

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 18 日現在

機関番号：84406

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23710037

研究課題名（和文） 大気中の腐植様物質の化学構造特性と有害化学物質の挙動

研究課題名（英文） Structural characterization of humic-like substances in atmospheric aerosols and dynamics of toxic chemical compounds

研究代表者

浅川 大地（ASAKAWA DAICHI）

大阪市立環境科学研究所・調査研究課・研究員

研究者番号：80470251

研究成果の概要（和文）：

大気エアロゾル中の腐植様物質を水溶性画分と腐植酸様画分、フルボ酸様画分に分けて大気中濃度と化学構造特性を測定した。その結果、分子サイズ分布や官能基組成といった平均的な構造特性については、腐植様物質は土壌や水中の腐植物質と類似する特徴を示した。一方、腐植様物質の構成成分には、腐植物質と共通する成分が検出されたが、その組成は大きく異なっており、それらの起源や生成経路が異なることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Concentrations and structural characteristics of humic-like substances in atmospheric aerosols, which are fractionated into water-soluble, humic acid-like, and fulvic acid-like fractions, are analyzed. Molecular size distributions and proportions of carbon species of the humic-like substances are similar to those of humic substances isolated from soil and water. However, chemical compositions of the humic-like substances are differed from those of the humic substances, suggesting the different origins and generation pathways of these substances.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：環境学

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：エアロゾル、微小粒子状物質、腐植物質、有害化学物質、PAH、越境汚染

1. 研究開始当初の背景

大気エアロゾル粒子の10～70% (w/w) を占める有機物は、太陽放射の吸収・散乱や雲粒形成促進によって気象や気候に多大な影響を与える。そのエアロゾル粒子中の有機物の大部分は、特定の化学構造を持たない高分子化合物だと考えられている。この化合物は、土壌や天然水に含まれる腐植物質（フミン物質）と類似した化学構造を持つと推定され、腐植様物質（Humic-Like Substances; HULIS）と呼ばれている[Graber ER & Rudich

Y, 2006]。

腐植様物質は、太陽放射の吸収や雲粒形成促進のほかに、大気中の有害化学物質の挙動にも関与していると考えられる。それは、土壌や水中の腐植物質がその多様な官能基や界面活性作用によって様々な有害化学物質と相互作用することが知られており、腐植物質と構造の類似した大気中の腐植様物質も同様の機能性を示す可能性が高いからである。実際に、霧や雲水に溶け込んだ腐植様物質の界面活性作用が、霧や雲水への疎水性有

機化合物の溶解を促進することも示唆されている[Okochi H, et al., 2008]。

従って、大気エアロゾルによる健康影響や気候変動を理解するためには、腐植様物質の機能性を詳細に把握することが重要である。そして、機能性の把握には、腐植様物質の構造特性や動態に関する知見が必要だが、そうした情報は非常に少ない。

腐植様物質の構造特性に関しては、国内外で、核磁気共鳴スペクトル (NMR) 分析 [Suzuki Y, et al., 2001; Duarte R, et al., 2007] やフーリエ変換赤外線分光 (FT-IR) 分析 [Mukai H & Ambe Y, 1986]、熱分解ガスクロマトグラフ質量 (py-GC/MS) 分析等の結果が報告されている [Graber ER & Rudich Y, 2006]。これらの数少ない研究例からは、腐植様物質の構造特性が季節によって異なることや、河川腐植様物質との違いなどが示唆されている。ただし、各種構造解析技術を併用して、腐植様物質の構造特性の違いを詳細に調査した例はない。また、研究者によって腐植様物質の抽出法が異なることも結果の相互比較の障壁となり、腐植様物質の構造特性や機能性に関する情報は未だ断片的である。

2. 研究の目的

土壌や水質の分野では、古くから腐植物質の研究が盛んであり、構造特性分析法の条件検討やデータの蓄積も進んでいる。そこで、その手法を応用して、大気中の腐植様物質の構造特性や動態を把握することを目的とした。本研究は、サイズ排除クロマトグラフィー (HPSEC) や ^{13}C NMR、TMAH メチル化熱分解ガスクロマトグラフィー (TMAH py-GC/MS) によって多角的に構造特性を把握することが特徴である。また、従来は研究者によって腐植様物質の抽出溶媒や精製法が異なっていた。そこで、本研究では、それらの研究で扱われている種々の腐植様物質の構造特性の違いを明らかにすることも目的にした。

また、大気中の有害化学物質を存在状態別に定量して、腐植様物質の構造特性値や量との相関関係を解析することで、有害化学物質の存在状態と腐植様物質との関係を推定することも試みた。

3. 研究の方法

3-1. エアロゾル試料

大阪市内の研究所屋上 (約地上 30 m) で、ハイボリウムエアサンプラーを用いて石英ろ紙上にエアロゾル試料を採取した。土壌などの粗大な粒子と微小粒子状物質 (粒径 $2.5\ \mu\text{m}$ 以下の粒子; $\text{PM}_{2.5}$) とを分別するために、インパクター (TE-231 F, Tisch Environmental) を取り付けて 1130 L/min で空気を吸引した。エアロゾルの捕集は 1 週

間連続して行い、1 ヶ月間に 3~4 回ろ紙を交換した。また、比較対象として NIST の標準大気粉じん (SRM 1648a, St. Louis, USA) を使用した。

3-2. 腐植様物質の抽出と精製

石英ろ紙上に捕集したエアロゾル試料から、図 1 に示したように腐植様物質を抽出し、精製した。すなわち、水で抽出される水溶性画分 (Water-soluble HULIS; WS-HULIS) とアルカリ溶液で抽出される腐植酸様画分 (Humic acid HULIS; HA-HULIS)、フルボ酸様画分 (Fulvic acid HULIS; FA-HULIS) を精製した。他の研究例では、WS-HULIS または HA-HULIS を腐植様物質として扱っていることが多い。

精製操作は、国際腐植物質学会の推奨法に準拠し、XAD-8 (DAX-8) 樹脂による分取や透析法を用いた。得られた各腐植様物質試料は、凍結乾燥後に粉碎して分析用試料とした。

また、土壌 (褐色森林土) や河川水から同様の操作によって精製した腐植酸 (HA) やフルボ酸 (FA) などの腐植物質も構造特性解析に供試し、各腐植様物質と比較した。

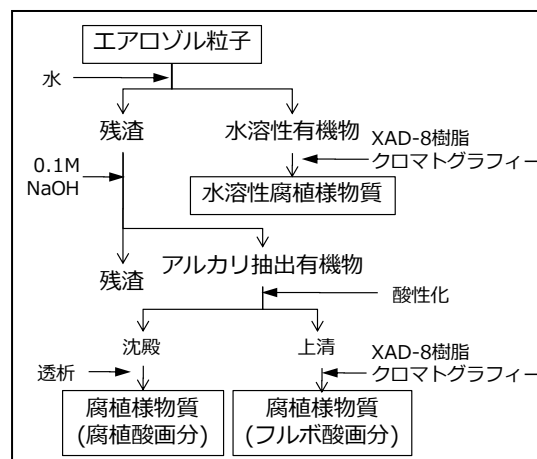


図 1 腐植様物質の抽出・精製法

3-3. 腐植様物質の炭素濃度の定量

エアロゾル粒子捕集後の石英ろ紙の一定面積を切り抜き、WS-HULIS と HA-HULIS、FA-HULIS を抽出した。抽出した各腐植様物質画分は凍結乾燥せずに、全有機体炭素計 (TOC 計、島津製作所) で炭素濃度を測定した。HULIS の炭素濃度は、空気 1m^3 当たりの炭素量 (μgC) で示した。

3-4. 構造特性解析

腐植様物質の分子サイズ分布と官能基組成、構成成分組成をそれぞれ HPSEC と ^{13}C NMR、TMAH py-GC/MS で分析した。分析条件を以下に示す。

・HPSEC：カラム；Shodex OHpak SB-803HQ または SB-805HQ、カラム温度；40℃、移動相；25%アセトニトリル含有 10 mM リン酸緩衝液 (pH 7)、検出波長；260 nm、標準物質；ポリスチレンスルホン酸ナトリウム

・¹³C NMR：NMR 装置；AVANCE 500 (Bruker)、パルスプログラム；逆ゲート付デカップリング法、周波数；125.76 MHz、パルス幅；45°、遅延時間；2.5 s、試料調製；重水素化 NaOH 溶液で溶解

・TMAH py-GC/MS：メチル化剤；水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAH)、内標準；ナノデカン酸、熱分解装置；キュリーポイントパイロライザー (JHP-5、日本分析工業)、熱分解温度；445℃、スプリット比；1:100、GC カラム；DB-5 MS (Agilent)、カラム初期温度；50℃、カラム最終温度；310℃、昇温速度；6℃/min

3-5. 有害化学物質の定量

2012 年の 6、8、10 月と 2013 年の 1 月に大気中の多環芳香族炭化水素類 (PAHs) と腐植様物質の濃度を測定した。100 L/min で 1 週間空気を吸引し、石英ろ紙上に粒子態 PAHs を捕集し、ろ紙を通過したガス態 PAHs をポリウレタンフォームに捕集した。それぞれの捕集剤からトルエンを用いてソックスレー抽出を行い、抽出液の前処理と濃縮を行った後に高分解能 GC/MS で PAHs を定量した。

上記の採取に併行して、500 L/min で別の石英ろ紙上にエアロゾル粒子を捕集した。このろ紙に捕集された各腐植様物質の濃度とアルカリ溶液条件下での吸光度を測定した。加えて、ろ紙の一部を水やアルカリ溶液 (0.1M NaOH) で抽出し、そのろ液中に溶解している PAHs を測定した。ろ液中の PAHs は固相抽出ディスク (Empore disk C18, 3M) に捕集して、ソックスレー抽出と前処理を行って高分解能 GC/MS に供試した。PAHs の定量は内標準法で行った。

4. 研究成果

4-1. 腐植様物質濃度

腐植様物質を WS-HULIS と HA-HULIS、FA-HULIS に分けて大気中濃度 (炭素濃度) を測定した。大阪市内でのそれぞれの平均炭素濃度は 0.50、0.15、0.17 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$ であった。各腐植様物質濃度は、概ねエアロゾル濃度に比例しており、黄砂や煙霧が発生した際にはエアロゾル濃度とともに腐植様物質濃度も上昇した。2011 年 2 月上旬に越境移流によって大規模な煙霧が発生してエアロゾル濃

度が 83 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ に達した際には、WS-HULIS は 1.53 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$ 、HA-HULIS は 0.36 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$ 、FA-HULIS は 0.66 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$ と観測期間中の平均濃度よりも 2~4 倍程度高い値を示した。このことから、越境移流によって腐植様物質が国外からも輸送されていることが明らかになった。

また、エアロゾル粒子を粗大粒子と微小粒子に分別して採取し、それぞれに含まれる腐植様物質濃度を測定したところ、各腐植様物質画分の約 9 割が微小粒子に含まれていた。そのため、微小粒子中の腐植様物質の測定を進めることにした。

図 2 には、2011 年 6 月から 12 月の各腐植様物質の炭素濃度とエアロゾル (微小粒子) 濃度を示している。各月の測定日数は異なるが、各月の平均値を比較すると、WS-HULIS の炭素濃度は、12 月 (0.37 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$) よりも 6、8、9 月 (0.40~0.46 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$) の方が高い傾向であった。一般に、エアロゾル中の水溶性有機物の濃度が夏季に上昇する傾向は、水溶性有機物が光化学反応によって二次生成されるためだと考えられている。WS-HULIS も夏季に濃度が高い傾向が見られたため、二次生成化合物が WS-HULIS に寄与していることが示唆された。

一方で、HA-HULIS の炭素濃度は、7~9 月の夏季 (0.04~0.05 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$) よりも 12 月の冬季 (0.22 $\mu\text{gC}/\text{m}^3$) の方が高い値を示した。この結果は、HA-HULIS が WS-HULIS とは異なる生成経路を持つことを示している。冬季の大気中エアロゾルの発生源は自動車排ガスや中国の石炭燃焼の寄与が比較的高いと考えられている。従って、これらの化石燃料の燃焼由来産物が HA-HULIS の生成に寄与している可能性が考えられる。

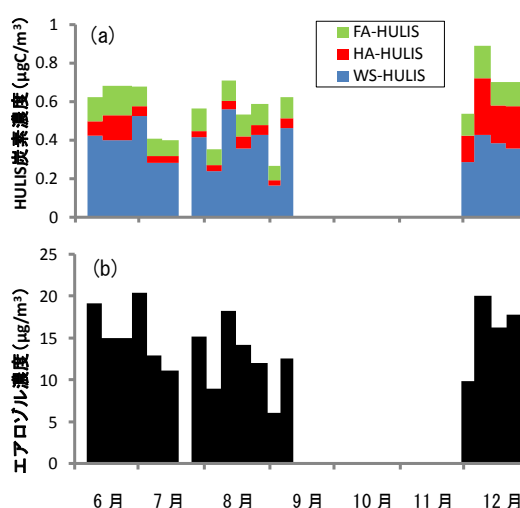


図 2 2011 年における WS-HULIS、HA-HULIS、FA-HULIS の大気中炭素濃度 (a) とエアロゾル (微小粒子) 濃度 (b)

4-2. 構造特性解析

構造特性解析を行うために、各腐植様物質の抽出を行った。WS-HULIS と FA-HULIS は褐色から黄褐色を呈し、HA-HULIS は黒色を呈した(図3)。これらの色合いや匂いは、土壌や河川の腐植物質とよく類似していた。

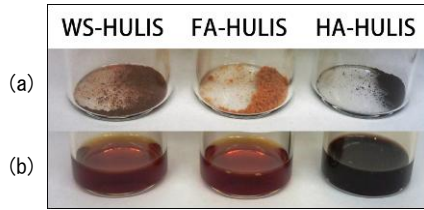


図3 各 HULIS の粉末 (a) とアルカリ溶液中 (b) の様子

1) 分子サイズ分布

腐植物質の分子サイズは、その機能性や分解性等に関与すると考えられている重要な構造特性であるが、精製した腐植様物質での測定例はない。各腐植様物質と土壌や河川由来の腐植物質の HPSEC クロマトグラムを図4に示す。WS-HULIS や FA-HULIS には低分子サイズ領域に複数のピークが見られた。標準大気粉じんから抽出した WS-HULIS も同様であった。また、これらの試料の見かけの重量平均分子量は 700~890 であった。こうした特徴は、河川腐植物質や土壌中の水溶性腐植物質の特徴と比較的類似していた。

一方、HA-HULIS はサイズ排除部にピークを持ち、WS-HULIS や FA-HULIS よりも分子サイズが大きいことが明らかになった。そこで、より排除限界分子量の大きいカラムを用いて HA-HULIS の重量平均分子量を見積ると約 19,700 であり、土壌中の腐植酸に近い値を示した。

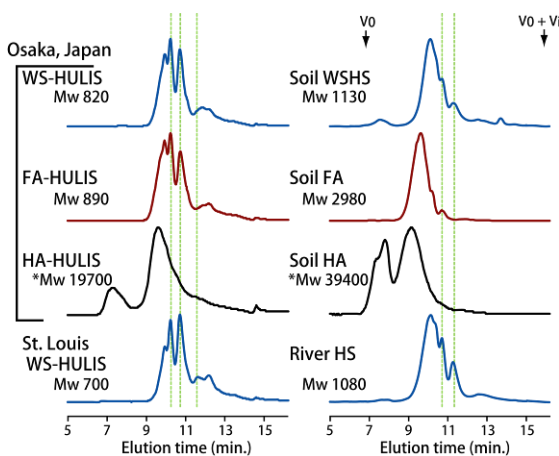


図4 腐植様物質と土壌や河川由来の腐植物質の HPSEC クロマトグラム ※HA-HULIS や土壌腐植酸の重量平均分子量は SB-805HQ カラムで分析して算出した

2) 官能基組成

図5に各腐植様物質と土壌や河川中の腐植物質の液体 ^{13}C NMR スペクトルを示す。腐植様物質のスペクトルは、腐植物質のスペクトルと類似して、脂肪族炭素 (Alkyl C) 領域や芳香族炭素 (Aromatic C) 領域、カルボキシル炭素 (Carboxyl C) 領域等にブロードなシグナルが検出された。ただし、土壌や河川腐植物質に見られる炭水化物炭素 (O-Alkyl C) のシグナル強度が、腐植様物質試料では小さいことが特徴的であった。また、メトキシル炭素 (55 ppm 付近) のシグナルは、HA-HULIS のみで見られた。

各種炭素領域のシグナル面積値から、各種官能基炭素割合を算出した。その結果、各腐植様物質の脂肪族炭素割合は 37~44% であり、土壌腐植物質 (24%) よりも高く、河川腐植物質 (39%) と近い値であった。

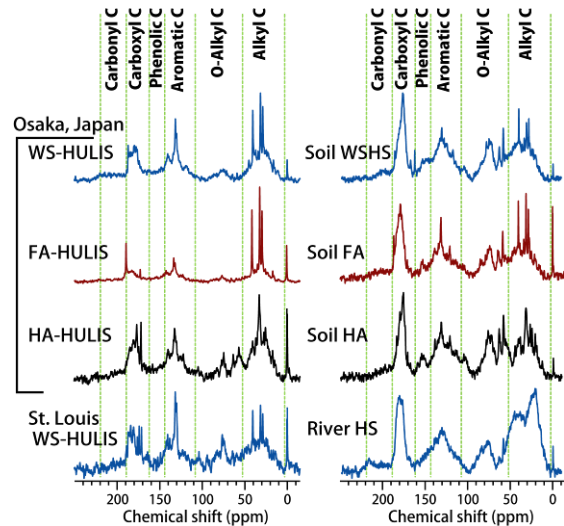


図5 腐植様物質と土壌や河川由来の腐植物質の液体 ^{13}C NMR スペクトル

3) 構成成分組成

TMAH py-GC/MS によって腐植様物質の構成成分の定量を行った。土壌や湖沼の腐植物質には、種々の脂肪酸類が構成成分として含まれ、奇数鎖の脂肪酸類よりも偶数鎖の脂肪酸類の方が多く、腐植酸はフルボ酸よりも長鎖の脂肪酸を含むことが知られている。これらの脂肪酸類に加えてフェノール類の組成から腐植物質の起源が推定されている。

各腐植様物質の脂肪酸類や芳香族カルボン酸類を定量した結果を表1~3に示した。WS-HULIS や FA-HULIS では奇数鎖の脂肪酸類の方が偶数鎖の脂肪酸類よりも多く含まれていた。偶数鎖脂肪酸類は主に植物やプランクトン由来と推定されるのに対して、奇数鎖脂肪酸類は炭化水素類の酸化によって生成されると推察される。従って、腐植物質に比較して、WS-HULIS や FA-HULIS は

より酸化反応の影響を受けていると予想された。また、WS-HULIS や FA-HULIS 中の 2 価脂肪酸類や芳香族カルボン酸類が土壤腐植物質よりも 2~50 倍程度多く含まれたことから (表 2、3) この予想は支持された。

また、HA-HULIS には炭素数 12~18 の偶数鎖の脂肪酸類が 36.6 mg/g 含まれており、一般的な土壤腐植酸に含まれる濃度 (0.14~1.7 mg/g) よりも顕著に高い値であった。土壤や水中の腐植物質に含まれる炭素数 12~18 の脂肪酸類は主に植物プランクトンに由来すると考えられている。そのため、HA-HULIS は植物プランクトン由来成分の影響を強く受けているとも考えられるが、腐植物質とは生成経路が大きく異なる可能性があるため一概には言えない。また、HA-HULIS には炭素数 20 以上の長鎖脂肪族カルボン酸類が含まれていることも、WS-HULIS や FA-HULIS とは大きく異なる特徴であった。

表 1 腐植様物質と土壤や湖水由来の腐植物質の脂肪酸類の含量 (mg/g)

Sample	C12-18 even	C20-34 even	C9-33 odd
WS-HULIS	0.11	0	0.46
FA-HULIS	0.26	0	0.40
HA-HULIS	36.6	1.4	2.0
Soil FA	0.12	0.02	0.03
Soil HA	1.5	2.4	0.77
Soil HAs*	0.14-1.7	0.02-1.9	0.05-1.0
Lake FA**	0.14	0	-
Lake HA**	2.0	0.21	-

*Ikeya K et al. (2004), **米林 (2004)

表 2 腐植様物質と土壤由来の腐植物質の 2 価脂肪酸類の含量 (mg/g)

Sample	C8-12 even	C16-26 even	C9-13 odd
WS-HULIS	7.6	0	27.9
FA-HULIS	24.5	0.13	97.2
HA-HULIS	0.65	1.6	1.3
Soil FA	3.4	0.22	4.8
Soil HA	0.50	9.6	0.76

表 3 腐植様物質と土壤由来の腐植物質の芳香族カルボン酸の含量 (mg/g)

Sample	2 価	3 価
WS-HULIS	11.7	8.0
FA-HULIS	10.4	3.4
HA-HULIS	2.7	0.28
Soil FA	0.57	0.58
Soil HA	0.26	0.18
Soil HAs*	0.04-1.6	

*Ikeya K et al. (2004)

これらの構造特性解析結果から、大気エアロゾル中の腐植様物質は土壤や水中の腐植物質と類似した平均化学構造をもつが、その構成成分の組成は大きく異なることが明らかになった。それらの類似性や相違性が腐植様物質と腐植物質の機能性にどのように関与するのかは、現時点では不明である。しかし少なくとも、HA-HULIS の構造特性は WS-HULIS や FA-HULIS とは異なるため、それらを分別して評価することが必要である。

4-3. PAHs との関係

腐植様物質と有害化学物質との相互作用に関する知見を得るために、同一期間に採取した腐植様物質と 19 種の PAHs の濃度を定量した。PAHs は粒子態とガス態を分別定量し、粒子態については水溶性の PAHs とアルカリ溶液に可溶の PAHs も定量した。

その結果、粒子態の PAHs のうちのアルカリ可溶 PAHs 濃度と HA-HULIS 濃度と間に正の相関関係が見られたため、HA-HULIS と PAHs が何らかの相互作用をしている可能性が推測されたが、詳細は不明であった。

図 6 には一部の PAHs のガス態/粒子態比と採取期間中の平均気温との測定結果を示した。気温が高くなるにつれてガス態 PAHs の割合は高くなるが、Anthracene のガス態/粒子態比のように、平均気温が低い 10 月 (16.8°C) よりも 6 月 (24.3°C) の方が低い値を示す PAH もあった。6 月には採取期間中に降雨があったため、降雨によるウォッシュアウトがガス態と粒子態 PAHs の分配比に影響を与えた可能性がある。また、採取期間が 1 週間と長いため、気温や気象等の採取時条件の変動が大きいことも問題であった。

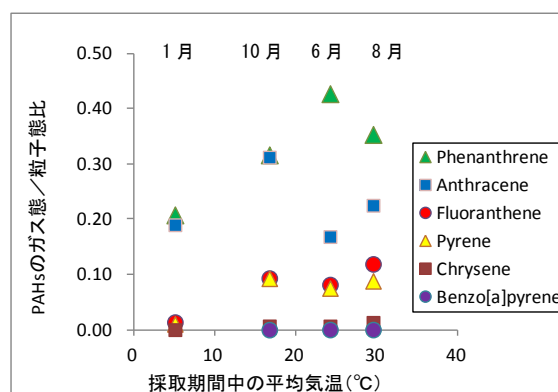


図 6 PAHs のガス態/粒子態比と平均気温の関係

また、腐植様物質の炭素濃度や炭素濃度当たりの吸光度を測定したところ、PAHs のガス態/粒子態比との間に見かけの相関関係は見られたが、測定データ数も少なく、詳細な関係解明には至らなかった。今後、PAHs

のガス-粒子分配比に対する腐植様物質の影響を詳しく調べるために、チャンバーでの条件制御下で実験を行い、エアロゾル粒子への有機物の吸着モデル (Junge-Pankow モデル、KOA モデル) によって解析を進める予定である。

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 1 件)

- (1) 藤嶽暢英、浅川大地、柳由貴子、¹³C NMR 並びに高速サイズ排除クロマトグラフィーによる土壌腐植酸の特徴付け、分析化学、査読有、61、2012、pp. 287-298、https://www.jstage.jst.go.jp/article/bunseki-kagaku/61/4/61_4_287/pdf

[学会発表] (計 6 件)

- (1) Asakawa D, Fujitake N, Structural characterization of humic-like substances in atmospheric aerosols in Osaka, Japan, The 22nd V.M. Goldschmidt Conference, 2012, Montreal, Canada
- (2) 浅川大地、藤嶽暢英、大気中腐植様物質の水溶性・フルボ酸・腐植酸画分の化学構造特性、日本腐植物質学会第 28 回講演会、2012、東京都
- (3) 浅川大地、抽出方法による腐植様物質の構造特性の違い、第 53 回大気環境学会年会、2012、神奈川県横浜市
- (4) 浅川大地、藤嶽暢英、TMAH 熱化学メチル化 GC/MS 法による大気中腐植様物質の構造解析、第 29 回エアロゾル科学・技術研究討論会、2012、福岡県北九州市
- (5) 浅川大地、藤嶽暢英、大気中の腐植様物質の濃度と化学構造特性、日本腐植物質学会第 27 回講演会、2011、石川県金沢市
- (6) 浅川大地、大阪市の大気中腐植様物質の濃度と化学構造特性、第 52 回大気環境学会年会、2011、長崎県長崎市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅川 大地 (ASAKAWA DAICHI)

大阪市立環境科学研究所・調査研究課・研究員

研究者番号：80470251