DDVP のオゾン処理における細胞毒性変化の解析と予測

鈴木基之** 金 範 洙* 藤井隆夫*
酒井康行* 迫田章義*

Analysis and Prediction of Changes in Cytotoxicity during Ozonation of DDVP-containing Water

Motoyuki SUZUKI**, Berm-Soo KIM*, Takao FUJII*,
Yasuyuki SAKAI* and Akiyoshi SAKODA*

* Institute of Industrial Science, University of Tokyo, 7-22-1 Roppongi, Minato-ku, Tokyo 106-8558 Japan

** The United Nations University, 53-70-5 Jingumae, Shibuya-ku, Tokyo 150-8925 Japan

Abstract

In order to establish a methodology for the optimization of a water treatment process in terms of its total toxicity reduction, we proposed a simple method for describing changes in the concentrations of a toxic chemical and of its derivatives, and changes in the total toxicity derived from these chemicals. Dichlorvos (DDVP), an organophosphate, was selected as a model chemical, and the toxicity of the treated water was evaluated by the growth inhibition of cultured human cells. In a series of experiments, although original DDVP was rapidly degraded, its oxidation intermediate (DDVP' and DDVP'') was produced and strongly affected the total toxicity of the treated water. Changes in the concentrations of these chemicals and the total toxicity were well described by a simple numerical model. By using this model, we predicted the effects of ozone concentration, pH, and ozonation time on the total toxicity reduction during ozonation of DDVP at the level of the environmental standard. Such a methodology proposed in this work would be useful for choosing an better treatment process and also in optimizing the running conditions.

Key words: toxic intermediate, ozonation, toxicity reduction, cytotoxicity, simple numerical model

1. はじめに

近年、従来は規制の対象となっていなかった微量の有機化学物質等による環境水汚染が深刻な問題になっている。そこで近年、基準項目となっている化学物質の除去だけでなく、総合的な毒性の削減が重要であるとの視点が提示され始めている¹⁾。実際に合衆国環境保護局(U. S. EPA)は各種事業所からの毒性物質の排出を制御するために、流出水に対して毒性削減評価法(toxicity reduction evaluations: TRE)を提案している。その中の重要なステップである毒性同定評価法(toxicity identification evaluation: TIE)は、流出水毒性の発生源を効率よく特定し、TREの各ステップを方向づけるものである。この視点からの水処理プロセス改善に応えるためには、処理プロセス内で新たに生成する中間体も含め、被処理水中の個別物質(群)のプロセス内での消長と総括毒性の増減が定量的に結びつけられ、必要に応じて処理単位操作やそれらの操作条件の変更にフィードバックで

きるようになっていることが望ましい。

オゾン処理に代表される酸化処理はより安全な処理水を得るためのプロセスとして導入が進められつつある。しかしながら、強力な酸化剤であるオゾンと有機物との反応経路は複雑であり、一般に多種多様の分解生成物を生じ、しかもそれらは処理条件によって大きく異なることが報告されている^{2,3)}。また処理前後の毒性については、微生物による活性試験⁴⁾、Ames法による変異原性試験で評価した例もあるが⁵⁾、その時の毒性の変化と個別物質(群)の消長とを定量的に結びつけて解析した例はない。

そこで本研究では、有機リン系殺虫剤のDDVP(dichlorvos)を純水に添加した水をモデル排水とし、そのオゾン酸化処理において、ヒト細胞増殖試験で測定される総括の毒性変化を、特に部分酸化によるDDVP原体からの分解中間体の消長に着目して評価した。オゾンとDDVPの反応速度式を誘導し、反応により生成される分解中間体とDDVP原体濃度の変化を予測した。すなわち、種々

* 東京大学生産技術研究所 〒106-8558 東京都港区六本木7-22-1

** 国際連合大学 〒150-8925 東京都渋谷区神宮前5-53-70

の処理操作条件下における実験的検討と並行して、DDVP 原体と分解中間体に着目した簡単な数理モデルを構築し、総括の毒性変化を記述した。さらに、DDVP 原体濃度 pH, オゾン濃度が異なるオゾン処理における分解中間体と DDVP からなる複合毒性の経時変化を数値解析し、最適毒性削減条件も検討した。

本研究でモデルとして用いた DDVP は、国内において農薬として広く用いられ水道水質基準の要監視項目⁹⁾にも挙げられていて、その毒性のために生物分解されにくいと報告されている⁷⁾。オゾン処理ではすみやかに分解するものの、光酸化触媒による酸化処理では Microtox 法で評価した場合には部分酸化物によると思われる毒性が現れることも報告されており⁸⁾、本研究のモデル化学物質として適当であると考えられた。また、本研究では総括細胞毒性評価手法として、Microtox などの微生物を用いた試験法に比べて、ヒトへの毒性をより良く予測できるとの最近の知見⁹⁾に基づき、ヒト細胞を用いた短期増殖阻害試験を採用した。

2. 実験方法

2.1 オゾン処理

DDVP を蒸留水に添加し 1 mM (=48mg·C·l⁻¹) となるよう調整したモデル原水を、内径 5 cm, 長さ 20cm のガラス製カラムの中に 200ml 入れ、このカラムにオゾン発生器(富士電機社製, POX-10)により発生させたオゾンを導入した。pH は水酸化ナトリウムと硫酸で調節した。処理開始後一定時間ごとに 10ml の試水を採取して、溶存オゾン濃度を測定した後に空気ばっ気を行い残留オゾンを除去し、以下に述べる化学分析と一般細胞毒性試験に供した。

2.2 化学分析

試料水中の DDVP の原体濃度は GC/MS (島津, ガスクロマトグラフ部: GC-17A, マススペクトルメータ部: QP-5000) により求めた。溶存有機炭素 (DOC) は全有機炭素計 (島津, TOC-5000) により分析した。Cl⁻イオン濃度は、イオンクロマトグラフ (島津, LP-6 A) で Shim-pack IC-A1 カラム (島津) を用いて分析した。PO₄³⁻イオン濃度は、モリブデン酸アンモニウム発色法

で測定した¹⁰⁾。溶存オゾン濃度は Indigo 法¹¹⁾により測定した。

2.3 細胞毒性試験

細胞毒性試験には、ヒト胎児正常 2 倍体細胞である TIG-1 細胞を用いた¹²⁾。TIG-1 細胞(ヒューマンサイエンス研究資源バンクから譲渡)を初期密度 1 × 10⁴ cells·cm⁻² で 96 穴プレート中に播種して 1 日培養した後、モデル原水および各試料水を用いて調製した FBS 5% 添加の DME 培地でさらに 3 日間培養し、細胞内の加水分解酵素である Acid Phosphatase (AP) を利用した発色反応で、生細胞数を測定した¹³⁾。細胞毒性は陰性対照として DDVP 無添加の蒸留水を用い 3 日間培養した場合の細胞数 (A₀) と各試料水を用いた場合の細胞数 (A) との比を相対細胞数とし、細胞毒性 (T) を (1) 式で記述した。

$$\text{細胞毒性 (T)} = 1 - (A/A_0) \quad (1)$$

A : 試料水を用いた場合の生細胞数

A₀ : コントロールの生細胞数

3. 結果と検討

3.1 DDVP のオゾン酸化

3.1.1 低濃度オゾン処理

Fig. 1 に DDVP の分子構造を示した。一般的に有機リン系農薬では、塩素で置換されている部分は溶解性、安定性そして効力に影響し、アルキル基は長くなるに連れ毒性を弱く安定性を増大させる。そして、毒性の完全な削減にはアルキル基の除去が必要と知られている¹⁴⁾。DDVP がオゾン酸化で最終生成物にまで分解される過程はその構造から次のようになると予測される。

Fig. 1 Chemical structure of DDVP.

Fig. 2 Time-course changes in (a) cytotoxicity and (b) concentrations of DDVP, its derivatives and ozone. (pH3, Ozone=1mg·l⁻¹)

一般に水中での溶解性有機物とオゾンの反応にはオゾンによる直接反応とオゾンが分解して生成した OH ラジカルによる間接反応の 2 つのタイプがあるとされている¹⁵⁾。DDVP のオゾン酸化反応では、まずは炭素二重結合にオゾンが直接反応してオゾニドを生成すると考えられる。この段階ではアルキル基は分解されないで、分解残留物には毒性の存在が予想される。そこでまず、ラジカル生成が期待できない酸性条件下での低濃度オゾン処理での分解とその分解生成物の毒性を調べることにした。

Fig. 2 は pH 3, オゾン濃度を $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に設定した場合の細胞毒性, DDVP 原体濃度, DOC 濃度, 分解に伴って DDVP から脱離する Cl^- と PO_4^{3-} の濃度及び溶存オゾン濃度の時間変化を示す。なお, Figs. 2-4 における各成分濃度の経時変化は, 原体及び DOC については原水中濃度を C_0 , 生成物である PO_4^{3-} , Cl^- については完全分解に至った場合の量論的生成量 C_∞ で無次元化した相対濃度で示した。ほぼ全細胞が死滅するほどの高い細胞毒性を示す原水の毒性は, この条件で 20 分間オゾン処理することにより 5 割程度削減されたが, その後は処理時間を 60 分まで延ばしても変化しなかった (Fig. 2(a))。DDVP 原体はオゾン処理 20 分で完全に分解され, それに伴い DOC も減少したが, 4 分の 3 程度でその減少は止まった (Fig. 2(b))。相対 Cl^- 濃度の増加率は DDVP 原体分解とよく対応しているが, PO_4^{3-} は処理時間 60 分までほぼ全く検出されなかった。また, 分解された DDVP 原体と生成した Cl^- (20 分以降) の量論比はほぼ 1 : 2 であった。これは, DDVP が酸化処理を受ける際には, DDVP 原体 1 分子が持つ炭素 1 分子と 2 つの Cl^- がまず脱離し, 本処理条件下では, PO_4^{3-} の脱離までには分解が進まないことを示している。これは, 光酸化触媒による DDVP の酸化で原体は完全に検出されなくなるが, PO_4^{3-} 含有生成物は安定的に存在し続けるという報告¹⁶⁾と一致している。

処理中のオゾン濃度は 10 分後から急激に増大し始め, 30 分以降は約 $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ で一定値を示した。一方, ラジカルスカベンジャーである t-BtOH¹⁷⁾を同一条件で添加し

オゾン処理を行った結果, DDVP 原体が同じ処理 20 分で分解されたことから, 低濃度オゾンによる DDVP 原体の分解はオゾン直接反応であることが確認された。

以上の結果から, 処理時間 20 分以後の処理水の細胞毒性は, DDVP 原体からオゾン直接反応により Cl^- 2 分子と炭素 1 分子が除去された酸化中間体 (以降, DDVP' と示す) によるもので, その中間体の分解は本処理条件ではそれ以上は進まないと考えられた。よって, ここで DDVP の分解過程を表すと次のようになる。

3.1.2 高濃度オゾン処理

低濃度オゾン処理では, DDVP 原体の分解中間体 DDVP' への完全な分解までは処理が進むが, 依然として分解中間体 DDVP' 由来の強い毒性が残存するため, 高濃度のオゾンを用いて, 3.1.1 と同様の検討を行った。一連の結果を Fig. 3 に示す。細胞毒性は, オゾン直接反応の分解生成物 (分解中間体 DDVP' 由来) が示すのと同程度の毒性が約 2 分後から検出され, 300 分まで徐々に低減され分解中間体 DDVP' が示す毒性の半分程度になった (Fig. 3(a))。一方, DDVP 原体は約 2 分で完全に分解されて Cl^- 濃度も約 2 分後に全量が脱離した。この際に分解された DDVP 原体と生成した Cl^- の量論比は, ほぼ 1 : 2 であった。 PO_4^{3-} はやはり無視できる程度しか脱離しなかった (Fig. 3(b))。DOC 濃度は処理 2 分で炭素 1 分子の脱離にあたる 4 分の 3 まで下がり, 処理 300 分では DDVP 原体の半分まで除去された。オゾン濃度は, 20 分で処理槽内での消費がほぼ全くない時の値となりそのまま 300 分後まで一定値を示した。この一定値は, 処理槽内でオゾン消費がなくオゾンの自己分解のみが起こる場合の値であることを予め確かめている。

以上の結果から, 高濃度オゾン処理は, まず低濃度オゾン処理 (3.1.1) で見られたオゾン直接反応による DDVP の分解中間体 DDVP' への分解過程を速めることが示された。さらに, DDVP' の分解が確認されたことから, 低濃度オゾン処理では期待されなかった OH ラジカルが生成し, それが DDVP' の分解に寄与したと予想された。ここでのオゾン処理 300 分の処理産物は DDVP 原体からの分解中間体 DDVP' から炭素 1 分子が更に除去されて残っている炭素 2 分子と PO_4^{3-} 成分からなる第 2

Fig. 3 Time-course changes in (a) cytotoxicity and (b) concentrations of DDVP, its derivatives and ozone. (pH 3, Ozone= $15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$)

Fig. 4 Time-course changes in (a) cytotoxicity and (b) concentrations of DDVP, its derivatives and ozone. (pH8, Ozone=2mg·l⁻¹)

の分解中間体になると仮定し、それを DDVP' と表すことにした。そして、式(3)の1段階目の反応に続いて2段階目の反応は次のようになると予測した。

3.1.3 アルカリ条件下での DDVP の分解

DDVP を酸性条件下で処理すると、低濃度オゾン処理ではオゾン直接反応による分解中間体 DDVP' までしか分解が進まず、高濃度オゾン処理では OH ラジカル反応により更なる分解が進行されたが、その分解速度は極めて遅かった。それで OH ラジカルが生成しやすいアルカリ性条件下で DDVP 添加水のオゾン処理を検討した。

細胞毒性 (Fig. 4(a)) は、オゾン処理10分で DDVP' が表す毒性である20%程度まで急激に低くなり、その後は徐々に低くなった。DDVP 原体濃度はオゾン処理10分で完全に分解されて、Cl⁻も DDVP 原体から予想される全量が検出された (Fig. 4(b))。DOC 濃度は DDVP 原体が消失された処理10分に2分の1まで分解され分解中間体 DDVP' として予測した濃度になり、その後は徐々に分解された。PO₄³⁻は処理10分までは微量であったが、それ以後からは DOC の除去率と比例して検出された。

以上の結果から、アルカリ条件下での DDVP の分解は、処理初期に式(3)、(4)のオゾン直接反応で原体の分解と速い OH ラジカル反応が関与して分解中間体 DDVP' 化まで進んだ後、更に分解が進んだと予測した。そして、式(3)、(4)の分解経路から生成された DDVP' の分解は、次のようになると予想される。

3.2 分解反応と毒性変動の記述

3.2.1 分解反応の記述

DDVP 添加水のオゾン処理においては、酸化分解中間体である DDVP'、DDVP'' までの分解の段階を経て最終的に酸化されることが実験的に判明した。そこで、オゾン処理における DDVP 原体の分解及びその分解中間体の生成による各成分の濃度変化と、その時の各成分の複合による毒性の変動を、簡便な数理モデルで解析することを試みた。ここでは、まず酸化分解による各成分の濃度変化を記述することにした。

全体の分解過程は式(3)、(4)、(5)の3段階を経て分解されると予想した。DDVP 原体から Cl⁻ 2 分子と炭素 1 分

子の除去され分解中間体 DDVP' の生成までを第1段階、更に炭素 1 分子が脱離され分解中間体 DDVP'' の生成までを2段階目、そして、分解中間体 DDVP'' から PO₄³⁻の脱離と炭素 2 分子が除去されていく過程を3段階目にした。

オゾンの濃度変化は反応器における溶け込み速度、有機物との反応及び pH による分解を考慮し次のように表した。

$$\frac{d[O_3]}{dt} = k_d([O_3]_s - [O_3]) - k_1[O_3][DDVP] - k_{dpH}[O_3][OH^-]^x \quad (6)$$

k_d : オゾン溶け込み速度係数

$[O_3]_s$: 飽和オゾン濃度

k_1 : オゾン直接反応速度係数

k_{dpH} : 自己分解速度係数

k_d は純水を用いたブランク実験から求めた。オゾンの自己分解反応は Alder¹⁸⁾と Stumm¹⁹⁾を参考にし、pH 3 以下と中性では x をそれぞれ 0.5 と 0.75 にした。

オゾンの自己分解による OH ラジカルの生成は次のように表した^{18,19)}。

$$\frac{d[OH\cdot]}{dt} = \eta \cdot k_{dpH}[O_3][OH^-]^x \quad (7)$$

η : 分解されたオゾンからの OH ラジカル生成率

η は文献²⁰⁾を参考にして 0.48 にした。

DDVP 分解の3段階の分解速度は以下のように表した。まず、1段階目は式(8)に示すように、オゾン直接反応とラジカル反応の両方が関与すると考えられるが、3.1 に述べた実験結果からオゾン直接反応によるものであると判断し、直接反応だけを考慮することにした。

$$\frac{d[DDVP]}{dt} = -k_1[O_3][DDVP] - k_2[OH\cdot][DDVP] \quad (8)$$

2段階目の反応は DDVP の分解による DDVP' の生成と、オゾン直接反応と OH ラジカル反応による DDVP' の分解を考えた場合、式(9)のように表せる。

$$\frac{d[DDVP']}{dt} = k_1[O_3][DDVP] - k_3[O_3][DDVP'] - k_4[OH\cdot][DDVP'] \quad (9)$$

DDVP' の分解については、Fig. 3 でオゾンが平衡濃度

に達してから分解が進むことから、オゾンの自己分解で生成する OH ラジカルによる反応であると思われること、および Fig. 4 で pH による分解速度の急激な変化が見られたことから、OH ラジカル反応が支配的であると近似した。

そして 3 段階目の反応は DDVP' の分解による DDVP'' の生成そして、オゾン直接反応と OH ラジカル反応による DDVP'' の分解からなるとして、次のように表した。

$$\begin{aligned} \frac{d[DDVP'']}{dt} = & k_1[O_3][DDVP] + k_4[OH\cdot] \\ & [DDVP'] - k_5[O_3][DDVP''] \\ & - k_6[OH\cdot][DDVP''] \end{aligned} \quad (10)$$

分解中間体 DDVP'' の分解においては、Fig. 4 のアルカリ条件でオゾン濃度が平行に達してから分解が進むことから、オゾン直接反応より OH ラジカル反応が優先すると予測した。

一連の実験に基づいた以上の考察から、各段階の反応は次のように簡略化できる。

$$\frac{d[DDVP]}{dt} = -k_1[DDVP][O_3] \quad (11)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[DDVP']}{dt} = & k_1[DDVP][O_3] \\ & - k_4[DDVP'][OH\cdot] \end{aligned} \quad (12)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[DDVP'']}{dt} = & k_4[DDVP'][OH\cdot] \\ & - k_6[DDVP''][OH\cdot] \end{aligned} \quad (13)$$

Hoigne ら²¹⁾は、フリーの炭素二重結合の反応速度係数は $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であり、二重結合が塩素に置換される数が増すにつれて反応が遅くなると報告している。DDVP へのオゾン直接反応速度係数 k_1 は Fig. 2 の条件における DDVP の分解をコンピュータのソフト STELLA を使いカーブフィッティングし、 $5.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と決定した。一般的に有機物に対する OH ラジカルの反応

速度は $10^7 - 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であることが知られている²²⁾。Fig. 3 のオゾン処理 2 分以後の DOC の減少速度からカーブフィッティングで DDVP' の OH ラジカル反応速度係数 k_4 は $1.3 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と得られた。この反応速度はフェノールの $1.43 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ²²⁾ とほぼ同程度であり比較的分解されやすい物質であることが示された。Fig. 4 の 10 分以後の DOC の分解速度から得られた DDVP'' の反応速度係数 k_6 は $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ となり、ラジカル反応でも分解されにくいことが示された。

各条件における DDVP 原体と分解生成物の濃度変化を、式 (6), (7), (11), (12), (13) に $t = 0$ のとき $[O_3]_0 = 0$, $[DDVP]_0 = 0.001$ で STELLA を用いて数値計算で求めたところ全 DOC 濃度については、実測値とほぼ同じく一致した (Fig. 5(a), (b), (c))。なお、Fig. 5(c) の分解中間体 DDVP' は、ラジカルとの反応速度が極めて大きいため、DDVP 原体からの生成直後に DDVP'' に分解している。

3.2.2 毒性変動の記述

3.1.2 では DDVP の分解反応が記述され、オゾン処理における DDVP 原体と分解中間体 DDVP', DDVP'' の濃度の変化が記述された。そこで、各物質の残存濃度から各処理水の総括毒性を定量的に記述することを試みた。まず、ほぼ分解中間体 DDVP' のみを含むからなると考えられる低濃度オゾン 60 分処理水及びその希釈水を用いて細胞増殖を測定することにより、DDVP' 単成分の用量作用曲線を得た (Fig. 6)。同様に分解中間体 DDVP'' が支配的と思われる高濃度オゾン 300 分処理水を用いて DDVP'' の用量作用曲線を得た。次に、得られた DDVP, DDVP', DDVP'' の用量作用曲線を式 (14) に示すロジスティック式を用いて定式化した²³⁾。

$$y = 1 / (1 + \exp((x - m) / s)) \quad (14)$$

y : 細胞生存率 (—)

x : $\log \text{DOC}$ ($\text{DOC}[\text{mg-C/l}]$)

m : $\log \text{ED50}$ ($y = 0.5$ になる $\log \text{DOC}$)

Fig. 5 Numerical estimation and experimental data of concentration changes of DDVP and its oxidation intermediates, DDVP' and DDVP''.

Fig. 6 Dose-response curves for cytotoxicity of DDVP and its oxidation intermediates, DDVP' and DDVP''.

s : 曲線の傾きを間接的に表すパラメータ

定式化には、非線形最小2乗法により、2つのパラメータ m と s を決定した。

$$y_{DDVP} = 1 / (1 + \exp((x5.79E-1) / -2.32E-1)) \quad (15)$$

$$y_{DDVP'} = 1 / (1 + \exp((x-1.54E+0) / -5.12E-1)) \quad (16)$$

$$y_{DDVP''} = 1 / (1 + \exp((x-1.86E+0) / -4.16E-1)) \quad (17)$$

以上の結果を Fig. 6 に示す。

さらに、多成分の物質による複合毒性は各物質が単独で示す毒性の積で表すことが出来ると仮定した。すなわち、多成分系で発現する毒性による細胞毒性を Y 、各成分単独におけるそれを y_i とし、式(18)のように定式化した。

$$Y = \prod y_i \quad (18)$$

本定式化の有効性については、実環境水を含む各種化学物質水溶液について検討を加え、おおむね良好に複合毒性を予測可能であることを確かめている²³⁾。

最後に、毒性削減過程は次のように予測した。オゾン処理時間における DDVP 原体と分解中間体 DDVP' と DDVP'' の DOC 濃度を式(15), (16), (17)に代入して、単成分としての各処理時間における細胞毒性 (y_{DDVP} , $y_{DDVP'}$ と $y_{DDVP''}$) を求めた。そして、その3成分からなる複合毒性を式(18)により求め、総括の毒性の時間変化を推算したところ、実測された細胞毒性変化と良好に一致した (Fig. 7(a), (b), (c))。

このことは、DDVP をモデル化合物とした比較的単純な系ではあるものの、総括毒性の変動を数値モデルで十分記述することができ、毒性支配物質の挙動とそれらの総和としての総括毒性とが、処理操作条件と関連づけられて定量的に記述されたとと言える。また、処理派生物の毒性が無視できない他の系についても、その個々の分解特性が把握できれば同様の記述が可能であると言える。

3.3 モデルを用いた低濃度域での処理過程予測

水処理プロセスにおいて、単に水質基準項目に挙げられている化学物質の濃度削減だけでなく、総括的な毒性の削減が要求され、既存プロセスにおける毒性除去が不十分であることが判明した際には、当然、プロセスそのものやその操作条件の変更が必要とされよう。特に酸化処理プロセス内において、毒性をもつ中間生成物が新たな

Fig. 7 Numerical estimation and experimental data of cytotoxicity by DDVP and its oxidation intermediates, DDVP' and DDVP''.

Fig. 8 Prediction of cytotoxicity reduction as a function of (a) ozone concentration and (b) pH.

に生じる場合には、原体と全く異なる処理特性を示す場合が多いこと²⁾に注意を払う必要がある。本研究で見られた DDVP 添加水のオゾン処理における毒性物質(分解中間体 DDVP' と DDVP'') の生成は、その一例である。

DDVP は、水道水質基準の要監視項目としての指針値が $0.01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 以下である。ここでは、DDVP が $0.01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の濃度で汚染されたと想定した環境水に対して、3.2 で得られたオゾン処理における濃度変化のモデルと多成分による毒性の記述の手法をもとにオゾン処理の操作条件の毒性削減過程への影響を予測した。これら低濃度領域の毒性は、そのままでは本研究で用いた細胞毒性試験では測定できないので、仮想的に100,000倍濃縮したとして毒性を表現した。細胞毒性でみた目標毒性は、DDVP で $0.01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当の原水 (100,000倍濃縮時の細胞毒性値で1.00) を、DDVP で $0.001 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当の毒性 (100,000倍濃縮時の細胞毒性値で0.75) に低減するのを目標1、同じく DDVP で $0.0001 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 相当の毒性 (100,000倍濃縮時の細胞毒性値で0.25) を目標2、として設定した。

オゾン処理の操作条件は2通りで行うことを想定し、pH を8に固定してオゾン濃度を変化させた場合 (Fig. 8(a)) とオゾン濃度を $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ に固定して pH を変化させた場合 (Fig. 8(b)) に対して毒性の変動を予測した。pH を8に固定した場合 (Fig. 8(a))、目標値その1である細胞毒性値0.75まではオゾン濃度 $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ においても数分以内で削減できた。これは、目標値その1までは DDVP 原体由来の毒性が支配しており、原体の分解から生成される分解中間体の毒性はその下限値を示すためである。しかし、毒性削減目標値その2である0.25までは、オゾン濃度 $7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ で60分処理でも至らず、オゾン濃度 $9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の50分処理でようやく目標値まで削減された。これはオゾン処理で DDVP 原体の分解から生成された分解生成物はこの条件下では有効に分解されなかったことを意味する。次にオゾン $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ で pH を変動させた時は (Fig. 8(b))、毒性削減目標値その1までは同じく数

分以内で達成されて、その2までは pH 9で40分、9.5で12分程度そして10では5分以内で達成されると予測された。以上のように DDVP のオゾン酸化処理において処理時間、pH とオゾン濃度を変化させ毒性削減に最適な処理時間が予測できた。

以上、一例ではあるが、対象処理水毒性と排出目標毒性とが与えられた場合、本研究で提示した総括毒性記述モデルで、種々の操作条件下での毒性削減過程を予測でき、それを通じて最適な操作条件の設定に役立つことを示すことができた。

4. 結 論

DDVP 添加水の酸性条件下での低濃度オゾン処理においては、オゾン直接反応により炭素二重結合が切断された中程度の毒性を持つ分解中間体 DDVP' の生成までしか分解を進めることはできなかった。更に酸性条件下での高濃度オゾン処理とアルカリ条件下でのオゾン処理においては、分解中間体 DDVP' はラジカル反応で速い反応で分解されて、分解中間体 DDVP' から炭素1分子が脱離されたもう一つの分解中間体 DDVP'' は遅い速度で分解された。

これらの DDVP 分解過程は、オゾンの直接反応とラジカル反応による DDVP と中間体の分解・生成に着目した簡便な数理モデルにより良好に記述され、またその総括の毒性は、個々の毒性を総合する手法を導入して良好に記述できた。また、この手法を用いて、DDVP の指針値近傍領域でのオゾン処理の操作条件における毒性の変動が予測され、毒性削減効率という視点からみた場合の最適な操作条件が予測された。

本研究は、あくまで DDVP 添加水というモデルケースでの検討ではあるが、ここで提示した総括毒性記述モデルは、種々の操作条件下での毒性削減過程を記述できることから、これを用いて水処理の最適な操作条件の設定などに役立つと考えられる。しかしながら、実環境水の

中では、水中に含有されているスカベンジャなどの影響も無視できないと考えられ、さらに複雑な系への展開は今後の課題であろう。

(原稿受付 2000年12月20日)

(原稿受理 2001年2月23日)

参考文献

- 1) 松井三郎, 井手慎司監訳 (1996) 環境毒性削減: 評価と制御, 環境技術研究協会.
- 2) 宗宮功 (1989) オゾン利用水処理技術, 公害対策技術同好会, 東京.
- 3) 宗宮功, 山田春美 (1987) 水中有機物のオゾン処理による反応生成物について, 衛生化学, **33**, 365-384.
- 4) Legube, B., Langlais, B. and Dore, M. (1980) Reactions of ozone with aromatics in dilute aqueous solution: Reactivity and biodegradability of oxidation products, *Prog. Wat. Tech.*, **12**, 553-570.
- 5) Filipic, M. and Toman, M. J. (1996) Genotoxicity of influents and effluents of the wastewater treatment plant, *Wat. Sci. Tech.*, **34**, 9-14.
- 6) 厚生省生活衛生局水道環境部監修 (1993) 上水試験方法, 日本水道協会.
- 7) 丹保憲二ら (1991) 公共用水域における開放系使用化学物質の動態及び安全性等に関する研究, 厚生省.
- 8) Lu, M. C., Roam, G. D., Chen, J. N. and Huang, C. P. (1993) Microtox bioassay of photodegradation products from photocatalytic oxidation of pesticides, *Chemosphere*, **27**, 1637-1647.
- 9) 内海英雄, 濱田昭, 大野泰雄 (1992) 細胞毒性試験による有害化学物質汚染の評価, 水環境学会誌, **15**, 655-661.
- 10) 日本下水道協会編 (1997) 下水試験方法—上巻, 192-194.
- 11) Barder, H. and Hoigne, J. (1981) Determination of ozone in water by the indigo method, *Wat. Res.*, **15**, 449-456.
- 12) Ohashi, M. et al. (1980) A new human diploid cell strain, TIG-1, for the research on cellular aging, *Exp. Geront.*, **15**, 121-133.
- 13) Connolly, D. T., Knight, M. B., Harakas, N. K., Wittwer, A. J. and Feder, J. (1986) Determination of the number of endothelial cells in culture using an acid phosphatase assay, *Anal. Biochem.*, **152**, 136-140.
- 14) Industrial Toxicology, Safety and health applications in the work place, Williams, P. L. and Burson, J. L. (ed.) (1985) Van Nostrand Reinhold Company.
- 15) Hoigne, J. and Barder, H. (1983) Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water, *Wat. Res.*, **17**, 173-183.
- 16) Lu, M. C., Roam, G. D., Chen, J. N. and Huang, C. P. (1995) Photocatalytic mineralization of toxic chemicals with illuminated TiO₂, *Chem. Eng. Comm.*, **139**, 1-13.
- 17) Staehelin, J. and Hoigne, J. (1985) Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions, *Envir. Sci. Technol.*, **19**, 120-126.
- 18) Alder, M. G. and Hill, G. R. (1950) The kinetics and mechanism of hydroxide ion catalyzed ozone decomposition in aqueous solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 1884-1886.
- 19) Stumm, W. (1954) A critical review of kinetics of ozone decomposition in aqueous solutions, *Helv. Chimica. Acta*, **37**, 773-778.
- 20) Hoigne, J. (1997) Inter-calibration of radical sources and water quality parameters, *Wat. Sci. Tech.*, **35**, 1-8.
- 21) Hoigne, J. and Bader, H. (1978) Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water-I non-dissociating organic compounds, *Wat. Res.*, **17**, 173-183.
- 22) Dorfman, L. M. and Adams, G. E., (1973) Reactivity of the hydroxyl radical in aqueous solutions, NSRDS-NBS-46, U. S. Government Printing Office, Washington.
- 23) 庄司良, 迫田章義, 酒井康行, 内海英雄, 鈴木基之 (2000) バイオアッセイで評価した化学物質及び環境水の複合的な毒性の定量的記述, 水環境学会誌, **23**, 487-494.