

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20710003
 研究課題名（和文）
 黄砂粒子表面において生成するニトロ化多環芳香族炭化水素の反応機構と環境動態の解明
 研究課題名（英文）
 Study on nitrated PAHs formed from reactions on the surface of Asian dust particles
 研究代表者
 亀田 貴之（KAMEDA TAKAYUKI）
 金沢大学・薬学系・助教
 研究者番号：50398426

研究成果の概要（和文）：テフロンフィルター上に保持させた黄砂上のピレンと NO₂ との気 - 固不均一反応を検討した。その結果、生成物として 1-ニトロピレン（1-NP）を検出した。生成 1-NP の濃度は、反応時間 1～2 時間で最大となり、その後徐々に減少した。一方、反応開始 4 時間後からジニトロピレンの生成も確認され、その濃度は 8 時間の反応後最大に達した。これらニトロピレンの生成は、黄砂粒子の触媒作用により加速されたものと推察される。

研究成果の概要（英文）：Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and substituted PAHs such as nitro-PAHs are suspected to concern effects on human health such as mutagenicity, carcinogenicity, endocrine disrupting activities, and so on. Several kinds of the PAH derivatives might be formed via atmospheric reactions of the parent PAHs with inorganic gases such as nitrogen oxides on the Asian dust particles, which is transported from the continent of China to Japan. To test this hypothesis, in this study, we performed chemical reaction experiments of PAHs on the Asian dust particle surface using a reaction-chamber, and investigated the formation of substituted PAHs on the particles.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：環境科学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：黄砂，多環芳香族炭化水素，二次生成，越境輸送

1. 研究開始当初の背景

13 億人を超える人口を擁する中国では、近年、急速な産業発展を支えるエネルギーの消費量が急増し、それに伴って環境問題が深刻化している。また同時に、日本に長距離輸送

される硫黄酸化物や窒素酸化物の影響も重要視されている。中国は主要エネルギーを石炭に頼り、特に冬季の暖房期の都市では、排煙による浮遊粒子状物質や SO₂ の濃度が極めて高いことが知られている。近年中国におい

ではこれらの大気汚染物質に加えて、多環芳香族炭化水素(PAH)など発がん性や内分泌かく乱性を持ち、ヒトの健康に影響を及ぼすような物質の大気中濃度も日本の数十～数百倍に達することが明らかとなった(Tang et al., *Atmos. Environ.*, **39**, 5817, 2005.)。また我々は最近、これら PAH が SO₂ 等と同様に日本海を越えて日本に長距離輸送されていることを明らかにした(Yang et al., *Atmos. Environ.*, **41**, 2710, 2007.)。

PAHは、燃焼時に空気や燃料中の窒素および酸素と反応して、より変異・がん原性が高いジニトロピレンなどのニトロ化多環芳香族炭化水素(NPAH)を生成するだけでなく、発生後に大気中で窒素酸化物と反応して NPAH を二次生成することも知られている(Atkinson and Arey, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 117, 1994.)。例えば、我々は最近、強変異原性 NPAH である 2-ニトロトリフェニレンが気相反応により大気内二次生成していることを、チャンバーを用いた室内実験と実大気観測より明らかにした(Kameda et al., *Atmos. Environ.*, **40**, 7742, 2006.)。これら二次生成は、気相における均一反応だけではなく気-固不均一反応によってもおこることがわかっており、固体表面上のピレンと NO₂/HNO₃ ガスとの反応により 1-ニトロピレンが生じることなどが報告されている(Tokiwa et al., *Mutat. Res.*, **85**, 195, 1981.)。

一方、同じく中国を発生源とする黄砂も、長距離輸送により日本をはじめとする東アジアの国々に影響を与えている。黄砂は SO₂, NO₂ などの酸性ガスを容易に吸着するだけでなく、鉱物としての特異な表面性状を有するため、高活性の反応場となることが報告されている(Yamada et al., *Air, and Soil Pollution: Focus*, **5**, 231, 2005.)。従って、上述の通り中国で大量に発生した PAH が高濃度の窒素酸化物等とともに日本へ飛来するとすれば、黄砂表面における反応により、より有害性の高い NPAH を生成している恐れがある。しかしながら、黄砂表面を反応場とした、PAH 等の有機物と種々のガス状物質との反応については研究例が全くない。

2. 研究の目的

本研究においては、上記のような背景を踏まえて、黄砂表面における PAH とガス状物質との反応、とりわけ NPAH の二次生成に関わる反応についてチャンバーを用いた実験を行い、微細鉱物表面が関与する大気内 NPAH 生成反応過程を明らかにし、長距離輸送中の黄砂表面における PAH とガス状物質との相互作用の詳細を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 黄砂粒子の捕集

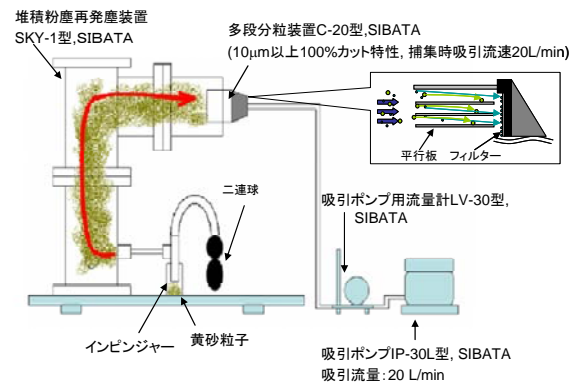


Fig.1 微小黄砂粒子捕集の方法



Fig.2 黄砂粒子捕集地点

日本に飛来する黄砂の発生源は主に中国内陸部の砂漠地帯だと考えられているが、そこから遠く離れた日本に黄砂が飛んでくるまでに大きな粒子は途中で除去されてしまうため、日本まで到達する黄砂粒子の粒径は 0.5~10 μm 程度の小さいものが多いという報告がある。今回中国の敦煌市で採取した黄砂には日本まで飛んでくるとは考え難い大きな粒子も混ざっているため、Fig.1 で示した方法で黄砂粒子を分級捕集し、得られた黄砂試料を用いてその後の実験を行うことにした。

標準ガス発生装置 (PERMEATER PD-1B-2, ガステック)
パーミエーションチューブ (NO₂, SO₂)

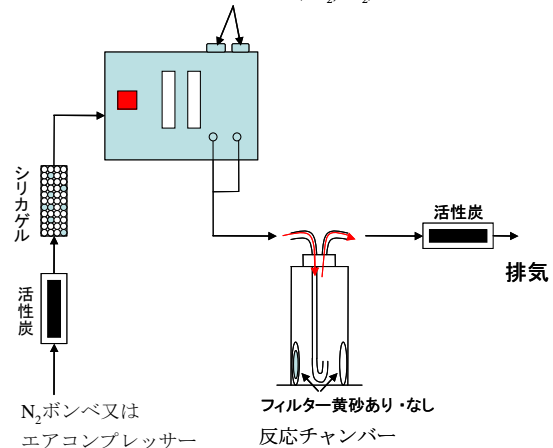


Fig.3 PyとNO₂及びSO₂ガスとの反応の方法

黄砂の中から長距離輸送される可能性の高い微小粒径のもの(粒径 10 μm 以下)を、堆積粉塵再発塵装置(SKY-1 型, SIBATA)を用いて、テフロンコーティングしたグラスファイバー紙(TF フィルターT60A20, SIBATA)上で分級捕集した。黄砂粒子は中国の敦煌市, 市街地から 100 km 程離れた砂漠地域(Fig. 2)で深さ約 10 cm の所から採取したものをを用いた。

(2) 黄砂粒子上におけるピレン(Py)と NO_2 及び SO_2 ガスとの反応

①Py と NO_2/N_2 との反応

黄砂粒子を付着させたフィルターに 100 μM の Py 溶液(溶媒: ジクロロメタン)100 μL を均一に添加し, 暗所で乾燥させた後, 標準ガス発生装置(ガステック, PERMEATER PD-1B-2)を用いて発生させた NO_2 ガス(3 ppmv, バランスガス: N_2)とフィルター上の Py とを反応させた。反応は Fig. 3 に示すような方法で黄色蛍光灯下, パイレックスガラス製の反応容器内で行い, 反応時間を 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 時間と変化させて, 残存 Py 及び生成 1-ニトロピレン(1-NP), ジニトロピレン(DNP)濃度の経時変化を追跡した。黄砂を付着させていないフィルターにも同様に Py を添加し, 同じ時間反応させた。Py 及びニトロピレン濃度の測定には GC/MS を用いた。

②Py と NO_2/Air との反応

エアークンプレッサー(AIRTEC, CP-100)により発生させ, 活性炭及びシリカゲルを通過させた室内空気をバランスガスとし, ①と同じ操作を行った。

③Py と $\text{NO}_2/\text{SO}_2/\text{Air}$ との反応

バランスガスを②と同じ, 精製した室内空気とし, 標準ガス発生装置を用いて NO_2 ガス(3 ppmv)及び SO_2 ガス(1 ppmv)を発生させ, ①と同様に Py と反応させた。

(3) 残存 Py 及び反応生成物の抽出・前処理

(2) で得た反応生成物を含むフィルターに, 内部標準物質として, 100 μM の $\text{Py}-d_{10}$ と 1-NP- d_6 溶液(溶媒: ジクロロメタン)各々 100 μL を均一に添加し, 暗所で乾燥させた後フィルターを約 20 等分に細切し, 30 mL の三角フラスコに入れた。ベンゼン/エタノール(3:1)溶液 12 mL を加えて 15 分間の超音波抽出を行い, 抽出液を定性ろ紙(No. 6, 直径 125mm: ADVANTEC)でろ過した。残ったフィルターにベンゼン/エタノール(3:1)溶液 12 mL を加えて同様に抽出を行い, 二度の抽出で得られた液をロータリーエバポレーターで約 5 mL まで減圧濃縮した後, メンブランフィルター(HLC-DISCK13, 孔径 0.45 μm : 関東化学株式会社)でさらにろ過し, 窒素気流下で溶媒を留去した。残渣をジクロロメタン 1 mL

に溶解し, GC-MS 測定用の検液とした。

(4) GC-MS による黄砂粒子上反応生成物の測定

測定対象物質: Py, 1-NP, 1,3-DNP, 1,6-DNP, 1,8-DNP (Fig. 4)

分析条件は以下の通りとした。

・分析システム

GC	GC-17A(島津製作所)
MS	QP-5000(島津製作所)
インジェクター	AOC-17(島津製作所)
カラム	DB-5MS (J&W)

・分析条件

初期条件

カラム温度	70 $^{\circ}\text{C}$
気化室温度	300 $^{\circ}\text{C}$
インターフェース温度	300 $^{\circ}\text{C}$

分離カラム昇温プログラム

0~1min	70 $^{\circ}\text{C}$
1~33min	70~300 $^{\circ}\text{C}$ (linear gradient)
33~38min	300 $^{\circ}\text{C}$

流量 1.6 mL/min

キャリアーガス圧力 100 kPa

注入量 4 μL

キャリアーガス ヘリウム

イオン化 EI

イオン化エネルギー 70 eV

分析モード SIM

0~27min: m/z 202/101/88 (Py), 212 (Py- d_{10})

27~34min: m/z 247/217/201/189 (1-NP), 256 (1-NP- d_6)

34~38min: m/z 292/262/246/234 (DNPs)

スプリット スプリットレス

サンプリング時間 1.0 min

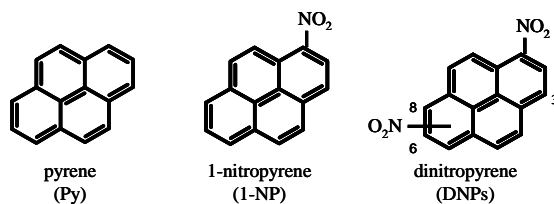


Fig.4 測定対象物質の構造

(5) 黄砂粒子中に含有されるイオンの抽出・前処理

Py を添加せずに(2)②と同様の操作を行い, NO_2/Air 反応 0, 1, 12 時間のフィルターを得た。また, Py を添加せずに実験(2)③と同様の操作を行い, $\text{NO}_2/\text{SO}_2/\text{Air}$ 反応 0, 1, 12 時間のフィルターを得た。これらをそれぞれ, 約 20 等分に細切した後 30 mL の三角フラスコに入れ, 水 10 mL を加えて 2 時間振とう抽出した。得られた抽出液を定性ろ紙(No. 5C, 直径 110 mm: ADVANTEC)及びセルロースアセ

テートメンブランフィルタ (DISMIC-25cs, 孔径 0.80 μm : ADVANTEC)でろ過し、イオンクロマトグラフィー分析用の検液とした。

(6) 黄砂粒子中に含有されるイオンのイオンクロマトグラフィーによる測定

・分析システム

IC 761 Compact IC (Metrohm)

カラム IC SI-90 4E (Shodex)

・分析条件

移動相: 1.8 mM Na_2CO_3 + 1.7mM NaHCO_3

流量: 1.5 mL/min

サブレッサー(洗浄液): 20mM H_2SO_4

サブレッサー(再生液): ミリQ水

カラム温度: 室温(25 $^\circ\text{C}$)

4. 研究成果

Pyは、黄砂粒子表面において NO_2 ガスに曝露されることでニトロ化されて1-NPを生成し、さらに NO_2 、 SO_2 混合ガスに曝露されると NO_2 ガス単一曝露より多くの1-NPを生成するという報告がある。本研究では黄砂粒子共存下でこの反応が促進されるかどうかを調べるため、黄砂を付着させた(黄砂(+))フィルタと黄砂が付着していない(黄砂(-))フィルタにそれぞれPyを添加し、それらを NO_2/N_2 、 NO_2/Air 及び $\text{NO}_2/\text{SO}_2/\text{Air}$ に曝露させて、生成した1-NPの量をGC-MSにより測定、比較した。また、1-NPのニトロ化で生成する可能性のある1,3-DNP、1,6-DNP、1,8-DNPについてもGC-MSによる測定を行った。

(1) 残存Py, 生成1-NP及びDNP濃度

反応後の残存Pyと生成1-NP、及び黄砂(+)の場合の生成DNPの濃度をFig. 5~7に示した。黄砂(-)の場合は、いずれの条件でもDNPは生成しなかった。

NO_2/N_2 及び $\text{NO}_2/\text{SO}_2/\text{Air}$ 条件下の反応においては、どちらも黄砂(-)のものに比べて黄砂(+)のものの方が明らかにPyを消失しやすく1-NPを生成しやすかった。このことから、Pyと NO_2 から1-NPが生成する反応において、黄砂粒子が何らかの触媒作用を発揮したものと推察される。

NO_2/Air 条件下の反応においても黄砂(+)の場合は各物質が他の条件と同じような濃度推移を示した。しかし、黄砂(-)の場合は黄砂(+)の場合に比べて、反応の進行が遅いながらも、 NO_2/Air 及び $\text{NO}_2/\text{SO}_2/\text{Air}$ 条件下に比べてPyを消失しやすく1-NPを生成しやすかった。この原因は不明で、更なる検討が必要である。

NO_2/Air 及び $\text{NO}_2/\text{SO}_2/\text{Air}$ 条件下の反応において、黄砂(+)の場合のPyの消失と1-NP、DNPの生成には大きな差は見られなかったため、黄砂粒子によるニトロ化の触媒作用に SO_2 は関与しないことが示唆された。ただし、

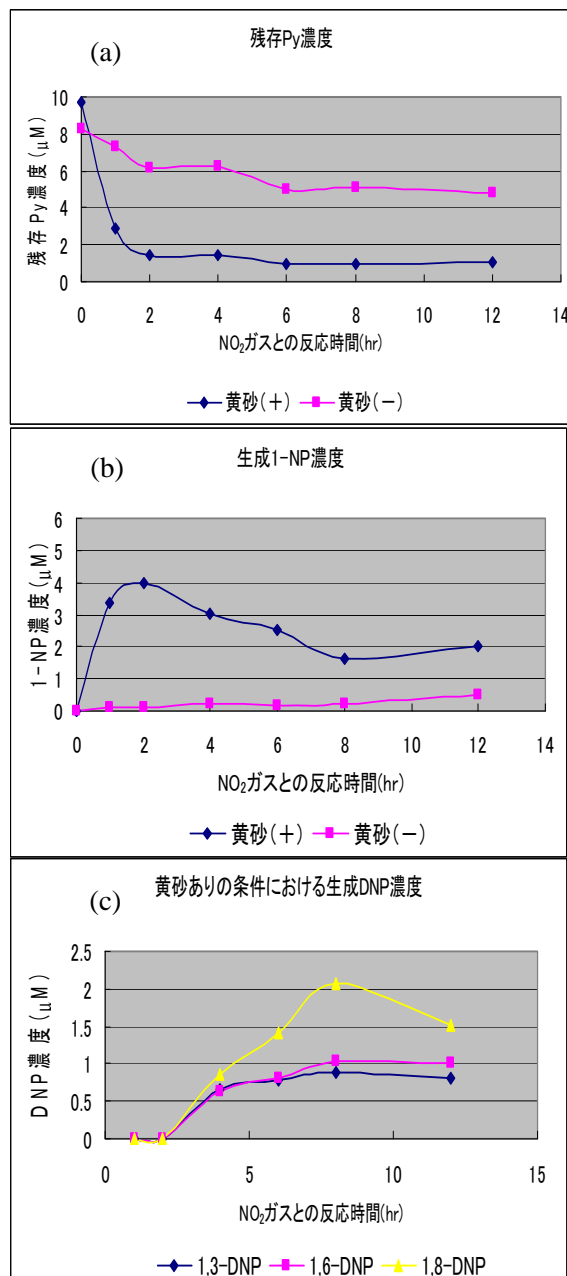


Fig.5 Py- NO_2/N_2 反応における残存Py及び生成1-NP,DNP濃度の経時変化(n=1)

SO_2 がPyのニトロ化を促進するという過去の報告での反応条件に比べて、今回の反応条件は NO_2 に対する SO_2 の組成比が低かったため、 SO_2 の濃度を高くすることで今回の実験とは異なる結果を得られる可能性がある。

黄砂(+)の条件下において、 NO_2 との反応時間が4~6時間を過ぎたあたりからDNPの生成が始まっていることがわかった。1-NP濃度が減少に転じた後にDNPの生成が始まっていることから、 NO_2 との反応が進むにつれて1-NPがさらにニトロ化され、DNPが生成したと思われる。

(2) 黄砂粒子中イオン濃度

Pyと NO_2 、 SO_2 との反応実験で確認できた

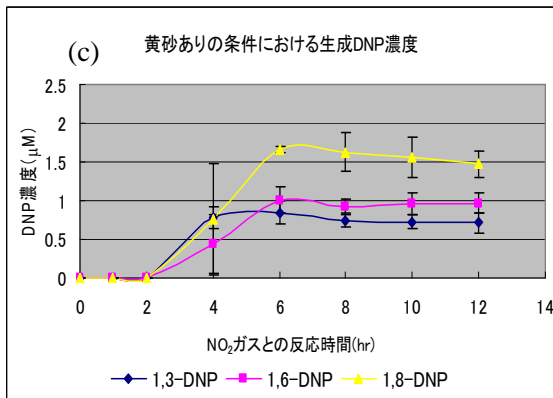
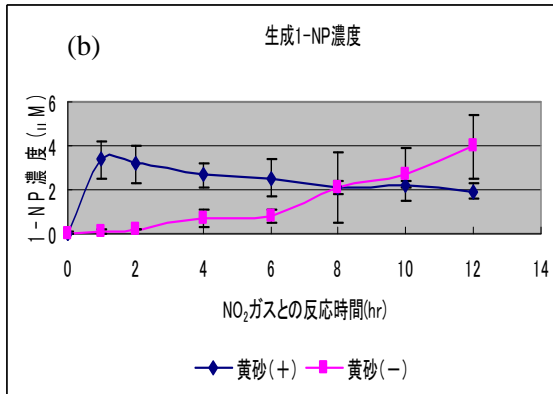
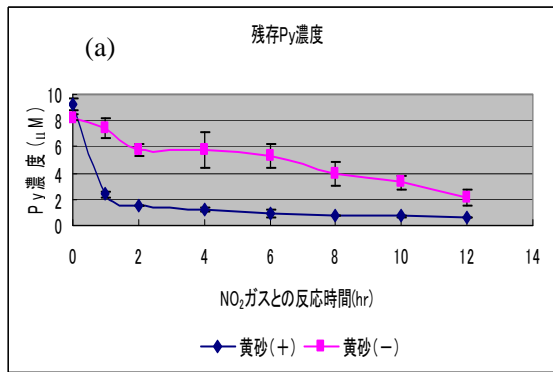


Fig.6 Py-NO₂/Air反応における 残存Py 及び生成1-NP,DNPs濃度の経時変化(n=3)

Pyのニトロ化に、黄砂表面におけるイオンの生成が寄与しているかどうかを確認するため、NO₂/SO₂/Air反応により得られたフィルター(黄砂(+))及び黄砂(-))を水で抽出し、イオンクロマトグラフィーによる分析を行った。分析対象はNO₂⁻, SO₄²⁻から生成する可能性があるNO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻とした。

NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻の各イオン濃度の経時変化を追跡したところ、1-NP生成濃度についてはいずれの反応でも反応1時間後に黄砂(+))の方が黄砂(-))よりもはるかに大きい値となったが、反応1時間後のNO₂⁻, NO₃⁻濃度は、NO₂/Air, NO₂/SO₂/Airどちらとの反応においても黄砂(+))と黄砂(-))でほとんど差がなく、このことから、黄砂表面でのPyのニトロ化において、NO₂, SO₂からのイオンの生成は関与していなかったことが推察される。

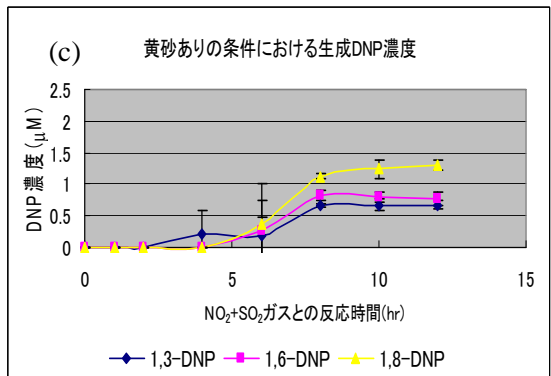
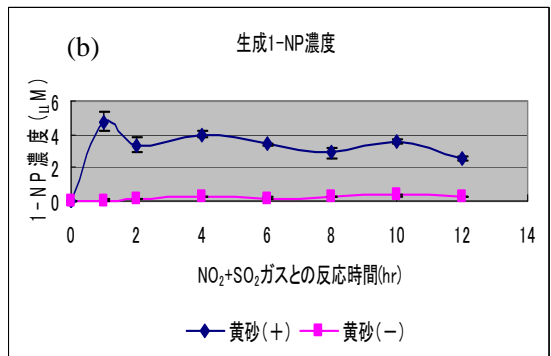
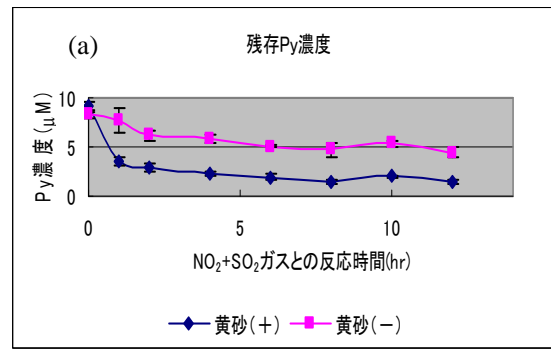


Fig.7 Py-NO₂/SO₂/Air反応における 残存Py 及び生成1-NP,DNPs生成量の経時変化(n=3)

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12件)

1. T. Kameda, A. Akiyama, A. Toriba, N. Tang, K. Hayakawa, Determination of particle-associated hydroxynitropyrenes with correction for chemical degradation on a quartz fiber filter during high volume air sampling, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, in press. (査読有)
2. X. Yang, K. Igarashi, N. Tang, J. Lin, W. Wang, T. Kameda, A. Toriba, K. Hayakawa, Indirect- and direct-acting mutagenicity of diesel, coal and wood burning-derived particulates and contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons, *Mutat. Res.*, **695**, 29-34, (2010). (査読有)
3. N. Suzuki, K. Hayakawa, T. Kameda, A.

- Triba, N. Tang, M. J. Tabata, K. Takada, S. Wada, K. Omori, A. K. Srivastav, H. Mishima, A. Hattori, Monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit both osteoclastic and osteoblastic activities in teleost scales, *Life Sci.*, **84**, 482-488 (2009). (査読有)
4. Y. Motoyama, K. Bekki, S-W. Chung, N. Tang, T. Kameda, A. Toriba, K. Taguchi, K. Hayakawa, Oxidative Stress More Strongly Induced by ortho- Than para-quinoid Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in A549 Cells, *J. Health Sci.*, **55**, 845-850 (2009). (査読有)
 5. T. Ohno, A. Toriba, T. Kameda, N. Tang, K. Hayakawa, Determination of 1-nitropyrene in low volume ambient air samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr. A*, **1216**, 4625-4628 (2009). (査読有)
 6. X. Yang, M. Yamada, N. Tang, J.-M. Lin, W. Wang, T. Kameda, A. Toriba, K. Hayakawa, Long-range transport of fluoride in East Asia monitored at Noto Peninsula, Japan, *Sci. Total Environ.*, **407**, 4681-4686 (2009). (査読有)
 7. T. Kameda, T. Goto, A. Toriba, N. Tang, K. Hayakawa, Determination of airborne particle-associated benz[*a*]anthracene-7,12-quinone using high-performance liquid chromatography with in-line reduction and fluorescence detection, *J. Chromatogr. A*, **1216**, 6758-6761 (2009). (査読有)
 8. T. Kameda, A. Akiyama, A. Toriba, C. Tachikawa, M. Yoshita, N. Tang, K. Hayakawa, Evaluation of endocrine disrupting activities of monohydroxylated derivatives of 1-nitropyrene by yeast two-hybrid assay, *J. Health Sci.*, **54**, 118-122 (2008). (査読有)
 9. K. Kakimoto, A. Toriba, T. Ohno, M. Ueno, T. Kameda, N. Tang, K. Hayakawa, Direct measurement of the glucuronide conjugate of 1-hydroxypyrene in human urine by using liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B*, **867**, 259-263 (2008). (査読有)

[学会発表] (計 17 件)

1. 亀田 貴之, 後藤 知子, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 大気粒子状物質に含まれる多環芳香族炭化水素キノン類の測定, 日本薬学会第 130 年会, 2010. 3. 30, 岡山大学ほか(岡山).
2. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 光反応により生成する大気粒子中新奇ニトロピレン水酸化体の同定および定量, 第 50 回大気環境学会年会, 2009. 9. 16, 慶應義塾大学(神奈川).
3. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 大気内光反応により生成する新奇ニトロピレン水酸化体の同定および定量, 第 18 回環境化学討論会, 2009. 6. 9,

つくば国際会議場(茨城).

4. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 光反応によって二次生成するニトロピレン水酸化体の大気内動態, 日本薬学会第 129 回年会, 2009. 3. 27, 国立京都国際会館(京都).
5. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 中山 侑希, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 光反応により二次生成するヒドロキシニトロピレンの大気内動態, 大気環境学会中部支部総会・学術集会, 2008. 11. 30, 富山県民会館(富山).
6. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 中山 侑希, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 光酸化反応によって生成するニトロピレン水酸化体の大気内動態, 第 49 回大気環境学会年会, 2008. 9. 17, 金沢大学(石川).
7. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, 大気浮遊粒子中 2-ニトロフルオランテン光分解生成物の分析, 第 49 回大気環境学会年会, 2008. 9. 17, 金沢大学(石川).
8. 亀田 貴之, 秋山 鮎子, 中山 侑希, 鳥羽 陽, 唐 寧, 早川 和一, ヒドロキシ-1-ニトロピレンの内分泌かく乱作用および大気環境中動態, 第 17 回環境化学討論会, 2008. 6. 11, 神戸国際会議場(兵庫).

[図書] (計 1 件)

1. T. Kameda, Y. Nakayama, T. Goto, T. Koyanagi, H. Bandow, K. Fujimori, A. Toriba, N. Tang, K. Hayakawa, Photochemical degradation of selected nitro- and oxy-polycyclic aromatic hydrocarbons on airborne particles under simulated solar UV-irradiation, *Airborne Particulates*, (Ming Cheng and Wen Liu, eds.), p. 291-307, Nova Science Publishers, NY (2009).

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 芳香族ニトロ化合物の製造方法
発明者: 亀田 貴之, 松木 篤
権利者: 金沢大学
種類: 特許
番号: 特願 2009-246879
出願年月日: 2009 年 10 月 27 日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者
亀田 貴之 (KAMEDA TAKAYUKI)
金沢大学・薬学系・助教
研究者番号: 50398426

(2) 研究分担者
該当なし

(3) 連携研究者
該当なし