フタル酸ジ-*n*-ブチルおよび17 β -エストラジオールのオゾン、ヒドロキシルラジカルとの反応速度定数の測定

小坂 浩司* 山田 春美** 津野 洋**
清水 芳久*** 松井 三郎*

Reaction Rate Constants of Di-*n*-butyl Phthalate and 17 β -Estradiol with Ozone and Hydroxyl Radical

Koji KOSAKA*, Harumi YAMADA**, Hiroshi TSUNO**,
Yoshihisa SHIMIZU*** and Saburo MATSUI*

* Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan

** Graduate School of Environmental Engineering, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan

*** Research Center for Environmental Quality Control, Kyoto University, 1-2 Yumihama, Otsu, Shiga 520-0811, Japan

Abstract

Reaction rate constants of di-*n*-butyl phthalate (DBP) and 17 β -estradiol (E2) with ozone and hydroxyl radical (HO $\cdot$) were measured in water. The rate constants of DBP with ozone and HO $\cdot$ were <0.2 and $5.3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively (DBP- d_4 was used for the measurement of the rate constant of DBP with HO $\cdot$), thus, it was found that DBP was decomposed only by HO $\cdot$ during ozonation. Reaction rate constants of undissociated and dissociated forms of E2 with ozone were $7.1 (\pm 2.5) \times 10^4$ and $1.3 (\pm 0.2) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively, and the reaction rate constant of the undissociated form of E2 with HO $\cdot$ was $5.3 (\pm 0.4) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. The order of the apparent rate constants of E2 with ozone was from 10^5 to $10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in the case that the pH of the solution was in the range of 6-8. Therefore, it was shown that E2 reacted mainly with ozone molecules and was rapidly decomposed during practical ozonation. The relationship among the residuals of the compounds decomposed mainly by HO $\cdot$ during ozonation in the absence of co-existing substances was not affected by the dissolved organic matter (DOM) when the dissolved organic carbon (DOC) was less than several $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Key words: di-*n*-butyl phthalate, 17 β -estradiol, ozone, hydroxyl radical, reaction rate constant

1. はじめに

近年、環境中に放出された合成化学物質が野生生物の内分泌系に影響を及ぼしている可能性があることが指摘されており^{1,2)}、そのため、これらの内分泌攪乱化学物質の環境中における実態調査、測定方法、作用メカニズムについての研究が行われている。一方で、工学的見地からは内分泌攪乱化学物質によるリスク低減のための技術開発が進められている。

オゾン処理、オゾンに過酸化水素 (hydrogen peroxide: H_2O_2) や紫外線 (ultraviolet: UV) 等を組み合わせた処理法 (それぞれ $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 処理, O_3/UV 処理) は水中の内分泌攪乱化学物質の低減に対して有効であることが知られている^{3,4)}。これらの処理における有機物の分解は、オゾンによる分解と、オゾンの分解によって生成す

る、より強力な酸化剤であるヒドロキシルラジカル (HO $\cdot$) による分解の2経路によって行われている⁵⁾。そのため、有害物質の分解を考える場合、その物質のオゾンおよび HO $\cdot$ に対する反応速度定数を把握することは重要である。

現在までのところ、内分泌攪乱化学物質と疑いのある物質の酸化剤との反応速度定数は、有機塩素化合物や農薬類については比較的報告が存在するが工業用化学物質については少ない⁶⁻¹⁰⁾。さらに、天然および合成のエストロジェンに関する情報はほとんど存在していない。環境水へのこれらの負荷の大きさ・多さを考慮すると、特に工業用化学物質や天然・合成エストロジェンについて早急に検討する必要があると考えられる。

そこで本研究では、内分泌攪乱化学物質と疑われている物質の中から、プラスチック添加剤として大量に生

* 京都大学地球環境学大学院地球環境学堂 〒606-8501 京都市左京区吉田本町

** 京都大学大学院工学研究科環境工学専攻 〒606-8501 京都市左京区吉田本町

*** 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 〒520-0811 大津市由美浜 1-2

産・消費されているフタル酸エステル類の一種であり、環境省の平成12年度内分泌攪乱化学物質検討会において優先してリスク評価に取り組むべき物質の一つに選ばれたフタル酸ジ-*n*-ブチル (di-*n*-butyl phthalate: DBP)¹¹⁾と、天然エストロジェンのうち最もエストロジェン活性が高く¹²⁾、環境水中からの検出頻度も高い¹³⁾17β-エストラジオール (17β-estradiol: E2) を採り上げ、オゾンおよびHO・との反応速度定数を求めることとした。また、一般にターゲット物質の反応速度定数は共存物質の影響が無い系で求められている。HO・に対する反応速度定数を求める場合、他のラジカル種が生成されている系でのターゲット物質の分解はラジカル種の中で反応性が高いHO・によるものとして反応速度定数が決定される。環境水には多種多様な物質が共存し、共存物質は反応系に影響を及ぼす。このとき、環境水においては共存物質による影響でさらに多種多様なラジカル種が生成され、それらがターゲット物質の分解に影響している可能性がある。そのため、ターゲット物質とHO・との反応速度定数測定に及ぼす共存物質の影響についても検討を行った。

2. 実験方法

2.1 測定原理

2.1.1 オゾンとの反応速度定数

オゾンとの反応速度定数は、これまで数多くの有機および無機物質について測定されている^{6,7,14~16)}。本研究における測定原理は従来の研究を参考にした^{7,14~16)}。

(1) DBP

DBPのオゾンによる分解は以下の式で表される。

$$\frac{d[D]}{dt} = -k[O_3]^m[D]^n \quad (1)$$

ここで、[D]: DBP濃度 (M), [O₃]: オゾン濃度 (M), *k*: DBPのオゾンとの見かけの反応速度定数, *m*: オゾンに対する反応次数, *n*: DBPに対する反応次数である。初期濃度 [O₃]₀ ≫ [D]₀ の場合, [O₃] は一定とみなせ、さらに、それぞれに対する反応次数を1と仮定すると、式(1)は式(2)となる。

$$-\frac{d[D]}{dt} = -k_D'[D] = k_D[O_3]_0[D] \quad (2)$$

このとき、*k*_D': DBPのオゾンとの擬一次反応速度定数 (s⁻¹), *k*_D: DBPのオゾンとの二次反応速度定数 (M⁻¹・s⁻¹) である。*k*_DがオゾンおよびDBPの初期濃度の影響を受けないならば、式(2)からDBPとオゾンとの二次反応速度定数が求められる。

(2) E2

E2はフェノール系水酸基を有している。そのため、オゾンとの反応速度定数はE2の解離の影響を考慮し、非解離型および解離型のそれぞれについて求める必要がある。非解離型、解離型のE2の濃度の和を[E2]_T, オゾンおよびE2に対する反応次数をいずれも1と仮定、さらに [O₃]₀ ≫ [E2]_{T0} の場合 (すなわち実験中オゾン濃度は一定と見なせる場合), E2のオゾンによる分解式は次のようになる。

$$[E2]_T = (1 - \alpha)[E2] + \alpha[E2^-] \quad (3)$$

$$\alpha = \frac{10^{(pH - pKa)}}{1 + 10^{(pH - pKa)}} \quad (4)$$

$$-\frac{d[E2]_T}{dt} = k_{tot}'[E2]_T = k_{tot}[O_3]_0[E2]_T = \{(1 - \alpha)k_{E2} + \alpha k_{E2-}\}[O_3]_0[E2]_T \quad (5)$$

ここで、[E2]_T: 非解離型、解離型のE2濃度の和 (M), [E2]: 非解離型のE2濃度 (M), [E2⁻]: 解離型のE2濃度 (M), *α*: E2の解離率, *pKa*: E2の解離定数, *k*_{tot}': E2のオゾンとの見かけの擬一次反応速度定数 (s⁻¹), *k*_{tot}: E2のオゾンとの見かけの二次反応速度定数 (M⁻¹・s⁻¹), *k*_{E2}: 非解離型のE2のオゾンとの二次反応速度定数 (M⁻¹・s⁻¹), *k*_{E2-}: 解離型のE2のオゾンとの二次反応速度定数 (M⁻¹・s⁻¹) である。

1 ≫ *α* の範囲で反応速度定数を求める場合, (1 - *α*) ≃ 1 となるため式(5)は式(6)と見なせる。

$$-\frac{d[E2]_T}{dt} = (k_{E2} + \alpha k_{E2-})[O_3]_0[E2]_T \quad (6)$$

実験から求めた反応速度定数がE2およびオゾンに対して濃度影響を受けないならば (それぞれに対する反応次数が1), E2の解離率とその際のE2の見かけの二次反応速度定数との間には線形関係が認められ、その直線の切片および傾きから非解離型および解離型のE2の二次反応速度定数が求まる。

オゾンとの二次反応速度定数を求める際に、DBP, E2いずれの場合も、まず、各物質に対する反応次数を1と仮定して擬一次反応速度定数を求めることから始めた。これは、物質とオゾンとの反応においてそれぞれに対する反応次数がほとんどの場合1であったという、過去の研究報告を参考にしたことによる^{14~16)}。また、オゾンの分解によって生成したHO・のターゲット物質分解への影響を防ぐため、常にオゾン濃度およびターゲット物質濃度に比較して高濃度のラジカル捕捉物質 (tertiary butyl alcohol: *t*-buOH) 共存下で測定を行うこととした^{7,14~16)}。

2.1.2 HO・との反応速度定数

ターゲット物質とHO・との反応速度定数はHaagら⁹⁾の方法を参考にCompetition Kineticsにより求めた。すなわち、HO・との反応速度定数が既知の物質をリファレンス物質として用いて、ターゲット物質とリファレンス物質の分解の程度の違いから反応速度定数を測定した^{8,9)}。HO・の生成はDBPの場合にはO₃/H₂O₂法で、E2の場合にはH₂O₂/UV法によって行った。リファレンス物質としてO₃/H₂O₂法、H₂O₂/UV法のいずれも*p*-クロロ安息香酸 (*p*-chlorobenzoic acid: *p*CBA (*p*CBAの*pKa*は3.99⁷⁾であるため、pH7.0以上の場合、*p*CBAはほぼ全て解離型の状態で存在))を用いた。解離型の*p*CBAとHO・との反応速度定数は5 × 10⁹ M⁻¹・s⁻¹である⁹⁾。また、*p*CBAはオゾンとの反応性が非常に低い物質である (解離型の*p*CBAのオゾンとの反応速度定数 ≤ 0.15 M⁻¹・s⁻¹)⁷⁾。

2.2 試薬および溶液

DBPは環境中のバックグラウンドが大きいいため、その影響を防ぐ目的でオゾンとDBPとの反応速度定数を測定する場合を除いて重水素体のDBP (DBP-*d*₄ (和光純薬製))を用いた。DBP (和光純薬製)を用いた実験では、DBP初期濃度をバックグラウンドの影響が無視できる濃度に設定することで実験を行った。E2はSigma製を使用した。DBP, E2および*p*CBA (和光純薬製)のいずれの物質の保存水溶液も超純水に溶かすことで作成し

た。その他、試薬は常に特級以上のものを使用した。pH はリン酸水溶液あるいはリン酸緩衝液により調整した。リン酸緩衝液はリン酸水素二カリウム（和光純薬製）およびリン酸二水素カリウム（和光純薬製）を用いて目的とする pH となるように作成した。このとき、必要に応じて硫酸水溶液（1.0 N）および水酸化ナトリウム水溶液（1.0あるいは10 N）により pH の微調整を行った。本実験で用いた水は、水道水を超純水製造装置（CPW-200, Advantec Toyo 製）により精製した水を、さらに小型超純水製造装置（Easypure RF, Barnstead 製）を用いて精製した後に使用した。Suwannee 河の天然有機物質（Natural Organic Matter : NOM）は、International Humic Substances Society から購入した。オゾン水は高純度酸素ガスを原料としたオゾンガス発生器（OS-1N, 三菱電機製）により生成させたオゾンガスを、窒素酸化物除去のため pH6.0 のリン酸緩衝液（1 mM）に通気させた後、散気管を通して超純水に送入することで作成した。

2.3 操作手順

2.3.1 オゾンとの反応速度定数の測定

(1) DBP

DBP とオゾンとの反応はシリンジ内で行わせた。まず、サンプル 40 ml をコック付のシリンジ内（容量：200 ml）に入れ、マグネティックスターラーによって攪拌を開始させた。次に、別のシリンジにオゾン水 40 ml を採り、コックを通じて既にサンプルが入っているシリンジにオゾン水を注入し、注入後コックを閉じた。その後、約 30 秒間マグネティックスターラーによる攪拌を続け、オゾン水が入っていたシリンジは攪拌中にコックから外した。攪拌を止めた時間を $t=0$ とし、コックを通じてサンプリングを行い DBP 濃度およびオゾン濃度を測定した（これを両物質の初期濃度とした）。攪拌を止めた時間を $t=0$ とした理由は、サンプルとオゾンとが十分に混合された時間を反応開始時とし、また攪拌を行っている間に分解したオゾンの影響をなくするためである。DBP 測定用のサンプルにはオゾンの除去が必要となるが、脱オゾン操作はチオ硫酸ナトリウム（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ）水溶液があらかじめ添加された容器にサンプリングをすることで行った。その後、一定時間経過毎にサンプリングを行った。反応終了時間に、再びオゾン濃度を測定し、実験中においてはオゾン濃度の変化がないことを確認した。実験にはウォーターバスは用いなかったが、反応開始時と終了時でサンプルの温度を測定したところ、 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ の範囲であった。

(2) E2

E2 はフェノール系水酸基を有しているため、オゾンとの反応性は高いと考えられる。そこで、実験には Fig. 1 に示すような管型反応器を用いた。ウォーターバス中にあるサンプル（15 mM リン酸水溶液あるいはリン酸緩衝液（pH2.3～6.5）、*t*-buOH（10 mM）共存）とオゾン水を、それぞれダブルプランジャー型のポンプ（それぞれの流量：13.5 および 4.5 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ）を用いて流し、ミキシングチューブを用いて両溶液を混合させることで反応を開始させた。このとき、混合溶液の水温が $20 \pm 1^\circ\text{C}$ となるように各溶液の温度を調整した。溶液が混合した後の反応はテフロン製のチューブ内で進行させ、その出口で溶存オゾンを除去することで反応を止めた。なお、

Fig. 1 Schematic diagram of a continuous flow reactor

チューブはウォーターバスに入れなかったが水温の変化については実験毎に変化が無いことを確認した。反応時間は混合溶液の流量（18.0 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ）と用いたチューブの容量（内径 1.6 mm）から計算し、チューブの長さを変えることで反応時間を変えた（反応時間：2.3～26.8 s）。

オゾン濃度は混合溶液を別のポンプから引いたインジゴ水溶液（流量：6.0 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ）と混合させることで測定した。E2 を測定する場合には、混合溶液を $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液があらかじめ添加されているバイアルにサンプリングすることでオゾンを除去した。溶存オゾンの初期濃度はサンプルの代わりに超純水を流しオゾン水と混合させたとき（反応時間：0.2 s）の濃度とした。また、オゾン濃度を一定に保つため、実験中オゾンガスはオゾン水へ吹き込み続けた。さらに、実際に実験開始時と終了時に初期溶存オゾン濃度を測定し、その濃度にほとんど変化がないことは毎回確認した。なお、本実験における各物質の初期濃度とはサンプルとオゾン水とが混合されたときの濃度のことを指す。

2.3.2 $\text{HO} \cdot$ との反応速度定数の測定

(1) DBP

DBP, リファレンス物質および H_2O_2 （最終濃度：45～50 μM ）の混合溶液（リン酸緩衝液（pH8.5）, 最終濃度：2 mM）5 あるいは 10 ml をガラス製の容器に入れ、テフロン製の攪拌子を用いてマグネティックスターラー攪拌し、そこにオゾン水 1 ml を加えることで反応を行わせた。オゾン水添加後に容器をキャップし、約 1 分間攪拌を続けた後にスターラーを止め、30～1 時間程度静置させた後に分析を行った。DBP の分解の程度は、添加するオゾン水の溶存オゾン濃度を変えることで変化した。オゾン水の代わりに超純水を添加した系をブランクとし、ブランク中のターゲット物質濃度およびリファレンス物質濃度をそれぞれの初期値とした。実験はウォーターバス中（ $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ）で行った。

(2) E2

E2, リファレンス物質および H_2O_2 （250～2,500 μM 程度）の混合溶液（2 mM リン酸緩衝液（pH7.0））100 ml をビーカーに入れ、テフロン製の攪拌子を用いてマグネティックスターラー攪拌させながら上部から UV lamp（GL15（主波長 254 nm）, 東芝製）を照射させることで反応を開始させた。その後、照射 5 分後と 10 分後にサンプルの採取を行った。実験はウォーターバス中（ $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ）で行った。

2.4 分析方法

DBP はサンプル中の DBP を *n*-hexane（残留農薬試験用, 和光純薬製）を用いて液液抽出した後に GC/MS（QP-5000, 島津製作所製）により測定した。E2 および *p*CBA は HPLC（616LC, Waters 製）により測定した。

溶存オゾン濃度は、DBP とオゾンおよび $\text{HO}\cdot$ との反応速度定数を測定する場合には 258 nm における吸光度により、それ以外の場合にはインジゴ (Aldrich 製) 水溶液を用いた吸光度法により求めた¹⁷⁾。吸光度計は UV-1600 (島津製作所製) を使用した。市販の H_2O_2 水溶液 (約 30wt%, 和光純薬製) の原液濃度は 240 nm における吸光度により決定し¹⁸⁾、サンプル中の H_2O_2 濃度は銅(II)イオンとネオクプロイン (Sigma 製) を用いる吸光度法^{19,20)}、あるいは peroxidase (Sigma 製) と *N,N*-dimethyl-*p*-phenylenediamine (和光純薬製) を用いる吸光度法により測定した¹⁸⁾。pH は pH メーター (PHM 210, Radiometer Analytical 製) を用いて測定した。溶存有機炭素 (Dissolved Organic Carbon : DOC) は、高感度触媒を用いた全有機炭素 (Total Organic Carbon : TOC) 計 (TOC5000-A, 島津製作所製) により測定した。本実験では、TOC のうち孔径 1.0 μm のろ紙 (GF/B, Whatman 製) を通過したものを DOC と定義した。DOC はサンプルの pH を塩酸の添加で 2~3 に下げ、窒素パージして IC を除去した後に測定した。つまり、本実験での DOC とは不揮発性溶存有機炭素 (Non Volatile Dissolved Organic Carbon : NVDOC) を意味する。

3. 実験結果および考察

3.1 オゾンとの反応速度定数の測定結果

Fig. 2 に DBP 濃度 9~10 μM 、オゾン濃度 64~160 μM における DBP の残存率の経時変化を示す。実験に先立ち DBP のバックグラウンドを測定した。すなわち、サンプルを測定するときと同じ手順でサンプルの代わりに超純水を用いて液液抽出を行い、DBP 濃度を測定した。DBP 濃度のバックグラウンドは本実験で用いた DBP 濃度の 5~6% 程度であり、バックグラウンドの影響は本実験においては小さいと言える。

オゾン濃度の変化は反応前後で 5% 以内であったためオゾン濃度は実験中一定とみなせ、反応前後の値の平均値を実験中のオゾン濃度とした。オゾン濃度を 64~160 μM の範囲で 3 段階に変化させたがいずれの場合も DBP 残存率に変化が認められず、DBP はオゾンとの反応性が非常に低い物質であることが示された。2.1.1 で述べたように反応速度定数を求めるためには DBP とオゾン濃度を変化させ、それぞれの濃度影響について検討する必要があるが、DBP のように非常に反応性の低い物質に

Fig. 2 Profile of DBP residual during ozonation

Fig. 3 Profile of E2 residual during ozonation

Fig. 4 Relationship between degree of dissociation of E2 and k_{tot}

ついては実験の都合上困難となる。そこで、オゾンおよび DBP に対する反応次数が 1 であるとし、本実験条件下で最も高濃度のオゾン (160 μM) において最も反応時間が長かった 1,500 s 後に DBP が 5% 分解したと仮定すると、DBP のオゾンとの反応速度定数は $0.2 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ と算出された。この結果から、DBP のオゾンとの反応速度定数は $<0.2 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ であることが示された。なお、5% 分解と仮定したのは、図中、最も長い反応時間における DBP の残存率はほぼ 1 であったが、他の反応時間における DBP の残存率は 0.96~1.04 の範囲にあり、5% 程度の誤差は想定できると考えたためである。

E2 とオゾンとの反応速度定数は 0.03~0.06 μM の E2 濃度を対象に検討を行った。実験中のオゾン濃度は一定とみなせるようにするため、E2 濃度に対してオゾン濃度は過剰 (濃度比 10 倍以上) とした。初期オゾン濃度と最大時間経過後のオゾン濃度の変化率は最大 17% と DBP の実験の場合に比べて大きかったが、反応前後の平均値をオゾン濃度とした。Fig. 3 に E2 の残存率の経時変化を示す (pH 2.3)。E2 の残存率は片対数グラフ上で直線的に減少したため、この直線の傾きから k_{tot}' を得た。

Fig. 4 に pH と E2 の解離定数 ($\text{pK}_a=10.08$)²¹⁾ から求めた各実験における E2 の解離率と、そのときの k_{tot}' を実験中のオゾン濃度で割ることで算出した k_{tot} との関

係を示す。オゾン濃度およびE2の濃度をそれぞれ1.2~4.9 μM, 0.03~0.06 μMの範囲で変化させたが、 k_{tot} の両濃度に対する依存性は小さくE2の解離率に対して k_{tot} は線形増加した。したがって、式(5)および(6)からE2のオゾンとの二次反応速度定数が決定でき、非解離型と解離型のE2についてそれぞれ $7.1(\pm 2.5) \times 10^4$ および $1.3(\pm 0.2) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ が得られた(95%信頼区間を併記)。

3.2 HO・との反応速度定数の測定結果

HO・の生成方法として、オゾンとの反応性が低かったためオゾンの影響が無視できると考えられたDBPの場合は $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 法を、一方、オゾンとの反応性が高かったE2の場合は $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ 法を用いた。 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ 法において、 H_2O_2 を添加しない場合の最大照射時間後(10分後)のE2とリファレンス物質である $p\text{CBA}$ の分解率はいずれも3%未満であったことから、本実験条件下ではUVによるターゲット物質分解(あるいはリファレンス物質分解)の反応速度定数測定への影響は無視できるものと判断した。

Fig. 5に $p\text{CBA}$ の残存率の自然対数値とターゲット物質の分解率の自然対数値との関係を示す(それぞれ $\ln(R_0/R_t)$ および $\ln(A_0/A_t)$)。DBPについての実験ではDBPと $p\text{CBA}$ の初期濃度はそれぞれ0.09~0.54 μMおよび4.8 μM, E2の場合、E2と $p\text{CBA}$ の初期濃度はそれぞれ0.05~0.1 μMおよび3.4~6.7 μMで検討を行った。

$p\text{CBA}$ の残存率の自然対数値に対して、DBPとE2いずれの物質の残存率の自然対数値も線形関係にあった。この直線の傾きを用いてDBPおよびE2のHO・との反応速度定数を求めると、それぞれ $5.3(\pm 0.4) \times 10^9$ および $9.2(\pm 0.8) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ と算出された。pH7.0におけるE2の解離率は $<10^{-3}$ であること、有機物とHO・との反応速度定数は酸化状態が進んだ物質や分子量が小さい物質を除いた多くの場合 $10^9 \sim 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ の範囲にあることから⁸⁾、求めたE2の反応速度定数は非解離型のE2についての値であると言える。

実被処理水中には常に共存物質が存在する。共存物質はオゾン処理の反応系に関与するため、共存物質が存在する場合は共存物質が存在しない場合に比べて処理過程

で多種多様なラジカル種が生成される。そこで、HO・以外のラジカル種のターゲット物質への影響について検討を行った。すなわち、共存物質の存在の有無がリファレンス物質とターゲット物質との残存率の関数に影響を及ぼしているかどうかについて検討した。

Fig. 5にDBPをターゲット物質としたときの共存物質の影響を示す。反応は共存物質が存在する場合も、存在しない場合と同様にpH8.5における $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 法で行った。共存物質にはSuwannee河の天然の溶存有機物質(Dissolved Organic Matter: DOM (3.2~3.5 mgC· l^{-1}))を用いた。

$p\text{CBA}$ の残存率とDBPの残存率との関係はDOMの有無によらず一定であることが示された。この結果は、DOMの有無によらずDBPおよび $p\text{CBA}$ はHO・によって主に分解されている、あるいは、DOMの共存によってHO・以外のラジカル種がDBPおよび $p\text{CBA}$ の分解に関与していたとしてもそれぞれの分解率全体に占める他のラジカル種の寄与は同程度である、のいずれかによるものと考えられる。現時点ではいずれの原因によるかは明確にはできないが、Fig. 5の結果から、 $p\text{CBA}$ の残存率とDBPの残存率との関係は本実験のDOMの濃度範囲においてはその影響を受けないことは明らかとなった。このことから、共存物質が存在しない系で求めたターゲット物質のHO・との反応速度定数は、少なくとも数mgC· l^{-1} のDOMが共存している範囲内では、HO・以外のラジカル種による影響も含めた反応速度定数と考えれば適用できることが示唆された。

3.3 オゾン処理中におけるE2の挙動

オゾン処理ではオゾンによる直接反応とHO・による反応の両方が同時に行われているため、ターゲット物質Mの分解式は式(7)で表される。今回測定した反応速度定数を用いてオゾン処理過程でのターゲット物質の挙動について考察する。

$$-\frac{d[M]}{dt} = k_{os}[\text{O}_3][M] + k_{HO}[\text{HO}\cdot][M] \quad (7)$$

ここで、 $[M]$:ターゲット物質濃度(M), k_{os} :Mのオゾンとの反応速度定数($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), k_{HO} :MのHO・との反応速度定数($\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)である。

DBPの場合、オゾンとの直接反応では分解困難であるため、オゾン処理中DBPはHO・によって分解されていると考えられる。このとき、DBPのHO・との反応速度定数は $5.3(\pm 0.4) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ と高く、HO・によってDBPは比較的速やかに分解されると推測される。一方、E2の場合、オゾンおよびHO・のいずれとも速やかに反応するため、どちらの寄与が大きいのかについて考える。Table 1に実処理において想定しうるpH範囲6~8における、非解離型のE2と解離型のE2の存在率を考慮し

Fig. 5 Relationship between natural logarithms of the residuals of reference and target compounds

Table 1 Effect of pH on the apparent reaction rate constants of E2 with ozone

pH	$k_{br} (\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$t_{1/10} (\text{s})^a$	$t_{1/100} (\text{s})^b$
6	1.8×10^5	1.2	2.5
7	1.2×10^6	0.2	0.4
8	1.1×10^7	0.02	0.04

a: reaction time required to decompose 90% of E2 at 10 μM (0.5 mg· l^{-1}) of ozone.

b: reaction time required to decompose 99% of E2 at 10 μM (0.5 mg· l^{-1}) of ozone.

た、E2のオゾンとの見かけの反応速度定数(k_{tot})を示す(式(6)を参照)。前節で示したように、E2の見かけ上の反応速度定数はpHに依存し、その値はpH6~8では $10^5 \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 程度と算出された。ところで、オゾン処理中でのHO $\cdot$ 濃度とオゾン濃度との比($[\text{HO}\cdot]/[\text{O}_3]$)についての報告があり^{22,23)}、これらの研究では $[\text{HO}\cdot]/[\text{O}_3]$ は処理対象水の水质によって異なるが、その範囲は $10^{-7} \sim 10^{-10}$ 程度であったことを述べている。この結果とTable 1の値からE2についての $k_{\text{O}_3}[\text{O}_3]$ と $k_{\text{HO}}[\text{HO}\cdot]$ との大小関係について検討すると、 $k_{\text{O}_3}[\text{O}_3]$ は $k_{\text{HO}}[\text{HO}\cdot]$ より100倍以上大きい値であった。したがって、オゾン処理中、E2はオゾンとの直接反応によって分解されていると考えられる。

オゾン濃度の測定は容易であり、また、オゾン濃度は、共存物質が存在してもオゾンガス注入率を変化させることで制御も可能であるため、E2のようにターゲット物質の分解がオゾンとの直接反応である場合、ターゲット物質の分解率はオゾン濃度と接触時間から把握できる。そこで、Table 1にはpH6~8において、オゾン濃度を10 μM ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$)と想定した場合に、E2を90%および99%分解するのに必要な時間も示した。10 μM ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$)という濃度は通常のオゾン処理で考えられうる濃度である。見かけの反応速度定数が最も低いpH6.0においてもE2は数秒で99%以上分解され、実際のオゾン処理ではE2は非常に速やかに分解されていると推測された。

4. ま と め

本研究では、内分泌攪乱作用を有すると疑われている物質の中からDBPとE2を採り上げ、それぞれのオゾンおよびHO $\cdot$ との反応速度定数を求めた。本研究で得られた主な知見を以下に示す。

1) E2のオゾンとの二次反応速度定数は、E2初期濃度0.03~0.06 μM で測定したところ、非解離型および解離型についてそれぞれ $7.1(\pm 2.5) \times 10^4$ および $1.3(\pm 0.2) \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ であった。また、E2のHO $\cdot$ との二次反応速度定数は、E2初期濃度0.05~0.1 μM で検討した結果、非解離型の場合で $9.2(\pm 0.8) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ であった。

2) pH6~8でE2のオゾンとの見かけの二次反応速度定数は $10^5 \sim 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ と非常に高く、オゾン処理過程においてE2はオゾンとの直接反応により非常に速やかに分解されていることがわかった。

3) DBPのオゾンおよびHO $\cdot$ との二次反応速度定数は、それぞれ $<0.2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (DBP初期濃度: 9~10 μM) および $5.3(\pm 0.4) \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (DBP初期濃度: 0.09~0.54 μM)であった(ただし、HO $\cdot$ との反応速度定数はDBP- d_4 の値)。オゾンとの反応速度定数が低いため、オゾン処理中DBPはHO $\cdot$ によって分解されていることがわかった。

4) 共存物質が存在しない系で主にHO $\cdot$ によって分解されている物質間の処理中の残存率の関係は、少なくとも数 $\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ のDOMが共存している範囲内では、一定に保たれることが示された。

E2のようにターゲット物質がオゾンによって分解されている場合には、ターゲット物質のオゾンとの反応速度定数がわかれば、実処理中、オゾン濃度を制御するこ

とで共存物質の存在によらずターゲット物質の分解率の把握・制御が可能となる。一方で、DBPのようにターゲット物質が主にHO $\cdot$ によって分解される場合、HO $\cdot$ 濃度の測定および制御が困難であるため、ターゲット物質のHO $\cdot$ との反応速度定数を求めることは必要ではあるが、それだけでは処理過程でのターゲット物質の分解率の制御は難しい(ただし、共存するDOMの濃度が少なくとも数 $\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ までの範囲では、その存在の有無によらずターゲット物質間の残存率の関係は一定に保たれるため、HO $\cdot$ との反応速度定数が既知のある物質の挙動がわかれば、HO $\cdot$ との反応速度定数が機知の別の物質の処理過程での挙動を把握することはできる)。このような場合にターゲット物質の分解率を制御するためには、処理過程における共存物質のターゲット物質分解への影響についても知る必要があるとなる。

謝 辞

本研究の一部は、平成14年度科学研究費補助金(特別研究員奨励費)の援助を受けて行われた。ここに記して謝意を表す。

(原稿受付 2002年10月18日)

(原稿受理 2003年1月31日)

参 考 文 献

- 1) IUPAC 編 (1999) エンドクリン白書, 化学工業日報社.
- 2) 環境庁リスク対策検討会監修 (1997) 環境ホルモン外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する中間報告書, 株式会社環境新聞社.
- 3) 宍田健一(2002) オゾン/過酸化水素処理法による廃水処理システムの開発に関する研究, 京都大学大学院工学研究科博士論文.
- 4) Wenzel, A., Gahr, A. and Niessner, R (1999) TOC-removal and degradation of pollutants in leachate using a thin-film photoreactor, *Water Res.*, **33** (4), 937-946.
- 5) Hoigné, J. (1998) Chemistry of aqueous ozone and transformation of pollutants by ozonation and advanced oxidation processes, in "The Hand Book of Environmental Chemistry Vol.5 Part C Quality and Treatment of Drinking Water II" (Ed. Hrubec, J.).
- 6) Neta, P., Huie, R.E. and Ross, A.B. (1988) Rate constants for reactions of inorganic radicals in aqueous solution, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **17**, 1027-1284.
- 7) Yao, C.C.D. and Haag, W.R. (1991) Rate constants for direct reactions of ozone with several drinking water contaminants, *Water Res.*, **25** (7), 761-773.
- 8) Buxton, G.V., Greenstock, C.L., Helman, W.P. and Ross, A.B. (1988) Critical review of rate constants for reactions hydrated electrons, hydrogen atoms, and hydroxyl radicals (HO/O $\cdot$) in aqueous solution, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **17**, 513-886.
- 9) Haag, W.R. and Yao, C.C.D. (1992) Rate constants for reaction of hydroxyl radicals with several drinking water contaminants, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1005-1013.
- 10) Sedlak, D.L. and Andren, A.W. (1991) Aqueous-phase oxidation of polychlorinated biphenyls by hydroxyl radicals, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 1419-1427.
- 11) 環境省 (2001) 平成12年度第3回内分泌攪乱化学物質問題検討会.
- 12) Soto, A.M., Sonnenschein, C., Chung, K.L., Fernandez, M.F., Olea, N. and Serrano, F. (1995) The E-screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants, *Environ. Health Perspectives*, **103** (Supplement 7), 113-122.
- 13) 環境省 (2001) 平成12年度水環境中の内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン) 実態調査結果.
- 14) Hoigné, J. and Bader, H. (1983) Rate constants of reactions

- of ozone with organic and inorganic compounds in water-I non-dissociating organic compounds, *Water Res.*, **17**, 173-183.
- 15) Hoigné, J. and Bader, H. (1983) Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water-II dissociating organic compounds, *Water Res.*, **17**, 185-194.
- 16) Hoigné, J., Bader, H., Haag, W.R. and Staehein, J. (1985) Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water-III inorganic compounds and radicals, *Water Res.*, **19**, 993-1004.
- 17) Bader, H. and Hoigné, J. (1981) Determination of ozone in water by the indigo method, *Water Res.*, **15**, 449-456.
- 18) Bader, H., Sturzenegger, V., and Hoigné, J. (1988) Photometric method for the determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of *N,N*-dimethyl-*p*-phenylenediamine (DPD), *Water Res.*, **22**, 1109-1115.
- 19) Baga, A.N., Johnson, G.R.A., Nazhat, N.B., and Saadalla-Nazhat, R.A. (1988) A simple spectrophotometric determination of hydrogen peroxide at low concentrations in aqueous solution, *Anal. Chim. Acta*, **204**, 349-353.
- 20) Kosaka, K., Yamada, H., Matsui, S., Echigo, S. and Shishida, K. (1998) Comparison among the methods for hydrogen peroxide measurements to evaluate advanced oxidation processes: Application of a spectrophotometric method using copper (II) ion and 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 3821-3824.
- 21) Kinrany, R.Y. and Burgett M.J. (1967) The pK of five estrogens in aqueous solutions, *Archives of Biochem. and Biophys.*, **118**, 33-36.
- 22) Elovitz, M.S., von Gunten, U. and Kaiser, H.P. (2000) Hydroxyl radical/ozone ratios during ozonation II. The effect of temperature, pH, alkalinity, and DOM properties, *Ozone Sci. Eng.*, **22**, 123-150.
- 23) Haag, W. and Yao, C.C.D.: Ozonation of U. S. drinking water sources (1993) HO• concentration and oxidation-competition values, *Proc. 11th Ozone World Congress*, San Francisco, CA, S-17-119-S-17-126.