NaCl を用いて調整することを考えたが、対象化学物質の分析に LC/MS/MS を用いる際、NaCl は不揮発性の塩であるためイオン化が抑制されてしまうことから、イオン強度を NaCl を利用して調整することは困難であった。したがって、本研究ではイオン強度は電気伝導度を測ることによって把握はしたが、対象化学物質間で条件の調整は特に行わなかった。

試料溶液の作成法はまず、1.0 mmol の試料を精密電子天秤(SHIMADZU 製、AX200)で量りとり、それを容量 2 L 三角フラスコ内で 30 分以上曝気し大気平衡させた 25°C の超純水で 2 L にメスアップし、0.5 mM の溶液を 2 L 作成した。その後、0.1 N の NaOH を用いて pH 7.0 ± 0.5 に調整した。これを低圧逆浸透膜による膜処理実験の初期試料溶液とした。

3.2 低圧逆浸透膜処理実験の方法

まず本研究では、常に新しい膜を使用することとした。これは、前に行った低圧逆浸透膜処理実験で用いた化学物質が混入すること、膜の除去特性が変化すること等が考えられたことによる。前処理として、膜洗浄の目的で、圧力をかけずに 1 L の超純水を循環させず一巡させて捨て、次に膜内部の重亜硫酸ナトリウムの除去および膜の安定化を目的として、容量 1 L の試薬びんに入った超純水を 30 分間圧力をかけずに循環させ、その後圧力を 0.3 MPa に調節して 30 分間循環させた。このとき、透過流束が通常どおり得られてい

るかを確認した。

30分後、圧力を開放して管内に残る超純水を空気で押し出すことによりできる限り回収し、原液タンクを試料の入った2Lの試薬ビンに交換した。交換後、まず試料溶液の管内濃度を一様にする目的で30分圧力をかけずに循環させた。その後、圧力を0.3 MPaまで上げた。このときを操作開始(0時間)とした。なお、このときの循環流速は1.3 L/minであった。また、膜処理実験中入口圧力が変化した場合には圧力調整バルブの微調整を行い、入口圧力を一定に保持するようにした。

試料溶液は、試料調整時の原液タンク内の濃度を原液タンク内初期濃度とし、これを C_{int} (mM)とおいた。原液タンク側を開始0、2、4、8、12および24時間後に、透過液側を開始0、0.5、1、1.5、2、4、8、12および24時間後にそれぞれ三方コックから採水し(図2.1)、それぞれ対象化学物質の濃度を測定した。なお、透過液側に関しては、各採水時間に1分間ずつ採水し、サンプルの重さを量ることにより透過流束を測定した。なお、本研究では、一連の操作は25°Cの恒温室内で行った。これは水の粘性変化による影響を防ぐためである。実験を等温下で行った上、透過流束や濃度の絶対値を特に必要とするわけではなく、これらの値の時間経過に伴う相対比較が重要であると考えた。そこで、試料溶液の密度については簡素化のため1 g/mLとして補正することとした。

実験開始24時間後の透過液をサンプリングした時を終了時間とし、圧力を開放し試料溶液を空気で押し出し可能な限り回収した。その後、平膜型テストセルから膜を取り外した後、再び平膜型テストセルのみを装置に取り付け管内に残る試料溶液の回収および膜以外の箇所^①に吸着した試料溶液を回収するため、1Lの超純水を30分間循環させた。その後、超純水を回収した後、 1.0×10^{-4} NのNaOH溶液1Lを30分間循環させ更に洗浄した。なお、次の実験の前には、5Lの純水を循環させず捨てることにより管内を洗浄した。

3.3 対象化学物質の分析方法

3.3.1 分析装置

上記の対象化学物質の濃度測定はすべてLC/MS/MS (Waters、Alliance2695

および *Quatro Micro API*) を用いて行った。本研究では、低圧逆浸透膜処理におけるファウリング原因物質を検討するための基礎的研究として各対象化学物質単独での評価しか行わなかったが、実際の低圧浸透膜処理においては、多種多様な NOM が混在している水を対象としていることから、今後は、混在しているものから各対象化学物質を分離して分析することが必要になってくるものと考えられる。このような場合には、その分析手段として LC による分離技術が必要となる。したがって、本研究で実施する分析方法および結果はそれに向けた基礎的データの蓄積と位置づけ、対象化学物質の溶液中濃度を LC/MS/MS で測定することとした。

LC/MS/MS は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、直結した二台の質量分析計(MS)、およびこれらをつなぐインターフェースの部分とで構成される。まず、LC カラムの部分で固定相と移動相に対する親和力の違いにより溶質が分離される。続いてインターフェースの部分でイオン化され、第 1 の質量分析計に導入される。第 2 の質量分析計で目的の特定イオン種のみが選択される。第 1 と第 2 の質量分析計間に設置された衝突活性化室(コリジョンセル)でこの特定イオンを更に解離させられることにより生成したプロダクトイオンのスペクトルを第 2 の質量分析計で測定することも可能である。各質量分析計では、質量数/電荷(m/z)比によって試料中の溶質の定性、定量を行うことが可能である。

まず HPLC では固定相と移動相を組み合わせることにより、固定相の極性が移動相の極性より高い順相モードと、移動相の極性が固定相より高い分離系である逆相モードの中から適切な分離モードを選ぶことができる。

イオン化においてはソフトなイオン化法であるエレクトロスプレーイオン化(Electro-Spray Ionization: ESI)法を使用した。ESI 法では、試料溶液が高電圧に印加されたキャピラリーを通り大気圧下で静電噴霧され、高度に帯電した液滴となる。その後、液滴表面から溶媒の蒸発が起こって液滴が細分化されることにより、電荷が対象分子に移り対象分子がイオン化される。また、本研究で使用した質量分析計は 4 本の円柱状電極からなる四重極型のものであった。

3.3.2 LC/MS/MS 分析条件の最適化

LC/MS/MS での分析を行うために、まず各対象化学物質のみを水に溶かし、MS/MS に直接サンプルを導入するフローインジェクション法を利用してイオン化の確認をした。水に溶かすだけではイオン化しない物質も存在したが、アンモニアを添加し pH を上げることでそれらの物質においてもイオン化を確認することができた。

逆相 HPLC においては解離したイオン性、あるいは極性を有する物質は疎水性の強い固定相に保持されにくい。そのため、カルボン酸のような酸性物質では移動相の pH を下げ、またアミンのような塩基性物質では pH をあげて溶質のイオン化を抑制することで固定相への保持を大きくするイオン制御法をとる。一般に弱酸および弱塩基は $pK_a \pm 1$ の範囲で緩衝能力を持つといわれるため、逆送 HPLC により効率よく分離するためには移動相の pH をできるだけ対象化学物質の $pK_a \pm 1$ の範囲外に調整することが望ましい。本研究では vanillic acid と trimesic acid は 1% formic acid を使用することにより、また *L*-leucine、*L*-fucose、および resorcinol に関しては 0.05 % ammonia を、解離を抑制するためにそれぞれ使用した。

逆相 HPLC では疎水性充填剤として C18 基をシラノール結合した ODS シリカが固定相としてよく使われる。本研究では、vanillic acid と trimesic acid の分析にも、Waters 製 C18 系の分析カラム Sun Fire を使用した。ただし、シリカゲルベースの充填剤の使用可能 pH 範囲は 2 ~ 8.5 であり、この範囲以外ではシラノール結合およびシリカゲルが分解する。そのためこの範囲以外ではポリマーゲルをベースにしたものやシリカゲル表面をシリコーンポリマーでコートしたカプセル型などを使用する必要がある。本研究では、0.05% ammonia を添加した場合に定量性が向上した *L*-leucine、*L*-fucose、および resorcinol の分析に関してはポリマー系の糖分析用カラム（昭和電工製、Asahipak NH2P-50 シリーズ）を使用した。

最終的には質量分析計のポジティブモードとネガティブモード両方において最適な親イオンと娘イオンを探索し、移動相の水相と有機溶媒相の混合割合を最適化した。本研究において最適化した分析条件を表 3.1 に示す。

表 3.1: LC/MS/MS 分析における最適分析条件

対象物質名	trimesic acid		vanillic acid		resorcinol	L- leucine		L- fucose
移動相 (vol%)	water	45	water	20	acetonitrile	75	acetonitrile	75
	methanol	45	methanol	70	0.05 % ammonia	25	0.05 % ammonia	25
	0.1% formic acid	10	0.1% formic acid	10				
流量	0.2 ml/min							
注入量	10 l							
使用カラム	Waters, SunFire 5.0 m, C18 2.1 × 150 mm		Waters, SunFire 5.0 m, C18 2.1 × 150 mm		Shodex, Asahipak NH2P-50 2.0 × 150 mm	Shodex, Asahipak NH2P-50 2.0 × 150 mm		Shodex, Asahipak NH2P-50 2.0 × 150 mm
イオン化モード	ESI-		ESI-		ESI-	ESI-		ESI-
親イオン(m/z)	209.0		167.0		108.7	129.9		162.9
娘イオン(m/z)	120.9		151.9		64.7	67.3		88.7
cone voltage(V)	25		20		30	35		15
collision energy(eV)	15		10		10	15		5

3.4 実験結果および考察

ここではまず各対象化学物質溶液を低圧逆浸透膜処理実験を行った場合の透過流束の経時変化について述べ、その後膜への推定吸着量、原液中濃度の経時変化、および見かけの阻止率に関する結果を記述する。そしてこれらの結果に基づいてファウリングに関して考察を行う。

3.4.1 イオン強度

対象化学物質を溶かした水溶液を pH7 に調整するために入れた 0.1 N の NaOH の量は対象化学物質によって異なる。すなわち、初期イオン強度が対象化学物質間で異なる。本研究では溶液を作成し、pH 調整を行った後のイオン強度を把握するために、電気伝導度計(CM-5S, TOA)を用いて電気伝導度を測った。なお、この電気伝導度計を用いて NaCl 溶液のイオン強度 I(mM) (計算値) と電気伝導度 E(mS/m) (測定値) の関係を求めると、次式が得られた。

$$\log I = 1.0437 \times \log E - 1.1078 \quad (R^2=0.9998) \quad (3.1)$$

式(3.1)に電気伝導度計を用いて求めた各対象化学物質溶液の電気伝導度を代入して、イオン強度を NaCl に換算した値として求めた。その結果を表 3.2 に示す。

表 3.2: 対象化学物質溶液のイオン強度(mM)

(NaCl 換算値)

対象化学物質名	NaCl換算イオン強度(mM)
trimesic acid	1.409
vanillic acid	0.349
resorcinol	0.019
L-fucose	0.027
L-leucine	0.022

3.4.2 透過流束の経時変化

図 3.1～図 3.5 に各対象化学物質溶液に対する透過流束(Flux)の経時変化を示す。なお、本研究では透過流束は式(3.2)で定義した。

$$\text{透過流束(cm/s)} = \frac{\text{サンプリング量(g)}}{\text{有効膜面積(cm}^2\text{)} \times \text{サンプリング時間(s)} \times \text{比重(g/cm}^3\text{)}} \quad (3.2)$$

図 3.1～図 3.5 より、24 時間で透過流束が著しく減少したように見受けられる物質はない。L-fucose (図 3.5) に関して、0.5 時間目のデータが他の値より少し高くなっているが、もしこのデータがファウリングによる透過流束の低下に起因するものであれば、その後透過流束は徐々に減少するはずである。しかし、1 時間後以降もほぼ変化はないことから、0.5 時間後の高い透過流束の値は、十分に膜が平衡化されていなかったことによるものと考えるのが妥当である。よって、本研究で選択した対象化学物質は透過流束の経時変化を測定した結果からは、設定条件下ではファウリングが起こらなかったと言える。

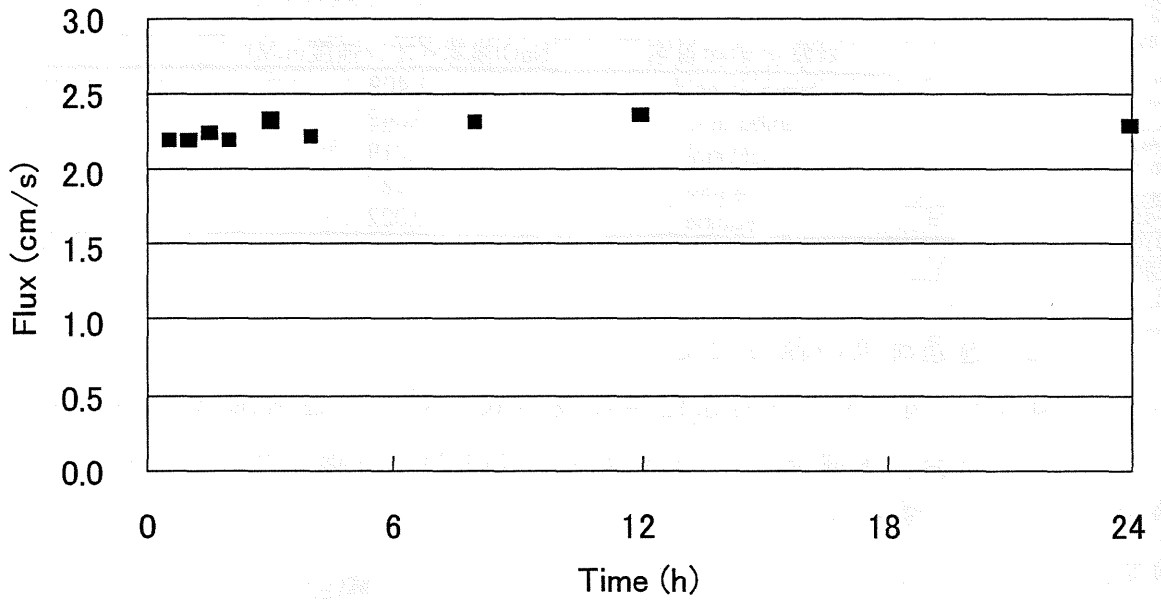


図 3.1: trimesic acid 溶液を逆浸透膜ろ過処理をした際の透過流束の経時変化

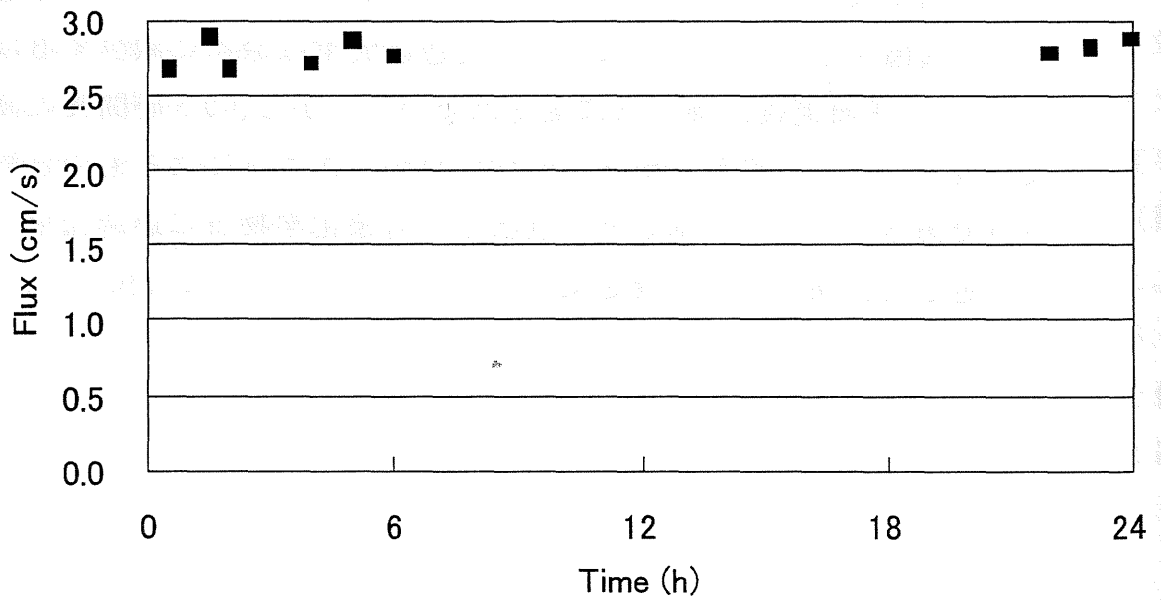


図 3.2: vanillic acid 溶液を逆浸透膜ろ過処理をした際の透過流束の経時変化

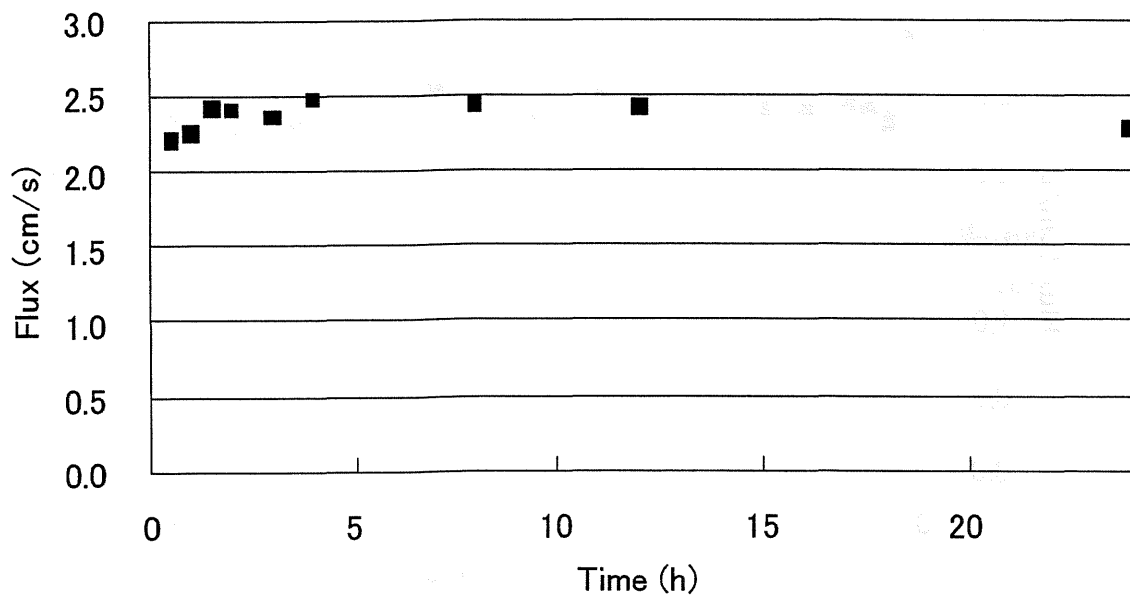


図 3.3: resorcinol 溶液を逆浸透膜ろ過処理をした際の透過流束の経時変化

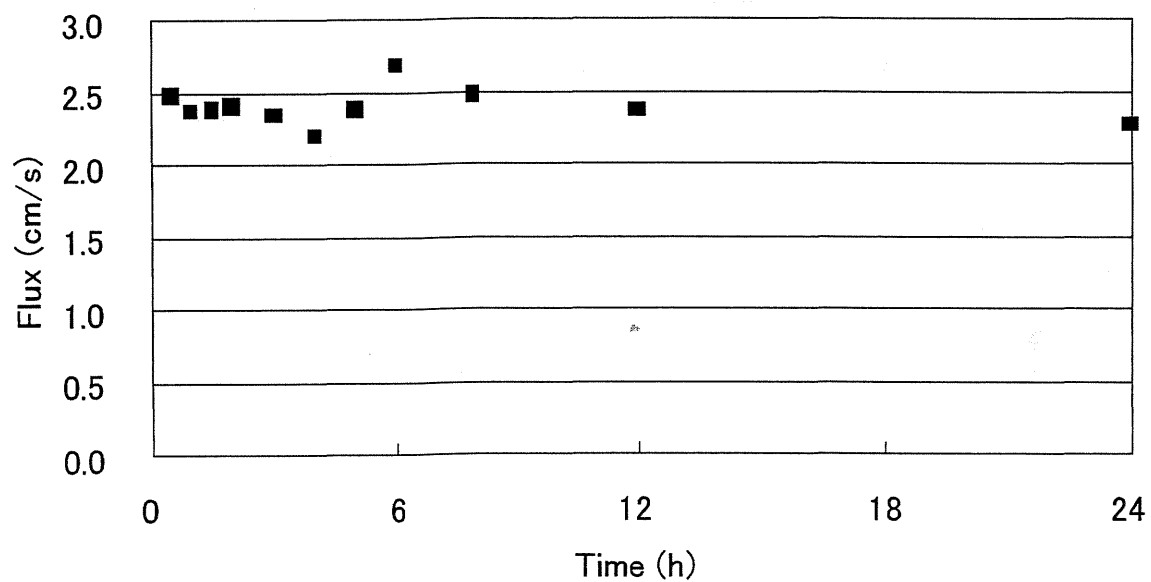


図 3.4: L-leucine 溶液を逆浸透膜ろ過処理をした際の透過流束の経時変化

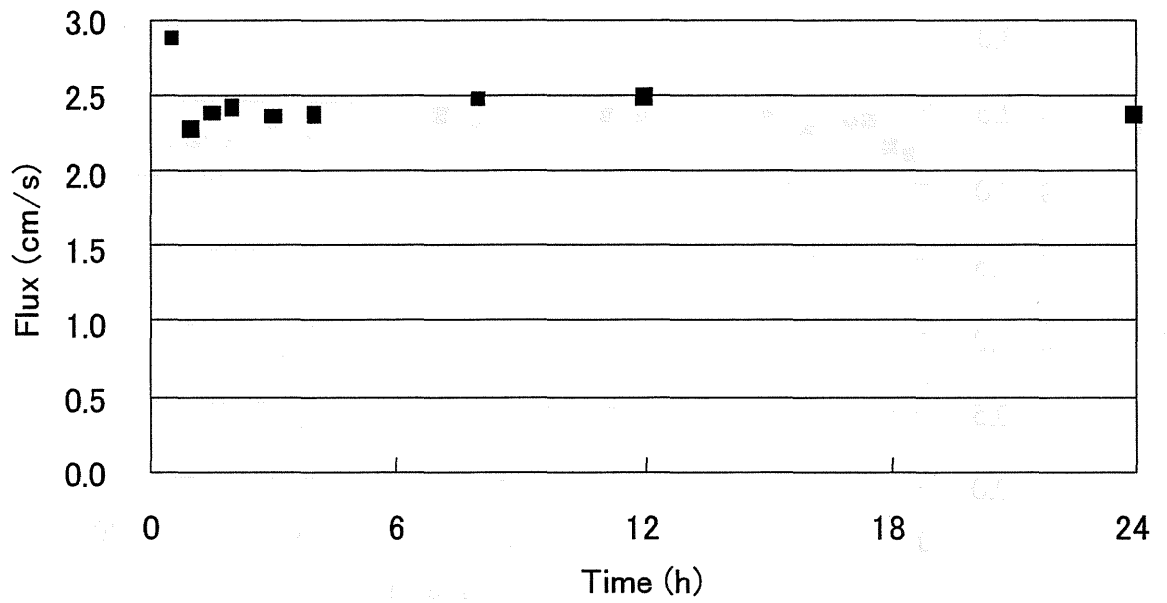


図 3.5: L-fucose 溶液を逆浸透膜ろ過処理をした際の透過流束の経時変化

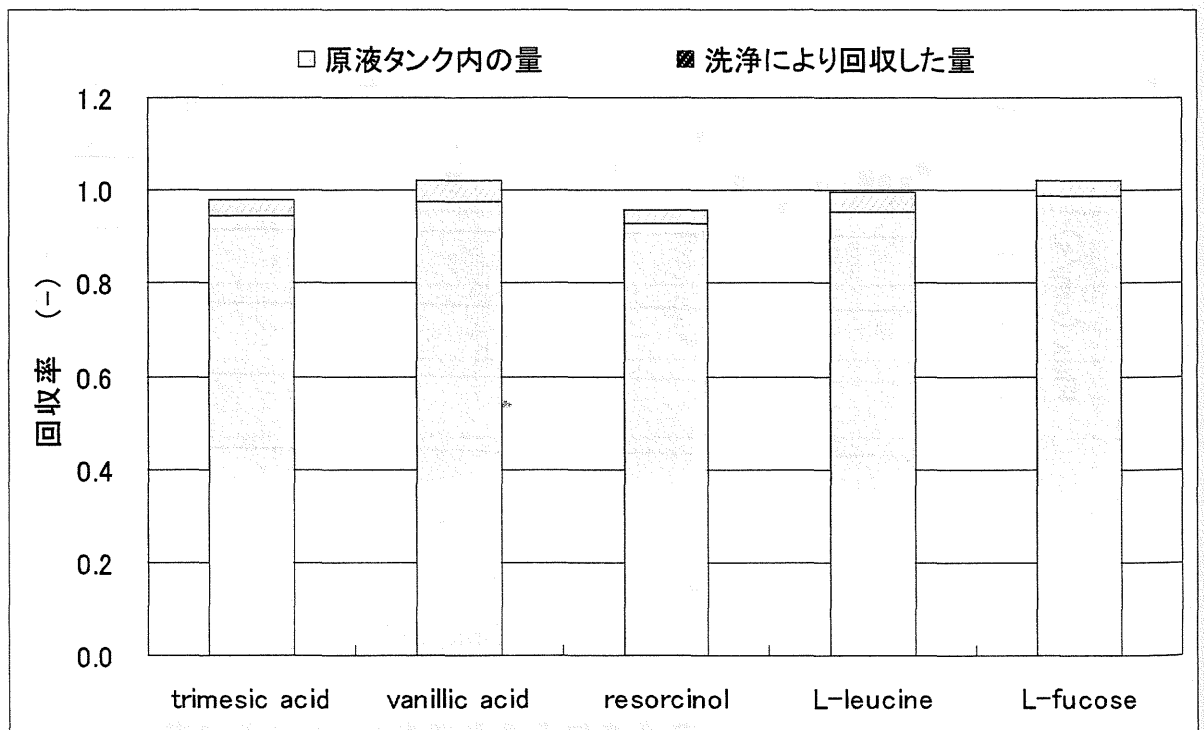


図 3.6: 逆浸透膜処理後の各対象化学物質の回収率

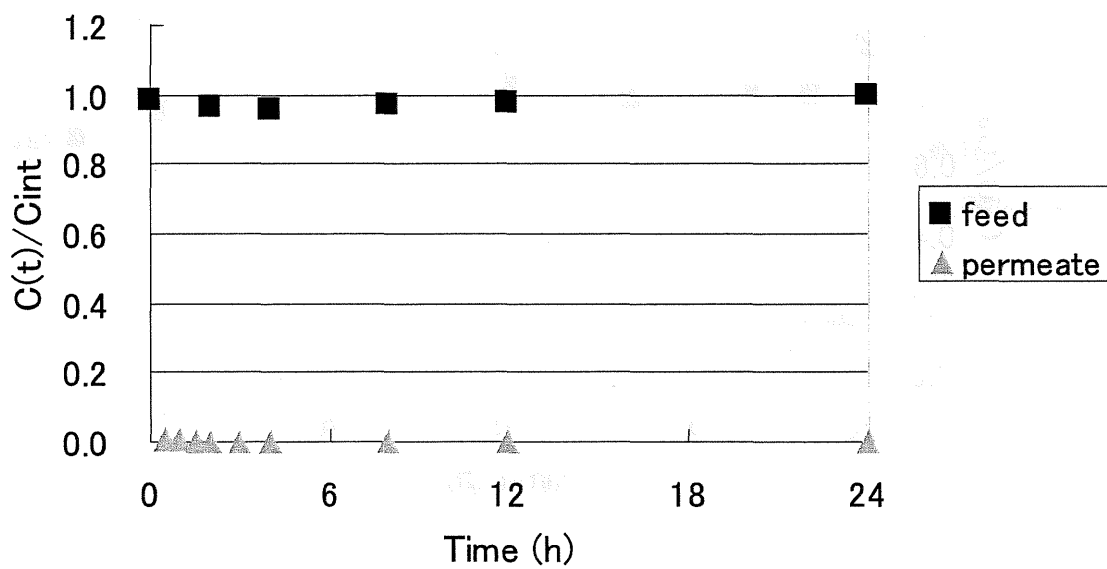


図 3.7: trimesic acid 試料溶液(0.5 mM)の原液中および透過液中濃度の経時変化

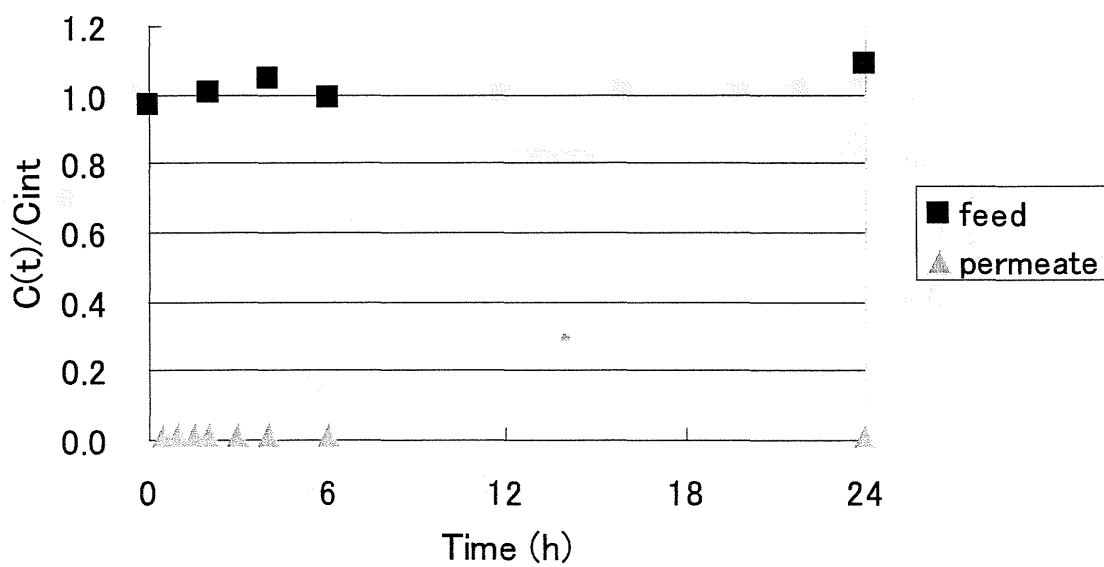


図 3.8: vanillic acid 試料溶液(0.5 mM)の原液中および透過液中濃度の経時変化

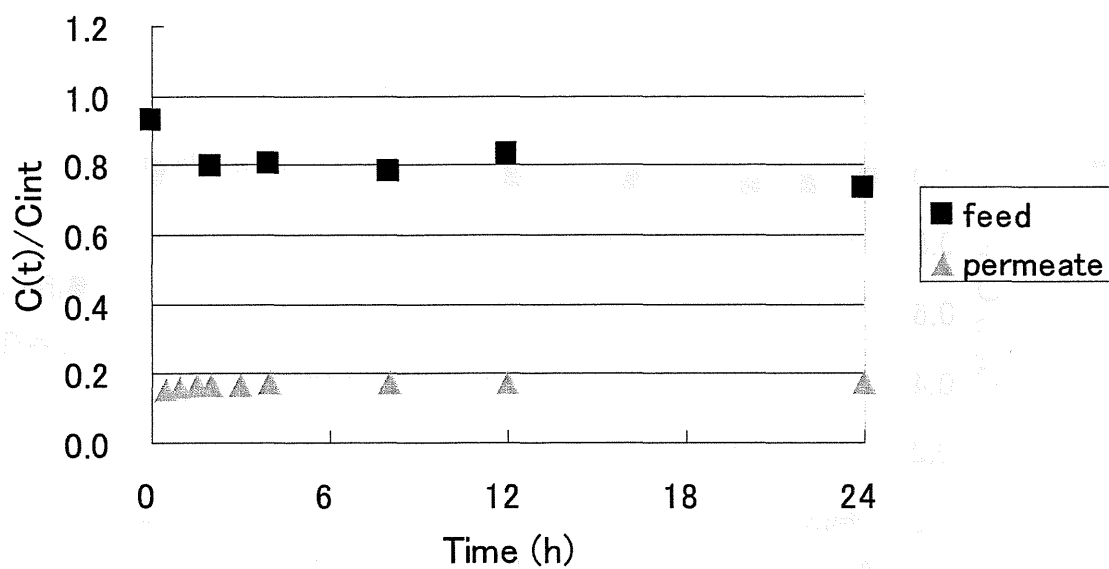


図 3.9: resorcinol 試料溶液(0.5 mM)の原液中および透過液中濃度の経時変化

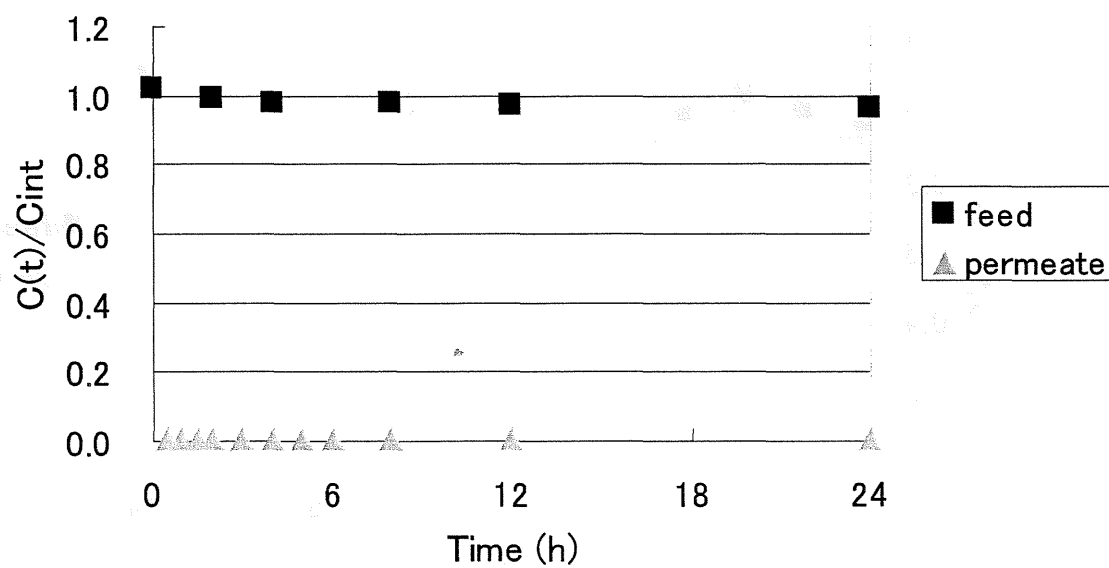


図 3.10: L-leucine 試料溶液(0.5 mM)の原液中および透過液中濃度の経時変化

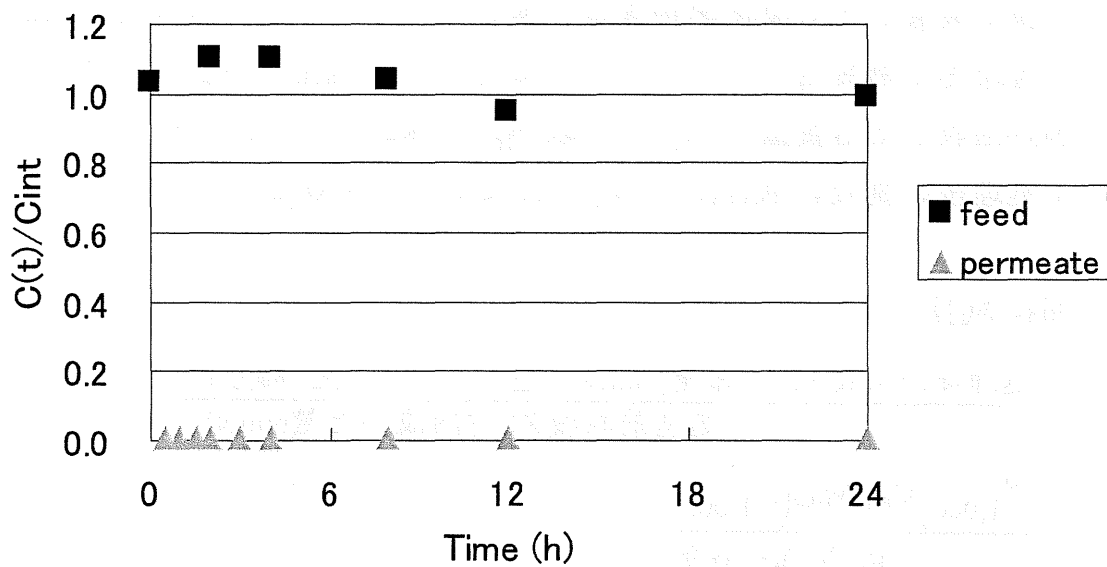


図 3.11: *L*-fucose 試料溶液(0.5 mM)の原液中および透過液中濃度の経時変化

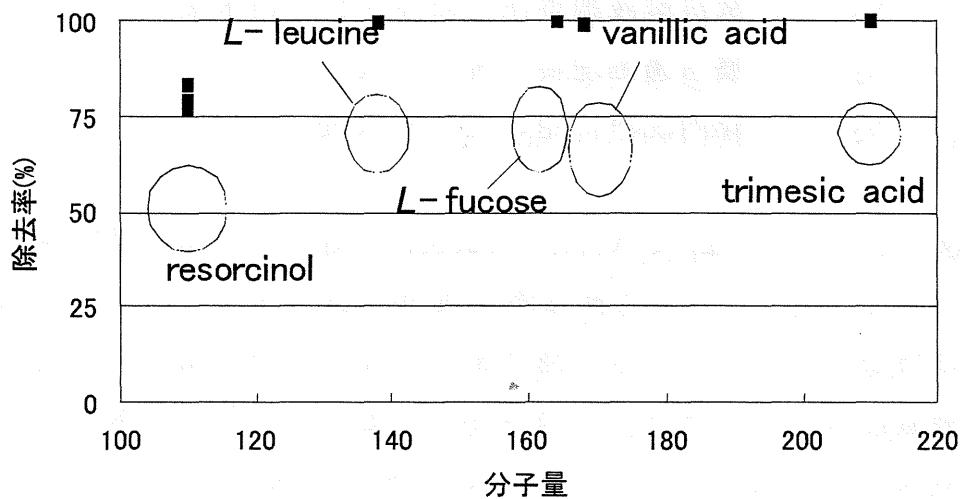


図 3.12: 対象化学物質間の見かけの阻止率の比較

3.4.3 膜への吸着量の推定

膜に吸着した対象化学物質量の推定を行うために、処理前の原液タンク内の対象化学物質量を1としてそれに対して処理後の原液タンクおよび装置内から回収した溶質量の割合（回収率）を算出した(図 3.6)。なお、図 3.6 に示す処理後の質量の割合(回収率)は次式により求めた。

回収率(%)

$$\square \frac{\text{処理後の原液タンク内量(mmol)} + \text{超純水による洗浄(0分間)で回収した量(mmol)}}{\text{処理前原液タンク内あった量(mmol)}} \\ \square \frac{\left(\frac{\rho}{1,000}\right)C_{\text{Feed}}V_1 + \left(\frac{\rho}{1,000}\right)C_{\text{Flush}}V_2}{\left(\frac{\rho}{1,000}\right)C_{\text{int}}V_0} \quad (3.3)$$

ρ : 水の密度(g/mL) (= 1 g/mL)

C_{int} : 試料溶液調整直後の原液タンク内の濃度 (mM)

C_{Feed} : 膜ろ過処理終了後の原液タンク内の濃度 (mM)

C_{Flush} : 超純水洗浄後の洗浄タンク内濃度 (mM)

V_0 : 試料溶液調整後の原液タンク内水量 (g)

V_1 : 膜ろ過処理終了後の原液タンク内水量 (g)

V_2 : 管内洗浄に用いた超純水量 (g)

図 3.6 より、vanillic Acid、L-fucose に関しては膜処理実験終了後の回収率が 100%を超えたが、これは測定誤差の範囲内と考えられ、膜に残った物質はほぼなかったといえる。図 3.6 からは、どの対象化学物質についても膜への吸着はほぼないと考えるのが妥当である。しかし、本研究で使用した 5 種の対象化学物質の中では resorcinol が最も回収率が低く約 5%の減少が観測された。resorcinol はファウリング原因物質の候補として更なる研究の必要があると考えられた。

3.4.4 見かけの阻止率

原液(feed)と透過液(permeate)中の対象化学物質濃度の経時変化を追うことで膜への吸着の評価を試みた。その結果を図 3.7～図 3.11 に示す。図 3.7～図 3.11 のデータを基にして見かけの阻止率を計算した結果を図 3.12 に示す。図 3.12 より、見かけの阻止率は resorcinol 以外は良好であると言える。なお、本研究では見かけの阻止率は式(3.4)で定義した。

$$R = 1 - \frac{C_{\text{permeate}}(t)}{C_{\text{feed}}(t)} \quad (3.4)$$

- R : 見かけの阻止率 (-)
- $C_{\text{permeate}}(t)$: 低圧逆浸透膜処理実験開始 t 時間後の透過液中対象化学物質濃度 (mM)
- $C_{\text{feed}}(t)$: 低圧逆浸透膜処理実験開始 t 時間後の原液中対象化学物質濃度 (mM)

これらのデータはイオン強度が同じではないため、直接比較することは難しいが、図 3.12 に示すように見かけの阻止率は良い順に trimesic acid (99.9%) > L-fucose (99.6%) > L-leucine (99.6%) > vanillic acid (98.9%) > resorcinol (76.7%)であった。かっこ内の数字は低圧逆浸透膜処理実験開始 24 時間後のデータを基に算出した値である。Resorcinol 以外の物質は 95%以上阻止されている。

ポリアミド系の膜ではサイズふるいが支配的な阻止機構であるとの報告がある¹⁾。また Ozaki ら²⁾によれば、超低圧逆浸透膜である ES20(日東電工製、ポリアミド系複合膜)による分離では、分子量 150 以上の物質の見かけの阻止率が 90%を超えたとの報告もある。図 3.12 より、L-leucine と vanillic acid を比較すると、L-leucine のほうが分子量が小さいのに vanillic acid よりも見かけの阻止率が高い結果が得られている。その理由としては、L-leucine のほうが vanillic acid よりも分子の幅が大きい可能性もあるが、低圧逆浸透膜処理実験を行った際のイオン強度が L-leucine を処理した場合での時のほうが低かったためである可能性も否定できない。イオン強度が低い場合、L-leucine 自体の分子サイズが大きい一方、膜表面における電氣的二重層が厚くなるこ

とにより膜の孔径が小さくなるため除去率が上がる可能性があり³⁾、vanillic acid よりも見かけの阻止率が高くなったとも考えられる。

図 3.7~図 3.11 の結果の考察に戻る。これらは試料溶液調整時の原液タンク内の濃度である C_{int} に対する時間 t における原液および透過液中対象化学物質濃度 $C(t)$ の割合 $\{C(t) / C_{int}\}$ の経時変化を表す。実験は全循環(すなわち、透過液と保持液共に原液タンクへ戻す)モードで行っているため、 $C(t) / C_{int}$ が 1 を超えることはないはずであるが、何点か超えてしまったデータがある。これは、濃度の経時変化の測定に毎回ほぼ同量(約 3 mg)のサンプルを採取することにより、原液タンクと透過液中に含まれる対象化学物質の全量の違いによる濃縮の可能性がある。すなわち、ある時刻 t においてサンプリングして除いた試料中の濃度が低かった場合には、膜処理システム中に残存する対象化学物質の濃度は相対的に高くなることになる。しかし 24 時間後の原水タンク内の水量の減少量はせいぜい 60 mg 前後であり、これは原水タンクの容量 (2 L) を考慮すると無視可能な量だと考えられ、濃度変化に影響を与えるほどであるとは言えない。また原液タンク内濃度が十分均一になっていない状態の試料溶液をサンプリングしてしまっている可能性もある。しかし、この 1 以上の値を生じさせた原因としては、feed 側の濃度を測定する際に本研究で使用した LC/MS/MS の分析の都合上、各サンプルを 5 mg/L 以下の濃度になるよう(約 100 倍)希釈してから分析したことによるものとも考えられる。しかし、 $C(t) / C_{int}$ が 24 時間を通じてほぼ 1 から変わらないものは、ろ過膜および管内への吸着は起こらなかった物質であるとみなせる。図 3.7~図 3.11 を比較すると、resorcinol においてのみ原液中濃度が著しく(20%以上)低下していることがわかる。ただ、原液中濃度が減るにつれて透過液中濃度が増加している。これは原液中の対象化学物質が透過液中に移行したために起こった結果である可能性を示唆する。しかし、本研究で使用した低圧逆浸透膜処理装置において透過液は膜を出てから原水タンクへ戻るライン中に存在するだけであり、容積としては 200 mL 程度でしかなく、残る 1800 mL の溶液は原液濃度として存在している。よって、原液側における濃度の減少分が透過液側にすべて漏出したと考えるのは適切ではない。また、図 3.6 より resorcinol の回収率は 1 ではないことから、resorcinol に関しては、膜上および膜内部に

吸着している可能性があると言える。

Resorcinol の見かけの阻止率が低かったことは分子ふるい効果によると考えられるが resorcinol が膜内に残った原因の一つとして resorcinol の pKa が pH 7 に比べて十分高く、非解離状態であったことがあげられる。本研究で用いた逆浸透膜 SUL-G10 は pH_{zpc} が 2.6 であり、pH 7 では膜は負に帯電している。そのため、pH 7 付近で負に帯電している trimesic acid や vanillic acid は膜の静電的反発により高除去率が得られ、膜にも吸着しなかったと考えられる。本研究で選定した対象化学物質のうち、pKa が 7 より高いものは L-fucose と resorcinol があげられる。pH 7 の状態で L-fucose は非解離状態であるため、膜面で静電気反発を受けていないと考えられる。しかし L-fucose は極性が強い物質である。Bruggen⁴⁾は、非解離状態にある物質のうち双極子を持つ物質はこの双極子がポリアミド系膜の電荷に吸引され、膜構造の中に入り込むと述べている。しかし、L-fucose は図 3.6 より膜への吸着は起こっていないと考えられる。これは、解離していない L-fucose は分子量が 150 以上でありほぼ膜内に入り込めず、膜表面上でのクロスフローにより堆積が抑えられていると考えられる。また、Kiso⁵⁾は溶質の膜への吸着は疎水性が強いほど起こりやすいと述べている。L-fucose は親水性の強い物質であると考えられ、したがって膜との相互作用は働かなかつたとも考えられる。

一方、resorcinol が膜に吸着したのは非解離状態で存在し、膜に反発されず、また分子量が小さいことから膜の内部に入り込むことができたと考えられる。また、resorcinol は極性をもつ。非解離状態にある双極子をもつ物質は膜の電荷により反対の電荷をもつ双極子が引き付けられて膜構造の内部に入り込み透過するといわれる⁶⁾。このように引き付けられ、始めは膜内部に入りこみトラップされていた分子が徐々に透過液の流れ方向に運ばれ、透過液と膜の界面において脱着するため、透過液側濃度が経時的に増えたと考えられる。これと似た現象が他の研究者によっても報告されている。池嶋⁷⁾により nonylphenol が解離定数 (pKa) 以下の pH で膜処理実験を行った際、透過液中の濃度はほとんど変化がないのに対し原液中濃度が低下したこと、木村ら⁶⁾により 2-naphtol や 4-phenylphenol において同じような現象が指摘されている。

3.5 まとめ

本章では選定した対象化学物質がファウリング原因物質となるか否かを検討することを目的として実験を行った。その結果より得られた知見について以下にまとめる。

- ・ 本研究で対象化学物質として選定した 5 物質について 24 時間の低圧逆浸透膜処理実験を行った結果、透過流束については変化は認められずファウリングは起こっていないことがわかった。
- ・ 対象化学物質 5 物質について、各物質の回収率を見かけの阻止率を測定したところ、resorcinol について回収率、見かけの阻止率共に低いといった結果が得られた。Resorcinol が膜に吸着していることによるものと考えられる結果であり、この物質がファウリング原因物質の一つである可能性を示唆するものであった。

本研究では、水環境中 NOM の構成成分として 5 種の化学物質を選定し、これらそれぞれについて低圧逆浸透膜処理実験を実施した。その結果、resorcinol についてはわずかな可能性が観られたが、ファウリング原因物質を特定するには至らなかった。今後は、これらの対象化学物質が混在した場合の検討や本研究で選択に至らなかった他の化学物質を利用した実験等が必要であると考えられる。

第4章 NOMによるファウリングの評価

本章では、第3章における考察をふまえ、様々な化学物質が混在した状態で存在する起源が異なる2種類のNOMを用いることで、ファウリングの評価を試みる。ここではまず試料溶液の調整法、分析方法および実験方法について述べ、その後実験結果に基づいて考察を行う。

4.1 試料溶液の調整方法

4.1.1 SRNOMの調整

IHSSより購入したSRNOMを少量の0.1 M NaOHですばやく溶かした。加水分解が起こらないよう、その後すぐに超純水で20 mgC/Lとなるように希釈したのち、0.1 M HClでpH7に調整した。

4.1.2 LBNOMの調整

採水は2006年1月11日に行った。採水した水を20 μm のステンレスフィルターでろ過したのち、孔径1.0 μm のガラス繊維ろ紙でろ過した¹⁾(この透過液を以下1.0 LBNOMとする)。その後、孔径0.45 μm のMF膜(Millipore製、Durapore)で膜処理した(この透過液を以下0.45 LBNOMとする)。本研究では、DOMの影響を観るために0.45 LBNOMを、COMとDOM両方の影響を観るために1.0 LBNOMを利用して低圧逆浸透膜処理実験を行った。

4.2 分析方法

NOMは多種多様の物質が溶け込んでいるため、全有機体炭素(Total Organic Carbon: TOC)計(SHIMADZU製、TOC-V_{CPH})と吸光分光光度計(SHIMADZU製、UV-2500PC)を用いてNOMの定性、定量評価を行った。

低圧逆浸透膜処理を行った試料溶液は大気中の二酸化炭素と平衡状態にあり無機体炭素(Inorganic Carbon: IC)を多く含むため、TOCの測定にはこのICを除外する必要がある。このため本研究では試料に酸(2 M HCl、200 μL)を加えて酸性(pH 3以下)にしたあと、パージガス(O₂)を通気することでICを空气中に追い出した試料を680°Cの燃焼管で燃焼させることにより、TOC量を得る方法を採用した。こうして求めたTOCは正確には不揮発性全有機体炭素

(Non-Purgeable Organic Carbon: NPOC)であるが、水環境中に含まれる揮発性有機物(Purgeable Organic Carbon: POC)は非常に少ないので、NPOCはTOCとみなすことができる。また、吸光度の分析には波長領域700~200 nmにおける範囲をスリット幅1.0 nm、スキャン速度は中速で測定した。

4.3 低圧逆浸透膜処理実験の方法

実験の方法は、基本的には第3章で記述した対象化学物質を用いて行った低圧逆浸透膜処理実験の方法と同様である。ここではNOMを用いた実験の際に一部条件を変更した箇所について述べる。

4.3.1 低圧逆浸透膜からの有機物溶出量の確認

本研究では、NOMの濃度としてTOC計を利用することとした。TOC計で濃度を測定するときの問題点として、濃度が有機炭素濃度として表されるため、NOMだけに起因する濃度を評価できないという欠点がある。即ち、本研究で使用した低圧逆浸透膜はポリアミドとポリスルホンからできており、処理水中に有機物が溶出する恐れがある。本研究では、超純水のみを循環させ膜からの有機物溶出量を確認するための実験を行った。なおTOC計での測定には1回の測定で25 mLのサンプルが必要である。原液タンク容量2 Lに対し、サンプリング量合計が10%以下となるように、サンプリング間隔を原液側で実験開始後0、2、6、12および24時間後に、また透過液側で実験開始後0.5、2、6、12および24時間後に採水することにした。

4.3.2 低圧逆浸透膜からの付着物質の回収

基本操作は第3章でおこなったものと同様であるが、LBNOM試料に関しては、無機物に起因する成分も付着している可能性があるため、通常の洗浄操作の後、 1.0×10^{-4} MのHCl溶液1 Lを30分間循環させて洗浄した。そしてその後5 Lの超純水を装置内で一巡させることにより更に洗浄した。

4.4 実験結果および考察

4.4.1 イオン強度

表 4.1 に第 3 章 3.4.1 同様に NaCl 濃度で換算した試料溶液のイオン強度を示す。第 3 章の各対象化学物質の試料溶液と同様に NOM の場合もイオン強度は一定ではない。

表 4.1: NOM 溶液の低圧逆浸透膜処理開始前のイオン強度

NOM名称	NaCl換算イオン強度(mM)
SRNOM	0.72
0.1 LBNOM	1.63
0.45 LBNOM	1.27

4.4.2 低圧逆浸透膜からの有機物溶出量

まず原液タンクを取り付けて 30 分間圧力をかけずに低圧逆浸透膜処理装置内を循環させた。図 4.1 に示すように、開始 0 時間後には既に試料水の TOC は 0.25 mgC/L となっていた。低圧逆浸透膜による膜処理実験終了時間である 24 時間後には 0.31 mgC/L まで上昇した。実際の処理では溶質と膜との相互作用が生じることで膜からの溶出量が変化すると考えられるが、本研究では、膜からの溶出による影響を補正しない値をデータとして使用することとした。

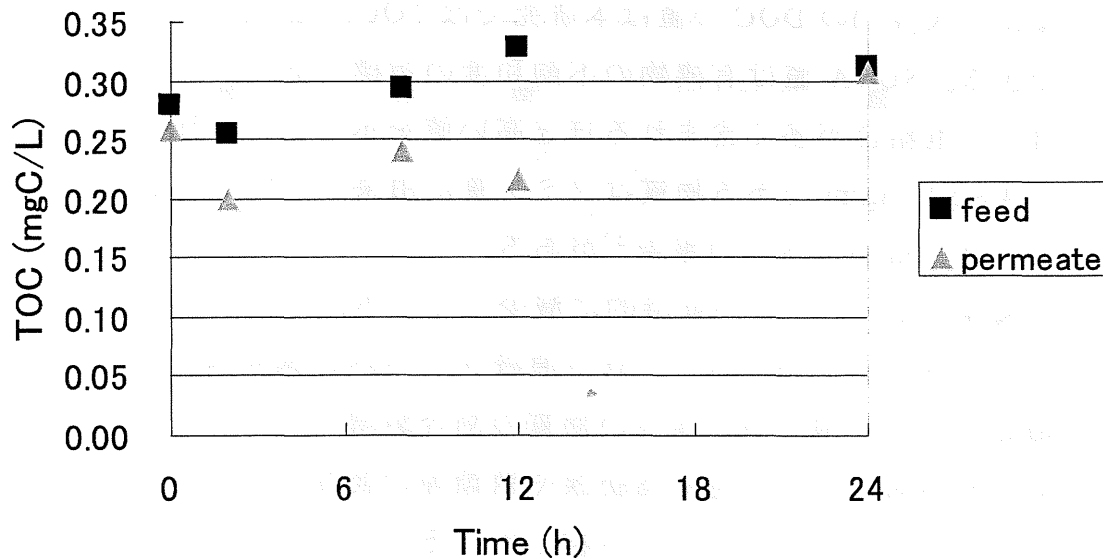


図 4.1: 低圧逆浸透膜からの有機物の溶出による TOC の変化

4.4.3 SRNOM の低圧逆浸透膜処理結果

SRNOM を低圧逆浸透膜処理実験した際の透過流束の経時変化を図 4.2 に示す。図 4.2 より、透過流束はなだらかに減少し、24 時間後に約 11% 透過流束が減少したことがわかり、SRNOM は 20 mgC/L の濃度でファウリングを起こす可能性があるといえる。

次に第 3 章で記述した式(3.3)より膜上および膜内部における残存量の推定値を求めた。その結果、原液に存在した溶質の約 8% が膜上および膜内部に残存していることがわかった。

原液中および透過液中の TOC の経時変化を図 4.3 に示す。図 4.3 より、TOC 濃度は徐々に減少している傾向にあるが SRNOM においては resorcinol に観られたような原液側での大きな濃度変化は起こらなかった。

SRNOM の紫外吸収スペクトルを測定し SUVA(Specific Ultraviolet Absorbance)を求めた結果と TOC との対応を図 4.4 に示す。なお、SUVA 値とは単位 DOC 量あたりの波長 254 nm における吸光度として式(4.1)のように定義される。

$$\text{SUVA(L/mgC/m)} = \frac{\text{UV}_{254}(\text{l/cm}) \square 100}{\text{DOC(mgC/L)}} \quad (4.1)$$

なお、式(4.1)の DOC の値は本研究では TOC のそれに等しいとみなすことができる。SUVA 値は有機物の不飽和度の指標であり、有機物構造中に芳香族環や二重結合が多く含まれるほど高い値を示すと言われる。なお、SUVA 値が 4~5 L/mg/m である物質はフミン質に由来し、3 L/mg/m 以下のものは非フミン質に由来するとの報告²⁾がある。

図 4.4 より、TOC が経時的に減少しているにもかかわらず SUVA 値は漸増していることがわかる。これは原液タンク内の試料溶液中の芳香族環をもつ物質および不飽和脂肪族性の物質の割合が増えたことによるものと考えられ、SUVA が対応しない飽和脂肪族や糖類等の物質のほうが膜上および膜内部により残存しやすい可能性を示唆している。

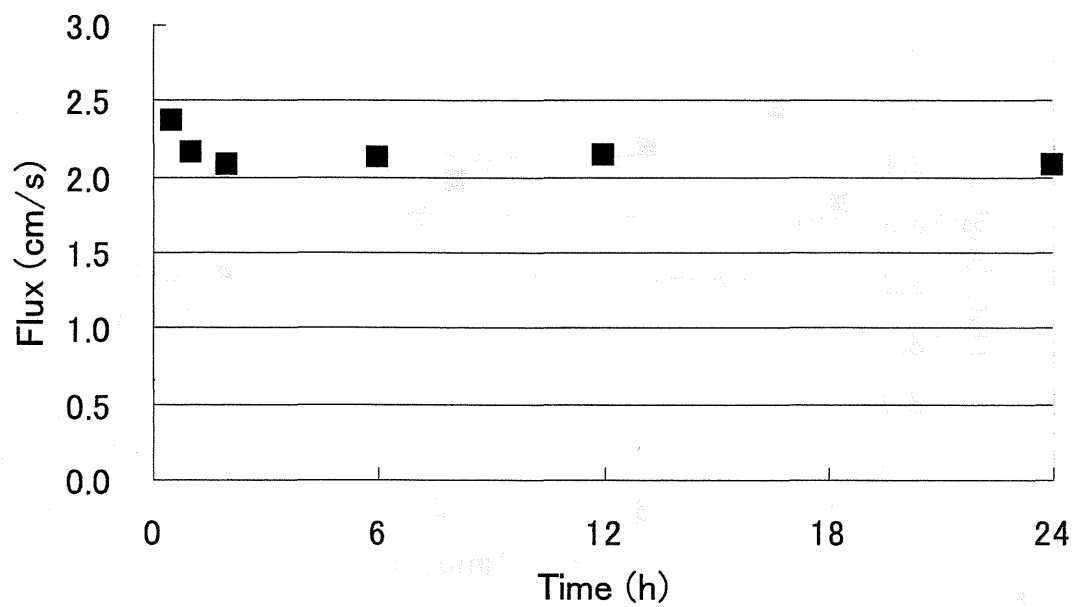


図 4.2: SRNOM を低圧逆浸透膜処理した際の透過流束の経時変化

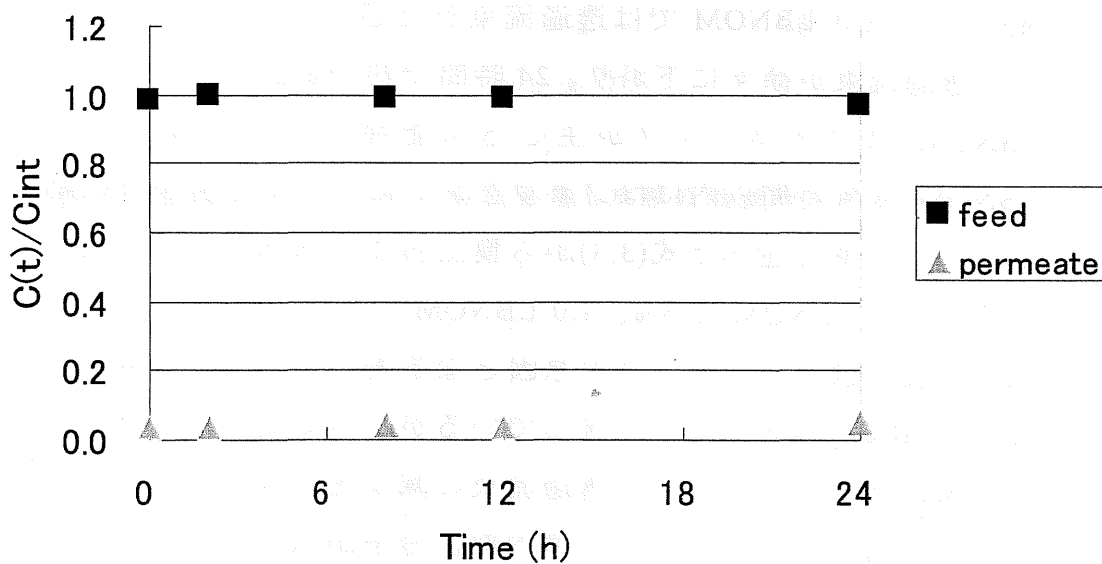


図 4.3: SRNOM を低圧逆浸透膜処理した際の原液および透過液中の TOC の経時変化

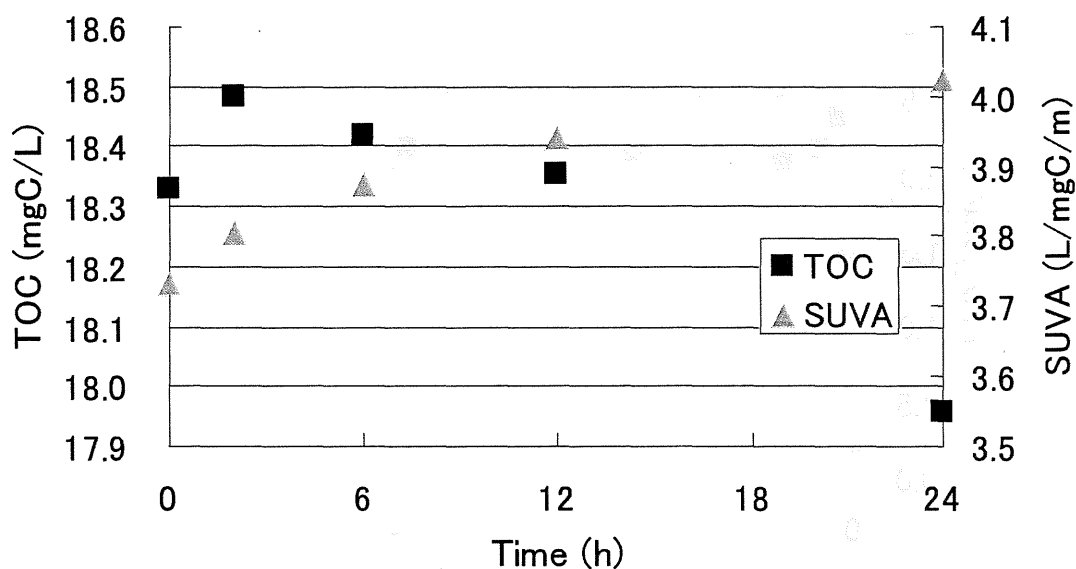


図 4.4: SRNOM を低圧逆浸透膜処理した際の原液中 TOC と SUVA の経時変化

4.4.4 LBNOM の低圧逆浸透膜処理結果

まず 0.45 LBNOM と 1.0 LBNOM の透過流束の時間変化を図 4.5 に示す。図 4.5 より、1.0 LBNOM では透過流束が上がっているのに対し、0.45 LBNOM では透過流束が徐々に下がり、24 時間で約 7% 低下した。この結果から、0.45 LBNOM はファウリングが生じる可能性があると考えられる。一方 1.0 LBNOM は 24 時間以内にはファウリングにつながる現象は確認できなかった。また、第 3 章で述べた式(3.3)から膜上および内部における残存量を求めたところ、0.45 LBNOM で 5%、1.0 LBNOM で 1% であった。1.0 LBNOM は近年低圧逆浸透膜ファウリングの原因となる場合があると報告されている³⁾COM (Colloidal Organic Matter) を含んでいるが、本研究ではファウリングにつながる現象は起こらなかった。透過流束の減少を引き起こすファウリングは、膜孔を膜表面でふさぐよりも、膜内部に分子が入り込むことによって生じると考えられる。1.0 LBNOM を膜処理した際には、分子の大きさにより膜孔径を通過できない分子が膜表面の孔を塞ぐ割合が増えるため、微細な分子が膜内に入れる隙間が減る。しかし、クロスフロー流により孔を塞いだ大きめの分子は保持液の流れに沿って保持液側に戻されるため膜内部に入り込む分子が

0.45 LBNOM を処理したときよりも減少しファウリングが起こりにくくなったと考えられる。そのため 24 時間よりも長く低圧逆浸透膜による膜処理実験を実施すると 1.0 LBNOM においても膜内部の目詰まりがいずれ深刻化し、透過流束の低下が起こる可能性は否めない。図 4.6 に 0.45 LBNOM を低圧逆浸透膜による膜処理実験した際の TOC と SUVA の経時変化を示す。0.45 LBNOM においても SRNOM でみられたような現象が起こった。

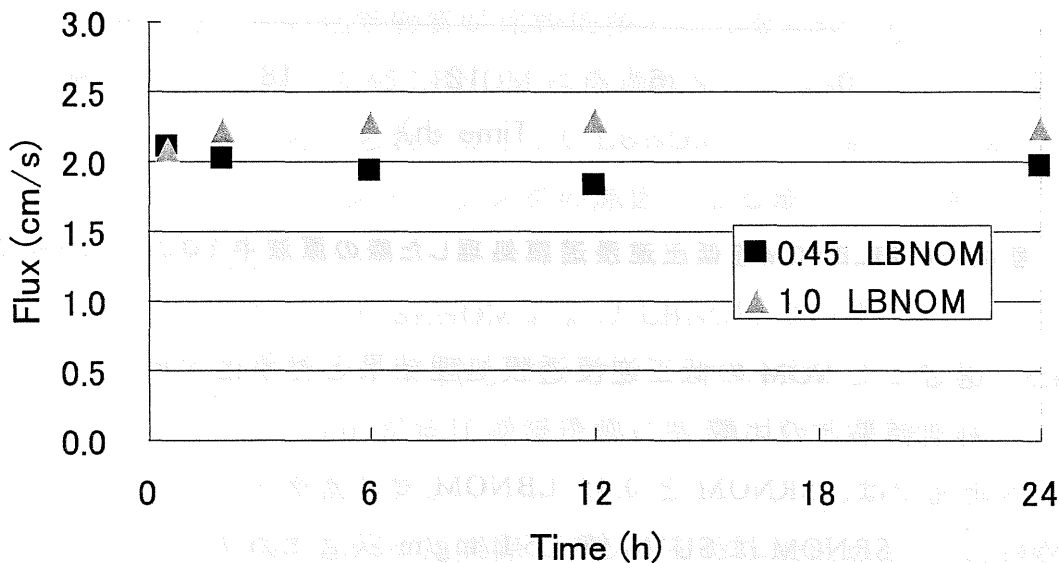


図 4.5: LBNOM を低圧逆浸透膜処理した際の透過流束の経時変化

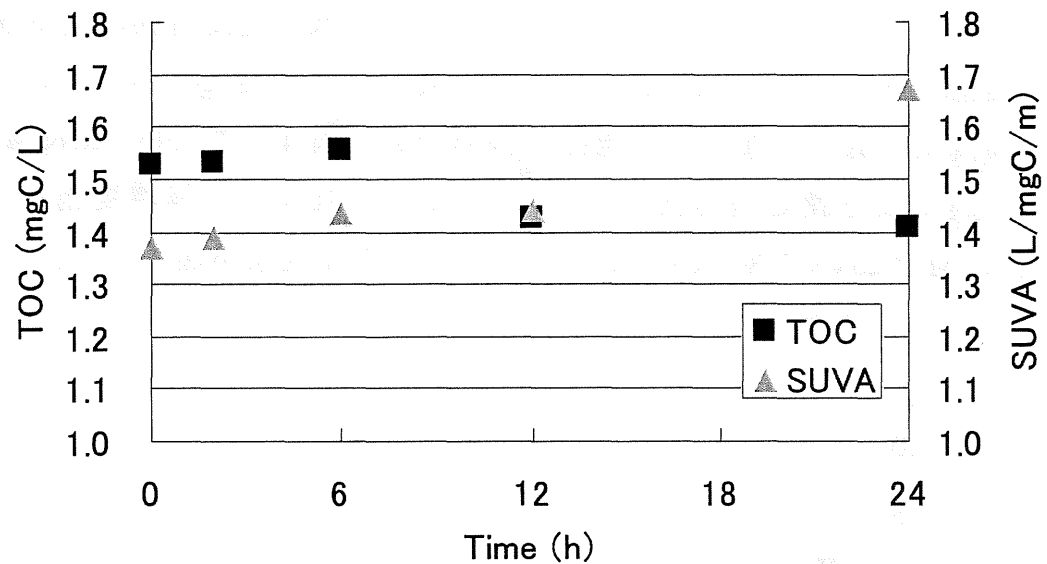


図 4.6: 0.45LBNOM を低圧逆浸透膜処理した際の原液中 TOC と SUVA の経時変化

4.5 選定した NOM の低圧逆浸透膜処理結果と対象化学物質の低圧逆浸透膜処理結果との比較

本研究では、SRNOM と 0.45 LBNOM でファウリングにつながる現象が認められた。SRNOM は SUVA 値 3.5 L/mg/m 以上でありフミン質由来の成分が比較的多いと考えられる。一方、LBNOM では SUVA 値が 1.5 L/mg/m 前後であり、これは琵琶湖の水には非フミン質由来の成分が比較的多く含まれることを示している。SRNOM、0.45LBNOM の両 NOM でファウリング類似現象が観られたことと、いずれの NOM の場合も SUVA 値の漸増現象が認められたことから、フミン質以外の成分にもファウリング原因物質となりうる成分が存在する可能性が示唆される。これは resorcinol が低圧逆浸透膜に吸着しやすいといった上記の結果に対応する。また、Suwannee River で見られるような”Blackwater”中には縮合タンニンに由来するフェノールを多く含む DOM を含むと言われる⁴⁾。Resorcinol は縮合タンニンに由来物質であることから resorcinol が低圧逆浸透膜ファウリングに何らかの影響を起こす可能性は捨てきれないと考えられる。

4.6 まとめ

種々雑多の有機物が混在する NOM の低圧逆浸透膜による膜処理実験実験の結果とその考察より得られた知見について以下にまとめる。

- ・ SRNOM(20 mgC/L)は 24 時間以内に透過流束が 11%低下した。このことより SRNOM は膜のファウリングにつながる現象を引き起こす可能性があることがわかった。
- ・ SRNOM の原液タンク内の TOC 濃度は経時的に減少したにもかかわらず、SUVA の値は大きくなった。これは、膜に付着した成分として芳香族環や二重結合を持たない化学物質が比較的多いことを示唆する結果であった。
- ・ LBNOM については、0.45 LBNOM は透過流束が 7%低下し、ファウリングにつながるものと考えられたが、1.0 LBNOM では透過流束が逆に上昇したことから、COM をファウリングの原因となる成分として特定することはできなかった。
- ・ SUVA 値の経時変化より SRNOM および LBNOM のいずれについてもフミン質だけではなく非フミン質もファウリングの原因となりうると考えられた。これは resorcinol が低圧逆浸透膜に吸着しやすいといった上記の結果に対応するものであった。
- ・ SRNOM や LBNOM といった実際の NOM を低圧逆浸透膜による膜処理実験した際に、ファウリングにつながる現象が生じたことから、ファウリングは単物質で起こるといふより複数の化学物質や成分が共存した状態で起こりやすくなる可能性があることが示唆された。

第5章 結論と今後の課題

本研究では、低圧逆浸透膜による膜分離実験におけるファウリングの原因となる NOM の構成成分や化学物質を特定するための基礎的検討として、選定した対象化学物質および実際の水環境中の NOM を対象として低圧逆浸透膜による膜分離実験を行った。本研究で得られた結論と今後の課題について以下にまとめる。

5.1 結論

- ・ NOM の構成単位として、リグニンやその他の植物細胞組織からの分解生成物であるといわれる trimesic acid、リグニンを由来とする vanillic acid、縮合タンニン由来とする resorcinol、微生物細胞壁由来とする *L-leucine* と *L-fucose* を選定した。
- ・ 対象化学物質として選定した 5 物質について 24 時間の膜ろ過実験を行った結果、透過流束について変化は認められず、いずれの物質もファウリングにはつながらないと考えられた。
- ・ 対象化学物質 5 物質について、各物質の回収率と阻止率を測定したところ、resorcinol について回収率、阻止率ともに低いといった結果が得られた。これは resorcinol が膜に吸着していることによるものと考えられる結果であり、この物質がファウリング原因物質のひとつとなりうる可能性を示唆するものであった。
- ・ SRNOM に対して低圧逆浸透膜による膜分離実験を行ったところ、透過流束の低下が観られ、ファウリングにつながる現象が生じることがわかった。
- ・ LBNOM については、0.45 LBNOM は透過流束の低下が観られ、ファウリングにつながるものと考えられたが、1.0 LBNOM では透過流束が逆に上昇したことから COM をファウリングの原因成分として特定することはできなかった。
- ・ SUVA 値の経時変化より SRNOM および LBNOM のいずれについてもフミン質だけではなく非フミン質もファウリングの原因となりうると考えられた。これは resorcinol が低圧逆浸透膜に吸着しやすいといった上記の結果に対応するものであった。

- ・ SRNOM、LBNOM といった実際の NOM を低圧逆浸透膜処理した際に、ファウリングにつながる現象が生じたことから、ファウリングは単物質で起こるといふより複数の化学物質や成分が共存した状態で起こりやすくなる可能性があることが示唆された。

5.2 今後の課題

ファウリングは、最初に膜との親和性を示す化学物質が膜表面に吸着し、膜表面に吸着した化学物質と親和性のある物質どうしが結合していくことにより膜の孔径や荷電性が変化することにより、ファウリング現象が促進されたり軽減されたりしうると考えられる。ただし、今回採用した膜処理方法(保持液、透過液両方を原液タンクに戻す全循環モード)では実際の水処理での状況を再現できているとはいいがたい。実際の処理では常に新しい水試料が取り入れられ続けるため平衡に達しないが、この方法では吸着平衡が生じる。またファウリングは長い時間をかけて深刻化していくものであるため、本研究ではファウリングにつながる現象しか観られていないことになる。実際に起こるファウリングを再現でき、かつ NOM ファウリングのメカニズムを解明することができる実験系を理論的、経験的に組み立てることが上にあげた今後の課題を達成するためにまずすべきことである。5.1 で述べた結論を踏まえ、今後の課題について述べる。

- ・ ファウリング現象を観測するに当たって、保持液も透過液も戻さない場合、保持液は戻し透過液は戻さない場合(濃縮)、保持液も透過液も戻す場合(全循環)の三つのモードで生じる違いを確実に理解する必要がある。
- ・ Manttari ら¹⁾ は locust bean、karaya gum およびフミン酸の混合影響を見る際、1 種類目の物質を加え透過流量が安定したあとに 2 種類目をスパイクし透過流速が安定した後、次の物質を加えていくという方法で実験を行った(彼らも実験を全循環式で行っている)。スパイクする順序を入れ替えることにより不可逆的ファウリングを回避できる組み合わせがあることも示している。この方法を応用することで循環モードのまま長期的ファウリングに類似する現象を再現できる可能性があると考えられる。より多くの文献

- 考察を行い、色々な方法もうまく取り入れ実験系を完成させる必要がある。
- ・ 使用する膜により、阻止、透過および吸着に差が出てくることが予想される。したがって、被験膜を数種増やす必要がある。
 - ・ ファウリング原因物質の一つである可能性が示唆された resorcinol に関して、24 時間以上の逆浸透膜処理した場合に、透過流束に変化がみられるか等の検討する必要がある。
 - ・ 膜に吸着する物質が実際にファウリングの原因となりうるかについてさらなる検討が必要である。
 - ・ 本研究においては対象化学物質として選定しなかった COM ファウリングの原因となる単糖、アミノ酸に関してもさらなる検討が必要である。また、より特徴的な糖アルコール、環状アルコール、ウロン酸、アミノ酸、分岐糖などへ対象物質の選定を広げる必要がある。
 - ・ 膜に吸着しやすい成分と他の NOM 構成単位と考えられる物質を共存させることにより、ファウリングを軽減する物質、促進する物質の組み合わせに関するデータの蓄積が必要である。

参考文献

第 1 章

- 1) 財団法人 水道技術研究センター, 大規模ろ過施設導入技術資料, 2005.
- 2) B. Van der Bruggen, J. Schaep, D Wilms, and C. Vandecasteele: Influence of molecular size, polarity and charge on the retention of organic molecules by nanofiltration, *Journal of Membrane Science*, **156**, 29-41, 1999.
- 3) Y. Kiso, Y. Sugura, T. Kitao, and K. Nishimura: Effect of hydrophobic and molecular size on rejection of aromatic pesticides with nanofiltration membranes, *Journal of Membrane Science*, **192**, 1-10, 2001.
- 4) J. A. Leenheer, T. I. Noyes, C. Roatad, and M. L. Davisson: Characterization and origin of polar dissolve organic matter from Great Salt Lake, *Biogeochemistry*, **69**, 125-141, 2004.
- 5) 今井章雄、福島武彦、松重一夫、井上隆信、石橋敏昌: 琵琶湖湖水及び流入河川水中の溶存有機物質の分画, *陸水雑*, **59**, 53-68, 1998.
- 6) J. A. Leenheer: Comprehensive assessment of precursors, diagenesis, and reactivity to water treatment of dissolved and colloidal organic matter, *Water Science and Technology*, **4(4)**, 2004.

第 2 章

- 1) 池嶋規人: 低圧逆浸透法によるビスフェノール A と 17- β エストラジオールの分離特性, *京都大学工学部地球工学科特別研究*, 2001.
- 2) Syracuse Research Corporation, The Physical Properties Database, <http://www.syrres.com/esc/physprop.htm>.
- 3) J. A. Leenheer: Comprehensive assessment of precursors, diagenesis, and reactivity to water treatment of dissolved and colloidal organic matter, *Water Science and Technology*, **4(4)**, 2004.
- 4) E. M. Thurman: *Organic Geochemistry of natural waters*, DR W. JUNK PUBLISHERS, 1985.
- 5) Kirk-Othmer: *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd ed., Wiley, New York, **23**, 704-717, 1983.

6) 滋賀県琵琶湖・環境科学研究センター,
http://www.lbri.go.jp/outline/lake_biwa.htm/.

7) International Humic Substances Society Official WWW page,
<http://www.ihss.gatech.edu/>.

第 3 章

1) K. Kimura, G. Amy, J. Drewes, and Y. Watanabe: Adsorptions of hydrophobic compounds onto NF/RO membranes: an artifact leading to overestimation of rejection, *Journal of Membrane Science*, **221**, 89-10, 2001.

2) H. Ozaki and H. Li: Rejection of compounds by ultra-low pressure reverse osmosis membrane, *Water Research*, **36**, 123-130, 2002.

3) D. Violleau, H. Essis-Tome, H. Habarou, J.P. Croué, and M. Pontié: Fouling studies of a polyamide nanofiltration membrane by selected natural organic matter: an analytical approach, *Desalination*, **173**, 223-238, 2005.

4) B. Van der Bruggen, J. Schaep, D Wilms, and C. Vandecasteele: Influence of molecular size, polarity and charge on the retention of organic molecules by nanofiltration, *Journal of Membrane Science*, **156**, 29-41, 1999.

5) Y. Kiso, Y. Sugura, T. Kitao, and K. Nishimura: Effect of hydrophobic and molecular size on rejection of aromatic pesticides with nanofiltration membranes, *Journal of Membrane Science*, **192**, 1-10, 2001.

6) K. Kimura, S. Toshima, G. Amy, and Y. Watanabe: Rejection of neutral endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical active compounds (PhACs) by RO membrane, *Journal of Membrane Science*, **245**, 71-78, 2004.

7) 池嶋規人：低圧逆浸透法による内分泌攪乱物質の分離特性と影響因子について，京都大学大学院工学研究科環境工学専攻修士論文，2003.

第 4 章

- 1) 日下部武敏：化学的および分光学的手法による琵琶湖溶存有機物質 (DOM) の特性解析，京都大学大学院工学研究科環境地球工学専攻修士論文，2001
- 2) Y. Zhao, J. Taylor, and S. Hong: Combined influence of membrane surface properties and feed water qualities on RO/NF mass transfer, a pilot study, *Water Research*, **39**, 1233-1244, 2005.
- 3) S. Lee, J. Cho, and M. Elimelech: Combined Influence of natural organic (NOM) and colloidal particles on nanofiltration membranefouling, *Journal of Membrane Science*, **262**, 27-41, 2005.
- 4) J. A. Leenheer, T. I. Noyes, C. Roatad, and M. L. Davisson: Characterization and origin of polar dissolve organic matter from Great Salt Lake, *Biogeochemistry*, **69**, 125-141, 2004.

第 5 章

- 1) Mika Manttari, Liisa Puro, Jutta Nuortila-Jokinen, Marianne Nystrom: Fouling effects of polysaccharides and humic acid in nanofiltration, *Journal of Membrane Science*, **165**, 1-17, 2000.