

学位論文要旨	
氏名	イノセント ロッサン ムジェマ
題目	近赤外線分光と多変量解析による農業排水中の水質分析法の開発 (Development of NIR and Multivariate Methods to Determine Nutrients in Agricultural Waste)
<p>水質汚濁防止のために、水中への有機物による汚染のモニタリングは大変重要である。従来の化学分析等による水質分析は長時間を要し、かつ強力な化学物質を使用せねばならない。この研究の目的は、近赤外分光(NIR)と多変量解析を用いた有機性排水の水質分析を迅速かつ環境に優しく行う方法の開発を目的としている。本研究成果の要約は以下の通りである。</p> <p>1. 廃水処理及びメタン発酵処理プラントで重要な水質基準の一つとなる COD の測定は長時間を要し、かつ熟練を要する測定である。この測定に変わる方法として NIR と多変量解析を組み合わせた方法での迅速測定を試みた。まず、蒸留水に蔗糖を溶かした水溶液を使い既存の方法での COD<sub>Cr</sub> 測定と NIR によるスペクトル測定を行った。両者の関係を多変量解析することにより相関性を検討した。蔗糖溶液の COD<sub>Cr</sub> は MLR 吸光度モデルの NIR による測定結果と高い重相関係数(R)=0.9233 を示した。PLSR 二次微分モデルで 0.9618、PCR 一次微分モデルで 0.8686 を示した。次に、牛血清アルブミンの水溶液を使用し同様の実験を行った。その結果、MLR 吸光度モデルで R=0.9939、PLSR 吸光度モデルで 0.9682、PCR 一次微分で 0.9682 と極めて高い相関性を示した。</p> <p>2. 実際の有機排水は単純ではなく、有機物を複合的に含むものが一般的である。そこで、澱粉系と蛋白系の複合溶液の単純モデルとして蔗糖と BSA を混合し、COD<sub>Cr</sub> 法及び NIR による測定を行った。混合割合を変化させ測定した結果、MLR 吸光度モデルで R=0.7992、PLSR 一次微分モデルで 0.8798、PCR 吸光度モデルで 0.6192 となり、単体有機排水モデルに比べて R は低下したが、依然相関性のあることが明らかになった。</p> <p>3. 豚尿の実際の排水を使い COD<sub>Cr</sub> 法及び NIR による測定を行った。簡易測定を行うためサンプルホルダーの代わりに市販ビーカを用いて校正曲線を作成し、多変量解析を行った結果、PLSR 吸光度モデルで R=0.9671、PCR モデルで 0.937 と非常に高い値を示し、実際の排水においても NIR は有効であることが示された。</p> <p>4. 実際の豚尿には豚糞も混ざり、かなり高濃度の有機性排水となっている。この実験でも NIR 測定に市販ビーカを使用した。アンモニア濃度は PLSR 一次微分モデルで R=0.9666、全窒素含量は PLSR 反射モデルで 0.9661 とアンモニア及び全窒素では良好な結果を得た。しかし含水率の予測では PLSR 反射モデルで 0.9818~0.8492 とバラツキがあり、その精度に問題を残した。</p> <p>これらの結果から NIR と多変量解析を組み合わせることにより、有機性排水の水質迅速評価は可能であることが示された。この方法による水質分析は測定速度・測定精度の両面から見て十分利用性高い技術であることが実証された。</p>	

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名	Innocent Rossan Mjema
題 目	Development of NIR and Multivariate Methods to Determine Nutrients in Agricultural Waste (近赤外線分光と多変量解析による農業排水中の水質分析法の開発)

The methods for determining wastewater parameters take a long time (e.g., BOD takes 5 days, COD takes 2.5 hours and T-N takes more than 1 hour). Also these methods use strong reagents that in turn requires special disposal. So a faster and more environmental friendly analysis method is needed. The results of this thesis were as follows.

1. The first step was using sucrose as the only solute in clear distilled water, determine its COD using the standard methods and henceforth take spectra and correlate the spectra data to COD using multiple liner regressions (MLR), partial least squares regression (PLSR) and principal components regression (PCR). Sucrose was used to represent carbohydrates in wastewaters. The results are that MLR-Absorbance model had multiple correlation coefficient (R) of 0.9233. The PLSR results were  $R=0.9618$  for PLSR-Second derivative and  $R=0.8686$  for PCR-first derivative. The second step was using bovine serum albumin as the one solute in a solution to represent proteins in wastewater. The results for this trial gave  $R=0.9939$  for MLR-Absorbance,  $R=0.9923$  for PLSR-Absorbance and  $R=0.9682$  for PCR-First derivative.
2. To reflect real wastewater it was necessary to increase the complexity of the solutions by mixing BSA and sucrose and making a an example of wastewater that contains proteins and carbohydrates. After the various mixture samples were made, spectra was taken and calibrations made. The results of the developed calibrations are as follows. MLR-Absorbance had  $R=0.7992$ , PLSR-First derivative had  $R=0.8798$  and PCR-Absorbance had  $R=0.6192$
3. To test the various methods that came from 1 and 2 above, real wastewater was used in an experiment where it was necessary to use non standard sample holders. The use of beakers as sample holder did not negatively affect the developed calibrations for determination of COD. The results are as follows; PLSR-Absorbance had  $R=0.9671$  and PCR-0.937.
4. Other nutrients beside COD were also studied. This experiment too used beaker as a sample holder to simplify handling. It was determined that using a beaker to handle high solids content pig waste improved the speed with which spectra can be taken, however it had negative effect on the determination of moisture content. The best results for each nutrient are as follows; For  $\text{NH}_3$  the best model by using PLSR was PLSR-First derivative with  $R=0.9666$ . For T-N the best model was PLSR-Reflectance with  $R=0.9661$ . The best model to predict MC was PLSR-Reflectance model with  $R=0.9818$ . Further test on the MC model using independent validation samples revealed an R-value of 0.8492.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	イノセント・ロッサン・ムジェマ Innocent Rossan Mjema
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 守 田 和 夫
	副査 鹿児島大学 教授 岩 崎 浩 一
	副査 宮崎 大学 教授 御手洗 正 文
	副査 琉球 大学 教授 上 野 正 実
	副査 佐賀 大学 准教授 田 中 宗 浩
審査協力者	九州 大学 准教授 田 中 史 彦
題 目	Development of NIR and Multivariate methods to determine nutrients in agricultural waste (近赤外線分光と多変量解析による農業排水中の水質分析法の開発)
<p>鹿児島県は畜産業が盛んで、家畜糞尿による水質汚染は深刻な問題である。その適正な処理法の開発と同時に排水の水質評価法並びに、環境モニタリングシステムの開発は急務である。環境基準では COD、窒素などの排水中の残留測定は、特に重要で迅速かつ精度の高い手法が求められている。しかし従来の化学分析では長時間を要し、強力な化学物質を使用せねばならない。この研究では、従来の湿式分析に代わる方法として近赤外線分光測定と多変量解析を用いて有機性の排水の水質分析を迅速にかつ環境にやさしく行う手法の開発を行った。</p> <p>①排水処理での水質基準の一つとなる COD<sub>Cr</sub> の測定に近赤外線分光法と多変量解析を組み合わせた方法での迅速測定を試みた。デンプン系の有機性排水の疑似溶液として蔗糖水溶液を使い、既存の方法での COD<sub>Cr</sub> 測定と近赤外分線光法によるスペクトル測定を行った。両者の関係を多重線形回帰 (MLR)、部分最小自乗回帰 (PLSR) および主成分回帰 (MLR) の多変量解析を行うことにより、相関性を検討した。その結果、デンプン系単純溶液である蔗糖水溶液の COD<sub>Cr</sub></p>	

は MLR 吸光度モデルの近赤外線分光法による測定結果と高い重相関係数 0.9233 を示した。PLSR では重相関係数 0.9618 (PLSR 二次微分モデル)、PCR では重相関係数 0.8686 (MLR 一次微分モデル) を示した。

②次に、タンパク系の有機性排水の疑似溶液として牛血清アルブミン水溶液を使い、同様の実験を行った。その結果、MLR 吸光度モデルで重相関係数は 0.9939、PLSR 吸光度モデルで 0.9682 と極めて高い相関があることを示した。

③実際の有機性排水の有機物は複合的に含まれている。デンプン系とタンパク系の複合溶液の単純モデルとして蔗糖と BSA を混合し、COD<sub>Cr</sub> 法および近赤外線分光法による測定を行った。混合割合を変化させて測定した結果、MLR 吸光度モデルで重相関係数は 0.7992、PLSR 一次微分モデルで 0.8798 となり、単体有機性排水モデルに比べて重相関係数は低下したが、依然相関は高いことを明らかにした。

④豚尿の実際の排水を使い、COD<sub>Cr</sub> 法および近赤外線分光法による測定を行った。その結果、PLSR 吸光度モデルで重相関係数は 0.9671 と非常に高い値を示し、実際の排水においても近赤外線分光法は有効であることを示した。

⑤実際の豚尿には豚糞も混ざり、かなり高濃度の有機性排水となっている。水質汚濁指標である COD ばかりでなく、アンモニアおよび全窒素でも良好な結果が得られた。アンモニア濃度は PLSR 一次微分モデルで重相関係数 0.9666、全窒素含量は PLSR 反射モデルで 0.9661 であった。

以上のように、本研究においては近赤外線分光法と多変量解析を組み合わせることにより、排水中の COD、アンモニア濃度、全窒素の残留量の予測が可能となり、その実用性が明らかになった。また、近赤外線分光法は測定速度および精度の両面から見て十分有機性排水の水質の迅速評価を可能にするものである。

本研究の結果は新しい排水中の水質分析法の開発に関する重要な基礎的知見を提供するとともに、近赤外線分光法と多変量解析を組み合わせた水質分析は環境モニタリング手法の一つとして十分利用性の高い技術であることを実証していることから、審査員一同、本論文が博士（農学）の学位論文として十分価値があるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	イノセント・ロッサン・ムジェマ Innocent Rossan Mjema
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 守田和夫
	副査 鹿児島大学 教授 岩崎浩一
	副査 宮崎大学 教授 御手洗正文
	副査 琉球大学 教授 上野正実
	副査 佐賀大学 准教授 田中宗浩
審査協力者	九州大学 准教授 田中史彦
実施年月日	平成20年1月26日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <span style="float: right;">( <input checked="" type="radio"/> ) 口答 <input type="radio"/> 筆答</span>	
<p>主査及び副査は、平成20年1月26日の公開審査会において、学位申請者に対して学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について諮問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることが出来た。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は学位申請者が大学院博士課程修了者としての学力ならびに見識を有するものと認め、博士(農学)の学位を与えるに十分な資格を有するものと判定した。</p>	

学位申請者 氏名	イノセント・ロッサン・ムジェマ <b>Innocent Rossan Mjema</b>
<p>【質問1】キャリブレーションを行う際の比較対象は化学分析結果である。キャリブレーション曲線精度の検証は化学分析と比較して行うべきであるが、化学分析結果の精度はどうか。</p> <p>【回答1】同一サンプルから3～5回測定し、平均値を化学分析値としている。その標準偏差から見て化学分析法の分析精度は5%以下の誤差であった。</p> <p>【質問2】キャリブレーション結果の評価について図示の仕方が不明瞭であるとの指摘があった。すなわち、近赤外線分析で求めた検量線による予測値と検証用データの比較結果の比較においては、グラフ上に45度の直線を引き、このズレについて検討すべきではないのか。</p> <p>【回答2】ここでは相関係数<math>r</math>とSEP（予測標準誤差）で評価をおこなっているため結果については問題ないと思うが、作図に関しては検討する。また併せてSD（標準偏差）で評価することについても検討する。</p> <p>【質問3】キャリブレーション結果は誤差を含むが、この誤差の改善について教えてほしい。</p> <p>【回答3】近赤外線波長域を分割し、それぞれの領域で検量線を作成することが精度向上につながると思うので、今後の課題として検討したい。</p> <p>【質問4】検量線の作成には15波長のデータが使用されている。これは多すぎるのではないか。サンプルデータセットへの過度の適合が起きる可能性があるため検討の必要性がある。</p> <p>【回答4】豚糞尿では構成成分が多様であるため、多くの波長を用いる必要があった。オーバーフィッティングが生じていないか否かについてはSESAMIソフトを使って検討を加える。</p> <p>【質問5】豚糞尿では構成成分の主体は何か。</p> <p>【回答5】飼料により異なるが、水分の他は繊維質が主である。</p> <p>【質問6】実際の家畜糞尿処理で本技術を適用する際、現在の検量線がそのまま使えるか。</p> <p>【回答6】家畜施設の運用というのは周期性もあるので、少なくとも1年以上の長期間のデータ収集が必要である。</p> <p>【質問7】近赤外線分析による家畜糞尿の成分監視システムを開発した場合、検量線の校正は必要か。</p> <p>【回答7】検量線の校正は必要である。その際、基準物質を作り、これに基づき校正するこ</p>	

とが必要である。

【質問 8】ある測定装置で作成した検量線を他の装置にインストールして使用することができるのか。

【回答 8】装置の性能はそれぞれ異なるので現状ではできないが、手法は応用できる。また、専用の装置を開発すれば、検量線の共有は可能である。

【質問 9】標準ホルダ以外のサンプルホルダを使用した際の誤差はあったのか。

【回答 9】サンプルホルダの測定装置への設置方法、近赤外線分光測定手法等について詳細に検討済みであり、誤差は無視できる。

【質問 10】基準物質の測定、豚糞尿の測定で異なる測定方法、すなわち、透過式と反射式を採用したのは何故か。

【回答 10】基準物質の場合は濃度が小さく、浮遊物もないため透過強度を測定できるが、豚糞尿では濃厚な懸濁液であるため透過が少ない。このため反射式を用いた。

【質問 11】豚糞尿では浮遊物の影響があり、沈殿による影響など時間で測定値に変化があるのではないか。

【回答 11】測定直前に電磁式攪拌機で攪拌し、各サンプルは同じ条件で測定しているので影響は最小限であり、結果への影響は少ない。

【質問 12】豚糞尿の水分はどのように測定したのか

【回答 12】試料 30-40g を定温乾燥器 105℃で 24 時間乾燥法により測定した。

【質問 13】一回の NIR 測定はどのように行っているか。また、どれくらい時間がかかるか。

【回答 13】一回の NIR 測定は 25 スキャンングで、測定時間は全体で 30 秒である。

【質問 14】公開審査に使用した講演資料の内容を論文中にも反映させることが望ましい。

【回答 14】使用した図表は論文では文言で表現しているが、論文中にも反映させる。

【質問 15】NIR 測定法を畜産分野の生産部門でも利用できるのではないか。

【回答 15】今回は家畜排泄物に焦点を絞り研究を行ったが、牛乳の中の脂肪成分分析など畜産食品全般については多くの研究がある。例えば神戸大学のツェンコバ先生などが精力的に研究を進めている。食品全般では USDA など穀物の脂肪、水分分析など多くの研究実例があり、NIR 測定法はあらゆる分野に有用である。

【質問 16】NIR 測定法をアフリカで使用する場合、どのような分野に応用が考えられるか。

【回答 16】エネルギー分野への応用が考えられる。すなわち、バイオ燃料の BDF の品質検査などバイオマス関連への適用が有力である。また、南アフリカでは穀物の品質評価に NIR が使われている。