

令和 6 年 4 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01463

研究課題名(和文) 塩素処理によるフェノールの「全分解」

研究課題名(英文) Total decomposition of phenol by chlorination

研究代表者

越後 信哉 (Echigo, Shinya)

京都大学・地球環境学堂・教授

研究者番号：70359777

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,500,000円

研究成果の概要(和文)：消毒副生成物の重要な前駆体の構成要素と考えられるフェノールの塩素処理による分解経路の理解を最終目的に、反応の各段階で塩素処理・分画を繰り返して、反応に關与する中間体だけを分離する「反応-分画-反応」法を確立・最適化し、それをフェノールと塩素の反応に適用し、並行して起こる反応を物理的に分離し、精密質量分析等により、重要な中間体の構造解析を可能とする手法を開発した。また実際に精密質量分析により、「反応-分画-反応」法はトリクロ酢酸の生成に關係のないピークを排除でき、重要な中間体を絞り込むのに有用であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消毒副生成物は、水道水中に含まれる代表的な微量汚染物質であるが、その生成機構は多段階かつ分岐するもので、複雑である。本研究は、この複雑な反応を単純化するために、反応中間体を含む混合液を分画して、その後再度塩素処理することで、重要な反応中間体を絞り込む技術を開発した。この方法は、本研究で取り上げた、フェノールからのトリクロ酢酸等の生成以外にも、普遍的に応用可能であり、副生成物の化学を大きく進展させ、安全な水道水の確保に大きく貢献すると期待される。

研究成果の概要(英文)：To understand the degradation pathway of phenol, which is considered to be an important precursor of disinfection byproducts by chlorination, a "reaction-fractionation-reaction" method in which chlorination and fractionation are repeated at each reaction step to separate only the intermediates involved in the reaction was established and optimized. This method was applied to the reaction of phenol and chlorine, physically separating reactions that occur in parallel, and developed a method that enables structural analysis of important intermediates by high-resolution mass spectrometry and other methods. The "reaction-fractionation-reaction" method can eliminate peaks unrelated to the formation of trichloroacetic acid, and is useful for narrowing down the range of important intermediates.

研究分野：水質化学

キーワード：八口酢酸 分画 塩素処理 溶存有機物 消毒副生成物

### 1. 研究開始当初の背景

1970年代初頭に、水道の塩素処理により溶存有機物 (Dissolved Organic Matters, DOM) と塩素が反応し、トリハロメタンが生成することが明らかにされて以来、夥しい研究がなされてきた。しかしながら、塩素と DOM がどのように反応してトリハロメタン等の副生成物に至るのかその反応経路は未解明のままである。これは反応が多段階かつ分岐するためである。これまでの研究は、分析の容易さから原体構造が概ね維持されている反応初期の中間体と最終生成物に研究が集中しているが、その間をつなぐ反応経路の理解が絶望的に欠如している。これは、複雑な混合物である DOM の場合のみならず、比較的単純な化合物でも同様である。例えば、フェノールの塩素化反応にしても、オルト位とパラ位に求電子置換反応で塩素が付加するが、その後どのようにトリハロメタンやハロ酢酸の生成に至るのか明らかにされていない。つまり、私達はこの単純な有機物の酸化分解反応についてすら反応の「文法」を未だに理解していない。したがって、当然であるがより複雑な DOM については、どの物質・化学構造がどのように毒性をもつ消毒副生成物に変換されるのか判断するための情報が決定的に不足している。今後、消毒副生成物の生成機構の解明には、(1) 複雑な混合物である溶存有機物のより解像度の高い特性解析と、(2) 個別の化学物質の酸化分解反応の完全理解 (これを「全分解」と定義) に基づいた反応パタンの類型化を、統合する必要がある。

このような状況を踏まえ、本研究では上記のうち(2)に着目し、分岐反応を物理的に分離する分画技術と精密質量分析を駆使し、消毒副生成物の重要な前駆体の構成要素と考えられるフェノールの塩素処理による分解経路の理解を最終目的に実験的検討を行うこととした。

### 2. 研究の目的

反応の各段階で塩素処理 分画を繰り返して、反応に関与する中間体だけを分離する「反応-分画-反応」法 (図 1) を確立・最適化し、それをフェノールと塩素の反応に適用し、並行して起こる反応を物理的に分離し、精密質量分析等により、重要な中間体の構造解析を可能とする。具体的にはハロ酢酸の 1 種であるトリクロロ酢酸 (Trichloroacetic acid, TCAA) の重要な前駆体であるフェノールと塩素の多段階分岐反応に着目し、フェノールが TCAA に至る分解過程の解明に向けて、TCAA 前駆体を分離する手法の開発を行い、分画した試料に精密質量分析を適用した。

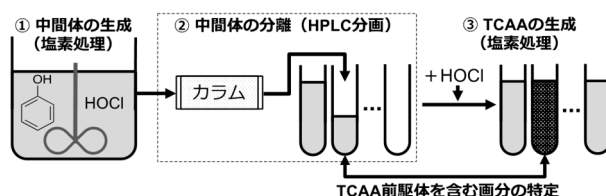


図 - 1 TCAA 前駆体の抽出手法 (反応-分画-反応法の概念)

### 3. 研究の方法

#### 3.1 TCAA 生成能 (FP) 試験

10 mL 褐色ガラス容器に攪拌子とフェノール水溶液 (3-300 mgC/L) を 10 mL 加え、リン酸緩衝液 (5-50 mM) により pH を 7 に調製した。フェノール:塩素濃度が 1:10 となるよう塩素を添加し 20 秒間攪拌した。その後、20 °C の暗所で 24 h 反応させ、塩化アンモニウム水溶液の添加により遊離塩素を除去した。TCAA 濃度は液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) で測定した。

#### 3.2 TCAA 前駆体の分離手法の検討

本研究では図 1 に示す様に、塩素処理と高速液体クロマトグラフィー (High performance liquid chromatography, HPLC) 分画を組み合わせ、TCAA 前駆体を抽出した。各操作について以下の通り検討を行った。

##### (1) HPLC 分画に向けた塩素処理条件の検討

HPLC 分画の際に注入試料は高倍率で希釈されるため、注入試料濃度は高い方が分画後の解析が行いやすい。そこで、高濃度の初期フェノール濃度が塩素処理反応に与える影響を評価した。フェノール濃度が 3 (従来の条件), 100, 300 mgC/L の水溶液を作成し TCAAFP 試験を行った。

また、TCAA 前駆体の生成に適した塩素添加量について検討した。リン酸緩衝液で pH7 に調製したフェノール濃度 3, 100, 300 mgC/L の水溶液に、フェノール:塩素濃度が 1:4, 1:5, 1:6 となるよう塩素を添加し、それぞれの TCAA 生成量を比較した。

##### (2) HPLC 分画の移動相が塩素処理に与える影響評価

HPLC 分画で使用する移動相が、後段の塩素処理に影響を与える可能性が考えられた。そこで、アセトニトリル及びメタノールがフェノールの TCAAFP に与える影響を評価した。試料量に対して 0-50% となるようにメタノール及びアセトニトリルを加え、フェノールを 3 mgC/L に

なるように添加した。その後、TCAAFP 試験と同様の操作を行い、TCAA 生成量を比較し、適切な移動相の選定を行った。

### (3) 2 段階塩素処理による TCAAFP への影響評価

初期フェノール濃度を 300 mgC/L とし、リン酸緩衝液で pH7 に調製したのち、フェノール:塩素濃度が 1:4, 1:5, 1:6 となるよう塩素を添加した。15–24 h 実験室内で静置し、初期フェノール:塩素濃度が 1:10 になるようさらに塩素を添加した。その後、TCAAFP 試験と同様の操作を行った。

### 3.3 TCAA 前駆体の分離

初期フェノール濃度 300 mgC/L の水溶液を塩素注入率 1:4, 1:5, 1:6 (フェノール:塩素濃度) で塩素処理し、反応後 24 h 以内に逆相カラム (ZORBAX SB-Aq, 4.6 × 150 mm; Agilent Technologies) を用いて HPLC 分画した。移動相は超純水とアセトニトリルであり、流量は 0.5 mL/分、注入量は 40 μL とした。得られた画分の一部は直接 TCAA の測定に使用し、残りは再度塩素処理を行い、TCAA 前駆体の含まれる画分を特定した。また、同様の試料と LC 条件で精密質量分析計 (LC-Orbitrap/MS, Thermo Fisher Scientific) によるノンターゲット分析を行った。

## 4. 研究成果

### 4.1 TCAA 前駆体の抽出手法の最適化

図2に初期フェノール濃度3, 100, 300 mgC/Lの水溶液の塩素処理後のTCAA濃度を示す。フェノール:塩素濃度が1:10の条件 (TCAAFP試験) では、初期フェノール濃度によるTCAAFPへの影響は確認されなかった。また、フェノール:塩素濃度が1:4の条件ではTCAAは検出できず、1:6において全ての試料からTCAAが検出されたことから、TCAAはどの初期フェノール濃度であっても塩素添加量が1:4–1:6 (フェノール:塩素濃度) の間で生成され始めることが示された。以上を踏まえ、本研究では初期フェノール濃度を300 mgC/L、塩素添加量を1:4–1:6 (フェノール:塩素濃度) に決定した。なお、<sup>12</sup>C-フェノール及び<sup>13</sup>C-フェノールの混合液を用いた実験からフェノール1分子からTCAAが生成する(すなわちTCAAの生成には複数のフェノール分子は関与せず、フェノールの初期濃度を上げて問題ない) ことも確認している。

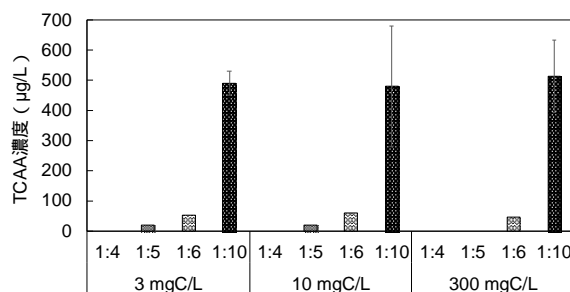


図2 初期フェノール濃度3, 100, 300 mgC/L における TCAA 生成量

図3にアセトニトリル及びメタノールを混和させた試料の塩素処理後のTCAA生成量を示す。溶液中のメタノール濃度が増加するにつれ TCAA 生成量は大きく減少することが分かった。これは、添加された塩素がメタノールと素早く反応し消費されることでフェノールと塩素の反応を阻害したためと考えられた。一方で、アセトニトリルは TCAA 生成量に全く影響を与えないことが示された。したがって、HPLC 分画の移動相にアセトニトリルを使用した。

2 段階塩素処理後の TCAA 生成量について、通常の TCAAFP 試験により得られた TCAAFP と有意な差はなかった。すなわち、HPLC 分画後に再度塩素処理をすることによる TCAAFP への影響はないことが示された。

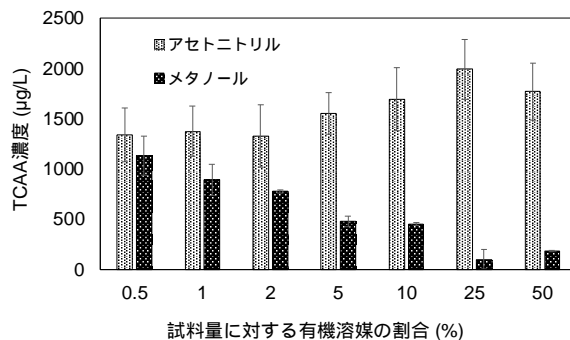


図3 有機溶媒が混和したフェノール溶液の塩素処理結果

#### 4.2 HPLC 分画による TCAA 前駆体の分離

図 4 に HPLC 分画により得られた各画分中の TCAA 濃度及び、各画分を再度塩素処理したのちの TCAAFP を示す。保持時間が小さいほど親水性寄りの物質が多く、保持時間が大きいほど疎水性の物質が多い。塩素処理前の TCAA 濃度は塩素処理後と比べ非常に低い値であった。塩素処理後の画分に関して、塩素添加量 1:4（フェノール:塩素濃度）では保持時間によらず全ての画分で 250  $\mu\text{g/L}$  以上の TCAAFP が確認された。しかし、塩素添加量を 1:5 および 1:6 と高くすればするほど、親水性寄りの保持時間の短い画分の TCAA 濃度が大きくなり、疎水性側の保持時間の長い画分の TCAA 濃度は低下した。すなわちフェノールと塩素の反応が進むほど TCAA の中間体は親水性寄りの物質に変化していくことが示された。

また、精密質量分析計による測定で、塩素添加量 1:6 の試料の保持時間 10–30 分においても複数のピークの存在が確認され、TCAA に関与しない反応生成物を HPLC により排除できていることが確認された。

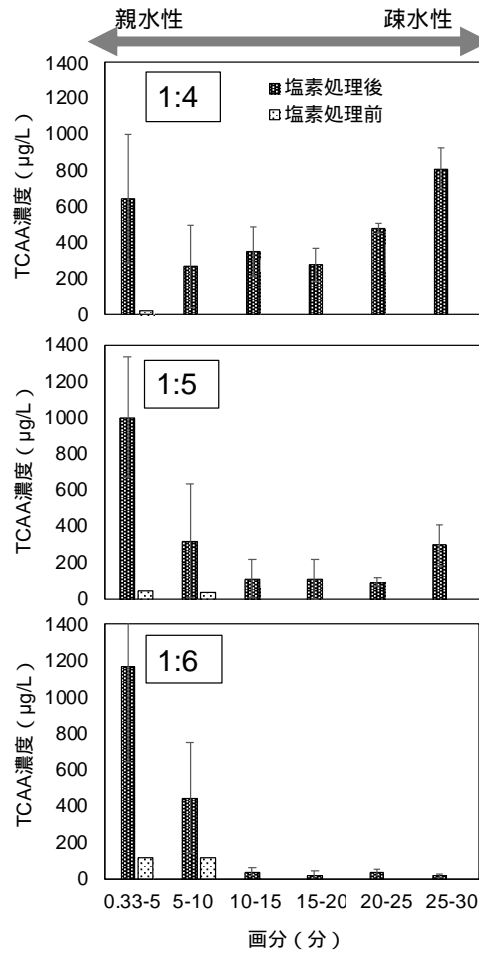


図 4 HPLC 分画後の画分の TCAA 濃度

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 越後信哉, 原澤敏郎, 多田悠人
2. 発表標題 フェノールと塩素の多段分岐反応により生成する トリクロロ酢酸の前駆体の分離
3. 学会等名 第23回環境技術年次大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------