

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：33919

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12280

研究課題名(和文)弱酸基を持つ有機化合物の腐植物質への吸着に負電荷支援型水素結合が果たす役割の解明

研究課題名(英文) Role of negative charge-assisted hydrogen bonds in adsorption of organic compounds with weak acid groups to humic substances

研究代表者

村野 宏達 (Hirotsu, Murano)

名城大学・農学部・教授

研究者番号：00570798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：溶存有機物(DOM)の凝集および低分子弱酸との相互作用を調べ、非常に強い負電荷支援型水素結合(-)CAHBの関与を調べた。DOMが緊密に編まれた一次粒子(10kDa)がより大きな二次凝集体(～マイクロメートル)を形成することを指示した。一次粒子は、(-)CAHB対応溶質(単純なカルボン酸およびリン酸)と相互作用するが、(-)CAHB非対応溶質とは相互作用しなかった。低分子有機酸がDOM分子内および分子間の(-)CAHBの破壊およびDOM上の遊離基との新規(-)CAHBの形成を確認した。その効果は溶質濃度に依存し、pH5の方がpH6よりも大きく、CAHB理論と一致した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

陸域の溶存有機物(DOM: dissolved organic matter)は、多くの生物学的および非生物学的環境反応や水処理において重要な役割を果たしている。そのため、その構造は大きな関心を集めている。我々は、非常に強い負電荷支援型水素結合(-)CAHBがDOMの凝集に寄与し、そのサイズと電荷に影響を与え、弱酸性汚染物質、栄養素、および天然化合物がDOMと相互作用する手段を提供していることを明らかにした。このような相互作用は、環境におけるDOMの挙動、人為的汚染物質の運命と移動の理解を促進するだけでなく、水処理技術におけるDOMの役割に寄与する。

研究成果の概要(英文)：We investigated the flocculation of dissolved organic matter (DOM) and its interaction with small weak acids and investigated the involvement of very strong negative charge-assisted hydrogen bonds (-)CAHB. We found that DOM directed tightly knit primary particles (10 kDa) to form larger secondary aggregates (up to micrometer in size). The primary particles interacted with (-)CAHB-compatible solutes (simple carboxylic and phosphate) but not with (-)CAHB-incompatible solutes. We confirmed that small organic acids disrupted intra- and intermolecular (-)CAHB in DOM and formed new (-)CAHB with free groups on DOM. The effect was solute concentration-dependent and was more significant at pH 5 than at pH 6, consistent with the CAHB theory.

研究分野：土壌化学

キーワード：溶存有機物 凝集 超分子凝集体 負電荷支援型水素結合 pKa

1. 研究開始当初の背景

世界の人口は、2050年までに92億人になると予測され、食糧生産の需要が2010年より70%増加すると予測される一方で、新たな農地の利用可能性は限られているため、より少ない土地、より少ない水、より少ないエネルギー利用による食糧生産が益々求められている¹。すなわち、国際連合においても取り組まれるように人類は食糧生産においても持続可能な開発目標 (Sustainable Development Goals: SDGs) を定め、達成することに迫られており、EUではSDGsに先立って、持続可能な農業利用に取り組み始めている²。例えば、農業は農作物の増収に貢献する一方で、農耕地周辺の環境への影響が問題となっており³、特に水溶性の高い農業は、従来に考えられていた以上に地域の水系を広範に汚染することが明らかとなってきたため⁴、SDGs達成に係る農業の利用には、その環境中での動態をより正確に把握することが必要である。特に除草剤の消費量は、全農業消費量の約半数を占めるとともに増加し続けているため⁵、土壌中の動態をより正確に把握することは、農耕地に散布された除草剤による周囲の環境への負荷を減らすためにも重要である。

土壌の固相には炭化物や土壌中の主な有機物である腐植物質に代表される有機物とアルミノケイ酸塩鉱物や鉄やアルミニウムの(和水)酸化物に代表される無機物がある。残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants: POPs) に代表される疎水性の有機化合物の主な土壌吸着媒は土壌中の有機物で、その吸着機構は疎水性相互作用、ロンドン分散力やCH- π 相互作用と考えられている⁶。一方、除草剤などの農業の主な吸着媒は、やはり土壌有機物と考えられているが、農業は生物に対する活性部位すなわち官能基も関与するため、無機鉱物や鉄-やアルミニウム-腐植複合体への吸着も重要である⁷。申請者らはこれまでの研究で、フェノキシ系除草剤の黒ボク土への吸着における主な吸着機構が、鉄-やアルミニウム-腐植複合体およびアルミノケイ酸塩鉱物や鉄やアルミニウムの(和水)酸化物のルイス酸サイトへの配位子交換反応であること⁸。ネオニコチノイド系殺虫剤は土壌有機物へ吸着し、無機成分には吸着しないにもかかわらず、鉄-やアルミニウム-腐植複合体の形成による腐植物質の存在形態の違いが、吸着に重要であること⁹を示してきた。

さらに、海外研究協力者の近年の研究で、カルボキシ基やフェニル基などの弱酸基を持つ有機化学物質のカーボンナノチューブやバイオ炭 (biochar) への主な吸着機構は、疎水的な相互作用やロンドン分散力ではなく負電荷支援型水素結合 (negative charge-assisted hydrogen bond: (-)CAHB) であること¹⁰⁻¹²が示されてきた。一般的に知られている水素結合は酸素などの陰性原子上で電気的に弱い陽性 ($\delta+$) を帯びた水素が、周囲の電気的に陰的な酸素などの原子との間に引き起こす弱い結合 (図 1a) であるが、(-)CAHB は近年明らかとなった水素結合で、負電荷を持つ2つの弱酸基が1つの水素イオンと静電的に相互作用する結合 (図 1b) で、一般的に知られている水素結合よりも結合力が強い¹³。

これらのことから、以下の学術的「問い」に至った。すなわち、弱酸基を有する農業の土壌中の主な有機物である腐植物質への吸着機構に、従来、全く考慮されてこなかった(-)CAHBが関与しており、このことがより正確な農業の環境中での動態把握の妨げとなっている可能性が考えられた。

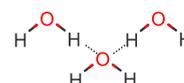


図 1a 良く知られている水分子の水素結合

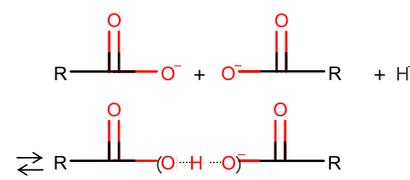


図 1b (-)CAHB の例

引用文献：(1) Popp et al. 2013 *Agron Sustain Dev* 33:243-255; (2) European Parliament and of the Council 2009 Directive 2009/128/EC; (3) Gill and Gill 2014 *Pestic-Toxic Aspect* 8:187-229; (4) Raichel and Sass 2020 *NRDC Rep* 19-12-A; (5) Gupta 2018 *Toxicity of Herbicides in Veterinary Toxicology* 3rd edition; (6) Ren et al. 2018 *Sci Total Environ* 610-611:1154-1163; (7) Kah and Brown 2006 *Rev Environ Contam Toxicol* 188:149-217; (8) Murano et al. 2008 *J Agr Food Chem* 56:1350-1357; (9) Murano et al. (2018) *Sci Total Environ* 615:1478-1484; (10) Ni et al. 2011 *Environ Sci Technol* 45:9240-9248; (11) Li et al. 2015 *Environ Sci Technol* 49:1409-1417; (12) Ni and Pignatello 2018 *Environ Sci: Process Impacts* 20:1225-1233; (13) Gilli and Gilli 2009 *IUCr Monogr Cryst* 23

2. 研究の目的

(-)CAHB が従来知られてきた水素結合によりも結合力が強いことを踏まえ、腐植物質への弱酸基を持つ有機化合物の吸着に(-)CAHB が関与を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

高性能サイズ排除クロマトグラフィー、透過型電子顕微鏡、ゼータ電位・pH 曲線、pH ドリフト実験により、スワニー川の水溶液中における挙動を調べ、非常に強い負電荷支援水素結合(-)CAHB が DOM の凝集および小さな弱酸との相互作用に関与している可能性を調べた。

4. 研究成果

HA の挙動に関するいくつかの結論を裏付けていた。透過型顕微鏡の画像と、観察されたサイズ排除クロマトグラフィーの分子量分布の範囲 (≤ 10 kDa) および低い溶出収率 (13-19%) は、既往の研究で提案された二層の凝集状態を裏付けており、小さくて密に結合した一次粒子が結合して、より大きくて緩く結合した二次凝集体を形成する可能性を示した。分子量分布の濃度非依存性は、一次粒子の強力な凝集力と一致していた。これらの強力な力には (-)CAHB が含まれるという証拠を示しました。(-)CAHB は、コイル化 (収縮) と凝集に寄与するフミン酸のセグメントと分子を結合できる。逆に、(-)CAHB が破壊されると、コイルがほどけ (膨張) て分散する。pH とイオン強度の両方で分子量分布の曲線がより大きな値にシフトした。これは、CAHB の破壊を示唆していたが、その他の可能性も排除されなかった。

一次粒子凝集における (-)CAHB の関与は pH に依存し、スワニー川フミン酸の pK_{a1} に近い pH でピークに達した。これは CAHB 理論と一致していた。(-)CAHB は分子量分布と表面電荷に影響を及ぼす可能性がある。これは、カルボン酸やリン酸などの (-)CAHB 形成可能な弱酸をフミン酸溶液に添加すると、フミン酸の既存の(-)CAHB が破壊され、膨潤と脱凝集が起き、フミン酸上の遊離酸性基と、弱酸の間で新しい(-)CAHB が形成される可能性を示す結果から示された。これらの弱酸がフミン酸と錯体を形成すると、水からプロトンが消費されて粒子の電荷と溶液 pH に影響を及ぼす可能性を示した。ギ酸や酢酸などの小さな脂肪族酸は、フミン酸分子同士で結ばれた既存の(-)CAHB を破壊することによってフミン酸のこれらの官能基と相互作用し、膨潤と新しい (-)CAHB の形成を促進した。安息香酸、4-ヒドロキシ安息香酸、特にリン酸は脱凝集を促進した。低イオン強度では、リン酸によりフミン酸の分子量分布曲線は低い値に大きくシフトした。リン酸は、フミン酸の表面電荷に影響を与えず、分子量分布曲線を低くする影響は pH 6 よりも pH 5 で大きかった。どちらの挙動も、分子間 (-)CAHB の破壊の主な原因である塩基として $H_2PO_4^-$ が関与していることを示唆していた。リン酸は新規 (-)CAHB を形成することもあるが、その強力な緩衝能力により、新規 (-)CAHB の形成による水酸化イオンの放出は観察されなかった。我々の結果は、粒子凝集における (-)CAHB の関与を完全に支持し、特定の (-)CAHB 形成可能な溶質の存在下での明らかな凝集体の破壊を、観察された挙動のほぼすべてを説明できるしかし、溶存有機物が、超分子凝集体を形成せずに存在している可能性を完全に否定するも

のではない。おそらく、我々の仮説を最も支持しているのは、分子量分布曲線の濃度非依存性であるが、分子が強力な(-)CAHBによって結合していると仮定すると、この結果は凝集体モデルを支持する。明らかに、二次粒子は凝集体でなければならない。

これらの結果は、Water Research に Zhengyang Wang, Mayu Nagata, Hirotatsu Murano, and Joseph J. Pignatello 著、Participation of Strong Charge-Assisted Hydrogen Bonds in Interactions of Dissolved Organic Matter Represented by Suwannee River Humic Acid として投稿中であるため、本報告では、図の掲載を割愛した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 村野 宏達	4. 巻 47
2. 論文標題 農薬の土壌吸着機構への新たな提言: 強い水素結合は農薬の土壌吸着に寄与しているのか?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Pesticide Science	6. 最初と最後の頁 8~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1584/jpestics.W22-09	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 村野宏達・Zhengyang Wang・永田万由・Joseph Pignatello
2. 発表標題 溶存有機物の表面電荷にpH と低分子有機酸が与える影響
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2022年大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深津奎祐・前林正弘・磯井俊行・村野宏達
2. 発表標題 カルボキシ基を有する農薬の吸着に負電荷支援型水素結合が果たす役割の解明
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2022年大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田万由・Zhengyang Wang・村野宏達・Joseph Pignatello
2. 発表標題 カルボン酸がフミン酸のpHと表面電荷に与える影響 フェノキシ系除草剤の土壌吸着機構の解明に向けての予備的研究
3. 学会等名 第39回農薬環境科学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野々垣ほのか・磯井俊行・村野宏達
2. 発表標題 赤黄色土の粘土鉱物へのグリホサート吸着機構の継時的変化
3. 学会等名 第39回農業環境科学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深津奎祐・前林正弘・磯井俊行・村野宏達
2. 発表標題 カルボキシ基を有する農薬の吸着に負電荷支援型水素結合が果たす役割の解明
3. 学会等名 第39回農業環境科学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深津奎祐・磯井俊行・村野宏達・前林正弘
2. 発表標題 カルボキシ基を有する農薬の吸着に負電荷支援型水素結合が果たす役割の解明
3. 学会等名 日本土壤肥料学会中部支部第102回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田万由・Zhengyang Wang・村野宏達・Joseph Pignatello
2. 発表標題 カルボン酸がフミン酸の表面電荷とpHに与える影響
3. 学会等名 日本土壤肥料学会中部支部第102回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Wang, Z., Murano, H., Pignatello, J.J.
2. 発表標題 Dynamic aggregation of humic acid in the absence and presence of added low-molecular-weight acids.
3. 学会等名 Soil Science Society of America International Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	前林 正弘 (Maebyashi Masahiro) (00402488)	名城大学・農学部・教授 (33919)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------