

広島県における大気, 雨水, 露, 河川水, 飲料水中の 過酸化物の測定及び生成・消失機構

佐久川 弘*・山下 敏 広*・河 井 裕*・増 田 直 樹*・
橋 本 典 親*・牧 野 慎 也*・中 谷 暢 丈*・竹 田 一 彦*

(2005年12月28日受付, 2006年4月3日受理)

Measurements, and production and decomposition mechanisms of hydroperoxides in air, rain, dew, river and drinking waters, Hiroshima prefecture, Japan

Hiroshi SAKUGAWA*, Toshihiro YAMASHITA*, Hiroshi KAWAI*,
Naoki MASUDA*, Norichika HASHIMOTO*, Shinya MAKINO*,
Nobutake NAKATANI* and Kazuhiko TAKEDA*

* Department of Environmental Dynamics and Management, Graduate
School of Biosphere Science, Hiroshima University
1-7-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8521, Japan

Hydroperoxides such as hydrogen peroxide (H_2O_2) and organic hydroperoxides (ROOH) were measured in environmental samples in Hiroshima prefecture, Japan, during 1993-2002. Hydroperoxides were determined by fluorescence detection following an enzymatic separation of H_2O_2 from ROOH using a flow injection analysis (FIA-FD) or following a HPLC separation of individual hydroperoxides (HPLC-FD). Clear diurnal variation of H_2O_2 concentration (0.02 ~ 1.58 ppbv) in the air was observed at Higashi-Hiroshima and H_2O_2 was correlated with O_3 , solar radiation and temperature. Mean concentrations of H_2O_2 in the air were 0.67, 0.73, 2.0 and 0.81 ppbv at the south slope and summit of Mt. Gokurakuji, Hiroshima Bay and Iyo-Nada of the Seto Inland Sea, respectively, while total ROOH (ROOHs) concentrations were 1.42, 0.72, 1.4 and 0.6 ppbv, respectively. H_2O_2 in rainwater collected at Higashi-Hiroshima showed the concentration range in n.d. ~ 56,400 nM (ave. 4,730 nM), with highest in summer and lowest in winter. No individual ROOH was detected in the rain waters. Dew samples contained < 3,600, < 353 and < 179 nM of H_2O_2 in Higashi-Hiroshima, the south slope and summit of Mt. Gokurakuji, respectively, whereas ROOHs were contained < 3,500, < 998 and < 1,300 nM, respectively. H_2O_2 concentrations (17 ~ 301 nM) in river water samples tended to be higher (ave. 185 nM) in summer and lower (ave. 87.3 nM) in winter while ROOHs exhibited almost same concentration ranges (33 ~ 2,000 nM) despite almost no seasonal change. Commercial natural mineral waters contained n.d. ~ 1,420 and 79 ~ 375 nM of H_2O_2 and ROOHs, respectively, whereas no peroxides were detected from tap waters. H_2O_2 could be generated by HO_2/O_2^- , which were formed by the reaction of dissolved organic matter with nitrate-induced OH radicals in natural mineral waters while no H_2O_2 would be generated in tap waters due to quick scavenging of OH with excess $HClO/HClO^-$, which are used for sterilization of tap waters.

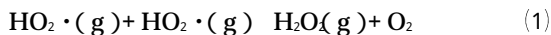
Key words: peroxides, hydrogen peroxide, organic peroxide, Hiroshima prefecture, hydroxyl radical

* 広島大学大学院生物圏科学研究科 環境循環系制御
学専攻
〒739 8521 広島県東広島市鏡山1 7 1

1. はじめに

活性酸素は基底状態の酸素分子以外の活性に富む様々な酸素種であり、スーパーオキシド (O_2^-), 過酸化水素 (H_2O_2), 有機過酸化物 (ROOH), 1重項酸素 (1O_2), OHラジカル ($\cdot OH$) などがその主なものである。生体内において活性酸素は、様々な疾患や老化に関与する物質であることが明らかにされている (中野ほか, 1988)。しかしながら、医学分野での生体内における活性酸素の計測・動態に関する活発な研究に対し、環境中の活性酸素の計測はあまり行われていない。

大気中 H_2O_2 は、オゾン (O_3) と同様に強い酸化力を持ち、雨の酸性化に重要な役割を果たすと考えられている (Sakugawa *et al.*, 1990)。この物質は、揮発性有機化合物や窒素酸化物 (NO_x) などの光化学反応に起因するヒドロペルオキシラジカル ($HO_2\cdot$) の二分子重合反応によって生成し (式(1): Calvert and Stockwell, 1983), 大気中に数十 pptv (ppt by volume) から数 ppbv 存在する。

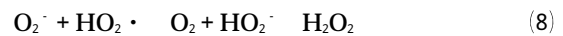
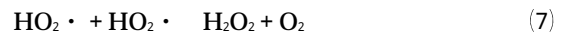
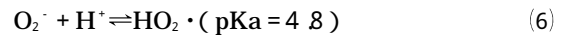
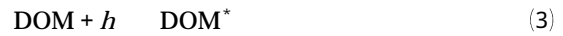


ROOH は、分子内に酸素-酸素の一重結合を持つ有機化合物の総称で、特にアルキル基の一つが水素原子に置き換わったものをヒドロペルオキシドと呼ぶ。本研究では、このヒドロペルオキシドを ROOH として以下に述べる。メチルヒドロペルオキシド (MHP, CH_3OOH), ヒドロキシメチルペルオキシド (HMHP, $HOCH_2OOH$), エチルヒドロペルオキシド (EHP, C_2H_5OOH), 1ヒドロキシエチルヒドロペルオキシド (1HEHP, $CH_3CH(OH)OOH$), 過酢酸 (PAA, $CH_3C(O)OOH$) などが環境中の ROOH として知られている (Hellpointner and Gab, 1989; Hewitt and Kok, 1991; Sauer *et al.*, 1997)。ROOH は、大気中において O_3 と植物の放出するテルペン類などの炭化水素との反応で生成することが報告されており (Hewitt and Kok, 1991; Hewitt and Terry, 1992), 水溶性や毒性が高い。大気中における ROOH の生成反応は、式(2)で示される。



天然水中の H_2O_2 は光化学的活性の指標として有用であり (Zafiriou *et al.*, 1984), 腐植物質を主体とした溶存有機物 (DOM) の光酸化に続く一連の反応過

程 (式(3)~(8)) において生成すると考えられている (Zika, 1981; Zepp *et al.*, 1987; Cooper *et al.*, 1988),

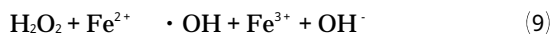


さらに、大気液相中の H_2O_2 は気相からの溶解に由来するものも含まれる。一方、天然水中 ROOH の濃度および動態については、測定法の開発が十分ではないため、詳細は明らかではない。

環境中における H_2O_2 の測定方法として、ペルオキシダーゼの存在下での H_2O_2 による有機化合物の酸化反応を利用したものが最も一般的であり、スコポレチン法 (Andreae, 1955; Perschke and Broda, 1961) や *p*-ヒドロキシフェニル酢酸 (POPHA) 二量体化法 (Guilbault *et al.*, 1968) などがある。この POPHA 二量体化法とフローインジェクション法を組み合わせた自動分析法 (FIA-FD 法) も開発されている (Lazrus *et al.*, 1986; 山下ほか, 1994)。一方、高速液体クロマトグラフによって個々の過酸化物を分離・定量するポストカラム法 (HPLC-FD 法) も考案されている (Hellpointner and Gab, 1989; Kurth *et al.*, 1991; Kok *et al.*, 1995)。ROOH の総量 (ROOHs) を FIA-FD 法を用いて求める方法も開発されている (Lazrus *et al.*, 1985, 1986; Sakugawa *et al.*, 2000) が、個々の ROOH に関する情報は得られない欠点がある。

過酸化物と同様に活性酸素のひとつである OHラジカルは極めて反応性が高く、大気中で起こる種々の反応に関与していると考えられている (畠山・秋元, 1990)。近くにある分子と瞬時に反応するため、水溶液中での寿命は通常マイクロ秒と非常に短く、雲、雨、露や河川水中での生成速度定数は $10^8 \sim 10^9 \text{ M s}^{-1}$, 定常状態濃度は $10^{-17} \sim 10^{-13} \text{ M}$ と報告されている (Arakaki and Faust, 1998; 新垣ほか, 1998, 1999; Nakatani *et al.*, 2004; 中谷, 2004; Takeda *et al.*,

2004)。このラジカルは，2価鉄による H₂O₂の還元反応(Fenton 反応，式(9))や H₂O₂の直接的光分解(式(10))により生成することが知られている。天然水中におけるこれらの反応は，微生物の酵素(カタラーゼやペルオキシダーゼなど)による反応とともに H₂O₂の分解機構として重要である。



一方，OH ラジカル同士の重合反応(式(11))によって H₂O₂が生成する。



したがって，OH ラジカルは環境中での過酸化物の動態を探る上で鍵になる化学種であるので，測定されることが望ましい。

活性酸素は，飲料水の品質を決定する要素の一つであると考えられる。例えば，ビールの品質低下には，H₂O₂や OH ラジカルが関与するといわれている(Kaneda *et al.*, 1988; Uchida and Ono, 1996a, b)。ミネラルウォーターは，保存中に太陽光および蛍光灯などから発せられる紫外線による照射を受け，光化学的な反応を引き起こしている可能性がある。さらに，水道水中の残留塩素によって活性酸素が発生する可能性があるが，これらの詳細については不明である。

広島県内における大気・雨水中の H₂O₂濃度に関しては，山下ほか(1994)の研究があり，広島県において汚染物質濃度が高い広島市(人口約110万人)の大気中濃度は 0 ~ 3 ppbv の範囲で，中規模都市である東広島市(人口約12万人)における大気・雨水中 H₂O₂濃度は，それぞれ 0 ~ 2 ppb および 0.3 ~ 21 μM の範囲で報告されている。しかしながら，人為影響の比較的少ないと考えられる森林や海上大気中の過酸化物濃度に関する情報は得られていない上，O₃や NO_x，二酸化硫黄(SO₂)といった他の汚染物質濃度との因果関係は明確にされていない。一方，広島湾などの瀬戸内海海水中の過酸化物は，数 ~ 数百 nM の濃度範囲で存在しており，大気や河川からの流入，水中での光化学的生成，植物プランクトン体内の光合成過程における生成と体外への放出，他種のプランクトンによる分解など，様々な生成・消失機構が報告されている(Fujiwara *et al.*, 1993; 竹田ほか, 1999; 赤根ほか, 2004; 赤根, 2005)。しかし，露水や河川水，飲料水に

おける過酸化物濃度とその生成・分解機構に関する報告はなされていない。

本研究では，まず FIA-FD 法と HPLC-FD 法を用いて天然水およびナチュラルミネラルウォーター中の過酸化物の測定を行ない，二つの測定方法を比較した。また，東広島市においては，大気，雨水，露試料のように多岐にわたる環境試料について集中的に測定を行い，大気水圏中における過酸化物の動態を調べた。森林および海上の大気中での過酸化物の挙動を知る手がかりとして，廿日市市極楽寺山の大気および露試料，広島湾および伊予灘海上大気について過酸化物濃度を測定した。河川水・飲料水として，広島県内の主要河川の河川水，市販ナチュラルミネラルウォーターと水道水中の過酸化物濃度の測定を行った。このとき，飲料水に光照射したときの OH ラジカル生成速度の測定も行ない，過酸化物の生成・分解機構に関する考察を行った。

2. 実験方法

2.1 試薬

試薬の調製には，高純水(>18 MΩ·cm)(日本ミリポア，Milli-Q plus)を用いた。高純水中の H₂O₂濃度は，検出限界値以下であった。試薬には，特級試薬もしくはそれと同等以上のものを用いた。過酸化物標準溶液として，30% H₂O₂溶液と ROOHs のなかでも比較的安定で入手しやすい 9% PAA 溶液を使用した。H₂O₂溶液は，240 nm における紫外吸光度から濃度を決定し(Miller and Kester, 1988)，これから一ヶ月おきに 100 mM 溶液を調製・冷蔵保存した。PAA 溶液は，ヨウ素滴定法・セリウム(Ⅳ)滴定法(Greenspan and Mackellar, 1948)により数ヶ月ごとに標定したものから，3日おきに 100 mM 溶液を調製した。また，MHP と EHP の合成・標定は，栗原(1997)の方法に従って行なった。測定直前に，各溶液から検量線用標準溶液を調製した。

HPLC-FD 用の蛍光試薬は，0.5 M フタル酸水素カリウム水溶液(pH 5.8~6.0)120 mL に，Type ホースラディッシュペルオキシダーゼを 0.057 g，POPHA を 0.400 g 加えて十分攪拌したものを孔径 0.45 μm のガラス繊維ろ紙(アドバンテック東洋，GC 50)によりろ過し，さらに高純水 120 mL を加えたものを原液として約 3℃ の冷蔵庫内に保存した。測定時には，これを 50 倍に希釈して使用した。

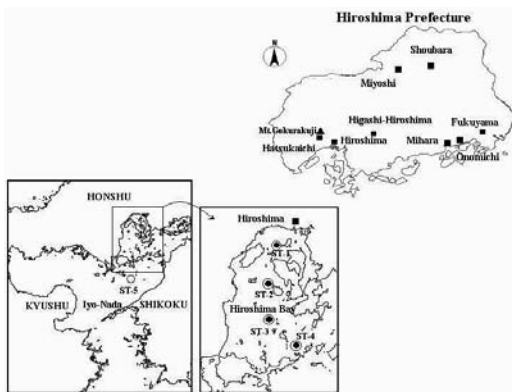


Fig. 1 Locations of collection of environmental samples in Hiroshima prefecture.

2.2 試料採取場所および採取方法

広島県における環境試料の採取場所を Fig. 1 に示し、以下に採取方法を述べる。

2.2.1 大気 1999年11月19～20日に広島大学東広島キャンパスにて、2～3時間間隔で大気試料を採取した。採取期間中の天候は晴れであった。広島大学東広島キャンパスは、市街地から数 km 離れているが、国道や幹線道路が近隣する場所に位置している。また、1994年9月19日に広島県廿日市市極楽寺山（標高693 m）の人為影響が比較的多い南側斜面（150 m、山陽自動車道宮島サービスエリア近傍）および人為影響の少ない山頂付近（630 m）にて3～4時間間隔で大気試料を採取した。各採取場所は、マツ林に囲まれているが、半径5 m 以内には樹木は存在せず、視界が開けている。採取時の天候はおおむね晴れであったが、11:10～11:30の間に1 mm 以下の降雨が観測された。さらに、広島大学生物生産学部所属練習船豊潮丸により、1994年5月12日には瀬戸内海伊予灘のST 5 (33°47' N, 132°19' E) の定点にて2～4時間おきに試料を採取した。また、1994年5月9日の日中に広島湾湾奥 ST 1 (34°18' N, 132°00' E) から ST 2 (34°11' N, 132°21' E), ST 3 (34°05' N, 132°21' E) および湾口 (ST 4, 34°02' N, 132°28' E) にかけて、10ノット/時以下で航行中に船首側デッキ上で1～2時間ごとに大気試料を採取した。どちらも、採取時の天候は晴れであった。

大気中過酸化物の捕集には、ストリップコイル法により行った（山下ほか, 1994）。吸収液にはフタル酸緩衝液（pH 6.0, 1 mM）を用い、捕集時間は30分とした。捕集部は遮光した上、氷で低温に保ち、捕集後すみやかに測定を行った。この方法による H₂O₂

および PAA の捕集効率はいずれも、100%、94% である（山下ほか, 1994）。大気中にはさまざまな ROOH が存在し、個々の捕集効率は異なる可能性があるが、本研究では他の ROOH も PAA で求めた捕集効率に準ずると仮定して濃度を算出した。

2.2.2 雨水 1999年7月～2000年1月の間、広島大学東広島キャンパスにて、また1999年8月～11月の間、極楽寺山南側斜面（標高150 m）及び北側斜面（350 m）にて、直径24 cm のポリエチレン製ロートを用いて、降り始めから降り終わりまでの1降雨ごとに採取した。採取容器はアルミホイルで覆い、採取した雨水は孔径0.45 μm のろ紙（日本ミリポア, Omnipore Membrane Filter）でろ過後、測定に用いた。

2.2.3 露 広島大学東広島キャンパスにて、1997年4月～1998年12月の間に計40回採取した。極楽寺山の南側斜面（標高150 m）、北側斜面（350 m）の2地点においても1997年8月～1998年10月の間に計11回（うち1回は南側で採取できず）同時に採取した。90 cm 四方の発泡スチレンに厚さ25 μm のテフロン製シートを貼りつけた露取り器（地上高1 m）を採取前日の夜に設置し、翌朝テフロンシート上についた露をテフロン製のスポイドで集めた。試料は孔径0.45 μm のろ紙（日本ミリポア, Omnipore Membrane Filter）でろ過後、測定に用いた。

2.2.4 河川水 広島県内の主要都市（広島市、福山市、尾道市、三原市、三次市、庄原市）を流れる6本の河川、太田川（幹線流路延長103 km, 流域面積1,700 km²）、芦田川（86 km, 860 km²）、藤井川（24 km, 350 km²）、沼田川（48 km, 540 km²）、江の川（194 km, 3,900 km²）、西城川（江の川支流）において、三つの期間（1回目：1996年12月3～5日、2回目：1996年12月17～19日、3回目：1997年6月4～6日）に採水を行った。各都市の市街地付近（太田川、芦田川、藤井川、沼田川においては下流域、江の川および西城川においては中流域）で、比較的汚染が少ないと思われる場所を選び、日中晴天時にポリバケツを用いて河川中央付近の表面水を採水した。ただし、1回目の江の川と西城川、3回目の西城川は、降雨直後による河川水の懸濁により採取できなかった。1、2回目は過酸化物のみ、3回目は過酸化物、陰イオン、陽イオン、金属類を測定した。

2.2.5 飲料水 1997年～1998年にかけて東広島市内で購入したペットボトル入り市販ナチュラルミネラルウォーター21種類（国内品16種類、国外品5種類）

と広島大学総合科学部内で採水した水道水を用いた。東広島市内の水道水は、太田川の水を浄水場で処理したものが東広島市に供給されている。これらの試料はろ過を行わず、そのまま測定に使用した。一部の試料については全有機炭素 (TOC) および陰イオン (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-}) も測定した。

2.3 過酸化物の定量 (FIA-FD 法)

山下ほか (1994) の FIA-FD 法を一部改良して、過酸化物の測定を行った。測定システムは、プランジャーポンプ (サヌキ工業, 4P2U 4016), オートサンプラー (東洋曹達工業, AS 8000), 蛍光光度計 (島津製作所, RF 10AXL) およびインテグレーター (島津製作所, C R5A) から構成された。蛍光試薬には POPHA を用い、ペルオキシダーゼの存在下で過酸化物により酸化され生成する POPHA の二量体を、高 pH 下における励起波長 320 nm, 蛍光波長 400 nm にて測定した。

H_2O_2 と ROOH の分別には、以下の方法を用いた。ROOH は H_2O_2 に比べてカタラーゼによる分解速度は遅いので、 H_2O_2 を分解するときよりも濃度の高いカタラーゼを用いると、 H_2O_2 と ROOH の両者を分解することができる。カタラーゼと反応させないときの蛍光強度を A, H_2O_2 のみを除去した時を B, H_2O_2 と ROOH を除去した時を C とすると、 H_2O_2 量は $A - B$, ROOHs 量は $B - C$ に相当する。 H_2O_2 の分解には $500 \text{ units mL}^{-1}$, ROOHs の分解には $50,000 \text{ units mL}^{-1}$ のカタラーゼでそれぞれ 6 分間反応させた。過酸化物は、採水・ろ過後すみやかに行った。各検出限界値は、 H_2O_2 で 15 nM, ROOHs で 30 nM (PAA 換算値) であった。また、 H_2O_2 および ROOHs の定量に際して、天然水中の自然起源蛍光性有機物の代表的な存在である腐植物質の影響をスワニー河フルボ酸の標準試料 (国際腐植物質学会製) を用いて、また天然水中の汚染物質の代表的な存在である蛍光増白剤の標準試料 (DSBP: 4,4'-bis(2-sulfostyryl)biphenyl (Tinal CBS-X), DAS1: 4,4'-bis[4-anilino-6-morphilino-s-triazine-2-yl]amino] 2,2'-stilbenedisulfonate (Tinal AMS-GX)) を用いて検討した結果、それらの物質と過酸化物の励起・蛍光波長との重なりによる妨害は見られなかった。したがって、天然水中の蛍光性有機物による妨害の影響は無視できると考えられる。

2.4 過酸化物の定量 (HPLC-FD 法)

溶離液 (硫酸 1 mM とエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 0.1 mM の混合溶液) は、ポンプ (島津製

作所, LC 10Ai) により流速 0.6 mL min^{-1} で流した。インジェクター (Rheodyne Inc., 9725) より注入された試料 (50 μL) は、カラム (Alltech Associates Inc., Adsorbosphere C18 MF-PLUS) にて過酸化物を分離後、シリンジポンプ (Harvard Apparatus Inc., model 11) により送液された蛍光試薬 (流速 0.07 mL min^{-1}) と PEEK 製三方ジョイントおよびテフロン製コイルを通じて混合される。さらにアンモニア水を入れた密閉容器に、アンモニアガスを通ずる NAFION チューブ (PERMA PURE Inc., ME 070 12MFL) を通じて試料を通過させて溶液の pH を 10 以上とした後に、蛍光光度計 (島津製作所, RF 10 AXL) にて励起波長 320 nm, 蛍光波長 400 nm の信号をインテグレーター (島津製作所, C R6A) に記録した。尚、分析中にカラムおよび蛍光試薬は、氷水もしくは保冷剤により冷却した。 100 nM の H_2O_2 溶液を用いた際の繰り返し精度は、8.7% であった。検出限界値は、 H_2O_2 で 20 nM, MHP で 189 nM, EHP で 109 nM であった。PAA は $10 \mu\text{M}$ 以上でしか検出されなかった。過酸化物のカラム効率 (分析カラムを通過する過酸化物の割合) は、Kok *et al.* (1995) を基に、カラムを取り付けない場合と取り付けた場合のそれぞれのピークエリアを比較することにより求めたところ、 H_2O_2 で 80 ~ 93%, MHP で 50 ~ 70%, EHP で 40 ~ 60% であった。

本研究ではこの方法を用いて、大気水圏中の過酸化水素およびこれら 3 種類の有機過酸化物の同定・定量を行った。

2.5 OH ラジカル生成速度

OH ラジカルの生成速度は、新垣ほか (1998) の方法を用いて測定した。すなわち、ベンゼンを OH ラジカルのトラップ剤として、生成するフェノールを HPLC により測定した。ベンゼン (終濃度 1.2 mM) を加えた試料を石英製の反応セルに入れ、光学フィルター (Oriel, AM 0 および AM 1.0) を装着した太陽光シミュレーター (Oriel, model 81160 1000) により擬似太陽光照射した。このとき、水温は恒温槽により $20 \text{ }^\circ\text{C}$ に保った。照射後の試料は、溶離液 (アセトニトリル 50% および高純水 50%), 流量 1.0 mL min^{-1} (島津製作所, LC 10Ai), オクタデシルカラム (Supelco, SUPELCOSIL LC 18) で分離後、波長 220 nm (島津製作所, SPD 10AV) により測定した。検量線は、フェノール標準溶液を試料に添加して作成した。

太陽光シミュレーターの光強度は、2 ニトロベンズ

アルデヒド(2 NB)を用いる化学光量計で測定した。2 NBの定量方法は、波長260 nmと流量1.5 mL min⁻¹以外はフェノールの測定と同じ条件で行なった。各実験日ごとに測定した2 NBの光分解速度定数は0.00505~0.00645 s⁻¹であり、新垣ほか(1998)に従い、各実験日ごとのOHラジカルの生成速度を1997年5月1日正午の光強度(2 NBの分解速度定数として0.00929 s⁻¹)に補正した。

2.6 大気汚染物質および気象要素

東広島における大気観測では、O₃(オキトロニクス, OZM G21), NO_x(サーモエレクトロン, 42S), SO₂(サーモエレクトロン, 43C トレースレベル)とともに、温湿度(英弘精器, MH 011PS), 全天日射量(英弘精器, MS 62), 風向風速(海上電機社, SA 200)を測定した。極楽寺山における大気観測では、温湿度(柴田科学器械工業, CODE8031 05), 全天日射量(英弘精器, MS 61), 風向風速(牧野応用測器研究所, KC101A), O₃(紀本電子工業, model 840; オキトロニクス, OZM G21)を測定した。広島湾および伊予灘海上における大気観測でも、同様の観測機器を使用して気温, 全天日射量, 風向風速を船上デッキ上にて測定した。

2.7 全有機炭素(TOC)

河川水は採水後直ちに、20 mL テフロンビンに入れ冷凍保存した。ナチュラルミネラルウォーターは冷蔵保存した。後日これを解凍し、全有機炭素計(島津製作所, TOC 5000)により測定した。

2.8 pH, 各種イオン

pHは、ガラス電極式水素イオン濃度計(東亜電波工業, HM 30S)で測定した。陰イオン, 有機酸およびアンモニウムイオンはイオンクロマトグラフ(横川アナリティカルシステムズ, IC 7000E)により、ナトリウムなどの無機陽イオンは誘導結合プラズマ発光分光分析装置(Perkin Elmer, Optima 3000)により測定した。各測定条件は、三宅ほか(2000)のそれと同様である。

2.9 残留塩素

水道水中の残留塩素は、残留塩素測定器(柴田科学器械工業, 8054 16)により、採水後ただちに測定した。

3. 結果および考察

3.1 FIA-FD法とHPLC-FD法の比較

露, 河川水およびミネラルウォーター試料をFIA-

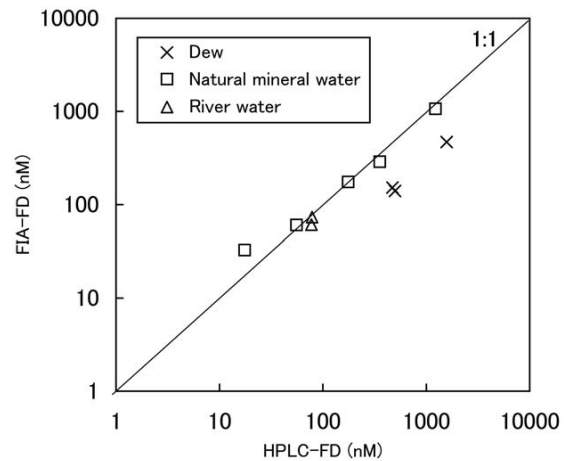


Fig. 2 Comparison of analytical values of H₂O₂ determined by HPLC-FD with FIA-FD.

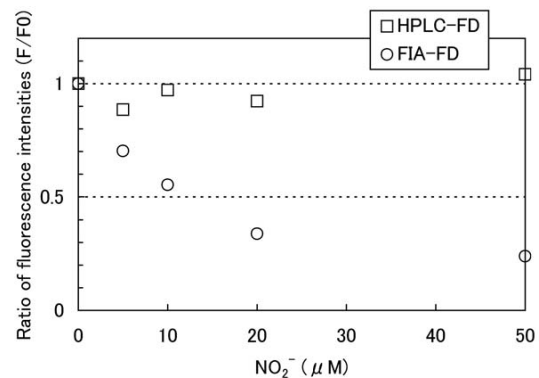
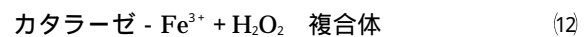
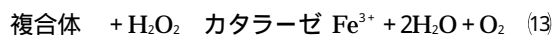


Fig. 3 Interference of nitrite ion in the determination of H₂O₂ concentration by HPLC-FD and FIA-FD methods.

FD法とHPLC-FD法で分析を行ない、測定方法間の比較を行なった(Fig. 2)。河川水とミネラルウォーターでは、ともにほぼ同じ値を示したが、露ではHPLC-FD法よりもFIA-FD法において低くなる傾向を示した。そこで、露中に多く含まれる亜硝酸イオン(NO₂⁻)に着目し、1 μMのH₂O₂溶液に亜硝酸ナトリウムの濃度を変えて加え、両方法で測定を行った(Fig. 3)。その結果、HPLC-FD法では比蛍光強度(F/F₀)はほとんど変わらなかったが、FIA-FD法では亜硝酸イオン濃度の増加に伴い比蛍光強度は低下した。カタラーゼとH₂O₂の反応機構は、式(12)および(13)のように推測されている。





このうち複合体は、亜硝酸イオンを硝酸イオンに酸化することが知られている (Halliwell and Gutteridge, 1999)。そのため、亜硝酸イオンが多量に存在する場合、カタラーゼと亜硝酸イオンとの反応が起こることで、FIA-FD法における蛍光強度は減少したと考えられる。しかしながら、こうした亜硝酸イオンの影響は、試料を弱アルカリにすることである程度抑制することができた。すなわち、前述の実験において、炭酸水素ナトリウムを添加してpHを8に調整した溶液においては、比蛍光強度は、亜硝酸イオン濃度が0~50 μMの範囲でほぼ1.0であった。しかし、H₂O₂濃度が10 μMと比較的高濃度の場合、比蛍光強度は約0.90に低下した。このことから、亜硝酸イオンを多く含む天然水試料を分析する場合、測定直前にpHを調節することでH₂O₂測定が可能であることがわかった。尚、自然大気中にNO_xは、数十ppbv以下で存在しており、そのヘンリー定数から予想される大気補集液中の亜硝酸イオン濃度は0.1 nM程度と予想され、その影響はないものと思われる。一方、燃焼ガス中ではNO_xが多量に含まれており、実際に自動車の排気ガス補集液において数十μMの亜硝酸イオンが検出されている。このことから、燃焼ガス中のH₂O₂を測定する際には、炭酸水素ナトリウム等で補集液のpHを調整することでその影響をある程度抑制できると予想される。

HPLC-FD法は、個々の過酸化物を分離・定量できる優れた方法であるが、カラムで分離可能な低分子の過酸化物のみに測定が限られる上、環境中に微量に存在するROOHを測定するには感度が不足している。また、海水試料の場合は、塩分による負の影響が確認されたので (佐久川弘, 未発表), 塩分が高い天然水試料について、HPLC-FD法は適用できないと思われる。

以上の結果から、FIA-FD法はHPLC-FD法よりも簡便であり、多くの試料の連続分析に適している。しかしながら、数μM以上の亜硝酸イオンによる妨害や個々のROOHに関する情報が得られないという欠点がある。これらの点についてHPLC-FD法は優っているものの、海水などの高塩分試料には適用できない。したがって、両者の方法を目的に応じて使い分けの必要があるだろう。

3.2 大気

東広島の広島大学キャンパスにて採取した大気試料のHPLC-FD法での測定結果をTable 1に示す。また、同時に測定したO₃, NO(一酸化窒素), NO₂(二酸化窒素), SO₂および気象要素の結果を合わせてFig. 4に示す。H₂O₂は、O₃と同様に日中に濃度が上昇し(最大158 ppbv), 夜間減少する(最小0.02 ppbv)日周変化を示した。日中でのH₂O₂濃度の上昇は、O₃と同様に光化学的反応によるものであり、また、H₂O₂はO₃, 気温, 全天日射量と正の相関関係にあった。一方、夜間での減少は、SO₂濃度が常にH₂O₂

Table 1 Concentration averages and ranges of H₂O₂ and ROOHs in environmental samples collected in Hiroshima prefecture.

Samples and locations	Date for the collection	# of samples	H ₂ O ₂	ROOHs	Analytical method used
Air (ppbv)					
Higashi-Hiroshima	Nov. 19-20 1999	12	0.54 (0.02-1.58)	n.d.	HPLC-FD
Mt. Gokurakuji (1)	19 Sep. 1994	5	0.67 (0.1-1.0)	1.42 (1.0-2.0)	FIA-FD
Mt. Gokurakuji (2)	19 Sep. 1994	5	0.73 (0.45-0.9)	0.72 (0.4-1.25)	FIA-FD
Hiroshima Bay	May 9 1994	8	2.0 (1.6-2.6)	1.4 (0.7-1.7)	FIA-FD
Iyo-Nada	May 12 1994	11	0.81 (0.3-1.5)	0.6 (0.4-0.9)	FIA-FD
Rain (nM)					
Higashi-Hiroshima	July 1999-Jan. 2000	15	4730 (39-56400)	n.d.	HPLC-FD
Mt. Gokurakuji (1)	Aug.-Nov. 1999	3	444 (24-1050)	n.d.	HPLC-FD
Mt. Gokurakuji (3)	Aug.-Nov. 1999	3	4870 (189-10100)	n.d.	HPLC-FD
Dew (nM)					
Higashi-Hiroshima	April 1997-Dec. 1998	40	551 (n.d.-3600)	179 (n.d.-3500)	FIA-FD
Mt. Gokurakuji (1)	Aug. 1997-Oct. 1998	10	81.5 (n.d.-179)	365 (105-998)	FIA-FD
Mt. Gokurakuji (3)	Aug. 1997-Oct. 1999	11	202 (57-353)	374 (89-1300)	FIA-FD
River water (nM)					
Ohta River	Dec. 1996 and Jun. 1997	3	90.7 (66-107)	125 (33-2000)	FIA-FD
Ashida River (Fukuyama)	Dec. 1996 and Jun. 1997	3	127 (91-169)	126 (80-178)	FIA-FD
Fujii River (Onomichi)	Dec. 1996 and Jun. 1997	3	170 (98-301)	105 (87-125)	FIA-FD
Nuta River (Mihara)	Dec. 1996 and Jun. 1997	3	149 (78-249)	92.3 (78-105)	FIA-FD
Gohno River (Miyoshi)	Dec. 1996 and Jun. 1997	2	58 (17-101)	62.4 (55-69)	FIA-FD
Saijo River (Shoubara)	Dec. 1996	1	72	65	FIA-FD
Natural mineral water (nM)	Purchased in 1997-1998	21	107 (n.d.-1420)	182 (79-375)	FIA-FD
Tap water (nM)					
Higashi-Hiroshima	Dec. 1998	5	n.d.	n.d.	FIA-FD
n.d.: not detected					

よりも高いことと夜間において相対湿度がほぼ100%であったことから、液中相SO₂酸化によりH₂O₂が消費されたと考えられる。これらの測定値は、山下ほか(1994)が東広島で1993年5月に測定した最大値2.0

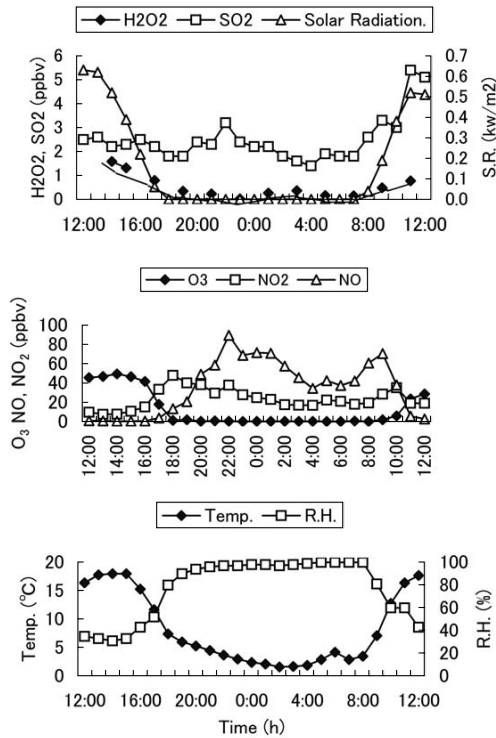


Fig. 4 Diurnal variations of atmospheric H₂O₂, SO₂, O₃, NO₂ and NO and meteorological factors such as solar radiation, temperature and relative humidity in Higashi-Hiroshima in November 19-20, 1999.

ppbvに近い値であった。

極楽寺山周辺では、大気中H₂O₂およびROOHs濃度をFIA-FD法により測定した。南側斜面(極楽寺山試料(1))では、それぞれ0.1~1.0および1.0~2.0 ppbvであり、このときのO₃濃度は15~45 ppbvであった(Table 1, Fig. 5 A)。また、山頂付近(極楽寺山試料(2))ではそれぞれ0.45~0.9および0.4~1.25 ppbvであり、このときのO₃濃度は33~53 ppbvであった(Fig. 5 B)。両地点ともROOHsはH₂O₂よりも濃度が高い傾向があったが、各成分濃度の時間変化は見られなかった。O₃濃度は、山頂付近でやや高い傾向があった。採取回数が少なかったため気象要素との関係は明らかではないが、O₃と同様な日周変化を示した。このようなH₂O₂とO₃の日周変化は、奥日光や丹沢大山などの森林域においても報告されている(Takami *et al.*, 2003; 佐久川ほか, 2005)。

広島湾でのFIA-FD法による大気中H₂O₂およびROOHs濃度は、それぞれ1.5~2.6および0.7~1.8 ppbvであり、午後4時ごろに最大値となる日変化を示した(Fig. 5 C)。採取時には、瀬戸内海からの海風(南風)が卓越していた。これらの値は、山下ほか(1994)が行なった日中における広島市内での大気中H₂O₂濃度の最大値(3 ppbv)に近い値であった。H₂O₂濃度を決定する要因として、日射量、揮発性有機化合物およびNO_x濃度などが重要であることが指摘されている(Sakugawa *et al.*, 2000)。測定日の最大日射量(時間平均値として0.9 kW m⁻²)は、1992年の山下ほか(1994)での報告値(0.8 kW m⁻²)をやや上回っ

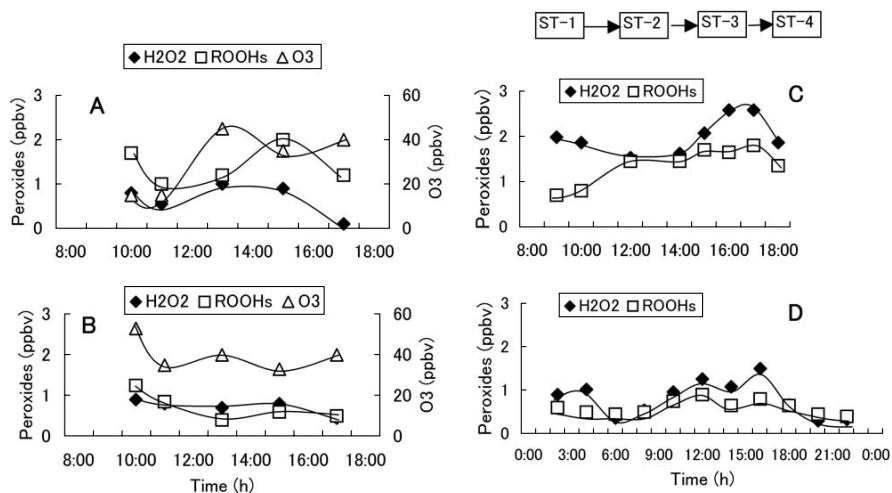


Fig. 5 Diurnal variations of atmospheric H₂O₂, ROOHs and O₃ in the southern slope (A) and the summit (B) of Mt. Gokurakuji and in Hiroshima Bay (C) and the Iyo-Nada (D) in the Seto Inland Sea.

ていたことや採取地点が広島市などの市街地から比較的近距离(10~40 km)に位置しているため、2.6 ppbvの高濃度が検出されたと推測される。

伊予灘西部における大気中 H_2O_2 および ROOHs 濃度は、それぞれ0.3~1.5および0.4~0.9 ppbvであり、広島湾での観測と同様に、午後に最高濃度が測定された(Fig. 5D)。測定期間において、夜間は陸風(北風)、昼間は海風(南風)が卓越していた。また、最大日射量は 0.8 kw m^{-2} (14時)であった。この伊予灘における大気採取地点は、市街地から比較的離れた海上(60~70 km)であったため、揮発性有機化合物などの汚染物質濃度が低く、 H_2O_2 やROOHs濃度はともに広島湾に比べて低かったと考えられる。

以上の観測結果から、広島県の大気中には過酸化物が数百 pptv~数 ppbv 存在することが明らかとなった。本研究と山下ほか(1994)の測定結果から、大気中 H_2O_2 が年平均で0.8 ppbv 存在すると仮定し、Walcek(1987)がアメリカ合衆国北東部地域において大気化学モデルを用いて理論的に求めた H_2O_2 の沈着速度(1.0 cm s^{-1})から推定すると、広島県における H_2O_2 の乾性沈着量は $3.35 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ となる。この値は、Los Angelesでの値($2.68 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$)に匹敵するものであった(Sakugawa *et al.*, 1993)。

3.3 雨水

東広島で採取した雨水試料(計15試料)中 H_2O_2 濃度は、HPLC-FD法で39~56,400 nM(加重平均4,730 nM)であった(Table 1)。このときMHP, EHP, PAAなどのROOHはどの雨水試料からも検出されなかった。極楽寺山の南側(極楽寺山試料(1))及び北側斜面(極楽寺山試料(3))で採取した雨水(各3試料)での H_2O_2 濃度は、それぞれ24~1,050(加重平均444 nM), 189~10,100 nM(加重平均4,870 nM)であった(Table 1)。地表面への H_2O_2 沈着量を各濃度に降水量を乗じて求めると、東広島では一降雨当たり $0.28 \sim 206 \mu\text{mol m}^{-2}$ (平均64.8)、極楽寺山南側及び北側斜面では、それぞれ $0.2 \sim 9.31$ (平均3.27)および $0.46 \sim 74.7$ (平均25.5) $\mu\text{mol m}^{-2}$ と推定された。東広島で採取した試料の内、7試料は8月に採取された試料であり、それ以外の月では1~2試料であったため、月別の H_2O_2 濃度を評価することは困難であるが、概して夏季に高く、冬季に低くなる傾向があった。これは、雨水中 H_2O_2 のほとんどは大気中 H_2O_2 の吸収によるため、大気中濃度が高い夏季において高く、冬季に低くなったためと考えられる。また、降水量が多

くなると H_2O_2 濃度が低くなる傾向が見られた。初期降雨中では H_2O_2 濃度が最大であり、時間とともに減少することが他に報告されており(Jacob *et al.*, 1990; 山下ほか, 1994)、降雨による希釈効果として説明される。 H_2O_2 以外に、主要無機イオンや有機酸などを測定したが、測定試料数が少ないこともあり、 H_2O_2 との関係に関しては明らかに出来なかった。

以上の結果から、雨水中 H_2O_2 濃度は平均数 μM レベルで存在することが明らかとなった。山下ほか(1994)は、1993年の夏季から秋季にかけて東広島市で雨水を採取し、FID-FD法で H_2O_2 濃度を測定した結果、 $0.1 \sim 77.5 \mu\text{M}$ であったことに加え、夏季に高く(6月:加重平均 $21 \mu\text{M}$)、秋季に低い(11月:加重平均 $0.3 \mu\text{M}$)と報告しているが、本研究(1999~2000年)においてもほぼ同様な結果を得られたことになる。東広島で得られた H_2O_2 の加重平均濃度 $4.7 \mu\text{M}$ と平均年間降水量 $1,471 \text{ mm}$ (1993~2000年: $860 \sim 2,308 \text{ mm}$)から、広島県での降雨による H_2O_2 沈着量を求めると、 $2.33 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ (範囲: $1.36 \sim 3.66$)となる。この値は、大気中濃度から求めた乾性沈着量にほぼ匹敵する値であることがわかった。

本研究では雨水中の個々のROOH濃度に関してはHPLC-FD法を用いても情報が得られなかった。これは、HPLC-FD法は H_2O_2 の検出限界は数 nM であるが、ROOH の検出限界は数十 nM 以上であり、 H_2O_2 のそれに比べて一桁以上低い感度であることや、ROOH の生成源である揮発性有機物質濃度やその光化学反応に関連する日射量などの気象条件がROOHの生成に適当でなかったことが考えられる。

3.4 露

東広島、極楽寺山南側斜面(極楽寺山試料(1))および北側斜面(極楽寺山試料(3))で採取した露中 H_2O_2 濃度は、FIA-FD法でそれぞれ n.d.~ $3,600 \text{ nM}$ (算術平均 551 nM)、n.d.~ 179 nM (81.5 nM)、 $57 \sim 353 \text{ nM}$ (202 nM)であり、ROOHs 濃度はそれぞれ n.d.~ $3,500 \text{ nM}$ (179 nM)、 $105 \sim 998 \text{ nM}$ (365 nM)、 $89 \sim 1,300 \text{ nM}$ (374 nM)であった(Table 1)。このとき、露に多く含まれる亜硝酸イオンの干渉を避けるために、採取した露試料に少量の炭酸水素ナトリウム溶液を加え pH を約8.0とした。採取毎に露の採取量が異なるため(20~270 mL)、次の式から単位面積あたりの沈着量を求めた。

$$\text{沈着量 (nmol m}^{-2}\text{)} = \frac{\text{過酸化物質濃度 (nM)} \times \text{採取量 (L)}}{\text{採取面積 (m}^2\text{)}} \quad (14)$$

東広島, 極楽寺山北側斜面および南側斜面での露による H_2O_2 沈着量は, それぞれ平均 84.8, 40.3, および 15.8 nmol m^{-2} であった。ROOHs では, それぞれ平均 179.0, 72.7, および 74.0 nmol m^{-2} であった。 H_2O_2 および ROOHs の濃度および沈着量は, とともに極楽寺山に比べ東広島市の方が大きかった。これは, 東広島において炭化水素などの過酸化物質の前駆物質が大気中に多く存在するからだと考えられる。また, 極楽寺山では, すべての試料において南側よりも北側において沈着量は大きな値をとった。この原因として, 南側斜面では SO_2 などの大気汚染物質が多く存在する (智和ほか, 2002) ことから, H_2O_2 はそれらの酸化剤として使われたため沈着量が南側において低かったと考えられる。

東広島市および極楽寺山で採取した露中の各過酸化物質濃度と主要陰イオン, 陽イオン, 有機酸との相関を調べたが, ほとんど相関が見られなかった。この原因として, 過酸化物質は保存性の無機イオンなどと異なり反応性が高く, 液相中で亜硫酸イオンなどと反応して急速に分解されることが考えられる。たとえば, Lazrus *et al.* (1985) や山下ほか (1994) は雨水中の過酸化水素濃度が数時間以内に半分以下になったことを報告している。

3.5 河川水

FIA-FD 法で求めた広島県内の主要 6 河川水中過酸化物質の測定結果を Table 1 および Fig. 6 に示す。12 月に行なった 1 回目および 2 回目の平均 H_2O_2 濃度は 87.3 nM であり, 河川による濃度の差はあまり見られなかった。これに対し, 6 月に行なった 3 回目の値は平均 185 nM と 2 倍以上の値を示し, また河川により 2 倍程度変化した。このことは, H_2O_2 の生成に光化学反応が重要であることを示唆するものであった。ROOHs では, H_2O_2 で見られたような季節による違いは見られず, 12 月では平均 96.9 nM, 6 月では平均 114 nM であった。

3 回目の測定において, 西城川を除く 5 つの河川で陰イオン, 陽イオンおよび金属類の測定も合わせて行った結果, 土壌粒子起源と思われる溶存態全鉄 ($5.2 \sim 44 \mu\text{g L}^{-1}$) および溶存態アルミニウム ($5.0 \sim 23 \mu\text{g L}^{-1}$) 濃度と H_2O_2 濃度との間に正の相関関係が見られた (Fig. 7)。鉄は, フェントン反応および

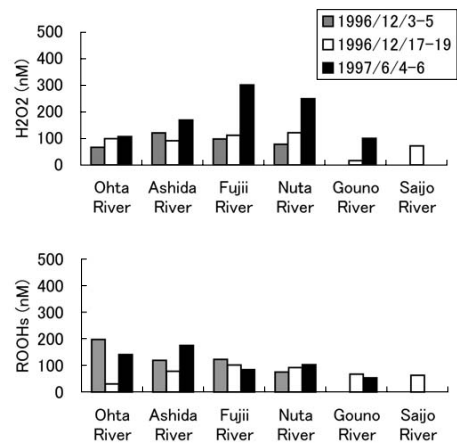


Fig. 6 Concentrations of H_2O_2 and ROOHs in river waters in Hiroshima prefecture.

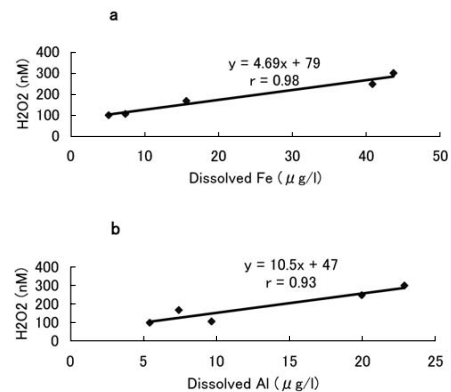
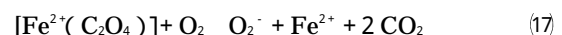
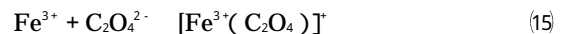


Fig. 7 Relationships between H_2O_2 and total dissolved iron or aluminum concentrations in river waters in Hiroshima prefecture.

光フェントン反応に関与することから, 河川水中の H_2O_2 濃度を決定する重要なイオンといえる。また, 鉄 シュウ酸錯体の光化学反応により HO_2/O_2^- ラジカルが生成し (式(15)~(17)), これらの重合反応によって H_2O_2 が生成することが知られている (Zellner and Herrmann, 1995)。



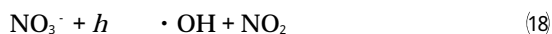
したがって, これらの反応が河川水で起これば, DOM の光化学反応 (式(3)~(8)) とともに H_2O_2 の発生源となりうる。しかしながら, 本研究では測定数が少ない

上，シュウ酸などの有機酸の測定を行っていないので，詳細は明らかではない。なお，ROOHs と陰イオンおよび陽イオンとの相関関係は見られなかった。

3.6 ナチュラルミネラルウォーター

FIA-FD 法で測定したナチュラルミネラルウォーター中の過酸化物濃度を Table 1 および Fig .8 a に示す。H₂O₂は，n.d. ~ 1 420 nM の範囲（平均107 nM）で検出され，検出限界値を超えた 7 種類は，すべて国内産のものであった。一方，ROOHs は全ての試料から検出され，平均182 nM(範囲79 ~ 375 nM)であり，国内産と輸入品の違いは見られなかった。主要無機イオン (Cl⁻，NO₃⁻，SO₄²⁻) および TOC 濃度との相関関係を調べた結果，H₂O₂ (r=0.71, p<0.01) および ROOHs (r= -0.61, p<0.05) はともに，硝酸イオンとの間に相関関係が見られた。

H₂O₂の生成機構を探るため，ナチュラルミネラルウォーターにおける OH ラジカルの光化学的生成速度を調べたところ，11 試料 (A ~ C, E, J, M, N, R ~ U) から OH ラジカルが生成され，平均52.7 nM h⁻¹ (最大値：試料 J で109 nM h⁻¹，最小値：試料 S で11.7 nM h⁻¹) であった (Fig .8 b)。また，国内産・輸入品の違いは見られなかった。OH ラジカルの光化学的生成機構として式(10)に加え，以下のような反応がある (Zellner *et al.*, 1990)



一方，光化学反応ではないが，式(9)に示したような

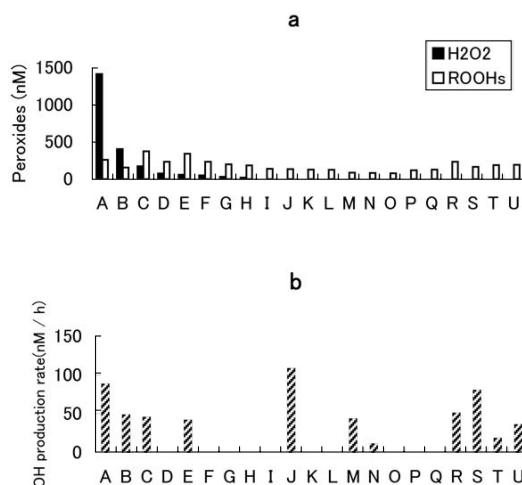


Fig .8 OH radical photoproduction rates of commercial natural mineral waters.

フェントン反応からも OH ラジカルは生成される。ナチュラルミネラルウォーターにおいて，硝酸イオン濃度と OH ラジカル生成速度との間には正の相関 (r = 0.88) が認められた。OH ラジカル生成速度と硝酸イオン濃度との関係をより明らかにするために，H₂O₂ と硝酸イオンからの OH ラジカル生成寄与率を求めた。各成分からの OH ラジカルの生成速度 (M s⁻¹) は，各成分からの生成速度定数 J_i (s⁻¹) から次式により求められる。

$$d[\cdot\text{OH}]/dt = J_i \times [i] \quad (20)$$

[i]は，H₂O₂または硝酸イオンの濃度 (M) である。H₂O₂および硝酸イオン溶液を高純水により調整して OH ラジカル生成速度を測定した結果，各生成速度定数はそれぞれ 2.48×10^{-6} および 1.71×10^{-7} (s⁻¹) であった。これらの値を用いて求めた H₂O₂ および硝酸イオンからの OH ラジカル生成速度寄与率は，それぞれ平均1.3%，平均83%となった。このことから，ナチュラルミネラルウォーターにおいて光化学的に生成する OH ラジカルのほとんどは，硝酸イオンの光分解 (式(18)) に由来することが明らかとなった。その他の生成源として腐植物質などの DOM の光励起および水分子からの水素引抜反応により OH ラジカルが直接生成する (Vaughan and Blough, 1998) ことが考えられるが，詳細は明らかではない。尚，亜硝酸イオン濃度は検出限界値以下であったため，亜硝酸イオンの光分解による OH ラジカルの生成は無視できるといえる。

ナチュラルミネラルウォーターの H₂O₂濃度は，硝酸イオン濃度と正の相関関係にあったことから，H₂O₂の生成に硝酸イオンが関係すると考えられる。例えば，硝酸イオンの光分解により生成した OH ラジカルは，重合反応により H₂O₂を生成する (式(11), $k = 5.5 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; Buxton *et al.*, 1988)。また，OH ラジカルとアルデヒド類の水和物や有機酸などの DOM との反応 (式(21), (22)) により生成した HO₂/O₂⁻の重合反応により，H₂O₂が生成すると考えられる。



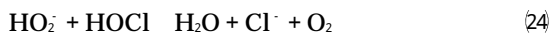
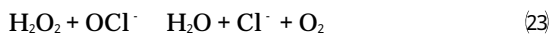
さらに，先にも述べた鉄 シュウ酸錯体の光化学反応 (式(15) ~ (17)) も H₂O₂の生成過程の一つとして考えられる。しかしながら，中谷 (2004) によるとナチュラ

ルミネラルウォーター中のOHラジカル定常状態濃度は $10^{-16} \sim 10^{-15}$ Mと極微量なため、OHラジカル同士の重合反応はほとんど無視できる。よって、硝酸イオンの光分解に由来するOHラジカルやDOMの光感受性反応などに由来する HO_2/O_2^- の重合反応によって、 H_2O_2 が生成した可能性が高い。一方、硝酸イオンを水質汚濁の指標として考えた場合、汚染の進んだ鉱泉水、湧水、井戸水ではDOMやその光分解に由来する H_2O_2 は濃度が高いと考えられる。ナチュラルミネラルウォーターの製造過程(加熱処理,ろ過)においてDOMの幾分は除去されるが、硝酸イオン濃度はほとんど変化しない。そのため、見かけ上 H_2O_2 濃度と硝酸イオン濃度との間に相関関係が認められたのかもしれない。輸入品のナチュラルミネラルウォーターに H_2O_2 が検出されなかったことについては、国内産に比べて長時間の輸送の間に分解した可能性や生成源となるDOM濃度が低い可能性が考えられる。さらに、輸入品にはOHラジカルの消去物質である重炭酸イオンが多く含まれるため(中谷, 2004), H_2O_2 の生成が抑制された可能性も考えられた。

ROOHs濃度はどの試料においてもほぼ一定濃度であり、他の測定項目との相関関係も見られなかったことから、本研究ではナチュラルミネラルウォーター中におけるROOHの生成・消失機構に関する情報は得られなかった。

3.7 水道水

FID-FD法によって水道水中の過酸化物を測定したが、全く検出されなかった(Table 1)。これは、以下に示すような水道水中の次亜塩素酸との反応により H_2O_2 が消費されたためと考えられる(Held *et al.*, 1978; Blum *et al.*, 1987; Schick *et al.*, 1997)。



このことから、次亜塩素酸が過剰に存在する試料では、過酸化物はほとんど存在しないと考えられる。本研究に使用した水道水試料中の残留塩素濃度は $0.2 \sim 0.5 \text{ mgCl L}^{-1}$ であり、これらすべてが次亜塩素酸と仮定すると $5.6 \sim 19.1 \mu\text{M}$ 存在することになる。これに対し、河川水試料中過酸化物濃度は、数十～数百nMであった(Fig. 6)。よって、水道水原水中の過酸化物が河川水中に含まれる濃度と同程度存在したとしても、塩素処理の過程で添加される次亜塩素酸によって

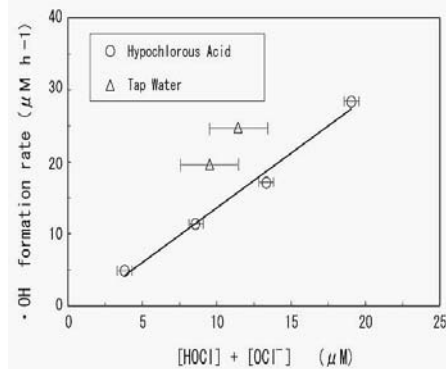


Fig. 9 OH radical photoproduction rates of authentic hypochlorous acid and tap water.

速やかに分解されると予想される。

水道水試料でのOHラジカル生成速度($\mu\text{M h}^{-1}$)は、ナチュラルミネラルウォーターのものよりも約420倍も速かった。水道水中には H_2O_2 は含まれない上、硝酸イオンの水道水質基準値($160 \mu\text{M}$:厚生労働省, 2004)から推定されるOHラジカル生成速度($0.098 \mu\text{M h}^{-1}$)は、実測値よりもはるかに低い。そこで、水道水中において比較的高濃度で含まれる次亜塩素酸に着目した。実際の水道水中に含まれる濃度に調整した次亜塩素酸ナトリウム水溶液と実際の水道水について行ったOHラジカル生成速度をFig. 9に示す。次亜塩素酸濃度の上昇に伴い、OHラジカル生成速度も直線的に増えた。尚、水道水試料でのエラーバーが大きいのは、次亜塩素酸濃度の測定誤差が大きいためである。次亜塩素酸ナトリウム水溶液で得られた直線の傾きは、次亜塩素酸からのOHラジカル生成速度定数($4.23 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$)を表し、 H_2O_2 や硝酸イオンの値と比べても大きいことが分かる。次亜塩素酸の光化学反応として、次のような反応が考えられる。



また、次亜塩素酸は $\text{pK}_a = 7.55$ により解離することから、pHに依存したOHラジカル生成速度が推測される。硫酸または水酸化ナトリウム溶液を用いてpHを調整した 0.5 mgCl L^{-1} 次亜塩素酸ナトリウム水溶液のOHラジカル生成速度をFig. 10に示す。この結果より、 $\text{pH} > 7.55$ のアルカリ性で次亜塩素酸が ClO^- として存在する場合は、 $\text{pH} < 7.55$ の酸性すなわち次亜塩素酸が HOCl として存在する場合よりもOHラジカル生成速度が速いことが明らかとなった。このことは、 ClO^- は HOCl よりも光分解速度は大きい

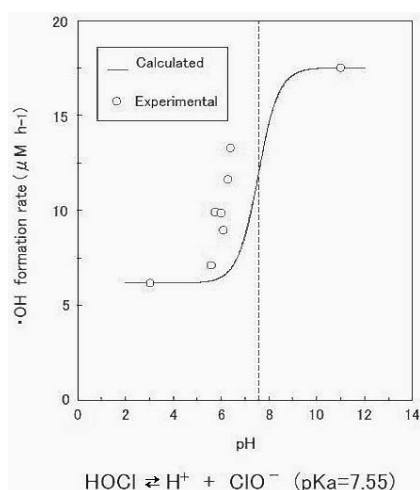


Fig. 10 OH radical photoproduction rates at various pH of the hypochlorous acid solution, which were determined by kinetic calculation (—) and by laboratory experiment (○).

(Nowell and Hoigne, 1992)ことを示唆する。また，Fig. 9での水道水試料のpHは7.32と7.29なのに対し，次亜塩素酸ナトリウム溶液のpHは6.4~7.5であったため，水道水試料においてOHラジカル生成速度が全般的に大きくなったといえる。

Fig. 10において，次亜塩素酸の酸解離定数とpH 3.0および11.0のときOHラジカル生成速度(6.19および17.5 μM h⁻¹)から，次亜塩素酸ナトリウム溶液におけるOHラジカル生成速度は以下のように示され，pHに依存したOHラジカルの生成速度曲線が得られる。

$$d[\cdot\text{OH}]/dt = [\text{HOCl}] \times 6.19 + [\text{ClO}^-] \times 17.51 \quad (26)$$

ただし，[i]は全体(0.5 mgCl L⁻¹)に占める[i]の割合を示す。pH 7.0付近において測定値と一致しないのは，中性付近におけるpHの測定誤差が大きいことと，溶液に緩衝液を用いていないことが挙げられる。

以上をまとめると，水道水中に含まれる次亜塩素酸からOHラジカルが光化学的に大量生成されるが，他の化学種と速やかに反応して消失するか，H₂O₂を生成しても次亜塩素酸との反応により分解されるため，H₂O₂濃度は検出限界値以下になったと考えられた。また，河川水と異なり太陽光があたる可能性が低いことも挙げられる。

4. 結 論

HPLC-FD法とFIA-FD法について過酸化物測定法を比較したところ，河川水およびナチュラルミネラルウォーターでは，ほぼ同じ値を示した。露水では，亜硝酸イオンによる負の影響がFIA-FD法において確認されたが，HPLC-FD法ではその影響なく測定できることが示された。こうした露水や自動車排ガスの捕集液のようなpHが低く，亜硝酸イオン濃度が比較的高い試料についてFIA-FD法を用いて測定する場合には，溶液を弱アルカリに調節する必要があった。各測定方法には，それぞれ簡便性，迅速性，正確性の点において一長一短があり，目的に応じて使い分けることが望ましい。

本研究は，国内外で測定例の少ない中規模都市周辺や森林域，海上域などの汚染物質濃度が低い地域において過酸化物の濃度分布を調べた点に特徴がある。その結果，東広島市，極楽寺山，広島湾，伊予灘における大気中過酸化物濃度は，山下ほか(1994)の広島市の市街地での報告例よりやや低い値を示した。本研究で測定した地域は，広島市に比較的近接していたことから，広島市周辺の大気汚染の影響を常時受けていると考えられる。したがって，これらの地域では，過酸化物の濃度が広島市のそれと大きく異なることはなかったが，やや低い傾向を示したと考えられる。

雨水中のH₂O₂濃度は，東広島，極楽寺山において数μMであり，夏季に採取した雨水は特に濃度が高かった。露水中の過酸化物濃度・沈着量は，東広島，極楽寺山北側斜面，南側斜面の順に高く，各地域での局所的大気汚染状況を反映した結果となった。すなわち，雨と異なり，各地域の地表大気における汚染と密接な関係にあると考えられる。O₃や揮発性有機化合物，NO_x，SO₂などが，大気中の過酸化物濃度を決定する要因であることが知られているので，これらの汚染物質の地表付近での絶対濃度やその濃度比を解析することで，露中の過酸化物濃度や動態が明らかになると思われる。

河川水中の過酸化物は，光化学的な生成を示唆する結果が得られた。すなわち，日射量の大きい夏季において多く生成し，冬季では減少する傾向が見られた。供給源としては，雨水などの湿性沈着とガスやエアロゾルなどの乾性沈着を通じた大気からの供給と水中での光化学的な生成反応からの供給過程が考えられる。これらは，ともに光化学的な生成反応が関与している

ため、結果的に過酸化水素濃度は太陽光強度に依存することになる。

ナチュラルミネラルウォーター中の過酸化水素の生成には、OH ラジカルが関与している可能性が示唆された。硝酸イオンの光分解などに由来する OH ラジカルやその二次的反応により生成した反応中間物質 (HO_2/O_2^-) 同士の反応によって、 H_2O_2 が生成すると考えられた。水道水では、次亜塩素酸の光分解による OH ラジカルの生成寄与が大きいことが示された。この反応では、同時に塩素ラジカルが生成することから、自然太陽光や蛍光灯などの人工光源による水道水中でのトリハロメタンの生成経路ともなりうる。さらに、次亜塩素酸からの OH ラジカル生成速度は pH に依存し、 ClO^- に解離する高 pH 領域で大きいことが明らかとなった。水道水中の次亜塩素酸は、光の存在下で有害な OH ラジカルを発生すると推察され、その作用や人体への影響に関してさらに研究が必要であろう。

最後に、本研究および他の報告例から、広島県において大気相中の光化学反応により生成した数十～数千 pptv の H_2O_2 は、地表面に乾性沈着するとともに、一部は大気液相に取り込まれて、あるいは大気液相中の光化学的に生成した H_2O_2 は、雨や露として地表面に沈着する。これらの乾性および湿性沈着量は、それぞれ $3.35, 2.33 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ と見積もられた。このような大気から河川水への供給に加え、河川水中での DOM からの光化学的生成と合わせて、 H_2O_2 濃度は数十～数千 nM の範囲で存在する。この H_2O_2 は、光や微生物による分解作用、二価鉄などの他の化学物質との反応を通して急速に消費されると考えられる。過酸化水素の生成・分解過程の物質収支に関する研究は、今後の課題である。また、ナチュラルミネラルウォーターにおいて数百 nM の過酸化水素が含まれる場合があり、健康影響や風味や新鮮さといった味覚などの観点からも興味ある物質であるので、今後詳細な検討が必要である。本研究において環境試料中の ROOH 濃度を明らかにしたが、生成・消失機構に関する詳細な情報は得られなかった。今後、各 ROOH 成分についての高感度な分析方法の開発も含め、さらに検討が必要である。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、海上大気の採取に便宜を図って頂いた広島大学生産学部所属練習船豊潮

丸の郷秋雄船長および乗員の皆様に感謝いたします。東京薬科大学生命科学部の藤原祺多夫氏（元広島大学総合科学部教授）には、過酸化水素の測定に助言を頂いたので感謝いたします。琉球大学理学部海洋自然科学科の新垣雄光氏には、飲料水中 OH ラジカル測定に助言を頂いたので感謝いたします。また、広島大学大学院生物圏科学研究科の赤根幸子氏に論文の作成にご協力を頂いたので感謝いたします。滋賀県立大学環境科学部の大田啓一氏および匿名の査読者には丁寧な審査をしていただき御礼申し上げます。

引用文献

- 赤根幸子 (2005) 赤潮藻類による活性酸素種の生成機構と分解機構の解明 過酸化水素を中心に . 広島大学大学院生物圏科学研究科博士論文, 137 .
- 赤根幸子, 牧野慎也, 橋本典親, 八束陽介, 河井裕, 竹田一彦, 佐久川弘 (2004) 広島湾における海水中の過酸化水素の分布と挙動 . 海の研究, **13** (2), 1-12 .
- Andreae, W. A. (1955) A sensitive method for the estimation of hydrogen peroxide in biological materials. *Nature* **175**, 859-860.
- Arakaki, T. and Faust, B. C. (1998) Sources, sinks, and mechanisms of hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) photoproduction and consumption in authentic acidic continental cloud waters from Whiteface Mountain, New York: The role of Fe (II, III) photochemical cycle. *J. Geophys. Res.* **103** (D3), 3487-3504.
- 新垣雄光, 三宅隆之, 柴田美智恵, 佐久川弘 (1998) 雨水・露水中に光化学的に生成するヒドロキシルラジカル量の計測 . 日化, (9), 619-625 .
- 新垣雄光, 三宅隆之, 柴田美智恵, 佐久川弘 (1999) 雨水・露水中における OH ラジカルの光化学的生成および消失反応機構 . 日化, (5), 335-340 .
- Bulm, E., Gilbert, E. and Eberle, S. H. (1987) Investigation on the use of hydrogen peroxide for drinking-water treatment. *Vom Wasser* **69**, 275-288.
- Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P. and Ross, A. B. (1988) Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}$) in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data*

- 17, 513 886.
- Calvert, J. G. and Stockwell, W. R. (1983) Acid generation in the troposphere by gas-phase chemistry. *Environ. Sci. Technol.* **17** (9), 428A 443A.
- 智和正明，平川剛，苗村晶彦，新垣雄光，佐久川弘 (2002) 広島県極楽寺山およびその周辺における二酸化硫黄，窒素酸化物，オゾン濃度と日変化．日化，(1)，67 76 ．
- Cooper, W. J., Zika, R. G., Petasne, R. G. and Plane, J. M. C. (1988) Photochemical formation of H₂O₂ in natural waters exposed to sunlight. *Environ. Sci. Technol.* **22** (10), 1156 1160.
- Fujiwara, K., Ushiroda, T., Takeda, K., Kumamoto, Y. and Tsubota, H. (1993) Diurnal and seasonal distribution of hydrogen-peroxide in seawater of the Seto Inland Sea. *Geochem. J.* **27** (2), 103 115.
- Greenspan, F. P. and Mackellar, D. G. (1948) Analysis of aliphatic per acids. *Anal. Chem.* **20** (11), 1061 1063.
- Guilbault, G. G., Brignac, Jr. P. and Zimmer, M. (1968) Homovanillic acid as a fluorometric substrate for oxidative enzymes: Analytical applications of the peroxidase, glucose oxidase, and xanthine oxidase systems. *Anal. Chem.* **40** (1), 190 196.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1999) Free radicals in biology and medicine, 3rd Ed. Oxford University Press, London, 936 pp.
- 畠山史郎・秋元肇 (1990) 活性酸素種の大気化学．日本化学会編，活性酸素種の化学．学会出版センター，118 130 ．
- Held, A. M., Halko, D. J. and Hurst, J. K. (1978) Mechanisms of chlorine oxidation of hydrogen peroxide. *J. Amer. Chem. Soc.* **100** (18), 5732 5740.
- Hellpointer, E. and Gab, S. (1989) Detection of methyl, hydroxymethyl and hydroxyethyl hydroperoxides in air and precipitation. *Nature* **337**, 631 634.
- Hewitt, C. N. and Kok, G. L. (1991) Formation and occurrence of organic hydroperoxides in the troposphere: Laboratory and field observations. *J. Atmos. Chem.* **12**, 181 194.
- Hewitt, C. N. and Terry, G. (1992) Understanding ozone plant chemistr. *Environ. Sci. Technol.* **26** (10), 1890 1891.
- Jacob, P., Tavares, T. M., Rocha, V. C. and Klockow, D. (1990) Atmospheric H₂O₂ field measurement in a tropical environment: Bahia, Brazil. *Atmos Environ.* **24A** (2), 377 382.
- Kaneda, H., Kano, Y., Osawa, T., Ramarathnam, N., Kawakishi, S. and Kamada, K. (1988) Detection of free radicals in beer oxidation. *J. Food Sci.* **53**, 885 888.
- Kok, G. L., McLaren, S. E. and Staffelbach, T. A. (1995) HPLC determination of atmospheric organic hydroperoxides. *J. Atmos. Oceanic Technol.* **12** (2), 282 289.
- 厚生労働省 (2004) 水質基準に関する省令 (平成15年5月30日厚生労働省令第101号) ．
- 栗原直登 (1997) 植物被害に関連する大気汚染物質の生成機構の解明と野外における観測．東洋大学大学院工学研究科修士論文，87 ．
- Kurth, H. H., Gab, S., Turner, W. V. and Kettrup, A. (1991) A high-performance liquid chromatography system with an immobilized enzyme reactor for detection of hydrophilic organic peroxides. *Anal. Chem.* **63** (22), 2586 2589.
- Lazrus, A. L., Kok, G. L., Gitlin, S. N., Lind, J. A. and McLaren, S. E. (1985) Automated fluorometric method for hydrogen peroxide in atmospheric precipitation. *Anal. Chem.* **57** (4), 917 922.
- Lazrus, A. L., Kok, G. L., Lind, J. A., Gitlin, S. N., Heikes, B. G. and Shetter, R. E. (1986) Automated fluorometric method for hydrogen peroxide in air. *Anal. Chem.* **58** (3), 594 597.
- Miller, W. L. and Kester, D. R. (1988) Hydrogen peroxide measurement in seawater by (p-hydroxyphenyl) acetic acid dimerization. *Anal. Chem.* **60** (24), 2711 2715.
- 三宅隆之，竹田一彦，藤原祺多夫，佐久川弘 (2000) 東広島における降水中有機酸の濃度，沈着量および発生源．日化，(5)，357 366 ．
- 中野稔，浅田浩二，大柳善彦編 (1988) 活性酸素 生物での生成・消去・作用の分子機構．共立出版，536 ．

- 中谷暢丈 (2004) 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. 広島大学大学院生物圏科学研究科博士論文, 140.
- Nakatani, N., Hashimoto, N. and Sakugawa, H. (2004) An evaluation of hydroxyl radical formation in river water and the potential for photodegradation of bisphenol A. In: *Geochemical Society Special Publication Series 9, Geochemical investigations in earth and space science: A tribute to Isaac R. Kaplan*, (ed. R. J. Hill et al.), Elsevier, Amsterdam, pp. 233-242.
- Nowell, L. H. and Hoigne, J. (1992) Photolysis of aqueous chlorine at sunlight and ultraviolet wavelengths-I. Degradation rates. *Water Res.* **26** (5), 593-598.
- Perschke, H. and Broda E. (1961) Determination of very small amounts of hydrogen peroxide. *Nature* **190**, 257-258.
- Sakugawa, H., Kaplan, I. R., Tsai, W. and Cohen, Y. (1990) Atmospheric hydrogen peroxide. *Environ. Sci. Technol.* **24** (10), 1452-1462.
- Sakugawa, H., Kaplan, I. R. and Shepard, L. S. (1993) Measurements of H₂O₂, aldehydes and organic acids in Los Angeles rainwater: Their sources and deposition rates. *Atmos. Environ.* **27B** (2), 203-219.
- Sakugawa, H., Takami, A., Kawai, H., Takeda, K., Fujiwara, K. and Hirata, S. (2000) The occurrence of organic peroxides in seawater. In: *Dynamics and Characterization of Marine Organic Matter* (eds. N. Handa, E. Tanoue and T. Hama), TERRAPUB/Kluwer, pp. 231-240.
- 佐久川弘, 新垣雄光, 増田直樹, 三宅隆之, 智和正明, 平川剛 (2005) 神奈川県大山における大気中過酸化水素濃度の測定. 大気環境学会誌, **40** (2), 84-93.
- Sauer, F., Limbach, S. and Moortgat, G. K. (1997) Measurements of hydrogen peroxide and individual organic peroxides in the marine troposphere. *Atmos. Environ.* **31** (8), 1173-1184.
- Schick, R., Strasser, I. and Stabel, H. H. (1997) Fluorometric determination of low concentrations of H₂O₂ in water: Comparison with two other methods and application to environmental samples and drinking-water treatment. *Water Res.* **31** (6), 1371-1378.
- Takami, A., Shiratori, N., Yonekura, H. and Hatakeyama, S. (2003) Measurement of hydroperoxides and ozone in Oku-Nikko area. *Atmos. Environ.* **37** (27), 3861-3872.
- 竹田一彦, 佐久川弘, 大田啓一, 平田静子, 高見朗, 河井裕, 藤原祺多夫 (1999) 瀬戸内海における海洋光化学反応の解析. 海の研究, **8** (5), 323-332.
- Takeda, K., Takedoi, H., Yamaji, S., Ohta, K. and Sakugawa, H. (2004) Determination of hydroxyl radical photoproduction rates in natural waters. *Anal. Sci.* **20**, 153-158.
- Uchida, M. and Ono, M. (1996a) Improvement for oxidative flavor stability of beer-Role of OH-radical in beer oxidation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **54** (4), 198-204.
- Uchida, M. and Ono, M. (1996 b) Improvement for oxidative flavor stability of beer-Rapid prediction method for beer flavor stability by electron spin resonance spectroscopy. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **54** (4), 205-211.
- Vaughan, P. P. and Blough, N. V. (1998) Photochemical formation of hydroxyl radical by constituents of natural waters. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2947-2953.
- Walcek, C. J. (1987) A theoretical estimate of O₃ and H₂O₂ dry deposition over the northeast United States. *Atmos. Environ.* **21** (12), 2649-2659.
- 山下敏広, 佐久川弘, 藤原祺多夫 (1994) 広島および東広島における大気並びに雨水中の過酸化水素の測定. 日化, (12), 1127-1133.
- Zafiriou, O. C., Jousot-Dubien, J., Zepp, R. G. and Zika, R. G. (1984) Photochemistry of natural waters. *Environ. Sci. Technol.* **18** (12), 358A-371A.
- Zellner, R., Exner, M. and Herrmann, H. (1990) Absolute OH quantum yields in the laser photolysis of nitrate, nitrite and dissolved H₂O₂ at 308 and 351 nm in temperature range 278-353 K. *J. Atmos. Chem.* **10**, 411-425.
- Zellner, R. and Herrmann, H. (1995) Free radical chemistry of the aqueous atmospheric phase.

- In: *Spectroscopy in Environmental Science* (ed. R. J. H. Clar and R. E. Hester), Wiley, U. K. pp. 381-451.
- Zepp, R. G., Skurlatov, Y. I. and Pierce, J. T. (1987) Algal-induced decay and formation of hydrogen peroxide in water: Its possible role in oxidation of anilines by algae. In: *Photochemistry of Environmental Aquatic Systems* (ed. R. G. Zika and W. J. Cooper), ACS Symposium Series 327, Washington DC, pp. 215-224.
- Zika, R. G. (1981) Marine organic photochemistry. In: *Marine Organic Chemistry* (eds. E. K. Duursma and R. Dawson), Elsevier, Amsterdam, pp. 299-325.