

令和元年5月12日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00516

研究課題名(和文) 紫外線LEDを用いた活性酸素生成デバイスの創出と光化学的な物質動態評価への展開

研究課題名(英文) Development of a hydroxyl radical generation device with a high power ultraviolet light emitting diode (UV-LED) and application for investigation of the photochemical fates of pollutants

研究代表者

竹田 一彦 (Takeda, Kazuhiko)

広島大学・生物圏科学研究科・准教授

研究者番号：00236465

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では紫外線LEDと亜硝酸イオンを用いて高効率で選択的なヒドロキシルラジカルの発生デバイスを作成し、それを用いてヒドロキシルラジカルと物質の迅速で簡易な反応速度定数を計測するためのフロー分析装置を開発した。この装置を持って環境中に放出される可能性のある殺虫剤や除草剤などの農薬や医薬品のヒドロキシルラジカルとの反応速度数を決定した。また、これらの物質の光化学的な分解速度を計測した。その上でこれらの物質の環境中での光化学的寿命を推定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では数多くの低分子有機化合物や無機塩、殺虫剤や除草剤などの農薬、医薬品のヒドロキシルラジカルとの反応速度定数を決定することができた。これまでの報告値との比較から本法の有効性を証明することができた。また、これらの反応速度定数の結果から個々の物質の光化学的な半減期の推定を行うことができた。さらに、本研究では紫外線LEDと亜硝酸イオンの組み合わせによって高効率でヒドロキシルラジカルが発生できることを示し、これらの様々な応用の可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we propose a simple, efficient and selective hydroxyl radical generation system based on the photolysis of nitrite with a high-power ultraviolet light emitting diode (UV-LED). The system was used to determine the reaction rate constants between hydroxyl radicals and chemicals based on the competition method. The reaction rate constants between hydroxyl radicals and some organic pollutants, such as pesticide, herbicide and pharmaceuticals, were determined. They are widely utilized in whole of the world and can be frequently detected in a variety of aquatic environments. The direct photochemical degradation rates were also determined. We evaluated the photochemical fates of the pollutants using the hydroxyl radical reaction rate constant and the direct photodegradation rate.

研究分野：環境分析化学

キーワード：ヒドロキシルラジカル 亜硝酸イオン 紫外線LED テレフタル酸 除草剤 殺虫剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

活性酸素は様々な液相において絶えず発生している。活性酸素は環境中では自然太陽光の入射による光化学反応や過酸化水素と金属イオンの反応によって発生する。活性酸素の反応性は極めて高く、かつ非特異的、多様であり、水圏の様々な物質と反応し、これらの物質の寿命や循環に影響をおよぼす。特に難分解性で残留性の高い物質では、自然太陽光が誘発する活性酸素による分解過程や直接的な光化学分解過程が重要な分解経路になる。これらの物質の分解経路を含めた動態を把握することは、生態系への影響や我々人類に対する影響を評価する上で欠かせない情報になる。

環境中における活性酸素の反応過程の解析は、系内の物質と活性酸素との反応速度をもとに定常状態を仮定して解析を行うのが一般的である。この時、物質と活性酸素の反応速度定数は必要不可欠なパラメーターである。反応速度定数の計測法はパルスラジオリシスなどトランジェントな方法と定常状態での競争反応に基づく方法があるが、いずれの方法においても、十分な濃度での活性酸素の発生と、対象物質もしくは活性酸素の高感度検出法が不可欠である。しかし、従来法では物質の濃度の制限や試料マトリックスへの制限、副反応で生成する別の活性酸素の影響、必要試料量の問題、特殊な装置やガス雰囲気など様々な問題があり、また、測定条件によっては得られたデータの適応範囲にも制限があった。

そこで数多くの化学物質について、活性酸素との反応速度定数を簡易・迅速に、かつ、様々なマトリックス中で網羅的に測定できる新規な計測方法が切望されている。そのためには高濃度、高効率、高選択性の活性酸素生成デバイスと高感度検出法が不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では近年、環境中での動態が注目されている農薬や医薬品、医薬部外品の光化学的動態の評価を最終的な目的として、これらの物質の環境中での寿命を決定づける活性酸素との反応速度定数の迅速な計測法を確立する。そこで、近年急速に発展した高出力紫外線発光ダイオードを用いて高濃度、高効率、高選択性の活性酸素生成デバイスを創出し、これに申請者が培ってきた活性酸素の高感度検出法を組み合わせた新たな反応速度定数の計測法を開発する。その上で環境中での光化学過程の役割を明らかにするとともに、活性酸素が物質循環へ及ぼす影響を考察する。

3. 研究の方法

(1) 紫外線 LED を用いたヒドロキシルラジカルの発生

ヒドロキシルラジカルは亜硝酸ナトリウム溶液に 365 nm の高出力紫外線 LED (ナイトライド セミコンダクター、NS365L-6SMG) を照射することで発生させた。発生したヒドロキシルラジカルの検出はテレフタル酸 (TP) を用いた。TP はヒドロキシルラジカルと反応し、強い蛍光を発する 2-ヒドロキシテレフタル酸 (HTP) を生成する。本研究ではこの HTP を蛍光光度計または蛍光検出高速液体クロマトグラフィーで検出した。

(2) 紫外線 LED を用いたヒドロキシルラジカルと物質の反応速度定数の測定

ヒドロキシルラジカルとの反応速度定数は TP プロブに用いて、TP と測定物質 X との競争反応を利用し測定した。TP と測定物質 X が共存する溶液中でヒドロキシルラジカルを発生させると、ヒドロキシルラジカルは TP と測定物質 X の間で競争的に反応し HTP の生成が抑制される。ここで測定物質 X の濃度を [X]、X とヒドロキシルラジカルとの反応速度定数 k_x 、TP の濃度を [TP]、TP とヒドロキシルラジカルとの反応速度定数を k_{TP} とし、X を加えない時の蛍光強度を F_0 、X を加えた時を F とすると、これらは次式のような関係になる。

$$\frac{F_0}{F} = 1 + \frac{k_x [X]}{k_{TP} [TP]}$$

[TP]一定にして、[X]を変化させ、 F_0/F vs. [X]のプロットから k_x が算出できる。

測定は LED 照射と蛍光測定を連続的に閉鎖空間で行える半自動フロー分析装置を作成し行った。この装置は、石英製の U 字管と円筒状リフレクターを備えた LED 照射オンラニンリアクターと試料注入バルブ、蛍光検出器を組み合わせ、試料の注入から光照射、蛍光検出までをオンラインで行うことができる。その装置の概要を図 1 に示す。本研究では $k_{TP} = 4.0 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ とした。

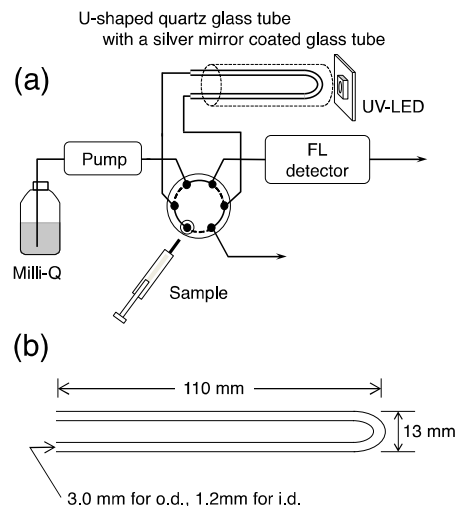


図 1 半自動フロー分析装置

(a) 半自動フロー分析装置

(b) 紫外線 LED 照射用石英 U 字ガラス管

4. 研究成果

(1) 紫外線 LED を用いたヒドロキシルラジカルの発生

波長 365 nm の紫外線 LED と発生試薬として亜硝酸イオンを用いてヒドロキシルラジカルの発生特性を明らかにした。その結果、波長 365 nm の紫外線 LED を用いて亜硝酸を発生試薬とした時は、従来のキセノンランプを用いた時よりも約 10 倍以上のヒドロキシルラジカルが生成すること、また、他の硝酸や過酸化水素を発生試薬として用いた時にはほとんどヒドロキシルラジカルが発生しないことなどがわかった。これらの特徴は LED の発光スペクトルと亜硝酸イオンの吸収スペクトルがよく重なっていることが理由であると考えられる。

(2) 紫外線 LED を用いたヒドロキシルラジカルと物質の反応速度定数の測定

TP と測定物質 X との競争反応を用いて測定物質 X のヒドロキシルラジカルの発生と物質の反応速度定数を測定した。測定は LED 照射と蛍光測定を連続的に行うことのできる半自動フロー分析装置をもちいた。

まず最初にメタノールを用いて実験を行った。F₀/F vs. [X] を図 2 に示す。TP の濃度が 0.05 mM から 2 mM でおこなったが、いずれの TP 濃度においても F₀/F vs. [X] プロットは切片が直線になった。傾きから計算されたメタノールのヒドロキシルラジカルとの反応速度定数は TP 濃度にかかわらず 1.0 × 10⁹ M⁻¹s⁻¹ であった。これまで報告されている文献値は 0.78 ~ 1.20 × 10⁹ M⁻¹s⁻¹ であり、本研究の結果と極めてよく一致した。

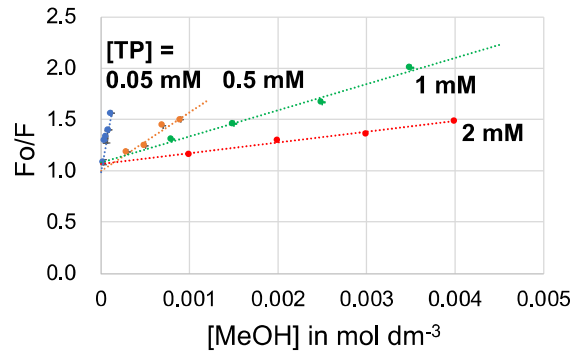


図 2 メタノールの F₀/F vs. [X] プロット

(3) 様々な物質のヒドロキシルラジカルと物質の反応速度定数の測定：本法の有効性の確認

まず、ミリ Q 水中でのチオ尿素やアセトフェノン、グルコース、酢酸、ギ酸、アルコール、アセトン、アセトニトリルなどの低分子有機化学化合物とチオシアン酸カリウム、塩化ナトリウム、臭化カリウム、ヨウ化ナトリウムなどの塩の反応速度定数を測定した。結果の一部を表 1 にまとめた。この中で最も速い反応速度定数を示したのはチオシアン酸カリウムで 10.2 ± 1.4 × 10⁹ M⁻¹s⁻¹ であった、遅い反応速度はアセトニトリルの 0.0095 ± 0.0004 × 10⁹ M⁻¹s⁻¹ であった。また、pH = 6.5 ~ 7.1 でのリン酸緩衝溶液中でも結果はかわりなかった。塩化ナトリウム、塩化カリウム、臭化カリウムの 3 物質を除いて、これらの測定値は過去の報告と良く一致しており、本法が物質とヒドロキシルラジカルの反応速度定数の計測に適応できることを示した。

表 1 本研究で計測したヒドロキシルラジカルとの反応速度定数と文献値の比較

Substance	Reaction rate constant / 10 ⁹ M ⁻¹ s ⁻¹			
	This study value*		Literature value	
	In Milli-Q water	In phosphate buffer (pH)**	NDRL/NIST	
Potassium thiocyanate	10.2 ± 1.4 (n=3)	10.3 ± 0.5 (pH=6.8) (n=4)	9.6 – 13	
Thiourea	7.5 (n=1)		3.9 – 9.8	
Cysteine	7.5, 6.4 (n=2)	6.9, 4.9 (pH=6.9) (n=2)	19 – 47	
Thymine	4.9 ± 0.6 (n=3)	5.3 ± 0.4 (pH=7.0) (n=4)	4.6 – 8.7	
Sodium formate		3.0 (pH=5.9) (n=1)	2.1 – 5.1	
Acetophenone	3.7 (n=1)	3.3 (pH=6.8) (n=1)	5.4 – 6.5	
Glucose	2.0, 1.8 (n=2)	1.6, 1.8 (pH=6.9) (n=2)	1.0 – 2.3	
Ethanol	2.1 ± 0.4 (n=4)	1.4 ± 0.1 (pH=6.5) (n=4)	1.6 – 2.8	
2-Propanol	2.0 ± 0.2 (n=3)	1.8 ± 0.3 (pH=6.9) (n=5)	1.6 – 2.3	
Glycerine	1.5 ± 0.4 (n=3)		1.5 – 2.1	
Ethylene glycol	1.5, 1.4 (n=2)		1.4 – 2.4	
Nicotinamide	0.32, 0.30 (n=2)		1.4 – 1.5	
Methanol	1.0 ± 0.1	0.63 ± 0.06 (pH=7.0) (n=3)	0.78 – 1.2	
Acetone	0.12 ± 0.01 (n=4)	0.086 ± 0.001 (pH=6.8) (n=3)	0.083 – 0.14	
Sodium acetate	0.073, 0.070 (n=2)	0.078, 0.075 (pH=7.1) (n=2)	0.074 – 0.1	
Alanine	0.070 ± 0.009 (n=3)	0.047 (pH=6.5) (n=1)	0.065 – 0.43	
Acetonitrile	0.0095 ± 0.0004 (n=3)		0.022	
NaI	11, 10 (n=2)		10 – 12 (I)	
KBr	1.8, 1.6 (n=2)		11 (Br)	
KCl	0.0001 (n=1)		3.0 – 4.3 (Cl)	
NaCl	0.0002 (n=1)		3.0 – 4.3 (Cl)	

しかし、塩化物イオンや臭化物イオンは既報の数値とは一致しなかった。本法による測定値は塩化物イオンで $0.0001 \sim 0.0002 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であったが、既報のパルスラジオリシスでの測定値は $3.0 \sim 4.3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と4桁も異なった。また、臭化物イオンの場合は本法では $1.6 \sim 1.8 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であったが、既報は $11 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と1桁の差があった。塩化物イオン、臭化物イオンの既報値は、線パルスラジオリシスで計測している。これらの報告では、正の反応に対して、比較的速い逆反応が報告されている。したがって、本法と既報の差は、既報の応速度定数は純粋な正の反応の反応速度定数であるのに対して、本法で得られた値は逆反応も含めた見かけの反応速度定数であることがこれらの違いの主な要因であると考えられる。新垣らはベンゼンを用いて塩化物イオン定常状態における反応速度定数を測定しており $0.027 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と報告している。

(4) 様々な物質のヒドロキシルラジカルと物質の反応速度定数の測定：農薬や医薬品について

環境中に放出される可能性の高い農薬や医薬品について、ヒドロキシルラジカルとそれらの反応速度定数を測定した。農薬としてはピメトロジン、ダイアジノン、ジクロロポス、ジメチエート、アセタミプリドなどの殺虫剤、シメトリン、ヘキサジノンなどの除草剤、医薬品のテオフィリン、ペントキシフィリン、カプトプリルについてヒドロキシルラジカルとの反応速度定数を計測した。これらの物質の F_0/F vs. 濃度のプロットは1を通る直性を示し、その直線の傾きから計算されるヒドロキシルラジカルとの反応速度定数の値は、報告値のないピメトロジンなどを除いて、他の研究者らの報告値とよく一致した。この中でジクロロポスは反応速度定数が $0.78 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と小さく、アザメチホスは $13 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と速い速度定数であった。

これらの物質の純水中での直接的な光分解速度定数を測定し、環境中での直接分解とヒドロキシルラジカルによる間接分解について検討した。その結果、ピメトロジンでは直接分解速度が速いため、ヒドロキシルラジカルによる分解は重要でないのに対して、ヘキサジノンやシメトリンでは、ヒドロキシルラジカルの定常状態濃度の高い河川や湖水の環境においてヒドロキシルラジカルによる分解が重要になるということがわかった。

(5) 半自動フロー分析装置で分析できなかった物質について

これらの一方で半自動フロー分析装置を用いた反応測定数の計測がうまくいかない物質があった。これらの物質では F_0/F vs. 濃度のプロットが1を通る直性にならず、負の傾きをもつことがあった。例えば農薬のアザメチホスなどでは濃度が上昇すると F_0/F が明瞭に減少した。この原因を探るため、紫外線 LED を照射した試料溶液を蛍光検出 HPLC で測定したところ、TP とヒドロキシルラジカルの反応で生成する HTP 以外に別の蛍光ピークが検出された。この結果は目的物質がヒドロキシルラジカルと反応することまたは光分解することで蛍光性の物質が生成したことを示すものであり、これらを適切な方法で分離し、HTP のみを定量する必要があるということを示している。そこで紫外線 LED 照射後の反応溶液を HPLC で分析し HTP のみを定量することで、これらの物質においても良好な F_0/F vs. 濃度プロットを得ることができ、反応速度定数を得ることができた。アザメチホスとカルバリルはこの HPLC を使った方法で反応速度定数を得ることができた。

(6) 本研究で得られた知見の応用

本研究で用いた TP はヒドロキシルラジカルの検出試薬として、TP そのものには蛍光性がなく生成物である HTP には強い蛍光性があること、TP そのものに有害性は小さく安価であるなど特徴あることがわかった。そこで TP とフェントン反応を組み合わせ、過酸化水素の分析法に応用した。その結果、海水や河川水中の nM レベル過酸化水素の定量に成功した。

< 引用文献 >

- T. Charbouillot, M. Brigante, G. Mailhot, P.R. Maddigapu, C. Minero, D. Vione, Performance and selectivity of the terephthalic acid probe for OH as a function of temperature, pH and composition of atmospherically relevant aqueous media, J. Photochem. Photobiol. A 222 (2011) 70.
NDRL/NIST Solution Kinetics Database on the Web. <<http://kinetics.nist.gov/solution/>>.
G.V. Buxton, C.L. Greenstock, W.P. Helman, A.B. Ross, Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}/\bullet\text{O}^-$) in aqueous solution, J. Phys. Chem. Ref. Data 17 (1988) 513.
G.G. Jayson, B.J. Parsons, A.J. Swallow, Some simple, highly reactive, inorganic chlorine derivatives in aqueous solution, J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 (9) (1973) 1597.
D. Zehavi, J. Rabani, The oxidation of aqueous bromide ions by hydroxyl radicals: a pulse radiolytic investigation, J. Phys. Chem. 76 (1972) 1079.
T. Arakaki, T. Miyake, M. Shibata, H. Sakugawa, Photochemical formation and scavenging of hydroxyl radical in rain and dew waters, Nihon Kagaku Kaishi 1999 (1999) 335.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

植木隆太, 加藤稜太, 今泉圭隆, 岩本洋子, W. A. Jadoo, 佐久川弘, 竹田一彦, テレフタル酸とフェントン反応を利用した河川水中過酸化水素の定量における分析条件の最適化. 分析化学, 査読あり, 68, 125-131, 2019.

DOI: 10.2116/bunsekikagaku.68.125

K. Takeda, H. Nojima, K. Kuwahara, R. C. Chidya, A. O. Adesina, H. Sakugawa, Nanomolar determination of hydrogen peroxide in coastal seawater based on the Fenton reaction with terephthalate. Analytical Sciences, 査読あり, 34, 459-464, 2018.

DOI: 10.2116/ANALSCI.17P536

K. Takeda, K. Fujisawa, H. Nojima, R. Kato, R. Ueki, H. Sakugawa, Hydroxyl radical generation with a high power ultraviolet light emitting diode (UV-LED) and application for determination of hydroxyl radical reaction rate. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 査読あり, 340, 8-14, 2017.

DOI: 10.1016/j.jphotochem.2017.02.020

〔学会発表〕(計5件)

加藤稜太, 竹田一彦, 岩本洋子, 佐久川弘, UV-LED を用いた農薬と活性酸素との反応速度定数の測定と環境中の光化学分解過程の解明, 2018年日本化学会中国四国支部大会, 2018年11月.

植木隆太, 岩本洋子, 佐久川弘, 竹田一彦, 河川水中における過酸化水素の起源および生成過程の解明, 2018年11月.

K. Takeda, K. Fujisawa, R. Kato, Hydroxyl radical generation with a high power ultraviolet light emitting diode (UV-LED) and application for determination of hydroxyl radical (OH) reaction rate constants, Asia/CJK symposium on analytical science 2017(招待講演)(国際学会), 2017年9月.

竹田一彦, 高出力紫外線 LED を用いた ヒドロキシルラジカルの反応度定数計測法の開発, 第60回放射線化学討論会(招待講演), 2017年9月.

藤澤克成, 竹田一彦, 佐久川弘, 紫外線 LED を用いたヒドロキシルラジカル反応速度定数の測定法の開発, 日本分析化学会第65年会, 2016年9月.

〔その他〕

ホームページ等

<https://home.hiroshima-u.ac.jp/eac/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 佐久川 弘

ローマ字氏名: Hiroshi Sakugawa

所属研究機関名: 広島大学

部局名: 生物圏科学研究科

職名: 教授

研究者番号(8桁): 80263630

研究分担者氏名: 中谷 暢丈

ローマ字氏名: Nobutake Nakatani

所属研究機関名: 酪農学園大学

部局名: 農食環境学群

職名: 教授

研究者番号(8桁): 90423350

(2)研究協力者

研究協力者氏名：藤澤 克成

ローマ字氏名：Katusnari Fujisawa

研究協力者氏名：加藤 稜太

ローマ字氏名：Ryota Kato

研究協力者氏名：植木 隆太

ローマ字氏名：Ryuta Ueki

研究協力者氏名：野嶋 仁志

ローマ字氏名：Hitoshi Nojima