

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25289170

研究課題名(和文) 親水性物質の除去性と微生物リスク評価に基づいた次世代浄水処理プロセスの合理的選択

研究課題名(英文) Rational selection of new generation drinking water treatment process based on the removal of hydrophilic compounds and microbial risk

研究代表者

伊藤 禎彦 (ITO, Sadahiko)

京都大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10184657

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：浄水プロセスの選択において重要となる、超高感度・高選択性の残留塩素分析法の開発、ウイルスの不活化速度論情報の収集、微生物学的リスク評価の上で不確実性が高いとされるオゾン反応槽における流動特性の評価手法に必要な速度論情報の収集を行った。

その結果、遊離塩素を3-クロロ-4-ヒドロキシ安息香酸と反応させる方法で約0.001 mg/L付近の定量下限を達成した。ウイルスの不活化について、オゾンとの高速反応を測定可能なフローチューブシステムを構築した。オゾン反応槽における流動特性の評価手法として、原水中に存在するリドカインの除去率から逆推定する方法を想定し、オゾンとリドカインの反応速度定数を決定した。

研究成果の概要(英文)：This study consists of three parts for the better evaluation of drinking water treatment process: (1) ultra sensitive and selective method for residual chlorine; (2) kinetics of inactivation of viruses; (3) kinetics of in situ tracer compounds for the evaluation of flow pattern in ozone contactors for microbial risk assessment. Our new method with 3-chloro-4-hydroxy benzoic acid achieved a quantitation limit around 0.001 mg/L for free chlorine. Also, a flow tube system for the fast kinetics of ozone and viruses was established. Furthermore, as an in situ tracer in ozone contactor, the reaction rate constant of ozone and lidocaine was determined.

研究分野：水道工学

キーワード：オゾン処理 流動特性 ウイルス 遊離残留塩素 定量的微生物リスク評価 促進酸化

### 1. 研究開始当初の背景

オゾン処理と活性炭処理を組み合わせたいわゆる「高度」浄水プロセスは、トリハロメタン前駆物質の除去など我が国の水道水質に関する主要問題の解決に一定の役割を果たしてきた。しかし、現行の高度浄水プロセスでは、必ずしも効率よく有機物が除去されず、特に親水性化合物の除去率は極めて低い。親水性化合物は、塩素等と反応し消毒副生成物の前駆物質として重要であることが知られている。したがって、我が国の原水水質を考えると、疎水性化合物の除去を主眼にした現在の高度浄水プロセスは合理性を欠くといえる。加えて、残存する親水性化合物は、塩素を消費し、また AOC 成分として水道水の微生物学的安定性にも影響する。このため、カルキ臭等の快適性や処理水の微生物学的安定性の観点からも真に「高度」な浄水処理が行われているとは言い難い。

これまで研究代表者らは、次世代の高度浄水プロセスとしてオゾン/紫外線処理とイオン交換処理の組み合わせを提案し、その有効性を示してきた。この成果は、我が国の原水水質に適した新しいプロセスのコンセプトを実証した点で意義がある。しかし、次世代の高度浄水プロセスを構成しうる要素技術には、これら以外にも様々な促進酸化処理技術やナノろ過等の膜処理技術が想定され、これらのうちから最適の組み合わせを選択することが望ましい。また、この作業過程においては、新しい単位操作を追加するだけでなく、不必要な単位操作は外すという視点も重要（例：活性炭処理の取捨）である。さらに、快適で安全な水を供給するためには、上記の作業で最適化したプロセスによる処理水を、低残留塩素条件下で給水する必要がある。このためには、病原微生物リスクについても各要素技術の処理性を確率分布として理解し、リスク管理を高度化することが重要となる。

以上の状況を踏まえ、これまでの知見と実験的検討の結果を総合し、我が国の原水水質に適した合理的な溶存有機物・塩素消費物質除去プロセスを合理的に選択することを最終目的に、それに必要な分析技術・解析手法の整備を行うこととした。

### 2. 研究の目的

本研究では、各種促進酸化処理、イオン交換処理、ナノろ過、活性炭処理のうち、親水性化合物の効率的除去が可能かつ必要十分な組み合わせを選択する上で重要となる、超高感度・高選択性の残留塩素分析法の開発、ウイルスの不活化速度論情報の収集、微生物学的リスク評価の上で不確実性が高いとされるオゾン反応槽における流動特性の評価手法に必要な速度論情報の収集を行った。

### 3. 研究の方法

(1) 高感度・高選択性の残留塩素分析法の開発

本研究で開発した CHBA 法は水中の遊離塩素を 3-クロロ-4-ヒドロキシ安息香酸(CHBA) と反応させて 3,5-ジクロロ-4-ヒドロキシ安息香酸(DCHBA) に変換し(図1),それを LC-MS/MS で測定(MS, 4000 QTRAP; カラム, Kinetex C18; 溶離液, 0.1%ギ酸/メタノール; 測定モード, ESI-)することで塩素濃度を求めるものである。反応条件として, pH, 反応時間, CHBA 濃度の最適化した。

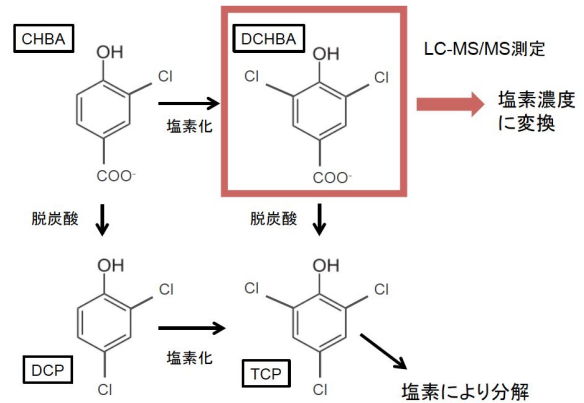


図1 CHBA 法による塩素測定のご概念図

#### 無機クロラミン類の影響

無機クロラミン類 ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ,  $\text{NHCl}_2$ ,  $\text{NCl}_3$ ) 標準試料を用い、遊離塩素測定に与える影響率を算出した(『クロラミン影響率(%)=遊離塩素としての指示値/クロラミン濃度』)。

#### 反応生成物比率と定量下限

副反応の関与が考えられたため、遊離塩素濃度=0.5~1 mg- $\text{Cl}_2$ /L における DCHBA, 2,4-ジクロロフェノール(DCP), 2,4,6-トリクロロフェノール(TCP)を LC-MS/MS および固相抽出-誘導体化-GC/MS 法により同時定量し、DCHBA としての塩素回収率を決定した。次にこの高濃度域における変換率と数値計算の結果から極低濃度域での回収率を推定した。また DCHBA 標準品とこの回収率を用いて LOD (S/N=3), LOQ (S/N=10) を求めた。

#### 残留塩素安定性試験への適用

開発した方法を、オゾン/活性炭処理水等に適用し、残留塩素安定性試験を行った。

(2) オゾン処理によるウイルス不活化に関する検討

凝集沈殿、砂ろ過といった物理的処理による除去効果が低いと予想されるウイルスに着目し、マルチバリアとして期待されるオゾン処理によるウイルス不活化についてその手法を整備するとともに不活化効果に関する検討を行った。ここでは、指標ウイルスの一つである MS2 ファージを対象とした。

まず、ウイルス精製法について整備を行った。続いて、決定したウイルス精製条件を用いて高濃度ウイルス試料を獲得し、オゾン不

活化実験に供した。三方コックを取り付けたシリンジを用いて、シリンジ内にウイルス試料とオゾン溶液を混和させ、一定時間反応させた。オゾン初期濃度は  $0.50 \text{ mg-O}_3/\text{L}$  とした。

### (3) トレーサー物質としてのリドカインとオゾンの反応速度論

酸化反応槽の機能評価を原水中に含まれている微量汚染物質の挙動から逆推定することを意図して、リドカインを対象に、フローチューブ法によりオゾンとの速度定数を決定した。この装置はオゾン溶液と対象物質の溶液をポンプで送液し、連続的に混合したのち一定時間後の対象物質および溶存オゾンの濃度を測定することで、速度論情報を得るものである。反応時間は、流速とチューブの長さを変えることで変化させることができる。温度は室温、pH は 6.5, 7.0, 7.5 とした。

リドカイン溶液は、1 L メスフラスコに、リドカイン保存液（高濃度水溶液）40 mL と *t*-ブチルアルコール 0.95 mL を加え、さらに pH 調整のためにリン酸二水素カリウムとリン酸水素二ナトリウムを調製後のリン酸緩衝液濃度が 0.1 mM となるように加え超純水でメスアップすることで調製した。オゾン溶液は、高純度酸素（純度 99.995% ,JAPAN AIR GASES）を原料としてオゾナイザー（AZH-3S, 浜松ベジタブル）を用いて発生させたオゾンガスを超純水に連続的に供給したものを使用した。

反応に際しては、オゾン溶液とリドカイン溶液をスターラーで攪拌しながら、ダブルプランジャーポンプ（Sep-Pak コンセントレーター Plus, Waters）を用いて等量混合し、テフロンチューブ内で反応させた。ポンプから反応チューブまでは、ポンプ 接続チューブ（テフロン） ミキシングティー（PTFE 接続ジョイント Y 型, サンプラテック） 反応チューブの順で接続した。

反応後のオゾン濃度測定用サンプルおよびリドカイン濃度測定用サンプルは以下の方法で採取した。まずオゾン濃度測定用サンプルは、反応チューブ流出端にインジゴ溶液を 10 mL 含んだシリンジを接続し、混合液を 10 mL 採取しシリンジ内で混合して得られたものをサンプルとした。次にリドカイン濃度測定用サンプルは反応チューブ流出端に 0.2 mM のチオ硫酸ナトリウム水溶液を 1 mL 含んだシリンジを接続し、混合液を 8 mL 採取しシリンジ内でよく混合して得られたものをガラス製の 10 mL 遠沈管に移した後  $10 \mu\text{g}/\text{L}$  のリドカイン- $d_{10}$  塩酸塩溶液を 1 mL 加え合計 10 mL としたものをサンプルとした。なお、オゾンの初期濃度についてはチューブ内でオゾンが減少していないことを確認するために実験に使用した反応チューブのうち最も長いものと最も短いもの二つそれぞれを利用して得られたサンプルのオゾン濃度を測定し、実際にオゾンの減少は見られなかつ

たので測定の結果得られた濃度の平均値をオゾン初期濃度とした。

## 4. 研究成果

### (1) 高感度・高選択性の残留塩素分析法の開発

#### CHBA と塩素の測定条件の検討

CHBA= $14.1 \sim 704.2 \mu\text{M}$ , pH= $7.0 \sim 9.0$  で最適化を行った結果、CHBA= $70.4 \mu\text{M}$ , pH= $8.0$  が最適条件であることがわかった。反応効率に塩素濃度依存性や温度依存性は少なく、反応時間 30 分で反応は完了した。このことから以下の検討では、この条件で実験を進めた。

#### 無機クロラミン類の影響

$\text{NH}_2\text{Cl}$ ,  $\text{NHCl}_2$  の影響率は、それぞれ 0.2, 0.05% であり、十分に無視できることがわかった。一方、 $\text{NCl}_3$  の影響率は 17.5% であったが、前処理として  $\text{N}_2$  ガスパージを行うことで  $\text{NCl}_3$  を選択的に除去できることを確認した。すなわち、CHBA 法は結合塩素の影響を受けずに選択的に遊離残留塩素を測定できることを示した。

#### 反応生成物比率と DCHBA としての塩素回収率および感度

$1 \text{ mg-Cl}_2/\text{L}$  の遊離塩素に対しては 80, 10, 2% がそれぞれ DCHBA, DCP, TCP に変換していた（図 2）。また、低濃度域での反応生成物比率は実験的に求める事が困難であるため、上記のような比較的高濃度条件から速度論条件を得て数値解析により低濃度条件での反応生成物濃度を推定した結果、同様な生成比率が確認された。この結果は主反応の CHBA の塩素化および副反応の CHBA の脱炭酸の速度がいずれも CHBA と塩素濃度の 1 次反応であると考えれば、その反応比率はほぼ速度定数の比率のみによるため、反応メカニズム上も妥当と考えられた。以上のことから、本法の塩素回収率は塩素の濃度によらず 80% が適用できることがわかった。さらに LOD, LOQ を求めた結果、それぞれ  $0.4, 1.1 \mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$  であった。公定法の DPD 法やそれ以外の方法と比べても高感度・高選択性の残留塩素分析法を確立することができた。

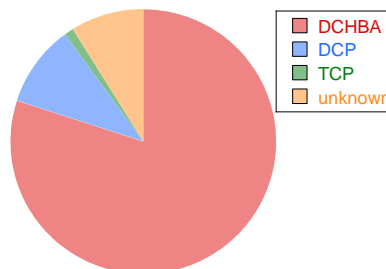


図 2 CHBA と遊離塩素の反応生成物の比率（初期遊離塩素濃度  $1.0 \text{ mg-Cl}_2/\text{L}$ , pH 7）

塩素安定性試験への適用

図3に比較的高濃度(初期濃度 500  $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ )、図4に比較的低濃度(初期濃度 50  $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ )の場合の塩素安定性試験結果を示す。処理の程度に応じて、塩素の低減速度が大きく異なること、また初期濃度によってもその振る舞いが異なることがわかる。

このような低濃度域における解析は、CHBA法によって初めて可能になり、本法は塩素の安定性からみた浄水プロセスの評価に大きく貢献するものと期待される。

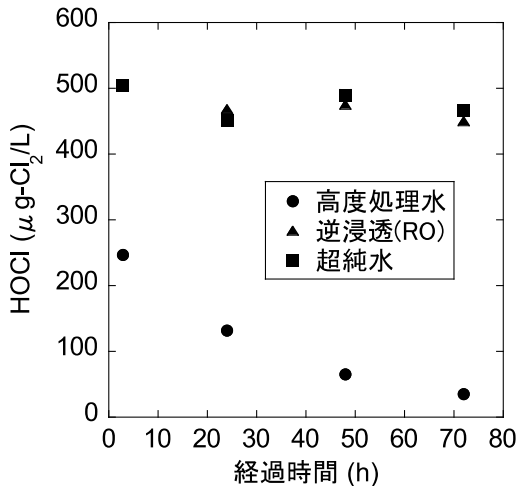


図3 塩素安定性試験結果  
(初期遊離塩素濃度 500  $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ )

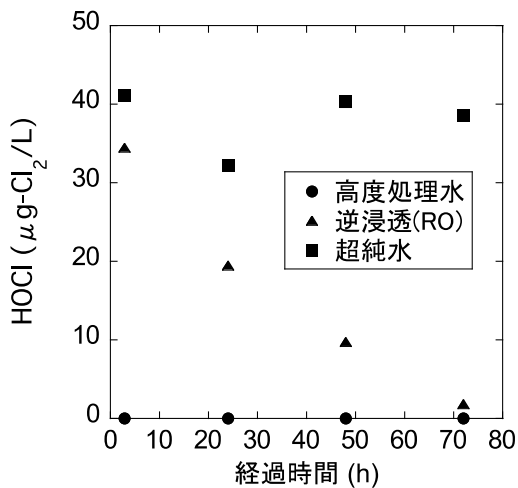


図4 塩素安定性試験結果  
(初期遊離塩素濃度 50  $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ )

## (2) オゾン処理によるウイルス不活化に関する検討

まず、ウイルス精製法について整備を行った。続いて、決定したウイルス精製条件を用いて高濃度ウイルス試料を獲得し、オゾン不活化実験に供した。三方コックを取り付けたシリンジを用いて、シリンジ内にウイルス試料とオゾン溶液を混和させ、一定時間反応させた。オゾン初期濃度は 0.50  $\text{mg-O}_3/\text{L}$  とした。

まず精製方法については、超遠心分離機 (Optima MAX-TL, Beckman Coulter) を用いた

塩化セシウムによる等密度遠心法がウイルス精製に効果的であることが明らかとなった。

続いて、この方法を用いて精製したウイルス試料に対してオゾン不活化実験を実施した。処理時間が短いために溶存オゾン濃度の測定が困難であったため、接触時間ごとの感染価の低下を測定した。実験結果を図5に示す。

1  $\log_{10}$  の不活化に必要な接触時間(初期オゾン濃度 0.50  $\text{mg-O}_3/\text{L}$ )は 10 秒であった。また接触時間と不活化に対して線形関係の傾向がみられた。以上より、十分な CT 値を確保できた場合、オゾン処理はウイルス不活化に効果的であることが示唆された。

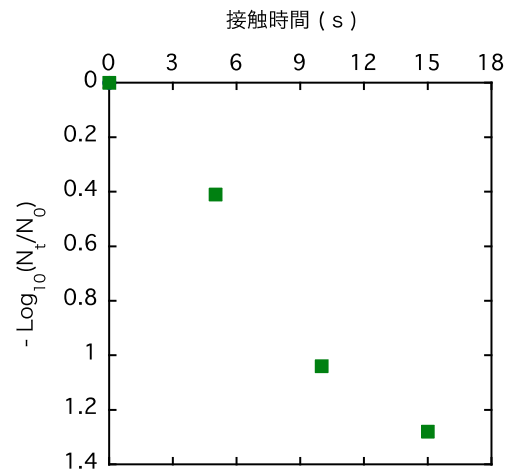


図5 オゾン処理によるウイルス不活化結果

## (3) トレーサー物質としてのリドカインとオゾンの反応速度論

オゾン濃度の減少は比較的緩やかであったため、オゾンによるリドカインの分解反応において各反応時間における CT 値は、測定値各点を結んで得られる台形の面積に相当すると考え解析を行った。その結果、室温 ( $15.6 \pm 0.5$ ) におけるリドカインの pH 6.5, 7.0, 7.5 の場合のオゾンとの見かけの反応速度定数  $k_{03, app}$  は、それぞれ  $3.7 \times 10^4$ ,  $1.1 \times 10^5$ ,  $3.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  となった。

リドカインのオゾンとの反応速度定数については Lee らが定量的構造活性相関 (Quantitative structure-activity relationships, QSARs) に基づき推定している。この方法で三級アミンとして反応すると仮定のもとに推定された  $k_{03, app}$  は pH 7.0 のとき  $7.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  であり、本実験の結果は Lee らによる推定値よりも 1.5 倍ほど大きいことが、概ね推定値と一致した。

リドカインは構造的にベンゼン環誘導体および三級アミンとして分類でき、Lee らも速度定数の推定において反応部位を 2 つ仮定している。今回の実験結果において、pH 依

存在が見られることを考慮すると、三級アミンの部分とオゾンが反応しているものと考えられる。

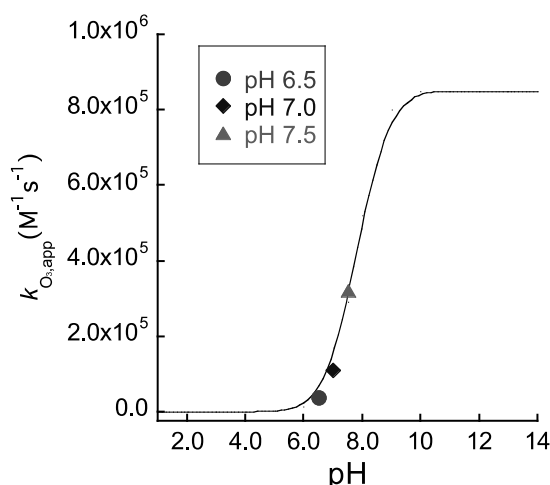


図6 リドカインの  $k_{O_3,app}$  の pH 依存性 (プロットは実験値, 実線は  $pK_a$  に基づく計算値)

#### <引用文献>

Lee, Y., Kovalova, L., McArdeil, C. S. and von Gunten, U.: Prediction of micropollutant elimination during ozonation of a hospital wastewater effluent, Water Res., Vol.64, pp.134-148, 2014.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

川畑至功、池本沙希、越後信哉、伊藤禎彦、オゾン反応槽の機能評価のための反応速度論, 日本オゾン協会第 24 回年次研究講演会講演集、2015、pp.35-38, 東京

Okumura, Y., Kawaguchi, Y., Kimura, R., Echigo, S., Itoh, S., Sensitive and selective analysis of free chlorine with a new probe compound, 9th IWA Specialist Conference on Assessment and Control of Micropollutants and Hazardous Substances in Water (Micropol & Ecohazard Conference 2015), 2015, Singapore.

奥村勇太、川口佳彦、越後信哉、伊藤禎彦、フェノール性化合物と LC-MS/MS を用いた極低濃度遊離塩素測定法の開発、第 50 回日本水環境学会年会講演要旨集、2016、p.281、徳島

〔図書〕(計 0 件)

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 禎彦 (ITO, Sadahiko)  
京都大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号: 10184657

(2)研究分担者

越後 信哉 (ECHIGO, Shinya)  
京都大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 70359777

大河内 由美子 (OHKOUCHI, Yumiko)  
麻布大学・生命・環境学部・准教授  
研究者番号: 00391079

浅田 安廣 (ASADA, Yasuhiro)  
京都大学・大学院工学研究科・助教  
研究者番号: 60610524

(3)連携研究者

なし