

# 環境液相中におけるヒドロキシルラジカルの光化学的生成と その植物影響に関する研究

中谷 暢丈

広島大学大学院生物圏科学研究科

## Study of hydroxyl radical photoformation in environmental aqueous phase and its effect on plant

Nobutake NAKATANI

*Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,  
Higashi-Hiroshima 739-8521, Japan*

### 要 旨

### 序 文

地表面に到達する太陽からの放射エネルギーは、さまざまな光化学反応を引き起こすと知られている。光化学反応過程において生じる様々な反応中間体のうち、ヒドロキシルラジカル（以下、OHラジカル）は極めて反応性の高い活性酸素種の一つである。環境気相中や液相中に存在するほとんどの化学物質は、このラジカルと反応することで分解や構造変換を起こす。そのため、このラジカルは化合物の寿命や濃度を決定する重要な化学種と言われており、その環境中での生成や消失過程の解明が急がれている。一方、大気汚染物質が及ぼす植物影響に関するこれまでの研究において、植物細胞内に取り込まれた二酸化硫黄やオゾンの分解過程においてOHラジカルが生成され、これが植物に酸化ストレスを与えることが良く知られている。しかしながら、雨水や露水を含む湿性降下物中において光化学的に生成されるOHラジカルについて着目した植物影響については今日まで明らかにされていない。

本博士論文では、環境液相中におけるOHラジカル光化学的生成速度および消失速度定数の測定を行ない、光化学的生成と消失機構の解明を行なった。さらに、野外のアカマツ針葉表面に凝結された露水中において光化学的にOHラジカルが多量に生成されたことを踏まえ、露水中において光化学的に生成するOHラジカルがアカマツ苗木に及ぼす影響について実験的に検証を行い、OHラジカルの化学的性質やアカマツ苗木の生物学的パラメーターから、その影響過程について考察を行なった。

第1章では序論として、環境液相中におけるOHラジカルの光化学的生成と消失機構に関するこれまでの研究、ならびに大気汚染物質が及ぼす植物影響に関するこれまでの研究を示した。これらを踏まえた上で、本博士論文の目的と意義を述べた。

## OHラジカルの自動測定装置

第2章では、環境液相中におけるOHラジカルの光化学的生成速度と消失速度定数の測定を迅速に行うために開発したOHラジカル自動測定装置について述べた。擬似太陽光照射下で光化学的に生成したOHラジカルをベンゼンと反応させることで生成したフェノールを定量する測定原理を元に、試料を入れた反応セルへの光照射、試料分取およびフェノールの測定を自動化させた。光源に500Wのキセノンランプ、検出器に蛍光光度計を採用することで、これまでよりも感度が高く、分析時間の短い測定を可能とした。環境水試料を用いた測定方法の検討では、海水試料において高濃度に含まれる塩化物イオンと臭化物イオンによるトラップ効率の低下が見られ、測定値の補正を行なう必要性があった。本装置を市販のミネラルウォーターに応用したところ、OHラジカル生成速度と消失速度定数は、2-ニトロベンズアルデヒド（以下、2-NB）の光分解速度定数 $0.00929\text{ s}^{-1}$ の光強度下で、それぞれ平均 $2.25 \times 10^{-12}\text{ M s}^{-1}$ と $3.76 \times 10^4\text{ s}^{-1}$ であった。試料に含まれていた硝酸イオンと過酸化水素のOHラジカル生成速度定数から、各成分に由来するOHラジカルの生成速度を求めた。その結果、ミネラルウォーターでは硝酸イオンがOHラジカルの主要な生成源であった。また、OHラジカルの消失先として、高濃度に含まれた炭酸水素イオンが挙げられた。これらの結果は、これまでに報告されたものと同じ結果を示すものであった。

## 河川水中におけるOHラジカルの生成消失機構

第3章では、河川水中におけるOHラジカルの光化学的生成と消失機構の解明を試みた。同時に、内分泌攪乱化学物質の一つであるビスフェノールA（以下BPA）の光分解に及ぼすOHラジカルの影響についても検討を行なった。黒瀬川の河川水試料において、OHラジカルの光化学的生成速度は $0.7 - 3.25 \times 10^{-10}\text{ M s}^{-1}$ の範囲に見られた。これらの生成したOHラジカルのうち、0-13%が硝酸イオン、20-56%が亜硝酸イオンの光分解により生成した。この結果は、これまで報告されてきた硝酸イオンに加え、亜硝酸の光分解によるOHラジカル生成の重要性を示す結果となった。また、消失速度定数は $1.66 - 3.89 \times 10^5\text{ s}^{-1}$ の範囲に見られた。河川水試料において検出された陰イオン成分によるOHラジカルの消失速度定数は、全体の25%以下であった。また、文献値を用いて推定した溶存有機物（DOM）による消失速度定数も全体の12-56%の範囲であった。この生成速度と消失速度定数から計算した河川水試料中のOHラジカル定常状態濃度は約 $10^{-16}\text{ M}$ であり、これまでに報告された値とほぼ等しいものであった。

擬似太陽光の照射一時間以内において、BPAを加えた超純水中ではBPAの分解は認められなかったことから、BPAの直接的な光分解はほとんど起きないと仮定した。OHラジカルの光化学的生成源として硝酸イオンを用い、さらにベンゼンとBPAとの競争反応により、BPAとOHラジカルとの反応速度定数を求めたところ、 $1.55 \times 10^{10}\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$ であった。この反応速度定数と先ほど求めた河川水中のOHラジカル定常状態濃度より計算したBPAの半減期は0.6-1.6日であり、これまでに報告された生物学的半減期とほぼ同じ値であった。これらの結果は、河川水中におけるBPAの分解過程において、OHラジカルとの反応も重要であることを裏づけるものとなった。

## 露水中OHラジカルの生成

第4章では、広島市の西部に位置する極楽寺山の沿岸部側と内陸部側において、野外のアカマツ針

葉表面に凝結された露水中OHラジカルの光化学的生成速度の測定とその生成源を調べた。アカマツ針葉表面の露水中には、高濃度の塩化物イオン、硝酸イオンおよび硫酸イオンが検出された。これは、露が凝結する以前に葉表面へ吸着および蓄積されたエアロゾルによって露水の化学成分がほぼ決定されていると考えられた。また、都市域に面した沿岸部側において採取した露水中の塩化物イオン、硝酸イオンおよび硫酸イオンは、内陸部側のものよりも高かった。この違いは、同じ場所で行なわれたアカマツ針葉表面洗浄法で求められた沈着速度の結果とよい一致が見られた。しかしながら、露水中の亜硝酸イオン濃度はこれらの陰イオンに比べはるかに低かった。このことから、露水中の亜硝酸は、露水が凝結される際に吸収されたガス状の亜硝酸に由来すると考えられた。

アカマツ針葉表面の露水中におけるOHラジカルの光化学的生成速度は、2-NBの光分解速度定数  $0.00929 \text{ s}^{-1}$  の光強度に補正して、 $1.9\text{--}14.4 \times 10^{-10} \text{ M s}^{-1}$  であった。これらの値は、同じ光強度で補正されている雨水や洗浄したテフロンシート上露水での報告値、本研究において測定したミネラルウォーターや河川水の測定値よりも高い値であった。同じ日に採取したものを採取地点間で比較すると、沿岸部側のものには内陸部側のものより平均約2倍高い値であった。これらの露水中において、硝酸イオンと亜硝酸イオンの光分解に由来するOHラジカルは、それぞれ全体の平均約25%と約17%であった。これにより、窒素酸化物に由来する亜硝酸や硝酸イオン以外にもOHラジカルを生成する物質が含まれることを確認し、その有力候補として光フェントン反応を挙げた。

### OHラジカルのアカマツ苗木への影響

第5章では、アカマツ針葉表面の水滴中に光化学的生成するOHラジカルが植物へ及ぼす影響について検討を行なった。このとき、テフロンシート上で採取された露水の化学成分の組成をコントロールとして用いた。亜硝酸イオンと過酸化水素が同じ濃度で0、25、50、75および100  $\mu\text{M}$  となるように、光フェントン試薬（過酸化水素 + 1  $\mu\text{M}$  鉄 + 5  $\mu\text{M}$  シュウ酸）と亜硝酸イオンを混合したものをオープントップチェンバー内に育成したアカマツ苗木針葉面に対して早朝に噴霧した。これらの噴霧液において、OHラジカル生成速度は異なるが、定常状態濃度はほぼ同じであった。噴霧二ヶ月後、噴霧液のOHラジカル生成速度が最も低かった25  $\mu\text{M}$  過酸化水素と亜硝酸ナトリウムの処理において光合成速度と気孔コンダクタンスがコントロールに比べ有意に低い値を示した。一方、他の処理では、コントロールと比べやや低いかほぼ同じ光合成速度と気孔コンダクタンスを示した。これらの結果は、噴霧液に含まれる亜硝酸イオンがアカマツ針葉に対し毒物としてよりも、肥料として働いたためと考えられた。

次に、生化学的分野においてOHラジカルの消去剤として用いられるマンニトールを光フェントン試薬に混合し、グリーンハウス内に育成したアカマツ苗木針葉面に対して早朝に噴霧した。光噴霧二ヶ月後、光フェントン試薬の噴霧によってアカマツ針葉の光合成速度と気孔コンダクタンスはコントロールに対し有意に低い値を示した。加えて、ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (ルビスコ) 含有量は、コントロールに対し有意に低い値を示した。これらの結果は、針葉内のルビスコ含有量の低下が結果としてアカマツ苗木における光合成速度の低下を引き起こしたと考えられた。しかしながら、光フェントン試薬にマンニトールの添加することで、これらの影響は抑制された。この結果は、アカマツ針葉表面の露水中において光化学的に生成したOHラジカルがマンニトールに消去されることで、光合成速度や気孔コンダクタンスの低下が抑制されたものと考えられた。

## ま と め

第6章では、環境液相中におけるOHラジカルの光化学的生成と消失、ならびにその植物に及ぼす影響メカニズムについて考察した。環境液相中において光化学的に生成したOHラジカルは速やかに消失していた。その生成過程や消失過程は、試料によって大きく異なっていた。しかしながら、OHラジカルの光化学的生成速度と消失速度定数との間には、有意な正の相関関係が認められた。また、OHラジカルの高い反応性とこれまでの大気汚染物質が及ぼす植物影響過程から、露水中において光化学的に生成したOHラジカルは、アカマツ針葉表面のクチクラワックスや気孔の孔辺細胞に影響を引き起こすと推定した。