

(13) 溶存有機物を構成する窒素化合物の カルキ臭生成能

久本 祐資^{1*}・越後 信哉^{1,2}・伊藤 禎彦^{1,2}・大河内 由美子^{1,2}・小坂 浩司³

¹京都大学大学院 工学研究科 都市環境工学専攻 (〒615-8540 京都市西京区京都大学桂 C1棟)

²京都大学大学院 地球環境学学舎 (〒615-8540 京都市西京区京都大学桂 C1棟)

³国立保健医療科学院水道工学部 (〒351-0197 埼玉県和光市南2丁目3-6)

* E-mail: hisamoto@urban.env.kyoto-u.ac.jp

我が国の浄水処理過程では塩素消毒が行われているが、塩素消毒により発生するカルキ臭が水道水離れを引き起こす原因となっている。また、カルキ臭原因物質やその前駆体、生成機構は明らかになっていない。本研究では、原水中に存在する有機窒素化合物に着目し、個々の化合物に塩素処理を行いカルキ臭の強度を測定した。さらにオゾン処理が塩素処理後のカルキ臭に及ぼす影響を分析した。数種の遊離アミノ酸のカルキ臭生成能が高く、ジペプチドはカルキ臭生成能が低いことを示した。また、オゾン処理により遊離アミノ酸由来の臭気が低減可能であるが、ジペプチドでは増加しうることを示した。さらに、原水中での濃度と臭気強度による試算値から遊離アミノ酸がカルキ臭に大きく関与する場合があると推定した。

Key Words : chlorinous odor, odor strength, organic nitrogen compounds, sensory test, ozonation

1. はじめに

水道水の微生物学的安全性確保のために、我が国の浄水処理過程では塩素消毒が行われている。水道法第22条に基づく水道法施行規則第17条の規定¹⁾では、給水栓において遊離残留塩素濃度0.1 mg-Cl₂/L以上または結合残留塩素濃度0.4 mg-Cl₂/L以上を保持しなければならないとされている。しかし、塩素消毒により発生するカルキ臭が水道水の快適性を損ない、水道水離れを引き起こす一因となっている²⁾。

カルキ臭原因物質の1つとしてトリクロロミンが提案されており、無機のアンモニウムイオンや有機窒素化合物、特にアミノ酸がその前駆体として重要であると考えられている³⁾。また、塩素とアミノ酸の反応において、有機クロロミン、アルデヒド、およびN-クロロアルドイミンが生成し、それらが異臭味物質である可能性が指摘されている⁴⁾。しかし、カルキ臭原因物質やその前駆体構造、生成機構は依然として不明であり、どのような物質が塩素処理によってカルキ臭の生成に至っているのか十分に明らかになっていない。

カルキ臭の問題に対応するための方策の一つは、塩素

消毒の前段で、塩素消毒を行ったとしても、カルキ臭を発生させないような浄水処理を行っておくことである。

そのためには、カルキ臭原因物質の生成機構・特性を明らかにし、その前駆体の除去を可能にする合理的な浄水処理プロセスの構築が必要となる⁵⁾。また、原水や浄水処理プロセス中に存在する有機窒素化合物から異臭物質が生成されるとの指摘がある⁷⁾が、カルキ臭の寄与について定量的な評価がない。そこで、本研究では、カルキ臭原因物質前駆体の候補である有機窒素化合物由来のカルキ臭を測定した。また、アミノ化合物はオゾンと高い反応性を示す⁸⁾ため、塩素処理前にオゾン処理を行うことで、遊離アミノ酸やジペプチドのカルキ臭生成能がどのように変化するのか検討した。さらに、本研究で得られた個別物質由来の臭気強度とこれらの物質の浄水中の存在濃度からカルキ臭原因物質前駆体としての寄与について考察した。

2. 実験方法

本研究は4種類の実験的検討から構成される。まず(1)遊離窒素化合物のカルキ臭生成能を評価、次に(2)ジペプチドのカルキ臭生成能を評価、さらに(3)遊離アミノ酸とジペプチド由来のカルキ臭に及ぼすオゾン処理の影響について評価した後、最後に本研究で得られた個別物質由来の臭気強度とこれらの物質の検出濃度から(4)有機窒素化合物の由来の臭気のカルキ臭への寄与について考察した。以下この順で実験ごとに方法を述べる。ただし、分析方法については共通部分が多いため、(5)にまとめて記述した。

(1) 遊離窒素化合物の塩素処理に由来するカルキ臭生成特性

遊離窒素化合物に塩素処理を行い、臭気強度を測定し、カルキ臭原因物質前駆体の探索を行った。また、カルキ臭原因物質の1つと考えられているトリクロロアミン生成量(文献値)⁹⁾との比較を行った。

a) 対象物質と試薬

有機窒素化合物の中で環境水中に存在が確認されている遊離アミノ酸と遊離アミノ糖類⁹⁾について、カルキ臭生成能の評価を行った。遊離アミノ酸については α -アミノ酸20種類(全てL-アミノ酸)と環境水中に存在する β -アラニン、アミノ糖類については環境水中に存在するグルコサミンとガラクトサミンを対象物質とした。イソロイシンとプロリンはペプチド研究所製、トレオニンとチロシンは東京化成工業製、それ以外は和光純薬製試薬特級を用いた。遊離アミノ糖類についてはD-アミノ糖類でありグルコサミンは和光純薬製、ガラクトサミンは和光純薬製生化学用を用いた。また、リン酸緩衝液を調製するためのリン酸二水素カリウムとリン酸水素二ナトリウムは和光純薬製試薬特級、次亜塩素酸ナトリウムは和光純薬製化学用を用いた。なお、水溶液の調製や希釈はMILLIPORE社製のMilli-Q Academic A10で精製した超純水を用いた。

b) 臭気強度測定

まず、対象物質0.1 μ Mの溶液を調製し、リン酸緩衝液を0.1 mMになるように添加し、pHを7.0に調整した。次に、1日後の遊離残留塩素濃度が1 mg-Cl₂/Lになるように次亜塩素酸ナトリウム水溶液を添加し数回ガラス棒で攪拌後、100 mLメスフラスコにヘッドスペースをできるだけ小さくするように注入、密栓し、常温暗所で保存した。1日後、三点比較法¹⁰⁾を用いて官能試験を行い、臭気強度を測定した。

(2) ジペプチドの塩素処理に由来するカルキ臭生成特性

ジペプチドに塩素処理を行い、臭気強度を測定し、ジペプチドのカルキ臭生成能を評価した。また、塩素消費量も測定し、塩素との反応性について検討した。臭気強度の測定方法は(1)と同様であり、ジペプチドの濃度は0.1 μ Mとした。

a) 対象物質と試薬

遊離アミノ酸の中で塩素処理後に高い臭気強度を示したロイシン(Leu)とフェニルアラニン(Phe)、低い臭気強度を示したアラニン(Ala)を含むものを使用した。具体的には、同じ遊離アミノ酸で構成されるH-Leu-Leu-OH、H-Phe-Phe-OH、H-Ala-Ala-OHの3種類のジペプチドと、異なる遊離アミノ酸で構成されるH-Leu-Phe-OH、H-Phe-Leu-OH、H-Ala-Phe-OH、H-Phe-Ala-OHの4種類のジペプチドである。合わせて、そのジペプチドを構成する遊離アミノ酸についても臭気強度の測定を行った。具体的には、0.2 μ M Leu、0.2 μ M Phe、0.2 μ M Ala、0.1 μ M Leu+0.1 μ M Phe、0.1 μ M Phe+0.1 μ M Alaである。また、塩素消費量の測定は、10 μ M Leu、10 μ M Phe、10 μ M Alaについて行った。ジペプチドは全てBACHEM製、遊離アミノ酸は全て和光純薬製試薬特級を用いた。リン酸緩衝液に用いた試薬、次亜塩素酸ナトリウム、水溶液の調製や希釈に用いた超純水は(1)と同様である。

b) 塩素消費量測定

まず、対象物質10 μ Mの溶液を調製し、リン酸緩衝液を1 mMになるように添加してpHを7.0に調整した。次に、次亜塩素酸ナトリウム水溶液を3段階の濃度で添加し数回ガラス棒で攪拌後、100 mLメスフラスコにヘッドスペースをできるだけ小さくするように注入、密栓し、常温暗所で保存した。1日後、遊離残留塩素濃度を測定した。測定結果から1 mg-Cl₂/Lになるための注入塩素濃度(a) mg-Cl₂/Lを算出し、(a-1) mg-Cl₂/Lを塩素消費量とした。

(3) 遊離アミノ酸およびジペプチド由来のカルキ臭に及ぼすオゾン処理の影響

遊離アミノ酸とジペプチドについてオゾン処理を行った後、塩素処理を行い臭気強度を測定することで、遊離アミノ酸とジペプチド由来のカルキ臭の変化について調査した。また、オゾン処理を行った後、LC/MSにより残存量を測定することで、遊離アミノ酸とジペプチドの変化を調査した。

a) 対象物質と試薬

遊離アミノ酸の中で塩素処理後に高い臭気強度を示したロイシン(Leu)とフェニルアラニン(Phe)を対象とした。また、ジペプチドについては同じ遊離アミノ酸で構成されるH-Leu-Leu-OH、H-Phe-Phe-OHを使用した。遊離アミノ酸は全て和光純薬製試薬特級、ジペプチドは全て

BACHEM製を用いた。リン酸緩衝液に用いた試薬、次亜塩素酸ナトリウム、水溶液の調製や希釈に用いた超純水は(1)と同様である。

b) オゾン処理

オゾン処理は半回分式で行った。オゾンガスは高純度酸素(JAPAN AIR GASES)を原料に、オゾン発生器(AZH-3S, 浜松ベジタブル)を用いて生成させた。オゾン発生器に流入する酸素ガス圧および流量は定流量弁付き流量計(RK2503F, KOFLOC)を用いて、それぞれ0.2 MPa, 0.3 L/minに調整した。

c) 臭気強度測定

まず、0.2 μ M遊離アミノ酸と0.1 μ Mジペプチドの水溶液を調製した。調製した溶液(pH 6.35 $\pm$ 0.20, リン酸緩衝液は無添加)それぞれにオゾンを経過するように注入し10分間静置した。その後500 mLメスフラスコにヘッドスペースをできるだけ小さくするように注入、密栓した。後段の塩素処理までの試水の質的变化を避けるために、冷蔵保存にした。12時間後、リン酸緩衝液を0.1 mMになるように添加した後、1日後の遊離残留塩素濃度が1 mg-Cl₂/Lになるように次亜塩素酸ナトリウム水溶液を添加しガラス棒で数回撹拌した。さらに100 mLメスフラスコにヘッドスペースをできるだけ小さくするように注入、密栓し、常温暗所で保存した。1日後、三点比較法を用いて官能試験を行い、臭気強度を測定した。

d) 遊離アミノ酸とジペプチドの変化

まず、10 μ M遊離アミノ酸、10 μ Mジペプチドを調製した。調製した溶液(pH 6.30 $\pm$ 0.20, リン酸緩衝液は無添加)それぞれにオゾンを経過するように注入し10分間静置した。その後200 mLメスフラスコにヘッドスペースをできるだけ小さくするように注入、密栓した。後段のLC/MSによる測定までの試水の質的变化を避けるために、冷蔵保存にした。1日後、LC/MSにより残存量を測定した。また、遊離アミノ酸濃度とジペプチド濃度はLC/MSの感度上の制約のため、10 μ Mで測定を行った。このため、オゾン注入率も臭気強度測定よりも高い10 mg/Lとした。

(4) 遊離アミノ酸とジペプチドのカルキ臭への寄与

本研究で得られた個別物質由来の臭気強度と浄水プロセス中の検出濃度からカルキ臭の試算値を算出した。浄水プロセス中の濃度を求めるために、琵琶湖・淀川水系から取水し、高度浄水処理を行っているA浄水場から塩素処理前の水つまりオゾン/活性炭後の水を採取した。A浄水場では凝集沈殿、中オゾン処理、砂ろ過、後オゾン処理、粒状活性炭処理を行っている。前処理として採取した水5000 mLを500 mLまでロータリーエバポレータ(RE71, Yamato)で50℃にて、10倍に濃縮した。なお、バ

キュームコントローラ(NVC-1100, EYELA)で20 mbarに調節を行った。10倍濃縮後、遊離アミノ酸の測定を行った。あわせて浄水処理プロセス中の遊離アミノ酸の濃度について文献調査を行った。

(5) 分析方法

a) 遊離残留塩素濃度

塩素消費量を求める時や臭気強度測定の際の確認の時に、遊離残留塩素濃度を測定した。まず1日間100 mLメスフラスコに保存した溶液をメスピペットを用いて100 mLに調整してから、その溶液100 mLの遊離残留塩素濃度をDPD/FAS滴定法¹⁰⁾により測定した。

b) 臭気強度

従来の上水試験方法に比べてパネル間のばらつきが少なく再現性、客観性に優れた三点比較法¹⁰⁾による官能試験を用いて測定を行った。無臭水はMILLIPORE社製のMilli-Q Academic A10で精製した超純水を用いた。またウォーターバスで加熱する際の水はMILLIPORE社製のElix純水製造システムで精製した純水を用いた。サンプルの加温温度は40℃であり測定中も40℃を維持した。希釈列はあらかじめ8段階に設定し、希釈倍率の低い試料、つまり検水の濃度が高い試料から行う下降系列で測定を行った。1回目の希釈列は希釈倍率が20, 30, 50, 75, 100, 125, 150, 200の8段階になるように設定し、2回目の測定時は1回目の測定結果を考慮にして希釈列を作成した。パネルは6人とし、最高値と最低値を除き、残り4人の臭気強度の幾何平均値を算出し、その試料の臭気強度とした。幾何平均値をとった理由は正常な嗅覚をもつ者の嗅覚分布がほぼ対数正規分布に従うためとみなされるためである¹²⁾。各試料2回ずつ測定を行い、算術平均をとった。また、手の臭いがフラスコに付着することを防止するために、パネルおよびオペレータは官能試験中ポリエチレン製手袋を着用した。

c) 遊離アミノ酸とジペプチドのLC/MSによる測定

遊離アミノ酸とジペプチドのオゾン処理後の残存量についてLC/MSで測定を行った。LC部はWaters 2695 Separations Moduleを、MS部はmicromass ZMDを使用した。

表-1 LC/MSの分析条件

溶媒	0.05% 酢酸 アセトニトリル
分析カラム	Atlantis dC18(Waters)
カラム温度	30℃
流量	0.2 mL/min
コーン電圧	40 V
Source Temp.	120℃
Desolvation Temp.	400℃

分析条件を表-1 に示す。また、遊離アミノ酸とジペプチドそれぞれで疎水性・親水性が異なるため溶離液の最適な混合比を検討した。その結果を表-2 に示す(イソクラティック分析で測定を行った)。

d) 遊離アミノ酸のHPLCによる測定

遊離アミノ酸の濃度測定は、高速液体クロマトグラフ(Prominenceアミノ酸分析システム、島津製作所)を用いて、 α -フタルアルデヒドによるポストカラム誘導体化法によって行った。測定条件を表-3 に示す。

表-2 溶離液の混合比

分析対象	溶離液(%)	
	ギ酸	アセトニトリル
Leu	92	8
Leu-Leu	80	20
Phe	85	15
Phe-Phe	75	25

表-3 アミノ酸分析条件

システム	SHIMADZU CBM-20A	
グラジエント	LC-20AB	
送液システム	LC-20AB	
溶離液	A液	0.15 Nくえん酸リチウム(pH2.6) (7%メチルセロソルブを含む)
	B液	0.30 Nくえん酸リチウム 0.20 Mほう酸(pH10.0)
緩衝液	C液	0.20 M水酸化リチウム
	炭酸-ほう酸緩衝液	(pH10.0) 0.0025%次亜塩素酸ナトリウム
OPA試薬液	0.08%オルトフタルアルデヒド 1.40%メタノール 0.04%ポリオキシ エチレンウリルエーテル 0.10% N-アセチル-L-システイン 炭酸-ほう酸緩衝液(pH10.0)	
分析カラム	Shim-Pack AMINO LI	
アンモニア	Shim-Pack ISC-30	
トラップカラム	Shim-Pack ISC-30	
検出器	蛍光検出器RF-10A	
測定波長	励起波長	350 nm
	蛍光波長	450 nm
流量	溶離液	0.6 mL/min
	反応試薬	0.2 mL/min
カラム恒温槽温度	39 °C	
測定時間	163 min	

3. 実験結果と考察

(1) リン酸緩衝液について

pHを7.0に調整するために、リン酸緩衝液を使用した。次亜塩素酸ナトリウム水溶液を添加したとき、一定のカルキ臭が感じられた。リン酸緩衝液の調製に用いたリン酸二水素カリウムやリン酸水素二ナトリウムにアンモニウム塩などの不純物が含まれていることなどが原因として考えられる。また、超純水に1日後の遊離残留塩素濃度が1 mg-Cl₂/Lになるように次亜塩素酸ナトリウムを添加し、臭気強度を測定した結果は20であった。すなわち塩素自体の臭気強度が20であった。同時に測定した0.1 mMリン酸緩衝液と1 mMリン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度が23と52であったことから、0.1 mMリン酸緩衝液では塩素自体の臭気との差はないと判断し、以後の実験では、0.1 mMの濃度に設定した。0.1 mMリン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度は25(12回の測定の幾何平均25.4)(常用対数値の算術平均1.404, 常用対数値の標準偏差 $\sigma = 0.153$)であり、以下この値よりも十分に大きい場合に、その試料がカルキ臭原因物質前駆体になりうると判断することとした。具体的には臭気強度が対数正規分布に従うと仮定した分布による母平均の区間推定を行った結果、95%信頼区間は12-55であり、塩素処理後の臭気強度が55以上になる試料をカルキ臭原因物質前駆体と判断した。また、塩素処理後の臭気強度が25よりも低い試料があったが、本研究における臭気強度の最低値19はリン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度の60%信頼区間に収まっており、測定誤差と判断した。

(2) 遊離アミノ酸の塩素処理後に由来するカルキ臭生成特性

a) 臭気強度

遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度を図-1 に示す。対象とした21種類の遊離アミノ酸のうち、チロシン(Tyr)、フェニルアラニン(Phe)、アスパラギン(Asp)、ロイシン(Leu)、バリン(Val)、プロリン(Pro)、メチオニン(Met)、アルギニン(Arg)は塩素処理後に55以上と高い臭気強度を示した。フェニルアラニン、ロイシン、およびバリンは原水での検出濃度が高く、これらに由来するアルデヒドや α -クロロアルドイミンが給水栓水で確認されている¹⁰⁾。また、塩素処理後に最も高い臭気強度を示したチロシンについても、アメリカの浄水場では処理水中に存在する主な遊離アミノ酸の一つであった⁷⁾。したがって、これらの遊離アミノ酸はカルキ臭原因物質前駆体である可能性が高いといえる。

b) トリクロロアミン生成量

文献値⁹⁾より α -アミノ酸の塩素処理によるトリクロロ

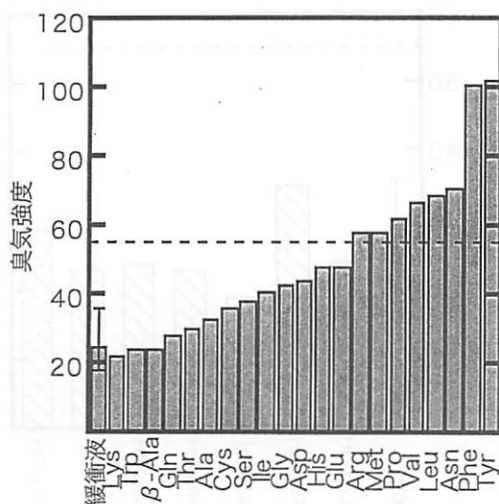


図-1 遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度
(エラーバーは標準偏差, 点線はカルキ臭
原因物質前駆体の判断基準である臭気強度55)

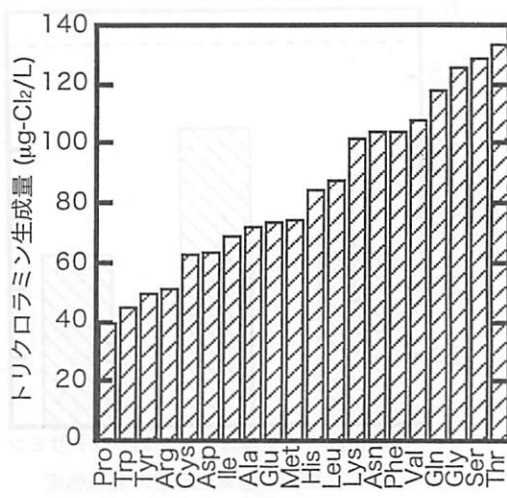


図-2 トリクロロミン生成量

ミン生成量を図-2 に示し, 本実験で測定した臭気強度との比較を図-3 に示す. なお, トリクロロミン生成量の反応条件は, 臭気強度の反応条件とは異なり, 対象物質 5 μ M の溶液を調製しリン酸緩衝液を 1 mM になるように添加し 1 日後の遊離残留塩素濃度が 1 ± 0.2 mg-Cl₂/L になるようにしたものである. ただし, 臭気強度とトリクロロミン生成量の反応条件は, 対象物質濃度と緩衝液濃度以外は同一であり, 大小関係を比較することには差し支えないと判断した.

トリクロロミン生成量と臭気強度に相関は見られなかった (相関係数は -0.163). 個々の物質に着目すると, 側鎖にヒドロキシ基をもつトレオニンやセリンのトリクロロミン生成量が高く, モルあたりのトリクロロミンへの変換率は 30% とアンモニアの 40% と比較しても高い値を示した⁹⁾. また, トレオニンやセリンは塩素との反応において, N-クロロアルドイミン, アルデヒド, およびニトリルをほとんど生成しない¹⁰⁾ことが知られていることから, 主要な反応生成物はトリクロロミンや有機クロロミンと考えられる. これらの知見と, トレオニンやセリンの塩素処理後の臭気強度がそれぞれ 30, 38 で高いこと, トリクロロミン生成量が少ないプロリンやチロシンの塩素処理後の臭気強度がそれぞれ 62, 102 と高いことを考慮すると, 有機窒素化合物由来のトリクロロミンのカルキ臭への寄与は他の有機臭気物質に比べて小さいと考えられる.

c) 個別のアミノ酸のカルキ臭生成特性に関する反応論的考察

フェニルアラニンは塩素処理後に高い臭気強度を示し

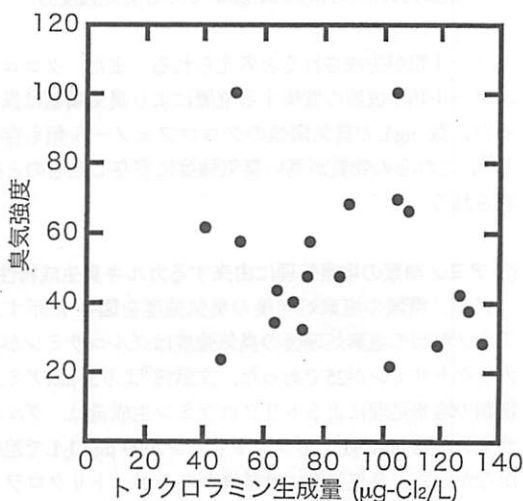


図-3 トリクロロミン生成量と臭気強度

た. フェニルアラニンは塩素との反応により, $ClN < 1$ のときには N-クロロフェニルアラニンやフェニルアセトアルデヒドを, $ClN > 1$ のときには N-クロロフェニルアセトアルドイミンやフェニルアセトニトリルを生成する¹¹⁾. 本実験では後者が主反応であり, N-クロロフェニルアセトアルドイミンは, 分解が非常に遅いことやフェニルアセトニトリルの臭気閾値である 1200 μ g/L に比べて 3 μ g/L と低い¹²⁾ことから N-クロロフェニルアセトアルドイミンが臭気強度が高くなった主要因であると考えられる.

チロシンは塩素処理後に最も高い臭気強度を示した. チロシンは塩素消費量もトリプトファンに次いで高く⁹⁾芳香環のヒドロキシ基が電子供与性であり置換反応を促進するためと考えられる. つまり, 塩素との反応でアミノ基との反応以外に置換反応が起こっており, クロロフ

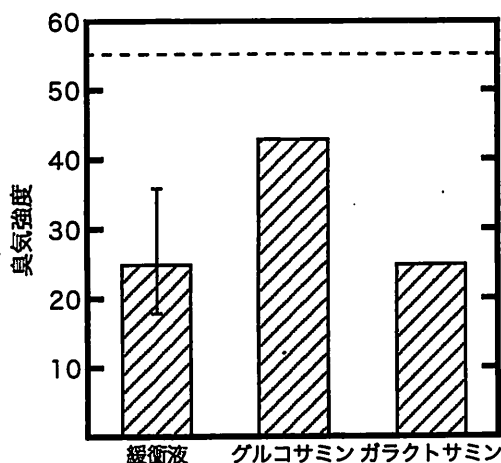


図4 アミノ糖類の塩素処理後の臭気強度
(エラーバーは標準偏差、点線はカルキ臭原因物質前駆体の判断基準である臭気強度55)

エノール類が生成されると考えられる。また、クロロフェノール類は塩素の置換する位置により臭気閾値は異なるが、数 $\mu\text{g/L}$ の臭気閾値のクロロフェノール類も存在し¹⁰⁾、これらの物質が高い臭気強度に寄与したものと推察される。

(3) アミノ糖類の塩素処理に由来するカルキ臭生成特性

アミノ糖類の塩素処理後の臭気強度を図4に示す。アミノ糖類の塩素処理後の臭気強度はグルコサミンが43、ガラクトサミンが25であった。文献値⁷⁾より5 μM アミノ糖類の塩素処理によるトリクロロアミン生成量は、グルコサミンが98 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ 、ガラクトサミンが99 $\mu\text{g-Cl}_2/\text{L}$ で差異がなかった。臭気強度には差異があるが、トリクロロアミン生成量には差異がないことから、トリクロロアミン以外の生成物による影響が考えられる。また、環境水中の存在量については総アミノ酸が100-300 $\mu\text{g/L}$ である⁷⁾ のに対して、総アミノ糖類は0.2-5 $\mu\text{g/L}$ であるとの報告がある¹⁷⁾。また、アメリカのある浄水場の処理水の検出濃度が遊離グルコサミンと遊離ガラクトサミンがそれぞれ0.018 $\mu\text{g-N/L}$ 、0.010 $\mu\text{g-N/L}$ であった⁷⁾。臭気強度と検出濃度を考慮すると、カルキ臭への寄与は小さいと考えられる。

(4) ジペプチドの塩素処理に由来するカルキ臭生成特性

a) 臭気強度

ジペプチドの塩素処理後の臭気強度を図5に示す。どのジペプチドを塩素処理しても極端に臭気強度が高くなることはなかった。最高値はH-Phe-Phe-OHの35であり遊離アミノ酸の中で高い臭気強度を示していたロイシンやフェニルアラニンを含んでいるにもかかわらず、最高

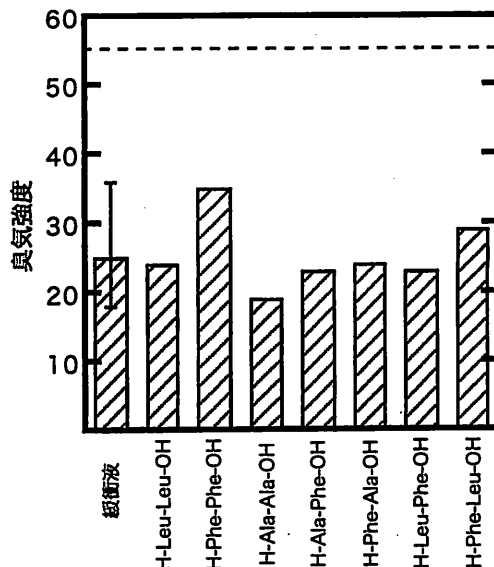


図5 ジペプチドの塩素処理後の臭気強度
(エラーバーは標準偏差、点線はカルキ臭原因物質前駆体の判断基準である臭気強度55)

表4 ジペプチドの塩素消費量

溶液 (10 μM)	塩素消費量 ($\text{mg-Cl}_2/\text{L}$)
H-Ala-Ala-OH	1.71
H-Leu-Leu-OH	1.38
H-Phe-Phe-OH	1.51
H-Ala-Leu-OH	1.32
H-Leu-Ala-OH	1.11
H-Ala-Phe-OH	1.50
H-Phe-Ala-OH	1.67
H-Leu-Phe-OH	1.65
H-Phe-Leu-OH	1.38
Ala	1.61
Leu	1.72
Phe	2.06

値はH-Phe-Phe-OHの35と低い値となり、ジペプチドのカルキ臭生成能は低いと考えられた。

b) 塩素消費量

ジペプチドの塩素消費量を表4に示す。塩素消費量は同モル濃度の遊離アミノ酸と同程度、あるいは若干低い傾向が見られた。このため、反応に関与するのは末端のアミノ基のみで、ペプチド結合の反応性は低いと考えられた。ペプチド結合の反応性は低いことから結合アミノ酸の塩素処理による生成物は高分子であり、ジペプチドの塩素処理後の臭気強度が低いことや遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度が高いことから、結合アミノ酸の

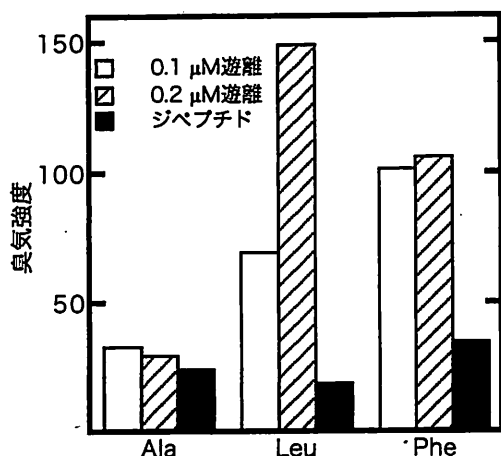


図6 同じ遊離アミノ酸で構成されるジペプチドの塩素処理後の臭気強度

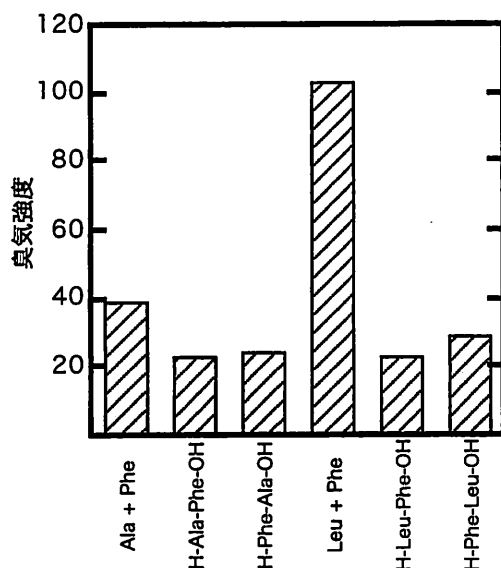


図7 異なる遊離アミノ酸で構成されるジペプチドの塩素処理後の臭気強度

塩素処理副生成物のカルキ臭への寄与は小さいと考えられる。

c) 遊離アミノ酸との比較

同じ遊離アミノ酸で構成されるジペプチドとその遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度を図6に示す。アラニンについては濃度を2倍にしても臭気強度は低いままであり、カルキ臭への寄与は小さいと考えられる。また、ロイシンについては濃度が0.2 μMの場合、0.1 μMと比べて塩素処理後の臭気強度が2倍以上になり、臭気強度が非常に高いことから、カルキ臭原因物質前駆体として重要であると考えられる。フェニルアラニンについても、0.1 μM、0.2 μMのどちらの場合も、臭気強度が高いこと

から、カルキ臭原因物質前駆体として重要である。フェニルアラニンは0.1 μMと0.2 μMであり差が見られなかったが、この原因として異臭味物質の濃度と臭気強度が一概に比例関係にあるとはいえないことやパネルの違いが考えられる。アラニンやロイシン同士で構成されるジペプチドについてはリン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度25よりも低く、カルキ臭への寄与がないと考えられる。

異なる遊離アミノ酸で構成されるジペプチドとその遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度を図7に示す。ジペプチドの塩素処理後の臭気強度は、異なる遊離アミノ酸で混和された溶液よりも低い値となった。このことからジペプチドは遊離アミノ酸よりカルキ臭生成能が低いと考えられる。また、アラニンとフェニルアラニンが混和された溶液の塩素処理後の臭気強度が、フェニルアラニンが混和されているのにも関わらず高い値にならなかった。パネルから刺激臭の後に、フェニルアラニンに塩素を加えたときに発する臭いがすると報告されたことから、臭いのマスキング効果があったと考えられる。

環境水中ではペプチドなどの結合アミノ酸が遊離アミノ酸に比べて圧倒的に多いが、浄水処理において除去されるのが結合アミノ酸である⁷⁾ことを考慮すると、遊離アミノ酸のほうがカルキ臭原因物質前駆体として重要であると示唆された。

(5) 遊離アミノ酸およびジペプチド由来のカルキ臭に及ぼすオゾン処理の影響

a) オゾン処理にともなうカルキ臭生成能の変化

対象とした遊離アミノ酸とジペプチドに、塩素処理をする前にオゾン処理を行っていない場合とオゾン処理を行った場合の臭気強度を図8に示す。遊離アミノ酸については、ロイシンとフェニルアラニンのどちらもオゾ

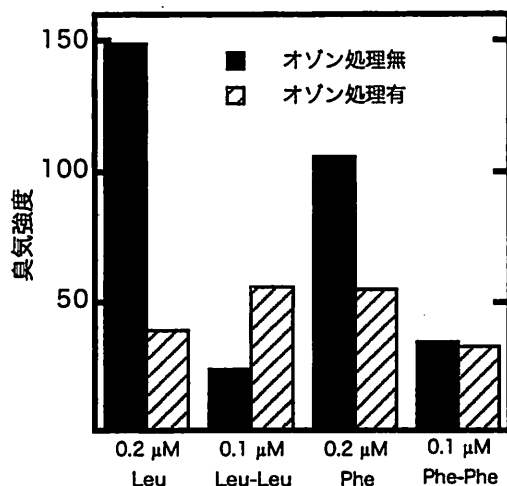


図8 オゾン処理による臭気強度の変化

表-5 オゾン処理による変化

溶液	処理前濃度 (μM)	処理後濃度 (μM)
Leu	10	4.08
Leu-Leu	10	1.87
Phe	10	0.06
Phe-Phe	10	0.51

ン処理を行うことで塩素処理後の臭気強度に大幅な減少が見られた。また、フェニルアラニン同士で構成されるジペプチドはオゾン処理を行っても塩素処理後の臭気強度に変化が見られず低い値のままであった。しかし、ロイシンで構成されるジペプチドはオゾン処理を行うことで、塩素処理後の臭気強度が増加した。このことからオゾン処理を行うことで、物質によっては臭気強度が増加する可能性が示された。

b) オゾン処理にともなう遊離アミノ酸とジペプチドの変化

遊離アミノ酸とジペプチドのオゾン処理による残存量を表-5に示す。遊離アミノ酸とジペプチドのどちらも大幅な減少が確認された。アミノ基とオゾンの反応性が高い⁹⁾ため減少したと考えられる。ロイシンよりもフェニルアラニンの減少量が多いことをふまえると、アミノ基だけでなく芳香環とも反応したと考えられる。ロイシンについては、遊離アミノ酸よりもジペプチドのほうが大きく減少しており、アミノ基が反応しただけでなくペプチド結合が開裂した可能性がある。

遊離アミノ酸については、オゾン処理によりアミノ基が反応し、塩素処理による異臭気物質の生成が減少したと考えられる。ジペプチドについては、ロイシンはオゾン処理により大きく減少し臭気強度が増加したことから、オゾン処理により異臭気物質を生成する前駆体に変化したことを示している。

(6) 遊離アミノ酸がカルキ臭に及ぼす影響の推定

遊離アミノ酸のカルキ臭への寄与を試算をするために、高度浄水処理を行っているA浄水場の塩素処理前つまりオゾン/活性炭後の水を採取し、遊離アミノ酸を測定した。また、その結果と合わせて、米国の16カ所の浄水場の流入水の遊離アミノ酸濃度の平均⁷⁾ (以下Dotson)、コロラド川から取水している浄水場の流入水の遊離アミノ酸濃度¹⁰⁾ (以下Chin)、A浄水場の塩素処理前の水の遊離アミノ酸濃度¹⁰⁾ (以下石川)を表-6に示す。

臭気強度と表-6の結果を用いて遊離アミノ酸とペプチド由来の臭気強度を試算した。結合アミノ酸は、臭気強度の高い遊離アミノ酸で構成されたジペプチドでさえ塩素処理後の臭気強度が低い値であったため、カルキ臭

表-6 遊離アミノ酸検出濃度

遊離アミノ酸	実験値	Dotson	Chin	石川
	O ₃ /GAC	流入水	流入水	O ₃ /GAC
グリシン	0.007	0.0070	0.031	-
アラニン	0.003	0.0035	0.049	0.03
バリン	-	0.0025	0.007	-
ロイシン	-	0.0025	0.006	0.04
イソロイシン	-	0.0015	0.005	-
メチオニン	-	0.0010	0.012	0.05
セリン	0.012	0.0085	0.049	-
トレオニン	-	0.0025	0.019	-
アスパラギン酸	-	0.0025	0.010	0.07
グルタミン酸	-	0.0035	-	-
プロリン	0.007	0.0025	0.074	-
フェニルアラニン	-	0.0020	0.004	0.08
チロシン	-	0.0025	0.010	-
リシン	-	0.0025	0.002	-
ヒスチジン	0.004	0.0030	0.005	-
アルギニン	-	0.0025	0.048	-
合計	0.033	0.0500	0.332	0.27

単位 (μM)

への寄与は無視できると仮定した。また、混合物の臭気強度については異なる物質間の相乗効果やマスキング効果も考えられるが、定量的な評価の知見がないため、ここでは相加的であると仮定した。すなわち複数の異なる物質が共存する場合の臭気強度は、(各遊離アミノ酸の塩素処理後の臭気強度-リン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度25) × (各遊離アミノ酸の検出濃度 (μM) / 0.1 (μM)) + (リン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度25)により求めた。それぞれ試算値は、今回測定したアミノ酸濃度(表-6中の実験値)からの推定値で32、Dotsonで38、Chinで109、石川で136であった。

遊離アミノ酸の検出濃度は採水日や場所、浄水処理過程において異なり、その結果カルキ臭の試算値にも幅があった。これらの試算値のうち、リン酸緩衝液の塩素処理後の臭気強度25を引いた遊離アミノ酸由来のカルキ臭の強度だけでも十分大きい値となる場合があり、遊離アミノ酸がカルキ臭に与える影響は大きいと推定された。また異なる物質の臭気強度は相加的であると仮定したが、マスキング効果も考えられ、複数物質が共存するときの臭気については今後の課題である。また、遊離アミノ酸の濃度が低い場合もあり、今後アンモニアなどの遊離アミノ酸以外のカルキ臭の寄与も検討する必要がある。

4. まとめ

以下に得られた知見をまとめる。

- (1) 遊離アミノ酸や遊離アミノ糖類についてカルキ臭生成能の検討を行った結果、個々物質で大きく異なり、チロシン、フェニルアラニン、アスパラギン、ロイシン、バリン、プロリン、メチオニン、アルギニンのカルキ臭生成能が高いことが示された。
- (2) ジペプチドは遊離アミノ酸に比べて臭気強度が大きく減少した。また、原水では結合アミノ酸の方が高濃度で検出されるが、浄水プロセス中での存在濃度比を考慮すると、結合アミノ酸よりも遊離アミノ酸のほうがカルキ臭原因物質前駆体として重要であると示唆された。
- (3) オゾン処理を行うことで遊離アミノ酸については塩素処理後に大幅に臭気強度が減少することが確認された。ジペプチドについては、ロイシンの塩素処理後の臭気強度が増加した。LCMSによるアミノ酸分析により、オゾン処理を行うことで遊離アミノ酸とジペプチドのどちらも減少したことから、遊離アミノ酸はカルキ臭原因物質前駆体から変化することが、ジペプチドについてはカルキ臭原因物質前駆体へと変化しうることが示された。
- (4) それぞれの遊離アミノ酸由来の臭気強度と検出濃度から、遊離アミノ酸由来のカルキ臭の試算値を求めると、非常に大きくなる場合もあることがわかった。

謝辞：本研究は、厚生労働科学研究費補助金地域健康管理研究事業「水道水異臭被害に及ぼす原因物質の同定・評価および低減化技術に関する研究」の一部として行った。

参考文献

- 1) 厚生労働省：水道法施行規則第十七条、厚生労働省令第一七五号、2008。
- 2) 伊藤慎彦、城征司、平山修久、越後信哉、大河内由美子：水道水に対する満足感の因果モデル構築と満足感向上策に関する考察、水道協会雑誌、Vol. 76, No. 4, pp.25-37, 2007。
- 3) Kajino, M., Morizane, K., Umetani, T. and Terashima, K.: Odors arising from ammonia and amino acids with chlorine during water treatment, *Water Sci. Technol.*, Vol. 40, No. 6, pp. 107-114, 1999。
- 4) Froese, K. L., Wolanski, A. and Hrucey, S. E.: Factors governing odorous aldehyde formation as disinfection by-products in drinking water, *Water Res.*, Vol. 33, No. 6, pp. 1355-1364, 1999。
- 5) Freuze, I., Brosillon, S., Laplanche, A., Tozza, D. and Cavard, J.: Effect of

chlorination on the formation of odorous disinfection by-products, *Water Res.*, Vol. 39, No. 12, pp. 2636-2642, 2005。

- 6) 伊藤慎彦、越後信哉：水の消毒副生成物、技報堂出版、2008。
- 7) Dotson, A. and Westerhoff, P.: Occurrence of amino acids during drinking water treatment, *J. Am. Water Works Assoc.*, Vol. 101, No. 9, pp. 101-113, 2009。
- 8) 日本オゾン協会：オゾンハンドブック、サンヨー書房、2004。
- 9) 小坂浩司、鈴木恭子、伊藤貴史、越後信哉、浅見真理、秋葉道宏：アミノ酸の塩素処理によるトリクロロミン生成特性、環境工学研究論文集、2010. (in press)
- 10) 柳橋泰生、樫大維、伊藤慎彦、越後信哉、宮本太一、大河内由美子：臭気強度 (TON) の測定における三点比較法の適用、水道協会雑誌、Vol. 78, No. 1, pp. 2-12, 2009。
- 11) Andrew, D. E., Lenore, S. C., Eugene, W. R. and Arnold, E. G.: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 21st ed., APHA, AWWA, and WEF, 2005。
- 12) 豊田文一、北村武、高木貞敬：嗅覚障害-その測定と治療、株式会社医学書院、1978。
- 13) Brosillon, S., Lemasse, M., Renault, E., Tozza, D., Heim, V. and Laplanche, A.: Analysis and occurrence of odorous disinfection by-products from chlorination of amino acids in three different drinking water treatment plants and corresponding distribution networks, *Chemosphere*, Vol. 77, No. 8, pp. 1035-1042, 2009。
- 14) Conyers, B. and Scully, F. E. Jr.: *N*-Chloroalkimines. 3. Chlorination of phenylalanine in Model Solutions and in a Wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 27, pp. 261-266, 1993。
- 15) Suffet, I. H., Khiri, D. and Bruchet, A.: The drinking water taste and odor wheel for the millennium: beyond geosmin and 2-methylisoborneol, *Water Sci. Technol.*, Vol. 40, No. 6, pp. 1-13, 1999。
- 16) Young, F. W., Horth, H., Crane, R., Ogden, T. and Amott, M.: Taste and odour threshold concentrations of potential potable water contaminants, *Water Res.*, Vol. 30, No. 2, pp. 331-340, 1996。
- 17) Garrasi, C., Degens, E. T. and Mopper, K.: The free amino acid composition of seawater obtained without desalting and preconcentration: *Mar. Chem.*, Vol. 8, pp. 71-85, 1979。
- 18) Russell Chinn and Sylvia E. Barrett: Occurrence of amino acids in two drinking water sources, *American Chemical Society*, pp. 97-108, 1999。
- 19) 石川卓：浄水中に同化可能有機炭素を基質とする微生物増殖に対して残留塩素濃度低減が与える影響、京都大学大学院工学研究科修士論文、2009。

(2010. 5. 21 受付)

Chlorinous Odor Formation Potential from Dissolved Organic Nitrogen Compounds

Yusuke HISAMOTO¹, Shinya ECHIGO^{1,2}, Sadahiko ITOH^{1,2}, Yumiko OHKOUCHI^{1,2}
and Koji KOSAKA³

¹Dept. of Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University

²Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University

³Dept. of Water Supply Engineering, National Institute of Public Health

Chlorination is widely used for water disinfection in Japan, but people complain about chlorinous odor of drinking water. Also, substances responsible for chlorinous odor, their precursors and their formation mechanism are still unknown. In this study, individual organic nitrogen compounds were chlorinated and their odor strengths were evaluated. In addition, the effect of ozonation on chlorinous odor was investigated. Chlorinous odor formation potentials of several amino acids were high and those of dipeptides were low. Ozonation could reduce chlorinous odor from free amino acids, but could increase chlorinous odor from dipeptides. Estimation of the contribution of free amino acids to chlorinous odor based on their actual concentration and their odor strengths obtained in this study showed that free amino acids were important precursors of chlorinous odor.