

大気・雨水中過酸化水素及び 有機過酸化物の定量と動態解析

環境科学センター 山田 悦, 布施 泰朗

1. 緒 言

近年、酸性雨は森林生態系への影響により世界的な環境問題となっている。日本でも酸性雨や大気汚染物質による森林被害が報告されている^{1)–3)}。京都でも、京都盆地を三方から囲む山における土壌pHや化学特性の調査から、これらの山での土壌緩衝能の低下による森林衰退が懸念されている⁴⁾。さらに最近、森林衰退の原因は酸性雨だけではなく、ガス状酸性物質や光化学オキシダントなどの酸化性ガス状汚染物質などが複合したものであると考えられている。北アメリカや中央ヨーロッパではオゾンが森林衰退の原因の一つであると報告されている⁵⁾⁶⁾。また、過酸化水素も植物の細胞に悪影響を与え、森林衰退の原因物質の一つと考えられる⁷⁾。さらに、オゾンと過酸化水素は大気中で二酸化硫黄を酸化し酸性雨生成に関与しており、特にpH5以下ではオゾンよりも過酸化水素の寄与が大きいと推測されている⁵⁾⁸⁾。しかしながら、日本において大気や雨水中での過酸化水素の長期的な挙動はほとんど明らかになっていない⁹⁾。

そこで著者らは、過酸化水素が酵素ペルオキシダーゼ存在下で*p*-ヒドロキシフェニル酢酸と反応し、蛍光二量体を生成することを用いた過酸化水素の蛍光定量法を検討し、環境中での過酸化水素の挙動や生成機構について明らかにした¹⁰⁾。しかし、過酸化水素に加えて有機過酸化物の植物に対する毒性もオゾンそのものよりも強い可能性のあることが指摘されている¹¹⁾。従って、さらに過酸化水素と有機過酸化物を逆相液体クロマトグラフィーで分離後、蛍光光度法で定量する方法を開発し、大気及び雨水中におけるこれら過酸化物の動態と生成機構、並びに酸性雨生成や森林生態系への影響を検討した¹²⁾。

2. 実 験

2. 1 大気及び雨水試料のサンプリング

大気中過酸化物の捕集は、間欠式の Scrubbing coil 法を改良した捕集装置を自作し¹⁰⁾、京都工芸繊維大学及び京都市東山区の華頂山将軍塚（本学から南へ約6 km）で行った。吸収液にはpH3.3のリン酸溶液を用い、捕集時間は1時間とした。雨水試料のサンプリングは、堀場製のレインゴーランドを用いて降雨時のみの雨を1 mm毎に採取すると共に一降雨の全量をポリ容器に採取した。同時に日射量、紫外線量を測定し、大気中のオキシダント濃度などは京都市大気汚染測定局のデータを用いた。

2. 2 大気及び雨水中過酸化物の定量操作

大気中及び雨水中過酸化物の測定は、*p*-ヒドロキシフェニル酢酸（POPHA）が酵素ペルオキシ

ダーゼ（HRP）の存在下で過酸化水素及び有機過酸化物により酸化され、蛍光を発する二量体（6,6'-dihydroxy-3,3'-biphenyldiacetic acid）を生成することを利用した蛍光光度法で行った¹⁰⁾。

Fig. 1に過酸化物測定のプロフロー図を示す。サンプルインジェクター（レオダイン7125）により注入した試料（20 μ L）は、pH3.3のリン酸溶離液（R1）により流速0.5ml/minで1 $^{\circ}$ Cに冷却したカラムに導入され、過酸化水素と有機過酸化物に分離される。過酸化物はカラム分離後、緩衝溶液（R2）を加えて恒温槽で35 $^{\circ}$ Cとした反応コイルに導入され、さらに反応試薬であるPOPHA及びHRPの混合溶液（R3）と合流し、反応コイル中で蛍光を発する二量体を生成する。緩衝液は1M NaOHでpH9.4に調整した0.01MのKH₂PO₄溶液である。反応試薬はPOPHA 2mgとHRP 3mgを含む0.01MのKH₂PO₄溶液100mlである。R2及びR3の流速は、共に0.2ml/minとした。蛍光強度は島津製蛍光検出器RF-550を用い、励起波長301nm、蛍光波長414nmで測定し、島津製クロマトパック（C-R5A）により記録した。

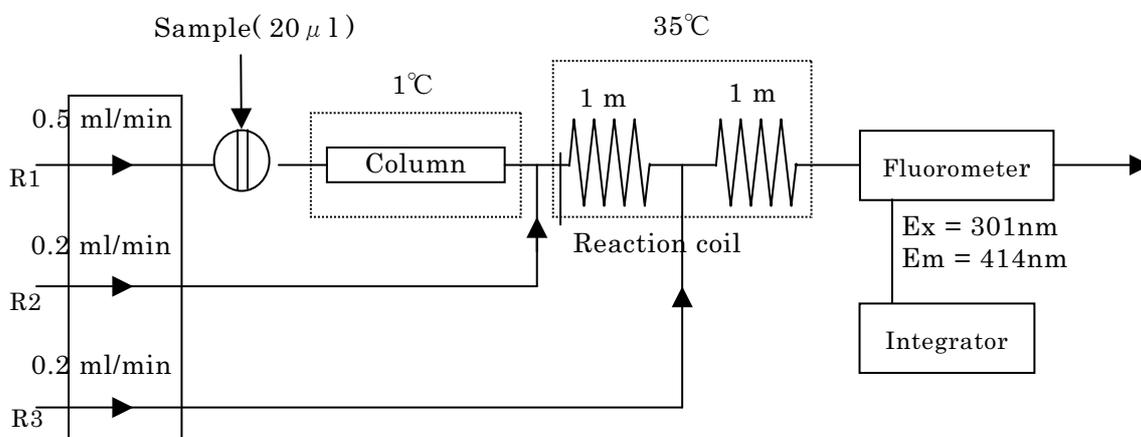


Fig. 1 過酸化水素と有機過酸化物測定のプロフロー図

3. 結果と考察

3. 1 環境中過酸化物の分離分析法の検討

著者らは既にPOPHAがHRPの存在下で過酸化水素により酸化され、蛍光を発する二量体を生成することを利用したFIA法を用い、大気及び雨水中の過酸化水素濃度の測定を行っている¹⁰⁾。今回、カラム分離後の過酸化物の測定は、この蛍光反応を基に過酸化水素と有機過酸化物の両方が検出できる方法について検討した。2個の反応コイルの長さは2倍の1.0mに変え、流速を遅くし、過酸化物をカラム分離後、まずpH9.4の緩衝溶液と十分に混合してからPOPHA-HRP混合液を加えて反応するように、前報とは試薬の添加順などを変えた。

過酸化物の分離にはODSカラムを用い、溶離液はリン酸（pH3.3）が最適であった¹³⁾。リン酸を溶離液とした場合、ポストカラムの蛍光反応の測定条件は、POPHA濃度0.02mg/l、HRP濃度0.02mg/lとした。緩衝溶液であるリン酸二水素カリウム（KH₂PO₄）/NaOH溶液のpHは9.4が最適であった。過酸化水素のみを分析する場合、大気サンプリングの吸収液はこれまでフタル酸液を用いていたが、今回、溶離液と同じリン酸（pH3.3）を用いることを検討した。フタル酸液との比較を行ったが、

大気中過酸化物の吸収能力にはほとんど差が見られなかったので、吸収液もリン酸 (pH3.3) とした。

本法による過酸化水素の定量限界は $0.03 \mu\text{M}$ であり、大気換算濃度では 0.06ppbv であった。相対標準偏差は過酸化水素濃度 $1.142 \mu\text{M}$ と $0.0571 \mu\text{M}$ でそれぞれ 0.4% 、 7.0% となり、良好な再現性を示した。これらの結果より本法は大気及び雨水中の過酸化物の測定に十分な感度と再現性を示すことがわかった。本法で分離した過酸化水素及び有機過酸化物の保持時間を Table 1 に示す。

Table 1 HPLC による H_2O_2 と有機過酸化物の保持時間

No.	Peroxide	Retention time (min)	Relative value
1	H_2O_2	6.36	1.00
2	HMHP	7.26	1.14
3	1-HEHP	8.98	1.41
4	2-HEHP	9.31	1.46
5	MHP	9.84	1.55
6	EHP	16.38	2.58
7	1-OH-PHP	18.38	2.89

HMHP (hydroxymethylhydroperoxide, HOCH_2OOH); 1-HEHP (1-hydroxyethyl hydroperoxide, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{OOH}$); 2-HEHP (2-hydroxyethyl hydroperoxide, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OOH}$); MHP (methylhydroperoxide, CH_3OOH); EHP (ethylhydroperoxide, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOH}$); 1-OH-PHP (1-hydroxypropyl hydroperoxide, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{OOH}$).

3. 2 大気中過酸化物の動態

3. 2. 1 大気中過酸化物の日変化及び経年変化

大気中過酸化水素濃度は日中 $12:00 \sim 15:00$ の間にピークが見られ、夜間でも大気中過酸化水素濃度はゼロになることはなく、ほぼ一定の濃度であった (Fig. 2)。大気中過酸化水素濃度には昼夜で大きな差があることから、大気中過酸化水素の多くは昼間光化学反応により生成し分解するが、一部は分解せずに大気中に残るため夜間の濃度はほぼ一定となると推測される。1999年の午後2時と午前2時における大気中過酸化水素の月変化を Fig. 3 に示す。大気中過酸化水素濃度は夏季に高く冬季に低いという傾向を示した。これらの結果から、大気中過酸化水素は主に光化学反応により生成していると推測できる。

2003年6月から測定した大気中の有機過酸化物濃度を過酸化水素濃度と共に Table 2 に示す。これらの濃度はいずれも $14:00$ の値である。過酸化水素濃度が $0.43 \sim 6.96\text{ppbv}$ に対し、有機過酸化物は methylhydroperoxide (MHP) が、 $0.07 \sim 0.29\text{ppbv}$ の濃度範囲で検出され、それ以外の有機過酸化物としては、hydroxymethylhydroperoxide (HMHP) が9月に2回、ethylhydroperoxide (EHP) が7月に1回検出された。検出された有機過酸化物の濃度は過酸化水素濃度の 20% 以下で、気温の低下した10月以降、検出限界以下の値が続いている。

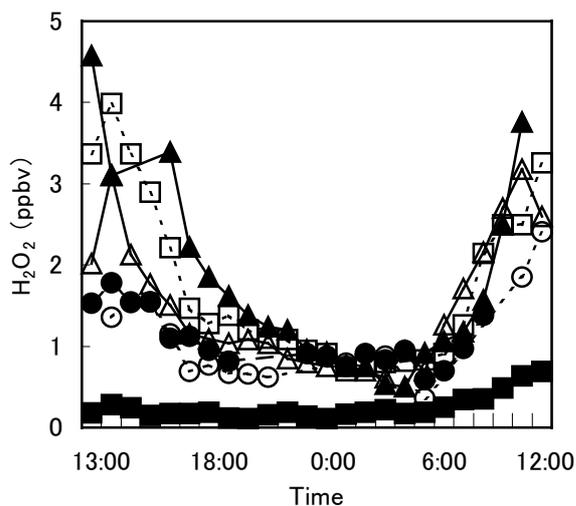


Fig. 2 京都における大気中過酸化水素濃度の日変化
 ○ : April 8-9 ; ● : April 13-14 ; △ : June 3-4 ;
 ▲ : August 20-21 ; □ : September 3-4 ;
 ■ : December 21-22, 1999

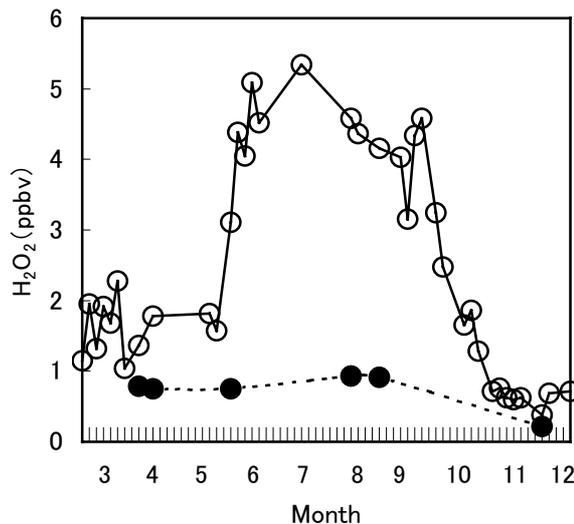


Fig. 3 京都における大気中過酸化水素濃度の月変化
 ○ : 14 : 00 ; ● : 2 : 00

1999年3月から測定している大気中過酸化水素濃度の経年変化を Fig. 4に示す。過酸化水素濃度は14:00の値である。1999年, 2000年, 2002年及び2003年の過酸化水素濃度の最大値は, それぞれ5.34 ppbv, 5.80ppbv, 5.90ppbv 及び6.96ppbv と5ppbv 以上だが, 2001年は4.63ppbv と, 他の年より低い値であった。しかし, これらの年の6~8月における気象パラメーターに, 大きな相異はなかった。京都における大気中SO₂濃度と三宅島火山噴火によるSO₂排出量の月平均値を Fig. 5に示す。三宅島火山噴火によるSO₂排出量の月平均値は, 風早らによって観測された三宅島での値である¹⁴⁾¹⁵⁾。京都市における大気中SO₂濃度は, 2000年9月に月平均値10ppbv 近くと非常に高い値となり, その後減少したが, 2001年4~7月には6ppbv 以上と高い値を示した。これらの期間京都市における大気中SO₂の高濃度の原因が, 三宅島噴火の影響であることは, 日本原子力研究所の三宅島火山性ガス拡散シミュレーション (SPEEDI) の結果¹⁶⁾ 及び流跡線解析の結果¹⁷⁾ から確認できた。

これらの結果より2001年に京都市の大気中過酸化水素の濃度が低くなったのは, 三宅島噴火の影響で京都市の大気中SO₂濃度が2000年9月~2001年7月の期間, 例年の1.5~3倍に増加したためではないかと推測される。

Table 2 京都における大気中過酸化水素及び有機過酸化物濃度の分析結果

Sampling	Concentration (ppbv)							Temp.(°C)	R. H.(%)
	H ₂ O ₂	HMHP	MHP	1-HEHP	2-HEHP	EHP	1-OH-PHP		
2003									
Jun. 12	3.07	—	—	—	—	—	—	26	68
20	2.75	—	—	—	—	—	—	31	41
21	5.26	—	0.20	—	—	—	—	35	32
29	4.34	—	0.29	—	—	—	—	28.5	40
Jul. 27	4.77	—	—	—	—	0.12	—	31	32
Aug. 7	5.57	—	0.07	—	—	—	—	37	40
22	6.96	—	0.20	—	—	—	—	37	36
28	1.60	—	0.27	—	—	—	—	31	50
Sep. 5	2.35	0.34	—	—	—	—	—	33	37
15	3.87	0.07	0.21	—	—	—	—	30	31
Oct. 17	2.61	—	—	—	—	—	—	22	30
31	1.83	—	—	—	—	—	—	24	36
Nov. 14	1.33	—	—	—	—	—	—	17	39
27	0.58	—	—	—	—	—	—	15	62
Dec. 12	0.46	—	—	—	—	—	—	11	50
18	0.43	—	—	—	—	—	—	10	49

— : Not detected

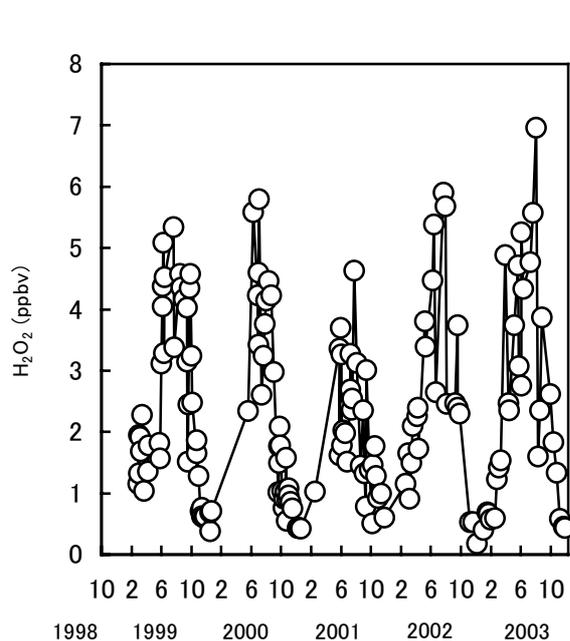


Fig. 4 京都における大気中過酸化水素濃度 (午後2時) の経年変化

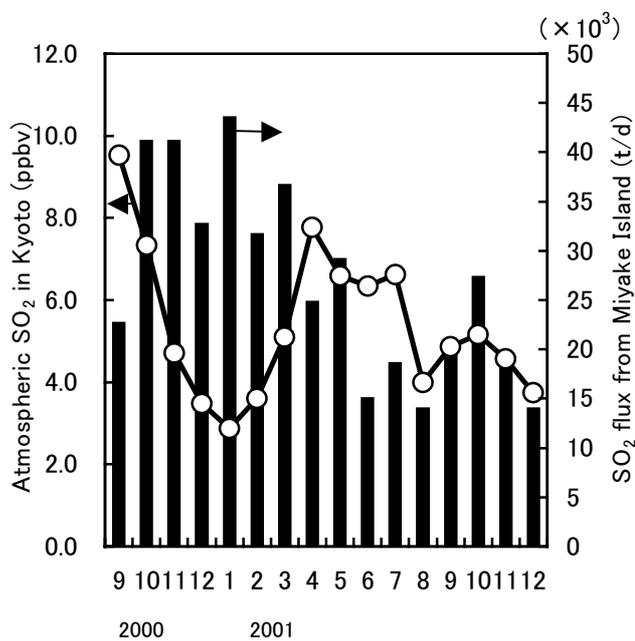


Fig. 5 京都市大気汚染測定局 (高野, 左京区) の SO₂ 濃度と三宅島での SO₂ 排出量の時間変化

3. 2. 2 過酸化物と気象パラメーター及びオキシダントとの関係

大気中過酸化水素濃度は日射量, 紫外線量及び気温と正の相関関係があり, 湿度とは逆に負の関係がある¹⁰⁾。大気中過酸化水素濃度と気温及び湿度との関係を Fig. 6と Fig. 7にそれぞれ示す。有機過

酸化物の場合は過酸化水素と異なり、紫外線量及び日射量と明確な関係は認められなかった。大気中有機過酸化物濃度と気温の関係を Fig. 8 に示す。大気中有機過酸化物の生成は過酸化水素と同様に気温の影響が大きく、大気中MHP と HMHP 濃度は25℃付近で増加するという傾向を示した。大気中有機過酸化物濃度と湿度の関係を、オキシダント濃度40ppbv 以上と30ppbv 以下の場合に分けて Fig. 9 に示す。

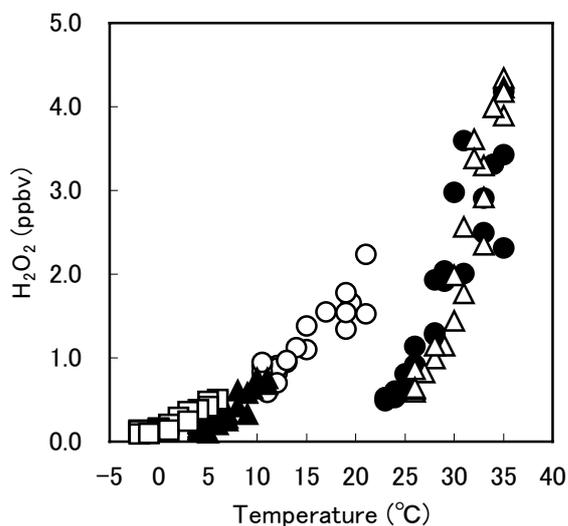


Fig. 6 大気中過酸化水素濃度と気温の関係
○ : April ; ● : July ; △ : August ;
▲ : November ; □ : December

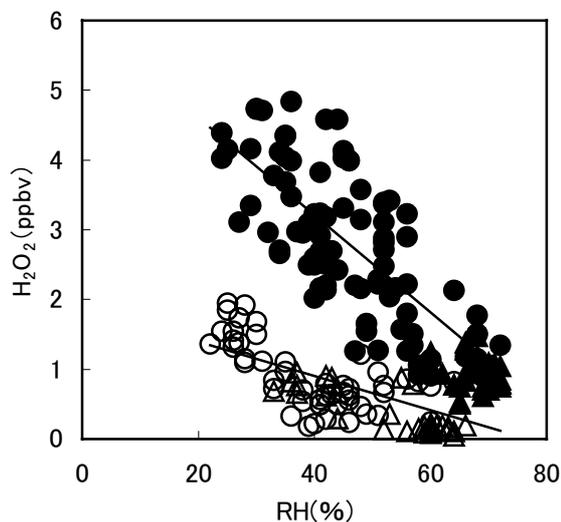


Fig. 7 大気中過酸化水素濃度と湿度の関係
○ : 0 - 15°C (昼間) ; ● : ≥25°C (昼間)
△ : 0 - 15°C (夜間) ; ▲ : ≥20°C (夜間)

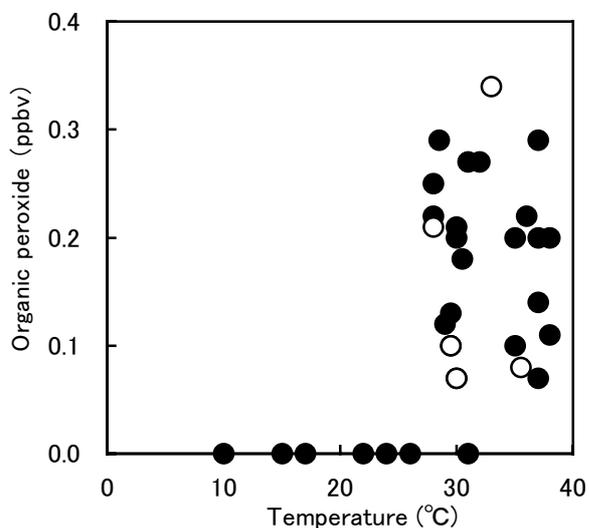


Fig. 8 大気中有機過酸化物濃度と気温の関係
○ : HMHP ; ● : MHP

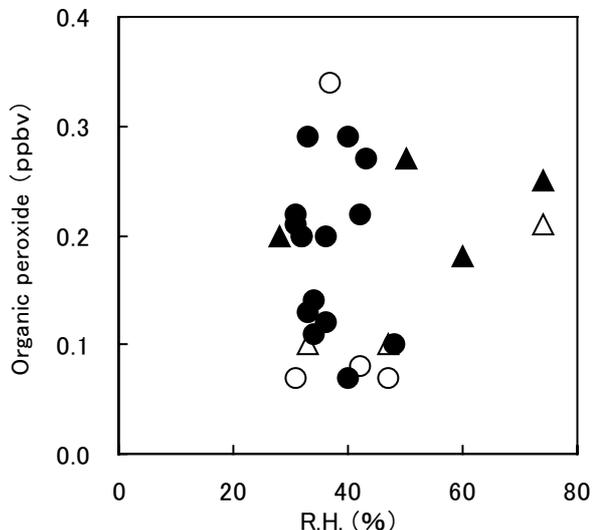


Fig. 9 大気中有機過酸化物濃度と湿度の関係
HMHP ; ○ ≥ オキシダント (Ox) 40ppbv,
△ ≤ Ox 30ppbv, MHP ; ● ≥ Ox 40ppbv,
▲ ≤ Ox 30ppbv

有機過酸化物濃度は、過酸化水素とは異なり湿度と正の関係を示し、オキシダント濃度が高くなるという傾向を示した。大気中MHP 濃度はオキシダント濃度が高い場合に高く、オキシダント濃度25ppbv 以下ではMHP は検出されなかった。

有機過酸化物の生成については、OHラジカルによる炭化水素の光化学反応と、 O_3 とオレフィンとの反応の2種類の生成機構が報告されている¹⁸⁾⁻²¹⁾。大気中有機過酸化物濃度は日射量及び紫外線量とはっきりとした相関関係が見られず、湿度及びオキシダント濃度と正の相関関係があり、気温 $25^{\circ}C$ 付近で増加することから、オゾンとオレフィンによる反応が主ではないかと考えられる。本研究では大気中の有機過酸化物の測定を2003年6月から開始したが、有機過酸化物は気温が高くオゾン濃度も高い6～9月の昼間のみ検出され、10月以降は全く検出されていない。これらの結果からも、大気中有機過酸化物は主にオレフィンとオゾンとの反応により生成すると考えられる。

3. 2. 3 森林内と森林外における大気中過酸化物濃度

2003年7月15日と8月1日の2回測定した東山区將軍塚の森林外と森林内における大気中過酸化水素濃度は、森林外が $2.09\sim 3.11\text{ppbv}$ に対し、森林内は $0.47\sim 0.79\text{ppbv}$ と、どちらも森林内の大気中過酸化水素濃度は森林外の3分の1以下という低い値であった。有機過酸化物は7月15日にMH Pが森林内で 0.1ppbv 、森林外で2-hydroxyethyl hydroperoxide (2-HEHP) が 0.2ppbv 検出されたが、8月1日は両地点とも有機過酸化物はまったく検出されなかった。これは生成した過酸化水素及び有機過酸化物が森林への乾性沈着や森林内の湿度により減少したためではないかと考えられる。

3. 3 雨水中過酸化物の動態

雨水中に検出された過酸化物の濃度を Table 3に示す。測定期間中大気中有機過酸化物として検出されたのは多くの場合MH Pで、HMHPは6～8月には全く検出されず、9月に2回検出された。一方、雨水中では6～8月の35回の降雨中、MH Pの9回に対し、HMHPは12回検出された。2003年の6～8月は非常に雨の日が多く、これらの期間HMHPが雨水中には検出されたのかかわらず大気中に全く検出されなかったのは、MH Pのヘンリー一定数が 220.5Matm^{-1} に対し、HMHPのヘンリー一定数は $2.4\times 10^5\text{Matm}^{-1}$ と約1000倍も大きいため、大気中のHMHPは雨に速やかに取り込まれ大気中には検出されなくなったのではないかと推測される。

1998年10月から2003年12月の一降雨ごとの雨水中過酸化水素濃度と降水量の月平均値の季節変化を Fig. 10に示す。雨水中過酸化水素濃度も夏に高く、冬に低いという大気中過酸化水素と同様の季節変化を示した。また、夏でも降水量が増加すると、雨水中過酸化水素濃度は低下し、過酸化水素は大気中で主に光化学反応により生成し、wash out や rain out などにより速やかに雨水中に取り込まれると推測される。

過酸化水素と有機過酸化物の湿性沈着量の関係を Fig. 11に示す。HMHPとMH Pの湿性沈着量は過酸化水素沈着量と比較すると低い値であった。過酸化水素の湿性沈着量が多い時にHMHPとMH Pの沈着量が多いという傾向が見られたが、過酸化水素の沈着量が低い時でも有機過酸化物の沈着量が高い場合もある。

Table 3 雨水中過酸化水素及び有機過酸化物濃度の分析結果

Sampling	H_2O_2 (μM)	organicperoxide (μM)	
		HMHP	MHP
2003			
Jun. 13	15.67	0.31	—
14	18.13	0.54	0.91
15	14.45	1.16	—
18	0.63	0.06	—
26	7.16	0.06	—
27	20.83	0.05	0.11
30	23.10	0.06	0.14
Jul. 1	16.71	—	0.08
3	11.95	—	0.06
6	19.00	0.16	—
8	4.28	0.05	—
21	6.96	0.04	—
Aug. 5	16.00	0.07	0.12
11	17.30	0.06	—
25	11.40	—	0.09
26	6.77	—	0.05
28	15.91	—	0.08

— : Not detected

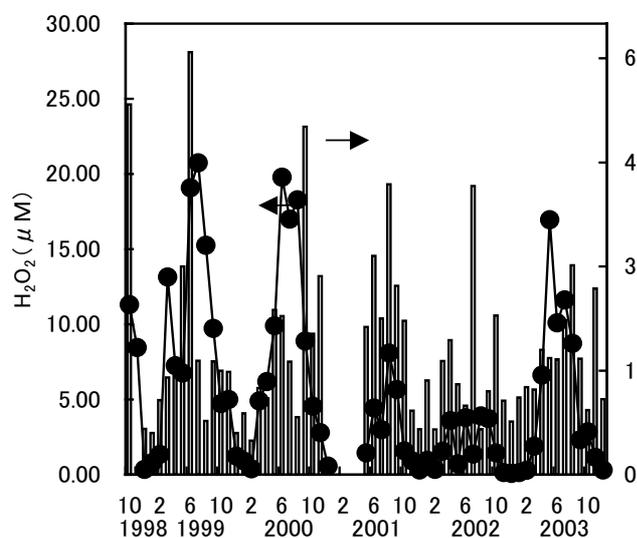


Fig. 10 一降雨ごとの雨水中過酸化水素濃度と降水量の月平均値

(●) 沈着量の関係 (□) の季節変化

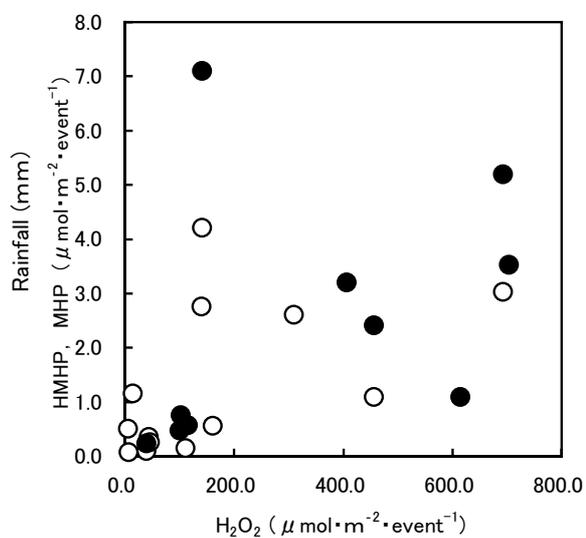


Fig. 11 過酸化水素と有機過酸化物の湿性沈着量の関係

○ : HMHP, ● : MHP

3. 4 雨水中過酸化物と SO_4^{2-} の湿性沈着量の関係

1998年10月から測定した雨水中硫酸イオン濃度は夏に高く冬に低いという季節変化がみられた。雨水中過酸化水素と硫酸イオンの湿性沈着量は、夏季には雨水中硫酸イオン濃度と過酸化水素濃度は同程度のオーダー (μM) であり、雨水中過酸化水素濃度が高くなると硫酸イオン濃度が高くなるとい

う傾向が得られたが、冬季にはほとんどその傾向は見られなかった。これらの結果から雨水中過酸化水素は、冬季よりも夏季において亜硫酸の酸化反応への寄与が大きく、降水の酸性化機構に関係している重要な物質の一つであると推定できる。

また、2003年6～8月の雨水中有機過酸化物と硫酸イオンの関係を Fig. 12に示す。雨水中のHMHPとMHPの湿性沈着量が1降雨あたり0～7.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ に対して硫酸イオンの湿性沈着量は52.2～2005 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ であり、硫酸イオンの湿性沈着量が多い時にHMHPとMHPの沈着量が多いという傾向が見られるが、硫酸イオンの沈着量が低い時でも有機過酸化物の沈着量が高い場合もあり、はっきりとした相関関係はみられなかった。

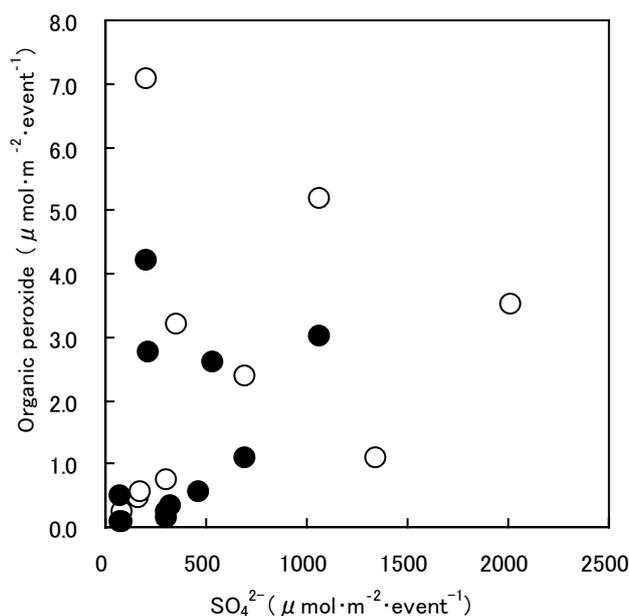


Fig. 12 雨水中有機過酸化物と硫酸イオンの湿性沈着量の関係
○：HMHP；●：MHP

4. 結 論

大気及び雨水中過酸化水素と有機過酸化物の定量法を開発し、これらの環境での動態及び森林生態系への影響を検討した。

大気中過酸化水素は0.18～6.96ppbvの濃度範囲で、夏に高く、冬に低いという季節変化を示した。大気中過酸化水素濃度は日射量、紫外線量及び気温と正の相関関係があり、湿度とは逆に負の関係があった。大気中過酸化水素の多くは昼間光化学反応により生成する。大気中有機過酸化物は、主にmethylhydroperoxide (MHP)が6～9月にのみ検出され、濃度範囲0.07～0.29ppbvであった。大気中有機過酸化物濃度は、過酸化水素と同様に温度と正の相関があり、気温25℃付近で増加した。一方、大気中有機過酸化物濃度は、過酸化水素とは異なり湿度と正の相関を示し、オゾン濃度とも正の相関を示したが、日射量、紫外線量とは明確な関係は認められなかった。大気中有機過酸化物は主にオレフィンとオゾンとの反応により生成すると推測される。

雨水中過酸化水素濃度は6～8月に50 μM を越える場合もあった。雨水中有機過酸化物は

hydroxy- methylhydroperoxide (HMHP) とMHPが夏季の6～8月にのみ検出され、その濃度は2 μ M以下の低い値であった。

5. 文 献

- 1) 梨本 真, 高橋啓二, 森林立地, **32**, 70 (1990).
- 2) 高橋啓二, 梨本 真, 植田洋匡, 環境科学会誌, **4**, 51 (1991).
- 3) 梨本 真, 高橋啓二, 芦原昭一, 環境科学会誌, **6**, 121 (1993).
- 4) 山田 武, 大野原基, 佐藤昌憲, 山田 悦, 環境科学会誌, **9**, 211 (1996).
- 5) H. Sakugawa, I. R. Kaplan, *J. Geophys. Res.*, **94**, 12957 (1989).
- 6) S. B. Mclaughlin, *J. Air Pollut. Control Assoc.*, **35**, 512 (1985).
- 7) G. Masuch, A. Ketrup, R. K. A. M. Malland, J. Slanina, *J. Environ. Anal. Chem.*, **27**, 183 (1986).
- 8) T. Ibusuki, M. Ohsawa, K. Takeuchi, *Atmos. Environ., Part A*, **24**, 1325 (1990).
- 9) 山下敏広, 佐久川弘, 藤原祺多夫, 日本化学会誌, **12**, 1127 (1994).
- 10) E. Yamada, K. Tomozawa, Y. Nakanishi, Y. Fuse, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **75**, 1385 (2002).
- 11) N. Hewitt, G. Terry, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1890 (1992).
- 12) 黄 松南, 布施泰朗, 山田 悦, 分析化学, **53**, 875 (2004).
- 13) F. Sauer, S. Limbach, G. K. Moortgat, *Atmos. Environ.*, **31**, 1173 (1997).
- 14) 風早康平, 資源環境対策, **37**, 33 (2001).
- 15) 風早康平, 篠原宏志, 宇野浩三, 尾台正信, 森 博一, 中堀康弘, 飯野英樹, 平林順一, 第43回大気環境学会講演要旨集, p. 120 (2002).
- 16) <http://www.jaeri.go.jp> 茅野政道 (2003).
- 17) 野口 泉, 秋山雅行, 恵花孝昭, 北海道環境科学センター所報, **29**, 40 (2002).
- 18) 畠山史郎, 環境科学会誌, **12**, 227 (1999) .
- 19) H. Sakugawa, I. R. Kaplan, *Atmos. Environ.*, **27A**, 57 (1993).
- 20) E. Hellpointner, S. Gab, *Nature*, **337**, 631 (1989).
- 21) K. H. Becker, J. Bechara, K. J. Brockmann, *Atmos. Environ.*, **27A**, 57 (1993).